Pour contacter la prof : anjuere@unice.fr

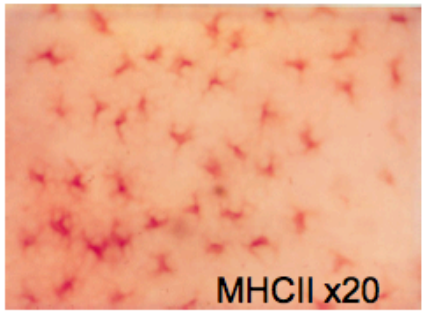
Cellule Dendritique = ¢D
Lymphocyte T = LT

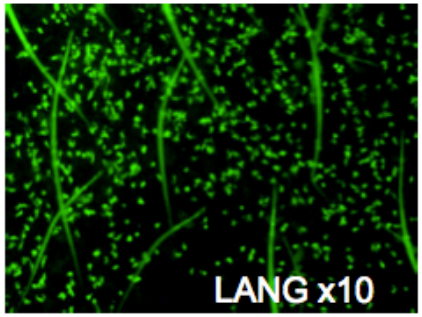
Les cellules dendritiques

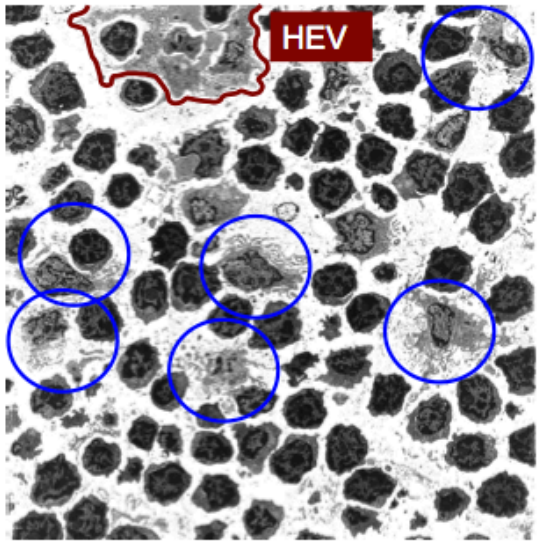
I. Introduction & Définition

¢ dendritiques découvertes en 1973, identification chez la souris d'une population de ¢ nouvelles de morphologie «dendritique» d'où leur nom.

- ¢ d'**origine hématopoïétique**
- **Peu abondantes** (100 fois moins que LT)
- Assez **grosses 10 µm** (2 fois plus grosses que LT)
- Caractérisé par ses **dendrites**
- **Familles complexes**
- Présentent dans **tout organes lymphoïdes** et **plupart des tissus**
- ¢ **présentatrices d'AG professionnelle**







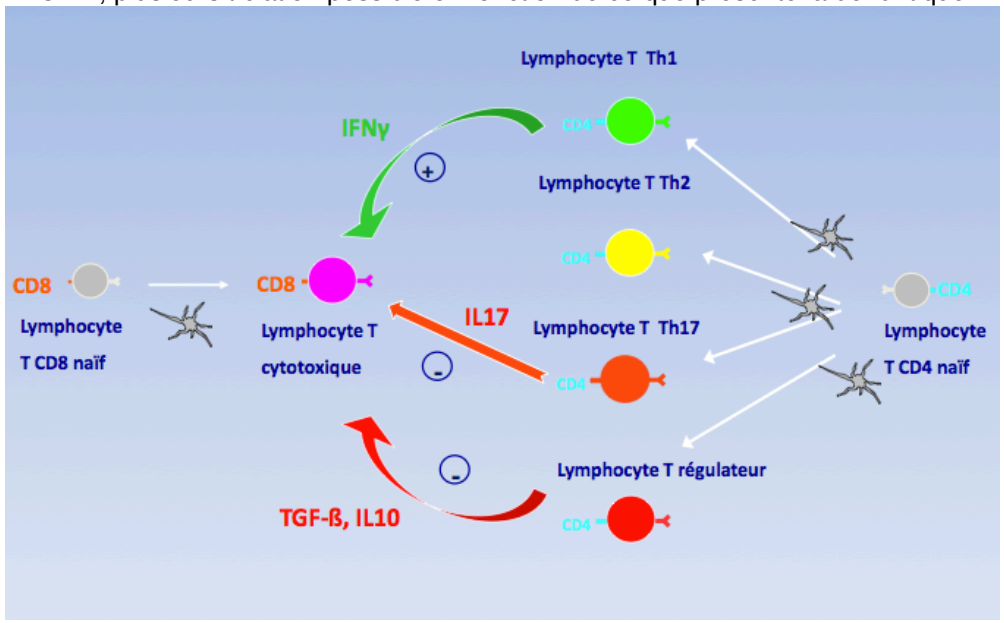
Dendritiques en rouge dans l'épithélium
2e en vert : ¢D identifiables en IF
3e ME : identification des ¢ dendritiques par leur morphologie

