

GROUPES LYMPHOCYTAIRES CHEZ LES OVINS: PREMIERS RESULTATS DANS LA RACE FRANÇAISE PREALPE

Lymphocyte groups in sheep: first results with the french breed Préalpe

Grupos linfocitarios en los ovinos: primeros resultados en la raza
francesa prealpina

P. MILLOT *

INTRODUCTION

Nos recherches sur les antigènes lymphocytaires chez les ovins ont débuté en 1971, époque à laquelle nous avons décrit 2 premières spécificités dont l'une OL-A paraissait génétiquement simple et l'autre OL-B paraissait grouper plusieurs spécificités élémentaires que nos sérums ne permettaient pas de distinguer (1).

En 1972 à Vienne (13^e conférence européenne de l'ESABR) (2) nous avons décrit 3 spécificités élémentaires comprises dans la spécificité large OL-B. Aujourd'hui nous nous proposons d'indiquer l'état présent de nos recherches qui montrent déjà l'existence chez le mouton, comme chez l'homme et dans d'autres espèces, d'un *locus* majeur gouvernant la plupart des spécificités lymphocytaires connues.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

1) *Animaux*: Ont été utilisés pour l'étude 290 ovins d'un troupeau préalpe répartis en 23 mâles, 115 femelles et 152 agneaux auxquels il convient d'ajouter 20 ovins producteurs de sérums. L'étude génétique a pour base 136 produits issus de 119 croisements, 17 de ceux-ci ayant donné 2 produits de même mère. Le nombre plus élevé de produits de même père (5 à 16) permet l'étude de 14 familles paternelles de demi-frères ou soeurs.

* Institut Pasteur et INRA; Laboratoire de Génétique Biochimique, Centre National de Recherches Zootechniques (CNRZ), Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Domaine de Vilvert, 73350, Jouy-en-Josas, France.

2) Techniques

A) Immunisation

Elle est pratiquée en vue d'obtenir des réactifs monospécifiques. Les donneurs et receveurs sont proches parents et leur groupe lymphocytaire est au départ identique ou présente seulement une faible différence. Le matériel antigénique est constitué d'une suspension en solution de HANKS de lymphocytes isolés par la technique du FICOLL-TRIOSIL (3) à partir de sang frais défibriné. Les suspensions renferment 10 000 à 30 000 lymphocytes par millimètre cube et une faible proportion de globules rouges et stromas. 1 ou 2 ml de suspension mélangée à 0,25 ou 0,5 ml d'adjuvant de Freund sont injectés 1 ou 2 fois par semaine par voie intradermique ou sous-cutanée. Après 2 à 3 mois, 2 saignées de 250 ml sont effectuées à 4 jours d'intervalle.

B) Test de microcytotoxicité

Il est pratiqué selon la technique de TERASAKI et MCCLELLAND (4) légèrement modifiée. Dans des plaques de TERASAKI contenant 6 ml d'huile de paraffine, les réactifs sont distribués à la seringue de HAMILTON à raison de 2 λ de sérum, à 2 dilutions choisies, 1 λ de suspension lymphocytaire ajustée à 3 000 éléments par millimètre cube, 1 λ de complément (sérum de lapin absorbé par un broyat de rates de mouton et conservé dans l'azote liquide). Les plaques sont incubées 50 minutes à 34°C puis on ajoute 1 λ d'éosine à 5% dans du liquide de HANKS et après 3 minutes 1 λ de formol tamponné à pH 7. Les résultats sont lus au microscope inversé à contraste de phase.

RÉSULTATS

Parmi 20 immunsérums, 8 ont été retenus pour l'étude en raison de leur réaction franche, peu fréquente, très différente, parfois antithétique. 5 sérums doivent être considérés comme génétiquement monospécifiques; ils déterminent les facteurs lymphocytaires que nous nommons: OL-A: 1, 2, 3, 4, 8. 3 sérums définissent les facteurs: OL-A: 5, 6, 7, actuellement considérés comme simples mais qui pourraient dans l'avenir correspondre chacun à plusieurs caractères génétiques voisins: en effet, les réactions de ces sérums sont plus fréquentes et leur intensité est plus variée, ce qui permet parfois de distinguer nettement des réactions fortes et faibles. Enfin 2 facteurs: OL-A 9 et 10 sont moins bien définis: ils correspondent aux réactions faibles de 2 sérums anti-OL-A2 forts, d'origine différente; ces 2 facteurs ne sont donc décelés qu'en l'absence du facteur OL-A2. A noter que l'anticorps anti-OL-A3, comme anti-OL-A2, a été trouvé dans 2 sérums différents.

