



HAL
open science

COOPÉRATION LYMPHOCYTAIRE T-B POUR L'EXPRESSION DU VIRUS LEUCÉMOGÈNE BOVIN (BLV)

D. Levy, Kettmann R, Djilali S, Marchand P, Minoprio P, André-Laurent
Parodi

► **To cite this version:**

D. Levy, Kettmann R, Djilali S, Marchand P, Minoprio P, et al.. COOPÉRATION LYMPHOCYTAIRE T-B POUR L'EXPRESSION DU VIRUS LEUCÉMOGÈNE BOVIN (BLV). *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1987, 18 (3), pp.316-317. hal-00901740

HAL Id: hal-00901740

<https://hal.science/hal-00901740>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Dix-neuf moutons ont été infectés par le BLV, par une injection intrapéritonéale de lymphocytes provenant d'une vache BLV+. L'état d'infection de ces animaux a été contrôlé par deux tests sérologiques: l'immuno-diffusion en gélose et le test radio-immunologique. Nous avons alors entrepris le typage des lymphocytes, au cours des 36 mois après l'inoculation (pi). Il s'agissait de suivre la variation de numération des lymphocytes circulants, ainsi que les taux relatifs de lymphocytes B et T. Les lymphocytes B ont été caractérisés par la présence d'immunoglobulines de surface (IgS), mises en évidence par immuno-fluorescence directe (IF). Les lymphocytes T ont été marqués par le Peanut agglutinin (PNA) fluorescente.

Après 36 mois pi, 12 animaux sur les 19 infectés avaient développé une leucémie, avec des taux de lymphocytes atteignant $91\,000/\text{mm}^3$ de sang. A ce moment, les lymphocytes B (IgS+), constituaient $51,4 \pm 19,9\%$ (41 à 87 %) des lymphocytes circulants; alors que cette même population n'est que de $20,4 \pm 4,72\%$ chez les moutons témoins.

Parallèlement, le taux de lymphocytes T (PNA+) s'effondrait chez les animaux leucémiques, en passant de $58 \pm 6,31\%$ (animaux témoins) à $24,7 \pm 13,8\%$ (7 à 32 %).

La chronicité de ces troubles, et les résultats exposés ci-dessus permettent d'assimiler ces désordres hématologiques à une leucémie lymphoïde chronique à cellules B.

Par ailleurs, cinq cas de LSA ont été observés jusqu'à aujourd'hui. Parmi ceux-ci, quatre avaient présenté une leucémie avant de mourir. L'étude nécropsique a révélé des localisations très diverses de la tumeur, touchant les ganglions lymphatiques superficiels et profonds ainsi que plusieurs organes (tube digestif, rein, cœur, poumon...).

Dans deux cas étudiés et par IF, les cellules isolées des tumeurs étaient à plus de 95 % IgS+.

L'étude cyto-histologique a confirmé le LSA. L'analyse cytologique de quatre cas a révélé que les cellules tumorales possédaient les caractères de lymphocytes B, et étaient de type centroblastique et immunoblastique. Selon la classification de Ktei des lymphomes humains non-hodgkiniens, adaptée aux LSA bovins (Parodi *et al* 1980), le LSA induit par le BLV chez le mouton a été qualifié de lymphome malin centroblastique polymorphe.

Références

- Burny A, Bruck C, Chantrenne H, Cleuter Y, Dekegel D, Ghysdael J, Kettmann R, Leclercq M, Leunen J, Mammerickx M, Portetelle D, 1980. Bovine Leukemia Virus: molecular biology and epidemiology in viral oncology. Klein G (ed). Raven Press, New York
- Djilali S, 1985. Contribution à l'étude de l'infection du mouton (*Ovis aries*) par le virus leucémogène bovin (BLV): conséquences pathologiques de l'infection expérimentale: nature de la cellule réceptive. Thèse de Doctorat de 3^e cycle. Paris VI
- Parodi AL, Mialot M, Crespeau F, Levy D, Salmon H, Nogues G, Gérard-Marchant R, 1980. Attempt for a new cytological and cytoimmunological classification of bovine malignant lymphoma (BML). Fourth international symposium on Bovine Leukosis. Bologne

COOPÉRATION LYMPHOCYTAIRE T-B POUR L'EXPRESSION DU VIRUS LEUCÉMOGÈNE BOVIN (BLV)

LEVY D¹, KETTMANN R², DJILALI S¹, MARCHAND P¹, MINOPRIO P¹ et PARODI AL¹

1: INRA, Laboratoire associé d'Anatomie Pathologique et Immunogénétique, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 94700 Maisons-Alfort, France

2: Laboratoire de Biologie Moléculaire, Université Libre de Bruxelles, Belgique

Expérimentalement, le mouton peut être aisément infecté par le BLV, et développe alors un lymphosarcome avec une fréquence plus élevée et une latence plus courte que les bovins. Chez le mouton infecté, le virus n'est mis en évidence qu'après culture *in vitro* des lymphocytes et après stimulation par la PHA. L'étude menée sur des populations lymphocytaires purifiées a permis de démontrer que l'inté-

gration et l'expression du BLV se produisent exclusivement au niveau du lymphocyte B après stimulation vraisemblable par un facteur produit par le lymphocyte T.