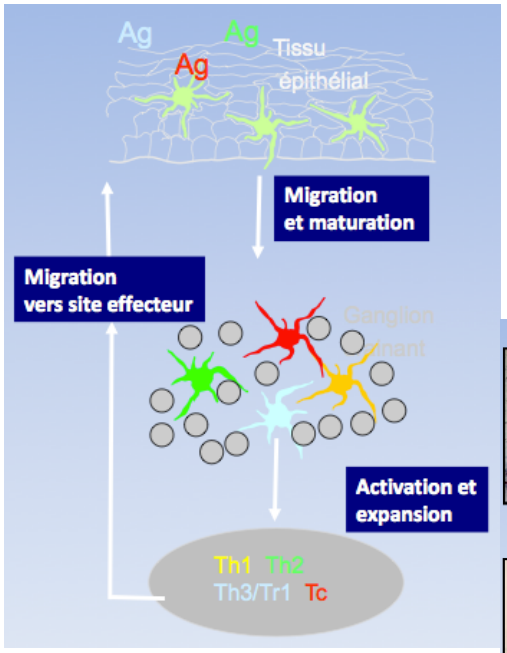
- Présentent dans tous tissus lymphoïdes et non lymphoïde, sentinelles du SI
- Rôle **immuno-surveillance** : patrouille dans système lymphatique et organisme
- Rôle dans **immunité spécifique** : ¢ présentatrices Ag unique
- Impliqué dans **immunité innée** : lien entre les 2 immunités

Rôle dans toutes les étapes de la réponse immunitaire

II. Génération des réponses LT

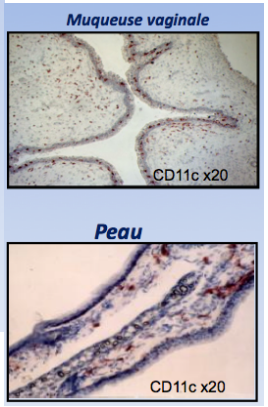
La dendritique présente l'AG au LT qui va alors devenir :
- T CD8 = cytotoxique
- TCD 4, plusieurs ≠ciation possible en fonction de ce que présente la dendritique





•***Au niveau des épithéliums***

L'Ag présent dans la peau va être capté par la dendritique qui va rejoindre les ganglions afin d'éduquer les LT naïfs. Les LT effecteurs vont alors migrer dans tout l'organisme et retourner au lieu de contact avec l'Ag (= site effecteur).



¢ dendritiques en marron dans l'étpithélium et les tissus sous jacents.

- ***Signaux de danger***

2 possibilités lorsque la ¢D rencontre l'Ag :
- **Ag + signaux de danger** ➜ Activation de la **¢D** ➜ activation des **LT** ➜ mise en place d'une **immunité protectrice**
- **Ag seul** ➜ Activation de la **¢D** ➜ activation des **LT** (en Th2 = cytotoxiques) ➜ mise en place d'un phénomène de **tolérance**.

- ***Interactions et présentations***

Les dendritiques **interagissent** également avec :
- **NK** (immunité innée) : dialogue conduisant à l'activation des NK et inversement : les NK envoient des signaux aux ¢D
- **LB**

La dendritique *présente l'Ag de 2 façons :*
- Le **phagocyte** et le processe pour le présenter par le complexe CMH I et II. Ce qui permet l'interaction avec LT
- Possède des **molécules de surface** qui vont reconnaitre certains motifs de l'Ag et activer la dendritique. Des signaux intra ¢aire vont alors induire la production de cytokines pro-inflammatoires.

