

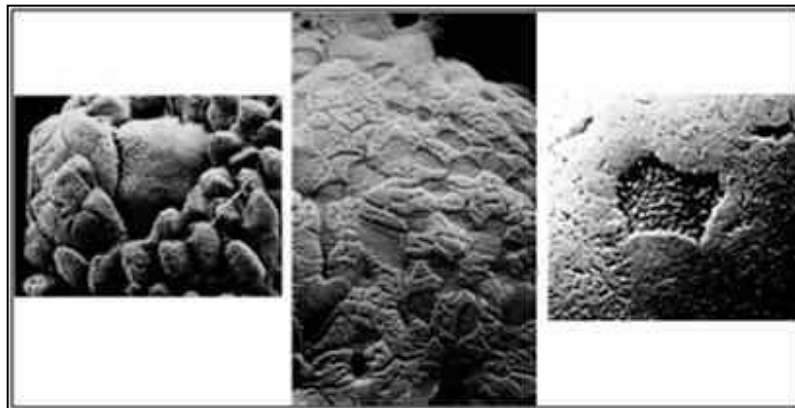
B. LES CELLULES IMMUNITAIRES MUQUEUSES ET LES PARTENAIRES DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE MUQUEUSE

De nombreux acteurs interviennent dans la réponse immunitaire muqueuse. Les premiers sont les cellules de l'épithélium muqueux, dont les cellules M du FAE. Les cellules dendritiques muqueuses occupent une place centrale dans l'orchestration de cette réponse immunitaire. Plusieurs populations cellulaires, de lymphocytes notamment, sont ensuite mises en jeu, depuis le site muqueux jusqu'au nœud lymphatique drainant. Enfin, les immunoglobulines jouent un rôle particulier au niveau des muqueuses.

1) Les cellules M

Les cellules M sont un type particulier de cellules épithéliales rencontrées dans le FAE. Elles ont été décrites pour la première fois dans le FAE recouvrant les plaques de Peyer, mais ont ensuite été identifiées dans le FAE de plusieurs sites muqueux, qu'il s'agisse de structures organisées ou d'ILF : l'anneau de Waldeyer, le NALT (dont ceux des Equidés [113]), le BALT et le CALT [80, 120]. Le nom de ces cellules vient de « membraneuse » ou « microfold », car chez l'Homme, dans l'intestin, elles sont quasiment dépourvues de villosités (figure 6).

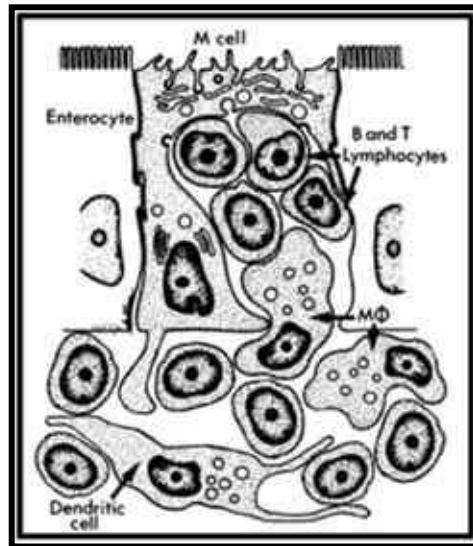
Figure 6 : Image en microscopie électronique : à gauche, le dôme d'une plaque de Peyer au milieu des villosités intestinales, au centre un grossissement d'une plaque de Peyer avec visualisation des cellules M au milieu des entérocytes, et à droite un grossissement d'une cellule M, d'après Miller *et al.*, 2007 [147]



Le cytoplasme apical est très mince (d'où le nom de « membraneuse ») et la partie basale forme des replis dans lesquels sont logés des lymphocytes T ou B, ou des macrophages. Ceci en fait des cellules petites, et la distance apex-base est très faible, de l'ordre de quelques microns [156]. Cette structure particulière est très bien adaptée à leur fonction : la capture d'antigènes. En effet, elles sont capables de transporter les antigènes solubles luminaux, des micro-particules ou des micro-organismes entiers de leur pôle apical à leur pôle basal [147]. Les mécanismes sont variés (phagocytose pour les plus grosses particules, endocytose, ou pinocytose pour les antigènes solubles), mais semblent tous faire intervenir des molécules de la famille des intégrines [147]. Ces antigènes sont ensuite captés par les cellules immunitaires

situées dans les replis cytoplasmiques de la cellule M (figure 7). Les cellules M expriment à leur surface, dans le glycocalix, des marqueurs particuliers, notamment en ce qui concerne la famille des intégrines et des lectines, différents des marqueurs des autres cellules épithéliales du FAE [49], ce qui leur permet de reconnaître d'autres molécules, comme des antigènes exprimés à la surface d'agents pathogènes.

Figure 7 : Schéma d'une cellule M en relation avec les lymphocytes et macrophages situés dans les replis cytoplasmiques, d'après Neutra *et al.*, 1996 [156]



Cependant, le rôle de cellule présentatrice d'antigènes (CPA) de ces cellules épithéliales reste peu clair. On sait toutefois qu'elles expriment la cathepsine E caractéristique des CPA et qu'elles peuvent sécréter de l'IL-1, une cytokine pro-inflammatoire [147]. Elles expriment également les molécules de co-stimulation CD86 et parfois CD80 [28], qui interviennent dans la présentation antigénique et la coopération LB-LT au niveau des replis cytoplasmiques. Le glycocalix recouvrant ces cellules est très variable d'un site à l'autre, et même au sein d'un même FAE [156]. Cela explique la faculté des cellules M à reconnaître un grand nombre d'antigènes. A titre d'exemple, il a été montré chez la souris que les cellules M des plaques de Peyer et du caecum expriment des marqueurs différents : celles des PP (plaques de Peyer) sont Alkaline-phosphatase négatives mais expriment *Ulex europagus* agglutinin-1 (UEA-1), alors que les cellules M du caecum sont Alkaline-phosphatase positives et sont dépourvues de *Ulex europagus* agglutinin-1 [50]. L'alkaline-phosphatase est une molécule membranaire dont la fonction est d'hydrolyser les macromolécules luminales. UEA-1 est une molécule membranaire de la famille des lectines. Ces molécules de surface se lient à des dérivés glucidiques exprimés par les agents pathogènes ou à des protéines endogènes. Les antigènes reconnus par les cellules peuvent donc varier selon l'étage du tube digestif.

La facilité d'accès de ces cellules par les antigènes en fait des cibles pour de nombreux agents pathogènes pour lesquels elles représentent une porte d'entrée dans l'organisme, mais également pour le développement de vaccins oraux [156].

2) Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont ces cellules présentatrices d'antigènes dites « professionnelles » qui initient, coordonnent et régulent la réponse immunitaire spécifique

[14]. En fonction du site muqueux (incluant les nœuds lymphatiques qui drainent les muqueuses), on trouve différents types de cellules dendritiques. Ces cellules jouent un rôle fondamental et complexe dans l'orchestration de la réponse immunitaire muqueuse. Elles sont présentes à l'état immature dans les épithéliums muqueux et les tissus lymphoïdes organisés appartenant au système du MALT où elles assurent un rôle de capture d'antigènes. Suite à différents signaux de maturation, elles acquièrent leur capacité maximale de présentation d'antigènes. Ce processus fait intervenir une migration dans les nœuds lymphatiques drainant les muqueuses [142]. Nous verrons comment ces DC sont impliquées dans la différenciation et la stimulation des populations lymphocytaires notamment.

a) Les différents types de cellules dendritiques impliquées dans la réponse immunitaire muqueuse

Il existe de nombreux phénotypes de DC en fonction des marqueurs cellulaires exprimés à la surface de ces cellules. Les DC ont un rôle différent en fonction de leur phénotype. De nombreux phénotypes de DC différents sont retrouvés au niveau des surfaces muqueuses. Les phénotypes de DC varient en fonction du type de muqueuse (muqueuse de type 1 ou de type 2) et leur répartition varie selon le site muqueux considéré et au sein d'un même site muqueux. Le marqueur CD11c caractérise les DC myéloïdes [193], par opposition aux DC plasmacytoïdes (qui sont CD11c⁻).

Chez la souris, deux sous-populations majeures sont présentes dans les tissus lymphoïdes : les DC CD8 α ⁺ et CD8 α ⁻. Le phénotype CD8 α ⁺ indique qu'il s'agit de DC de lignée lymphoïde [193], exprimant le CLR (récepteur lectine de type C) DEC-205. Elles sont spécialisées dans la capture et la présentation croisée d'antigènes provenant des cellules apoptotiques. Une fois activées, elles produisent l'IL-12 et stimulent les LT CD8⁺ (réponse Th1) [205]. Une sous-population de DC CD8 α ⁺ sont de phénotype FasL⁺/CD8 α ⁺ et sont impliquées dans la régulation de la réponse immunitaire en induisant l'apoptose des lymphocytes T grâce à l'interaction de la molécule Fas exprimée par les LT avec son ligand FasL sur les DC [202]. Le phénotype CD8 α ⁻ est signe d'une lignée myéloïde, stimulant la prolifération des lymphocytes CD4⁺ [193] par une présentation d'antigènes par le CMH II [205]. Les LT activés par les DC CD8 α ⁻ produisent plus d'IL-2, cytokine impliquée dans la prolifération des lymphocytes et la commutation isotypique des LB.

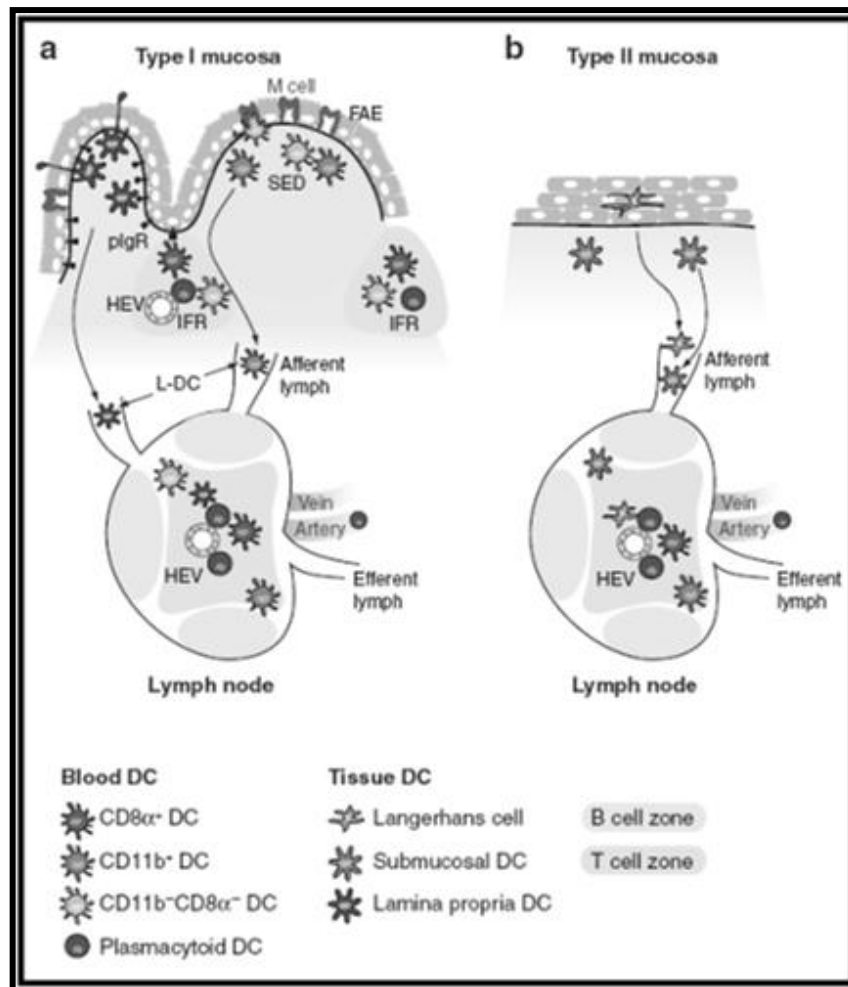
D'une manière générale dans le MALT, les DC CD8 α ⁺ sont plutôt réparties dans les aires inter-folliculaires T-dépendantes, tandis que les DC CD8 α ⁻ sont surtout présentes dans les follicules.

Dans la *lamina propria* intestinale, on trouve 90% de DC de phénotype CD11c⁺ dont la majorité est CD11b⁺CD8 α ⁻ [47], ainsi que quelques-unes de phénotype CD11b⁻CD8 α ⁺ et CD11b⁻CD8 α ⁻.

Dans les épithéliums muqueux, on observe également la présence de cellules de Langerhans (LC). Ce sont un type particulier de cellules dendritiques de la lignée myéloïde [193]. Elles sont issues de monocytes circulants portant le marqueur Gr-1, qui se différencient en cellules de Langerhans après fixation dans l'épithélium. Ce processus fait intervenir le Colony Stimulating Factor 1 (CSF-1) [82]. Ces cellules expriment fortement le CMH II. Il y a plusieurs différences entre les LC et les DC « classiques ». Les LC contiennent des granules de Birbeck et expriment l'antigène Lag, elles portent des récepteurs au fragment Fc des immunoglobulines et expriment le marqueur CD1a [183].

