

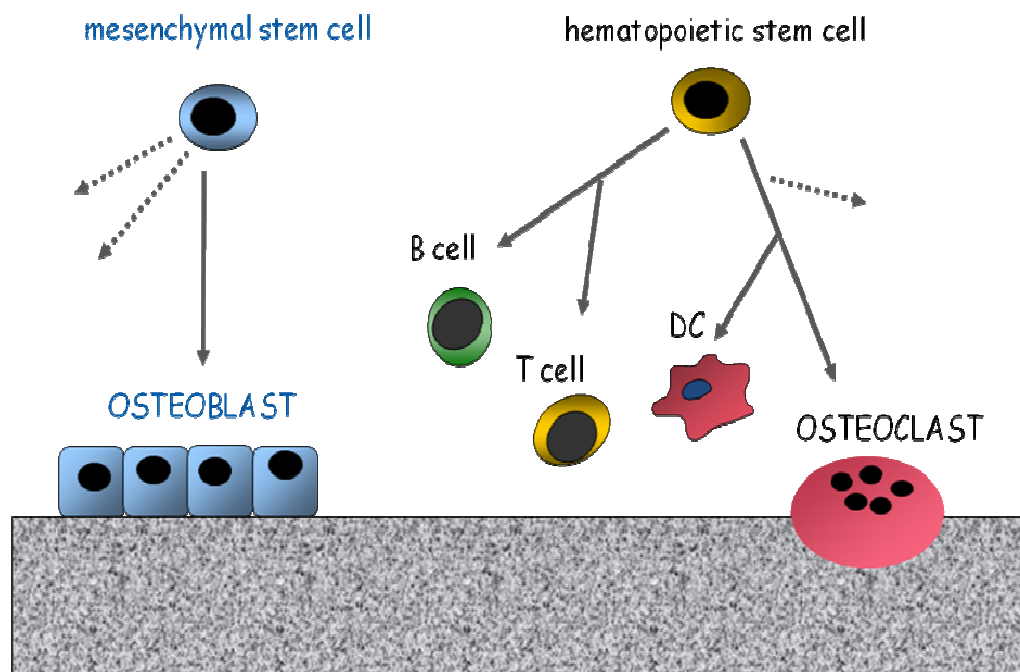
# Interactions entre les systèmes immunitaire et osseux

## I) Introduction :

### A) Origine des cellules osseuses :

- Moelle osseuse :

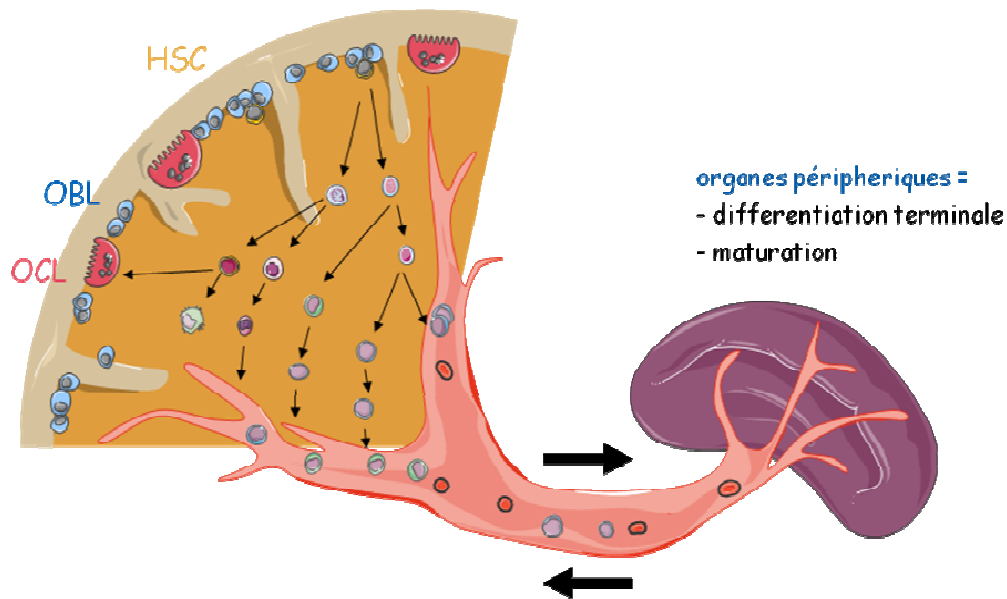
- Organe essentiel
- Réservoir de C inertes + Réservoir ac bcp d'interact° Cr
- C osseuses :
  - ❖ **Ostéoblastes** → Fabriquent la matrice osseuse → **C mésenchymateuse** qui viennent des C mésenchymateuses souches qui donnent aussi C cartilagineuses, muscu, adipocytaires
  - ❖ **Ostéoclastes** → Résorbent la matrice osseuse → **Origine hématopoïétique** qui dérivent de la mm lignée monocyttaire que C dendritiques et macrophages
    - ✓ Snt au **contact de l'os**
    - ✓ Snt en étroite interact° ac ttes les C présentes ds la moelle osseuse (Autres C hématopoïétiques = LB, LT et C dendritiques)