- ***3 Signaux pour stimuler un LT***

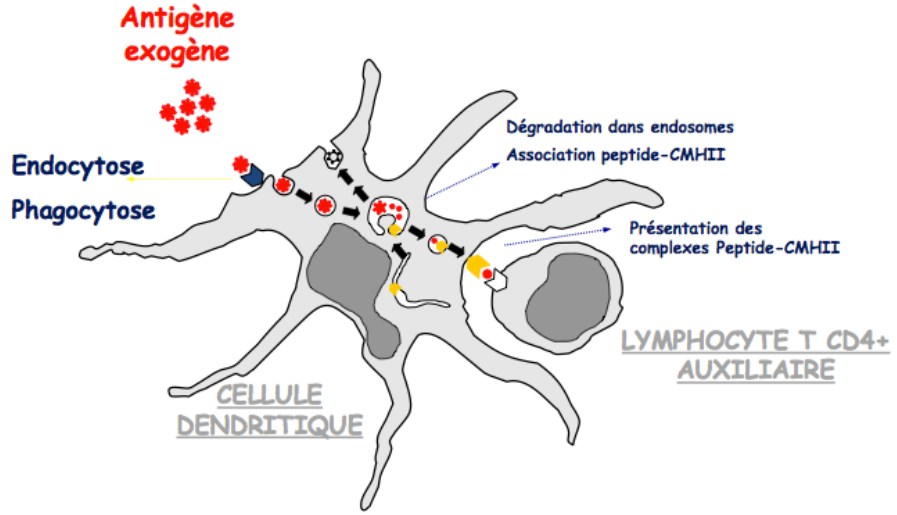
Un LT a besoin de 3 signaux pour s'activer:
- Signal **spécifique de l'antigène** : Reconnaissance **complexe CMH-peptide** (sur la ¢D) par le **récepteur** T (du LT)
- Signal de **co-stimulation** : permet un contact assez long entre ¢D et LT pour permettre la ≠ciation.
- Signal de **polarisation** de la réponse immune : certains motifs des pathogènes (**PAMPs**) ou des **facteurs solubles** produits par l''environnement = **signaux de danger**. Ils vont **interagir** avec les récepteurs spécifiques (**PPRs**) des ¢D, ce qui va augmenter la **maturation** de ces dernières.

En cas d'**absence** des signaux de **co-stimulation et / ou de polarisation** : interaction faible entre LT et ¢D ➜ différenciation en **LT régulateurs** voire **ø de différenciation**.

Importance de la dose de la nature et du lieu de délivrance de l''antigène

III. Présentation CMH I / CMH II & Présentation Croisée

1. CMH II



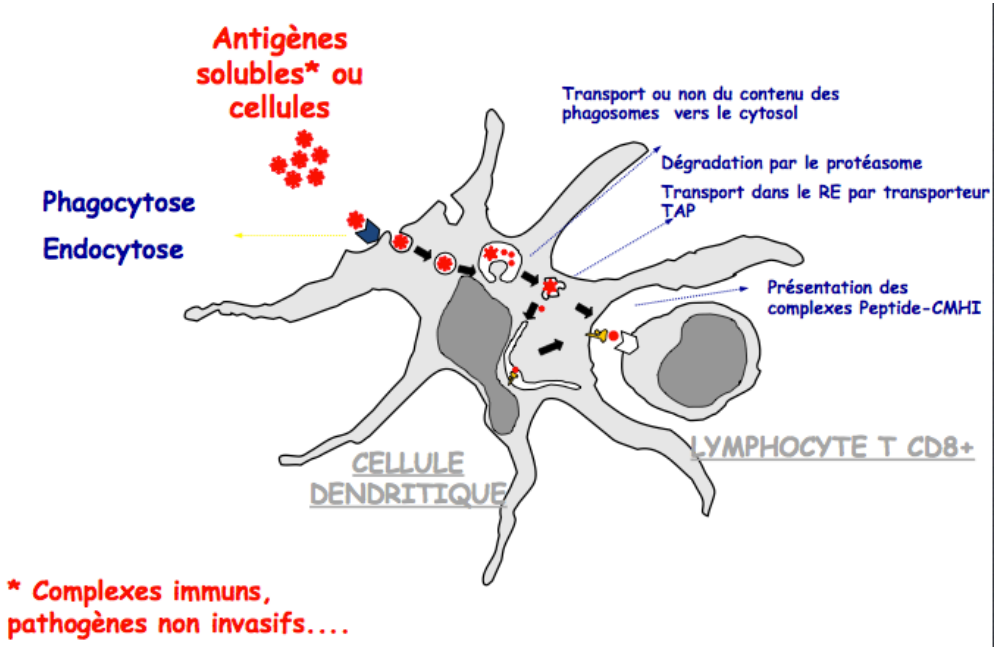
*¢D présente des Ag **exogènes** par CMH II.*

Ag exogène est endocyté puis présenté à la surface des molécules du CMH II après dégradation par l'endosome. Complexe CMHII-peptide est présenté à la surface de la ¢D et entre en contact avec un LT CD4

2. CMH I

Classiquement, le **CMH I** présente des Ag **intra¢aire** = produit par la ¢, dérivés de virus ou autre pathogène.

3. Présentation Croisée



La ¢D a la capacité de présenter un Ag **exogène** par le **CMH I** . Mécanisme pas bien connu. ¢D phagocyte des Ag solubles, les transfert dans des phagosomes ou phagolysosomes puis ils sont libérés dans la ¢ pour être capturés par le RE et être présente par les molécules CMH I.

