

1266

9ème JOURNEE D'ETUDE



9 mars 1983

LES ANTIGÈNES TISSULAIRES DU CHEVAL
CARACTÉRISTIQUES, UTILISATION POUR LES CONTRÔLES DE FILIATION,
LES COMPARAISONS DE POPULATIONS ET L'ÉTUDE DE CERTAINES MALADIES

Par G. GUERIN
Laboratoire de Génétique
Biochimique
CNRZ - 78350 JOUY-en-JOSAS

RESUME

Les antigènes tissulaires sont des glycoprotéines présentes à la surface des cellules. La plupart sont contrôlés par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et répartis en trois classes selon des critères structuraux et fonctionnels. L'intérêt du CMH réside dans son polymorphisme exceptionnel et dans le rôle qu'il joue dans la réponse immunitaire. Le point est fait sur l'état de nos connaissances des antigènes tissulaires chez le cheval et certaines applications sont proposées.

MOTS CLES

Cheval - Antigènes tissulaires - Complexes majeur d'histocompatibilité
Contrôles filiations -

ABSTRACT

Tissue antigens are cell membrane glycoproteins. Most of them are controlled by genes of the major histocompatibility complex (MHC) divided into three classes on the basis of their structure and function. The interest of the MHC lies in its exceptional polymorphism and in the major role it plays in the immune response. A brief review on tissue antigens in the horse is presented and some applications are proposed.

1266

Les produits des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sont des glycoprotéines transmembranaires présentes à la surface de nombreuses populations cellulaires dont celles du système lymphoréticulaire. Pour des raisons de commodité elles sont généralement étudiées sur les leucocytes du sang périphérique. Ces molécules présentent un intérêt considérable dans la mesure où elles montrent un polymorphisme élevé et que, sur le plan fonctionnel, elles régulent et contrôlent la réponse immunitaire. Les gènes du CMH des mammifères sont situés sur une très petite portion de chromosome, environ 2 unités de recombinaison, comparé aux 3 000 unités du génome humain. Afin de mieux percevoir ce que le complexe majeur d'histocompatibilité représente et pour mieux situer les recherches que nous effectuons sur le cheval, nous nous proposons de décrire brièvement l'état des connaissances dans deux espèces les plus étudiées actuellement, la souris et l'homme.

I - LE COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE DE LA SOURIS

Parmi les 3 systèmes de groupes sanguins de la souris découverts en 1936-1937 par P.A. GORER l'un d'entre eux représente en fait, dans cette espèce, le complexe majeur d'histocompatibilité dénommé H-2 (histocompatibilité 2). En effet, il est rapidement apparu que les antigènes de ce système étaient présents sur toutes les cellules de l'organisme, y compris naturellement les hématies (cas particulier des rongeurs) et dont les différences entre deux individus étaient responsables d'un rejet exceptionnellement rapide lors d'une greffe. Initialement décrit comme un seul locus, il est apparu qu'il s'agit en fait de toute une série de gènes, dont le nombre n'est pas encore connu, rassemblés sur le chromosome 17. On classe actuellement ces gènes en 3 familles sur la base de leur structure et de leur fonction (Figure I).

Les gènes de classe I comprennent les gènes H-2 K, H-2 D et H-2 L à expression ubiquitaire ainsi qu'un certain nombre d'autres gènes (Qa, TL) dont les produits sont restreints à certaines populations de cellules. La structure des antigènes de classe I est unique et constituée d'une glycoprotéine associée de manière non covalente à une protéine de poids moléculaire plus faible, la β_2 microglobuline.

Les gènes de classe II, dont les produits sont les antigènes Ia, sont les gènes de la réponse immunitaire. Au moins 2 séries de gènes sont identifiés (IA et IE), qui contrôlent respectivement 2 types de protéines constituées chacune de deux chaînes associées de manière non covalente, une lourde (α) peu polymorphe et une légère (β) fortement polymorphe.

Tous les antigènes de classe I ainsi que probablement tous ceux de la classe II sont décelables par les techniques sérologiques classiques. Sur le plan fonctionnel, les antigènes de classe I jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance et la destruction des cellules transformées (virus, antigènes divers). Les antigènes de classe II contrôlent la culture lymphocytaire mixte (voir Figure 3) et la coopération entre les différentes catégories de cellules mises en jeu dans la réponse immunitaire.