- Siège de l'hématopoïèse:

❖ Spatialement régulée :

- ✓ **Départ de la matrice osseuse** → Au contact des ostéoblastes il y a les C souches hémat° → C'est là que sont les C les plus immatures
- ✓ **Gradient de maturité** des C vers les **vx sanguins** → Par les vx sanguins les C hémat° les + matures vont pouvoir gagner la périph (Ex : LB gagnent la rate pr finir leur maturat°, LT gagnent le **thymus** pr subir la **sélect° thymique** et aussi finir leur maturat°)
- ✓ Ttes ces C immunitaires matures → Vx sanguins → Moelle osseuse
- ✓ **LB et mémoires peuvent revenir se localiser ds la moelle osseuse.**



B) Ostéoimmunologie :

- Discipline qui s'intéresse aux interact° entre système immunitaire et système osseux, hématopoïétique et immunitaire
  - A émergé à partir de nombreuses observat° cliniques.
  - **Existence résorpt° osseuse active ds :**
    - **Maladies auto-immunes ou inflammatoires** (arthrite rhumatoïde, maladie de Crohn, psoriasis)
    - Certains types de **cancer** (métastases osseuses)
    - **Infections chroniques** (SIDA, hépatite)
- ⇒ **Lien entre la réponse immune et la résorption osseuse**

## II) Contrôle de l'ostéoclastogénèse par les cellules T activées :

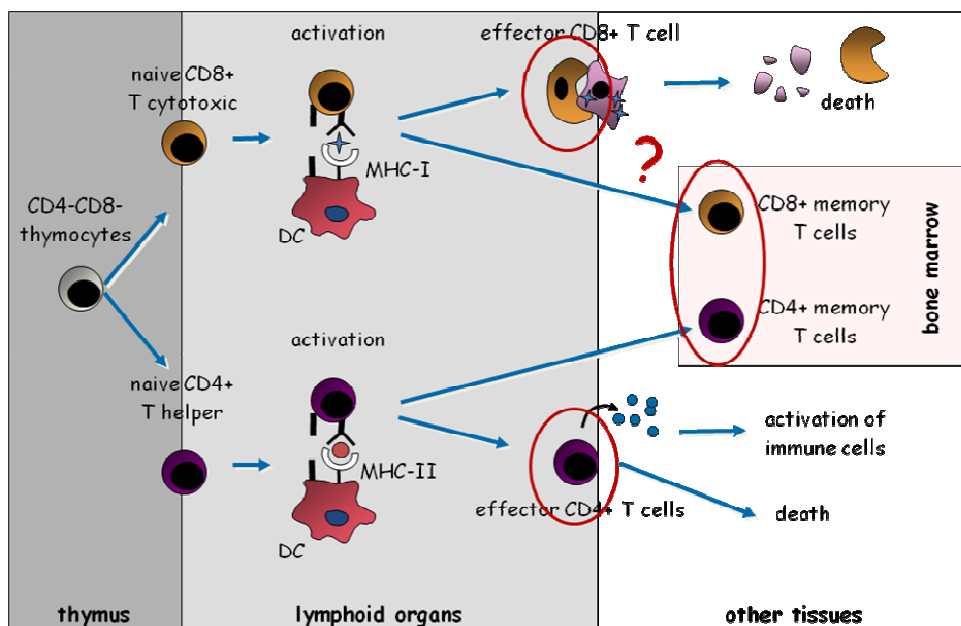
### A) Cellules T et résorption osseuse :

- **Résorpt° osseuse excessive assoc ac :**

- MAI et inflam
- Cancer
- Infect° chroniques

- **CT :**

- Proviennent **C souches hémat** formées au niv de la mo osseuse
- Vnt au thymus → **Sélect° thymique**
- Thymocytes = C caractérisées pas 2 marqueurs = CD4 et CD8
- Au départ thymocytes n'expriment pas les marqueurs
- Ap sélec thymique → C CD8+ naïve (LT cytotox) et C CD4+ naïves (LT helper)
- Marqueurs exclusif → Soit CD4 soit CD8
- C sortent du thymus et gagnent **organes lymphoïdes périph**
- **C CD8 :**
  - ❖ Activées par ac les C dendritiques via le CMH I
  - ❖ Cette interact° → Activat° des LT CD8 → Multiplicat° + act° (provoquer mort des cellules qu'elles reconnaissent)
  - ❖ Une partie de ces LT activés → **LT CD8 mémoires (Ds mo osseuse +++)**
- **C CD4+ :**
  - ❖ **Activées par C dendritiques via CMH II**
  - ❖ C CD4+ activées → Prolif + sécrét° cytokines → Activat° des autres C du SI (LB+++)
  - ❖ Puis → Mort
  - ❖ Une partie de ces LT CD4 activés → **L mémoires (Ds mo osseuse +++)**