La figure 8 ci-dessous illustre la répartition différente des cellules dendritiques et de Langerhans suivant le type de muqueuse considéré.

Figure 8 : Les différents types de cellules dendritiques rencontrées suivant le type de muqueuse, d'après Iwasaki, 2007 [97]



Dans les muqueuses de type 1, on rencontre des cellules de Langerhans (LC) intra-épithéliales, des DC subépithéliales situées dans la *lamina propria*, et dans les structures du MALT, des DC dans le FAE, dans la région du dôme et dans les espaces interfolliculaires. Dans les muqueuses de type 2, en plus des cellules de Langerhans présentes dans l'épithélium, on trouve des cellules dendritiques sous-muqueuses qui restent sous la lame basale de l'épithélium pluristratifié.

La bibliographie sur les cellules dendritiques du bas appareil génital chez la Femme et la souris est très fournie car les données sont primordiales pour la lutte et le développement de vaccins contre les Infections Sexuellement Transmissibles (IST), en particulier le VIH.

Dans les voies génitales supérieures, il a été montré chez la Souris que la présence des DC est sous dépendance hormonales, puisque ces cellules (CD11c $^+$, F4/80 $^-$, CMH II $^+$) sont absentes chez les sujets ovariectomisés [105].

Dans l'épithélium vaginal humain, on rencontre de nombreuses LC de type Langerin $^+$ HLA-DR/DP/DQ $^+$ (les molécules HLA-DR, -DP et -DQ sont des molécules du CMH II), ainsi que des LC CD1a $^+$, moins nombreuses [96]. Au moins quatre phénotypes de LC ont été identifiés dans l'épithélium vaginal et cervical de la Souris [172].

Malheureusement, il n'y a que peu de données sur les phénotypes de cellules dendritiques muqueuses dans les espèces d'intérêt en médecine vétérinaire. Une étude portant sur le macaque rhésus a toutefois permis de montrer la présence de cellules de Langerhans CD1a $^+$ dans l'épithélium stratifié du vagin et de la partie externe du col [146], ainsi que dans des nodules lymphoïdes présents dans la sous-muqueuse vaginale. Il a été montré chez l'Homme

que les cellules exprimant CD1a sont une source majeure d'IL-12 et polarisent les LT CD4⁺ vers une réponse Th1 [43].

b) Le rôle des DC dans l'induction de la réponse immunitaire muqueuse

Les cellules dendritiques ont deux rôles principaux au niveau des muqueuses : l'induction d'une tolérance de l'organisme vis-à-vis des antigènes commensaux, des nutriments, des spermatozoïdes et du conceptus et l'induction d'une réponse immunitaire contre les organismes ou particules pathogènes. Ces deux fonctions font intervenir les mêmes mécanismes, à savoir la capture et la présentation d'antigènes, ainsi qu'une migration dans les nœuds lymphatiques et une maturation. Ceci est permis grâce à la présence de différents phénotypes de DC dans les muqueuses. En effet, nous avons vu plus haut qu'une sous-population de DC CD8α⁺ est impliquée dans la régulation de la réponse immunitaire.

Les DC sont les CPA les plus puissantes, capables d'activer les LT naïfs et mémoires [248]. Les cellules dendritiques peuvent capter les antigènes circulant dans le milieu extérieur au contact des muqueuses dans lesquelles elles sont présentes. En effet, grâce à l'interaction de leur récepteur membranaire CX3CR1 avec la chimiokine CX3CL1, elles peuvent former des dendrites qui s'intercalent entre les cellules épithéliales en exprimant des protéines de jonctions serrées (occludine, claudine 1 et JAM, Junctional Adhesion Molecule) [112, 179, 180]. La barrière épithéliale reste donc intacte. Elles reconnaissent les micro-organismes grâce à plusieurs récepteurs dont des TLR (Toll-like Receptor). Le TLR9 a ainsi été isolé sur une sous-population de DC (les DC-SIGN⁺ qui résident dans la *lamina propria* du col et l'épithélium vaginal) dans le vagin de la Femme [178]. Elles peuvent se lier à différents agents pathogènes grâce à leur récepteur membranaire CD209, qui est une lectine de type C [81]. D'autres récepteurs dont les NOD-like Receptor (Nucleotide Oligomerization Domain receptors) et les RIG-like Receptor sont impliqués dans la reconnaissance antibactérienne ou antivirale, mais leur fonction précise reste inconnue [145].

Elles migrent ensuite dans les nœuds lymphatiques qui drainent les muqueuses. Les DC muqueuses du GALT et de la *lamina propria* intestinale orientent généralement la réponse immunitaire vers une réponse Th2 en stimulant les LT CD4⁺ en établissant un contexte cytokinique de IL-4 et IL-10 [98]. Nous verrons par la suite que cela constitue une différence notable d'avec les DC du système immunitaire systémique. Ce sont les nœuds lymphatiques iliaques et inguinaux qui drainent les organes génitaux. Dans les nœuds lymphatiques iliaques, les cellules dendritiques sont capables d'induire une forte réponse CD4 mais aussi CD8 [250].

A l'état basal, les DC muqueuses de la *lamina propria* intestinale induisent une tolérance vis-à-vis de certains antigènes [134], ce dont les DC des PP et des ILF ne sont pas capables. Dans le poumon du rat, il a été montré que les DC au repos induisent une réponse Th2 et nécessitent un contexte cytokinique particulier pour induire une réponse Th1 [200]. Dans les nœuds lymphatiques drainant les muqueuses, les DC expriment également la molécule SLPI (Secretory LeucoProtease Inhibitor), impliquée dans la tolérance de l'organisme vis-à-vis des micro-organismes commensaux passant par une tolérance du Lipo-Poly-Saccharide (LPS) bactérien [185].

Les cellules dendritiques sont donc à la fois capables d'induire une réponse immunitaire, plutôt Th2 au niveau des muqueuses, rapide et efficace face à de nombreux agents pathogènes, mais également de maintenir l'homéostasie de l'organisme par le biais d'une tolérance de celui-ci vis-à-vis de nombreux antigènes commensaux, des nutriments, mais aussi du sperme et du fœtus dans le cas de l'appareil génital femelle. L'orientation vers cette réponse Th2 en elle-même est responsable d'une immunosuppression, car elle fait intervenir

l'IL-10 anti-inflammatoire. De plus, les IgA produites captent les antigènes et diminuent leur présentation aux DC, ce qui limiterait le développement d'une réponse immunitaire forte [56].

3) Les lymphocytes T muqueux

a) *Les différents lymphocytes T et leur répartition dans les sites muqueux*

Nous avons vu dans la partie précédente que de nombreux lymphocytes T sont présents dans les sites muqueux. Les lymphocytes T sont caractérisés par le marqueur membranaire CD3 et la présence d'un TCR.

