



HAL
open science

Les modifications immunologiques de l'endomètre en réponse aux stimuli embryonnaires chez les ruminants

Léa Picarda

► **To cite this version:**

Léa Picarda. Les modifications immunologiques de l'endomètre en réponse aux stimuli embryonnaires chez les ruminants. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-04075566

HAL Id: dumas-04075566

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04075566v1>

Submitted on 20 Apr 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Année 2022

LES MODIFICATIONS IMMUNOLOGIQUES DE L'ENDOMÈTRE EN RÉPONSE AUX STIMULIS EMBRYONNAIRES CHEZ LES RUMINANTS

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 22 novembre 2022

par

Léa PICARDA

sous la direction de

Fabienne CONSTANT

JURY

Président du jury :	M. Laurent TIRET	Professeur à l'EnvA
Directrice de thèse :	Mme Fabienne CONSTANT	Maître de Conférences à l'EnvA
Examinatrice :	Mme Delphine LE ROUX	Maître de Conférences à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version du 3 octobre 2022

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigé	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Professeur	DSBP
M	Blot	Stephane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loïc	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Federighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédictte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guénec	Christelle	Professeur	DEPEC
M	Millermann	Yves	Professeur	DPASP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arne	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barbarino	Alix	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Benchezkroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
Mme	Coudry	Virginie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Denis	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Desbois	Christophe	Maître de conférences	DEPEC
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guetin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
Mme	Manguin	Estelle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
Mme	Marotto	Stéphanie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mauffré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mespouilhès-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Quéré	Emilie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Ravary-Plumioën	Bérangère	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP
M	Tanquerel	Ludovic	Maître de conférences	DEPEC

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, Professeur à l'EnvA,

Qui nous fait l'honneur de présider notre jury,

Hommages respectueux.

A Mme Fabienne CONSTANT, Maitre de conférences à l'EnvA,

Qui a accepté d'encadrer ce travail de thèse,

Sincères remerciements.

A Mme Delphine LE ROUX, Maitre de conférences à l'EnvA,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

Table des matières

Liste des figures	3
Liste des tableaux	5
Liste des abréviations	7
Introduction.....	11
I. L'IFNτ : principale cytokine d'origine embryonnaire impliquée dans la tolérance maternelle	13
A. Qu'est-ce que l'IFN τ ?	13
B. L'IFN τ régule l'expression de gènes endométriaux	15
1. <i>Les différentes voies de signalisation de l'IFNτ</i>	16
a. La voie classique de l'interféron	16
b. Les voies non classiques de l'interféron	19
2. <i>Les actions anti-lutéolytiques de l'IFNτ</i>	22
a. Synthèse de PGF2 α et mécanismes responsables de la lutéolyse.....	22
b. Actions anti-lutéolytiques de l'IFN τ	23
3. <i>L'influence de la progestérone sur l'expression de gènes endométriaux</i>	25
II. L'inhibition du CMH-I par l'IFNτ permet de diminuer les réactions immunitaires maternelles	28
A. Qu'est-ce que le CMH de classe I ?	28
B. Disparition du CMH-I à la surface des cellules endométriales.....	28
C. Apparition du CMH-I non classique à la surface des cellules endométriales.....	31
III. Les cellules immunitaires et leurs effecteurs solubles sont régulés pendant la période embryonnaire.....	33
A. Lors de l'accouplement, le liquide séminal crée un environnement pro-inflammatoire.....	33
1. <i>Le liquide séminal entraîne un afflux de cellules immunitaires dans l'utérus.....</i>	<i>33</i>
2. <i>Le liquide séminal stimule la synthèse de cytokines pro-inflammatoires par les cellules endométriales</i>	<i>34</i>
B. Les cellules présentatrices d'antigènes professionnelles orientent le système immunitaire vers une réponse Th1, Th2 ou Treg	35
1. <i>Qu'est-ce que la balance Th1/Th2/Treg ?.....</i>	<i>35</i>
2. <i>Les cellules dendritiques favorisent une réponse tolérogène</i>	<i>36</i>
a. Le nombre de cellules dendritiques augmente pendant la période péri-implantatoire	36
b. Les cellules dendritiques favorisent la réponse Th2/Treg	37
c. Les cellules dendritiques génèrent un signal « don't eat me »	39
C. L'IFN τ entraîne un afflux de leucocytes	41
1. <i>L'IFNτ attire les polynucléaires neutrophiles mais inhibe leur activité</i>	<i>41</i>
a. Mise en évidence de l'effet de l'IFN τ sur les polynucléaires neutrophiles	41
b. Régulation par l'IFN τ de l'inflammation induite par l'implantation.....	42
2. <i>L'IFNτ exerce un chimiotactisme positif sur les cellules de la lignée lymphoïde</i>	<i>43</i>
D. Les lymphocytes T régulateurs sont activés et les lymphocytes T effecteurs sont inhibés ...	45
1. <i>Le nombre de lymphocytes T régulateurs augmente pendant la période embryonnaire</i>	<i>45</i>
2. <i>La régulation des lymphocytes repose sur une interaction ligand-récepteur</i>	<i>46</i>
a. Mode d'action des inhibiteurs des lymphocytes T (CTLA4, LAG3 et PDL1)	47
b. Evolution des inhibiteurs des lymphocytes T pendant la gestation chez la vache	49
3. <i>Les macrophages inhibent la prolifération des LT : la protéine IDO1</i>	<i>49</i>
4. <i>La famille des galectines (LGALS).....</i>	<i>50</i>

E. L'IFN τ stimule la sécrétion de cytokines chimio-attractantes	52
1. <i>La famille des chimiokines</i>	52
2. <i>La stimulation par l'IFNτ</i>	52
3. <i>Les chimiokines attirent les polynucléaires et les lymphocytes</i>	53
4. <i>Les chimiokines ont un effet pro-gestationnel</i>	53
Conclusion	55
Liste des références bibliographiques	57

Liste des figures

Figure 1: Actions autocrine, paracrine, et endocrine de l'IFN τ (Rocha <i>et al.</i> , 2021).	14
Figure 2: Distribution spatiale des ARNm de plusieurs ISG pendant la période embryonnaire (Sponchiado <i>et al.</i> , 2017).	15
Figure 3: Signal JAK-STAT dans le stroma et l'épithélium glandulaire de l'endomètre (Choi <i>et al.</i> , 2001).	17
Figure 4: Phosphorylation des protéines STAT1 et 2 ayant un effet à long terme (plusieurs heures), et des protéines STAT1, 3, 5, 6 ayant des effets à court terme (30 à 60 min) (Stewart <i>et al.</i> , 2002).	18
Figure 5: Mécanisme d'action de l'IRF2 sur l'expression des ISG (Choi <i>et al.</i> , 2001).	19
Figure 6: Exemple des voies non classiques MAPK et PI3K d'activation des ISG non classiques dépendant de la progestérone (Bazer <i>et al.</i> , 2009).	21
Figure 7: Aperçu de la voie non classique RAS-MAPK responsable de l'inhibition de la synthèse des récepteurs aux œstrogènes et à l'ocytocine (Banu <i>et al.</i> , 2010).	21
Figure 8: Localisation des protéines IFNAR1 (à gauche) et IFNAR2 (à droite) par immunohistochimie dans l'utérus de brebis à 14 jours de gestation (Rosenfeld <i>et al.</i> , 2002).	24
Figure 9: Action paracrine de l'IFN τ sur l'endomètre chez la brebis gestante (Hansen <i>et al.</i> , 2017a).	24
Figure 10: Expression spatiale et temporelle des ISG chez la brebis pendant la période péri-implantatoire (Spencer <i>et al.</i> , 2008).	26
Figure 11: Organisation des protéines du CMH-I et du CMH-II à la surface des cellules (Wieczorek <i>et al.</i> , 2017).	28
Figure 12: Organisation synépithéliochoriale du placenta (Benedictus <i>et al.</i> , 2015).	29
Figure 13: Organisation du promoteur du gène de la chaîne α du CMH-I (une organisation similaire existe pour la β 2MG) (Drew <i>et al.</i> , 1995).	31
Figure 14: Proportion de cellules exprimant SIRP α à différentes localisations entre 17 et 20 jours de gestation (Kamat <i>et al.</i> , 2016).	40
Figure 15: Evolution du nombre de cellules exprimant simultanément SIRP α et CD11 dans le stroma profond, à différents stades de gestation ou du cycle (Mansouri-Attia <i>et al.</i> , 2012).	41
Figure 16: Expression d'ISG dans les polynucléaires neutrophiles après mise en culture avec 1, 5, ou 10 ng/mL d'IFN τ <i>in vitro</i> (Manjari <i>et al.</i> , 2018).	42
Figure 17: Influence de l'IFN τ à faible ou forte concentration sur les PNN (Manjari <i>et al.</i> , 2018). ..	43

Figure 18: Mécanisme de blocage des cellules FOXP3- par les LT FOXP3+ (Shevach, 2009).	46
Figure 19: Fonctionnement de l'interaction entre la cellule présentatrice d'antigène et le lymphocyte T (Alegre <i>et al.</i> , 2001).....	47
Figure 20: Mécanisme de blocage des CPA par les LTreg via les protéines CTLA4 (à gauche) et LAG3 (à droite) (Shevach, 2009).	48
Figure 21: Interactions ligand-récepteur entre cellules immunitaires et épithéliales, sous l'influence de l'IFN τ (Ott, 2019).....	50
Figure 22: Action de l'IFN τ et des chimiokines sur l'expression des ISG (Sakumoto <i>et al.</i> , 2017).	54

Liste des tableaux

Tableau 1: Rappel des marqueurs des cellules immunitaires..... 37

Liste des abréviations

AA : Acide aminé
Ag : Antigène
AHR : *Aryl Hydrocarbon Receptor*
AKR1 : *Aldo-Keto Reductase family 1*
AKT : Protéine Kinase B
ARNm : Acide RiboNucléique messenger
β2MG : Microglobuline β2
BoLA : *Bovine Leucocyte Antigen*
CCL, CXCL, MCP, bGCP : chimiokine
CD : Cluster de différenciation
CMHI : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe 1
COX2 : *Prostaglandin Synthase 2*
CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène
CTLA4 : *Cytotoxic T-lymphocyte-Associated Protein 4*
dGE : Epithélium Glandulaire profond
DAMPs : *Damage-Associated Molecular Patterns*
EGFR : *Epidermal Growth factor Receptor*
EGR : *Early Growth Response*
ERK : *Extracellular signal-Regulated Kinase*
ESR1 : Récepteur des oestrogènes alpha
FGF : *Fibroblast Growth Factor*
FOXP3 : *Forkhead Box P3*
GAF : Phosphodiesterase spécifique aux GMPc, Adenyl Cyclase et FhIA
GAS : *Gamma Interferon Activation Site*
GE : Epithélium Glandulaire
GM-CSF : Facteur de stimulation des colonies de granulocyte et de macrophage
HGF : *Hepatocyte Growth Factor*
HLA: *Human Leucocyte Antigen*
HSD11B1 : *Hydroxysteroid 11-Bêta Dehydrogenase 1*
IA : Segment antérieur
ICS : Séquence Consensus de l'Interféron
IDO : Indoleamine 2,3-Dioxygenase
IEL : Lymphocytes intra-épithéliaux
IFNτ : Interféron Tau
IFNAR, IFNR : Récepteur de l'interféron
IFI : *Interferon Induced protein*
IL : Interleukine
IM : Segment médian
IP : Segment postérieur

IRF: *Interferon Regulatory Factor*
IRFE : *Interferon Regulatory Factor Elements*
ISG : *Interferon Stimulated Gene*
ISGF3 : *Interferon Stimulated Gene Factor 3*
ISRE : *Interferon Stimulated/ Sensitive Response Elements*
ITIM : *Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif*
JAK : *Janus Kinase*
Jn : Jour n
kDa : kiloDalton
LAG : *Lymphocyte Activation Gene*
LB : *Lymphocyte B*
LE : *Epithélium Luminal*
LGALS : *Galectine*
LT : *Lymphocyte T*
LTh : *Lymphocyte T helper*
LTreg : *Lymphocyte T régulateur*
MAPK : *Mitogen-Activated Protein Kinase*
MX : *Interferon-induced GTP-binding Mx1*
NET: *Neutrophil Extracellular Trap*
NF κ B : *Nuclear Factor κ B*
NK : *Natural Killer*
NKR : *Natural Killer Receptor*
NKT : *Natural Killer T*
OAS : *2'-5'-oligoadenylate synthetase*
OXT : *Ocytocine*
OXTR : *Récepteur de l'ocytocine*
PBMC : *Cellules mononucléées du sang périphérique*
PCR : *Réaction de polymérisation en chaîne*
PDL : *Programmed Death Ligand*
PGF2 α : *Prostaglandine F2 α*
PGH2 : *Prostaglandine H2*
PGR : *Récepteur à la progestérone*
PGT : *Transporteur des prostaglandines*
PIBF : *Progesterone-Induced-Blocking Factor*
PIK3 : *Phosphoinositide 3-Kinase*
PNN : *Polynucléaire Neutrophile*
PTGES : *Prostaglandin E Synthase*
PTGS2 : *Prostaglandin Synthase 2*
RAS : *Rat sarcoma virus protein*
SIRP α : *Signal-Regulatory Protein α*
SLC : *Solute Carrier*
SP: *Specificity Protein*

ST : Stroma

STAT : *Signal Transducers and Activators of Transcription*

sGE : Epithélium Glandulaire superficiel

TCR : *T cell Receptor*

TGF : *Transforming Growth Factor*

TNF α : *Tumor Necrosis Factor α*

Tyk : *Tyrosine Protein Kinase*

UTJ : Jonction Utérus-Oviducte

Introduction

L'embryon est porteur des antigènes du soi paternel et maternel : il constitue donc une greffe allogénique pour l'organisme maternel. Dans les années 1950, le biologiste Peter Medawar formulait trois hypothèses quant à l'environnement immunologique pendant la gestation : soit le placenta constitue une barrière aux cellules immunitaires maternelles, soit l'organisme maternel est immunodéprimé, soit le conceptus « se rend invisible » auprès du système immunitaire maternel. Nous savons aujourd'hui que les deux premières hypothèses imaginées par Medawar sont incorrectes. Le masquage de l'embryon pour échapper au système immunitaire est le mécanisme largement exploré aujourd'hui.

La période péri-implantatoire est la période de la gestation où le risque de rejet est le plus important. C'est pendant cette période que les cellules du trophoblaste entrent en contact avec l'endomètre. De nombreuses études chez la femme et la souris ont mis en évidence un lien causal entre dérèglement du système immunitaire et interruptions de gestation (Arck *et al.*, 1997 ; Clark et Croitoru, 2001 ; Hosseini *et al.*, 2018).

Chez les ruminants, les mécanismes par lesquels l'organisme maternel tolère l'embryon sont encore mal compris, bien que de plus en plus étudiés. De ce fait, la comparaison avec les études chez la femme et la souris, où les données sont beaucoup plus vastes, sont parfois nécessaires. L'IFN τ a, dès les années 1980, été identifié comme le signal embryonnaire majoritaire chez les ruminants. C'est pourquoi nous nous intéresserons principalement à cette protéine.

Chez les ruminants, la morula atteint l'utérus 4 à 5 jours post-œstrus (J0), se développe en blastocyste à J6-7, déchire la zone pellucide à J8 (chez les ovins) et J10 (chez les bovins), et se développe sous la forme d'un conceptus tubulaire qui s'allonge dès J15 jusqu'à devenir filamenteux. Ce filament occupe toute la corne ipsilatérale au corps jaune à J19. À J16, l'apposition du trophoblaste et de l'épithélium utérin commence. À J19, le conceptus y est adhérent : cela marque le début de la formation du placenta (Guillomot, 1995). Le stade embryonnaire correspond aux 35 à 40 premiers jours de gestation chez la brebis et la chèvre, et aux 40 premiers jours de gestation chez la vache.

L'objectif de cette thèse est de présenter l'état des connaissances actuelles concernant les modifications immunologiques de l'endomètre en réponse aux stimuli embryonnaires, principalement l'IFN τ , chez les ruminants. Nous aborderons dans un premier temps ce qu'est l'IFN τ , puis nous verrons dans un deuxième temps comment l'IFN τ module l'expression du complexe

majeur d'histocompatibilité, et, enfin, dans un troisième temps, comment l'IFN τ régule les cellules du système immunitaire et leurs cytokines dans l'endomètre.

I. L'IFN τ : principale cytokine d'origine embryonnaire impliquée dans la tolérance maternelle

A. Qu'est-ce que l'IFN τ ?

L'interféron τ (IFN τ) est une glycoprotéine d'environ 172 AA produite et sécrétée par le trophoctoderme du conceptus dès 7 jours de gestation (pic de sécrétion entre 16 et 20 jours de gestation) (Forde et Lonergan, 2012) et qui peut être détectée dès le stade blastocyste dans les fluides utérins (Rashid *et al.*, 2018) et dans l'endomètre (Sponchiado *et al.*, 2017). L'IFN τ fait partie de la famille des interférons de type I, des molécules impliquées dans la réponse immunitaire contre les agents pathogènes intracellulaires (Ivashkiv et Donlin, 2014).

Le mode d'action de l'IFN τ repose sur sa liaison à un récepteur IFNAR (*Interferon Receptor*) composé de deux sous-unités (IFNAR1 et IFNAR2) (Rosenfeld *et al.*, 2002). Chez les ovins, il existe deux types de récepteurs IFNAR : l'un de haut poids moléculaire (110 kDa), avec dix fois plus d'affinité que la forme de bas poids moléculaire (75-80 kDa). Chez les bovins, il n'existe qu'une forme de haut poids moléculaire (110 kDa). La fixation de l'IFN τ sur son récepteur permet l'expression des gènes stimulés par les interférons (*Interferon Stimulated Genes* ou ISG) (Hansen *et al.*, 2017a).

L'IFN τ a une action autocrine, paracrine et endocrine (Figure 1) :

- La communication autocrine implique que la cellule ayant synthétisé l'IFN τ possède elle-même des récepteurs pour l'IFN τ et s'auto-stimule. Des expériences *in vivo* de stimulation du trophoctoderme ovin avec des doses croissantes d'IFN τ entre 15 et 20 jours de gestation, ont mis en évidence une augmentation de la quantité d'ARNm IFNAR1 et surtout, de la croissance du trophoctoderme (Wang *et al.*, 2013). Ces résultats suggèrent que le conceptus stimule sa propre croissance par voie autocrine.
- La communication paracrine est un mode de signalisation cellulaire où la molécule synthétisée agit à proximité de la cellule qui l'a produite. L'action paracrine de l'IFN τ repose sur son effet anti-lutéolytique (en inhibant la synthèse endométriale de la prostaglandine F 2α), et immunomodulateur. Ces effets permettent le maintien de la gestation et contribuent donc à la croissance du conceptus (Hansen *et al.*, 2017a).

