Irradiation accidentelle et reconstitution lymphocytaire T : données récentes et perspectives

J.-M. BERTHO**, J. AIGUEPERSE*, P. GOURMELON***

(Manuscrit reçu le 20 juin 1998, révisé le 30 septembre 1998, accepté le 3 novembre 1998)

RÉSUMÉ

Les lymphocytes T sont l'une des populations les plus radiosensibles de l'organisme. La reconstitution des lymphocytes T est lente, et des déficits quantitatifs et qualitatifs apparaissent à long terme chez les personnes irradiées. Les mécanismes de la reconstitution lymphocytaire T sont mal connus, et en particulier le rôle joué par le thymus dans cette reconstitution reste peu clair. Le thymus est l'organe lymphoïde primaire dans lequel se différencie l'ensemble des populations lymphocytaires T durant la vie fœtale et post-natale. Le thymus a été considéré pendant longtemps comme étant inactif à l'âge adulte. Cependant, des données récentes montrent que le thymus reste, au moins en partie, fonctionnel à l'âge adulte. Ceci suggère un rôle important du thymus dans l'homéostasie des populations lymphocytaires T, mais aussi dans la reconstitution des lymphocytes T après irradiation, y compris à l'âge adulte. Par ailleurs, des études récentes révèlent que les effets des rayonnements ionisants sont, au moins en partie, responsables des déficits quantitatifs des lymphocytes T observés à long terme après irradiation. Ces données montrent la nécessité de poursuivre l'étude des effets des rayonnements ionisants sur le thymus, en particulier par la recherche de bio-indicateurs du fonctionnement du thymus en situation physiologique normale, mais aussi en situation physiopathologique d'irradiation accidentelle.

ABSTRACT Accidental irradiation and T lymphocyte reconstitution: recent advances and perspectives.

T lymphocytes are one of the most radiosensitive population of the organism. The T lymphocyte reconstitution is delayed, and long lasting quantitative and qualitative deficits after irradiation were described. Mechanisms of T lymphocyte reconstitution are not well defined, and especially the role of the thymus is not known. The thymus is the primary lymphoid organ, where T lymphocytes differentiate during fetal and post-natal life. Until recently, the thymus was considered as completely inactive during adult life. However, recent data showed that the human thymus remains active, at least in part, during adult life. This suggest a role for the thymus in the maintenance of T cell populations in normal situation, but also a role during T lymphocyte populations reconstitution after irradiation, even during adult life. Furthermore, recent studies showed that the effects of ionizing radiations are,

* IPSN, Section Autonome de Radiologie Appliquée à la Médecine, BP 6, 92265 Fontenay-aux-Roses Cedex, France.

** Mél : jean-marc.bertho@ipsn.fr

*** IPSN, Département de Protection de la santé de l'Homme et de Dosimétrie, BP 6, 92265 Fontenay-aux-Roses, Cedex, France.

at least in part, responsible for the long term quantitative deficits observed after irradiation. These data show that more studies are needed to understand the effects of ionizing radiations on the thymus, especially for the definition of bio-indicators of thymus functionality, in normal physiological situation, as well as in the pathological physiological situation of accidental irradiation.

1. Introduction

La lymphopénie radio-induite est l'une des conséquences classiquement décrites des rayonnements ionisants. Les lymphocytes constituent l'une des populations les plus radiosensibles de l'organisme en termes de viabilité (Dutreix *et al.*, 1987). La pente de la chute des lymphocytes est même utilisée en dosimétrie biologique, puisque cette pente est directement proportionnelle à la dose reçue par la victime d'irradiation accidentelle, et ce, dès la dose de 0.5 Gy, en irradiation totale (Flüry-Herard, 1991). Cependant, l'irradiation accidentelle est le plus souvent hétérogène, avec des territoires plus ou moins affectés pouvant contenir des lymphocytes T fonctionnels, ce qui peut expliquer certains échecs rencontrés dans le traitement de victimes d'irradiation accidentelle, en particulier lorsqu'une greffe de moelle osseuse a été réalisée. En effet, la présence de lymphocytes T fonctionnels, même en petites quantités, peut provoquer un rejet de la greffe de moelle osseuse (Champlin, 1988), comme cela a été le cas dans le traitement des victimes de l'accident de Tchernobyl en 1986 (Baranov *et al.*, 1989).