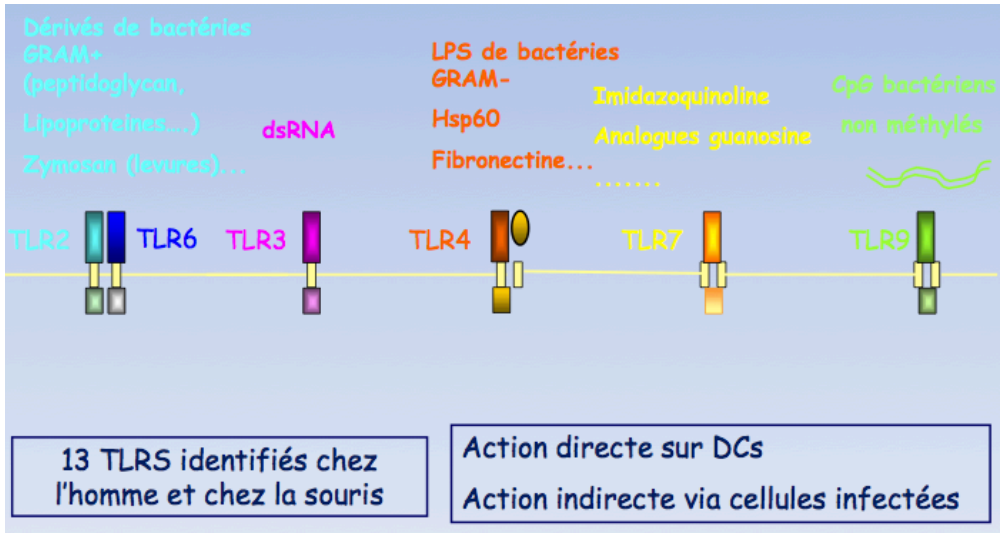
IV. ¢ dendritiques senseurs de l'environnement

Notion apparue dans les année 90. ¢D exprime des récepteurs de danger à leur surface qui leur permettent de reconnaitre un motif moléculaire associé aux pathogène. Ce la leur permet d'identifier le type de pathogène et de se différencier en fonction.

Famille de récepteur : les **TLR** (Tool Like Recepteur, membranaires ou intra¢aire) : reconnaissent les motifs des Ag.

1. TLR, PPR & PAMP

- ***TLR***



TLR 3, 4 et 9 reconnaissent des motifs moléculaires ADN ou ARN.

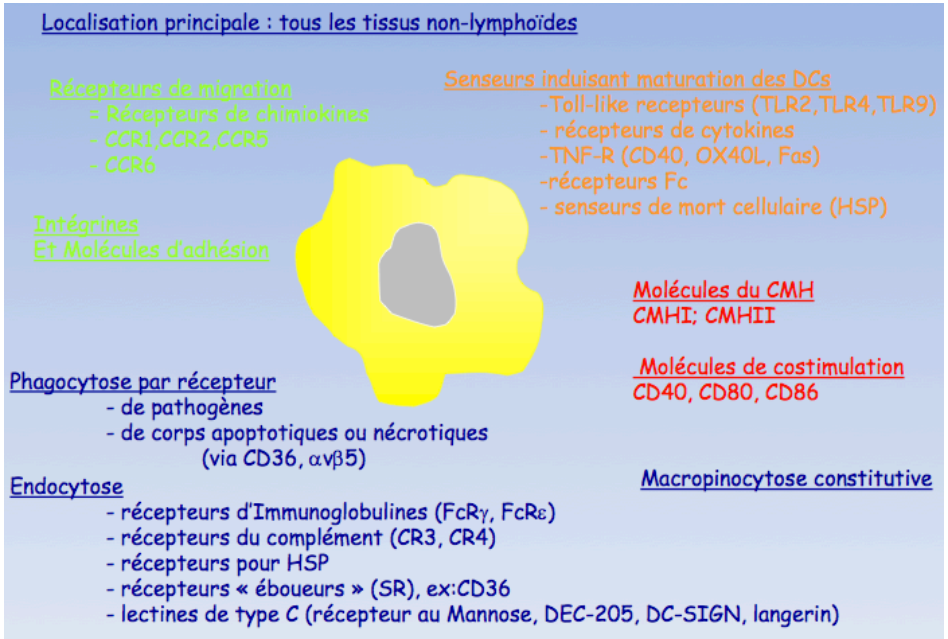
Ex : Aldara® (molécule dérivé des imiquimod) reconnue par TLR 7 est utilisé dans le traitement des verrues agressivent ou carcinomes cutanés.
Ces ligands (des TLR) sont intéressants ++ en vaccinologie car se sont de très bons adjuvants.

