

TRANSMISSION DE L'IMMUNITÉ MATERNELLE CHEZ LE PORC ET LES RUMINANTS APRÈS LA NAISSANCE

TRANSMISSION OF MATERNAL IMMUNITY IN PIGS AND RUMINANTS AFTER BIRTH

Par Henri SALMON¹
(Communication présentée le 26 mai 2011)

RÉSUMÉ

Chez les porcins et les ruminants, l'absence de transfert prénatal d'immunoglobulines (Ig) est compensée par un colostrum enrichi en IgG qui traversent la paroi intestinale du nouveau-né à la faveur d'une perméabilité non sélective et temporaire. La protection du nouveau-né contre les invasions d'agents pathogènes est donc assurée dans un premier temps par les immunoglobulines colostrales, et ensuite par celles du lait, principalement des IgG1 chez les ruminants et des IgA chez le porc.

Chez le porc, les plasmocytes à IgA sont générés dans des sites inducteurs au niveau de l'intestin (plaques de Peyer) et des voies aériennes supérieures (muqueuse nasale, amygdales pharyngiennes). Ils migrent ensuite vers la glande mammaire où ils sont recrutés par des adréssines vasculaires et des chimiokines. Ce processus permet une excrétion bien plus importante d'IgA que la seule filtration des IgA sériques.

Chez les ruminants, l'absence de ces adréssines dans la glande mammaire explique la rareté des plasmocytes à IgA dans cet organe. Chez cette espèce, ce sont plutôt les IgG1 filtrées depuis le sang maternel vers le lait qui assurent l'immunité colostrale et lactée du nouveau-né.

L'amélioration de l'immunité colostrale chez ces deux espèces (IgG chez le porc et IgG1 chez les ruminants), et de l'immunité lactée chez les ruminants (IgG1) dépend donc de la stimulation de l'immunité systémique maternelle, tandis que l'amélioration de l'immunité lactée chez le porc (IgA) dépend de la stimulation des sites inducteurs muqueux.

Mots-clés : migration de plasmocytes, immunité passive, récepteur plg, récepteur FcRn, transcytose.

(1) INRA, UR1282 Infectiologie Animale et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France

SUMMARY

In swine and ruminants, maternal immunoglobulins (Ig) do not reach the foetus before birth. In these species, passive immunity is transferred via the colostrum rich in IgG, which cross the newborn's intestinal wall due to a temporary non-selective permeability. The newborn's protection against pathogens is therefore provided initially by these colostral immunoglobulins, then by milk immunoglobulins, mainly IgG1 in ruminants and IgA in swine.

In swine, IgA plasmocytes are generated by inducer sites in the intestine (Peyer's patches) and in the upper airways (nasal mucosa, tonsils). These cells migrate to the mammary glands where they are recruited by vascular addressins and chemokines. This process provides a far greater excretion of IgA than the simple filtration of serum IgA.

In ruminants, the lack of such addressins in the mammary gland explains the low levels of IgA plasmocytes in this organ. In these animals, both colostral and lactogenic immunity are provided by IgG1 filtered from the blood into the milk.

Consequently, the improvement of colostral immunity in both species (IgG in swine and IgG1 in ruminants), and of lactogenic immunity in ruminants (IgG1) depends on the stimulation of the maternal systemic immune system, whereas the improvement of lactogenic immunity in swine (IgA) depends on the stimulation of the maternal mucosal inducer sites.

Key words: *plasmocyte migration, passive immunity, pIg receptor, FcRn receptor, transcytosis.*

INTRODUCTION

La glande mammaire est un organe complexe qui produit et fournit les nutriments au nouveau-né, dont les facteurs immunitaires. Chez les artiodactyles, porcins et ruminants, le nouveau-né n'a pas reçu de protection immunitaire avant sa naissance en raison de l'imperméabilité placentaire aux immunoglobulines (Ig) maternelles. Son système immunitaire immature ne lui permet de développer qu'une réponse primaire avec une phase de latence mise à profit par les pathogènes systémiques ou muqueux ; sa survie dépend alors de l'ingestion de facteurs immunitaires contenus dans le colostrum et le lait, ainsi que d'autres facteurs non immunitaires comme les composants antimicrobiens, anti-inflammatoires et immuno-modulateurs (Salmon *et al.* 2009).

La protection humorale systémique est apportée par les IgG qui dérivent par adaptation de la molécule primitive IgM ancestrale; de plus petite taille, l'IgG diffuse rapidement dans tout l'organisme pour capter rapidement l'intrus et le détruire avec l'aide du complément : le colostrum riche en IgG/IgG1 assure donc cette protection. Les Ig transmises par le lait jusqu'au sevrage restent dans la lumière intestinale : cette « immunité lactée » est associée chez les monogastriques (porcins) aux IgA sécrétées, alors que chez les ruminants, le lait continue à être plus riche en IgG1. Pour améliorer les qualités protectrices des sécrétions mammaires, on doit connaître les mécanismes qui président à l'induction et à l'excrétion des Ig et des cellules immunitaires qui leurs sont associées. En théorie, la présence des Ig peut résulter soit d'une filtration des Ig du sang de la mère par le parenchyme mammaire, soit d'une production locale d'Ig par les plasmocytes de la mamelle. Après s'être liée à son récepteur membranaire, la molécule d'Ig traverse la cellule épithéliale, puis est libérée dans le milieu extracellulaire. Tandis que les

IgG/IgG1 se lient au récepteur FcRn, les IgA dimériques se lient au récepteur polymérique pIg : elles sont libérées avec une partie de leur récepteur, la pièce sécrétoire, d'où le nom d'IgA sécrétoires (**figure 1**). Les données récentes sur les mécanismes de domiciliation des cellules immunitaires permettent d'identifier les compartiments d'origine des plasmocytes et des autres types cellulaires du colostrum/lait; ce qui guidera dans le choix de la meilleure voie de stimulation. Si dans le passé, on a constaté une évolution convergente entre la mamelle et l'intestin néonatal, on peut dire maintenant que cette coévolution s'est étendue à la période post-natale jusqu'au sevrage par des mécanismes différents chez le porc et les ruminants.