Les gènes de classe III codent pour des protéines du sérum dénommées Ss et S1p. Ces molécules sont constituées de trois chaînes polypeptidiques α , β et γ associées par des liaisons covalentes. Elles forment le constituant C4 du complément, système complexe de protéines à activité lytique en présence de certains types d'immunoglobulines. Plus récemment, le gène codant pour le constituant C3 du complément a été situé dans le CMH de la souris.

II - LE COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE DE L'HOMME

La comparaison des complexes majeurs d'histocompatibilité de la souris et de l'homme fait apparaître une évidente homologie tant sur le plan structural que fonctionnel. On retrouve en effet, chez l'homme, les gènes de classe I, HLA-A, B et C et l'équivalent des Qa et TL, les gènes de classe II avec une homologie entre DR et IE et entre SB ou DC et IA. De même, les structures des antigènes de classe I et II sont équivalentes chez la souris et chez l'homme. Enfin, la région codant pour les facteurs du complément (classe III) chez la souris a été retrouvée chez l'homme.

En dehors de son aspect fonctionnel représenté par son rôle prépondérant dans la réponse immunitaire, la caractéristique essentielle du complexe majeur d'histocompatibilité réside dans son extraordinaire polymorphisme. En effet, on considère par exemple que chez la souris 40 % des loci codant pour des protéines sont polymorphes et que chaque locus possède deux, plus rarement trois allèles. Or, dans le système H-2, les loci de classe I de souris sauvages possèdent au moins 20 allèles à chacun des deux loci H-2 K et H-2 D. Au total, 56 allèles sont présents au locus H-2 K et 45 allèles au locus H-2 D chez la souris commune, ce qui correspond à 2 500 combinaisons en tenant compte des deux loci. Il faut ajouter à cela le polymorphisme des autres gènes du complexe qui augmente encore considérablement la variabilité observée.

On comprend ainsi aisément pourquoi de nombreuses recherches ont été entreprises dans le Monde entier pour approfondir nos connaissances sur ce système majeur d'histocompatibilité, tant sur le plan structural que fonctionnel. Parmi les diverses espèces étudiées, certaines présentent un intérêt zootechnique, ce sont : les bovins, les moutons, les chèvres, les porcs et les chevaux. L'étude des antiègnes tissulaires chez le cheval a porté jusqu'à présent essentiellement sur la mise en évidence des antigènes de classe I et sur la réaction allogénique (réaction lymphocytaire mixte).

Après une description de l'état de nos connaissances sur les antigènes tissulaires du cheval nous essaierons de dégager les applications que le polymorphisme élevé de ce système génétique permet d'aborder.

III - LES ANTIGENES TISSULAIRES DU CHEVAL

A. LES ANTIGENES SEROLOGIQUEMENT DEFINIS

a. Le test de microcytotoxicité

Ces antigènes sont mis en évidence par un test sérologique très voisin de celui utilisé pour les groupes sanguins (figure 2). Il est basé sur la formation d'un complexe entre un antigène présent à la surface des lymphocytes et un anticorps présent dans un immunosérum. Ce complexe détruit, sous l'action du complément, la membrane des cellules porteuses de l'antigène. Les cellules ainsi tuées incorporent un colorant et paraissent sombres dans le champ d'un microscope à contraste de phase. La présence de l'antigène est estimée par le pourcentage de cellules mortes qui, pour la plupart des sérums, avoisine 100%.

b. Obtention et analyse des sérums

Chez le cheval, environ 90% des sérums de juments gestantes ou ayant pouliné contiennent des anticorps à activités cytotoxiques produits par immunisation foetomaternelle. Cette situation privilégiée permet d'utiliser ces sérums comme source de réactifs évitant le recours à des immunisations expérimentales systématiques. Deux approches conduisent à l'obtention de réactifs monovalents ou monospécifiques : la sélection de sérums qui paraissent les plus simples après analyse sur un grand nombre d'individus et la purification de sérums par absorption sélective à l'aide de cellules porteuses des antigènes. Dans la pratique, ces deux approches sont souvent associées.