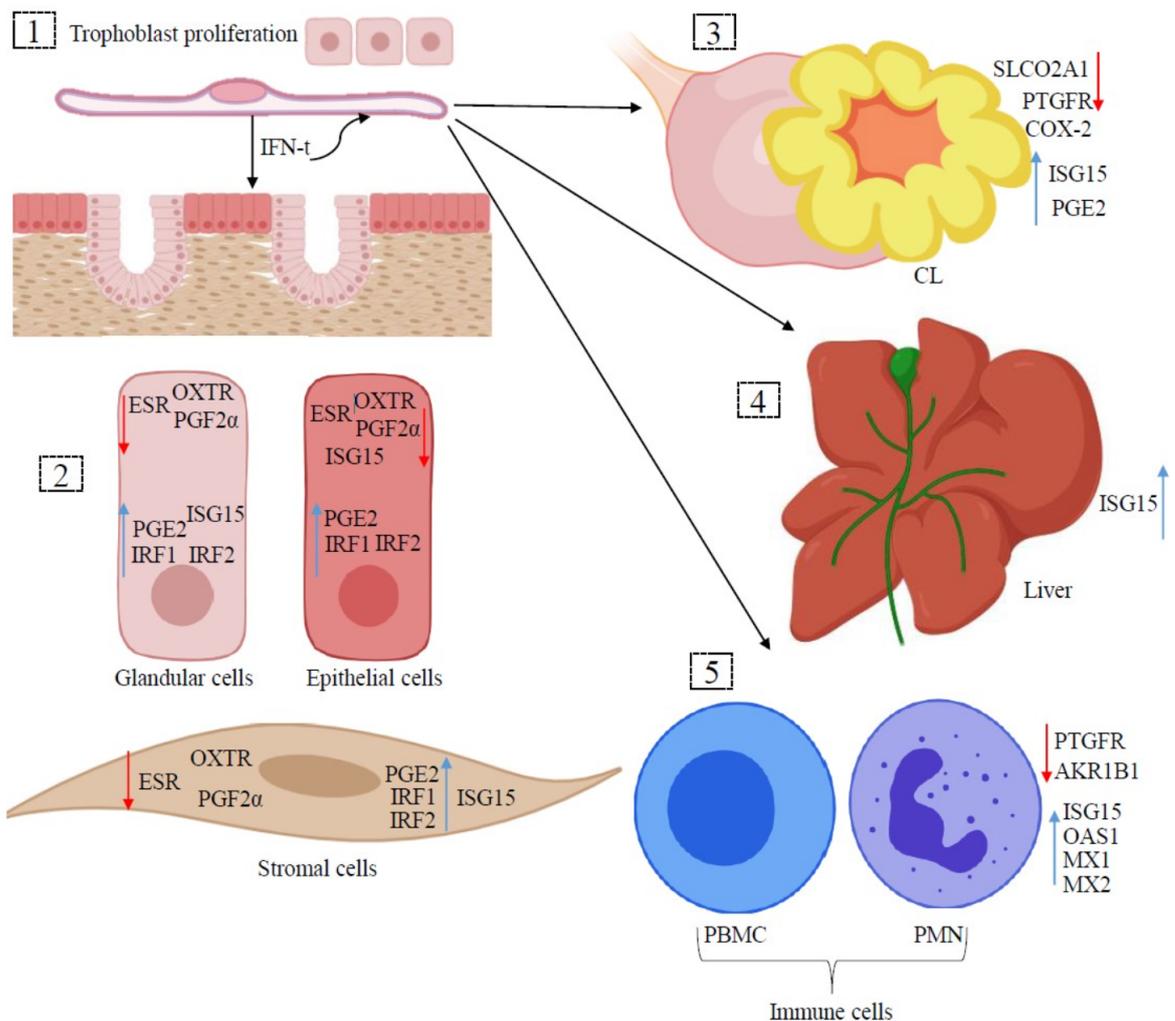
- La communication endocrine repose sur la libération d'hormones dans la circulation sanguine. Il s'agit d'une voie de signalisation à distance. La mise en évidence dans la circulation sanguine de vésicules extra-cellulaires chargées d'IFN τ libérées par le conceptus, ainsi que l'expression de gènes interféron-induit dans des organes à distance a permis d'envisager que l'IFN τ agisse aussi selon un fonctionnement endocrine (Nakamura *et al.*, 2016).

Nous nous intéresserons par la suite essentiellement au mode d'action paracrine de l'IFN τ .

Figure 1: Actions autocrine, paracrine, et endocrine de l'IFN τ (Rocha *et al.*, 2021).

(1) L'IFN τ sécrété par les cellules du trophoblaste stimule le développement du conceptus (autocrine) et (2) la transcription de gènes régulés par l'interféron dans les cellules du LE, GE et ST (paracrine), ainsi que (3) dans le corps jaune, (4) le foie, et (5) les PBMC (endocrine).

LE : Épithélium luminal, GE : Épithélium glandulaire, ST : Stroma, PBMC : Cellules sanguines mononucléées



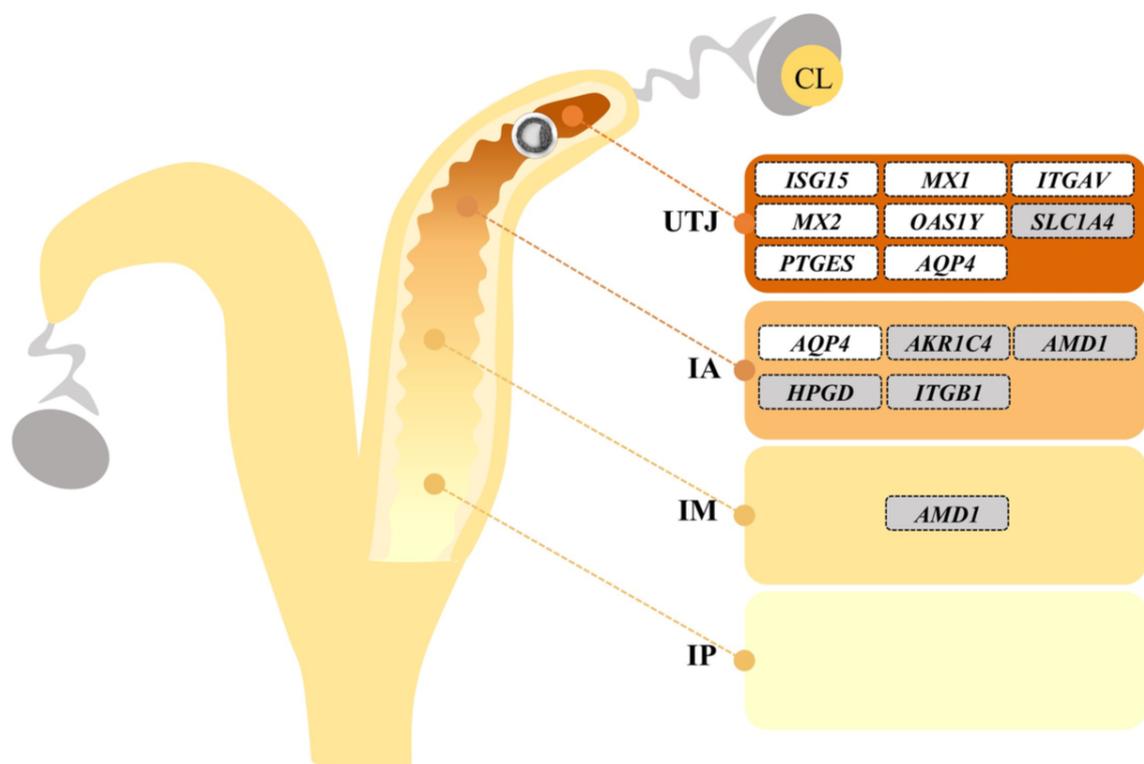
Voyons à présent par quels mécanismes l'IFN τ permet la régulation des ISG.

B. L'IFN τ régule l'expression de gènes endométriaux

In vivo, chez les bovins, la présence d'un embryon de 7 jours entraîne une augmentation de l'expression des ISG (Sponchiado *et al.*, 2017 ; Passaro *et al.*, 2018) et de la quantité d'ARNm d'IFNAR2 dans la corne utérine ipsilatérale au corps jaune (Sponchiado *et al.*, 2017), ce qui suggère que l'embryon est capable de moduler le transcriptome maternel. Cependant, la majorité des études s'accordent à dire que c'est à partir de 16 jours de gestation (période péri-implantatoire), au moment du pic d'IFN τ , que l'on note une modification significative du transcriptome endométrial (Forde *et al.*, 2011 ; Mamo *et al.*, 2011). Parmi ces gènes dont l'expression ou le niveau d'expression change significativement à J16, la moitié sont des ISG. La figure 2 présente une liste non exhaustive de certains ISG et de leur localisation dans la corne utérine pendant la période embryonnaire.

Figure 2: Distribution spatiale des ARNm de plusieurs ISG pendant la période embryonnaire (Sponchiado *et al.*, 2017).

L'embryon situé dans la partie crâniale de la corne utérine ipsilatérale au corps jaune. En blanc : augmentation de l'expression. En gris : diminution de l'expression. UTJ : jonction utérus-oviducte. IA : segment antérieur. IM : segment médian. IP : segment postérieur.



En revanche, avant 13 jours de gestation (ou 13 jours du cycle), il n'y a pas de différence significative dans l'expression des gènes endométriaux entre des vaches gestantes et des vaches cyclées. Ceci explique pourquoi le transfert d'un blastocyste de 7 jours dans l'utérus de vaches cyclées au 7^{ème} jour de leur cycle est possible (Sponchiado *et al.*, 2017). L'embryon est en effet autonome pendant la première semaine de gestation et le contact direct entre l'embryon et l'utérus n'est pas strictement nécessaire à son développement à ce stade.

Intéressons-nous à présent aux mécanismes moléculaires permettant la régulation des gènes stimulés par l'IFN τ . Les voies de signalisation de l'IFN τ sont subdivisées en deux catégories : la voie classique (la voie JAK-STAT) et les voies non classiques. Nous aborderons également l'effet anti-lutéolytique de l'IFN τ et les conséquences du maintien du corps jaune sur le transcriptome endométrial.

1. Les différentes voies de signalisation de l'IFN τ

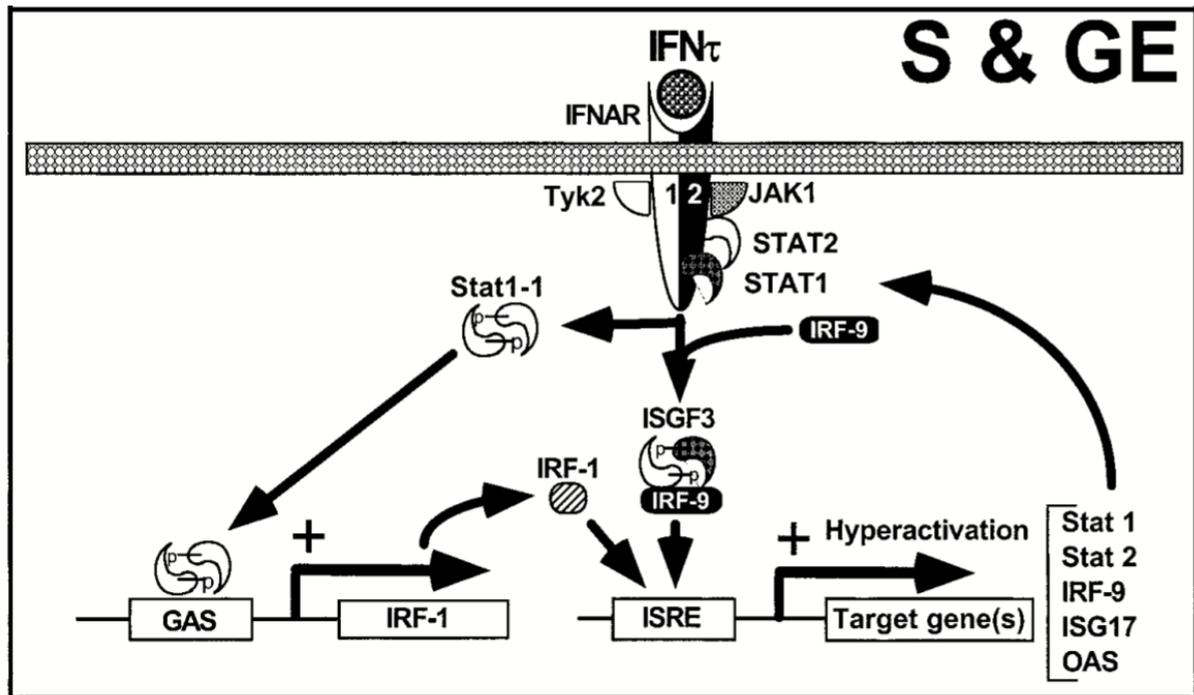
a. La voie classique de l'interféron

La fixation de l'IFN τ sur le récepteur IFNAR permet la phosphorylation croisée de deux protéines kinases, Tyk2 (*Tyrosine Protein Kinase*) et JAK1 (*Janus Kinase*) qui, à leur tour, phosphorylent le récepteur IFNAR. La phosphorylation d'IFNAR dégage un site de fixation pour les protéines STAT2 (*Signal Transducers and Activators of Transcription*) puis STAT1. La protéine STAT2 est la première à se fixer. Sa phosphorylation dégage un site de fixation pour STAT1. STAT1 est à son tour activée par phosphorylation. Les protéines STAT activées peuvent (Choi *et al.*, 2001 ; Choi *et al.*, 2003) :

- Soit agir séparément : STAT1 forme alors un homodimère appelé le GAF (*Gamma activated factor*). Le GAF se déplace dans le noyau et active des gènes comportant une séquence GAS, comme le gène IRF1 (*Interferon Regulatory Factor*).
- Soit former un hétérodimère STAT1-STAT2, pour former avec IRF9 un hétérotrimère, complexe transcriptionnel : ISGF3. L'ISGF3 (*Interferon Stimulated Gene Factor 3*) se déplace ensuite dans le noyau et se fixe aux ISG contenant un ISRE (*IFN-Stimulated Response Elements*), comme les gènes STAT, IRF9, ISG17, MX1, MX2 et OAS1 (*2'-5'-oligoadenylate synthetase*). La protéine IRF1 peut également agir en synergie avec l'ISGF3 pour former le complexe transcriptionnel ISGF3-IRF1.

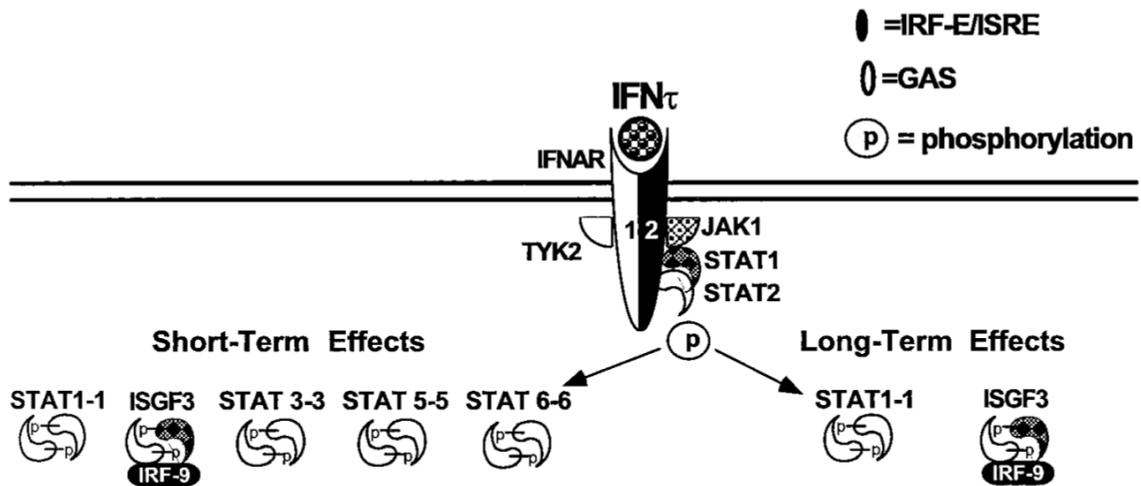
Le signal JAK-STAT entraîne par ailleurs une hyperactivation de l'expression des ISG en stimulant la transcription de ses éléments activateurs (GAF et ISGF3-IRF1) (Figure 3) (Choi *et al.*, 2001).

Figure 3: Signal JAK-STAT dans le stroma et l'épithélium glandulaire de l'endomètre (Choi *et al.*, 2001).



Un mécanisme similaire serait également en jeu avec les protéines STAT3, 5 a/b, et 6, mais seuls STAT1 et 2 sont phosphorylés de façon permanente et ont donc un effet à long terme (Stewart *et al.*, 2001 ; Stewart *et al.*, 2002). Cette différence est illustrée avec la figure 4.

Figure 4: Phosphorylation des protéines STAT1 et 2 ayant un effet à long terme (plusieurs heures), et des protéines STAT1, 3, 5, 6 ayant des effets à court terme (30 à 60 min) (Stewart *et al.*, 2002).



La voie JAK-STAT est inhibée par IRF2 qui est un répresseur de l'IFN τ , présent dans le noyau des cellules de l'épithélium luminal et glandulaire superficiel (Choi *et al.*, 2001). Il est intéressant de noter que la synthèse de l'IRF2 est indépendante de l'IFN τ . L'IRF2 inhibe l'expression des gènes contenant un ISRE en s'y fixant et donc en bloquant physiquement la fixation des complexes activateurs (Choi *et al.*, 2001). Ce mécanisme d'inhibition est présenté avec la figure 5. L'existence de ce mécanisme inhibiteur explique l'expression différente des ISG selon la localisation histologique.

En effet, Choi *et al.* ont montré que l'expression de certains ISG, dont des ISG indispensables à la voie JAK-STAT (STAT1 et 2, IRF9...) ne s'exprimaient que dans le stroma mais pas dans l'épithélium luminal ni l'épithélium glandulaire superficiel, entre 14 et 18 jours de gestation chez la brebis (Choi *et al.*, 2001). Cette observation est similaire à celle faite par d'autres auteurs (Johnson *et al.*, 1999 ; Vitorino Carvalho *et al.*, 2016).

ayant traversé l'épithélium. Guillomot *et al.* (1986) ont par ailleurs mis en évidence des vésicules circulant entre les jonctions intercellulaires, en présence de fortes concentrations de progestérone ou lorsqu'il n'y a pas de PGR (*Progesterone Receptor*) dans l'épithélium luminal. Ces vésicules pourraient contenir de l'IFN τ .

- L'induction des ISG dans le stroma et l'épithélium glandulaire profond est secondaire à une première réponse dans l'épithélium luminal. Cette première réponse pourrait correspondre à la synthèse d'un médiateur de l'IFN τ qui agirait ensuite comme un stimulateur paracrine.
- L'induction des ISG dans l'épithélium luminal ne nécessite pas les protéines STAT.

En effet, d'autres voies de régulation des ISG ont récemment été découvertes, et ont été qualifiées de voies non classiques. Ces voies ne font pas intervenir les protéines STAT, et de ce fait, la signalisation JAK-STAT. Les ISG faisant intervenir les voies non classiques sont qualifiés d'ISG non classiques (Dorniak *et al.*, 2011 ; Hansen *et al.*, 2017a). Les voies non classiques sont nombreuses et encore mal connues. Par exemple, certains gènes non classiques empruntent la voie p38-MAPK et PI3K-AKT1-FRAP1 (Figure 6), leur promoteur possédant des sites de fixation à ces activateurs (Bazer *et al.*, 2009). Doualla-Bell et Koromilas ont montré que la régulation de l'expression de PTGS2 (*Prostaglandine Synthase 2*) par l'IFN τ nécessite un signal p38-MAPK (Doualla-Bell et Koromilas, 2001).

De plus, comme nous le verrons plus loin, certaines voies non classiques font également intervenir la progestérone. C'est pourquoi on distingue les voies non classiques dépendantes de la progestérone (Figure 6), empruntées par les ISG non classiques à double stimulation (par l'IFN τ et par la progestérone), des voies non classiques indépendantes de la progestérone, empruntées par les ISG non classiques simples (Figure 7).

Figure 6: Exemple des voies non classiques MAPK et PI3K d'activation des ISG non classiques dépendant de la progestérone (Bazer *et al.*, 2009).