PROTECTIONS PASSIVES SYSTÉMIQUE ET MUQUEUSE DU NOUVEAU-NÉ PAR L'INTERMÉDIAIRE DU COLOSTRUM

Le colostrum est défini comme la première sécrétion de la mamelle juste à la naissance ; il représente les sécrétions accumulées lors des dernières semaines de la gestation avec des protéines transportées sélectivement du sang. Le colostrum a de nombreuses propriétés, des composants de nature Ig ou non et suivant l'espèce, différentes concentrations d'Ig et de cellules.

Composition du colostrum en Ig

Le profil du colostrum en isotopes d'Ig suit celui du sang chez le porc avec un enrichissement en IgG de 22 à 64 mg/ml ; chez les ruminants, la concentration des IgG1 augmente de 11 à 75mg/ml tandis que les IgG2 chutent environ de neuf à deux mg/ml.

Transport des Igs maternelles dans le colostrum

Chez la truie, la quasi-totalité des IgG, 85% des IgM et 40% des IgA du colostrum proviennent du sang ; leurs concentrations

y sont respectivement de 22, un et deux mg/ml (Bourne & Curtis, 1973). Il en est de même chez la vache pour la quasi-totalité des IgG1, pour 60% des IgM et 50% des IgA, le complément (40% IgM et 50% IgA) résultant de leur synthèse locale (Newby & Bourne, 1977). Le passage des Ig maternelles du sang vers la mamelle résulte d'un processus de diffusion non spécifique des protéines au travers les tissus et leur transport dans la lumière des acini, et d'un processus spécifique de transcytose au travers de la cellule épithéliale mammaire qui fixe les Ig par des récepteurs membranaires spécifiques. Les IgG/IgG1 utilisent le récepteur (FcRn) reconnaissant leur fragment Fc exprimé dans la mamelle pendant la phase de colostragénèse ; ce processus de transcytose entraîne une diminution marquée de leur concentration dans le sang dans le mois précédant la mise-bas (Klobasa & Butler, 1987) et non de celle des IgG2 (Schnulle et Hurley, 2003). Les IgA (dimériques) et, dans une moindre mesure, les IgM reconnus par le récepteur des Ig polymériques (pIgR) (**figure 1**) traversent la cellule épithéliale; selon l'abondance des IgA sécrétées localement par les plasmocytes, 100% des IgA du sang sont dimériques chez les ruminants, à comparer aux 50% chez les porcins. Chez la brebis, le pIgR est exprimé au cours du dernier trimestre de la gestation et son expression culmine durant la lactation (voir ci-dessous), probablement sous l'influence des hormones circulantes et de cytokines produites localement.

Absorption intestinale des IgG du colostrum par le nouveau-né

Chez les ongulés, les protéines colostrales présentes dans la lumière de l'intestin du nouveau-né sont absorbées durant les

24-36 h post-natales par transcytose dans les entérocytes immatures, sous forme de vésicules (Baintner 2007). Ce mode de transport des IgG/IgG1 est efficace tout au long de l'intestin mais non spécifique, en dépit de la présence des récepteurs FcRn sur les cellules épithéliales intestinales (Mayer *et al.* 2002). Une quantité élevée de protéines colostrales dont les IgG, IgM et IgA (monomérique et dimérique -95%- et IgA sécrétoires -5%-) se retrouvent dans le sang du nouveau-né. Les Ig en sont éliminées plus ou moins rapidement selon leur isotype: la moitié des IgG est éliminée en 15 jours, la moitié des IgM et des IgA, en trois jours et en 36 h (Baintner 2007). Plus le niveau d'anticorps d'isotype IgG dans le colostrum est élevé, plus leur concentration dans le sang circulant sera grande et la protection systémique sera longue. Quoique le mécanisme de transcytose ne soit pas compris dans ses détails, il est amplifié par des facteurs présents dans le colostrum et inhibé lors d'inflammation de l'intestin (Jensen *et al.* 2001 ; Danielsen *et al.* 2006).

Ces Ig sériques peuvent, par ailleurs, assurer une protection des muqueuses par leur transcytose, inverse, dans le sens sanguin ; chez le veau, des concentrations élevées d'IgG1 colostrales dans le sang permettent d'utiliser le récepteur FcRn de l'épithélium intestinal pour passer dans la lumière intestinale, même plusieurs jours après la naissance; si ces Ig sont spécifiques d'un pathogène, elles restreignent sa multiplication, protégeant par exemple le jeune de la diarrhée par rotavirus (Besser *et al.* 1988). De même chez le porcelet, les IgA dimériques sont transportées dans les cellules épithéliales des voies aériennes supérieures grâce au récepteur pIgR pour lutter contre les pathogènes respiratoires.

