



Résistance aux tumeurs viro-induites chez le poulet

F Coudert, Am Chausse, P Quere, P Thoraval, G Dambrine

► To cite this version:

F Coudert, Am Chausse, P Quere, P Thoraval, G Dambrine. Résistance aux tumeurs viro-induites chez le poulet. Annales de Recherches Vétérinaires, 1992, 23 (3), pp.322-325. <hal-00902089>

HAL Id: hal-00902089

<https://hal.science/hal-00902089v1>

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.



HAL Authorization

Sandberg K, Matsson P, Alm GV (1990) A distinct population of nonphagocytic and low level CD4+ null lymphocytes produce IFN- α after stimulation by herpes simplex virus-infected cells. *J Immunol* 145, 1015-1020

Sandberg K, Eloranta ML, Johansson A, Alm GA (1992) Flow cytometric analysis of natural interferon α producing cells (sous presse)

Résistance aux tumeurs viro-induites chez le poulet. F Coudert, AM Chausse, P Quere, P Thoraval, G Dambrine (*INRA, Unité de virologie, Station de pathologie aviaire et de parasitologie, 37380 Nouzilly, France*)

La maladie de Marek est une affection à développement tumoral spécifique aux oiseaux qui présente des particularités remarquables, en ce qui concerne le lymphocyte T et son rôle tout au long de l'évolution de la maladie.

La maladie de Marek se caractérise par l'apparition de tumeurs lymphocytaires de type T contre lesquelles le poulet peut résister soit par l'application d'une vaccination, soit grâce à ses propres caractères génétiques qui lui confèrent alors une résistance de type spontanée. C'est le complexe majeur d'histocompatibilité qui intervient de manière prédominante dans ces phénomènes. Cette maladie tumorale est extrêmement contagieuse et se transmet exclusivement par voie horizontale, d'un poulet à l'autre (grâce aux poussières de l'air ambiant). L'agent étiologique est un virus à ADN de type herpès, très voisin du virus responsable, chez l'homme, du lymphome de Burkitt ou du cancer du nasopharynx (Settnes, 1982; Schat, 1987). La maladie de Marek se traduit par le développement de tumeurs lymphoïdes, qui atteignent toujours les nerfs et qui peuvent aussi affecter d'autres organes. Ces tumeurs sont constituées d'une très grande majorité de lymphocytes T matures dont la plupart portent le marqueur de différenciation CT4+ (équivalent du marqueur CD4+ chez les Mammifères).

Si la vaccination a permis depuis 1970 de réduire l'impact de la maladie dans les élevages, l'apparition récente de souches virales hypervirulentes a provoqué des ruptures de vaccination importantes et a entraîné un regain d'intérêt

pour les études visant à la création de lignées de poulets génétiquement résistants au développement des tumeurs.

À l'heure actuelle, la résistance spontanée à la maladie de Marek est un processus très spécifique et assez unique puisqu'il se traduit par une inhibition de la multiplication des cellules tumorales et une absence de formation des tumeurs. En effet, on observe, aussi bien chez les poulets sensibles que résistants, une multiplication du virus de la maladie de Marek (MDV), une persistance de ce virus au cours de la vie de l'animal, et un pouvoir de contamination assez comparables. Seul, le processus de développement tumoral va s'installer puis progresser chez les poulets sensibles alors qu'il va survenir puis regresser pour disparaître chez les animaux résistants. Nous sommes donc en présence d'une résistance génétique «anti-tumorale» et on comprend dès lors tout l'intérêt que présente un tel modèle pathologique dans l'étude des mécanismes qui gouvernent cette résistance.

Le lymphocyte T : son rôle

Le lymphocyte T et le virus

Si les premières cellules de l'organisme infectées par le MDV sont les lymphocytes B, le virus va les quitter très rapidement et définitivement pour contaminer et activer les lymphocytes T. Dès lors, 2 possibilités d'évolution peuvent intervenir : soit le virus entre en phase de virémie et se multiplie en entraînant comme tous les virus herpès une cytolysse de la cellule hôte, soit le virus va s'intégrer dans le génome de la cellule hôte et entrer en phase de latence. Cette période peut être plus ou moins longue en fonction de paramètres encore très mal définis (Schat, 1987). Des stress tels que la mise en ponte ou d'autres phénomènes, font que le virus devient cancérogène et transforme la cellule hôte (lymphocyte T mature) pour entraîner la formation d'une tumeur constituée de lymphocytes T. La plupart des lignées cellulaires établies à partir des tumeurs issues d'organes divers (rate, ovaire, etc) portent le marqueur CT4+ et des expérimentations récentes ont montré qu'il était également possible d'isoler quelques lignées avec le marqueur CT8+ ainsi que des lignées double négative CT4-CT8- (Schat *et al*, 1991).