Les conditions optimales de culture pour l'expression virale ont été déterminées par un test d'immuno-fluorescence avec des anticorps monoclonaux anti-gp 51 BLV. L'antigène viral est révélé dans les lymphocytes périphériques des moutons infectés après mise en culture *in vitro* en présence de PHA. Les mitogènes des lymphocytes B, LPS ou sulfate de dextrane, n'ont aucun effet sur la production virale. Les lymphocytes T et B ont été séparés par immuno-absorption sur plaques revêtues d'anticorps anti-immunoglobulines de mouton. Les cellules adhérentes sont constituées majoritairement de lymphocytes porteurs d'immunoglobulines de surface (92 à 96 %), alors que la population non adhérente n'en contient que très peu. Dans ces conditions, le virus n'est exprimé qu'au niveau de la population adhérente. A l'inverse, les lymphocytes T purifiés ne produisent pas de virus. Il convient de souligner que la production virale est plus faible dans la population enrichie en B que dans la population lymphocytaire totale, suggérant le rôle des lymphocytes T. Bien plus, le milieu de culture en présence de PHA de lymphocytes T normaux active la production de BLV par les lymphocytes B infectés.

L'intégration génomique du BLV a été étudiée par hybridation du DNA cellulaire avec une sonde de DNA complémentaire du BLV. Cette sonde a montré la présence de sites multiples d'intégration du BLV dans le DNA des lymphocytes B purifiés, et l'absence d'infection des lymphocytes T.

Ces résultats constituent la première démonstration que le BLV n'infecte que les lymphocytes B, mais surtout ils permettent d'envisager le rôle d'une coopération entre lymphocytes T et B pour l'expression du virus. Le tropisme sélectif du BLV pour le lymphocyte B (ou une sous-population B ?) devrait être médié par une affinité particulière de l'enveloppe virale pour un récepteur cellulaire. L'infection virale induit une réponse humorale aisément détectable. Au moment de l'infection, la compétence immunologique n'est donc pas altérée. L'expression du virus n'est observée qu'après culture *in vitro* des lymphocytes infectés, en présence de mitogènes. C'est donc quand les lymphocytes prolifèrent qu'un signal de prolifération préférentielle pourrait être donné à certains lymphocytes. Cette hypothèse implique une interaction entre l'expression des gènes viraux et l'activation lymphocytaire, et suggère qu'un état de latence, caractérisé par la présence d'un provirus non exprimé, constitue une partie du cycle de ce virus.

Références

- Djilali S, Parodi AL, Levy D, 1986. Bovine leukemia virus replicates in sheep B lymphocytes under a T cell released factor. Eur J Cancer, accepté
- Levy D, Kettmann R, Djilali S, Marchand P, Minoprio P, Parodi AL, 1986. Selective tropism of BLV for ovine surface immunoglobulin bearing lymphocytes (sous presse)

TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE ET DIAGNOSTIC DES BRUCELLOSES CHRONIQUES DE L'HOMME

PILET C¹, PERSON JM¹, FROTTIE J², BASTIN R² et BARRAT Francine¹

1: INRA et Institut d'Immunologie Animale et Comparée, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 94704 Maisons Alfort Cédex, France

2: Clinique des maladies infectieuses, Hôpital Claude Bernard, 75019 Paris, France

Si l'hémoculture et les épreuves sérologiques permettent un diagnostic expérimental relativement aisé des brucelloses récentes, on sait que ces examens de laboratoire sont rarement ou irrégulièrement positifs dans le cas de brucellose chronique.

Devant le silence sérologique fréquemment observé dans ce cas, il convient alors d'explorer les réactions immunitaires à médiation cellulaire. L'une d'elles est utilisée depuis longtemps: l'hypersensibilité retardée par injection intradermique d'antigène (mélitine, ou plus récemment fraction phénol insoluble), l'autre est d'utilisation plus récente, il s'agit du test de transformation lymphoblastique (TTL).

Nous rapportons ici notre expérience de l'utilisation de ce test depuis quelques années.