On trouve quelques lymphocytes T CD4⁺ dans les follicules du MALT, mais la majeure partie se trouve dans les aires interfolliculaires. Les LT CD8⁺ sont quant à eux présents dans les aires interfolliculaires et sont prédominants au sein des lymphocytes intra-épithéliaux, particulièrement dans l'intestin. Chez le cheval, l'expression des chaînes CD8 α et CD8 β intra-épithéliale est semblable à celle rencontrée dans les autres espèces [219].

La répartition et la proportion de lymphocytes T varie, au sein d'une espèce, suivant le site muqueux considéré et l'âge de l'individu. Ainsi, chez le cheval, il a été montré que les LT CD8⁺ sont plus nombreux dans l'amygdale naso-pharyngée que dans l'amygdale tubaire [113]. Dans l'appareil respiratoire du cheval, le nombre de cellules CD3⁺ diminue progressivement de la partie supérieure vers la partie inférieure [15]. Cependant, chez le fœtus équin, les LT sont peu nombreux dans l'appareil respiratoire et il n'y a pas de variation suivant l'étage de l'appareil respiratoire [15].

L'application de la technique à l'immuno-peroxydase et l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre les marqueurs cellulaires des lymphocytes a permis à Brinsko de montrer en 2006 que les LT sont abondants dans l'oviducte de la jument, avec une forte proportion de CD8⁺ et un nombre plus faible de CD4⁺ [31].

b) *L'activation des lymphocytes T*

Les lymphocytes T subissent une présentation antigénique au sein des structures lymphoïdes organisées. Ils acquièrent alors leur capacité de migration dans les muqueuses, qui dépend de plusieurs molécules d'adressage et de reconnaissance membranaire, ce que nous verrons dans la partie suivante. Les lymphocytes T activés arrivant au niveau des sites effecteurs muqueux sont encore à l'état fonctionnellement immature. Des signaux complémentaires apportés par les CPA sont nécessaires :

- l'interaction TCR/CD3 avec le complexe formé par le CMH de la CPA et le peptide qu'elle présente
- l'interaction avec les molécules de co-stimulation, notamment CD80 et CD86.

Dans les muqueuses, la présence de TGF- β dans l'environnement cytokinique induit l'expression par le LT d'intégrine $\alpha_E\beta_7$, qui reconnaît la cadhérine E des cellules épithéliales [84]. La fonction exacte de cette intégrine n'est pas connue mais elle permettrait la rétention des LT activés dans les muqueuses [106].

Les LT CD4⁺ peuvent induire ensuite une réponse immunitaire Th1, à médiation cellulaire, ou Th2, à médiation humorale, selon les signaux qu'ils ont reçus et le contexte cytokinique les environnant. Les cellules dendritiques muqueuses jouent un rôle majeur dans l'orientation de la réponse immunitaire.

Au niveau muqueux, les cellules dendritiques orientent généralement la réponse immunitaire vers une réponse Th2, via la sécrétion d'IL-4 et d'IL-10, et surtout la non-

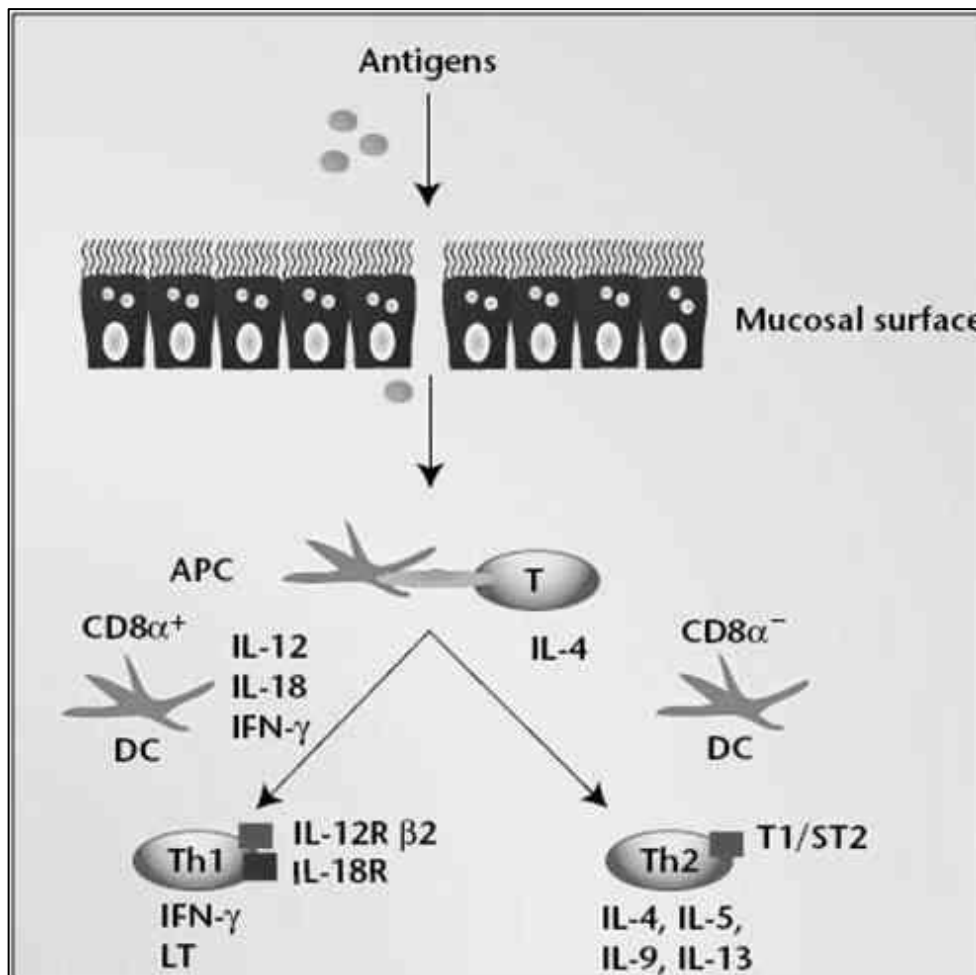
expression d'IL-12 [98, 199]. Chez le cheval, ces mécanismes ont été beaucoup étudiés en ce qui concerne la pousse, ou Recurrent Airway Obstruction [55], la rhodococcose [124] ou les infestations parasitaires [60]. Ces trois entités pathologiques font intervenir le système immunitaire muqueux en premier lieu. Les LT Helper 2 activent et attirent les cellules immunitaires (surtout les plasmocytes dans ce cas) par la sécrétion des cytokines IL-4, IL-5, IL-9 et IL-13 [110].

L'orientation vers une réponse Th1 est induite majoritairement par la production d'IL-12 par les DC. Les LT Helper 1 sécrètent ensuite principalement l'IFN γ et le TNF β [155].