Le lymphocyte T et les réactions immunitaires

L'étude des réponses immunitaires au cours du développement de la maladie de Marek montre que les réponses humorales sont tout à fait normales; cependant les anticorps produits n'ont aucune activité protectrice contre le développement des tumeurs. En revanche, on assiste pour les réactions d'immunité à médiation cellulaire à une chute drastique de l'activité des lymphocytes T. Ce phénomène se traduit *in vitro* par une absence quasi totale de la réponse aux mitogènes (Con A, PHA, etc) et *in vivo* par une acceptation de greffes allogéniques chez les poulets à un stade final d'évolution de la maladie. Seule, l'activité cytotoxique des lymphocytes prélevés chez des poulets malades, quel que soit le stade d'évolution des tumeurs, reste très conservée *in vitro* contre des cellules de lignées établies à partir de tumeurs de maladie de Marek. Donc, en dehors de l'organisme, ces cellules sont tout à fait aptes à tuer des cellules tumorales alors qu'elles sont, pour une raison inconnue, inaptes *in vivo* à lutter contre la progression des tumeurs (Dambrine *et al*, 1978). Il est possible d'envisager différentes hypothèses, telles que la présence de facteurs suppresseurs induisant l'inactivation de ces cellules cytotoxiques *in vivo*, les empêchant ainsi de jouer leur rôle de destruction des cellules tumorales. Au cours de la réponse immunitaire, un certain nombre de facteurs solubles (les lymphokines) interviennent, soit comme activateurs, soit au contraire comme suppresseurs de l'activité des lymphocytes. Concernant les lignées résistantes ou sensibles, on peut imaginer qu'un polymorphisme de structure au niveau des gènes codant pour les lymphokines, ou encore qu'une différence d'expression de ces gènes pourrait rendre compte de la différence de comportement vis-à-vis de l'évolution des tumeurs.

En résumé, le lymphocyte T est la cellule «pivot» dont il faut comprendre le mode d'action et de réaction :

- elle permet d'une part l'apparition et le développement de la maladie. C'est la cellule cible du virus qui va disséminer les virions dans l'organisme, puis elles devient la cellule hôte du virus pendant la phase de latence et enfin c'est la cellule cible de la transformation tumorale;
- c'est d'autre part la seule cellule réactive de l'organisme capable de lutter contre l'installation des tumeurs et de rejeter les cellules tumorales.

Complexe majeur d'histocompatibilité : son rôle

De nombreux travaux ont permis de relier l'aptitude à la résistance aux tumeurs à la présence de gènes associés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH); chez le poulet, cette région est appelée locus B et est localisée sur un microchromosome. Le complexe B constitue aussi l'un des groupes sanguins du poulet. Une trentaine de combinaisons différentes du complexe B ont été identifiées, et c'est l'haplotype B21 qui confère aux poulets la résistance au développement des tumeurs de la maladie de Marek.

Le complexe B du poulet comporte 3 classes de gènes dénommées BF, BL et BG. Les régions BF et BL codent respectivement pour les antigènes de classe I et de classe II et la région BG, que l'on ne retrouve pas chez les mammifères, codent pour les antigènes de classe IV présents sur la membrane des érythrocytes, des thrombocytes, sur certaines cellules intestinales (Miller *et al*, 1990) et sur les lymphocytes. Par contre, des gènes de classe III des mammifères (protéines du complément) ne sont pas présents dans la région du CMH chez le poulet. Le complexe B du poulet se caractérise par un taux très faible de recombinaison, et à ce jour, si quelques recombinaisons existent entre la région BG/BF-BL, aucun recombinaison n'a encore été obtenu entre les régions BF et BL; c'est la raison pour laquelle le rôle respectif de ces régions dans le phénomène de résistance aux tumeurs reste encore à déterminer. La cartographie du CMH a permis d'expliquer cette absence de recombinaison : l'organisation des gènes BF et BL est très différente de celle des gènes de classe I et de classe II de mammifères qui sont nettement séparés par plusieurs unités de recombinaison sur le chromosome. Chez le poulet, les 6 gènes BF actuellement identifiés sont intriqués parmi les 5 gènes BL qui ont été décrits, rendant ainsi tout événement de recombinaison fortement improbable (Bourlet *et al*, 1988; Guillemot *et al*, 1988).