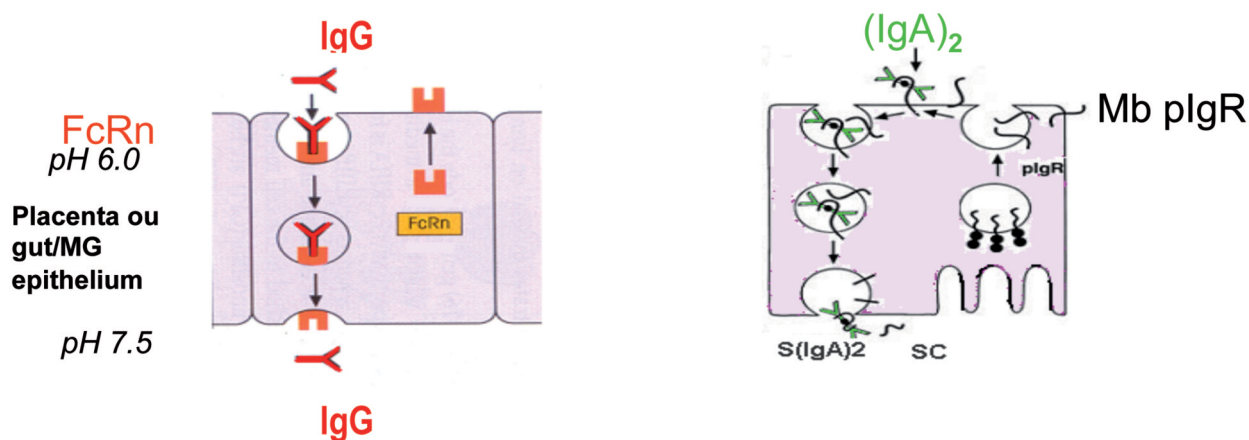


Figure 1: Les récepteurs du transfert des IgG et des IgA dimériques maternelles.

À gauche, les molécules d'IgG se fixent par leur domaine Fc sur le récepteur FcRn des cellules épithéliales (placentaire, intestinale ou mammaire) lorsque le pH du milieu est acide. La vésicule d'endocytose traverse le cytoplasme de la cellule et libère ses IgG au pôle opposé si le pH est alcalin.

À droite, les IgA dimériques, constituées de deux molécules d'IgA (IgA)₂ liées par la pièce de jonction J, sont excrétées par les plasmocytes muqueux dans le milieu environnant. Environ deux-tiers d'entre-elles se fixent sur le récepteur polymérique membranaire pIgR (Mb pIgR), exprimé sur les surfaces basolatérales des cellules épithéliales des muqueuses. Lorsque le récepteur reconnaît une molécule dimérique (IgA)₂, le complexe est endocyté et transporté dans des vésicules à travers le cytoplasme vers la lumière (phénomène de transcytose). À la surface luminale de la cellule épithéliale, le complexe subit un clivage protéolytique, libérant la partie extracellulaire du récepteur ou composante sécrétoire (SC) et la molécule dimérique d'IgA dont les dimères restent liés par la pièce J. La composante sécrétoire protégerait le dimère de la lyse protéolytique.

Rôle des anticorps colostraux et interférence avec une immunisation active du nouveau-né

L'immunité colostrale conférée par les IgG et les IgM maternelles neutralise l'agent pathogène, soit en l'éliminant, soit par un effet direct sur les cellules B. Ces Ig pourraient inhiber la mise en route de la synthèse propre d'Ig du nouveau-né ou encore façonner son répertoire d'anticorps (Ac) (Klobasa *et al.* 1986; Fink *et al.* 2008). Dans les conditions courantes d'élevage, les truies sont immunisées contre des pathogènes bactériens et viraux : des titres élevés d'Ac spécifiques du pathogène (IgG, IgM et IgA) sont transmis au porcelet et le protègent contre les infections systémiques ; ces Ac passivement transférés peuvent interférer avec une immunisation active du nouveau-né, retardant d'autant la mise en route de son propre système immunitaire. Cependant, la suppression de la réponse Ac après primo-vaccination n'est qu'apparente car la réponse cellulaire T est présente et la réponse Ac montre un rebond après l'injection de rappel, (Salmon *et al.* 2009). Des stratégies ont été développées pour éviter cette interférence, notamment par la vaccination muqueuse et l'utilisation de vecteurs adénoviraux recombinants.

Composition cellulaire et devenir des cellules du colostrum chez les nouveau-nés

Suivant l'espèce animale, les sécrétions mammaires renferment de 2×10^5 à 10^7 cellules/ml, constituées de cellules épithéliales (31% des cellules totales du lait de truie), des granulocytes parmi lesquels les neutrophiles (47%) et quelques éosinophiles (1%), des lymphocytes (12%) et des macrophages (9%) (Schollenberger *et al.* 1986). Le colostrum de brebis présente un nombre de leucocytes très variable avec une prédominance de polynucléaires neutrophiles (41-84%), 8 à 49% de macrophages et seulement 6-11% de lymphocytes (Lee & Outerridge, 1981). Le colostrum de truie est riche de 80% de cellules phagocytaires (environ 60% de polynucléaires et 20% de macrophages) et de 20% de lymphocytes ; il contient aussi de 2×10^5 à 10^7 cellules épithéliales/ml (Evans *et al.* 1982).

L'absorption intestinale des cellules colostrales a été démontrée après administration dans l'estomac de porcelets et d'agneaux de cellules marquées par le technetium ou par un fluorochrome. Seules, les cellules vivantes sont absorbées. Après avoir traversé l'épithélium du duodénum et du jéjunum, les lymphocytes colostraux gagnent par la lymphe le ganglion mésentérique, puis se disséminent dans l'organisme par voie sanguine : ils stimuleraient les cellules présentatrices d'antigène et la réponse lymphocytaire (Williams 1993 ; Tuboly *et al.* 1995 ; Reber *et al.* 2006).

Un transfert passif d'immunité cellulaire a été récemment mis en évidence chez des truies vaccinées contre *Mycoplasma hyopneumoniae* et chez les vaches immunisées contre le virus de la diarrhée bovine : les lymphocytes de leur colostrum répondent spécifiquement à l'antigène vaccinal, de même que les lymphocytes du sang de leurs jeunes ayant ingéré leur colostrum (Donovan *et al.* 2007 ; Bandrick *et al.* 2008).

