

Osteo-chondrosarcome transplantable du cobaye (Laporte 1962)

Evolution de la tumeur au cours des passages

par J. C. GUILLON et A. VALLÉE

avec la collaboration technique
de Mme O. NAZIMOFF et G. CHEVALLIER

En 1962, LAPORTE et collaborateurs observaient une tumeur spontanée du membre antérieur chez un cobaye. Cette tumeur se révélait être aisément transmissible par greffe sur des cobayes de différentes lignées. L'étude histologique de la tumeur primitive et des tumeurs expérimentales obtenues par passages en série, montrait qu'il s'agissait d'un ostéo-chondrosarcome (GUILLON et DESTOMBES, 1965). Au cours des passages, les cellules néoplasiques devenaient d'un type uniforme peu différencié, réalisant l'image d'un « sarcome à cellules rondes » dont il serait difficile de préciser l'origine s'il n'existait une différenciation cartilagineuse évidente dans certaines tumeurs à évolution lente.

Depuis trois ans, nous entretenons cette tumeur* par passages sur cobayes et il nous a paru utile d'en décrire l'évolution en fonction du nombre de passages et des voies d'inoculation. Nous nous limiterons à l'étude de la tumeur chez des cobayes communs à robe tricolore, bien que nous l'entretentions depuis peu sur des cobayes de lignée pure (souche K.).

TECHNIQUES D'ÉTUDE

Le premier passage a été réalisé par greffe de petits fragments de tumeur. Nous avons utilisé ensuite des broyats comme inoculum. Cette technique nous a semblé donner de meilleurs résultats.

La tumeur est généralement prélevée au bout de deux à trois semaines d'évolution, lorsqu'elle atteint 5 cm de diamètre environ. A ce

(*) Nous remercions vivement le Dr LAPORTE qui a bien voulu nous fournir le matériel tumoral nécessaire.

moment, la tumeur n'est pas encore nécrosée et son volume est suffisant pour obtenir une quantité importante de matériel. Immédiatement après avoir sacrifié l'animal au gaz d'éclairage, la tumeur est prélevée stérilement et découpée en petits fragments. Ceux-ci sont alors écrasés grossièrement au mortier, puis mis en suspension dans 10 volumes de solution de Hanks. Cette suspension est ensuite tamisée sur une gaze stérile pour éliminer les fragments trop volumineux. Chaque cobaye, d'un poids de 250 à 300 g, reçoit 1 ml de cette suspension.

Les essais de transmission effectués avec des broyats obtenus à l'aide de broyeurs rotatifs à couteaux n'ont pas permis jusqu'à maintenant d'obtenir des résultats positifs.

La tumeur prélevée en totalité peut être conservée au froid pendant une longue période. Une tumeur du 10^e passage conservée pendant 246 jours à — 70° C nous a permis de recommencer des passages, alors qu'une souillure microbienne avait contaminé notre souche au 17^e passage.

La technique de la greffe sur membrane chorio-allantoïdienne d'œufs de poules embryonnés a été entreprise avec succès. Elle permet d'obtenir une tumeur à croissance très rapide qui peut être greffée soit au cobaye, soit sur membrane chorio-allantoïdienne (trois passages ont été déjà réalisés). L'étude de cette technique devant faire l'objet d'une note ultérieure, nous ne la décrirons pas ici en détail.

RÉSULTATS

1. — *Evolution de la tumeur.*

Jusqu'au 14^e passage, la tumeur a été entretenue par injection de broyats sous la peau de la face interne de la cuisse ou sous la peau de l'abdomen. Cette technique offrant quelques inconvénients, nous lui préférons actuellement l'injection en région dorsale, entre les omoplates.

Les résultats que nous avons obtenus sont comparables à ceux déjà publiés par LAPORTE et SILLARD (1963).

Au cours des passages, le pourcentage des réussites augmente régulièrement : de 40 p. 100 au 2^e, il passe à 80 p. 100 au 10^e pour atteindre pratiquement 100 p. 100 à partir du 12^e. Les cobayes « négatifs » peuvent cependant être greffés ultérieurement avec succès. Ceci tendrait à prouver que ces échecs de transmission ne sont pas en relation avec l'animal lui-même, mais avec l'état de la suspension cellulaire au moment de l'inoculation. Le temps de survie se raccourcit : au premier passage, certains cobayes ont survécu 14

mois, au 5^e la mort survient entre 6 semaines et 4 mois, au 13^e entre 5 semaines et 5 mois 1/2, au 17^e entre 5 semaines et 3 mois. Il apparaît parallèlement un raccourcissement de la phase de latence. Au cours des 18 premiers passages, la croissance de la tumeur ne pouvait être décelée que vers le 8^e-10^e jour. Actuellement, on peut déjà sentir à la palpation un nodule tumoral ferme de la grosseur d'une cerise dès la 48^e heure.

La mort des cobayes peut être due à des lésions hépato-rénales de nature toxique, qui sont la conséquence de la nécrose massive de la tumeur, ou à la généralisation du processus néoplasique, aux métastases pulmonaires notamment.