Dans l'appareil génital, une réponse Th1 est induite par les cellules dendritiques Langerin $^-$ et c'est plutôt une réponse dite Th17 qui est induite par les cellules de Langerhans muqueuses de l'appareil génital dans les noeus lymphatiques (NL), *via* un profil cytokinique majoritaire d'IL-17 [71, 177].

La figure 9 ci-dessous illustre la polarisation Th1 ou Th2 des lymphocytes muqueux.

Figure 9 : Polarisation Th1 ou Th2 des LT dans les muqueuses, d'après Neurath *et al.*, 2002 [155]



La dérégulation des LT et notamment de leur apoptose est impliquée dans les mécanismes physio-pathologiques de maladies de type allergique comme la RAO du cheval [151].

4) Les lymphocytes B muqueux

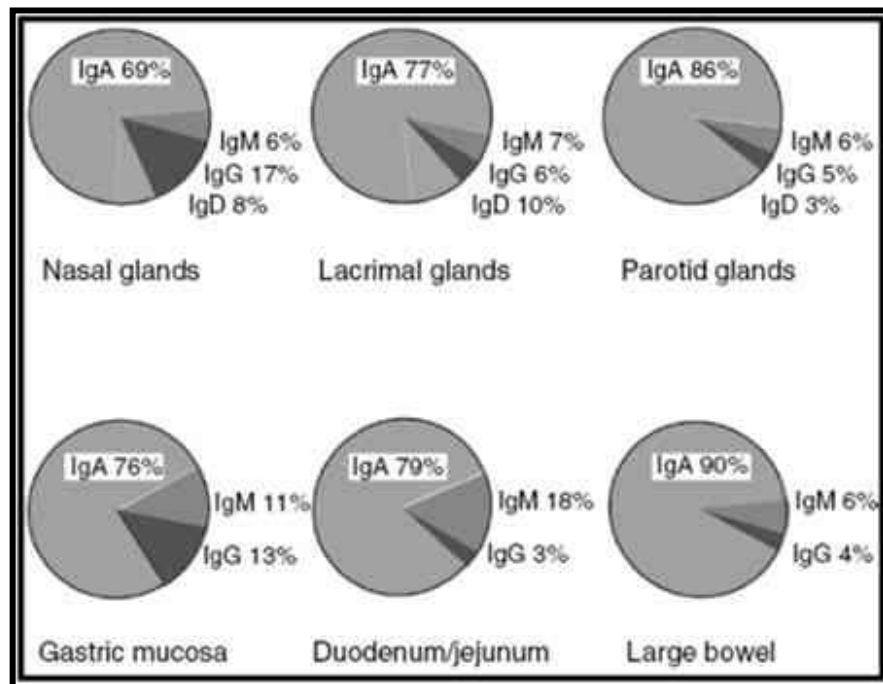
a) *Les différents lymphocytes B et leur répartition dans les sites muqueux*

C'est dans le système immunitaire muqueux que se trouve la plus grande partie de l'activité lymphocytaire B de l'organisme. En effets 80 à 90% des plasmocytes sont concentrés dans les muqueuses [27]. La plupart synthétisent des IgA polymériques (p-IgA) associées à une chaîne J.

Dans les structures lymphoïdes, on trouve principalement des lymphocytes B dans le centre germinatif des follicules lymphoïdes du MALT, mais aussi dans la *lamina propria* des muqueuses de l'organisme. Les MALT font office de réservoirs des LB de type 2, lymphocytes mémoires et effecteurs, qui expriment à leur surface des IgA [28]. Les LB-2 sont les lymphocytes B « conventionnels » de phénotype CD5⁻, par opposition aux LB-1 dits « innés » de phénotype CD5⁺, présents surtout chez les nouveau-nés [5, 21]. Les LB-1 sont capables d'auto-renouvellement et n'ont pas besoin de reconnaître un antigène donné pour se multiplier. Chez la souris, ils expriment des IgM de faible affinité, capables de reconnaître plusieurs antigènes. Ces lymphocytes innés produisent des anticorps naturels qui peuvent être des auto-anticorps, mais de faible affinité pour les antigènes.

Les plasmocytes à IgA prédominent au niveau muqueux mais leur proportion et surtout la proportion des autres phénotypes de plasmocytes varie suivant les sites, comme le montre la figure 10 ci-dessous.

Figure 10 : Répartition des phénotypes de plasmocytes dans les sites effecteurs muqueux, d'après Brandtzaeg et Johansen, 2005 [28]



Chez le cheval, les poches gutturales, situées au carrefour des voies respiratoires et digestives, revêtent une importance particulière dans la réponse immunitaire muqueuse. Il a été montré l'expression d'IgA dans la *lamina propria* de ces structures, dans et à la surface de l'épithélium, mais également d'IgGa, IgGc (2 des trois sous-classes d'immunoglobulines G chez le cheval [233]) et IgM [138]. Peu de LB intra-épithéliaux sont mis en évidence chez le cheval [15].

La répartition des LB varie au sein d'un même site muqueux. Ainsi, on sait que chez le cheval comme dans les autres espèces, les LB sont significativement plus nombreux dans les régions entre les cryptes que dans les villosités intestinales [170]. Par ailleurs, on trouve moins de LB dans l'amygdale tubaire que dans l'amygdale nasopharyngée [113], deux structures de l'anneau de Waldeyer. Peut-être pourrait-on supposer une différence de fonction entre ces deux organes, sans que cela ait été démontré à notre connaissance.

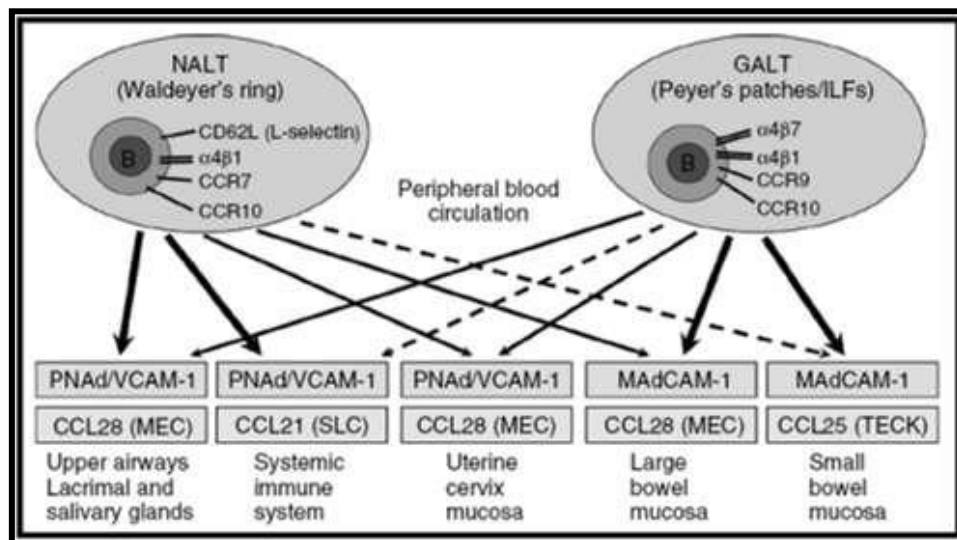
b) L'activation des LB

Les LB mémoires, au contact des cellules M, peuvent être stimulés *via* l'interaction avec les molécules de co-stimulation CD80 et CD86, impliquées dans la présentation d'antigènes.