La première approche emploie une méthode pratiquée en histocompatibilité humaine. Elle a été notamment utilisée lors du premier test de comparaison international des antigènes tissulaires chez le cheval organisé en 1981. A cette occasion, 195 sérums produits dans 12 laboratoires, 9 américains et 3 européens, ont été comparés par un test standard de microcytotoxicité sur un échantillon de 1 009 chevaux issus de différentes races. Les données ont été rassemblées puis analysées par ordinateur comparant, par la méthode du coefficient de corrélation, les réactions de toutes les cellules avec tous les antisérums. Parmi les 15 groupes d'antisérums ainsi définis, 6 ont reçu une désignation internationale conduisant à identifier les antigènes ELA (Equine Lymphocyte Antigens). Un second test de comparaison organisé en 1982 et rassemblant les mêmes laboratoires a permis d'identifier 4 antigènes supplémentaires ce qui porte à 10 le nombre de spécificités (antigènes) reconnus au niveau international. Bien que ces comparaisons soient insuffisantes pour en apporter la preuve formelle, un consensus s'est dégagé pour estimer que ces 10 groupes d'antisérums définissent les allèles appartenant à un seul système génétique, la région ELA, qui représente probablement le complexe majeur d'histocompatibilité du cheval.

c. Analyse génétique

Diverses études familiales (BAILEY, 1980 ; LAZARY et al., 1980b ; MOTTIRONI et al., 1981 ; ANTCZAK et al., 1982) suggèrent que les allèles contrôlant la plupart des antigènes tissulaires sont transmis par la région ELA selon un déterminisme mendélien simple. Néanmoins, les observations de LAZARY et al., 1980b et de BAILEY, 1980 sont en faveur de l'existence de deux loci étroitement liés. D'autre part, un nouvel antigène membranaire des lymphocytes, désigné ELY-1, s'est révélé ségréger indépendamment de la région ELA.

Un autre élément important concerne la liaison étroite entre le système ELA et le système de groupe sanguin 1 décrite par BAILEY et al., 1979. La distance entre les deux systèmes a été estimée à environ 3 unités de recombinaison.

B. LA REACTION ALLOGENIQUE

Cette réaction, décelée par la technique de culture lymphocytaire mixte (figure 3), est contrôlée par le complexe majeur d'histocompatibilité dans diverses espèces. Chez le cheval, les travaux de LAZARY et al., 1980b montrent également que les deux systèmes sont étroitement liés. Ces résultats renforcent l'hypothèse que le système ELA est bien le système majeur d'histocompatibilité du cheval et que ce système est constitué d'au moins deux séries de gènes, l'une codant pour des antigènes membranaires sérologiquement définis, l'autre contrôlant la réaction allogénique.

IV - APPLICATIONS

A. IDENTIFICATION DES ANIMAUX ET CONTROLES DE FILIATION

Bien que l'identification des animaux puisse être réalisée selon des critères morphologiques, il est apparu nécessaire de faire appel à des caractères biochimiques plus discriminants. C'est ainsi que, depuis 1976, le Service des Haras associe dans certains cas au relevé de signalement la détermination de l'hémotype des individus. Actuellement, l'analyse d'un hémotype est basée sur la mise en évidence de 7 systèmes de groupes sanguins et de 5 systèmes protéines (MERIAUX, 1981). Ces marqueurs génétiques répondent à des critères stricts justifiant leur prise en compte dans l'identification des individus et les contrôles de filiation. Ils sont complètement développés à la naissance ou peu après, ils sont stables au cours de la vie de l'animal et leur mode de transmission est connu et simple. De plus, la détermination de ces caractères repose sur des méthodes objectives et fiables. Par homologie avec les résultats publiés dans diverses espèces et avec les données acquises sur le cheval il s'avère que le système ELA remplit ces conditions. La précision de l'identification des individus et par conséquent l'efficacité globale des contrôles de filiation seront ainsi augmentées par l'adjonction de ce nouveau système à ceux déjà employés actuellement.