PROTECTION PASSIVE DES MUQUEUSES DU NOUVEAU-NÉ PAR LE LAIT : IMMUNITÉ LACTÉE

L'arrêt de l'absorption intestinale des macromolécules (*gut closure*) se produit 24 à 36 h après la naissance. Le lait remplace alors le colostrum : il protège l'intestin par des molécules défensives anti-microbiennes et renferme des facteurs immunomodulateurs et anti-inflammatoires ; ceux-ci activent le développement du système immunitaire du nouveau-né tout en lui fournissant une protection immunitaire (Salmon *et al.* 2009).

Composition du lait en Ig

La concentration du lait de truie en IgG baisse à partir du troisième jour post-partum pour atteindre 1mg/ml et celle des IgM ne dépasse pas 1mg/ml. Les IgA dont la concentration se maintient autour de trois mg/ml pendant toute la lactation, constituent ainsi l'isotype prédominant du lait. Elles ne dérivent pas des IgA dimériques du sang contrairement à 70% des IgG ; comme les IgM, les IgA du lait sont synthétisées localement par les plasmocytes présents dans la mamelle (Bourne & Curtis, 1973). Ces concentrations concordent avec les résultats des études immuno-histochimiques sur le nombre et la localisation des plasmocytes dans la mamelle (Chabaudie *et al.* 1993). Chez les ruminants, on n'observe pas d'inversion des isotypes du colostrum et du lait : la concentration d'IgG1 dans le lait diminue d'environ 100 fois, de 75mg/ml à 0,4 mg/ml parallèlement à la diminution d'expression du récepteur FcRn (Mayer *et al.* 2002), alors que la concentration des IgA sécrétées est seulement de 0,05 mg/ml.

Absorption/excrétion intestinale des Igs du lait maternel

Même après l'arrêt de l'absorption intestinale des macromolécules (*gut closure*), l'intestin ne présente pas une barrière parfaite, des IgG, IgA et des antigènes peuvent la traverser. En particulier, la présence du récepteur FcRn sur les cellules épithéliales intestinales peut favoriser le transport vers le sang d'IgG données par voie orale, notamment chez le porc adulte, à la différence de ce qui est observé chez la souris où ce récepteur disparaît au sevrage. Inversement, le récepteur polymérique pIgR des cellules épithéliales permet d'excréter des complexes IgA-antigène, comme peut le faire le récepteur FcRn qui apparaît donc comme un récepteur bidirectionnel.

Transfert des IgG1 et IgA dans le lait des ruminants

Dans le lait de vache, presque 100% des Igs proviennent du sang maternel par filtration au travers de la mamelle ; une faible synthèse locale d'IgG1 est cependant attestée par la présence de plasmocytes, révélés par histochimie dans le parenchyme mammaire (Newby & Bourne, 1977). Les IgA du lait, également d'origine sanguine, sont dimériques comme les IgA sériques et sont captées par les pIgR des cellules épithéliales mammaires qui assurent leur transport dans le lait. Chez la

brebis, elles sont par contre d'origine intestinale et leur production est en rapport avec le nombre des plasmocytes les sécrétant ; lors de l'involution de la mamelle, ces IgA synthétisées localement saturer les récepteurs pIgR, empêchant leur transport du sérum vers le lait pendant cette période (Sheldrake & Husband, 1985).

Production locale d'IgA dans la mamelle de truie et immunoactivité dans la lumière intestinale du jeune porcelet

La plupart des Ig du lait (70% des IgG et plus de 90% des IgM et IgA) sont synthétisées localement dans la mamelle (Bourne & Curtis, 1973). Leurs concentrations sont en rapport avec le nombre et la localisation des plasmocytes (Chabaudie *et al.* 1993).

Ce n'est pas seulement parce que l'IgA est l'isotype le plus abondant dans le lait de truie que sa fonction est plus importante que celle des autres isotypes, IgG/IgG1 ou IgM ; en fait tout isotype d'Ig peut protéger l'intestin contre une l'infection par le virus de la gastroentérite transmissible (VGET) : en effet, chacun d'eux, pris séparément, est capable de neutraliser le virus (Stone *et al.* 1977). Cependant, dans les conditions naturelles, les IgA sécrétoires résistent mieux à la protéolyse en milieu acide que les IgG. Comme elles sont dimériques, elles agglutinent les germes pathogènes jusqu'à former des complexes qui adhèrent au mucus par la pièce sécrétoire et qui sont éliminés par le péristaltisme intestinal. Les IgM et les IgA peuvent activer le complément et donc exercer une activité bactéricide contribuant à l'intégrité des muqueuses. Les IgA sécrétoires du lait de truie se fixant sur les *E. coli* entéro-pathogènes peuvent aussi induire la perte irréversible d'un plasmide codant une adhésine (Porter & Chidlow, 1979). Plus récemment, on a montré que les Ac naturels sIgA du lait de souris se retrouvent dans les fèces, complexés aux salmonelles dont ils restreignent la diffusion au sein de l'élevage (Wijburg *et al.* 2006). Les Ac sécrétoires sIgA sont également impliqués dans les mécanismes consistant à « exclure » des antigènes alimentaires (et notamment des allergènes) et des organismes commensaux, en formant avec eux des complexes qui limitent de ce fait leur passage dans la circulation sanguine.

Transfert d'immunité cellulaire par des cellules de lait

Environ 10% des cellules du lait de truie sont des lymphocytes, 31% des cellules épithéliales, 47% des neutrophiles, 9% des macrophages et 1% des éosinophiles, plus des fragments de cellules anucléés (Schollenberger *et al.* 1986). Les cellules du lait ont plusieurs fonctions immunitaires. Leur activité phagocytaire est moindre que celle des neutrophiles du sang et des macrophages alvéolaires (Evans *et al.* 1982). Chez le ruminant, les lymphocytes du lait montrent des phénotypes équivalents aux lymphocytes de l'épithélium des acini mammaires, avec des fonctions caractéristiques des lymphocytes T mémoire et un plus grand nombre de lymphocytes T CD8 que CD4 (Yang *et al.* 1997 ; Salmon *et al.* 2009). L'observation que le nouveau-né humain

peut présenter une réaction à la tuberculine s'il a ingéré du lait de sa mère sensibilisée suggère que les cellules du lait seraient à même de transférer une immunité spécifique cellulaire. Cependant, l'efficacité du transfert dépend de la capacité des cellules du lait à survivre dans le tube digestif du nouveau-né, à moins que cette immunité ne soit due aux facteurs solubles produits par les lymphocytes plutôt qu'aux lymphocytes eux-mêmes.