- ***PPRs & PAMPs***

Les PAMPs (ligands) vont avoir une action directe sur ¢D via ses PPRs.

Les TLR ont un rôle + dans l'activation des ¢D. Mais beaucoup d'autres récepteurs sont impliqués dans leur maturation :
- Récepteurs de **cytokines** *(Médiateurs pro-inflammatoires (TNF-α , Il1-ß, PGE-2..) produits par cellules environnantes (cellules infectées ou cellules tumorales)*
- **TNF-R** *(CD40, OX40L, Fas)*
- **Récepteurs Fc**
- **Senseurs de mort cellulaire** *(HSP)*

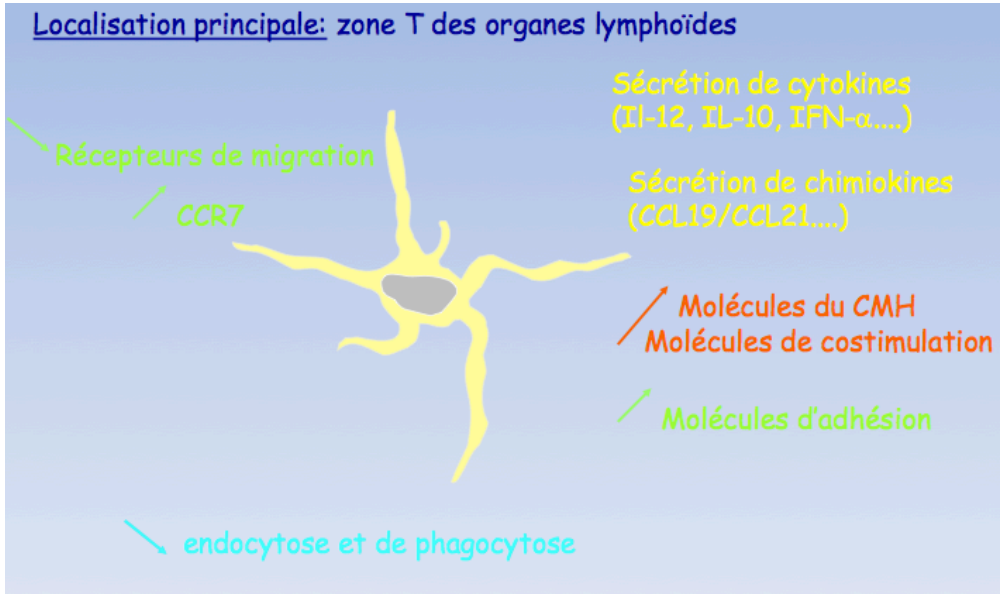
2. ¢ dendritique immature



Présente **beaucoup de molécules de surface** (dont les TLR) :
- Rc **chimiokines** (rôle dans la **migration**)
- **Intégrines** et molécules d'adhésion : permettent l'**arrêt** lors de leur migration)
- Rc leur permettant de **phagocyter** des Ag ou pathogènes
- Expriment des molécules **CMH I & II**
- **Molécules de co stimulation** permettent une interaction forte avec les **LT**

VS

3. ¢ dendritique mature



Retrouvée dans les **organes lymphoïdes II aire**, elle aura capturé un **Ag** et **perdu une grande partie de ses fonctions de phagocytose et migration** :
- Beaucoup moins de rc de migration
- Rc **chimiokines** important pour **arriver et interagir** dans le ganglion
- **Perte** de sa capacité de **phagocytose**
- Augmentation des molécules de **CMH** et **co-stimulation** ➜ interaction + avec LT
- Production de **cytokines** en fonction de l'Ag rencontré

V. Plasticité et diversité des ¢ dendritiques

*Famille de ¢ assez diverses. Permettant ≠ types de fonction. Plasticité: adaptation en fonction de l'environnement. Ensemble **hétérogène** de ¢D*

1. Distribution

Retrouvée dans :
- Organes **lymphoïdes organisés** : thymus, rate, ggl lymphatiques
- Organes **lymphoïdes diffus** : Agmydales, intestin (plaques de Peyer)
- Tissus **épithéliaux** (= ¢ de Langerhans) : Peau, oesophage, urètre, app génital
- ¢D **Interstitielles** : Coeur, foie, rein
- ¢D **Circulantes** : Sang et lymphe.