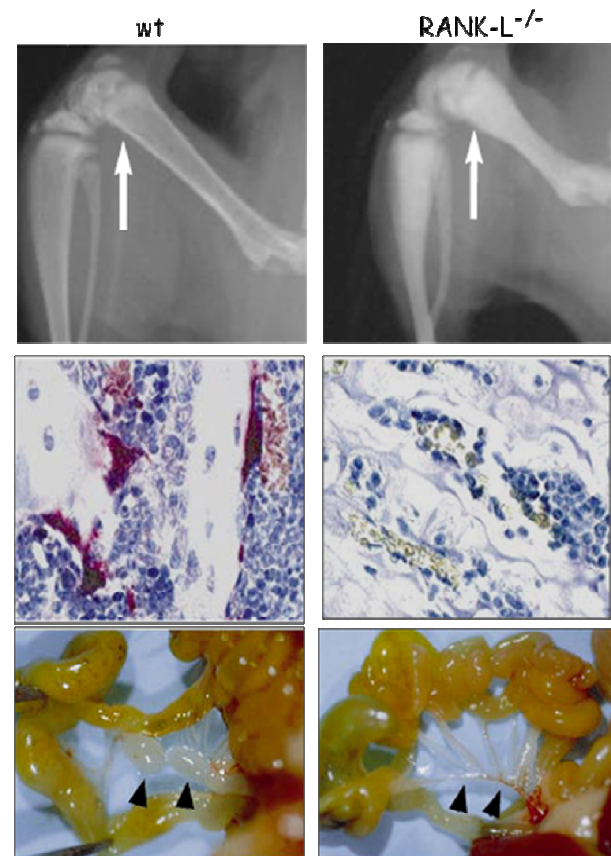
## B) Système RANK/RANK-L/OPG :

- *Sur souris :*

	<u><b>RANK-L</b></u>	<u><b>RANK</b></u>	<u><b>OPG</b></u>
<u><b>Sur</b></u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ C stromales de mo osseuse</li> <li>→ Ostéoblastes</li> <li>→ CT CD4+</li> <li>→ LT mémoires</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Surface précurseurs des ostéoclastes</li> <li>→ Surface ostéoclastes</li> <li>→ Ostéoclastes matures</li> <li>→ Surface C dendritiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ C stromales</li> <li>→ C dendritiques</li> <li>→ LB</li> <li>→ LT</li> </ul>
<u><b>Rôle</b></u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Cytokine</li> <li>→ Inducteur de <math>\neq</math>° des ostéoclastes</li> <li>→ Indispensable à la format° des ostéoclastes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Récepteur de RANK-L</li> <li>→ Régule <math>\neq</math>° mais aussi activité des ostéoclastes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Inhibe liai RANK/RANK-L</li> <li>→ Agit comme un récepteur soluble de RANK-L → Le piège et l'empêche d'agir sur RANK</li> </ul>
<u><b>Patho</b></u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Extinct° de la molécule → <b>Ostéoporose</b> = <math>\nearrow</math> généralisé de la densité osseuse car pas d'ostéoclastes → Mort</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Abolit° de la molécule → <b>Phénotype ostéoporotique</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ KO de l'OPG → <math>\nearrow</math> nbr ostéoclastes</li> <li>→ Surexpress° → <b>Phénotype ostéopétrotique</b> → car blocage <math>\neq</math>° ostéoclastes</li> </ul>