2. — *Aspect de la tumeur.*

A l'autopsie, la tumeur se présente comme une masse sphérique ou ovoïde, parfois lobulée, enveloppée dans une fine capsule fibreuse. Sa consistance est souple et, à la coupe, sa couleur est grisâtre ou blanc rosé. Le tissu est très friable, d'aspect encéphaloïde, parcouru par de fines hémorragies ou des foyers de nécrose. Dans les tumeurs volumineuses, la nécrose est très abondante et peut, dans certains cas, intéresser tout le tissu tumoral en ne laissant subsister que quelques foyers de tissu vivant, le plus souvent sous la capsule. A titre d'exemple, nous citerons le cas d'une tumeur du 17^e passage évoluant depuis 3 mois qui mesurait 100 × 80 × 80 mm et pesait 245 g, alors que le cadavre du cobaye débarrassé de la tumeur n'en pesait que 250 g !

Lorsqu'on utilise les voies sous-cutanées crurale et abdominale, les métastases les plus fréquemment rencontrées à l'autopsie d'animaux morts spontanément, s'observent dans les poumons (60 p. 100 des cas) et dans les ganglions lymphatiques proches du point d'injection (10 p. 100). On peut également en observer dans la rate, les reins et les surrénales, jamais dans le foie. L'examen histologique montre cependant que les métastases sont encore plus fréquentes que ne le révèle l'examen macroscopique, mais comme nous ne l'avons pas pratiqué systématiquement sur tous les cobayes, nous ne pouvons préciser avec exactitude la fréquence des métastases microscopiques.

L'examen histologique des tumeurs et des métastases révèle la présence d'un tissu néoplasique formé de cellules rondes séparées parfois par une substance interstitielle de nature collagène évoquant dans certains cas un véritable tissu cartilagineux (GUILLON et DESTOMBES, 1965). Nous signalerons la grande richesse des cellules en enclaves glycogéniques et l'absence de différenciation osseuse qui

font de cette tumeur un chondrosarcome plutôt qu'un ostéo-chondrosarcome.

3. — *Voies d'inoculation.*

a) *Voie sous-cutanée.*

Nous avons utilisé plusieurs lieux d'inoculation.

— face interne de la cuisse : à cet endroit, on peut contrôler facilement l'évolution de la tumeur et apprécier son temps de latence. L'inconvénient majeur est que les traumatismes répétés que déterminent les déplacements de l'animal entraînent une nécrose et une ulcération précoce de la tumeur, d'où contaminations microbiennes et mort par septicémie.

— paroi abdominale : offre les mêmes avantages et les mêmes inconvénients que la voie précédente. De plus, la tumeur franchit très vite la paroi musculaire et envahit la cavité abdominale.

— dos (entre les omoplates) : nous utilisons cette voie depuis le 14^e passage car la tumeur ne gêne pas l'animal et les risques de traumatismes sont limités. De ce fait, les délais de survie sont en général plus longs que lors de greffe sur la face interne de la cuisse.

b) *Voie intra-plantaire.*

Cette voie paraît très intéressante pour les études histologiques. En effet, la tumeur se développe dans un tissu conjonctif dense et sa durée d'évolution se trouve prolongée (124 jours au 12^e passage au lieu de 37 jours par voie sous-cutanée). La différenciation cartilagineuse est alors très apparente.

c) *Voie intra-musculaire.*

Elle peut être pratiquée dans les muscles cruraux ou lombaires. La première voie semble la meilleure. Dans le tissu musculaire, la tumeur se développe rapidement et permet ainsi d'obtenir en peu de temps un matériel très abondant et très friable. Malheureusement, la mort des animaux survient très rapidement par complications dues à la compression des organes du petit bassin (voie crurale) ou par envahissement des reins (voie lombaire).

d) *Voie intra-péritonéale.*

A partir du 16^e passage, nous avons effectué quatre passages par cette voie dans le but d'obtenir une forme ascitique. La mort survient plus ou moins rapidement (16 à 43 jours) par compression des

organes abdominaux ou par hémorragie interne. A l'autopsie, on peut observer deux types de lésions :

— soit des tumeurs de la taille d'une grosse cerise, au nombre de 4 à 6, soudées à l'épiploon ; ces tumeurs ont une consistance ferme et ne sont ni nécrosées ni hémorragiques ;

— soit un semis de petites tumeurs n'excédant pas 5 mm de diamètre formant sur l'épiploon une masse irrégulière en « grappe de raisin » pouvant mesurer jusqu'à 10 cm dans sa plus grande dimension. Des tumeurs de même taille s'observent également sur le mésentère, le péritoine pariétal et viscéral, le diaphragme (avec parfois envahissement du muscle lui-même). Ce type de tumeur s'accompagne toujours d'une ascite hémorragique riche en cellules néoplasiques dont le volume peut atteindre 27 ml. Bien qu'on puisse utiliser cette ascite comme inoculum, nous n'avons pas encore observé de véritable forme ascitique.