Diversité phénotypique et fonctionnelle

2. Sous populations de ¢ dendritiques

- ***¢D classiques = myeloïdes***

¢D myéloïde dans tissu lymphoïde II aire à l'état basal :
- Population principale exprimant **CD141** et molécule **CLEC9A** (chez l'Homme) et CD8 CD103 (chez la souris). **Rôle ++** dans la **présentation croisée** Ag et **activation** des LT **CD8**
- Autre population exprimant **intégrine CD11b** et c (chez souris et Homme)

Rôle ++ dans la **présentation CMH II** ➜ activation LT **CD4**. Mais également capable de présenter dans contexte CMH I

- ***¢D dérivant des monocytes***

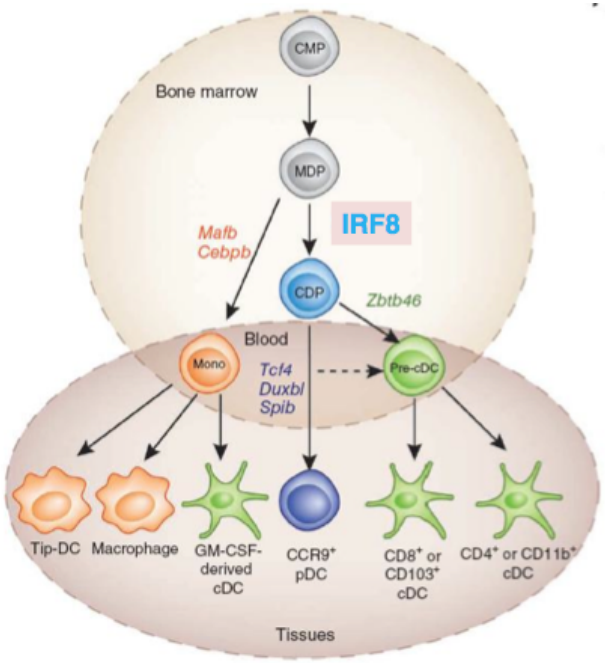
  Caractérisé par CD11b (souris) et **CD14** (Homme)

- ***¢D plasmacytoïdes***

  À part, **très ≠ des autres**, sous-type exprimant **CD303** (chez Homme) et Siglec-H (chez souris)

  Présentation CMH I et II et **production d'interféron**, rôle ++ de **défense immunitaire innée**. Peuvent devenir **¢D cytotoxiques** dans certain contexte, selon les cytokines qu'elles produisent.

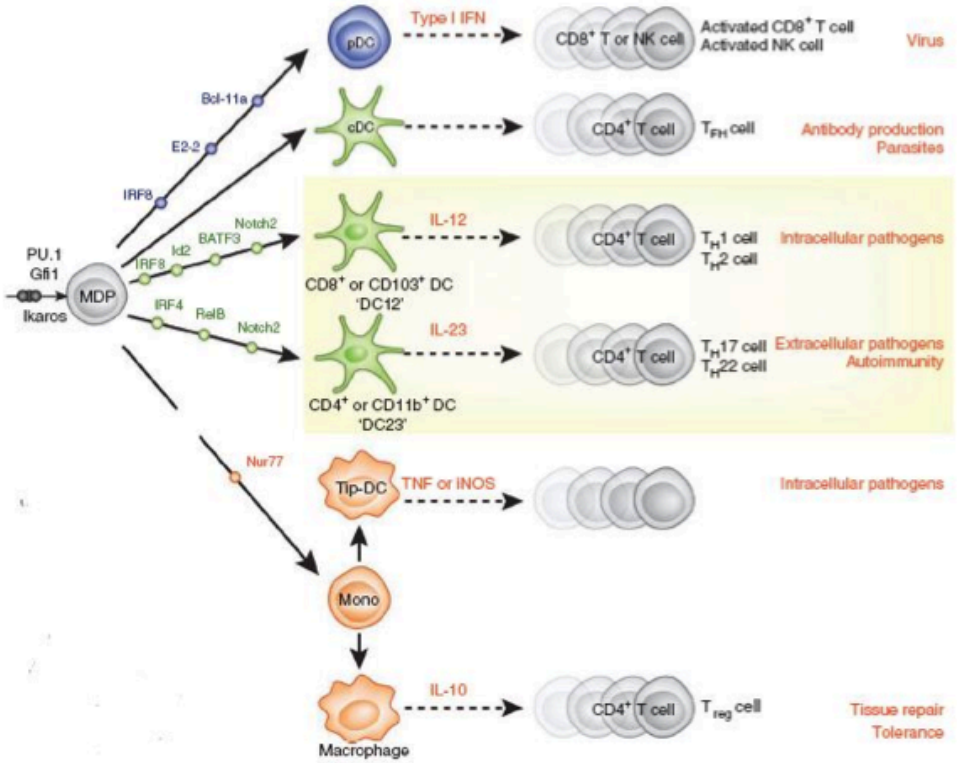
3. Origine



Toutes les ¢D dérivent d'une ¢ myéloïde. 2 grandes lignées permettent de ≠cier les DC à proprement parler des ¢D inflammatoires (=dérivées des monocytes?).