B. RELATIONS AVEC LES MALADIES

A ce propos, il est une fois de plus nécessaire de procéder par comparaison avec d'autres espèces et en particulier de l'homme où les travaux sont les plus développés. Tout marqueur génétique peut donner lieu à la recherche d'associations avec des maladies. Si les résultats ont été limités vis-à-vis du polymorphisme érythrocytaire il n'en a pas été de même avec les complexes majeurs d'histocompatibilité qui présentent des corrélations avec la viabilité en général, avec la susceptibilité à certains virus oncogènes et enfin avec la réponse immune. De nombreuses maladies sont associées au complexe HLA, le cas le plus démonstratif étant celui de la spondylarthrite ankylosante, affection rhumastismale de la colonne lombaire et des articulations sacro-iliaque et l'allèle HLA-B27. L'association est forte puisque l'on constate que 90% des individus atteints de cette maladie sont porteurs de l'antigène B27. Il est important de noter que le plus souvent, le gène de susceptibilité est différent du gène marqueur et que la mise en évidence de l'association dans la population est due à une association gamétique préférentielle (déséquilibre de linkage). En l'absence de déséquilibre, une seule étude familiale permettra de détecter une liaison entre les deux gènes.

Chez le cheval, une association a été démontrée entre l'antigène Ely-1 (non lié à ELA) et deux maladies, la bronchite chronique et la fourbure ; la fréquence de cet antigène étant plus élevée chez les individus malades (LAZARY et al., 1982). Par ailleurs, chez le cheval Arabe, le système ELA est indépendant d'une forme de déficit immunitaire combiné sévère, maladie d'origine génétique affectant la production des lymphocytes (MOTTIRONI et al, 1981).

C. ETUDE DE POPULATIONS

Si les marqueurs génétiques représentent un outil privilégié pour l'identification des individus, ils peuvent également servir de support à l'estimation des degrés de relation génétique entre diverses populations ou races. Plusieurs méthodes ont été proposées qui rassemblent les données du polymorphisme sous forme d'un indice synthétique (voir JACQUARD, 1974). Basée sur la probabilité d'identifié des gènes et donc étroitement associée à la définition du coefficient de parenté, la méthode de NEI (1972) est couramment employée par divers auteurs. La distance génétique dite "D` standard" entre deux populations (X et Y) est donnée par l'expression $D = - \log I$ où I représente la probabilité d'identité normalisée des gènes X et Y pour l'ensemble des loci considérés. La valeur prise par D est ainsi d'autant plus grande que les populations sont plus éloignées et vice versa. Elle est d'autant plus précise que la taille de l'échantillon et le nombre de loci considérés sont importants.

De tels index ont été utilisés pour estimer les distances génétiques séparant des populations équinnes (SCHLEGER et MAYRHOFER, 1973 ; NOZAXA et al., 1976 ; BLOKHUIS et BUIS, 1979). Généralement, et lorsque les conditions d'application sont remplies, ces estimations sont en accord avec les données historiques de ces populations.

* * *

Deux aspects importants se dégagent de l'étude des antigènes tissulaires du cheval. Le premier est d'ordre structural et concerne le polymorphisme élevé de ce système qui compte à l'heure actuelle 10 antigènes sérologiquement définis reconnus au niveau international. On peut donc penser utiliser ce système en parallèle avec ceux des groupes sanguins et des protéines dans l'identification des animaux et le contrôle des filiations au moins, et dans un premier temps, comme système d'appoint. Son utilisation à grande échelle fera l'objet d'un choix qui sera largement déterminé par l'efficacité réelle du système et par les contraintes expérimentales qu'il impose.

Par ailleurs, les études de population pourront bénéficier d'un système supplémentaire qui aura, entre autre, pour effet d'améliorer la précision de l'estimation des distances génétiques. Le second aspect d'ordre fonctionnel, est plus difficile à cerner. Si l'on s'en tient aux études entreprises dans d'autres espèces et en particulier chez l'homme il est vraisemblable que des associations avec certaines maladies seront mises en évidence. L'étude de LAZARY, 1982 est à ce titre encourageante. L'application pratique que l'on peut en attendre sera néanmoins déterminée par le degré d'intensité des associations décelées. De plus, il faut noter que la recherche d'associations peut dépasser le cadre des maladies et s'appliquer à d'autres caractères comme par exemple, le niveau de production.

Enfin, il est important de souligner que ces objectifs de recherche ne pourront être réalisés sans le concours effectif de toutes les personnes et organismes impliqués dans l'amélioration des conditions d'élevage du cheval.