Notons cependant que c'est par cette voie, et par cette voie seulement, que nous avons pu obtenir dans trois cas des métastases hépatiques.

e) *Voie intra-cérébrale.*

Nous avons inoculé trois cobayes qui sont morts respectivement en 9, 15 et 19 jours. A l'autopsie, le cerveau était recouvert par un enduit grisâtre, de consistance molle, de 2 mm d'épaisseur. L'examen histologique devait montrer qu'il s'agissait d'une véritable culture de tissu tumoral sur la face interne de la dure-mère, sous forme de nodules confluents. La différenciation cartilagineuse était très importante. Aucun foyer tumoral n'a pu être trouvé dans le tissu nerveux lui-même.

f) *Voie intra-médiastinale.*

Les travaux de COLETSOS et collaborateurs sur les mycobactéries non pathogènes pour le cobaye, ont montré que cette voie d'inoculation permettait parfois de mettre en évidence chez ces bactéries un certain pouvoir pathogène. Nous avons employé cette technique en la modifiant légèrement. Une aiguille à injection est introduite par l'ouverture antérieure de la cage thoracique, parallèlement à la trachée, sur une longueur de 1 à 2 cm. Après avoir vérifié que le poumon ou un vaisseau n'ont pas été ponctionnés, le broyat de tumeur est injecté dans le médiastin.

La tumeur évolue rapidement et entraîne la mort par étouffement en 12 à 15 jours. L'autopsie révèle la présence d'un épanchement

séro-sanguin dans l'espace pleural (volume 5 ml), un hydropéricarde (volume 2,5 ml), une tumeur située en avant du cœur (diamètre 30 mm) et un semis de petites tumeurs à la surface de la plèvre, du péricarde et dans le sac péricardique lui-même.

g) *Voie intra-veineuse.*

Nous avons inoculé 1 ml de broyat tumoral à trois cobayes mâles dans la veine dorsale de la verge. Deux ont été sacrifiés au bout de 15 jours. L'un d'eux présentait une tumeur envahissant le corps caverneux. Si, à l'autopsie, aucune métastase n'était visible, un des animaux présentait, par contre, à l'examen histologique, de nombreuses métastases pulmonaires microscopiques. Le troisième est mort 49 jours après l'inoculation, et présentait, à l'autopsie, de nombreuses tumeurs pulmonaires de 5 mm de diamètre. Il semble donc que malgré ces résultats fragmentaires, cette voie d'inoculation soit à retenir.

CONCLUSION

L'ostéo-chondrosarcome transplantable du cobaye isolé par LAPORTE en 1962 se révèle comme une tumeur expérimentale intéressante. Après vingt passages sur cobayes communs, sa morphologie macroscopique et microscopique, sa durée d'incubation et de développement semblent fixées.

Pratiquement toutes les voies d'inoculation peuvent être utilisées. Nous retiendrons cependant que la voie sous-cutanée dorsale convient pour l'entretien de la souche, les voies intra-musculaire, intra-péritonéale et intra-médiastinale, pour l'obtention rapide d'un matériel abondant, la voie intra-plantaire pour les études histologiques sur la différenciation cartilagineuse du tissu tumoral.

La « virulence » de la tumeur est accusée. Lors d'inoculation intra-péritonéale, il n'est pas rare de voir une tumeur se développer dans le tissu conjonctif sous-cutané au point de pénétration de l'aiguille à injection. La facilité avec laquelle nous l'avons greffée sur membrane chorio-allantoïdienne en est une autre preuve.

Il existe cependant des variations d'un cobaye à l'autre. Ces variations sont peut-être dues à l'hétérogénéité des animaux utilisés. Il paraît donc nécessaire de conserver cette tumeur et d'en poursuivre l'étude sur des cobayes de race pure ; c'est ce que nous avons entrepris avec succès sur des cobayes de la lignée K.

*Services d'Histopathologie
et de Microbiologie Animale
Institut Pasteur, Paris*

BIBLIOGRAPHIE

- COLETSOS (P. J.), ORIOT (E.) et de REGEL (N.). — Les voies intra-médias-tinale et intra-testiculaire dans l'identification et la différenciation des souches bacillaires de virulence atténuée. *Rev. Tuberculose*, 1957, **21**, 952.
- GUILLOIN (J. C.) et DESTOMBES (P.). — Ostéo-chondrosarcome transplan-table du cobaye (souche LAPORTE). Etude anatomo-pathologique. *Ann. Inst. Pasteur*, 1965, **108**, 306.
- LAPORTE (R.) et SILLARD (R.). — Etude immunologique d'un ostéochon-drosarcome spontané du cobaye. *Ann. Inst. Pasteur*, 1963, **105**, 838.
- LAPORTE (R.), SILLARD (R.) et VALLÉE (A.). — Tumeur spontanée trans-missible du cobaye. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, **103**, 299.
-