Molécule **IRF 8** importante ++ dans la ≠ciation ¢D classique et ¢D plasmacytoïdes

VI. Fonction des ¢D



¢D plasmacytoïdes en haut, classique au milieu (jaune) et dérivées de monocytes en bas.

Production de cytokines spécifiques selon les signaux reçus et type de ¢D. Suite à la **≠ciation des ¢D** (en fonction signaux des Ag), **différents types de LT** seront activés et cela aboutira à **différentes réponses immunitaires**.

VII. Étude : Syndrome humain lié au déficit en ¢D

Peu d'études in vivo chez l'homme sur les ¢D. Quelques unes réalisées (par un anglais) chez des patients présentant des déficits en ¢D.

Patients DCML = patients ne présentant **aucune famille de ¢D**, peu de NK etc .. Déficience génétique. Peuvent vivre jusqu'à ce qu'ils développent une pathologie sévère *(Mycobactérium, pathologie viral ou K, MAI)*.

Autres patients présentant un **défaut de facteur IRF8** (rôle important dans la différenciation des ≠ sous-population de ¢ dendritiques à état basal). 3 types de patients :

- Aucune ¢ dendritique : doivent être diagnostiqués avant 3 mois pour vivre ➜ prouve le rôle capital des ¢ dendritiques
- Mutation à un autre endroit ➜ absence d'un certain sous type de ¢D. Ø transplantation. Mais diagnostic jeune car susceptible d'infections par micobactérium.

Vaccination vaginale et rôle des cellules dendritiques locales dans la génération des lymphocytes T cytotoxiques

Partie non mise en page pour le moment

I. Vaccination muqueuse

= Application topique sur un épithélium muqueux d'un vaccin (= pathogène + adjuvant)

Avantages	Limitation
Accessible	Durée limitée dans le temps
Non invasif	Mécanisme ¢aire mal connus
Surface ++ 400m2	
Porte d'entrée majeure/ barrière de défense	
Site inducteur de réponses immunitaires	
Compartimentalisation des réponses immunes	

1. Vaccins muqueux : Avantages théoriques

Type de réponse induit dans les compartiments muqueux : induction **IgA sécrétoire**, qui ne se fait pas dans les autres formes de vaccin.

Favorise les réponses T dans les compartiments muqueux en plus du systémique.

Il faut immuniser au bon endroit pour aboutir à immunisation dans les bons organes.

Lorsque l'on:
- Immunise par voie orale : bonne réponse immunitaire systémique, dans le tractus digestif, la sphère ORL et les glandes mammaires
- Immunise par voie intra-nasale : immunité ++ ORL, respiratoire et tractus génital
- Immunise par voie rectal : réponse dans colon et rectum
- Immunise par voie vaginal : réponse ++ dans le tractus génital

Ex : pour montrer que les voies ne sont pas équivalentes. Ag sans adjuvant.

Pour vaccin contre VIH ➜ dans tractus génital

≠ voies explorées : nasale (FLUMIST contre la grippe), orale principaux pour le moment car immunité induite au niveau de l'intestin a été la plus étudiée..
(ROTARIX DUKORAL contre rotavirus et choléra), vaginale rectale, oculaire, utilisant la surface cutanée : intra-dermale ou application topique de Ag. Plusieurs travaux en cours, mais peu de vaccins pour le moment.

Dans leur labo, il se sont intéressé à **3 voies** : (avec pour objectif la réponse génitale)
- Vaginale
- Sub linguale
- Cutanée

Dans 1er temps mieux comprendre l'immunité dans ces tissus pour établir des molécules vaccinales et thérapeutiques.

Etude sur la souris d'un vaccin prototype. Par ≠ voies : analyse des réponse dans les ≠ organes. Et s'intéresse au rôle joué par les ¢D dans la capture des Ag.

2. Tractus génital

Muqueuse complexe sous l'influence de cycles hormonaux.
3 sections : muqueuse vaginale, endocervix et exocervix .Site d'infection des IST et développement de carcinomes induits par HPV.

Muqueuse immuno-compétente contenant : LB, LT et ¢D. Site de réponse systémique et génitale.

Présence d'une immunité dans la muqueuse ayant un role ++ pour limiter la transmission du VIH. Chez certains patients, l'importante présence de LT cytotoxiques permet d'éliminer les ¢ infectées.