Par ailleurs, la reconstitution des populations lymphocytaires, en particulier des lymphocytes T, après irradiation est très lente et souvent incomplète (Lum, 1987; Atkinson, 1990; Kook *et al.*, 1996), se traduisant par des déficits quantitatifs à long terme après irradiation. Chez des patients traités par irradiation, une diminution du nombre absolu de lymphocytes T a été observée 5 à 11 ans après irradiation (Hancock *et al.*, 1984; Rotstein *et al.*, 1985). Ces déficits quantitatifs ont été corrélés à l'irradiation de différentes parties de l'organisme, en particulier le thymus (Blomgren *et al.*, 1983). D'autre part, des déficits fonctionnels des sous-populations lymphocytaires T, telle qu'une diminution des réponses des lymphocytes T cytotoxiques et des lymphocytes T helper, ont été mis en évidence chez des patients irradiés pour raison thérapeutique (Rotstein *et al.*, 1985) ou chez les victimes d'Hiroshima et de Nagasaki (Akiyama *et al.*, 1989; Akiyama, 1995). Ces déficits fonctionnels ont été associés de façon indirecte à un défaut de la différenciation des lymphocytes T après irradiation (Rotstein *et al.*, 1985; Akiyama *et al.*, 1989; Nagasawa *et al.*, 1991). Cependant, les mécanismes de la reconstitution lymphocytaire T après irradiation et les raisons de l'apparition de ces déficits radio-induits restent mal connus.

2. Reconstitution lymphocytaire T après irradiation : où et comment ?

Durant la vie fœtale et post-natale, et en situation physiologique normale, les pré-curseurs lymphocytaires T migrent depuis la moelle osseuse vers le thymus où ils

se différencient pour générer l'ensemble des populations lymphocytaires T matures et fonctionnelles du sang périphérique capables de distinguer les antigènes du soi et du non-soi, de reconnaître et de réagir contre les antigènes étrangers (von Boehmer *et al.*, 1990). Chaque étape de la différenciation lymphocytaire T dans le thymus est caractérisée par l'expression d'un ensemble d'antigènes de membrane (Fig. 1). Cette différenciation des thymocytes est étroitement contrôlée par les cellules du microenvironnement thymique (ou cellules stromales) composées essentiellement de cellules épithéliales, de fibroblastes, de cellules dendritiques et de macrophages (Boyd *et al.*, 1993a). Les cellules stromales contrôlent la différenciation lymphocytaire T au travers de la production de cytokines, de l'expression de molécules d'adhésion intercellulaire et de la production de la matrice extra-cellulaire (Boyd *et al.*, 1993b ; Carding *et al.*, 1996). Cette différenciation thymique aboutit à la production des deux grandes populations de lymphocytes T, helper $CD4^+$ et cytotoxiques $CD8^+$. Ces deux populations expriment l'antigène $CD45RA$, caractéristique des lymphocytes T naïfs, c'est-à-dire des lymphocytes T nouvellement produits par le thymus et n'ayant jamais rencontré et reconnu d'antigène (Fig. 1). Par la suite, ces lymphocytes naïfs, après avoir réagi contre l'antigène qu'ils sont capables de reconnaître, vont perdre leur phénotype de cellules naïves $CD45RA^+$ pour devenir des lymphocytes T mémoires exprimant l'antigène $CD45RO$ (Sprent *et al.*, 1997).

L'une des caractéristiques du thymus est qu'il subit une involution progressive (Steinmann, 1986) avec une diminution de sa capacité à soutenir la prolifération et la différenciation des précurseurs lymphocytaires T. De ce fait, le thymus a longtemps été considéré comme n'ayant aucun rôle à l'âge adulte, que ce soit dans le renouvellement des populations de lymphocytes T naïfs en situation physiologique normale, ou dans la reconstitution lymphocytaire T après irradiation (Stratton *et al.*, 1975) ou greffe de moelle osseuse chez l'adulte. L'hypothèse couramment admise était que les populations T se mettent en place durant la vie fœtale et post-natale, et que le renouvellement des populations T ou la reconstitution des lymphocytes T se faisait par amplification d'un petit nombre de lymphocytes T résiduels dans les organes lymphoïdes secondaires tels que les ganglions lymphatiques.

3. Thymus, organe actif durant la vie adulte

Ce concept classique d'involution du thymus de l'adulte et de reconstitution lymphocytaire T est remis en cause par certains arguments indirects et récents qui suggèrent que le thymus humain reste actif durant la vie adulte. L'étude de la reconstitution immunitaire à la suite d'une greffe de moelle osseuse chez l'adulte montre que les lymphocytes T réapparaissent dans le sang et les organes lymphoïdes secondaires selon une cinétique proche de ce qui est observé chez l'enfant (Huiskamp *et al.*, 1985a ; Nagasawa *et al.*, 1991). Ceci suggère que la reconstitution se fait de façon similaire à ce qui se passe durant la vie fœtale et post-natale : c'est la « récapitulation de l'ontogénie » thymique (Lum, 1987 ; Atkinson, 1990).