INDUCTION DES RÉPONSES Ig DANS LE COLOSTRUM ET LE LAIT

Origine des Ig du colostrum et lait

Cinétique et origine des sous-populations lymphocytaires (autres que les plasmocytes) recrutées dans la mamelle pendant la gestation

Chez la truie, le nombre de leucocytes et de lymphocytes augmente dans la mamelle à partir du 80^e jour de la gestation, parallèlement à celui des récepteurs de la prolactine sur les cellules épithéliales, (Salmon 1987). Tous les types de cellules impliquées dans la réponse immune, lymphocytes T, CD4⁺ et CD8⁺, lymphocytes B, macrophages et cellules épithéliales MHC classe II sont présents dans le parenchyme mammaire aux diverses étapes de la gestation et de la lactation (Salmon 1987; Chabaudie *et al.* 1993). L'accumulation des cellules immunitaires, et notamment les CD8⁺, près de l'épithélium mammaire suggère qu'elles jouent un rôle dans la défense de l'intégrité épithéliale (Chabaudie *et al.* 1993). Seules quelques-unes des fonctions des lymphocytes du parenchyme mammaire ont été explorées ; ces cellules présentent une capacité de réponse semblable à celles des lymphocytes du sang (Salmon 1987) à la différence des lymphocytes du lait qui tendent à être moins réactifs que ceux du sang (Evans *et al.* 1982). La glande mammaire se comporte comme un tissu extra-lymphoïde analogue à la *lamina propria* de l'intestin ou des bronches, sans composant lymphoïde organisé, mais qui peut « importer » les lymphocytes du sang. Dans ces organes, le recrutement des lymphocytes activés /mémoire circulants se produit en une cascade d'étapes (Butcher & Picker, 1996) impliquant des interactions spatiales et temporelles des récepteurs lymphocytaires de domiciliation avec des adhésines vasculaires spécifiques des tissus. En outre, d'autres facteurs tels que les chimiokines sont impliqués dans la domiciliation des lymphocytes. L'absence de L-selectine sur les lymphocytes mammaires ainsi que de son ligand sur les vaisseaux sanguins indique que la mamelle ne recrute que des lymphocytes activés/mémoire.

Recrutement des plasmocytes de la mamelle lors d'allaitement et synthèse locale d'Ig

Chez la truie, on pouvait suspecter l'existence d'un lien immunitaire entre l'intestin et la glande mammaire en se fondant sur les observations rapprochant l'apparition de diarrhée chez la mère lors d'épidémie de gastro-entérite transmissible (GET)

COMMUNICATION

virale, de l'existence d'une protection du porcelet nouveau-né contre ce virus, aussi longtemps qu'il était allaité par sa mère. Par la suite, on a trouvé que plus le lait était enrichi en IgA spécifiques, meilleure était la protection contre la diarrhée. Ces études furent étendues aux voies respiratoires supérieures avec le virus de l'infection respiratoire porcine à coronavirus ou PRCV (*Porcine Respiratory Coronavirus*), un mutant respiratoire du VGET qui induisait aussi la présence d'IgA dans le lait (Saif *et al.* 1994 ; Lanza *et al.* 1995). Chez la truie et la souris, (Tanneau *et al.* 1999), les plasmocytes à IgA s'accumulent dans la glande mammaire en début de lactation, alors que dans le même temps, le nombre des lymphocytes T -accumulés pendant la gestation- commence à décroître (Chabaudie *et al.* 1993). Cette accumulation de plasmocytes à IgA coïncide avec le début de l'accroissement de la synthèse d'IgA du lait.

Facteurs humoraux et cellulaires responsables du recrutement des plasmocytes dans la glande mammaire en période d'allaitement : le lien entéro-broncho-mammaire

Afin d'être en mesure d'augmenter les qualités protectrices du lait maternel, nous nous sommes intéressés aux mécanismes prévalant à la domiciliation des plasmocytes à IgA dans la mamelle (Salmon 2000). Nous avons déterminé, chez le porc, deux compartiments du système immunitaire muqueux, circuits de migration propres aux lymphocytes et ayant en commun les mêmes molécules d'adhésion, les chimiokines et leurs récepteurs (*figure 2*) (Bourges *et al.* 2004 ; 2007). Dans le premier compartiment, intestinal, les plasmocytes à IgA produits dans les plaques de Peyer de l'intestin sont programmés pour exprimer l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ et sont recrutés par l'adressine vasculaire MadCAM-1 (*Mucosal addressin Cell Adhesion Molecule 1*) des cellules endothéliales des capillaires mammaires. Ceux produits dans les voies

respiratoires supérieures, par la muqueuse nasale, les amygdales pharyngiennes, expriment l'intégrine $\alpha 4\beta 1$ et sont recrutés par l'adressine vasculaire VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule*) de ces mêmes cellules. De surcroît, ces deux compartiments sécrètent la même chimiokine épithéliale CCL28 ou MEC (*Mucosal Epithelial Chemokine*). La glande mammaire en lactation, chez la truie, a intégré les propriétés des deux compartiments intestinal et respiratoire : les cellules endothéliales de ses capillaires expriment MadCAM-1 et VCAM-1 et ses acini excrètent aussi CCL28 dans le lait (Bourges *et al.* 2008 ; Berri *et al.* 2008). Nous sommes partis de notre observation de l'augmentation, dans la mamelle en lactation, du nombre de plasmocytes à IgA exprimant aussi $\alpha 4\beta 7$, à un moment où l'expression de MAdCAM-1 diminue (Tanneau *et al.* 1999) et nous avons recherché un facteur d'origine épithéliale aux propriétés de chimioattraction pour des lymphoblastes IgA (Fronteau *et al.* 1998). Nous avons isolé et purifié un biopeptide dérivé du facteur amyloïde sérique (SAA) dans le lait de truie (Rodriguez *et al.* 2009). Cette SAA est aussi trouvée en abondance dans le colostrum de la vache, sans fonction définie.