II. Étude du Labo de la prof ^^

Ils ont démontrés que l'immunisation par voie muqueuse est bien meilleure que l'immunisation systémique ou sous-cutanée pour induire des LT cytotoxiques au niveau de la muqueuse vaginale.

Ils voulaient prouver que l'immunisation par voie vaginale augmentait la fréquence des LT spécifiques de l'ag (du vaccin) dans le vagin.

1. ¢D sont-elles impliquées dans la ≠ciation des LT ?

Vaccin modèle : ovalbumine de poulet couplé à ssu B de la toxine cholérique (démontre que c'est un bon vecteur de délivrance de l'Ag par voie muqueuse), induit la présentation par le CMH I.

Test permettant de savoir combien de LT sont présents dans la muqueuse ou le ggl drainant.

Immunisation avec le vaccin prototype permet la lyse des ¢ détectées par IF.

2. Quelle sont les ¢ présentatrices d'AG qui on permis l'activation de ces LT cytotoxiques ?

Immunisation des souris, très rapidement (après 36 à 48h). On prélève le tissu du site immunisé et du ggl qui draine le site (car les ¢ dendritiques migrent dans le ggl et active le LT CD8). Identification des ¢D qui expriment CD11c par cytométrie de flux, ¢D présentatrices d'Ag et on regarde si elle présente l'Ag.

Certaines techniques permettent de savoir si les ¢ sont chargées de l'Ag. Mis en présence avec des LT CD8 marqués, spécifiques de l'Ag, si oui ➜ apparition de fluorescence qui montre qu'elles ont proliféré. Donc c'est que les ¢D on présenté l'Ag et on permis la multiplication des LT.

Même expérience à ≠ temps. Permet de se rendre compte que les ¢D captant l'Ag le présente plus intensément à partir de 24h après l'inoculation. (Ce la confirme que ce sont bien des ¢D car on sait qu'il leur faut ~ ce temps pour capter l'Ag et migrer dans le ggl).

Séparation des ≠ types de ¢D par cytométrie de flux. Des ¢ provenant de la muqueuse avec CMH II ++ ¢ ne provienne pas muqueuse et plasmacitoïde ne provenant pas muqueuse.

Ces expériences montrent que le vaccin est pris en charge par les ¢D de la muqueuse qui vont alors migrer dans le ggl pour éduquer T CD8.

3. Y a t'il des ¢D dans la muqueuse capables de charger le vaccin?

Préparation du tissu vaginal, marquage des ¢D pour les ≠cier.
¢ de Langerhans (= ¢D dans peau) et 2 autres sous-types de ¢D dans le derme.

Mise en suspension de ¢ vaginales. Parmi les ¢, certaines expriment des marqueurs langérin et d'autres non. ¢ de sous-type ≠ que celle dans épiderme.

Recherche de ces ¢ langérines dans le ggl. On retrouve 2 types de ¢ de la muqueuse : celles exprimant et celles n'exprimant pas la langérine sont retrouvées.

Le vaccin a un effet spécifique sur les ¢D provenant de la muqueuse. Parmi les 2 populations qui proviennent de la muqueuse, lesquelles présentent l'Ag ?

Les 2 pop sont capables de capturer in vivo le vaccin et d'induire l'activation des LT CD8 spécifiques de l'Ag. Les ¢ qui n'expriment pas la langérine sont bien meilleures que celles l'exprimant

4. Quel type de réponse ?

Les ¢D provenant de la muqueuse et qui n'expriment pas la langerine expriment **beaucoup INF γ** et **peu** d'**IL10** et **17** alors que celles exprimant la langérine inverse expriment **peu INF γ** et **beaucoup** d'**IL10** et **17**.

➜ Les ¢ langérine négatives activent les LT cytotoxiques. Alors que langérine positives on un rôle régulateur et rendent donc le vaccin moins performant (moins d'activation de LT cytotoxiques)

5. Les ¢ langérine positives on-elles vraiment un rôle négatif sur les LT citotoxqiues ?

Transgene, récepteur à la toxine diphtérique uniquement sur ces ¢ Langerhans ➜ en administrant la toxine on élimine les ¢ langérine positive. Que se passe-t-il après immunisation ?

Dans la muqueuse vaginale, quand on immunise les souris diphtériques ➜ beaucoup plus de LT cytotox.

III. Conclusion

≠ type de ¢D dans la muqueuse vaginale.
Quand on vaccine les ¢ n'exprimant pas la lagérine ➜ activation des LT cytotoxiques. Les ¢ langérine positives induisent IL10 et 17. La suppression de ces dernières augmente les LT dans la muqueuse.