L'étude de 14 descendances paternelles montre que les facteurs lymphocytaires ovins sont transmis selon le mode habituel comme des caractères mendéliens co-dominants. Ils sont transmis soit isolément, soit associés en groupements de 2 à 5 et parfois 7 facteurs liés. Si en s'en tient à nos résultats, ces facteurs ou groupements de facteurs correspondent, pour chaque animal, à 2 allèles à 1 locus que nous nommons OL-A, par analogie avec les locus HLA de l'homme, SL-A du porc, etc. L'absence des facteurs connus est figurée par un allèle récessif.

En prenant pour base les génotypes des mâles qui seuls peuvent être déterminés avec certitude en raison d'un nombre suffisant de descendants, les 16 allèles suivants sont définis au *locus* OL-A:

OL-A², OL-A⁵, OL-A⁶, OL-A⁷, OL-A⁸, OL-A⁹
 OL-A^{1.6}, OL-A^{1.7}, OL-A^{7.8}, OL-A^{5.7}, OL-A^{5.8}, OL-A^{5.10}
 OL-A^{1.5.7}, OL-A^{1.6.7}, OL-A^{1.7.8}, OL-A^{2.5.7*}

TABLEAU I

♂ 1923 OL-A ² / OL-A ^{1.7}			
♀ 7083	OL-A ^{1.7} / OL-A ⁸ [1.7]	♀ 9453	— / OL-A (1)-(9)
3172	OL-A ^{1.7} / OL-A ²	ou:	OL-A (1) / OL-A (5)
♀ 8691	OL-A ^{1.7} / OL-A [1]-3 ± (5) [7]	3079	— / OL-A ^{1.7}
3036	OL-A ^{1.7} / OL-A ²		OL-A (1) / OL-A ^{1.7}
♀ 9090	OL-A (5) / —	♀ 1616	OL-A ((5)) ⁶ /
3016	OL-A (5) / OL-A ²	3271	OL-A (5)-6 / OL-A ^{1.7}
2117	— / OL-A (9)	♀ 1240	OL-A [1]-5-6 /
♀ 1541	OL-A ^{1.3-5-i} (9) /	3275	OL-A [1]-5-6 / OL-A ^{1.7}
732	OL-A ^{1.3-5-i} (9) / OL-A ²		
♀ 1317	OL-A ⁵⁻⁶ (7) /	♂ 1933	OL-A ² / OL-A (9)
724	OL-A ⁵⁻⁶ (7) / OL-A ^{2.7}		

- () Facteur faible.
 (()) Facteur très faible ou indistinct.
 [] Facteur douteux dans le groupement allélique.

Les groupements alléliques des femelles sont établis avec moins de certitude. L'étude montre cependant que ces groupements de facteurs sont variés et de fréquence inégale. On observe dans la population étudiée des associations privilégiées: le facteur 4 notamment est toujours associé dans les groupements géniques à 3 ou à 5. On a, dans le 1er cas, les 5 groupements:

3, 4 — 3, 4, 5 — 3, 4, 5, 7 — 3, 4, 6, 7 — 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10

et dans le second cas les 2 groupements:

4, 5, 6 — 4, 5, 6, 7

Le tableau I montre la descendance d'un bélier de génotype OL-A²/OL-A^{1.7}. 8 croisements de ce bélier avec différentes femelles mettent en évidence la transmission du 1er allèle à 5 agneaux et celle du second à 3 agneaux. (L'agneau 2117 qui reçoit l'allèle récessif de la mère, a pour père un autre bélier: 1933.)

On remarque chez l'agneau 724 la présence anormale du facteur 7 avec le facteur 2. Le produit étant un mâle précocement éliminé du troupeau, il ne nous a pas été possible de prouver une recombinaison du facteur paternel. Il peut en effet s'agir également d'un phénomène sérologique de sommation observé par

* [] présence incertaine du facteur.

ailleurs avec anti-OL-A7: une très faible réaction OL-A7, d'une part est observée chez la mère, d'autre part est transmise avec l'allèle OL-A² du père, ce qui pourrait expliquer l'apparition chez le produit du facteur renforcé.

DISCUSSION

1.^o Par souci de logique, nous désignons désormais par OL-A le *locus* régissant l'ensemble des facteurs lymphocytaires mis en évidence chez les ovins. Ces facteurs correspondent aux spécificités élémentaires prévues antérieurement (1) et renfermées dans l'ancienne spécificité large OL-B. La première spécificité décrite que nous avons nommée OL-A, correspond désormais au facteur OL-A1. Il faut remarquer cependant que la transmission génétique de cette spécificité par des gènes du *locus* OL-A ne repose que sur un nombre limité de transmissions simultanées. Il n'est donc pas exclu que cette spécificité, d'abord distincte des autres du point de vue sérologique, se révèle par la suite dépendre d'un *locus* différent.