Outre les gènes codant pour les molécules BF, BL et BG, un certain nombre de gènes codant pour des produits n'ayant pas de rôle direct dans la réponse immunitaire ont été isolés au sein du complexe B. Parmi eux, le gène 12,3 a été plus particulièrement caractérisé : il code pour la sous-unité a d'une protéine G; cette dernière est impliquée dans les phases précoces de la transduction du signal (Guillemot *et al*, 1989). D'autres gènes qui pourraient jouer un

rôle sur la réponse immune, sont actuellement en cours de caractérisation au collège de France par l'équipe de C Auffray.

Modèle expérimental nécessaire à l'étude de la résistance aux tumeurs

Lignées animales. Pour parvenir à analyser le rôle du CMH dans la résistance aux tumeurs, nous avons créé des lignées de poulets spécifiques, sélectionnées au niveau du CMH. Ainsi nous possédons actuellement 5 troupes histocompatibles dont l'un comporte l'haplotype B21 associé à la résistance et l'haplotype B13 associé à une très grande sensibilité. De plus, 2 troupes congéniques B13 et B21 possédant un fond génétique commun B12 sont en cours de sélection. Il faut signaler que la résistance aux tumeurs est un caractère dominant, ce qui augmente l'intérêt de son étude puisque des troupes hétérozygotes (B21/BX) devraient présenter le phénotype résistant.

Les essais de virulence effectués régulièrement sur nos troupes génétiquement triés montrent une conservation du caractère de résistance en liaison avec l'haplotype B21. De tels troupes ne variant qu'au niveau des gènes du CMH et possédant un fond génétique commun sont des outils précieux pour comprendre le rôle joué par le CMH dans le processus tumoral.

Dans notre laboratoire, nous nous attachons à caractériser plus précisément quelle est la région du complexe B qui joue un rôle dans le phénomène de résistance. L'isolement des sondes BF et BL a été réalisé dans le laboratoire de C Auffray (Guillemot *et al*, 1988) puis une sonde BG a été isolée dans le laboratoire de M Miller (Goto *et al*, 1988). Pour étudier si la notion de résistance-sensibilité entre B21 et B13 pouvait être due à une différence structurale (qualitative) au niveau des gènes du CMH, nous avons étudié le polymorphisme associé aux gènes BF, BL et BG dans un certain nombre d'haplotype et en particulier B21 et B13.

Nos résultats ont montré que chaque haplotype présentait un profil de restriction caractéristique avec chacune des sondes utilisées. De plus, tous les poulets B21 sélectionnés auparavant par des tests d'hémagglutination possèdent un profil identique avec la sonde BG, alors que les sondes BF et BL permettent de définir respectivement 5 et 6 sous-types d'haplotype B21. À l'heure actuelle il ne nous est pas possible de corréler un sous-type avec un niveau

plus ou moins élevé de résistance. Il est à remarquer également que l'haplotype B21 présente un nombre de fragments de restriction de classe I plus élevé que les autres haplotypes étudiés. On peut émettre l'hypothèse que les poulets B21 posséderaient un nombre de gènes de classe I plus important dont l'expression augmenterait l'efficacité des réponses immunitaires. Cette propriété pourrait être à l'origine de la résistance à la maladie de Marek des poulets B21. Un autre niveau de variation entre lignées sensibles et résistantes peut provenir d'une différence non plus qualitative mais quantitative dans l'expression des gènes du CMH. Afin de vérifier cette hypothèse, nous étudions l'expression des gènes de classe I et II chez les animaux B13 et B21. Enfin, comme nous l'avons souligné, il existe un certain nombre de gènes non classe I, II et IV dans le complexe B. Leur présence dans cette région pourrait être associée au phénomène de résistance/sensibilité. C'est pourquoi nous envisageons d'étudier s'il existe une différence structurale ou une différence de niveau d'expression au niveau de ces gènes dans les haplotypes associés à la résistance et à la sensibilité.

D'autres hypothèses ne faisant pas intervenir le CMH pourraient être envisagées et les facteurs d'adhésion, par exemple, pourraient constituer des paramètres responsables de la résistance aux tumeurs. Toutefois, notre équipe de recherche a choisi d'approfondir le rôle du CMH afin d'identifier et d'isoler à terme le ou les gènes responsables de la résistance à la Maladie de Marek.