Fig. 1 – Schéma de la différenciation lymphocytaire T. Les lymphocytes T se différencient à partir des cellules souches de la moelle osseuse. Les cellules souches se différencient d'abord en précurseurs lymphoïdes avant de sortir de la moelle osseuse pour migrer dans le thymus. Chaque étape de la différenciation lymphocytaire T est caractérisée par l'expression d'un ensemble d'antigènes de membrane, dont les appellations sont normalisées sous le terme de cluster de différenciation (CD). HLA-DR: antigènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité; TcR: récepteur à l'antigène des cellules T, capable de reconnaître un antigène étranger de façon spécifique.

Schematic representation of T cell differentiation. T lymphocytes arise from bone marrow stem cells, which first differentiate into lymphoid precursors before migrating to the thymus. Each step of T cell differentiation is characterized by the expression of a specific set of membrane antigens, termed Cluster of Differentiation (CD). HLA-DR: Major histocompatibility Class II antigens; TcR: T lymphocyte antigen receptor, able to recognize specifically a foreign antigen.

Fig. 2 – Modèle dynamique d'homéostasie des populations lymphocytaires T humaines. Ce modèle, par opposition à ce qui était précédemment admis, prend en compte la capacité du thymus humain à produire des cellules naïves durant la vie adulte. Cependant, la contribution relative du thymus diminue avec l'âge et avec l'augmentation en parallèle de la contribution des mécanismes d'expansion périphérique des cellules mémoires. Une irradiation accidentelle va induire une aplasie du thymus et des populations lymphocytaires T. La reconstitution se fait pour partie par l'amplification périphérique des cellules mémoires et pour partie dans le thymus pour les cellules naïves, mais avec un déficit lié aux effets de l'irradiation sur le thymus (lignes en pointillés).

A dynamic model for T lymphocyte homeostasis. This model, in contrast to previous models, take in account the ability of the human adult thymus to produce naïve T cells during adult life. However, the relative contribution of the thymus decreases with age and with the parallel augmentation of the peripheral expansion mechanisms of memory T cells. An accidental irradiation induces a thymic and peripheral aplasia of T lymphocyte population. The reconstitution arise in part from the peripheral amplification of residual T cells, and in part from the thymus for naïve T lymphocytes, but with a deficiency due to the effects of ionizing radiations (dotted lines).

Plus récemment, il a été démontré que la reconstitution après greffe de moelle osseuse des cellules T naïves exprimant l'antigène de membrane *CD45RA* est directement liée à l'activité du thymus (Heitger *et al.*, 1997 ; Cavenagh *et al.*, 1997). De même, un traitement expérimental de greffe de thymus associée à une greffe de moelle osseuse chez des patients atteints du syndrome de DiGeorges (déficit immunitaire résultant de l'absence congénital de thymus) a montré que la présence de cet organe est indispensable à la reconstitution immunitaire après greffe de moelle osseuse (Market *et al.*, 1997). Ces arguments indirects sont confirmés par les rares études directes qui ont pu être faites sur le thymus à l'âge adulte. Une étude histologique a montré que, malgré l'involution que subit cet organe, le thymus est toujours présent durant la vie adulte et qu'il contient des zones de différenciation lymphocytaires