Par comparaison avec le porc, les capillaires sanguins de la mamelle des ruminants sont dépourvus d'adressine vasculaire mais l'épithélium a conservé l'aptitude à sécréter, comme l'intestin, la chimiokine CCL28 (Hodgkinson *et al.* 2009 ; Distelhorst *et al.* 2010).

Régulations du pIgR et du recrutement des cellules par les hormones et les cytokines

L'expression de pIgR est influencée par de nombreuses molécules biologiques, y compris des hormones, des cytokines telles qu'IL-4 et IFN- γ et des métabolites). Les hormones mammatropes augmentent la liaison des Ac aux cellules épithéliales mammaires

	PORC	RUMINANT
Muqueuses intestinales et respiratoires	Plasmocytes à IgA	Plasmocytes à IgA
Sang	↓ Plasmocytes à IgA	IgA
Mamelle		IgA
Colostrum Lait	IgA	IgA

Figure 2: Schéma illustrant l'origine des plasmocytes, leur circulation et la sécrétion des IgA dans le colostrum et le lait chez le porc (à gauche) et le ruminant (à droite). Les IgA sont synthétisées par les plasmocytes à IgA situés dans les muqueuses des voies respiratoires supérieures et de l'intestin.

Chez le porc, les plasmocytes quittent ces sites inducteurs pour migrer dans la glande mammaire par la circulation sanguine. Une fois arrivés dans la glande mammaire, les plasmocytes sécrètent leurs IgA qui sont reconnues par le récepteur pIgR des cellules épithéliales, pour être excrétés ensuite dans le lait.

Chez les ruminants, les plasmocytes ne peuvent pas être reconnus dans la glande mammaire compte tenu de l'absence des molécules spécifiques d'adhésion sur l'endothélium de ses capillaires. Les IgA qu'ils produisent gagnent la circulation sanguine avant d'être excrétés dans le lait par le récepteur pIg.

et leur transport à travers l'épithélium, ainsi que le nombre de plasmocytes IgA dans cet organe (Weisz-Carrington *et al.* 1977). La densité des récepteurs de prolactine dans la glande mammaire de truie a été corrélée à l'accumulation des lymphocytes dans cet organe (Salmon 1987). L'expression de MAdCAM-1 plus élevée durant la gestation que durant la lactation est liée à la présence d'un ERE (élément de réponse aux œstrogènes) dans le promoteur du gène MAdCAM-1 chez la souris.

IMMUNISATION INTRAMAMMAIRE

Dans le cas où la production des Ig dans la glande mammaire est dépendante de la migration plasmocytaire, on peut envisager d'accroître les Ig protectrices dans le colostrum/lait, soit par une meilleure stimulation des sites inducteurs (intestin, bronches), soit par un meilleur recrutement des plasmocytes dans la glande elle-même. Mais la présence conjointe de lymphocytes fonctionnels et de cellules présentatrices d'antigène dans la mamelle et la possibilité d'une dégradation de l'antigène moins importante dans la mamelle que dans l'intestin suggèrent d'utiliser la voie d'immunisation mammaire, soit en infusant, soit en injectant l'Ag. Ainsi, l'injection intra-mammaire du VGET mène à une réponse IgG anti-virale en gestation et IgA en lactation (Salmon 1989). Les IgA, absentes dans les sécrétions mammaires des brebis primipares, peuvent être induites lorsque la glande mammaire reçoit l'antigène avant la mise bas; ces IgA persistent jusqu'à la lactation suivante conduisant au concept, chez les ovins, d'un système IgA «sécrétoire dormant» qui peut être réactivé par une stimulation antigénique locale (Lascelles *et al.* 1981). Il est vraisemblable que la réaction immune s'est déclenchée en un site lymphoïde éloigné, par exemple l'intestin; on peut en effet y retrouver de l'Ag véhiculé probablement par des cellules dendritiques provenant de la mamelle. Ainsi, la réaction immunitaire se déroulerait dans les sites inducteurs de l'intestin et les lymphocytes, spécifiquement activés dans ces sites par l'Ag, les quitteraient et gagneraient la mamelle. S'y retrouvant de nouveau en contact avec l'Ag, ces lymphocytes pourraient même engager de nouveaux cycles de division et plus nombreux, ils assureraient une plus grande production d'anticorps par la mamelle, ce qui donne un sens à l'observation de la réponse

immunitaire des quartiers de la mamelle où l'antigène a été injecté, plus intense que celle des quartiers témoins.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La glande mammaire des artiodactyles a annexé le système immunitaire humoral des Ig en dotant ses cellules épithéliales de récepteurs FcRn et de récepteurs pIg reconnaissant respectivement les IgG/IgG1 et les IgA dimériques sécrétoires. Ces IgA sont produits par les plasmocytes générés, chez le porc, dans des sites inducteurs localisés dans l'intestin (plaques de Peyer) et les voies aériennes supérieures (muqueuse nasale, amygdales pharyngiennes). Ils migrent ensuite vers la glande mammaire où ils sont recrutés par des adressines vasculaires et des chimiokines. Cette migration conduit à une concentration d'IgA dans le lait plus élevée que celle résultant de la filtration des IgA sériques comme chez les ruminants. En effet, l'absence d'adressines vasculaires dans la mamelle des ruminants explique la pauvreté en plasmocytes à IgA dans cet organe, alors que ces adressines sont présentes ailleurs dans l'organisme. Ainsi chez les ruminants, ce sont plutôt les IgG1 filtrées depuis le sang maternel vers le lait qui assurent l'immunité colostrale et lactée du nouveau-né.