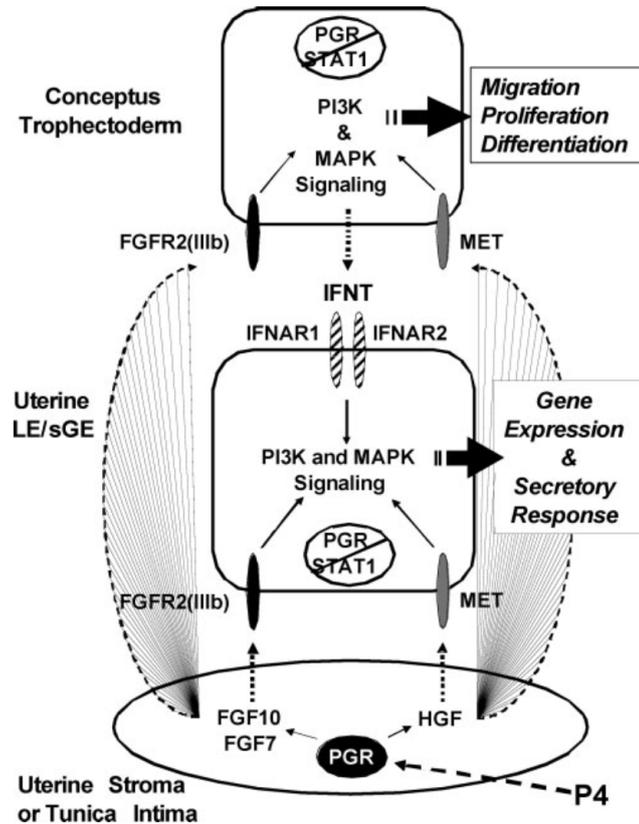
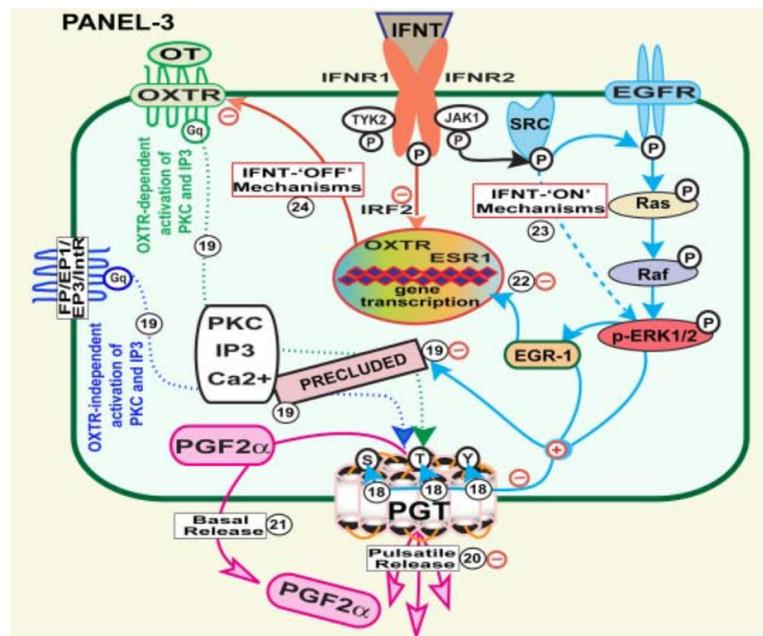


Figure 7: Aperçu de la voie non classique RAS-MAPK responsable de l'inhibition de la synthèse des récepteurs aux œstrogènes et à l'ocytocine (Banu *et al.*, 2010).

L'ERK fait partie de la famille des MAPK. Cette voie ne fait pas intervenir la progestérone.



Certaines réponses aux questions soulevées par Choi *et al.* (2001) ont été identifiées. L'absence d'expression de STAT1, STAT2 et IRF9 (des ISG classiques) dans l'épithélium luminal et glandulaire superficiel à 14 jours de gestation (chez la brebis) est liée à la présence d'IRF2. En revanche, l'expression d'autres ISG dans ces mêmes cellules est rendue possible par le maintien de la présence d'IFNAR (Rosenfeld *et al.*, 2002) permettant une régulation par l'IFN τ et l'existence des voies non classiques, qui ne sont pas inhibées par IRF2.

Nous allons voir à présent que si l'IFN τ a un effet direct sur le transcriptome maternel, il a également un effet indirect. Cet effet indirect repose en partie sur l'effet anti-lutéolytique de l'IFN τ . C'est pour cette raison que nous verrons dans un premier temps comment l'IFN τ inhibe la lutéolyse puis comment la progestérone ainsi produite contribue à la régulation des ISG des couches superficielles. Nous qualifierons par la suite de « couche superficielle », l'épithélium luminal et glandulaire superficiel, et de « couche profonde », l'épithélium glandulaire profond et le stroma.

2. Les actions anti-lutéolytiques de l'IFN τ

Des administrations intra-utérines d'IFN τ chez des brebis et des vaches ont été suivies d'une augmentation de la durée de vie du corps jaune, ce qui suggère que l'IFN τ a une action lutéolytique, directe ou indirecte (Hansen *et al.*, 2017a). Voyons d'abord comment a lieu la lutéolyse chez des femelles non gestantes puis comment l'IFN τ permet le maintien du corps jaune en début de gestation.

a. Synthèse de PGF2 α et mécanismes responsables de la lutéolyse

Chez les brebis cyclées non gestantes, durant l'œstrus et le métœstrus, la production d'œstrogènes par les follicules ovariens stimule la synthèse des récepteurs aux œstrogènes (ESR1) et à l'ocytocine (OXTR) dans l'endomètre. Durant la phase lutéale, le corps jaune synthétise de la progestérone qui, en se fixant sur ses récepteurs (PGR), inhibe la synthèse de ESR1 et OXTR pendant 8 à 10 jours. Mais l'exposition continue de l'endomètre à la progestérone entraîne une réduction du nombre de PGR dans l'épithélium luminal à 11-12 jours du cycle, ce qui s'accompagne d'une augmentation du nombre d'OXTR à 13-14 jours du cycle.

L'ocytocine, qui est libérée par la neuro-hypophyse et par le corps jaune à partir du 9^{ème} jour du cycle, stimule l'expression du gène PTGS2. Or la PTGS2 permet la synthèse de prostaglandine H2 (PGH2), un précurseur des prostaglandines, puis de prostaglandine F2 α (PGF2 α) par activation

d'enzymes de conversion spécifiques. Ceci favorise donc la lutéolyse (Hansen *et al.*, 2017a). La lutéolyse n'est donc possible que lorsque la production d'ocytocine et le nombre de ses récepteurs sont suffisants.

b. Actions anti-lutéolytiques de l'IFN τ

Il est communément admis de nos jours que c'est autour de 16 jours de gestation chez la vache, et 12-13 jours de gestation chez la brebis que l'organisme maternel « reconnaît » la présence d'un embryon, lorsque la concentration en IFN τ est suffisante pour observer un effet inhibiteur sur la synthèse de PGF2 α (le pic d' IFN τ est autour de 15 jours de gestation chez la brebis et 20 jours de gestation chez la vache) (Hansen *et al.*, 2017a). L'IFN τ inhibe la lutéolyse de plusieurs façons complémentaires, en agissant directement sur la synthèse de la PGF2 α et en régulant le nombre de récepteurs ESR et OXTR.

En effet, l'IFN τ inhibe l'enzyme AKR1 (sous-famille B ou C) (*Aldo-Keto Reductase family 1*) qui convertit la PGH2 en PGF2 α , ce qui résulte en l'inhibition de la synthèse du signal lutéolytique (Arosh *et al.*, 2016 ; Sponchiado *et al.*, 2017). L'IFN τ n'inhibe pas la PTGS2, il augmenterait même son activité (Dorniak *et al.*, 2011 ; Hansen *et al.*, 2017a). Toutefois, l'IFN τ active la PTGES (*Prostaglandin E Synthase*), enzyme qui convertit la PGH2 en prostaglandine E2 (PGE2), une hormone anti-lutéolytique (Parent *et al.*, 2002 ; Forde et Lonergan, 2012 ; Arosh *et al.*, 2016 ; Sponchiado *et al.*, 2017). Cette activation aurait lieu vers le 16^{ème} jour de gestation (Arosh *et al.*, 2016). Ce mécanisme déplace le ratio PGE2/PGF2 α en faveur de la PGE2, ce qui permet le maintien du corps jaune et de la gestation, la production de progestérone, le développement de l'embryon, et la reconnaissance maternelle de la gestation (Forde et Lonergan, 2012).

En parallèle, des séquences de fixation d'éléments de régulation de l'expression des ISG ont été identifiés sur le promoteur du gène ESR1 (IRF1 et 2, NF κ B (*Nuclear Factor κ B*), GAS (*Gamma Interferon Activation Site*), ISRE) (Fleming *et al.*, 2001) et sur le gène OXTR (Telgmann *et al.*, 2003). La colocalisation d'IFNAR1 et IFNAR2 et des récepteurs ESR et OXTR dans les cellules de l'épithélium luminal et glandulaire superficiel, à 14-15 jours de gestation chez la brebis (Rosenfeld *et al.*, 2002) (Figure 8) suggère fortement que le signal JAK-STAT soit aussi impliqué indirectement dans la régulation de la lutéolyse, en participant à l'inhibition du nombre de récepteurs ESR et OXTR (Figure 9) (Hansen *et al.*, 2017a).

Figure 8: Localisation des protéines IFNAR1 (à gauche) et IFNAR2 (à droite) par immunohistochimie dans l'utérus de brebis à 14 jours de gestation (Rosenfeld *et al.*, 2002).

LE : épithélium luminal. GE : épithélium glandulaire.

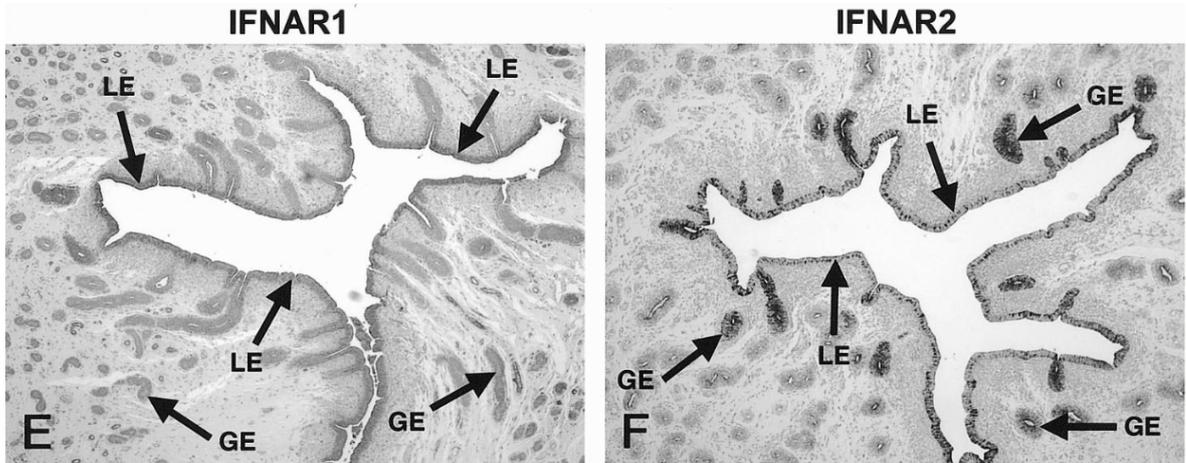
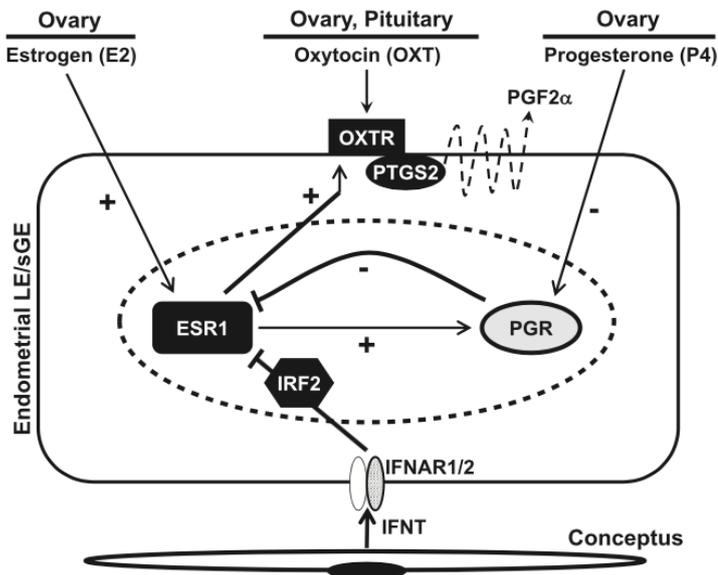


Figure 9: Action paracrine de l'IFN τ sur l'endomètre chez la brebis gestante (Hansen *et al.*, 2017a).

IFNT : Interféron τ ; IFNAR 1 / 2 : Récepteur de l'IFNT ; E2 : Œstrogènes ; ESR1 : Récepteur aux œstrogènes ; P4 : Progestérone ; PGR : récepteur à la progestérone ; PTGS2 : Prostaglandine Synthase 2 ; OXT : ocytocine ; OXTR : Récepteur à l'ocytocine.



De plus, il semblerait que d'autres voies plus complexes interviennent, comme une voie RAS-MAPK (Banu *et al.*, 2010 ; Lee *et al.*, 2012 ; Arosh *et al.*, 2016), qui fait partie des voies non classiques (Figure 7). Il a été montré dans ces études, que l'IFN τ active une cascade de protéines,

dont EGR1 (*Early Growth Response*) et SP1 (*Specificity Protein*), deux protéines compétitrices pour le même site de fixation du promoteur de ESR1. La fixation d'EGR1 serait à l'origine d'une inhibition de l'expression d'ESR. Néanmoins, l'interaction entre EGR1 et SP1 n'a pas encore été directement mise en évidence. Ce mécanisme demeure une hypothèse.

En résumé, l'IFN τ inhibe la lutéolyse par les voies classique et non classiques. Ceci permet le maintien de la production de progestérone et donc de la gestation. Nous allons voir à présent que la progestérone permet la régulation de certains gènes interféron-dépendants.

3. L'influence de la progestérone sur l'expression de gènes endométriaux

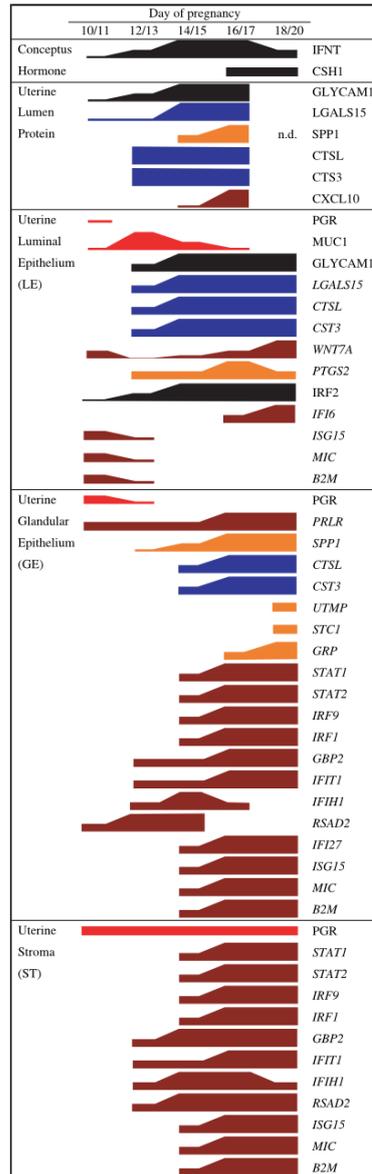
Des brebis ovariectomisées supplémentées en progestérone et recevant des injections d'IFN τ expriment le gène OAS1. En revanche, avec l'administration d'un antagoniste des PGR, ces mêmes brebis n'expriment plus le gène OAS1 (Johnson *et al.*, 2001). Ceci suppose que la progestérone régule l'induction du gène OAS1 par l'IFN τ . Des résultats similaires ont été obtenus avec le gène ISG17. Comment intervient la progestérone dans la régulation de l'expression des ISG ?

L'action de la progestérone pourrait être directe, par sa liaison à ses récepteurs (PGR). Ainsi, pour certains gènes tels que ISG17, des éléments de réponse à la progestérone ont été identifiés dans leur promoteur (Johnson *et al.*, 2001 ; Choi *et al.*, 2003). Cependant, alors que les PGR restent présents dans le stroma endométrial, ils disparaissent dans l'épithélium à partir du 12^{ème} jour de gestation chez la brebis (Hoskins *et al.*, 2021). Ainsi, dans l'épithélium, l'action de la progestérone doit passer par l'induction de médiateurs de la progestérone (FGF7, FGF10, HGF...) dans le stroma puis leur fixation sur leurs récepteurs situés dans l'épithélium luminal (Hoskins *et al.*, 2021). C'est par ce mécanisme que plusieurs gènes exprimés dans les épithéliums luminal ou glandulaire nécessitent l'intervention de médiateurs de la progestérone avant stimulation par l'IFN τ (Hansen *et al.*, 2017a) (Figure 10). Ces gènes (CST, LGALS, SLC, HSD11B1, WNT...) sont impliqués dans l'élongation et l'implantation du conceptus.

Deux voies de signalisation existent alors dès 12 jours de gestation pour ces gènes progestérone-dépendant : dans l'épithélium luminal et glandulaire superficiel, l'activation des ISG passe par des médiateurs de la progestérone (voie non classique) alors que dans le stroma et l'épithélium glandulaire profond, l'activation peut se faire par la voie classique JAK-STAT, ou par une voie non classique (Bazer *et al.*, 2009). Les gènes qui ne sont pas régulés par la voie JAK-STAT sont qualifiés d'ISG non classiques (Dorniak *et al.*, 2011 ; Hansen *et al.*, 2017b).

Figure 10: Expression spatiale et temporelle des ISG chez la brebis pendant la période péri-implantatoire (Spencer *et al.*, 2008).

En rouge : ISG inhibés par la progestérone. En orange : ISG induits ou stimulés par la progestérone. En marron : ISG induits ou stimulés par l'IFN τ . En bleu : ISG non classiques (induit par la progestérone et stimulé par l'IFN τ).



En conclusion, l'IFN τ est le principal signal embryonnaire. Il est produit par le trophoblaste dès 7 jours de gestation et atteint un pic entre 12 à 16 jours de gestation selon l'espèce, ce qui coïncide avec une diminution significative de la production de PGF2 α et l'arrêt de la synthèse des PGR. Cette période est considérée comme la période de reconnaissance de la gestation par l'organisme maternel. L'IFN τ régule des gènes endométriaux, appelés ISG. Les ISG interviennent dans diverses fonctions lors de la gestation (inhibition de la lutéolyse et production de progestérone, migration et adhésion de l'embryon, modifications du système immunitaire maternel...). La régulation par l'IFN τ peut s'effectuer par une voie classique, le signal JAK-STAT, ou par l'une des voies non classiques, faisant intervenir ou non la progestérone. Nous allons à présent détailler comment l'IFN τ modifie le système immunitaire maternel et permet la tolérance de l'embryon, considéré comme une greffe allogénique.

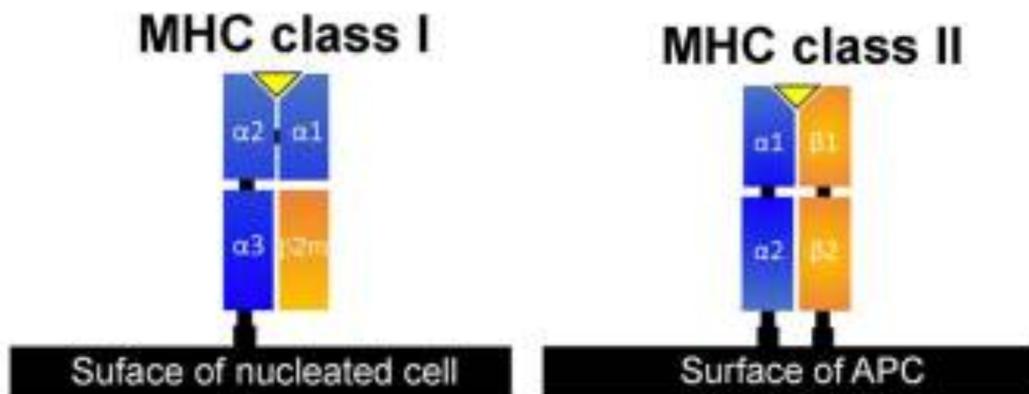
II. L'inhibition du CMH-I par l'IFN τ permet de diminuer les réactions immunitaires maternelles

A. Qu'est-ce que le CMH de classe I ?

Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I (CMH-I) est un complexe de molécules présent de façon quasi-ubiquitaire sur la membrane plasmique des cellules nucléées de notre organisme (sauf les cellules germinales). Il joue un rôle dans la reconnaissance du soi et du non-soi en présentant à des lymphocytes T cytotoxiques des peptides antigéniques. Cette reconnaissance des molécules du non-soi permet la destruction des cellules infectées (Choi *et al.*, 2003).

Le CMH-I est un hétérodimère constitué d'une chaîne lourde transmembranaire, la chaîne α , liée de façon non covalente avec une chaîne légère, la microglobuline $\beta 2$ ($\beta 2MG$) (Figure 11). Le CMH-I se compose du CMH-I classique, dit Ia, et du CMH-I non classique, dit Ib (O'Gorman *et al.*, 2010). Le CMH-Ia, au contraire du CMH-Ib, est très polymorphe, avec une large distribution tissulaire. Le CMH-Ib se retrouve essentiellement à l'interface fœto-maternelle et aurait un effet protecteur contre les cellules immunitaires maternelles (Xu *et al.*, 2020).

Figure 11: Organisation des protéines du CMH-I et du CMH-II à la surface des cellules (Wieczorek *et al.*, 2017).