T actives, et ce, au moins jusqu'à l'âge de 90 ans (Steinmann, 1986). D'autres études histologiques du thymus après greffe de moelle osseuse ont montré que la reconstitution des populations lymphocytaires T dans le sang périphérique était précédée de la réapparition des populations en cours de différenciation dans le thymus (Thomas *et al.*, 1986; Müller-Hermelink *et al.*, 1987). Les travaux récents de notre laboratoire (Bertho *et al.*, 1997) ont permis de montrer que le thymus humain contient une densité de cellules très importante dans la période post-natale (de l'ordre de 8×10^8 à 12×10^8 cellules par gramme) qui diminue à partir de l'âge de 9 mois. Nos résultats montrent aussi qu'à partir de l'âge de 30 ans, le thymus de l'adulte contient toujours des thymocytes, en densité pratiquement constante au moins jusqu'à l'âge de 50 ans (environ 6×10^7 cellules par gramme), avec les mêmes étapes de différenciation que celles observées chez l'enfant (Bertho *et al.*, 1997). Par ailleurs, il a été démontré chez la souris que le thymus est capable d'exporter de 0,1 % à 1 % de son contenu cellulaire par jour (Scollay *et al.*, 1980). Dans la mesure où ces dernières données, obtenues chez la souris, sont extrapolables à l'homme, et sachant que le thymus humain a un poids moyen constant de 22 grammes, nos résultats suggèrent que le thymus de l'adulte est capable d'exporter environ $1,3 \times 10^7$ lymphocytes T matures par jour. L'ensemble de ces arguments tend à montrer que le thymus de l'adulte joue un rôle actif dans la dynamique des populations lymphocytaires T à l'âge adulte (Fig. 2). Durant la vie fœtale et post-natale, le thymus joue un rôle prépondérant lors de la mise en place du système immunitaire (Modigliani *et al.*, 1994). Dans le même temps, les mécanismes d'expansion périphérique et d'apparition de la mémoire immunitaire commencent à apparaître (Modigliani *et al.*, 1994). Par la suite, lorsque l'activité du thymus commence à diminuer, ces mécanismes d'expansion périphérique prennent de plus en plus d'importance dans le maintien de l'homéostasie lymphocytaire T (Fig. 2). Cependant, le thymus reste capable de maintenir une production de lymphocytes T naïfs qui contribue au maintien des populations de lymphocytes T $CD45RA^+$ en périphérie (Fig. 2). L'une des conséquences est que le thymus, non seulement est capable d'assurer, au moins en partie, le renouvellement des populations lymphocytaires T en situation physiologique normale, mais aussi de soutenir la reconstitution des lymphocytes T après irradiation ou greffe de moelle osseuse (Lum, 1987; Atkinson, 1990). Dans ce cas, les déficits quantitatifs et qualitatifs observés à long terme après irradiation ou après greffe de moelle osseuse chez l'adulte comme chez l'enfant pourraient être expliqués par les effets de l'irradiation sur le thymus comme ceci a été proposé par certains auteurs (Rotstein *et al.*, 1985; Wiedmeier *et al.*, 1988; Akiyama *et al.*, 1989).

4. Effets de l'irradiation sur le thymus humain

Les premiers travaux portant sur l'effet des rayonnements ionisants sur le thymus ont été réalisés chez la souris. Ces travaux ont immédiatement mis en évidence la radiosensibilité très élevée des thymocytes, puisque des doses faibles d'irradiation induisent une atrophie sévère de l'organe avec la déplétion des thymocytes (Kadish

et al., 1975). Par la suite, il a été montré que cette radiosensibilité élevée était due à l'induction d'un phénomène d'apoptose (ou mort cellulaire programmée) massive parmi les thymocytes (Lowe *et al.*, 1993; Clarke *et al.*, 1993). L'étude cinétique de la reconstitution des thymocytes après irradiation chez la souris a montré l'existence de deux phases (Huiskamp *et al.*, 1983). Une première phase de reconstitution partielle et transitoire a été attribuée à l'existence de précurseurs intrathymiques radorésistants (Kadish *et al.*, 1975; Fredrickson *et al.*, 1994). Une deuxième phase de reconstitution permettrait ensuite une régénération à long terme du thymus, à partir des précurseurs lymphocytaires T de la moelle osseuse. Cependant, ces mêmes travaux ont montré que la reconstitution des populations de thymocytes à long terme était incomplète. En effet, il reste toujours un déficit de 10 à 20 % du nombre de cellules dans le thymus des animaux irradiés, par rapport à des animaux de même âge, mais non irradiés (Huiskamp *et al.*, 1983). D'autres études ont aussi montré que l'irradiation induisait une désorganisation de l'architecture du thymus (Müller-Hermelink *et al.*, 1987) avec des modifications d'expression de certains antigènes de membrane par les cellules stromales. Ces auteurs ont montré en particulier la diminution radio-induite de l'expression des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II par les cellules épithéliales (Huiskamp *et al.*, 1985b). L'expression de ces antigènes par les cellules stromales du thymus est particulièrement importante dans le contrôle de la différenciation intrathymique. Certains auteurs ont suggéré que ces modifications des cellules stromales étaient responsables de modifications de la différenciation des thymocytes chez la souris (Hirokawa *et al.*, 1984; Huiskamp *et al.*, 1985a; Amagai *et al.*, 1987), au travers la modification radio-induite de la capacité des cellules stromales à soutenir la différenciation lymphocytaire T.

Chez l'homme, peu de choses sont connues sur les effets des rayonnements ionisants sur le thymus, et les données disponibles sont pour l'essentiel des informations indirectes issues de l'étude des patients de radiothérapie. Ainsi, l'étude de patients irradiés en préparation à une greffe de moelle osseuse a montré la grande radiosensibilité des populations de lymphocytes T *in vivo* après des doses d'irradiation γ de 2 à 4 Gy (Clave *et al.*, 1995). Différentes équipes ont comparé la composition des populations lymphocytaires T à long terme après irradiation chez des patients ayant suivi une radiothérapie de différentes régions de l'organisme. Ces études ont permis de montrer que les patients ayant reçu une irradiation ganglionnaire totale, incluant le thymus, présentaient 5 à 11 ans après irradiation, des déficits quantitatifs et qualitatifs des populations lymphocytaires T (Hancock *et al.*, 1984; Rotstein *et al.*, 1985).