*
* *

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

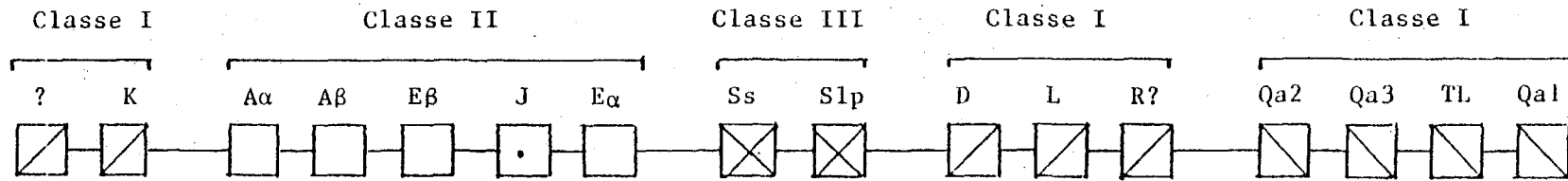
- ANTCZAK D.F., BRIGHT S.M., REMICK L.H. and BAUMAN B.E., 1982. Lymphocyte alloantigens of the horse. I. Serologic and genetic studies. *Tissue antigens*, 20, 172-187.
- BAILEY E., STORMONT C., SUZUKI Y. and TROMMERSHAUSEN-SMITH A., 1979. Linkage of loci controlling alloantigens on red blood cells and lymphocytes in the horse. *Science*, 204, 1317-1319.
- BAILEY E., 1980. Identification and genetics of horse lymphocyte alloantigens. *Immunogenetics*, 11, 499-506.
- BLOKHUIS H.J. and BUIS R.C., 1979. Genetic relationships between breeds of horses and ponies in the Netherlands. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.*, 10, 27-38.
- GORER P.A., 1936. The detection of antigen differences in mouse erythrocytes by the employment of immune sera. *Br. J. Exp. Pathol.*, 17, 42-50.
- GORER P.A., 1937. The genetic and antigenic basis of tumour transplantation. *J. Pathol. Bacteriol.*, 44, 691-697.
- JACQUARD A., 1974. Généalogies et distances entre populations. In *Genetic distances*, compiled by J.F. Crow and C. Denniston, Plenum Press, New-York and London, p. 23-40.
- LAZARY S., BULLEN S., MULLER J., KOVACS G., BODO I., HOCKENJOS P. and De WECK A.L., 1980b. Equine leukocyte antigen system. II. Serological and mixed lymphocyte reactivity studies in families. *Transplantation*, 30, 210-215.
- LAZARY S., GERBER H., De WECK A.L. and ARNOLD P., 1982. Equine leukocyte antigen system. III. non-MHC linked alloantigenic system in horses. *J. Immunogenet.*, 9, 327-334.
- LEVEZIEL H., 1979. Le complexe d'histocompatibilité majeur chez l'homme et les animaux. *Ann. Génét. Sél. anim.*, 11, 281-356.
- MERIAUX J.C., 1981. Les groupes sanguins des chevaux et leur utilisation pratique pour l'identification et le contrôle des filiations. *Bulletin Technique d'Information*, 362-363, 533-549.
- MOTTIRONI V.D., PERRYMAN L.E., POLLARA B., MICKEY M.R., SWIFT R. and McGRATH P., 1981. Major histocompatibility locus in the Arabian horse. *Transplantation*, 31, 290-294.
- NEI M., 1972. Genetic distance between populations. *The Amer. Naturalist*, 106, 283-292.
- NOZAWA K., SHOTAKE T. and OHKURA Y., 1976. Blood protein variations within and between the east Asian and European horse populations. *Z. Tierzüchtg. Züchtgsbiol.*, 93, 60-74.

ROBERTSON M., 1982. The evolutionary past of the major histocompatibility complex and the future of cellular immunology. *Nature*, 297, 629-632.