L'amélioration de l'immunité colostrale à IgG chez le porc et à IgG1 chez les ruminants et celle de l'immunité lactée à IgG1 chez les ruminants dépendent donc de la stimulation de l'immunité systémique obtenue par immunisation parentérale. En revanche, pour améliorer l'immunité lactée par les IgA chez les porcs, on utilisera les voies appropriées d'immunisation, voie orale pour le lien «entéro-mammaire» et/ou voie intra-nasale pour le lien «aéro-mammaire», ainsi que des adjuvants favorisant la production d'IgA tels que la vitamine A ou des pré-probiotiques. On peut également songer à augmenter le nombre de récepteurs FcRn et pIg, par les hormones ou les cytokines, accroître le recrutement local des plasmocytes par la libération *in situ* de chémokines spécifiques, tel CCL28, ou par des peptides de type SAA.

Les cellules du colostrum sont aussi à même de transmettre une mémoire immunitaire au nouveau-né et les différences dans les molécules de migration entre porc et ruminants suggèrent des fonctions différentes, incluant la défense de la glande elle-même contre les mammites.

BIBLIOGRAPHIE

- Baintner, K. 2007. Transmission of antibodies from mother to young: Evolutionary strategies in a proteolytic environment. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 117:153-161.
- Bandrick, M., Pieters, M., Pijoan, C., Molitor, T.W. 2008. Passive transfer of maternal *Mycoplasma hyopneumoniae*-specific cellular immunity to piglets. *Clin Vaccine Immunol.* 15: 540-543.
- Berri, M., Meurens, F., Lefevre, F., Chevaleyre, C., Zanello, G., Gerds, V., Salmon, H. 2008. Molecular cloning and functional characterization of porcine CCL28: possible involvement in homing of IgA antibody secreting cells into the mammary gland. *Mol Immunol.* 45: 271-277.
- Besser, T.E., Gay, C.C., McGuire, T.C., Evermann, J.F. 1988. Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into the intestinal lumen. *J Virol.* 62: 2238-2242.
- Bourges, D., Chevaleyre, C., Wang, C., Berri, M., Zhang, X., Nicaise, L., Meurens, F., Salmon, H. 2007. Differential expression of adhesion molecules and chemokines between nasal and small intestinal mucosae: implications for T- and sIgA+ B-lymphocyte recruitment. *Immunology* 122: 551-561.
- Bourges, D., Meurens, F., Berri, M., Chevaleyre, C., Zanello, G., Levast, B., Melo, S., Gerds, V., Salmon, H. 2008. New insights into the dual recruitment of IgA+ B cells in the developing mammary gland. *Mol Immunol.* 45: 3354-3362.
- Bourges, D., Wang, C.H., Chevaleyre, C., Salmon, H. 2004. T and IgA B lymphocytes of the pharyngeal and palatine tonsils: differential expression