D'autres informations proviennent du suivi des victimes d'irradiation accidentelle. L'étude des lymphocytes T des victimes de Hiroshima et de Nagasaki a permis de montrer l'existence de déficits fonctionnels des lymphocytes T pour les fonctions qui sont spécifiquement acquises au cours de la différenciation intrathymique (Akiyama *et al.*, 1989; Akiyama, 1995). De même, une étude portant sur les liquidateurs de Tchernobyl a montré un déficit de la production d'une hormone produite par le thymus, l' α 1-thymosine (Yarilin *et al.*, 1993).

Fig. 3 – Modèle in vitro de prolifération et de différenciation des précurseurs lymphocytaires T humains. Ce modèle est basé sur la co-culture de cellules stromales du thymus et de précurseurs lymphocytaires T purifiés. La dichotomie entre les deux populations permet d'étudier les effets de l'irradiation sur l'une des deux populations, ici les cellules stromales, et les répercussions de ces effets sur l'autre population, les précurseurs lymphocytaires T humains.

An in vitro model of human T lymphocyte precursors proliferation and differentiation. This model is based on the co-culture of thymic stromal cells and T lymphocyte precursors. The separation between the two cell types allows the study of the effects of ionizing radiations on one of the two populations, here, the stromal cell population, and the consequences of these effects on the other population, the T lymphocyte precursors.

Cependant, ces études ne donnent que des informations indirectes sur les effets des rayonnements ionisants sur le thymus. La seule étude directe du thymus après irradiation a été faite chez des patients décédés après greffe de moelle osseuse. Cette étude a permis de montrer que l'irradiation induisait une désorganisation de l'architecture du thymus plus importante que d'autres traitements immuno-suppresseurs comme la chimiothérapie (Müller-Hermelink *et al.*, 1987). Bien que ces arguments soient en faveur de l'hypothèse d'un effet de l'irradiation sur la

fonction de soutien de la différenciation lymphocytaire T des cellules stromales, aucune étude directe n'a permis jusqu'à récemment de tester les effets des rayonnements ionisants sur les cellules stromales thymiques humaines.

C'est l'utilisation d'un modèle humain de différenciation lymphocytaire T *in vitro*, récemment mis au point (Tjonfjord *et al.*, 1993 ; Freedman *et al.*, 1996), qui a permis ce type d'étude. Ce modèle est constitué par la co-culture de cellules stromales thymiques et de précurseurs lymphocytaires T isolés à partir de thymus (Fig. 3). Un tel modèle expérimental permet d'irradier les cellules stromales et d'étudier les conséquences de cette irradiation sur la prolifération et la différenciation des précurseurs lymphocytaires T, qui eux, n'ont pas été irradiés (Bertho *et al.*, 1998). L'utilisation de ce modèle *in vitro* nous a permis de montrer que les rayonnements ionisants modifient la production de facteurs solubles par les cellules stromales thymiques, et que cette modification induit une diminution de la prolifération des précurseurs lymphocytaires T d'environ 30 % (Bertho *et al.*, 1998). En revanche, aucune modification de la différenciation des précurseurs lymphocytaires T n'a pu être mise en évidence après irradiation, par rapport aux co-cultures non-irradiées. Ces résultats ne permettent donc pas d'expliquer les modifications fonctionnelles des lymphocytes T à long terme après irradiation. Cependant, ce modèle ne donne pas une image complète de la différenciation intrathymique et une étude plus fine de la différenciation thymique dans d'autres modèles comme les souris SCID humanisées pourrait donc permettre de montrer de telles modifications de la différenciation lymphocytaire T après irradiation. En revanche, la diminution radio-induite de la capacité des cellules stromales thymiques à soutenir la prolifération des précurseurs lymphocytaires T observée dans notre modèle, si elle est extrapolable à la situation *in vivo*, permet de comprendre les délais importants observés dans la reconstitution lymphocytaire T après irradiation et/ou greffe de moelle osseuse, mais aussi les déficits quantitatifs en lymphocytes T observés à long terme après irradiation. En effet, si le thymus n'est plus capable d'assurer la production journalière de lymphocytes T naifs à la suite d'une irradiation (Fig. 2), l'homéostasie des populations lymphocytaires T ne sera plus assurée, et des déficits quantitatifs en lymphocytes T naifs et mémoires vont apparaître. C'est donc tout l'équilibre des populations lymphocytaires T, et par conséquent le fonctionnement du système immunitaire, qui sont mis en jeu à la suite de l'irradiation du thymus.