B. Disparition du CMH-I à la surface des cellules endométriales

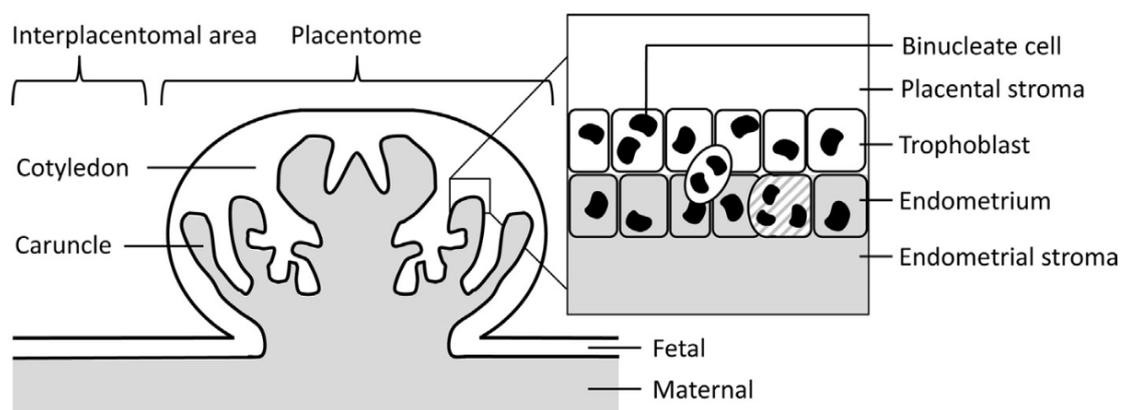
Les gènes du CMH-I, c'est-à-dire ceux de la chaîne α et de la β 2MG, sont exprimés dans la couche superficielle de l'endomètre (épithélium luminal et glandulaire superficiel) de la brebis, entre 10 et 12 jours de gestation. A 14 jours de gestation, les gènes de la chaîne α et de la β 2MG ne sont plus exprimés dans la couche superficielle, mais seulement dans la couche profonde (stroma et épithélium glandulaire profond). Ces modifications ont lieu en réponse à l'IFN τ , ce qui fait de ces gènes des gènes régulés par l'interféron (Choi *et al.*, 2003).

Chez la brebis, jusqu'au 20^{ème} jour de gestation, les protéines α et β 2MG ne sont pas détectables à la surface du trophoblaste, suggérant qu'entre 14 et 20 jours de gestation, ni la couche superficielle de l'endomètre ni celle de l'embryon n'expriment le CMH-I (Choi *et al.*, 2003).

Or, la placentation des ruminants est synépithéliochoriale, ce qui signifie que l'épithélium endométrial est au contact du trophoblaste du conceptus et que les cellules binucléées trophoblastiques migrent et forment des syncytiums par fusion avec des cellules de l'épithélium endométrial (Wooding, 1992) (Figure 12). Les cellules syncytiales pourraient potentiellement exprimer des antigènes étrangers au système immunitaire maternel. L'absence de synthèse des protéines α et de la β 2MG évite, de fait, l'expression d'antigènes étrangers à la surface des cellules syncytiales (Choi *et al.*, 2003).

Figure 12: Organisation synépithéliochoriale du placenta (Benedictus *et al.*, 2015).

Les cellules du trophoblaste sont soit mononucléées (majorité des cellules), soit binucléées. Les cellules binucléées fusionnent avec l'épithélium maternel.



Comment expliquer le fait que le CMH-I soit présent entre 10 et 12 jours de gestation dans la couche superficielle puis disparaisse à partir de 14 jours de gestation ?

Les promoteurs du gène de la chaîne α et de la β 2MG du CMH-I ont été étudiés dans des cellules de neuroblastome humain. Il a été montré qu'ils contenaient deux séquences essentielles pour leur régulation (Drew *et al.*, 1995) (Figure 13) :

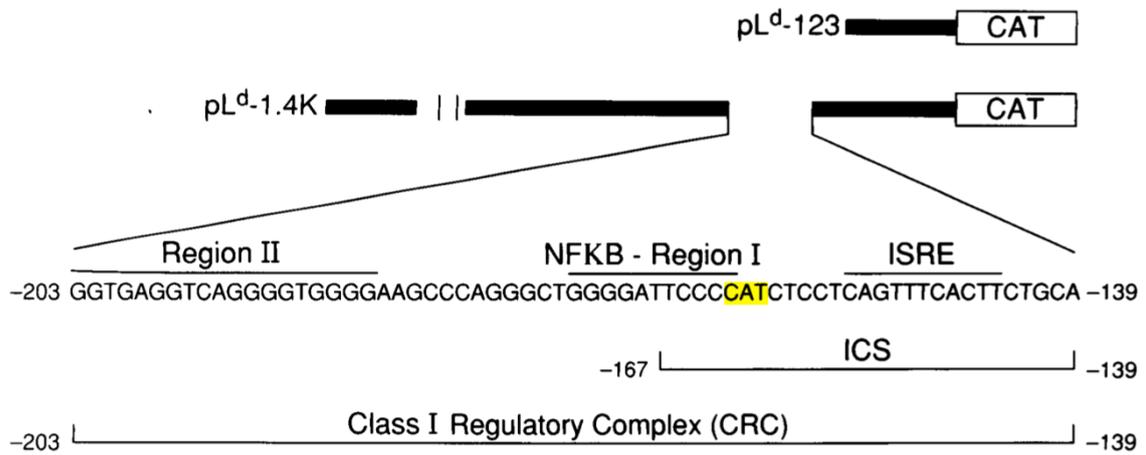
- Une séquence activatrice, la NF κ B Region I, sur laquelle se fixe le NF κ B (hétérodimère p50-p65).
- Une séquence consensus de l'interféron (ICS) contenant elle-même un ISRE, permettant la fixation des IRF (1 et 2) et des facteurs de transcription issus des ISG.

Ainsi, il semblerait que les protéines NF κ B et IRF1 interagissent physiquement et augmentent de façon synergique l'expression des molécules du CMH-I, au moins dans l'espèce humaine, et que IRF2 inhibe l'induction des deux gènes du CMH-I (Drew *et al.*, 1993).

Entre 10 et 12 jours de gestation, le CMH-I est exprimé dans l'épithélium luminal et glandulaire superficiel malgré le fait que IRF2 y soit également exprimé, empêchant théoriquement l'expression de ces gènes (Choi *et al.*, 2003). Or, comme nous l'avons vu précédemment, à ce même stade de gestation, certains ISG comme OAS1, ISG17 et IRF1 ont été observés dans l'épithélium luminal et glandulaire superficiel à des seuils bas. Et, de plus, certains promoteurs des ISG contiennent des éléments de réponse à la progestérone. Or, la présence de récepteurs à la progestérone jusqu'à 12 jours de gestation pourrait permettre l'induction de l'expression de gènes du CMH-I par la progestérone et expliquer la présence du CMH-I à cette période (Choi *et al.*, 2003). Pour autant, la stimulation du CMH-I par la progestérone chez les ruminants n'a pas encore été prouvée.

A 14 jours de gestation chez la brebis, IRF2 est localisé dans l'épithélium luminal et glandulaire superficiel, c'est à dire au moment où la chaîne α et la β 2MG ne sont plus détectées (Spencer *et al.*, 1998 ; Hansen *et al.*, 2017a). Parallèlement, les protéines STAT1, STAT2 et IRF9 sont absentes dans l'épithélium luminal et glandulaire superficiel (mais présentes dans le stroma et l'épithélium glandulaire profond) (Choi *et al.*, 2001). Or, les protéines STAT sont des ISG classiques (Vitorino Carvalho *et al.*, 2016). Ceci suppose que IRF2 est impliqué dans l'inhibition du CMH-I à 14 jours de gestation, en inhibant la formation du complexe de transcription ISGF3-IRF1, empêchant de fait l'expression du CMH-I, en association avec la disparition des récepteurs à la progestérone.

Figure 13: Organisation du promoteur du gène de la chaîne α du CMH-I (une organisation similaire existe pour la β 2MG) (Drew *et al.*, 1995).



Voyons à présent quelle est la conséquence de l'absence de CMH-I à la surface de l'endomètre.

C. Apparition du CMH-I non classique à la surface des cellules endométriales

L'absence de CMH-I à la surface d'une cellule est considérée comme anormale par le système immunitaire. Cette anomalie est repérée par les cellules NK (*Natural Killer*), chargées de détruire cette cellule. Deux mécanismes d'adaptation sont alors possibles : éliminer les cellules NK de l'utérus (ce qui n'est pas observé), ou modifier le fonctionnement des cellules NK. Chez l'homme, le CMH-Ib, constitué, entre autres, des molécules HLA-G (*Human Leucocyte Antigen*), est impliqué dans l'inhibition des lymphocytes T cytotoxiques et des cellules NK au cours de la gestation, et donc dans la tolérance immunitaire maternelle (Xu *et al.*, 2020). HLA-G est un ligand des récepteurs inhibiteurs des cellules NK (O'Gorman *et al.*, 2010).

Récemment, des études ont mis en évidence l'existence chez les bovins, de gènes du CMH-Ib, les gènes BoLA-NC (NC1 à NC4) (*Bovine Leucocyte Antigen*). Sur le chromosome 23, le gène BoLA-NC1 est situé près des gènes du CMH-Ia. Tout comme le HLA-G, la séquence NC1 est très conservée et est très peu polymorphe, ce qui suggère son importance au cours de la gestation (O'Gorman *et al.*, 2010).

Le promoteur du gène BoLA-NC1 a une organisation similaire à celle des gènes du CMH-Ia (séquence activatrice A, séquence ICS, ISRE...), suggérant une induction par des interférons.

O’Gorman *et al.* ont montré une augmentation de l’activité du promoteur et de la quantité d’ARNm NC1 en présence d’IFN τ , d’IL4, et de progestérone. Le gène BoLA-NC1 pourrait donc être un ISG non classique progestérone-dépendant (O’Gorman *et al.*, 2010).

L’expression du gène BoLA-NC1 dans le trophoblaste a été observé au cours de la période péri-implantatoire (Doyle *et al.*, 2009). Néanmoins, l’interaction entre le BoLA-NC1 et les cellules NK n’a pour l’instant pas été observée.

Ces données suggèrent donc qu’il existe un CMH-Ib chez les ruminants, et que celui-ci pourrait protéger l’embryon vis-à-vis des cellules NK endométriales.

En conclusion, l’expression du CMH-Ia à la surface de l’endomètre et du trophoctoderme est inhibée, ce qui permet de diminuer les réactions immunitaires d’origine maternelle. Cette inhibition repose sur l’IRF2. En parallèle, les cellules endométriales expriment les molécules du CMH-Ib, connu, chez l’homme, pour inhiber les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules NK, et prévenir de ce fait les réactions de rejet.

Le système immunitaire repose sur l’interaction antigène-cellule immunitaire. Nous avons vu que le CMH-I embryonnaire, considéré comme antigène, était inhibé. Les cellules NK, cellules sentinelles pouvant repérer cette anomalie, sont également inhibées. Nous allons voir à présent comment l’embryon module les autres cellules immunitaires maternelles et leurs effecteurs (cytokines, anticorps...).

III. Les cellules immunitaires et leurs effecteurs solubles sont régulés pendant la période embryonnaire

Nous aborderons dans cette partie la manière dont sont régulées les cellules du système immunitaire par l'embryon. En réalité, la modulation du système immunitaire a lieu dès l'accouplement, au contact du liquide séminal. C'est pourquoi nous verrons dans un premier temps, brièvement, comment le liquide séminal permet un afflux de leucocytes et de leurs effecteurs, puis dans un second temps comment l'embryon régule cet afflux.

A. Lors de l'accouplement, le liquide séminal crée un environnement pro-inflammatoire

Le liquide séminal est le fluide composant majoritairement le sperme. Il est sécrété par la prostate et les vésicules séminales lors de l'éjaculation.

Chez la souris, il a été montré que le liquide séminal améliore le développement de l'embryon et augmente son taux de survie (Bromfield *et al.*, 2014). En effet, chez la souris, le liquide séminal a une action suppressive sur l'immunité maternelle, ce qui permet l'implantation et la tolérance vis-à-vis de l'embryon (Guerin *et al.*, 2011 ; Robertson *et al.*, 2013 ; Robertson *et al.*, 2018).

Chez les bovins, en revanche, les études montrent que l'administration de liquide séminal dans l'utérus de vaches entraîne l'expression de gènes pro-inflammatoires dans les cellules endométriales et favorise la phagocytose (Elweza *et al.*, 2018 ; Ibrahim *et al.*, 2019).

Chez les ovins, la réponse inflammatoire de l'endomètre au liquide séminal dépend du stade du cycle. Pendant l'œstrus, le liquide séminal et le sperme sont pro-inflammatoires (augmentation du nombre de polynucléaires neutrophiles (PNN) et augmentation de la sécrétion de CSF2 et d'interleukine 8 (IL8)). Pendant le dioestrus en revanche, le liquide séminal n'induit pas de réaction inflammatoire (Scott *et al.*, 2006).

1. Le liquide séminal entraîne un afflux de cellules immunitaires dans l'utérus

Le dépôt de liquide séminal dans l'utérus de vaches entraîne un afflux de PNN dans la lumière utérine, un constat qui avait déjà été fait dans d'autres espèces (Alghamdi *et al.*, 2004). Cet afflux de PNN a lieu dans les 2 à 4 heures suivant l'insémination (Alghamdi *et al.*, 2009 ; Elweza *et al.*, 2018). Les PNN circulent attachés aux spermatozoïdes, soit individuellement, soit en clusters de

taille variable. Cet attachement peut se faire de façon directe par une interaction ligand-récepteur, ou par un réseau de filaments de chromatine associé à des protéines (NET, *Neutrophil Extracellular Trap*). Il entraîne une diminution jusqu'à 40 % du nombre de spermatozoïdes libres (Alghamdi *et al.*, 2009). Dans cette étude, le taux d'attachement des PNN aux spermatozoïdes était supérieur lors d'insémination en présence de 10 % de liquide séminal qu'avec des spermatozoïdes seuls, ce qui suggère que c'est bien le liquide séminal qui est à l'origine de cet attachement.

A l'inverse, Aloé *et al.* (2012) ont montré que l'incubation conjointe de liquide séminal à des concentrations faibles (0,2 % v/v) et de neutrophiles diminuait la migration des neutrophiles. Ils ont suggéré que le liquide séminal bloquait la sécrétion d'IL8, une cytokine connue pour exercer un chimiotactisme positif sur les neutrophiles (Hoch *et al.*, 1996 ; Aloé *et al.*, 2012). Cette inhibition par le liquide séminal avait déjà été mise en évidence chez le porc (Taylor *et al.*, 2009). Néanmoins, Elweza *et al.* (2018) ont constaté des résultats opposés *in vitro*, avec une augmentation de la sécrétion d'IL8 et un pic de sécrétion 3 heures post-insémination. Cependant, dans cette dernière étude, le sperme avait été utilisé à des volumes plus importants, ce qui peut expliquer ces résultats.

2. Le liquide séminal stimule la synthèse de cytokines pro-inflammatoires par les cellules endométriales

Quelques études ont montré que le liquide séminal stimulait la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les cellules endométriales bovines, telles que IL6, IL8, IL1 β , IL17, TNF α (*Tumor Necrosis α*), TGF β (*Transforming Growth factor β*) (Elweza *et al.*, 2018 ; Ibrahim *et al.*, 2019). De plus, lors de mise en culture de cellules endométriales en présence de liquide séminal, les ARNm des protéines du complément C3 et C4, de puissants marqueurs de l'inflammation, ont été détectés dans les cellules, ce qui confirme l'existence d'un environnement pro-inflammatoire.

Certaines de ces cytokines ont une influence connue sur les populations de cellules immunitaires. Ainsi, IL17A qui est une cytokine produite dans l'utérus essentiellement par les lymphocytes T $\gamma\delta$ (LT $\gamma\delta$) dont le nombre augmente significativement dans l'épithélium luminal de brebis pendant la gestation (Majewski *et al.*, 2001), mais aussi par les lymphocytes Th17 (LTh17), les lymphocytes T CD8 et les cellules NKT. Chez la souris, IL17A aurait pour effet d'attirer les PNN en stimulant la production d'autres cytokines (IL1 β et TNF α) et de chimiokines (CXCL1, CXCL2 et CXCL5) (Song *et al.*, 2016). Parmi les autres cytokines dont la sécrétion est stimulée, il a été montré que IL1 β , TGF β et IL6 induisaient la différenciation des LTh17, autre source de IL17A (Saito *et al.*, 2010). Cette voie d'activation des PNN par le liquide séminal s'appelle la voie T $\gamma\delta$ / IL17 (Song *et al.*, 2016).

Les cytokines peuvent avoir d'autres rôles que l'activation ou l'attraction de cellules immunitaires. Ainsi, le $TNF\alpha$ est connu pour augmenter l'activité de la PTGES dans l'endomètre chez les bovins et donc augmenter la synthèse de PGE2, prostaglandine pro-gestationnelle (Parent *et al.*, 2002).

En conclusion, chez les ruminants, le rôle du liquide séminal dans la réponse immunitaire maternel est encore mal connu. Il apparaît néanmoins que le sperme crée un environnement pro-inflammatoire, avec la synthèse de cytokines pro-inflammatoires attirant les cellules immunitaires (PNN majoritairement). Le rôle des PNN serait d'éliminer les agents pathogènes ayant pu être introduits dans le vagin au cours de l'accouplement et d'éliminer le sperme en excès (Elweza *et al.*, 2018). A présent, il semble important de se demander si un environnement pro-inflammatoire ne serait pas délétère pour la gestation, et comment le système immunitaire maternel module cette réponse.

B. Les cellules présentatrices d'antigènes professionnelles orientent le système immunitaire vers une réponse Th1, Th2 ou Treg

1. Qu'est-ce que la balance Th1/Th2/Treg ?

Les cellules présentatrices d'antigène (CPA) sont un groupe de cellules du système immunitaire capables d'activer des lymphocytes. Les CPA peuvent porter à leur surface uniquement le CMH-I (les CPA sont alors qualifiées de non professionnelles, c'est le cas par exemple des cellules épithéliales) ou, conjointement le CMH-I et le CMH-II (les CPA sont alors qualifiées de professionnelles, c'est le cas des cellules dendritiques, des macrophages et des lymphocytes B).

Le complexe Ag-CMH-I est reconnu par les LT CD8+. Le complexe Ag-CMH-II est reconnu par les LT CD4+, dits auxiliaires ou helper (LTh ou LTh0).

En fonction des cytokines sécrétées par la CPA, le LTh peut se différencier en LTh1 ou LTh2. Chez l'Homme, IL12, $IFN\alpha$ et $IFN\gamma$ sont des cytokines connues pour induire la voie Th1 à partir de Th0, tandis que IL4 est une cytokine connue pour induire la voie Th2 (Zhu *et al.*, 2010).

Une fois différenciées, les cellules Th1 produisent des cytokines comme $IFN\gamma$, IL1 β , IL2, $TNF\alpha$, et GM-CSF (Facteur de stimulation des colonies de granulocyte et de macrophage) qui permettent l'activation des macrophages, des cellules NK et des LT CD8+, et la production de

cytokines pro-inflammatoires. Les cellules Th1 produisent aussi des cytokines qui auto-amplifient la voie Th1.

Les cellules Th2, elles, produisent les interleukines IL4, 5, 6, 10, 13 et régulent négativement la réponse Th1. Ceci permet l'activation des lymphocytes B (LB) et des granulocytes éosinophiles (Perez-Sepulveda *et al.*, 2014). Les cellules Th2 produisent aussi des cytokines qui auto-amplifient la voie Th2.

Enfin, les lymphocytes T régulateurs (LTreg) produisent IL10 et TGF β et sont tolérogènes.

Chez la femme et la souris, le phénotype dominant lors de la gestation est le phénotype Th2. Il a été observé qu'une augmentation de la réponse Th1 et une diminution des LTreg s'accompagnaient d'une augmentation du nombre d'avortements et majoraient le risque de pré-éclampsie. Néanmoins, une augmentation excessive de la réponse Th2 provoque également des avortements. Ces résultats montrent que chez la femme et la souris, la balance des réponses Th1/Th2/Treg est finement contrôlée et qu'elle est essentielle au bon déroulement de la gestation. Récemment, un lien entre les LTreg, les LTh17 et leurs facteurs d'activation (IL1 β , TGF β , IL6) lors de pré-éclampsie a été mis en évidence, complexifiant le mécanisme (Saito *et al.*, 2010).