Les LB naïfs passent dans le follicule primaire à travers un réseau de cellules dendritiques qui présentent les antigènes fixés par des IgM et IgG membranaires. Ils interagissent ensuite avec les LT CD4⁺ de la périphérie du follicule puis réintègrent celui-ci et prolifèrent dans le centre germinatif [125]. C'est dans ce centre germinatif qu'ont lieu les hypermutations somatiques de la chaîne V ainsi qu'une commutation de la chaîne C μ vers une chaîne C α [125]. De plus, ces cellules synthétisent préférentiellement la chaîne légère λ [125].

Les lymphocytes B activés migrent des sites inducteurs vers les sites effecteurs, suivant les molécules d'adressage exprimées à leur surface et les cytokines les attirant lors de la diapédèse, que nous développerons plus bas. Suivant le lieu de leur stimulation antigénique, ces LB ont un tropisme préférentiel. Ainsi, les LB activés par les DC du GALT expriment l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ qui reconnaît MadCAM-1 et leur confèrent un tropisme intestinal [27]. La figure 11 ci-dessous présente les principales caractéristiques phénotypiques des LB en fonction de leur lieu d'induction et les intégrines et cytokines intervenant dans leur tropisme intestinal ou respiratoire.

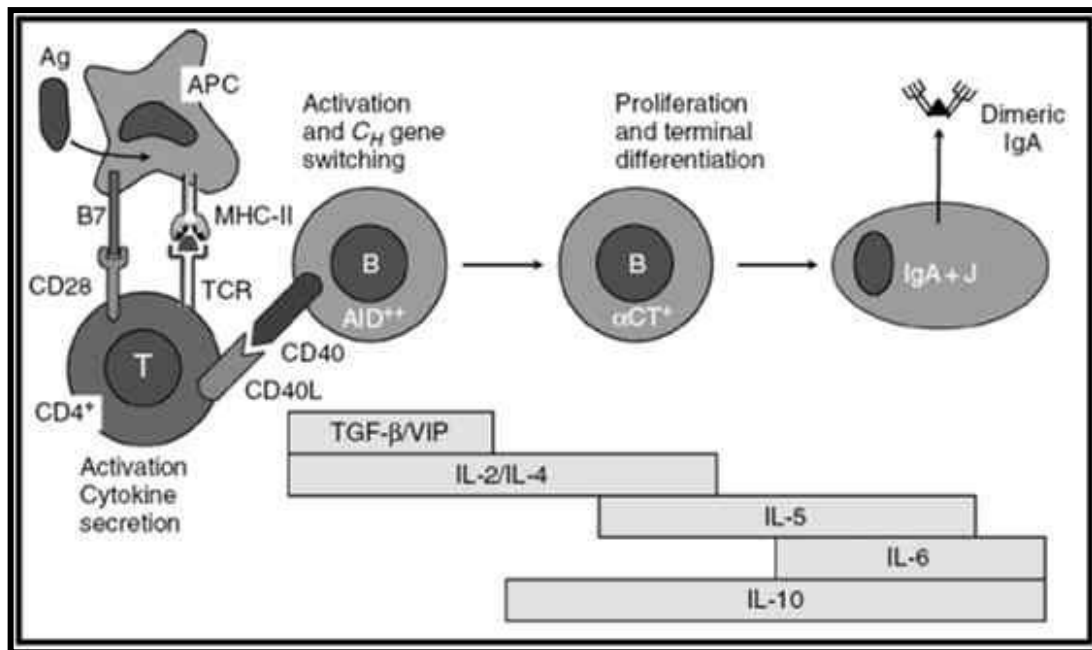
Figure 11 : Phénotypes des LB, intégrines et cytokines conditionnant leur tropisme pour le NALT ou le GALT, d'après Brandtzaeg et Johansen, 2005 [28]



On note notamment la possibilité pour des LB induits dans le NALT ou le GALT de migrer dans la muqueuse utérine, cervicale ou vaginale.

La commutation isotypique des LB activés vers le phénotype IgA se déroule dans les centres germinatifs et est dépendante de l'interaction entre le CD40 des LB et son ligand CD40L, exprimé à la surface des lymphocytes T CD4⁺. Cette commutation dépend en outre de la présence de nombreuses cytokines et fait intervenir l'acide rétinoïque [134]. La figure 12 ci-dessous schématise ces interactions.

Figure 12 : Interactions membranaires et moléculaires conduisant à la commutation isotypique α des LB, d'après Brandtzaeg et Johansen, 2005 [28]



5) Les immunoglobulines sécrétées au niveau des muqueuses

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, l'isotype d'immunoglobuline dominant au niveau des muqueuses est l'isotype α . Les IgA sont les immunoglobulines produites en plus grosse quantité au niveau des surfaces muqueuses et des sécrétions organiques. Il existe cependant des variations interspécifiques importantes. Dans le colostrum équin par exemple, ce sont les IgGb qui dominent [191] et non les IgA.

Pendant l'isotype γ est également important, notamment au niveau des muqueuses de type 2 [97] et des sécrétions génitales. Dans l'appareil respiratoire du cheval, les plasmocytes sécrétant des IgA sont en proportion décroissante par rapport à ceux sécrétant des IgG de la partie supérieure vers la partie inférieure de l'appareil respiratoire [137], suggérant que l'action des IgG est plus importante que celle des IgA dans les voies respiratoires inférieures. Une étude de 1984 [234] portant sur les concentrations en immunoglobulines au niveau de différentes surfaces muqueuses chez le cheval montre qu'il y a en moyenne 0,06 mg d'IgG par mg de protéines totales contre 0,07 mg d'IgA par mg de protéines totales dans l'intestin. Ce rapport est inversé dans les sécrétions utérines puisqu'en moyenne on observe 0,13 mg d'IgG et 0,10 mg d'IgA par mg de protéines totales.