2.^o Tandis que jusqu'ici chez l'homme ou chez le porc chaque facteur définit un gène, chez le mouton plusieurs facteurs liés peuvent concourir à définir un allèle, la situation étant assez comparable à celle des phénogroupes du système érythrocytaire *B* ovin ou bovin. Cependant nous avons observé et vérifié que chez le mouton, lors de la transmission d'un groupement complexe de facteurs du père aux produits, tel ou tel facteur du groupement peut être absent chez un agneau. L'hypothèse actuelle d'un seul *locus* polymorphe comportant de nombreux allèles paraît dans ce cas être en défaut et pourrait n'être qu'une approximation. En fait cette étude ne permet pas de choisir entre notre hypothèse simple et celle de plusieurs *locus* ou sous-*locus* plus ou moins étroitement liés. Si on prenait pour base cette dernière hypothèse, les groupements de facteurs décrits nous apparaîtraient non plus comme autant d'allèles à un seul *locus*, mais comme des haplotypes pour des *locus* ou sous-*locus* liés. Chaque facteur pourrait alors être le produit d'un gène comme c'est le cas chez l'homme ou les suidés et le défaut de transmission d'un facteur faisant partie d'un groupement génique s'expliquerait par une ségrégation.

RESUME

Dans un troupeau préalpe groupant 290 ovins répartis en 14 familles paternelles, 10 facteurs lymphocytaires sont mis en évidence par micro-cytotoxicité. Ils sont transmis sur le mode mendélien comme des caractères co-dominants, isolés ou réunis en groupements génétiques de 2 à 7 facteurs. Comme les phénogroupes du système *B* érythrocytaire, ces facteurs et leurs groupements génétiques définissent des allèles multiples à un *locus* polymorphe de groupes lymphocytaires nommé: OL-A. 16 allèles sont décrits chez les mâles et la descendance d'un bélier de génotype OL-A²/OL-A^{1,7} est prise pour exemple. On remarque certaines associations privilégiées de facteurs dans les groupements alléliques: le facteur 4, par exemple, est toujours associé, dans la population étudiée, au facteur 3 (5 allèles) ou au facteur 5 (2 allèles).

SUMMARY

Ten lymphocyte factors are described by the micro-cytotoxic technique in a Prealpe flock including 290 sheep divided into 14 paternal families. These factors are genetically transmitted as mendelian co-dominant characters, isolated or united in genetic groups of 2 to 7 factors. Like the *B* phenogroups of red cells, these lymphocyte factors and their genetic groups determine multiple alleles at a polymorphic *locus* of lymphocyte groups named OL-A. 16 alleles are described in the rams; the progeny of a ram (genotype: OL-A²/OL-A^{1,7}) is given as an example. Some preferred associations of factors are noted in the allelic groups: in the studied population, factor 4, for instance, is always associated with factor 3 (in 5 alleles) or with factor 5 (in 2 alleles).

RESUMEN

En un rebaño prealpino con 290 ovinos, distribuidos en 14 familias paternas, se han puesto en evidencia 10 factores linfocitarios mediante la microcitotoxicidad. Se transmiten mendelianamente como caracteres codominantes, aislados o reunidos en agrupaciones genéticas de 2 a 7 factores. Como los fenogrupos del sistema *B* eritrocitario, estos factores y sus agrupaciones genéticas definen alelos múltiples con un *locus* polimórfico de grupos linfocitarios denominado OL-A. Se describen 16 alelos en los machos y se toma, por ejemplo, la descendencia de un carnero de genotipo OL-A²/OL-A^{1,7}. Se señalan ciertas asociaciones privilegiadas de factores en las agrupaciones alélicas: el factor 4, por ejemplo, está siempre asociado, en la población estudiada, al factor 3 (5 alelos) o al factor 5 (2 alelos).

BIBLIOGRAPHIE

1. MILLOT, P. (1971): *Détermination d'antigènes lymphocytaires chez les ovins*. C. R. Acad. Sc. Paris, 273, série D, 2028-2030.
2. MILLOT, P. (1972): Lymphocyte antigen groups in sheep. *Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics*, 3, suppl. 1, 20-21.
3. HARRIS, R., et UKAEJIOFO, E. O. (1970): Tissue typing using a one step lymphocyte separation procedure. *Brit. J. Haemat.*, 18, 229-235.
4. TERASAKI, P. I., et McCLELLAND, J. D. (1964): Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*, 204, 998-1000.