5. Thymus et irradiation accidentelle : recherche d'un bio-indicateur d'effet

Au regard des données récentes sur la physiologie du thymus et de sa radiosensibilité, il apparaît important de poursuivre les études sur les effets de l'irradiation sur le thymus. En effet, l'éventuelle présence d'un précurseur intrathymique radorésistant chez l'homme, tel que ceci a été démontré chez la souris (Kadish *et al.*, 1975 ; Fredrickson *et al.*, 1994) reste hypothétique. L'existence d'un tel précurseur radorésistant est importante, puisqu'il pourrait être à l'origine d'une

reconstitution transitoire des lymphocytes T, et donc responsable des rejets de greffe de moelle osseuse observés dans le traitement des victimes d'irradiation accidentelle (Baranov *et al.*, 1989). À cet égard, le modèle humain de différenciation lymphocytaire T *in vitro* décrit précédemment pourrait être utilisé pour l'identification d'un tel précurseur radiorésistant.

Cependant, ce type d'étude est indissociable des études sur le vieillissement du thymus et du système immunitaire puisque l'homéostasie des populations lymphocytaires T varie en fonction de l'âge. Dans cette optique, il est particulièrement important de disposer d'un (ou de plusieurs) bio-indicateur du degré de fonctionnement du thymus, aussi bien en situation physiologique normale qu'après irradiation. Les travaux de Savino et Dardenne (1984) et de Yarilin (1993) suggèrent qu'un tel bio-indicateur pourrait être constitué par le dosage sérique de certaines hormones produites par le thymus, comme la thymuline ou l' α 1-thymosine. Un tel bio-indicateur permettrait non seulement de quantifier l'aplasie thymique radio-induite, mais aussi de rechercher des traitements efficaces contre le vieillissement du système immunitaire. De tels traitements peuvent déjà être envisagés puisqu'il a été montré chez la souris que l'utilisation de l'IL-7, cytokine active sur les précurseurs lymphocytaires T (Schmitt *et al.*, 1993 ; Plum *et al.*, 1994), permet d'accélérer la reconstitution immunitaire après irradiation (Faltynek *et al.*, 1992).

Remerciements : Les auteurs remercient E. Soler pour son assistance administrative, C. Demarquay pour son aide technique, les Drs N. Moulian et S. Berrih-Adkin pour les prélèvements de thymus et les discussions fructueuses, et les Drs M.H. Gaugler, M.A. Mouthon et A. van Der Meeren pour leur regard critique sur les expériences et dans la préparation du manuscrit.

RÉFÉRENCES

- Akiyama M. (1995) Late effects of radiation on the human immune system: an overview of immune response among the atomic-bomb survivors. *Int. J. Radiat. Biol.*, **68**, 497-508.
- Akiyama M., Zhou O.L., Kusunoki Y., Kyoizumi S., Kohno N., Akiba S., Delongchamp R.R. (1989) Age and dose related alteration of *in vitro* mixed lymphocyte culture response of blood lymphocyte from A-bomb survivors. *Radiat. Res.*, **117**, 26-34.
- Amagai T., Kina T., Hirokawa K.I., Nishikawa S.I., Imanishi J., Katsura Y. (1987) Dysfunction of irradiated thymus for the development of helper T cells. *J. Immunol.*, **139**, 358-364.
- Atkinson K. (1990) Reconstruction of the haemopoietic and immune systems after marrow transplantation. *Bone Marrow transplant.*, **5**, 209-226.
- Baranov A., Gale R.P., Guskova A., Piatkin E., Selidovkin G., Myravyova L., Champlin R.E., Danilova N., Yevseeva L., Petrosyan L., Pushkareva S., Konchalovsky M., Gordeeva A., Protasova T., Reisner Y., Mickey M.R., Terasaki P.I. (1989) Bone marrow transplantation after the Chernobyl nuclear accident. *New Eng. J. Med.*, **321**, 205-212.
- Bertho J.M., Demarquay C., Moulian N., van Der Meeren A., Gourmelon P. (1997) Phenotypic and immunohistological analyses of the human adult thymus: Evidence for an active thymus during adult life. *Cell. Immunol.*, **179**, 30-40.