Nous développerons donc ici la structure et la fonction des IgA et IgG équines dans la réponse immunitaire muqueuse.

a) *Les immunoglobulines A*

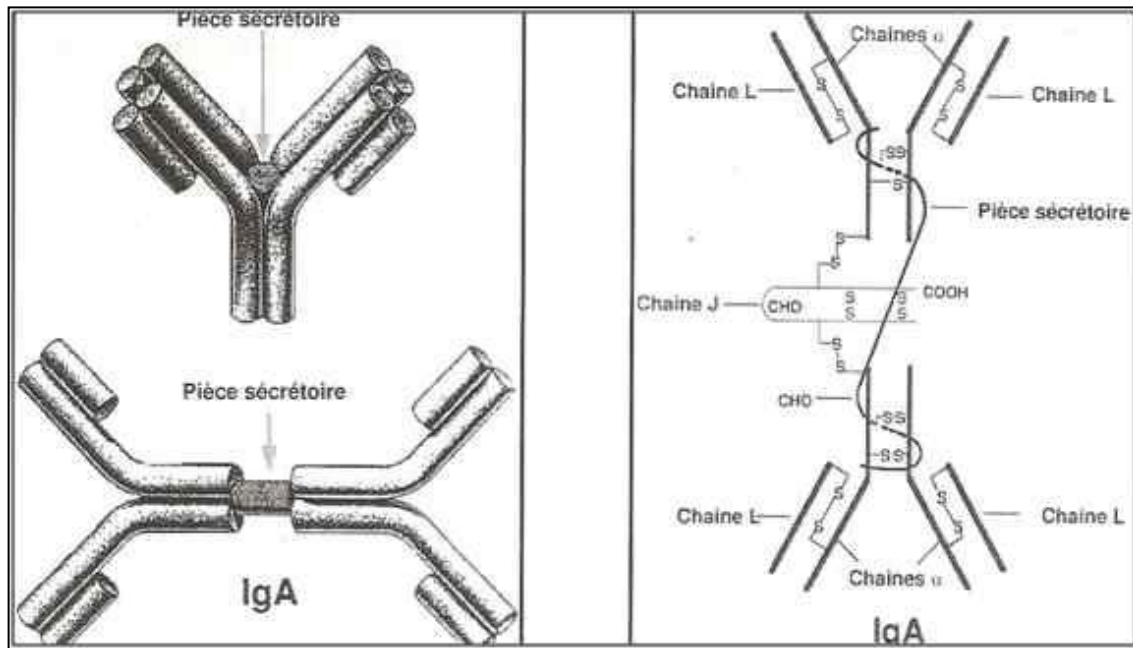
i. *Structure des IgA*

Les IgA sont caractérisées par la classe α du domaine constant de la chaîne lourde [187]. Ce sont le plus souvent des IgA polymériques qui sont sécrétées au niveau des muqueuses (dimériques ou tétramériques), la chaîne J permettant la liaison des monomères d'IgA.

Les IgA sont composées de deux chaînes lourdes α , reliées par des ponts disulfures intercaténaires et de deux chaînes légères κ ou λ , également liées aux chaînes lourdes par des ponts disulfures. La figure 13 ci-dessous illustre cette structure.

Lorsqu'elles sont sécrétées (S-IgA, pour IgA sécrétoire) elles comprennent également une pièce sécrétoire qui est en fait un fragment de la partie externe du récepteur aux immunoglobulines polymériques des cellules épithéliales (pIgR). Ce récepteur fixe les immunoglobulines polymériques (IgA et IgM), mais aussi d'autres molécules, comme des antigènes bactériens ou des cytokines [100].

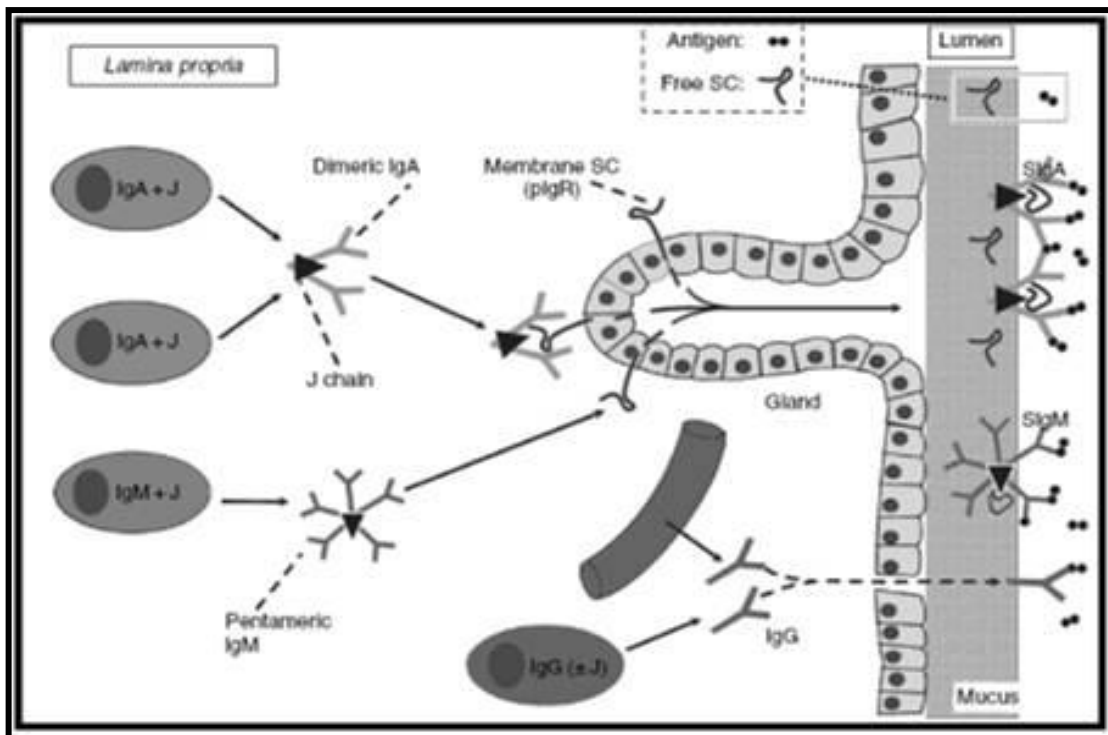
Figure 13 : Structure des IgA. A gauche, mise en évidence de la pièce sécrétoire et à droite, visualisation des chaînes légères et lourdes, d'après Quintin-Colonna et Freyburger, 2006 (polycopié) [175]



ii. Fonction des IgA dans la réponse immunitaire muqueuse

Grâce à la pièce sécrétoire liée au fragment du pIgR, les IgA sont sécrétées activement au niveau des muqueuses. En effet, le pIgR est exprimé à la surface basolatérale des cellules épithéliales puis est internalisé par endocytose, qu'il ait fixé ou non une immunoglobuline. Il traverse ensuite la cellule épithéliale et est excrété dans la lumière de l'organe soit libre, soit en tant que pièce sécrétoire d'une IgA ou d'une IgM. La figure 14 ci-dessous schématise ce mécanisme. L'expression du pIgR peut être augmentée par l'action de cytokines et des œstrogènes chez la femelle [184].