Plusieurs études chez les ruminants ont tenté d'étudier cette balance Th1/Th2/Treg. Nous verrons par la suite que ce mécanisme n'est pas aussi tranché que la femme.

2. Les cellules dendritiques favorisent une réponse tolérogène

a. Le nombre de cellules dendritiques augmente pendant la période péri-implantatoire

Les cellules dendritiques sont des CPA professionnelles faisant partie de la famille des phagocytes, au même titre que les monocytes, les macrophages et les polynucléaires.

Le nombre de monocytes et de macrophages augmente dans l'épithélium luminal et le stroma, chez la vache au cours de la gestation : entre 13 et 16 jours de gestation selon Mansouri-Attia *et al.* (2012), entre 17 et 20 jours de gestation selon Kamat *et al.* (2016), et pas avant 16 à 18 jours de gestation selon d'autres auteurs (Leung *et al.*, 2000 ; Groebner *et al.*, 2011). Cette augmentation du nombre de monocytes et de macrophages s'accompagne aussi d'une augmentation du nombre de cellules dendritiques. En effet, à 16 jours de gestation chez la vache, Mansouri-Attia *et al.* (2012) ont observé une multiplication par dix du nombre de cellules CD14+ CD11c+ dans le stroma. Ces cellules étaient aussi majoritairement CD172a+ (Tableau 1). Ceci montre qu'il y a une augmentation massive du nombre de cellules dendritiques immatures (et dans

une moindre mesure de macrophages) dans le stroma des vaches gestantes (Mansouri-Attia *et al.*, 2012 ; Kamat *et al.*, 2016).

Or, chez la femme, les cellules dendritiques immatures sont impliquées dans la tolérance immunitaire maternelle. Il est donc possible que cet afflux de cellules dendritiques soit impliqué dans la tolérance vis-à-vis du conceptus chez les ruminants (Mansouri-Attia *et al.*, 2012 ; Kamat *et al.*, 2016).

Tableau 1: Rappel des marqueurs des cellules immunitaires.

Lignée cellulaire	Marqueur
Lignée lymphoïde	CD45
Lymphocyte T	CD3
Lymphocyte T CD4+	CD4
Lymphocyte T CD8+	CD8
Lymphocyte Treg	CD25
Lymphocyte B	CD19, CD20, CD21
Cellules NK	NK, CD56, CD16, CD335 (NKp46)
Lignée myéloïde	CD14 (macrophage et cellules dendritiques)
Cellules dendritiques, Macrophage	CD11, CD80, CD86
Cellules dendritiques immatures	CD172a
Monocyte, Macrophage	CD68

Voyons maintenant quelle est la conséquence de la présence de ces cellules dendritiques chez les ruminants.

b. Les cellules dendritiques favorisent la réponse Th2/Treg

Les cellules dendritiques sécrètent IL12, IL15 et IL18 en période péri-implantatoire chez les bovins (Mansouri-Attia *et al.*, 2012). Chez les vaches gestantes, la quantité d'IL15 est doublée dans l'endomètre caronculaire. Cette cytokine induit :

- la prolifération de LTreg et la synthèse de leurs cytokines immunomodulatrices (Walker *et al.*, 2010),
- un chimiotactisme positif sur les monocytes et les macrophages (Mansouri-Attia *et al.*, 2012).

Or, à l'instar de la classification Th1/Th2, les macrophages sont eux aussi divisés en macrophages M1 ou M2 (Mills *et al.*, 2017). Les macrophages M1 sécrètent TNF α et IL6 et sont plutôt pro-inflammatoires : ils augmentent la phagocytose et activent les lymphocytes T. Les macrophages M2 sécrètent IL4, IL10, IFN γ et LIF (*Leukemia Inhibitory Factor*) et sont plutôt tolérogènes. Chez la vache, des macrophages endométriaux exprimant des gènes caractéristiques du type M2 ont été identifiés tardivement au cours de la gestation (à 164 jours) (Oliveira *et al.*, 2010). La présence de macrophages M2 pendant la période embryonnaire est pour l'instant inconnue.

Des mécanismes d'inhibition réciproque sont en jeu. Le LIF et l'IL10 de la réponse M2 régulent l'activité des macrophages M1 et stimulent la réponse Th2 (Martinez *et al.*, 2006 ; Oliveira *et al.*, 2013a ; Mills *et al.*, 2017) . Cette réponse Th2 inhibe elle-même la réponse Th1.

Les cellules dendritiques sécrètent aussi IL18 qui est une cytokine pro-inflammatoire dont la production est plus élevée chez les vaches gestantes. Cependant, un inhibiteur de l'IL18, IL8BP permet de contrôler la réponse pro-inflammatoire induite par IL18 (Walker *et al.*, 2010).

En résumé, les cellules dendritiques produisent préférentiellement des cytokines qui activent la voie Th2 et les LTreg. De plus, il est intéressant de noter que d'autres mécanismes décrits chez la vache permettent une inhibition de la réponse Th1 :

- La synthèse d'IL1RN, un inhibiteur de l'IL1 β est augmentée chez la vache gestante. Un mécanisme similaire a été observé chez les juments gestantes (Walker *et al.*, 2010).
- Munoz *et al.* (2012) ont montré que dès 8 jours de gestation, l'embryon sécrétait lui aussi (en plus des lymphocytes Th2) du TNF α et de l'IL1 β . La sécrétion de TNF α peut être auto-régulée par la fixation du TNF α sur son propre récepteur. Le TNF α est par ailleurs connu pour être une des molécules inductrices du NF κ B. Ainsi, la sécrétion embryonnaire de TNF α pourrait permettre, par auto-régulation, une diminution de sa sécrétion endométriale, et donc une diminution de l'expression endométriale du NF κ B. Le NF κ B est un facteur de transcription pro-apoptotique et pro-inflammatoire. Ce mécanisme pourrait donc intervenir dans la tolérance de l'allogreffe pendant la gestation. Ce mécanisme est indépendant de l'IFN τ .

c. Les cellules dendritiques génèrent un signal « don't eat me »

Le gène SIRP α (*Signal-Regulatory Protein α*) code pour une glycoprotéine membranaire, le récepteur SIRP α (aussi appelé CD172), présent à la surface des cellules de la lignée myéloïde (Kamat *et al.*, 2016).

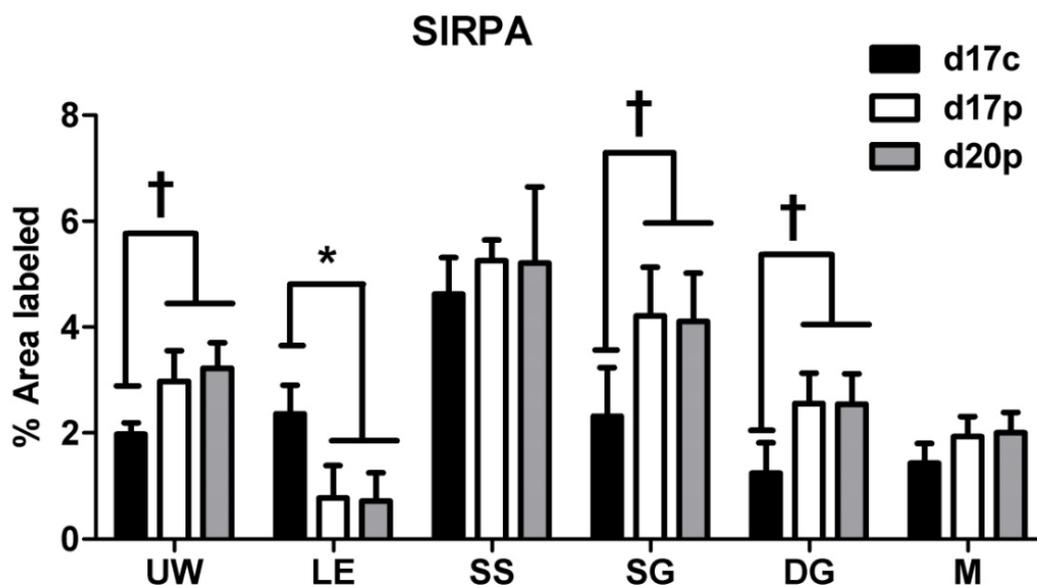
Dans les tumeurs humaines, la protéine SIRP α est à l'origine d'un signal « don't eat me », protégeant ainsi les cellules tumorales de la phagocytose. La liaison de la protéine SIRP α avec son ligand CD47 active ITIM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif*), un récepteur qui contrôle la différenciation des cellules dendritiques immatures en cellules dendritiques matures. Cette différenciation génère le signal « don't eat me » qui bloque la phagocytose (Groebner *et al.*, 2011).

Kamat *et al.* (2016) ont observé qu'à 17 et 20 jours de gestation chez la vache, il tendait à y avoir plus de cellules SIRP α ⁺ dans l'épithélium glandulaire que chez des vaches non gestantes (Figure 14). Étonnamment, il y avait moins de cellules SIRP α ⁺ dans l'épithélium luminal de vaches gestantes que de vaches non gestantes alors que la placentation des ruminants implique un contact entre le trophoctoderme et l'ensemble de l'épithélium maternel, et donc une protection contre le système immunitaire sur l'ensemble de l'épithélium.

Figure 14: Proportion de cellules exprimant SIRP α à différentes localisations entre 17 et 20 jours de gestation (Kamat *et al.*, 2016).

UW : paroi utérine. LE : épithélium luminal. SS : stroma superficiel. SG : épithélium glandulaire superficiel. DG : épithélium glandulaire profond. M : myomètre. d17c : à 17 jours du cycle. d17p : à 17 jours de gestation. d20p : à 20 jours de gestation.

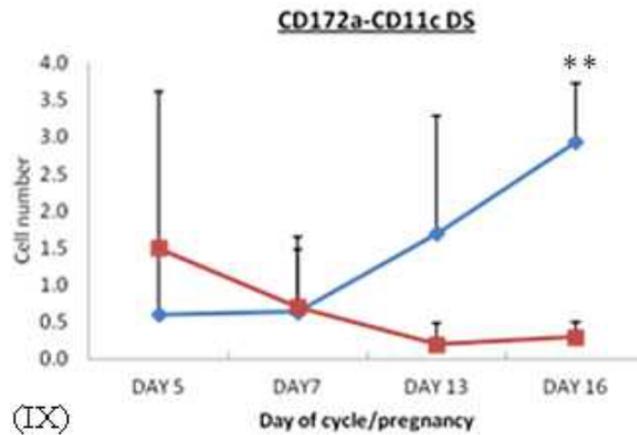
† signifie $0,05 < p < 0,10$. * signifie $p < 0,05$.



Dans l'étude de Mansouri-Attia *et al.* (2012), le nombre de cellules SIRP α + jusqu'à 16 jours de gestation n'a pas été étudié dans l'épithélium glandulaire. Il n'y avait aucune cellule SIRP α + dans l'épithélium luminal et le nombre de cellules n'était pas différent dans le stroma, de même que pour Kamat *et al.* (2016). Cependant, une sous-population de cellules exprimant SIRP α et CD11 étaient plus nombreuses dans le stroma profond pour les vaches à 16 jours de gestation (Figure 15).

Figure 15: Evolution du nombre de cellules exprimant simultanément SIRP α et CD11 dans le stroma profond, à différents stades de gestation ou du cycle (Mansouri-Attia *et al.*, 2012).

En bleu : vaches gestantes. En rouge : vaches non gestantes. ** signifie $p < 0,01$.



Il apparaît donc que la gestation augmente le nombre de cellules SIRP α + et modifie la distribution spatiale des cellules porteuses de ce récepteur. Cependant, la présence du ligand de la protéine SIRP α , la protéine CD47, n'ayant pas encore été mise en évidence dans les cellules endométriales, il est impossible de conclure de façon certaine quant à l'effet de SIRP α pendant la gestation.

C. L'IFN τ entraîne un afflux de leucocytes

1. L'IFN τ attire les polynucléaires neutrophiles mais inhibe leur activité

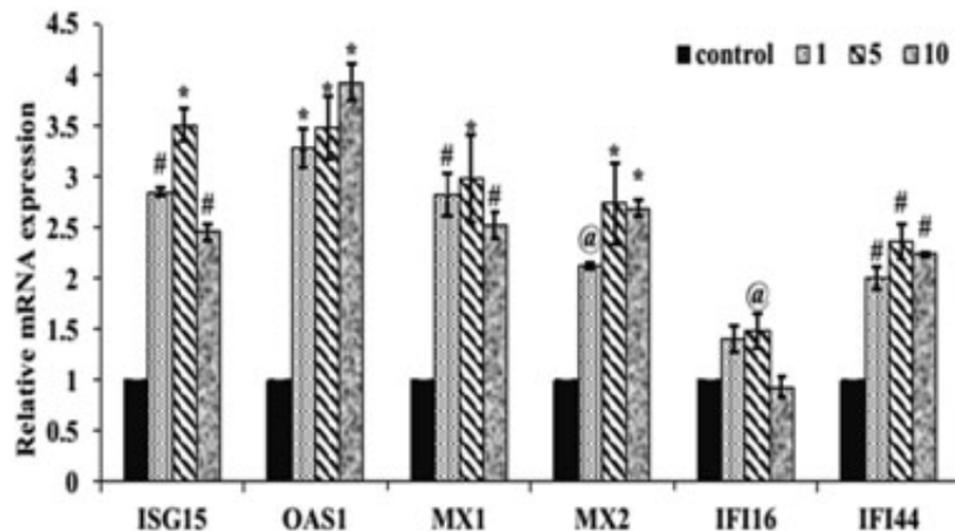
a. Mise en évidence de l'effet de l'IFN τ sur les polynucléaires neutrophiles

Manjari *et al.* (2018) ont mis en culture des polynucléaires neutrophiles circulants de génisse avec une concentration élevée (10 ng/mL), moyenne (5 ng/mL), ou faible (1 ng/mL) d'IFN τ pour déterminer l'effet de l'IFN τ sur l'expression de certains gènes des polynucléaires neutrophiles utérins

et son impact sur l'implantation de l'embryon. L'expression des gènes a été analysée par PCR quantitative en temps réel (Figure 16).

Figure 16: Expression d'ISG dans les polynucléaires neutrophiles après mise en culture avec 1, 5, ou 10 ng/mL d'IFN τ *in vitro* (Manjari *et al.*, 2018).

* signifie p <0,001. # signifie p <0,01. @ signifie p <0,05



Cette étude a notamment permis de mettre en évidence l'influence de l'IFN τ sur l'expression d'ISG15, une protéine chimioattractante pour les PNN. A faible concentration, l'IFN τ exerce un chimiotactisme positif sur les PNN alors que ce chimiotactisme est réduit à forte concentration. En effet, à forte concentration en IFN τ , il existe un mécanisme d'autorégulation des PNN qui permet de réduire l'afflux de cellules immunitaires.

De plus, l'augmentation de l'expression de IFI44 (*Interferon Induced protein 44*), une protéine dont l'activation diminue la phagocytose chez l'homme, et le fait que, chez l'homme, ISG15 réduise le renouvellement des protéines intracellulaires en ralentissant l'activité du protéasome, suggèrent que l'IFN τ attire les PNN, mais diminue leur activité de phagocytose.

L'IFN τ exercerait donc un chimiotactisme positif sur les PNN et régulerait leur activité.

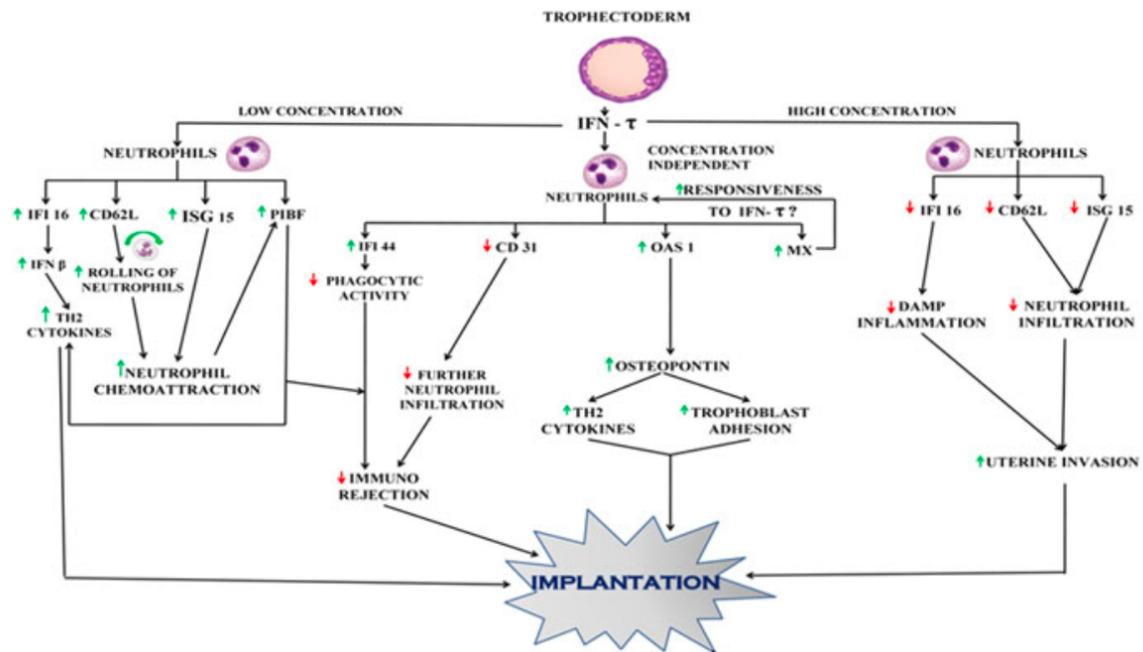
b. Régulation par l'IFN τ de l'inflammation induite par l'implantation

Manjari *et al.* (2018) ont également observé une augmentation de l'expression de OAS1, MX1 et MX2 dans les PNN, des gènes impliqués dans l'adhésion du trophoblaste à l'endomètre. Cette adhésion, suivie de l'invasion du trophoblaste, est à l'origine de lésions tissulaires. Ces lésions se traduisent par la libération de DAMPs (*Damaged-Associated Molecular Patterns*), des molécules

qui provoquent une inflammation (Figure 17). Celle-ci est limitée par l'augmentation de l'expression de IFI16 par les PNN. Il a été constaté une corrélation négative entre l'expression d'OAS1 et d'IFI16 (Manjari *et al.*, 2018).

A faible concentration en IFN τ , l'expression de PIBF (*progesterone-Induced Blocking Factor*), un médiateur de la progestérone, probablement également stimulé par l'IFN τ , est augmentée. Le PIBF diminue l'infiltration des PNN, réduit la production de cytokines Th1 mais favorise la production de cytokines Th2. Chez la souris, une action synergique avec la protéine LGALS1 (Galectine 1) a été constatée (l'importance de la protéine LGALS1 sera développée plus bas) (Blois *et al.*, 2007). A faible concentration en IFN τ , le PIBF réduit donc l'inflammation au début de l'implantation et le risque de rejet (Manjari *et al.*, 2018).

Figure 17: Influence de l'IFN τ à faible ou forte concentration sur les PNN (Manjari *et al.*, 2018).



2. L'IFN τ exerce un chimiotactisme positif sur les cellules de la lignée lymphoïde

La lignée lymphoïde est constituée des lymphocytes T et B, et des cellules NK.

Différents auteurs rapportent que le nombre de cellules NK et LTCD8+ augmentent dans l'endomètre pendant la période embryonnaire :

- Vasudevan *et al.* (2017) ont rapporté une augmentation de la quantité de cellules CD45+ CD8+ entre 17 et 20 jours de gestation chez les bovins. Ils ont également mis en évidence la présence de cellules CD45+ NKp46+ à 17 jours de gestation, mais sans modification de leur nombre entre 17 et 20 jours de gestation. Seulement 20 % des cellules CD45+ étaient uniquement NKp46+ ou CD8+. En effet, la majorité des cellules CD45+ co-exprimaient ces deux marqueurs.
- Connelley *et al.* (2014) ont récemment identifié des PBMC (Cellules mononucléées du sang périphérique) CD3+NKp46+CD8+ dans du sang périphérique chez les bovins. Les auteurs ont montré que ces cellules, appelées NKT, répondent au récepteur des lymphocytes T (TCR) et au récepteur des cellules NK (NKR), et possèdent un vaste répertoire de TCR, contrairement aux cellules NKT conventionnelles. Il est donc probable que les cellules CD45+ NKp46+ CD8+ identifiées par Vasudevan *et al.* (2017) fassent partie de cette famille de NKT atypique.