- Bertho J.M., Gourmelon P. (1998) Human thymic stromal cell irradiation reduces intrathymic T cell precursor proliferation: Evidence for a soluble mediator. *Int. J. Radiat. Biol.*, **74**, 387-396.
- Blomgren H., Edsmyr F., Naslund I., Petrini B., Wasserman J. (1983) Distribution of lymphocyte subsets following radiation therapy directed to different body regions. *Clin. Oncol.*, **9**, 289-298.
- Boyd R.L., Hugo P. (1993a) Towards an integrated view of thymopoiesis. *Immunol. Today*, **12**, 71-79.
- Boyd R.L., Tucek C.L., Godfrey D.I., Izon D.J., Wilson T.J., Davidson N.J., Bean A.G.D., Ladyman H.M., Ritter M.A., Hugo P. (1993b) Inside the thymus: The thymic microenvironment. *Immunol. Today*, **14**, 445-459.
- Carding S.R., Hayday A.C., Bottomly K. (1991) Cytokines in T-cell development. *Immunol. Today*, **12**, 239-245.
- Cavenagh J.D., Milne T.M., Macey M.G., Newland, A.C. (1997) Thymic function in adults: Evidence derived from immune recovery patterns following myeloablative chemotherapy and stem cell infusion. *Br. J. Haematol.*, **97**, 673-676.
- Champlin C. (1988) Treatment for victims of nuclear accidents: The role of bone marrow transplantation. *Rad. Res.*, **113**, 205-210.
- Clarke A.R., Purdie C.A., Harrison D.J., Morris R.G., Bird C.C., Hooper M.L., Wyllie A.H. (1993) Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. *Nature*, **362**, 849-852.
- Clave E., Socié G., Cosset J.M., Chaillet M.P., Tartour E., Girinsky T., Carosella E., Fridman E., Gluckman E., Mathiot C. (1995) Multicolor flow cytometry analysis of blood cell subsets in patients given total body irradiation before bone marrow transplantation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **33**, 881-886.
- Dutreix J., Girinsky T., Cosset J.M., Bernard A., Pico J., Baume D., Bayle Ch., Benk V. (1987) Blood cell kinetics and total body irradiation. *Radiother. Oncol.*, **9**, 119-129.
- Faltynek C.R., Wang S., Miller D., Young E., Tiberio L., Kross K., Kelley M., Kloszewski E. (1992) Administration of human recombinant IL-7 to normal and irradiated mice increases the numbers of lymphocytes and some immature cells of the myeloid lineage. *J. Immunol.*, **149**, 1276-1282.
- Flüry-Herard A. (1991) Dosimétrie hématologique. *Radioprotection*, **26**, 159-170.
- Fredrickson G.G., Basch R.S. (1994) Early thymic regeneration after irradiation. *Dev. Comp. Immunol.*, **18**, 251-263.
- Freedman A.R., Zhu H., Levine J.D., Kalams S., Scadden D.T. (1996) Generation of human T lymphocytes from bone marrow CD34⁺ cells *in vitro*. *Nature Med.*, **2**, 46-51.
- Hancock B.W., Bruce L., Whitman M.D., Ward A.M. (1984) The effects of radiotherapy on immunity in patients with cured localized carcinoma of the Cervix Uteri. *Cancer*, **53**, 884-887.
- Heitger A., Neu N., Kern H., Panzer-Grünmayer E.R., Greinix H., Nachbaur D., Niederwieser D., Fink F.M. (1997) Essential role of the thymus to reconstitute naïve (CD45RA⁺) T-helper cells after human allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, **90** 850-857.
- Hirokawa K., Sado T. (1984) Radiation effects on regeneration and T-cell-inducing function of the thymus. *Cell. Immunol.*, **84**, 372-379.
- Huiskamp R., Davids J.A.G., Vos O. (1983) Short- and long-term effects of whole-body irradiation with fission neutrons or X-rays on the thymus in CBA mice. *Radiat. Res.*, **95**, 370-381.
- Huiskamp R., Van Ewijk W. (1985a) Repopulation of the mouse thymus after sublethal fission neutron irradiation. I. Sequential appearance of thymocyte subpopulations. *J. Immunol.*, **134**, 2161-2169.
- Huiskamp R., Van Vliet E., Van Ewijk W. (1985b) Repopulation of the mouse thymus after sublethal fission neutron irradiation. II. Sequential changes in the thymic microenvironment. *J. Immunol.*, **134**, 2170-2178.
- Kadish J.L., Basch R.S. (1975) Thymic regeneration after lethal irradiation: Evidence for an intra-thymic radioresistant T cell precursor. *J. Immunol.*, **114**, 452-458.
- Kook H., Goldman F., Padley D., Giller R., Rumelhart S., Holida M., Lee N., Peters C., Comito M., Huling D., Trigg M. (1996) Reconstitution of the immune system after unrelated or partial matched T-cell-depleted bone marrow transplantation in children: Immunophenotypic analysis and factors affecting the speed of recovery. *Blood*, **88**, 1089-1097.
- Lowe S.W., Schmitt E.M., Smith S.W., Osborne B.A., Jacks T. (1993) p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature*, **362**, 847-849.