COMMUNICATION

- of adhesion molecules and chemokines. *Scand. J Immunol.* 60: 338-350.
- Bourne, F.J. & et Curtis, J. 1973. The transfer of immunoglobins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. *Immunology* 24: 157-162.
 - Butcher, E.C. & Picker, L.J. 1996. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 272: 60-66.
 - Cepica, A. & Derbyshire, J.B. 1984. The effect of adoptive transfer of mononuclear leukocytes from an adult donor on spontaneous cell-mediated cytotoxicity and resistance to transmissible gastroenteritis in neonatal piglets. *Can J Comp Med.* 48: 360-364.
 - Chabaudie, N., Le Jan, C., Olivier, M., Salmon, H. 1993. Lymphocyte subsets in the mammary gland of sows. *Res Vet Sci.* 55: 351-355.
 - Danielsen, M., Thymann, T., Jensen, B.B., Jensen, O.N., Sangild, P.T., Bendixen, E., 2006. Proteome profiles of mucosal immunoglobulin uptake in inflamed porcine gut. *Proteomics* 6: 6588-6596.
 - Distelhorst, K., Voyich, J., Wilson, E. 2010. Partial characterization and distribution of the chemokines CCL25 and CCL28 in the bovine system. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 138: 134-138.
 - Donovan, D.C., Reber, A.J., Gabbard, J.D., Ceves-Avila, M., Galland, K.L., Holbert, K.A., Ely, L.O., Hurley, D.J. 2007. Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves. *Am J Vet Res.* 68: 778-782.
 - Evans, P.A., Newby, T.J., Stokes, C.R., Bourne, F.J. 1982. A study of cells in the mammary secretions of sows. *Vet Immunol Immunopathol.* 3: 515-527.
 - Fink, K., Zellweger, R., Weber, J., Manjarrez-Orduno, N., Holdener, M., Senn, B.M., Hengartner, H., Zinkernagel, R.M., Macpherson, A.J. 2008. Long-term maternal imprinting of the specific B cell repertoire by maternal antibodies. *Eur J Immunol.* 38:90-101.
 - Fronteau, D., Tanneau, G.M., Henry, G., Chevalere, C.C., Leonil, J., Salmon, H. 1998. Activités chimiotactique de lait d'artiodactyle sur les lymphocytes porcins. In *Comptes Rendus des 30^e Journées de la Recherche Porcine en France*, pp363-367. Paris
 - Hodgkinson, A., Carpenter, E., Smith, C., Molan, P., Prosser, C. 2009. Effects on adhesion molecule expression and lymphocytes in the bovine mammary gland following intra-mammary immunisation. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 131: 110-116.
 - Jensen, A.R., Elnif, J., Burrin, D.G., Sangild, P.T. 2001. Development of intestinal immunoglobulin absorption and enzyme activities in neonatal pigs is diet dependent. *J Nutr.* 131: 3259-3265.
 - Klobasa F. & Butler J.E. 1987. Absolute and relative concentrations of immunoglobulins G, M, and A, and albumin in the lacteal secretion of sows of different lactation numbers. *Am J Vet Res.* 48: 176-182.
 - Klobasa, F., Butler, J.E., Werhahn, E., Habe, F. 1986. Maternal-neonatal immunoregulation in swine. II. Influence of multiparity on de novo immunoglobulin synthesis by piglets. *Vet Immunol Immunopathol.* 11: 149-159.
 - Lanza, I., Shoup, D.I., Saif, L.J. 1995. Lactogenic immunity and milk antibody isotypes to transmissible gastroenteritis virus in sows exposed to porcine respiratory coronavirus during pregnancy. *Am J Vet Res.* 56: 739-748.
 - Mayer, B., Zolnai, A., Frenyo, L.V., Jancsik, V., Szentimay, Z., Hammarstrom, L., Kacsokovics, I. 2002. Redistribution of the sheep neonatal Fc receptor in the mammary gland around the time of parturition in ewes and its localization in the small intestine of neonatal lambs. *Immunology* 107: 288-296.
 - Newby, T.J. & Bourne, J. 1977. The nature of the local immune system of the bovine mammary gland. *J Immunol.* 118: 461-465.
 - Porter, P. & Chidlow, J.W. 1979. Response to E. coli antigens via local and parenteral routes linking intestinal and mammary immune mechanisms in passive protection against neonatal colibacillosis in the pig. In *Immunology of the breast milk* (ed. P.L. Ogra & D.H. Dayton) pp. 73-90. Monograph of the National Institute of Child Health and Human Development, Raven Press, New York.
 - Reber, A.J., Lockwood, A., Hippen, A.R., Hurley, D.J. 2006. Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Vet Immunol Immunopathol.* 109: 139-150.
 - Rodriguez, B., Chevalere, C., Henry, G., Molle, D., Virlogeux-Payant, I., Berri, M., Boulay, E., Leonil, J., Meurens, E., Salmon, H. 2009. Identification in milk of a serum amyloid A peptide chemoattractant for B lymphoblasts. *BMC Immunol.* 10: 4.
 - Saif, L.J., van Cott, J.L., Brim, T.A. 1994. Immunity to transmissible gastroenteritis virus and porcine respiratory coronavirus infections in swine. *Vet Immunol Immunopathol.* 43: 89-97.
 - Salmon, H. 1987. The intestinal and mammary immune system in pigs. *Vet Immunol Immunopathol.* 17: 367-388.
 - Salmon, H. 1989. Humoral lactogenic immunity in the sow : basis and practice. *Pig News & Information* 10: 151-157.
 - Salmon, H. 2000. Mammary gland immunology and neonate protection in pigs. Homing of lymphocytes into the MG. *Adv Exp Med Biol.* 480:279-86., 279-286.
 - Salmon, H., Berri, M., Gerds, V., Meurens, F. 2009. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. *Dev Comp Immunol.* 33: 384-393.
 - Schnulle, P.M. & et Hurley, W.L. 2003. Sequence and expression of the FcRn in the porcine mammary gland. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 91: 227-231.
 - Schollenberger, A., Degorski, A., Frymus, T., Schollenberger, A., 1986. Cells of sow mammary secretions. I. Morphology and differential counts during lactation. *Zentralbl Veterinarmed. (A)* 33: 31-38.
 - Sheldrake, R.F. & Husband, A.J. 1985. Immune defences at mucosal surfaces in ruminants. *J Dairy Res.* 52: 599-613.
 - Siegrist, C.A. 2003. Mechanisms by which maternal antibodies influence infant vaccine responses: review of hypotheses and definition of main determinants. *Vaccine* 21: 3406-3412.
 - Stone, S.S., Kemeny, L.J., Woods, R.D., Jensen, M.T. 1977. Efficacy of isolated colostrum IgA, IgG, and IgM(A) to protect neonatal pigs against the coronavirus of transp363-367. missible gastroenteritis. *Am J Vet Res.* 38: 1285-1288.
 - Tanneau, G.M., Hibrand-Saint, O.L., Chevalere, C.C., Salmon, H.P. 1999. Differential recruitment of T- and IgA B-lymphocytes in the developing mammary gland in relation to homing receptors and vascular addressins. *J Histochem Cytochem.* 47: 1581-1592.
 - Tuboly, S., Bernath, S., Glavits, R., Kovacs, A., Megyeri, Z. 1995. Intestinal absorption of colostrum lymphocytes in newborn lambs and their role in the development of immune status. *Acta* 43: 105-115.
 - Weisz-Carrington, P., Roux, M.E., Lamm, M.E., 1977. Plasma cells and epithelial immunoglobulins in the mouse mammary gland during pregnancy and lactation. *Journal of Immunology* 119: 1306-1307.
 - Wijburg, O.L., Uren, T.K., Simpfendorfer, K., Johansen, F.E., Brandtzaeg, P., Strugnell, R.A. 2006. Innate secretory antibodies protect against natural Salmonella typhimurium infection. *J Exp Med.* 203: 21-26.
 - Williams, P.P. 1993. Immunomodulating effects of intestinal absorbed maternal colostrum leukocytes by neonatal pigs. *Can J Vet Res.* 57: 1-8.
 - Yang, T.J., Ayoub, I.A., Rewinski, M.J. 1997. Lactation stage-dependent changes of lymphocyte subpopulations in mammary secretions: inversion of CD4+/CD8+ T cell ratios at parturition. *Am J Reprod Immunol.* 37: 378-383.