A 17 jours de gestation chez la vache, *in vivo*, l'augmentation du nombre de cellules CD45+ NKp46+ et/ou CD8+ s'accompagne d'une augmentation de la concentration en ARNm de granzyme A puis d'une diminution à 20 jours de gestation (Vasudevan *et al.*, 2017). Les granzymes A sont des protéases libérées par les cellules cytotoxiques et qui lysent leur cible, provoquant son apoptose. Cette augmentation peut être due à une stimulation par l'IFN τ , connu pour augmenter l'activité et la cytotoxicité des cellules NK *in vitro* chez les ovins (Tuo *et al.*, 1993 ; Tekin et Hansen, 2002). Or, une libération excessive de protéases pourrait représenter un risque pour la gestation. Nous verrons par la suite qu'il existe des mécanismes de régulation des lymphocytes effecteurs.

Ces cellules lymphoïdes sont localisées dans les différentes régions de l'endomètre. Ainsi, Vasudevan *et al.* (2017) ont constaté que 50 % des cellules CD45+ étaient situées dans l'épithélium luminal et le stroma superficiel. Meeusen *et al.* (1993) ont observé que les cellules CD8+ étaient situées dans l'épithélium luminal, et que 25 % d'entre elles étaient des lymphocytes intra épithéliaux $\gamma\delta+$. La présence de LT $\gamma\delta+$ dans l'endomètre entre 5 et 16 jours de gestation a été confirmée par Oliveira *et al.* (2013a). Enfin, des cellules CD4+ sont également présentes, et situées dans le stroma (Meeusen *et al.*, 1993 ; Ott *et al.*, 2014).

En conclusion, la sécrétion d'IFN τ par l'embryon attire des polynucléaires neutrophiles mais réduit dans le même temps leur activité de phagocytose. Les polynucléaires neutrophiles participent à l'adhésion et l'implantation de l'embryon. L'IFN τ attire également des LT (essentiellement CD8+ et $\gamma\delta+$) et les cellules NK situées dans l'épithélium luminal et stroma. Une nouvelle catégorie de cellules, répondant au TCR et au NKR, les cellules NKT ont été mises en évidence. Certaines

cellules de la lignée lymphoïde produisent des granzymes et constituent donc un risque pour la gestation. Le rôle de ces cellules est pour l'instant inconnu.

Voyons à présent comment le système immunitaire est régulé pour permettre la tolérance de l'embryon, et si le modèle Th1/Th2/Treg est applicable aux ruminants.

D. Les lymphocytes T régulateurs sont activés et les lymphocytes T effecteurs sont inhibés

1. Le nombre de lymphocytes T régulateurs augmente pendant la période embryonnaire

Chez la vache, plusieurs éléments suggèrent que les lymphocytes Treg sont présents en plus grand nombre dans l'endomètre et dans la circulation, pendant la gestation. Ainsi, la quantité d'ARNm d'IL10 est plus élevée dans les cellules CD45+ de l'endomètre chez les vaches gestantes de 17 à 20 jours que chez les vaches cyclées entre 17 et 20 jours du cycle (Vasudevan *et al.*, 2017 ; Mohapatra *et al.*, 2020). D'autres études affirment que cette augmentation a lieu dès 13 jours de gestation chez la vache (Oliveira *et al.*, 2013a). Or, IL10 est une cytokine produite par les LTreg. Il convient de se demander quelle est l'importance des LTreg lors de la gestation chez les ruminants et quels sont les mécanismes en jeu dans leur régulation.

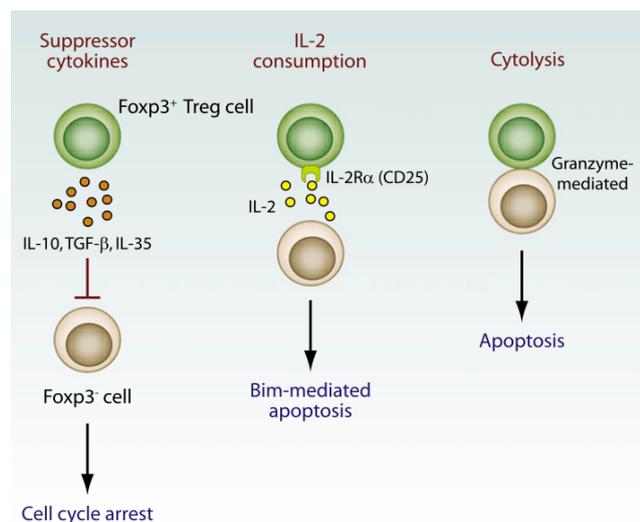
Dans le sang périphérique, Oliveira *et al.* (2008) ont observé une augmentation du nombre de cellules T CD24+ CD25+ à 33-34 jours de gestation chez la vache. Le CD25 est un marqueur des LTreg. Parallèlement, Oliveira *et al.* (2008) ont observé une augmentation du nombre de LTreg dans l'utérus à 33-34 jours de gestation, soit au début de l'implantation. Cette augmentation n'a pas été constatée à un stade précoce (entre 5 et 16 jours de gestation) (Oliveira *et al.*, 2013a). Ceci suggère que les lymphocytes circulants maternels sont redirigés vers l'utérus. Néanmoins, il n'existe pas encore d'anticorps anti-FOXP3 (*Forkhead Transcription factor*) bovin pouvant être utilisés lors d'expérience de marquage (Oliveira et Hansen, 2008). On ignore donc encore si tout ou partie des cellules CD24+ CD25+ sont des LTreg.

Chez la femme et la souris, pendant la gestation, on observe une augmentation dans le sang périphérique d'une sous-population de LT CD24+ CD25+ qui exprime le facteur de transcription FOXP3 (Oliveira et Hansen, 2008). Or, la protéine FOXP3 est un marqueur des LTreg chez l'homme (Shevach, 2009). Ces cellules ont été identifiées comme étant des LTreg sécréteurs d'IL4 et inhibiteurs des LT cytotoxiques (Mjösberg *et al.*, 2007). De plus, il a été observé chez des femmes présentant des avortements récurrents et spontanés une diminution du nombre de cellules CD24+ CD25+ parmi les PBMC. Ceci suggère l'importance des LTreg lors de la gestation.

La figure 18 présente comment les LT FOXP3+ bloque les autres cellules immunitaires, et de ce fait, induisent une réponse tolérogène.

Figure : Mécanisme de blocage des cellules FOXP3- par les LT FOXP3+ (Shevach, 2009).

A gauche : la libération des cytokines du LTreg bloque le cycle cellulaire. Au centre : l'expression de récepteurs à l'IL2 (CD 25) à la surface des LTreg prive les cellules de la voie Th1 de cytokines informatrices. A droite : les LTreg peuvent agir comme des cellules cytotoxiques.



2. La régulation des lymphocytes repose sur une interaction ligand-récepteur

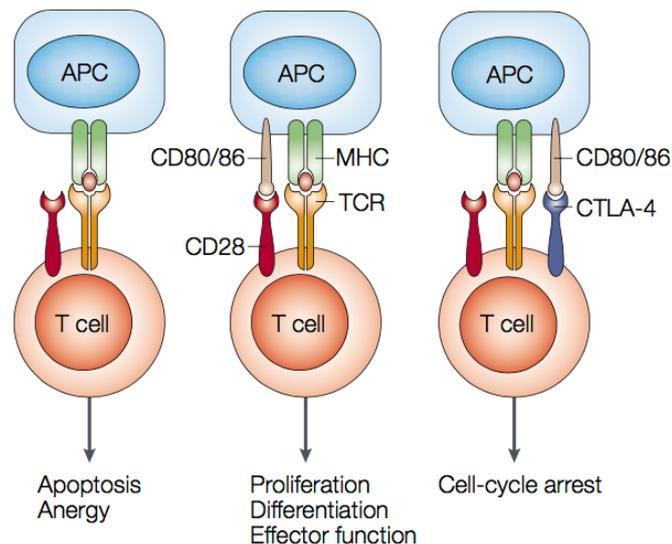
L'activation des LT passe par l'interaction avec une cellule présentatrice d'antigènes (CPA). Deux signaux doivent être présents simultanément (Alegre *et al.*, 2001) :

- La liaison du CMH-II de la CPA avec le récepteur du LT.
- La liaison du CD80 (aussi appelé B7-1) ou du CD86 (aussi appelé B7-2) de la CPA avec le CD28 du LT. Le CD80 et le CD86 sont appelés des molécules de co-stimulation.

Plusieurs récepteurs inhibiteurs ont été mis en évidence sur des LT : CTLA4 (*Cytotoxic T-lymphocyte Antigen 4*) (aussi appelé CD152), PD1 (*Programmed Cell Death protein 1*) et KIR (*Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor*) (Alegre *et al.*, 2001) (Figure 19).

Figure 18: Fonctionnement de l'interaction entre la cellule présentatrice d'antigène et le lymphocyte T (Alegre *et al.*, 2001).

Au centre : la reconnaissance simultanée du CMH-II par le TCR et du CD80/86 par le CD28 entraîne l'activation du LT (production de cytokines, différenciation, prolifération). A gauche : en l'absence de liaison avec le CD28, le LT entre en apoptose ou en anergie. A droite : la costimulation du TCR et du CTLA4 bloque le cycle cellulaire.



Nous aborderons dans un premier temps le mode d'action de ces inhibiteurs, en s'appuyant sur des données chez la femme ou la souris, puis nous nous intéresserons aux données chez la vache.

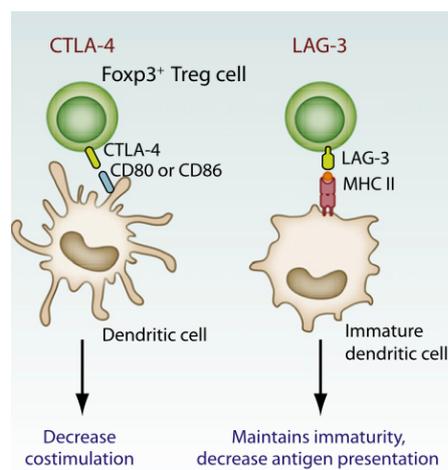
a. Mode d'action des inhibiteurs des lymphocytes T (CTLA4, LAG3 et PDL1)

Le récepteur CTLA4 est le mieux étudié chez l'homme. Ce récepteur a un taux de ressemblance de 30 % avec le CD28 et une plus grande affinité pour le CD80/86 (Alegre *et al.*, 2001).

Chez l'homme et la souris, la stimulation du CTLA4 du LTreg avec les récepteurs de la cellule dendritique inhibe l'activation des LT effecteurs en réduisant la production d'IL2, et en bloquant les LT en phase G1 du cycle cellulaire (Alegre *et al.*, 2001). Cette désactivation du LT s'appelle l'anergie (Figure 21).

La protéine LAG3 (*Lymphocyte Activation gene 3*) est une protéine transmembranaire liée au CD4 et qui est exprimée par les cellules NK et les lymphocytes T (essentiellement les LTreg). La protéine LAG3 se lie au CMH-II présent à la surface des CPA (notamment les cellules dendritiques) (Liang *et al.*, 2008). Chez la souris, il a été montré que la liaison de LAG3 au CMH-II présent sur les LT inhibe le TCR et la production d'IL-2 (Liang *et al.*, 2008), et inhibe les LT CD8+ (Grosso *et al.*, 2007). Dans des cellules dendritiques immatures, LAG3 bloque la maturation de ces cellules (Figure 20) (Shevach, 2009). CTLA4 et LAG3 inhibent la production d'IL2 et inhibent donc la réponse Th1.

Figure 19: Mécanisme de blocage des CPA par les LTreg via les protéines CTLA4 (à gauche) et LAG3 (à droite) (Shevach, 2009).



Le PDL1 (*Programmed Death-Ligand 1*) (aussi appelé CD274 ou B7-H1) est une protéine membranaire présente à la surface des CPA qui interagit avec le récepteur PD1 présent à la surface des LT et LB activés. Chez la souris, cette interaction entraîne une inhibition du TCR et de la production d'IL2, et favorise la production d'IL10 (Selenko-Gebauer *et al.*, 2003). La stimulation du couple PD1-PDL1 favorise la réponse Th2/Treg.

b. Evolution des inhibiteurs des lymphocytes T pendant la gestation chez la vache

Chez la vache, entre 17 et 20 jours de gestation, les gènes PDL1 et LAG3 sont plus exprimés que chez les vaches cyclées à 17 ou 20 jours de leur cycle (18 fois plus pour PDL1) dans le parenchyme utérin et dans les cellules immunitaires (Vasudevan *et al.*, 2017). De plus, la protéine CTLA4 est également présente en plus grande quantité dans ces deux sites.

Il est intéressant de noter que le promoteur du gène PDL1 possède un ISRE sur lequel se fixe IRF1. La stimulation du promoteur par l'IFN γ via les voies JAK-STAT ou PI3K a été montrée chez la souris dans différents types cellulaires (Lee *et al.*, 2006), mais pas chez la vache. Néanmoins, la stimulation du gène PDL1 par l'IFN τ est envisageable.

Par analogie avec la femme et la souris, on peut supposer que l'augmentation de la synthèse de ces protéines dans l'endomètre en période péri-implantatoire entraîne :

- une diminution de la production d'IL2, une cytokine de la réponse Th1 pro-inflammatoire,
- une augmentation de la production d'IL10, une cytokine immunomodulatrice,
- et l'anergie des LT.

3. Les macrophages inhibent la prolifération des LT : la protéine IDO1

À 17 jours de gestation, il est observée une augmentation de la quantité d'ARNm de IDO1 (*Indoleamine 2,3-Dioxygenase-1*), une enzyme produite par les macrophages et les cellules dendritiques et qui catalyse la transformation du L-tryptophane en N-formylkurenine (Groebner *et al.*, 2011 ; Mohapatra *et al.*, 2020). Or, il a été montré que la synthèse de la protéine IDO1 est sous influence d'interféron (IDO1 est connu pour être stimulé par l'IFN γ , mais probablement également par l'IFN τ) (Groebner *et al.*, 2011 ; Kamat *et al.*, 2016 ; Mathew *et al.*, 2019 ; Mohapatra *et al.*, 2020). Puis à 20 jours de gestation, la concentration en ARNm d'IDO1 diminue, ce qui peut être dû à l'inhibition par l'IRF2 (Spencer *et al.*, 2008 ; Kamat *et al.*, 2016).

Or, plusieurs études ont montré le lien entre IDO1 et l'inhibition de la prolifération des LT dans d'autres espèces :

- La culture de macrophages et de cellules dendritiques humaines exprimant IDO1 inhibe la prolifération de LT *in vitro* (Lee *et al.*, 2002).
- Dans des cellules endométriales murines, des concentrations faibles en tryptophane inhibent la prolifération des LT *in vitro* et *in vivo*. En l'absence de tryptophane, les lymphocytes T entrent en phase G1 du cycle cellulaire, mais ne passent pas en phase S. Ce

blocage du cycle cellulaire active la voie Fas de l'apoptose cellulaire (Munn *et al.*, 1999 ; Lee *et al.*, 2002).

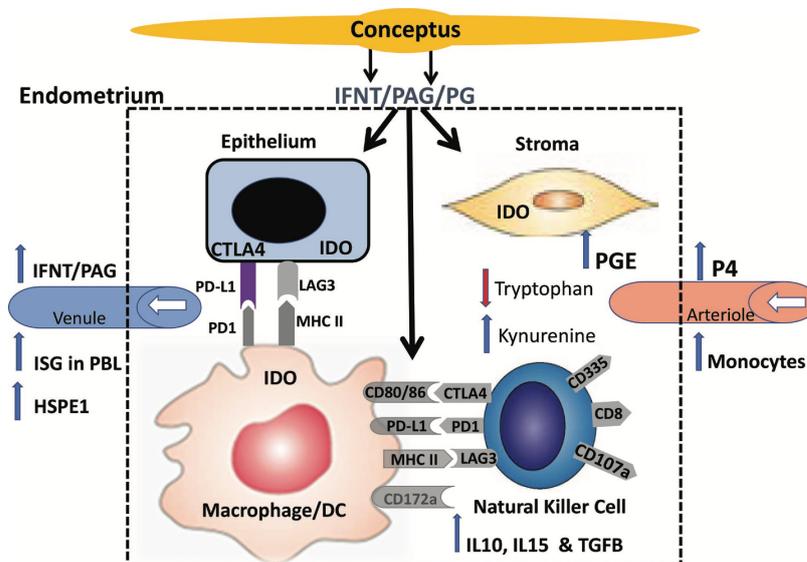
- Certaines cellules dendritiques CD11c⁺ de la rate utilisent le catabolisme du tryptophane pour supprimer l'activité des lymphocytes T *in vivo* induite par la présence de peptides associés à des tumeurs (Lee *et al.*, 2002).

- Chez la souris, le N-formylkurenine, en présence de TGFβ, active le facteur de transcription AHR (*Aryl Hydrocarbon Receptor*), permettant ainsi la différenciation des LTh0 en LTreg CD25⁺ FOXP3⁺ producteur d'IL10 (Gandhi *et al.*, 2010 ; Mezrich *et al.*, 2010).

Ces résultats suggèrent que l'IFNτ participe à l'inhibition des LTh et à l'activation des LTreg par une modification du métabolisme du tryptophane. Mais ce mécanisme n'a pas encore été étudié chez les ruminants.

La figure 21 récapitule les mécanismes de régulation des cellules immunitaires lors de la gestation chez les ruminants évoqués dans cette partie.

Figure 20: Interactions ligand-récepteur entre cellules immunitaires et épithéliales, sous l'influence de l'IFNτ (Ott, 2019).



4. La famille des galectines (LGALS)

Les galectines (LGALS) sont des protéines de la famille des léctines. Il existe plusieurs galectines (la liste qui suit est non exhaustive) : LGALS1 (homme, souris, ruminants), LGALS3 (homme), LGALS3BP (ruminants), LGALS9 (hommes, ruminants), LGALS15 (ruminants) (Forde *et al.*, 2011). Les galectines sont exprimées par différents types cellulaires, y compris par le

trophoblaste. Elles sont impliquées dans l'élongation et l'adhésion du trophoblaste (LGALS15) (Lewis *et al.*, 2007) ou la modulation du système immunitaire (LGALS1, 3, 9). Nous ne traiterons ici que de cette dernière catégorie.

Chez la souris, LGALS1 réprime la réponse Th1 et Th17, favorisant ainsi la réponse Th2 (Blois *et al.*, 2007). Elle entraîne également le recrutement de cellules dendritiques immatures tolérogènes et inhibe leur migration aux nœuds lymphatique (évitant de fait l'activation des LT), favorise la production d'IL10 par les LTreg (Blois *et al.*, 2007), et entraîne l'apoptose des LT CD4+ (Okumu *et al.*, 2011). De plus, il a été montré que chez la souris, l'expression de LGALS1 est progestérone et œstrogène-dépendant (Okumu *et al.*, 2011). En effet, certains gènes de la famille des galectines (LGALS9, LGALS15) sont connus pour être des ISG non classiques progestérone-dépendant.

Or, la quantité d'ARNm de LGALS1 est plus faible chez les vaches à 17 jours de gestation que chez les vaches cyclées à 17 jours de leur cycle (Vasudevan *et al.*, 2017). Il apparaît donc que ce mécanisme soit peu impliqué dans la régulation des LT chez les ruminants.

LGALS3 est, au contraire de LGALS1, une galectine favorisant la réponse Th1. Elle est sécrétée par l'épithélium luminal (Okumu *et al.*, 2011). Une hausse du taux d'avortement a été constatée chez des souris ayant des taux élevés de LGALS3 et des taux faibles de LGALS1. Chez la vache, des taux élevés de LGALS1 et faibles de LGALS3 ont été mis en évidence pendant la période embryonnaire (Okumu *et al.*, 2011), favorisant ainsi la réponse Th2/Treg. LGALS3 a été localisé chez la vache dans le LE en début de gestation (Kim *et al.*, 2008).