Figure 14 : Excrétion active des IgA et des IgM à la surface de l'endothélium, d'après Brandtzaeg et Johansen, 2005 [28]



La figure schématise également la sécrétion passive des IgG à travers les épithéliums.

Dans l'appareil génital femelle comme dans les autres organes, les IgA protègent la muqueuse de plusieurs manières :

- les S-IgA participent au contrôle de la flore commensale et pathogène en fixant les antigènes dans la lumière, en inhibant l'adhérence et l'entrée de micro-organismes et de macro-molécules et en neutralisant les adhésines bactériennes, les toxines et les virus [184],
- les IgA intracellulaires exercent une protection intraépithéliale car elles peuvent fixer les micro-organismes situés dans les cellules épithéliales,
- elles contribuent également à épurer la *lamina propria* car elles peuvent y fixer des antigènes, qui seront ensuite excrétés dans le milieu extérieur à travers la cellule épithéliale,
- leur fixation sur leur récepteur RF α (le récepteur au fragment Fc de la chaîne α) permet l'induction de la phagocytose par les cellules myéloïdes concernées (ce récepteur membranaire aux IgA est le marqueur cellulaire CD89, isolé dans l'espèce équine en 2005, il se lie à la fois aux IgA sériques et aux S-IgA [153]),
- elles possèdent une action anti-inflammatoire, via la suppression de la production de médiateurs du complément et l'inhibition de la phagocytose complément-dépendante et de la libération de molécules pro-inflammatoires [83].

Cette activité anti-inflammatoire est capitale dans le maintien de l'intégrité de la muqueuse, constamment exposée aux antigènes. Cela revêt une importance particulière dans l'appareil génital où la présence de sperme induit une inflammation qui pourrait nuire à la fécondation, comme nous le verrons plus loin.

iii. Les IgA et la vaccination

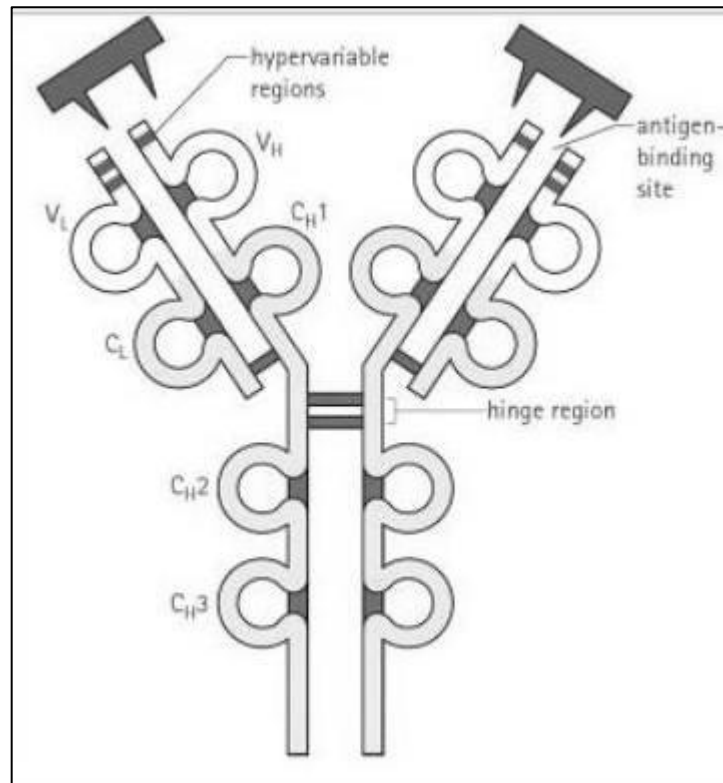
L'efficacité de la réponse IgA muqueuse la rend particulièrement intéressante dans le développement de vaccin dans l'espèce équine, principalement contre les maladies de l'appareil respiratoire, si nombreuses et d'importance économiques et sportives [92]. Plusieurs études ont été menées chez le Cheval pour mesurer la réponse immunitaire muqueuse et notamment la production d'IgA muqueuses après immunisation. Ainsi, après immunisation intra-nasale contre le virus de l'influenza A [195], ou la bactérie *Streptococcus equi* [79], on observe une réponse IgA muqueuse dans les voies respiratoires supérieures, mais pas après une immunisation intramusculaire contre la protéine M-like de *S. equi* [190]. De même, une réponse IgA muqueuse est observée après inoculation du virus EHV-1 mais pas avec une souche atténuée ou inactivée [30]. Cela montre l'importance de l'antigène utilisé et du lieu d'induction de la réponse immunitaire. Les pistes de recherche sont donc nombreuses à ce sujet.

b) Les immunoglobulines G

Chez le cheval, 7 sous-classes d'immunoglobulines G ont pu être identifiées [222]. Il s'agit des IgG1 (ou IgGa), IgG2 (ou IgGc), IgG3 (ou IgG(T) car présentes en grande quantité chez les chevaux qui produisent le sérum antitétanique), IgG4 (ou IgGb) et les IgG5, 6 et 7. Cette découverte ne date que de 2004, c'est pourquoi auparavant la bibliographie fait référence uniquement aux IgGa, b, c et (T) chez le cheval.

Les IgG sont constituées de deux chaînes lourdes γ appariées et liées à deux chaînes légères κ ou λ . La chaîne lourde est constituée des parties constantes C_H 1, 2 et 3 et d'une partie variable V_H . Les chaînes légères sont formées d'une partie constant C_L et d'une partie variable V_L (figure 15) [63]. Le fragment Fc est formé par les parties C_H2 et C_H3 après clivage par la pepsine.

Figure 15 : Structure d'une IgG, d'après Day et Schultz, 2011 [63]



Les immunoglobulines G occupent une part non négligeable dans la protection de l'organisme au niveau des muqueuses. Chez le poulain de moins de 14 jours, il a été montré que ce sont les sous-classes IgGa et IgGb qui dominent dans les sécrétions nasales, alors que chez l'adulte et le poulain de plus de 14 jours, ce sont les IgA [191]. La production endogène d'IgGb n'a pas été mise en évidence avant 63 jours de vie. Il s'agirait donc d'anticorps maternels. Par ailleurs, suivant le site muqueux, les IgG peuvent avoir une part plus importante. Ainsi, on retrouve plutôt des IgG dans la *lamina propria* des cavités nasales et au niveau des cellules glandulaires, et les plasmocytes à IgG sont plus nombreux dans l'appareil respiratoire profond que les plasmocytes à IgA [136].