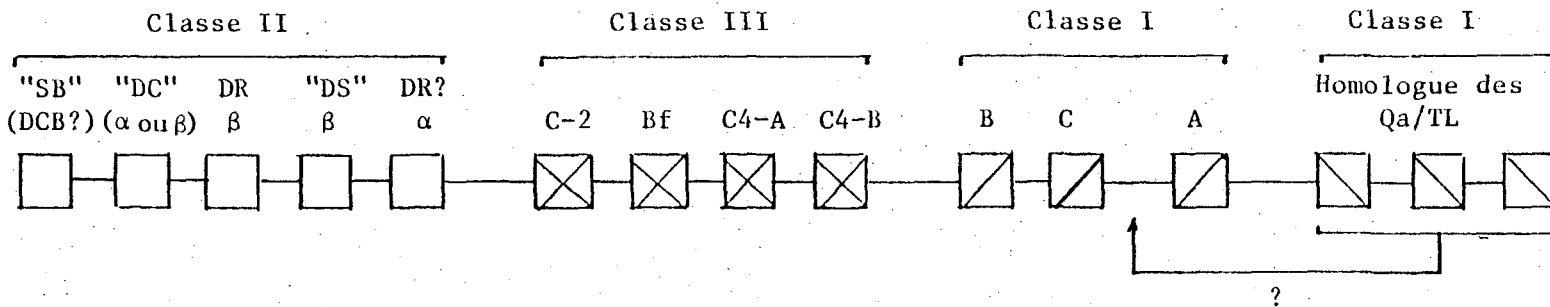
SCHLEGER W. and MAYRHOFER G., 1973. Genetic relationships between Lippizan horses, Haflinger, Noriker and Austrian Trotters. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.*, 4, 3-10.


FIGURE 1. Les complexes majeurs d'histocompatibilité de la souris et de l'homme
(d'après ROBERTSON 1982).

- H-2, chromosome 17 de la souris





- HLA, chromosome 6 de l'homme




 Classe I (classique)

 Classe III (complément)

 Classe I (antigènes de différenciation)

 Défini uniquement en sérologie

 Classe II

--- Ordre des gènes incertain

FIGURE 2

Le test de microcytotoxicité (d'après LEVEZIEL H. 1979)

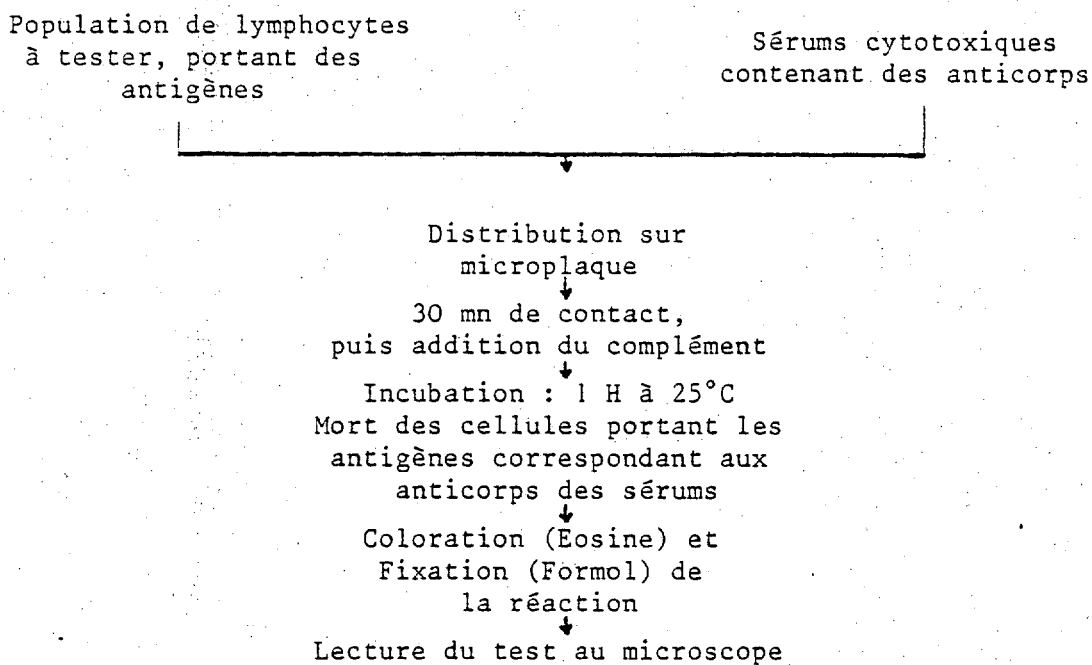


FIGURE 3

La culture lymphocytaire mixte (d'après LEVEZIEL H. 1979)