Références

- Bourlet Y, Béhar G, Guillemot F, Fréchin N, Billault A, Chaussé AM, Zoroob R, Auffray C (1988) Isolation of chicken histocompatibility class II (B-L) β chain sequence: comparison with mammalian β chains and expression in lymphoid organs. *EMBO J* 7, 1031-1039
- Dambrine G, Coudert F, Cauchy L (1978) Cytotoxicity of lymphocytes from chickens with Marek's disease (MD) to MD tumour cell lines. *IARC Scientific Publications*, n° 24, part 2
- Goto R, Garrett-Miyada CG, Young S, Wallace RB, Abplanalp H, Bloom SE, Briles WE, Miller MM (1988) Isolation of a cDNA clone

from the B-G subregion of the chicken histocompatibility (B) complex. *Immunogenetics* 27, 102-109

Guillemot F, Billault A, Pourquié D, Béhar G, Chaussé AM, Zorob R, Kreibich G, Auffray C (1988) A molecular map of the major histocompatibility complex of the chicken: class II β genes are closely linked to the class I genes and to the nucleolar organizer. *EMBO J* 7, 2775-2785

Guillemot F, Billault A, Auffray C (1989) Physical linkage of a guanine nucleotide-binding protein-related gene to the chicken major histocompatibility complex, 1989. *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 4595-4598

Miller MM, Goto R, Young S, Liu J, Hardy J (1990) Antigens similar to major histocompatibility complex B-G are expressed in the intestinal epithelium in the chicken. *Immunogenetics* 32, 45-50

Schat KA (1987) Marek's disease: a model for protection against herpesvirus-induced tumors. *Cancer Surv* 6, 1-38

Schat KA, Chen CLH, Calnek BW, Char D (1991) Transformation of T-lymphocyte subsets by Marek's disease herpes virus. *J Virol* 65, 1408-1413

Settnes OP (1982) Marek's disease a common naturally herpesvirus-induced lymphoma of the chicken. *Nord Veterinaarmed (suppl II)* 34, 11-130

Barrière hémato-encéphalique et immunité. PO Couraud (UPR CNRS 0415, ICGM, 22 rue Méchain, 75014 Paris, France)

La présence de la barrière hémato-encéphalique ainsi que l'absence de système lymphatique dans le cerveau ont longtemps fait penser que le cerveau était totalement isolé du système immunitaire. C'est ainsi, par exemple, que l'expression d'antigènes d'histocompatibilité par des cellules du cerveau est beaucoup plus faible qu'en périphérie : niveau d'expression très faible des antigènes de classe I, quasi nulle des antigènes de classe II. Pourtant, des données récentes ont bouleversé notre conception de l'élaboration d'une réponse immunitaire au niveau du système nerveux central, notamment

quant à la contribution des astrocytes et des cellules endothéliales microvasculaires.

La barrière hémato-encéphalique (BHE)

Structure de la BHE

La BHE est située à l'interface sang-espace extracellulaire cérébral. Elle est formée par les cellules endothéliales des capillaires cérébraux qui se distinguent des autres capillaires de l'organisme par plusieurs caractéristiques morphologiques : la présence de jonctions intercellulaires étanches (ou serrées), à l'image de certains épithéliums; la très faible activité du transfert vésiculaire; l'absence de canaux transendothéliaux; le contact étroit avec les prolongements astrocytaires. Les capillaires cérébraux comportent une seule couche de cellules endothéliales, reposant sur une matrice extra-cellulaire (ou lame basale), entourées d'une couche astrocytaire quasi-ininterrompue formant une *glia limitans*, (Goldstein et Betz, 1986). D'autres cellules sont localisées autour des capillaires : les cellules microgliales périvasculaires, très proches antigéniquement des monocytes (Mallat *et al*, 1991), et les péricytes, cellules contractiles dont la fonction n'a pas été clairement établie. En outre, plusieurs données morphologiques sont en faveur d'une innervation centrale (en particulier noradrénergique et sérotoninergique) des capillaires cérébraux (Kalaria et Harik, 1989).

Perméabilité de la BHE

Transport et polarité. Un grand nombre de travaux portant sur la BHE se sont orientés vers la description des mécanismes de transport d'éléments nutritifs à travers cette barrière qu'est la BHE pour les molécules hydrophiles. Plusieurs systèmes de transport ont été décrits pour les substances métaboliques tels que hexoses, acides aminés et précurseurs des acides nucléiques (Goldstein et Betz, 1986). Ces études ont ainsi permis d'établir que les cellules endothéliales cérébrales sont polarisées, la distribution asymétrique de ces transporteurs étant imposée par la présence des jonctions étanches, véritables barrières de diffusion des protéines membranaires. Quant à la perméabilité de la BHE aux molécules hydrophobes, qui diffusent aisément à travers la bicouche lipidique membranaire, elle est limitée par la présence de la protéine P (ou «*multi-drug resistance protein, mdr*») qui fonctionne comme une pompe refoulant les molécules hydrophobes