LGALS9 est une galectine également impliquée dans la réponse Th2. En effet, chez la souris, LGALS9 se lie à la protéine Tim-3, une protéine membranaire spécifique des cellules de la réponse Th1, entraînant une inhibition de la réponse Th1 (Blois *et al.*, 2007). Chez la vache, LGALS9 est exprimé dans l'épithélium luminal et glandulaire, tout comme LGALS15 (Okumu *et al.*, 2011). Comme LGALS9 et 15 sont également impliquées dans l'adhésion du trophoblaste au moment de l'implantation, on peut supposer que la réponse Th2 a une importance à ce moment de la gestation. Par ailleurs, chez la vache, la quantité d'ARNm LGALS9 est significativement plus élevée à 16 jours de gestation dans l'endomètre comparé à des vaches à 16 jours de leur cycle (Okumu *et al.*, 2011). Or, c'est à 16 jours de gestation qu'a lieu le pic d'IFN τ . Etant donné que cette augmentation est insensible à la progestérone, cela suppose une régulation par l'IFN τ seul (Okumu *et al.*, 2011).

En conclusion, le nombre de LTreg augmente en période péri-implantatoire. Les récepteurs présents à la surface des LTreg induisent l'anergie des LT en bloquant le cycle cellulaire, bloquent

la maturation des CPA, et inhibent la production d'IL2 impliquée dans la réponse Th1. Les macrophages participent également à l'inhibition des LTh, en modifiant le métabolisme du tryptophane, acide aminé nécessaire au fonctionnement des LT. Les galectines sont des protéines produites, entre autres, par le trophoblaste, inhibant la réponse Th1 et favorisant la réponse Th2/Treg. Pour l'ensemble de ces mécanismes, une stimulation directe par l'IFN τ n'a cependant pas été prouvée, mais la présence d'ISRE sur certains gènes ou l'augmentation de l'activité de certaines protéines conjointement à une augmentation de la quantité d'IFN τ semble aller dans le sens d'une stimulation interféron-dépendante.

E. L'IFN τ stimule la sécrétion de cytokines chimio-attractantes

1. La famille des chimiokines

Les chimiokines, ou cytokines chimio-attractantes, constituent une famille de polypeptides pro-inflammatoires. Ces protéines sont impliquées dans l'angiogenèse, la chimiotaxie des leucocytes, l'initiation et la surveillance de la réponse immunitaire adaptative (Glauca Teixeira *et al.*, 1997 ; Shirasuna *et al.*, 2012 ; Mathew *et al.*, 2019).

La structure des polypeptides est composée, entre autres, de 4 résidus de cystéine. Cette famille a été divisée en fonction de la présence ou de l'absence d'un acide aminé entre les deux premiers résidus de cystéines : C-X-C (chimiokine α) ou C-C (chimiokine β) (Glauca Teixeira *et al.*, 1997).

De nombreuses chimiokines ont été identifiées chez les ruminants (liste non exhaustive) (Oliveira *et al.*, 2013b ; Sakumoto *et al.*, 2017) :

- CCL2 (aussi appelé MCP1), CCL8 (aussi appelé MCP2), CCL11, CCL14 et CCL16,
- CXCL9, CXCL10 (aussi appelé IP-10), CXCL11 et CXCL12,
- bGCP-2.

2. La stimulation par l'IFN τ

L'IFN τ augmente l'expression des chimiokines CCL8, CXCL9, CXCL10 et CXCL11 par l'endomètre chez la vache (Sakumoto *et al.*, 2017). Des résultats similaires ont été observés chez la brebis à 14 jours de gestation, dans l'endomètre caronculaire, après stimulation avec de l'IFN τ et de l'IFN γ (Shirasuna *et al.*, 2012). Chez la vache, l'expression des chimiokines CCL2, CCL8, CCL11,

CCL14, CCL16, et CXCL10 est augmentée entre 15 et 18 jours de gestation. A 18 jours de gestation, les récepteurs CCR1, CCR2, CCR3 et CXCR3 sont exprimés dans l'épithélium luminal et glandulaire, ainsi que dans les cellules du trophoblaste (Sakumoto *et al.*, 2017).

L'IFN τ stimule également la sécrétion de bGCP-2 par les cellules endométriales (Glaucia Teixeira *et al.*, 1997 ; Binelli *et al.*, 2001).

Quelle est la fonction de ces chimiokines pendant la période embryonnaire ?

3. Les chimiokines attirent les polynucléaires et les lymphocytes

L'adjonction d'un milieu de culture obtenu après stimulation de caroncules ovines par de l'IFN τ à des leucocytes de sang périphérique a montré un chimiotactisme positif du milieu de culture sur les leucocytes. L'ajout d'un anticorps anti-CXCL10 bloque cet effet. On peut donc supposer que les chimiokines sécrétées par l'endomètre en réponse à l'IFN τ régulent les cellules immunitaires de l'endomètre (Shirasuna *et al.*, 2012).

Il a d'ailleurs été montré que le bGCP-2 exerce un chimiotactisme positif sur les granulocytes. L'afflux de granulocytes permettrait de contrôler l'inflammation qui a lieu lors de l'implantation (Glaucia Teixeira *et al.*, 1997).

Chez la brebis, CCL2 entraîne le recrutement de granulocytes éosinophiles dans l'épithélium luminal. Chez la vache, cette chimiokine est exprimée dans l'épithélium et le stroma, mais cela ne s'accompagne pas d'un afflux d'éosinophiles (Oliveira *et al.*, 2013a).

Le récepteur CXCR3 (récepteur des chimiokines CCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11) est préférentiellement exprimé sur les cellules Th1. L'augmentation de la sécrétion de chimiokines pourrait être une réponse à l'arrivée de cellules Th1 dans l'utérus (Walker *et al.*, 2010).

4. Les chimiokines ont un effet pro-gestationnel

CCL16 stimule l'expression d'ISG15 et de MX1 dans les cellules de l'épithélium luminal après fixation sur son récepteur (CCR1 et CCR2) (Sakumoto *et al.*, 2017). Or ISG15 et MX1 sont impliqués dans le processus d'implantation de l'embryon. Cet effet indirect de l'IFN τ a été décrit par Manjari *et al.* (2018), et favorise l'adhésion du trophoblaste à l'endomètre.

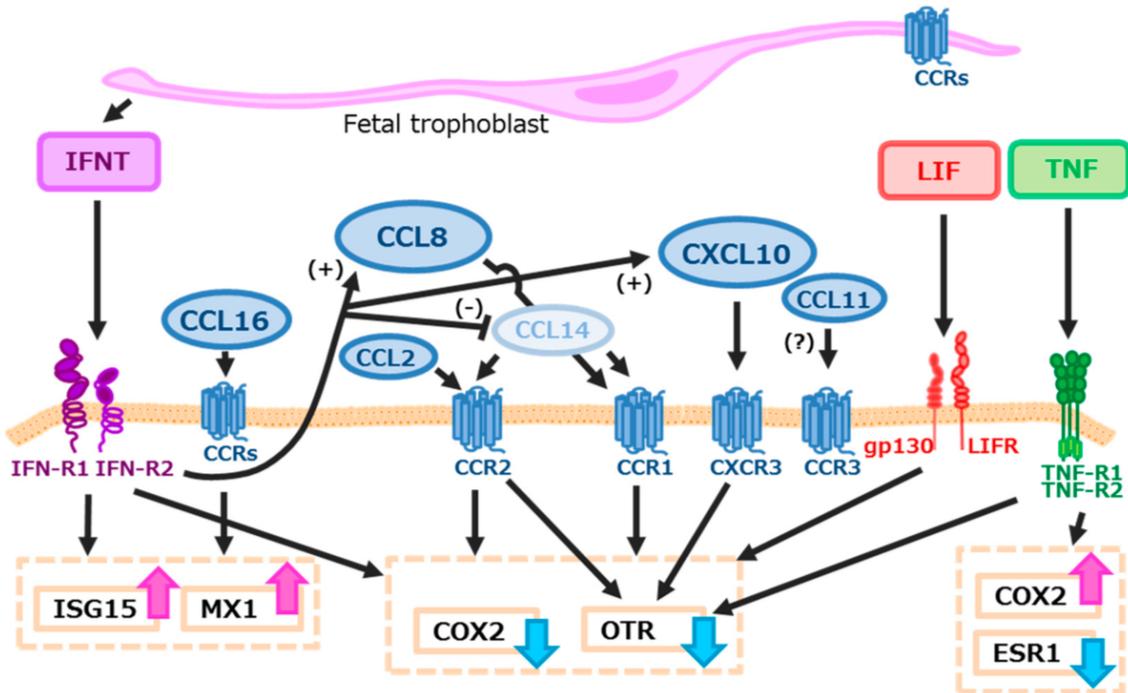
Par ailleurs, CCL2 et CCL8 diminuent l'expression de COX2 (PTGS2) et CCL8 diminue également l'expression des OXTR. CCL2 et CCL8 inhibent donc la production de PGF2 α , ce qui a

un effet pro-gestationnel (Sakumoto *et al.*, 2017).

L'ensemble des mécanismes permis par les chimiokines est illustré dans la figure 22.

Figure 21: Action de l'IFN τ et des chimiokines sur l'expression des ISG (Sakumoto *et al.*, 2017).

Les chimiokines entraînent l'inhibition de l'expression de COX2 et du récepteur à l'ocytocine (OTR), permettant ainsi la diminution de la synthèse de PGF2 α .



En conclusion, l'IFN τ stimule la sécrétion de chimiokines, en plus des cytokines de la réponse Th1/Th2/Treg. Ces chimiokines attirent les leucocytes vers l'endomètre. L'origine de ces leucocytes reste à déterminer. Ces leucocytes se différencient ensuite en LTh1, LTh2 ou LTreg en fonction de leur interaction avec d'autres cellules de l'immunité et des molécules circulant dans la lumière utérine ou dans l'espace interstitiel. Les chimiokines contribuent également au maintien de la production de progestérone (en contribuant à l'inhibition de la lutéolyse), hormone dont certains ISG sont dépendant pour leur activation.

Conclusion

L'IFN τ active plusieurs voies de signalisation dans les cellules de l'endomètre au cours du développement embryonnaire. Ces voies de transduction peuvent être classiques ou non classiques, dépendantes ou non de la progestérone. L'IFN τ permet ainsi la régulation de gènes appelés ISG. Pour un même ISG, cette régulation peut varier en fonction du stade de gestation et de la localisation de la cellule qui l'exprime. Parmi ces gènes, on trouve les gènes du CMH classique, qui sont inhibés dès 14 jours de gestation, permettant ainsi de diminuer les réactions embryomaternelles au moment de la placentation, mais aussi des gènes impliqués dans l'élongation, l'adhésion du trophoblaste ou la suite de l'implantation.

L'IFN τ exerce par ailleurs un chimiotactisme positif sur les leucocytes dans l'endomètre, en particulier les LT, les LTreg, les cellules NK, les PNN et les macrophages. Les LTreg sont activés, favorisant ainsi une réponse tolérogène. La régulation des LT dépend d'un dialogue moléculaire, en partie dépendant de l'IFN τ , entre LT et CPA (activation de récepteurs inhibiteurs), de la libération de chimiokines, de modifications du métabolisme du tryptophane, d'expression de gènes immunomodulateurs comme les galectines. Si le paradigme Th1/Th2/Treg est admis chez la femme et la souris, il semble également valable pour les ruminants, bien que le doute soit toujours d'actualité.

Récemment, un nouveau signal embryonnaire a été mis en évidence chez les ruminants : le PIF (*Preimplantation factor*). Chez la femme et la souris, le PIF diminue l'activité des cellules NK, module l'expression de certaines interleukines et diminue l'inflammation au moment de l'implantation. Néanmoins, il n'existe à ce jour que deux études évoquant son rôle chez les ruminants pendant la gestation (Stamatkin *et al.*, 2011 ; Wonfor *et al.*, 2017).

Les modifications immunologiques liées à la gestation ont été moins étudiées chez les ruminants que dans d'autres espèces telles la souris ou l'espèce humaine. Il reste ainsi plusieurs voies très peu explorées chez les ruminants, comme la voie du complément et les voies non classiques de l'interféron qui ont été étudiées chez la souris. De même, il a été observé chez la femme que les cellules souches mésenchymateuses avaient des actions immunomodulatrices, mais aucune étude n'a été réalisée chez les ruminants à ce jour.

Liste des références bibliographiques

- ALEGRE M.-L., FRAUWIRTH K.A., THOMPSON C.B. (2001) T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nat. Rev. Immunol.* 1(3), 220-228
- ALGHAMDI A.S., FOSTER D.N., TROEDSSON M.H.T. (2004) Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction* 127(5), 593-600
- ALGHAMDI A.S., LOVAAS B.J., BIRD S.L., *et al.* (2009) Species-specific interaction of seminal plasma on sperm–neutrophil binding. *Anim. Reprod. Sci.* 114(4), 331-344
- ALOÉ S., WEBER F., BEHR B., SAUTER-LOUIS C., ZERBE H. (2012) Modulatory Effects of Bovine Seminal Plasma on Uterine Inflammatory Processes: Effects of Seminal Plasma on Uterine Inflammations. *Reprod. Domest. Anim.* 47(1), 12-19
- ARCK P.C., FERRICK D.A., STEELE-NORWOOD D., CROITORU K., CLARK D.A. (1997) Murine T Cell Determination of Pregnancy Outcome: I. Effects of Strain, $\alpha\beta$ T Cell Receptor, $\gamma\delta$ T Cell Receptor, and $\gamma\delta$ T Cell Subsets. *Am. J. Reprod. Immunol.* 37(6), 492-502
- AROSH J.A., BANU S.K., MCCRACKEN J.A. (2016) Novel concepts on the role of prostaglandins on luteal maintenance and maternal recognition and establishment of pregnancy in ruminants. *J. Dairy Sci.* 99(7), 5926-5940
- BANU S.K., LEE J., STEPHEN S.D., NITHY T.K., AROSH J.A. (2010) Interferon Tau Regulates PGF2 α Release from the Ovine Endometrial Epithelial Cells via Activation of Novel JAK/EGFR/ERK/EGR-1 Pathways. *Mol. Endocrinol.* 24(12), 2315-2330
- BAZER F., SPENCER T., JOHNSON G. (2009) Interferons and Uterine Receptivity. *Semin. Reprod. Med.* 27(01), 090-102
- BINELLI M., SUBRAMANIAM P., DIAZ T., *et al.* (2001) Bovine Interferon-t Stimulates the Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription Pathway in Bovine Endometrial Epithelial Cells. *Biol. Reprod.* 64(2), 654-665
- BLOIS S.M., ILARREGUI J.M., TOMETTEN M., *et al.* (2007) A pivotal role for galectin-1 in fetomaternal tolerance. *Nat. Med.* 13(12), 1450-1457
- BROMFIELD J.J., SCHJENKEN J.E., CHIN P.Y., *et al.* (2014) Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111(6), 2200-2205
- CHOI Y., JOHNSON G.A., BURGHARDT R.C., *et al.* (2001) Interferon Regulatory Factor-Two Restricts Expression of Interferon-Stimulated Genes to the Endometrial Stroma and Glandular Epithelium of the Ovine Uterus1. *Biol. Reprod.* 65(4), 1038-1049
- CHOI Y., JOHNSON G.A., SPENCER T.E., BAZER F.W. (2003) Pregnancy and Interferon Tau Regulate

- Major Histocompatibility Complex Class I and β 2-Microglobulin Expression in the Ovine Uterus¹. *Biol. Reprod.* 68(5), 1703-1710
- CLARK D.A., CROITORU K. (2001) TH1/TH2,3 Imbalance due to Cytokine-Producing NK, $\gamma\delta$ T and NK- $\gamma\delta$ T Cells in Murine Pregnancy Decidua in Success or Failure of Pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 45(5), 257-265
- CONNELLEY T.K., LONGHI C., BURRELLS A., *et al.* (2014) NKp46⁺ CD3⁺ Cells: A Novel Nonconventional T Cell Subset in Cattle Exhibiting Both NK Cell and T Cell Features. *J. Immunol.* 192(8), 3868-3880
- DORNIK P., BAZER F.W., SPENCER T.E. (2011) Prostaglandins Regulate Conceptus Elongation and Mediate Effects of Interferon Tau on the Ovine Uterine Endometrium¹. *Biol. Reprod.* 84(6), 1119-1127
- DOUALLA-BELL F., KOROMILAS A.E. (2001) Induction of PG G/H Synthase-2 in Bovine Myometrial Cells by Interferon- τ Requires the Activation of the p38 MAPK Pathway. *Endocrinology* 142(12), 5107-5115
- DOYLE J., ELLIS S.A., O'GORMAN G.M., *et al.* (2009) Classical and non-classical Major Histocompatibility Complex class I gene expression in in vitro derived bovine embryos. *J. Reprod. Immunol.* 82(1), 48-56
- DREW P.D., LONERGAN M., GOLDSTEIN M.E., *et al.* (1993) Regulation of MHC class I and beta 2-microglobulin gene expression in human neuronal cells. Factor binding to conserved cis-acting regulatory sequences correlates with expression of the genes. *J. Immunol.* 150(8 Pt 1), 3300-3310
- DREW P.D., FRANZOSO G., BECKER K.G., *et al.* (1995) NF κ B and Interferon Regulatory Factor 1 Physically Interact and Synergistically Induce Major Histocompatibility Class I Gene Expression. *J. Interferon Cytokine Res.* 15(12), 1037-1045
- ELWEZA A.E., EZZ M.A., ACOSTA T.J., *et al.* (2018) A proinflammatory response of bovine endometrial epithelial cells to active sperm in vitro. *Mol. Reprod. Dev.* 85(3), 215-226
- FLEMING J.-A.G.W., CHOI Y., JOHNSON G.A., SPENCER T.E., BAZER F.W. (2001) Cloning of the Ovine Estrogen Receptor- α Promoter and Functional Regulation by Ovine Interferon- τ . *Endocrinology* 142(7), 2879-2887
- FORDE N., CARTER F., SPENCER T.E., *et al.* (2011) Conceptus-Induced Changes in the Endometrial Transcriptome: How Soon Does the Cow Know She Is Pregnant?¹. *Biol. Reprod.* 85(1), 144-156
- FORDE N., LONERGAN P. (2012) Transcriptomic Analysis of the Bovine Endometrium: What is Required to Establish Uterine Receptivity to Implantation in Cattle? *J. Reprod. Dev.* 58(2), 189-195
- GANDHI R., KUMAR D., BURNS E.J., *et al.* (2010) Activation of the aryl hydrocarbon receptor induces human type 1 regulatory T cell-like and Foxp3⁺ regulatory T cells. *Nat. Immunol.* 11(9), 846-853
- GLAUCIA TEIXEIRA M., AUSTIN K.J., PERRY D.J., *et al.* (1997) Bovine granulocyte chemotactic protein-2 is secreted by the endometrium in response to interferon-tau (IFN- τ). *Endocrine* 6(1), 31-37
- GROEBNER A.E., SCHULKE K., SCHEFOLD J.C., *et al.* (2011) Immunological mechanisms to establish

embryo tolerance in early bovine pregnancy. *Reprod. Fertil. Dev.* 23(5), 619

GROSSO J.F., KELLEHER C.C., HARRIS T.J., *et al.* (2007) LAG-3 regulates CD8⁺ T cell accumulation and effector function in murine self- and tumor-tolerance systems. *J. Clin. Invest.* 117(11), 3383-3392

GUERIN L.R., MOLDENHAUER L.M., PRINS J.R., *et al.* (2011) Seminal Fluid Regulates Accumulation of FOXP3⁺ Regulatory T Cells in the Preimplantation Mouse Uterus Through Expanding the FOXP3⁺ Cell Pool and CCL19-Mediated Recruitment¹. *Biol. Reprod.* 85(2), 397-408

GUILLOMOT M., BETTERIDGE K.J., HARVEY D., GOFF A.K. (1986) Endocytotic activity in the endometrium during conceptus attachment in the cow. *Reproduction* 78(1), 27-36

GUILLOMOT M. (1995) Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. *J. Reprod. Fertil.* 49, 39-51

HANSEN T.R., SINEDINO L.D.P., SPENCER T.E. (2017a) Paracrine and endocrine actions of interferon tau (IFNT). *Reproduction* 154(5), F45-F59

HANSEN T.R., SINEDINO L.D.P., SPENCER T.E. (2017b) Paracrine and endocrine actions of interferon tau (IFNT). *Reproduction* 154(5), F45-F59

HOCH R.C., SCHRAUFSTÄTTER I.U., COCHRANE C.G. (1996) In vivo, in vitro, and molecular aspects of interleukin-8 and the interleukin-8 receptors. *J. Lab. Clin. Med.* 128(2), 134-145