- Lum L.G. (1987) The kinetics of immune reconstitution after human bone marrow transplantation. *Blood*, **69**, 369-380.
- Market M.L., Kostyu D.D., Ward F.E., McLaughkin T.M., Watson T.J., Buckley R.H., Schiff S.E., Ungerleider R.M., Gaynor J.W., Oldham K.T., Mahaffey S.M., Ballow M., Driscoll D.A., Hale L.P., Haynes B.F. (1997) Successful formation of a chimeric human thymus allograft following transplantation of cultured postnatal human thymus. *J. Immunol.*, **158**, 998-1005.
- Modigliani Y., Coutinho G., Buren-Defranoux O., Coutinho A., Bandeira A. (1994) Differential contribution of thymic outputs and peripheral expansion in the development of peripheral T cell pools. *Eur. J. Immunol.*, **24**, 1223-1227.
- Müller-Hermelink H.K., Sale G.E., Borisch B., Storb R. (1987) Pathology of the thymus after allogeneic bone marrow transplantation in man. A histologic immunohistochemical study of 36 patients. *Am. J. Pathol.*, **129**, 242-256.
- Nagasawa M., Morio T., Takagi S., Yata J. (1991) Generation and function of $\gamma\delta$ T cells after allogeneic bone marrow transplantation in humans: Comparison in absence or presence of HLA-matched or mismatched thymus. *Acta Paediatr. Jpn*, **33**, 146-158.
- Plum J., De Smedt M., Leclercq G., Verhasselt B., Vandekerckhove B. (1996) Interleukin-7 is a critical growth factor in early human T-cell development. *Blood*, **88**, 4239-4254.
- Rotstein S., Blomgren H., Petrini B., Wasserman J., Baral E. (1985) Long term effects on the immune system following local therapy for breast cancer. I. Cellular composition of the peripheral blood lymphocyte population. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Physic*, **11**, 921-925.
- Savino, W., Dardenne M. (1984) Thymic hormone-containing cells VI. Immunohistologic evidence for the simultaneous presence of thymulin, thymopoietin and thymosin α 1 in normal and pathological human thymuses. *Eur. J. Immunol.*, **14**, 987-991.
- Schmitt C., Ktorza S., Sarun S., Blanc C., De Jong R., Debre, P. (1993) CD34-expressing human thymocyte precursors proliferate in response to interleukin-7 but have lost myeloid differentiation potential. *Blood*, **82**, 3675-3685.
- Scolley R.G., Butcher E.C., Weissman I.L. (1980) Thymus cell migration. Quantitative aspects of cellular traffic from the thymus to the periphery in mice. *Eur. J. Immunol.*, **10**, 210-218.
- Sprent J. (1997) Immunological memory. *Cur. Op. Immunol.*, **9**, 371-379.
- Steinmann G.G. (1986) Changes in the human thymus during aging. Dans: "The human thymus", Current topics in pathology (Müller-Hermelink H.K. ed.) **75**, pp. 43-88, Springer-Verlag.
- Stratton J.A., Byfield P.E., Byfield J.E., Small R.C., Benfield J., Pilch Y. (1975) A comparison of the acute effects of radiation therapy, including or excluding the thymus, on the lymphocyte subpopulations of cancer patients. *J. Clin. Invest.*, **56**, 88-97.
- Thomas J.A., Sloane J.P., Imrie S.F., Ritter M.A., Schuurman H.J., Huber J. (1986) Immunohistology of the thymus in bone marrow transplant recipients. *Am. J. Pathol.*, **122**, 531-540.
- Tjonnfjord G.E., Veiby O.P., Steen R., Egeland T. (1993) T lymphocyte differentiation in vitro from adult human prethymic CD34⁺ bone marrow cells. *J. Exp. Med.*, **177**, 1531-1539.
- Von Boehmer H., Kisielow P. (1990) Self-nonself discrimination by T cells. *Science*, **248**, 1369-1373.
- Wiedmeier S.E., Samlowski W.E., Rasmussen C.J., Huang K., Daynes R.A. (1988) Effects of ionizing radiation on thymic epithelial cell function. I. Radiation-spared thymic epithelial grafts expedite the recovery of T cell function in lethally irradiated and fetal liver reconstituted mice. *J. Immunol.*, **140**, 21-29.
- Yarilin A.A., Belyakov I.M., Kusmenok O.I., Arshinov V.Y., Simonova A.V., Nadezhina N.M., Gnezditskaya E.V. (1993) Late T cell deficiency in victims of the Chernobyl radiation accident: Possible mechanisms of induction. *Int. J. Radiat. Biol.*, **63**, 519-528.