HOSKINS E.C., HALLORAN K.M., STENHOUSE C., *et al.* (2021) Pre-implantation exogenous progesterone and pregnancy in sheep: I. polyamines, nutrient transport, and progestamedins. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 12(1), 39

HOSSEINI A., DOLATI S., HASHEMI V., ABDOLLAHPOUR-ALITAPPEH M., YOUSEFI M. (2018) Regulatory T and T helper 17 cells: Their roles in preeclampsia. *J. Cell. Physiol.* 233(9), 6561-6573

IBRAHIM L.A., RIZO J.A., FONTES P.L.P., LAMB G.C., BROMFIELD J.J. (2019) Seminal plasma modulates expression of endometrial inflammatory mediators in the bovine[†]. *Biol. Reprod.* 100(3), 660-671

IVASHKIV L.B., DONLIN L.T. (2014) Regulation of type I interferon responses. *Nat. Rev. Immunol.* 14(1), 36-49

JOHNSON G.A., AUSTIN K.J., COLLINS A.M., MURDOCH W.J., HANSEN T.R. (1999) Endometrial ISG17 mRNA and a related mRNA are induced by interferon-tau and localized to glandular epithelial and stromal cells from pregnant cows. *Endocrine* 10(3), 243-252

JOHNSON G.A., STEWART M.D., ALLISON GRAY C., *et al.* (2001) Effects of the Estrous Cycle, Pregnancy, and Interferon Tau on 2',5'-Oligoadenylate Synthetase Expression in the Ovine Uterus¹. *Biol. Reprod.* 64(5), 1392-1399

KAMAT M.M., VASUDEVAN S., MAALOUF S.A., *et al.* (2016) Changes in Myeloid Lineage Cells in the Uterus and Peripheral Blood of Dairy Heifers During Early Pregnancy. *Biol. Reprod.* 95(3), 68-68

KIM M., KIM S., KIM Hwanglyong, *et al.* (2008) Immunohistochemical localization of galectin-3 in the

reproductive organs of the cow. *Acta Histochem.* 110(6), 473-480

LEE G.K., PARK H.J., MACLEOD M., *et al.* (2002) Tryptophan deprivation sensitizes activated T cells to apoptosis prior to cell division. *Immunology* 107(4), 452-460

LEE S.-J., JANG B.-C., LEE S.-W., *et al.* (2006) Interferon regulatory factor-1 is prerequisite to the constitutive expression and IFN- γ -induced upregulation of B7-H1 (CD274). *FEBS Lett.* 580(3), 755-762

LEE J., BANU S.K., NITHY T.K., STANLEY J.A., AROSH J.A. (2012) Early pregnancy induced expression of prostaglandin E2 receptors EP2 and EP4 in the ovine endometrium and regulated by interferon tau through multiple cell signaling pathways. *Mol. Cell. Endocrinol.* 348(1), 211-223

LEUNG S.T., DERECKA K., MANN G.E., FLINT A.P.F., WATHES D.C. (2000) Uterine lymphocyte distribution and interleukin expression during early pregnancy in cows. *J. Reprod. Fertil.* 119(1), 25-33

LEWIS S.K., FARMER J.L., BURGHARDT R.C., *et al.* (2007) Galectin 15 (LGALS15): A Gene Uniquely Expressed in the Uteri of Sheep and Goats that Functions in Trophoblast Attachment1. *Biol. Reprod.* 77(6), 1027-1036

LIANG B., WORKMAN C., LEE J., *et al.* (2008) Regulatory T Cells Inhibit Dendritic Cells by Lymphocyte Activation Gene-3 Engagement of MHC Class II. *J. Immunol.* 180(9), 5916-5926

MAJEWSKI A.C., TEKIN S., HANSEN P.J. (2001) Local versus systemic control of numbers of endometrial T cells during pregnancy in sheep. *Immunology* 102(3), 317-322

MAMO S., MEHTA J.P., MCGETTIGAN P., *et al.* (2011) RNA Sequencing Reveals Novel Gene Clusters in Bovine Conceptuses Associated with Maternal Recognition of Pregnancy and Implantation1. *Biol. Reprod.* 85(6), 1143-1151

MANJARI P., HYDER I., KAPOOR S., SENTHILNATHAN M., DANG A.K. (2018) Exploring the concentration-dependent actions of interferon- τ on bovine neutrophils to understand the process of implantation. *J. Cell. Biochem.* 119(12), 10087-10094

MANSOURI-ATTIA N., OLIVEIRA L.J., FORDE N., *et al.* (2012) Pivotal Role for Monocytes/Macrophages and Dendritic Cells in Maternal Immune Response to the Developing Embryo in Cattle1. *Biol. Reprod.* 87(5), 123

MARTINEZ F.O., GORDON S., LOCATI M., MANTOVANI A. (2006) Transcriptional Profiling of the Human Monocyte-to-Macrophage Differentiation and Polarization: New Molecules and Patterns of Gene Expression. *J. Immunol.* 177(10), 7303-7311

MATHEW D.J., SÁNCHEZ J.M., PASSARO C., *et al.* (2019) Interferon tau-dependent and independent effects of the bovine conceptus on the endometrial transcriptome†. *Biol. Reprod.* 100(2), 365-380

MEEUSEN E., FOX A., BRANDON M., LEE C.-S. (1993) Activation of uterine intraepithelial $\gamma\delta$ T cell receptor-positive lymphocytes during pregnancy. *Eur. J. Immunol.* 23(5), 1112-1117

MEZRICH J.D., FECHNER J.H., ZHANG X., *et al.* (2010) An Interaction between Kynurenine and the Aryl Hydrocarbon Receptor Can Generate Regulatory T Cells. *J. Immunol.* 185(6), 3190-3198

- MILLS C.D., KINCAID K., ALT J.M., HEILMAN M.J., HILL A.M. (2017) Pillars Article: M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. *J. Immunol.* 199(7), 2194-2201
- MJÖSBERG J., BERG G., ERNERUDH J., EKERFELT C. (2007) CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in human pregnancy: development of a T_{reg}-MLC-ELISPOT suppression assay and indications of paternal specific T_{regs}: CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in human pregnancy. *Immunology* 120(4), 456-466
- MOHAPATRA S.K., PANDA B.S.K., VERMA A.K., KAPILA R., DANG A.K. (2020) Implantation associated changes in expression profile of indoleamine-2, 3-dioxygenase 1, Th1-Th2 cytokines and interferon-stimulated genes on neutrophils and peripheral blood mononuclear cells of crossbred cows. *J. Reprod. Immunol.* 142, 103188
- MUNN D.H., SHAFIZADEH E., ATTWOOD J.T., *et al.* (1999) Inhibition of T Cell Proliferation by Macrophage Tryptophan Catabolism. *J. Exp. Med.* 189(9), 1363-1372
- MUÑOZ M., CORRALES F.J., CAAMAÑO J.N., *et al.* (2012) Proteome of the Early Embryo–Maternal Dialogue in the Cattle Uterus. *J. Proteome Res.* 11(2), 751-766
- NAKAMURA K., KUSAMA K., BAI R., *et al.* (2016) Induction of IFNT-Stimulated Genes by Conceptus-Derived Exosomes during the Attachment Period. *PLoS One* 11(6), e0158278
- O’GORMAN G.M., NAIB A.A., ELLIS S.A., *et al.* (2010) Regulation of a Bovine Nonclassical Major Histocompatibility Complex Class I Gene Promoter1. *Biol. Reprod.* 83(2), 296-306
- OKUMU L.A., FAIR T., SZEKERES-BARTHO J., *et al.* (2011) Endometrial expression of progesterone-induced blocking factor and galectins-1, -3, -9, and -3 binding protein in the luteal phase and early pregnancy in cattle. *Physiol. Genomics* 43(14), 903-910
- OLIVEIRA L.J., MCCLELLAN S., HANSEN P.J. (2010) Differentiation of the Endometrial Macrophage during Pregnancy in the Cow. *PLoS One* 5(10), e13213
- OLIVEIRA L.J., MANSOURRI-ATTIA N., FAHEY A.G., *et al.* (2013a) Characterization of the Th Profile of the Bovine Endometrium during the Oestrous Cycle and Early Pregnancy. *PLoS One* 8(10), e75571
- OLIVEIRA L.J., MANSOURRI-ATTIA N., FAHEY A.G., *et al.* (2013b) Characterization of the Th Profile of the Bovine Endometrium during the Oestrous Cycle and Early Pregnancy. *PLoS One* 8(10), e75571
- OLIVEIRA L.J., HANSEN P.J. (2008) Deviations in populations of peripheral blood mononuclear cells and endometrial macrophages in the cow during pregnancy. *Reproduction* 136(4), 481-490
- OTT T.L., KAMAT M.M., VASUDEVAN S., TOWNSON D.H., PATE J.L. (2014) Maternal immune responses to conceptus signals during early pregnancy in ruminants. *Anim. Reprod.* 11(3), 237-245
- PARENT J., CHAPDELAIN P., SIROIS J., FORTIER M.A. (2002) Expression of Microsomal Prostaglandin E Synthase in Bovine Endometrium: Coexpression with Cyclooxygenase Type 2 and Regulation by Interferon- τ . *Endocrinology* 143(8), 2936-2943
- PASSARO C., TUTT D., MATHEW D.J., *et al.* (2018) Blastocyst-induced changes in the bovine endometrial transcriptome. *Reproduction* 156(3), 219-229

- PEREZ-SEPULVEDA A., TORRES M.J., KHOURY M., ILLANES S.E. (2014) Innate Immune System and Preeclampsia. *Front. Immunol.* 5, 244
- RASHID M.B., TALUKDER A.K., KUSAMA K., *et al.* (2018) Evidence that interferon-tau secreted from Day-7 embryo in vivo generates anti-inflammatory immune response in the bovine uterus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 500(4), 879-884
- ROBERTSON S.A., PRINS J.R., SHARKEY D.J., MOLDENHAUER L.M. (2013) Seminal Fluid and the Generation of Regulatory T Cells for Embryo Implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 69(4), 315-330
- ROBERTSON S.A., CARE A.S., MOLDENHAUER L.M. (2018) Regulatory T cells in embryo implantation and the immune response to pregnancy. *J. Clin. Invest.* 128(10), 4224-4235
- ROSENFELD C.S., HAN C.-S., ALEXENKO A.P., SPENCER T.E., ROBERTS R.M. (2002) Expression of Interferon Receptor Subunits, IFNAR1 and IFNAR2, in the Ovine Uterus1. *Biol. Reprod.* 67(3), 847-853
- SAITO S., NAKASHIMA A., SHIMA T., ITO M. (2010) Th1/Th2/Th17 and Regulatory T-Cell Paradigm in Pregnancy: Th1/Th2/Th17 AND TREG CELLS IN PREGNANCY. *Am. J. Reprod. Immunol.* 63(6), 601-610
- SAKUMOTO R., HAYASHI K.-G., FUJII S., *et al.* (2017) Possible Roles of CC- and CXC-Chemokines in Regulating Bovine Endometrial Function during Early Pregnancy. *Int. J. Mol. Sci.* 18(4), 742
- SCOTT J.L., KETHEESAN N., SUMMERS P.M. (2006) Leucocyte population changes in the reproductive tract of the ewe in response to insemination. *Reprod. Fertil. Dev.* 18(6), 627
- SELENKO-GEBAUER N., MAJDIC O., SZEKERES A., *et al.* (2003) B7-H1 (Programmed Death-1 Ligand) on Dendritic Cells Is Involved in the Induction and Maintenance of T Cell Anergy. *J. Immunol.* 170(7), 3637-3644
- SHEVACH E.M. (2009) Mechanisms of Foxp3+ T Regulatory Cell-Mediated Suppression. *Immunity* 30(5), 636-645
- SHIRASUNA K., MATSUMOTO H., KOBAYASHI E., *et al.* (2012) Upregulation of Interferon-stimulated Genes and Interleukin-10 in Peripheral Blood Immune Cells During Early Pregnancy in Dairy Cows. *J. Reprod. Dev.* 58(1), 84-90
- SONG Z.-H., LI Z.-Y., LI D.-D., *et al.* (2016) Seminal plasma induces inflammation in the uterus through the $\gamma\delta$ T/IL-17 pathway. *Sci. Rep.* 6(1), 25118
- SPENCER T.E., OTT T.L., BAZER F.W. (1998) Expression of Interferon Regulatory Factors One and Two in the Ovine Endometrium: Effects of Pregnancy and Ovine Interferon Tau1. *Biol. Reprod.* 58(5), 1154-1162
- SPENCER T.E., SANDRA O., WOLF E. (2008) Genes involved in conceptus–endometrial interactions in ruminants: insights from reductionism and thoughts on holistic approaches. *Reproduction* 135(2), 165-179
- SPENCER T.E., BAZER F.W. (2004) Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2(1), 49
- SPONCHIADO M., GOMES N.S., FONTES P.K., *et al.* (2017) Pre-hatching embryo-dependent and -independent programming of endometrial function in cattle. *PLoS One* 12(4), e0175954

- STAMATKIN C.W., ROUSSEV R.G., STOUT M., *et al.* (2011) PreImplantation Factor (PIF) correlates with early mammalian embryo development-bovine and murine models. *Reprod. Biol. Endocrinol. RBE* 9, 63
- STEWART D.M., JOHNSON G.A., VYHLIDAL C.A., *et al.* (2001) Interferon- τ Activates Multiple Signal Transducer and Activator of Transcription Proteins and Has Complex Effects on Interferon-Responsive Gene Transcription in Ovine Endometrial Epithelial Cells. *Endocrinology* 142(1), 98-107
- STEWART M.D., CHOI Y., JOHNSON G.A., *et al.* (2002) Roles of Stat1, Stat2, and Interferon Regulatory Factor-9 (IRF-9) in Interferon Tau Regulation of IRF-11. *Biol. Reprod.* 66(2), 393-400
- TAYLOR U., SCHUBERTH H., RATH D., *et al.* (2009) Influence of Inseminate Components on Porcine Leucocyte Migration *In Vitro* and *In Vivo* after Pre- and Post-Ovulatory Insemination. *Reprod. Domest. Anim.* 44(2), 180-188
- TEKIN Ş., HANSEN P.J. (2002) Natural Killer-Like Cells in the Sheep: Functional Characterization and Regulation by Pregnancy-Associated Proteins. *Exp. Biol. Med.* 227(9), 803-811
- TELGEMANN R., BATHGATE R.A.D., JAEGER S., TILLMANN G., IVELL R. (2003) Transcriptional Regulation of the Bovine Oxytocin Receptor Gene1. *Biol. Reprod.* 68(3), 1015-1026
- TUO W., OTT T.L., BAZER F.W. (1993) Natural Killer Cell Activity of Lymphocytes Exposed to Ovine, Type I, Trophoblast Interferon. *Am. J. Reprod. Immunol.* 29(1), 26-34
- VASUDEVAN S., KAMAT M.M., WALUSIMBI S.S., PATE J.L., OTT T.L. (2017) Effects of early pregnancy on uterine lymphocytes and endometrial expression of immune-regulatory molecules in dairy heifers†. *Biol. Reprod.* 97(1), 104-118
- VITORINO CARVALHO A., EOZENOU C., HEALEY G.D., *et al.* (2016) Analysis of STAT1 expression and biological activity reveals interferon-tau-dependent STAT1-regulated SOCS genes in the bovine endometrium. *Reprod. Fertil. Dev.* 28(4), 459
- WALKER C.G., MEIER S., LITTLEJOHN M.D., *et al.* (2010) Modulation of the maternal immune system by the pre-implantation embryo. *BMC Genomics* 11(1), 474
- WANG X.-L., WANG K., HAN G.-C., ZENG S.-M. (2013) A Potential Autocrine Role for Interferon Tau in Ovine Trophectoderm. *Reprod. Domest. Anim.* 48(5), 819-825
- WIECZOREK M., ABUALROUS E.T., STICHT J., *et al.* (2017) Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation. *Front. Immunol.* 8
- WONFOR R.E., NATOLI M., ROSE M.T., NASH D.M. (2017) Effects of preimplantation factor on interleukin-6 and prostaglandin F2 α and E2 in the bovine endometrium. *Theriogenology* 102, 174-182
- XU X., ZHOU Y., WEI H. (2020) Roles of HLA-G in the Maternal-Fetal Immune Microenvironment. *Front. Immunol.*, g 11, 592010
- ZHU J., YAMANE H., PAUL W.E. (2010) Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu. Rev. Immunol.* 28, 445-489

LES MODIFICATIONS IMMUNOLOGIQUES DE L'ENDOMÈTRE EN RÉPONSE AUX STIMULI EMBRYONNAIRES CHEZ LES RUMINANTS

AUTEUR : Léa PICARDA

RÉSUMÉ :

L'IFN τ est le signal embryonnaire majoritaire chez les ruminants. Il est à l'origine de la reconnaissance fœto-maternelle de la gestation. L'IFN τ active des gènes stimulés par l'interféron (ISG) impliqués dans la réponse immunitaire maternelle, l'attachement et l'implantation de l'embryon... Il existe de nombreuses voies de transduction (JAK-STAT, MAPK, PIK3...), impliquant ou non la progestérone, hormone dont la synthèse est dépendante de l'interféron. La disparition des récepteurs à la progestérone et la présence d'inhibiteur de l'interféron (IRF2) expliquent l'expression différente dans l'espace et dans le temps de ces ISG. Parmi les ISG, nous pouvons citer les molécules du CMH-I classique, qui ne sont plus exprimées pendant la période péri-implantatoire, au contraire des molécules du CMH-I non classique.

L'IFN τ exerce un chimiotactisme positif sur les leucocytes (lymphocytes, cellules Natural Killer (NK) et NKT, polynucléaires neutrophiles, macrophages). La balance Th1/Th2/Treg, connue chez la femme et la souris, s'observe en partie chez les ruminants. Le dialogue moléculaire entre cellules présentatrices d'antigènes et lymphocytes Treg (activation des protéines CTLA4, PDL1, LAG), la libération de cytokines et chimiokines, l'expression de galectines et la modification du métabolisme du tryptophane, sont à l'origine d'une activation des LTreg et de la voie Th2, et une inhibition de la voie Th1. Néanmoins, de nombreuses étapes de ces mécanismes restent inconnues.

MOTS CLÉS : INTERFERON – BREBIS – VACHE – GESTATION – EMBRYON - TOLÉRANCE IMMUNITAIRE - LYMPHOCYTE– PROTÉINE

JURY :

Président : Pr Laurent TIRET

Directrice de thèse : Dr Fabienne CONSTANT

Examinatrice : Dr Delphine LE ROUX

IMMUNOLOGICAL CHANGES IN THE ENDOMETRIUM IN RESPONSE TO EMBRYONIC STIMULI IN RUMINANTS

AUTHOR: Léa PICARDA

SUMMARY:

IFN τ is the main embryonic signal in ruminants. It is responsible for the maternal recognition of pregnancy. IFN τ modulates the expression of interferon stimulated genes (ISG), thus regulating the maternal immune system, as well as allowing embryo attachment and implantation. Many interferon-dependant signalling pathways are involved in activating ISG (JAK-STAT, MAPK, PIK3...), involving or not progesterone, whose synthesis is also interferon-dependant. Expression of ISG changes in time and in localization due to IRF2 inhibitory effect and progesterone receptors disappearance. Amongst those regulated ISG, expression of classical MHC-I is inhibited during peri-implantation period, whereas non-classical MHC-I is up-regulated.

IFN τ exerts a positive chemotactic effect on leukocytes (lymphocytes, Natural Killer cells (NK) and NKT cells, neutrophils, macrophages). The Th1/Th2/Treg balance is well-documented in women and mice but may not be fully observed in ruminants. Interactions between Antigen Presenting Cells and Treg lymphocytes (CTLA4, PDL1, LAG protein activation), cytokine and chemokine production, galectin expression, modifications in tryptophan metabolism lead to increased LTreg and Th2 response and decreased Th1 response. Nonetheless, many steps of the mechanism remain unknown.

KEYWORDS: INTERFERON-SHEEP-COW-PREGNANCY-EMBRYO-IMMUNE TOLERANCE-
ISG-LYMPHOCYTES-JAK-STAT-MAPK-GALECTIN-CHEMOKINE

JURY:

Chairperson: Pr Laurent TIRET

Thesis Director: Dr Fabienne CONSTANT

Reviewer: Dr Delphine LE ROUX