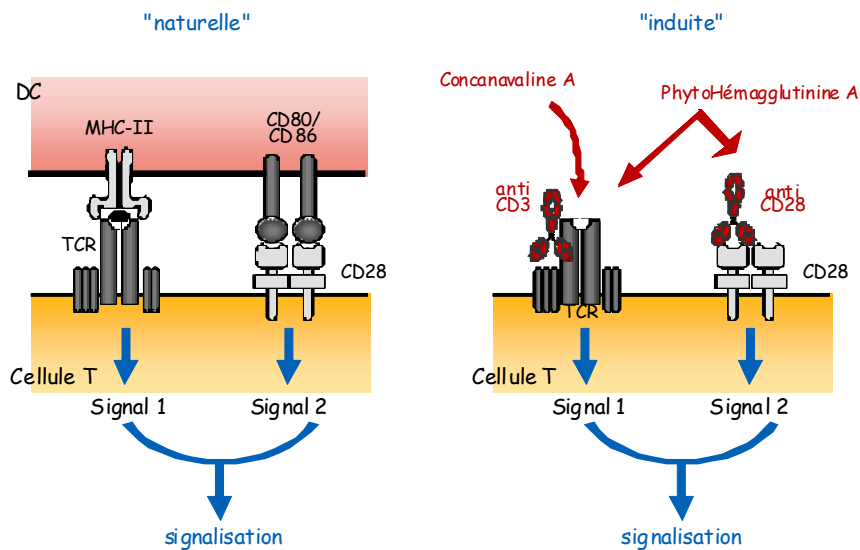
## C) La souris RANK-L-/-:

- *Phénotype identique que celui des souris RANK KO.*
- *Au niveau osseux (radio des pattes arrières) →  $\nearrow$  densité osseuse chez la souris KO et une abs de la cavité médullaire*
- **A l'histologie → une coupe réalisée au niveau des tibias :**
  - En blanc = travées osseuses
  - En bleu = nx des C hémato en général
  - En rouge = Grosses C multinucléées (ostéoclastes) révélées par enzyme = la phosphatase acide résistante au tartrate = enzyme nécessaire à la dégradat° osseuse
- *Chez la souris RANK-L-/- → Tjrs des travées osseuses (Bcp + nbeuses que chez la souris N)*
- *On a des AN aussi au niv du SI → Absence de ganglions mésentériques*



- **Activat° in vitro des LT mesurée par la sécrétion d'IL-2 :**
  - Chez les LT issus des souris RANK-L -/- → Etat d'activat° << que celui des LT issus des souris sauvages → déficit immunitaire ac ∩ activat° des LT

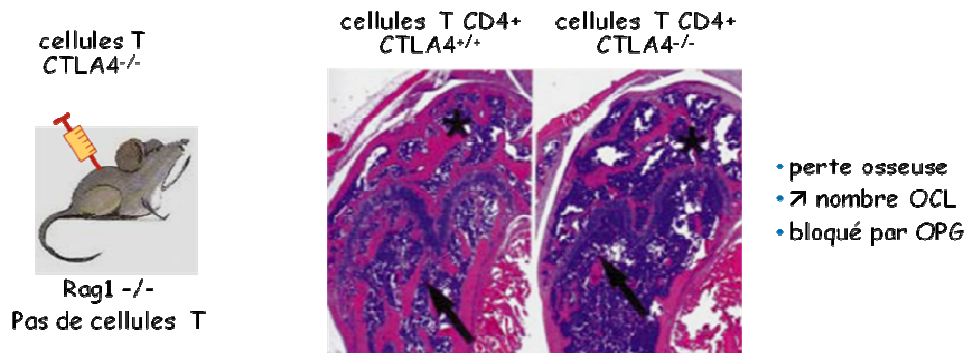
### Activation des lymphocytes T



- **Analyse de la prod de RANK-L par les LT activés :**
  - Mesure par RT-PCR de l'express° des ARN RANK-L à partir de ≠ types de LT
  - LT activés sans signal d'activat° particulier, par un AC anti CD28 (= molécules qui participent à l'activation des CT) → expression assez faible de RANK-L
  - Activat° ac ≠ moyens → AC anti-CD3 ou une combinaison anti-CD3/anti CD28 qui va mimer la présentation Agique et les signaux de co-activation → express° de RANK-L fortement ∇
  - Qd on utilise des inhibiteurs de la signalisat° → On re∩ express° de RANK-L.  
⇒ **RANK-L est caractéristique des cellules T activées en termes d'ARN**
- **Mm exp ac les prot en faisant une immunoprécipitat° qui va permettre de piéger le RANK-L prod par les CT activées :**
  - LT cultivés sans activat°
  - LT activés par un signal ac un AC anti-CD3 et un AC anti-CD28 → Prod RANK-L.
- 3<sup>ème</sup> type d'analyse a intéressé à la prod de RANK-L mbr (analyse par cytométrie en flux) → Montre que sur les LT naïfs → Faible express° de RANK-L → Expression très fortement ∇ ap activat° CT  
⇒ **Ttes ces analyses avaient pr but de mettre en évidence la prod de RANK-L par les LT activés.**
- **Conséquences de cette production sur les ostéoclastes :**
  - Exp de ≠° ostéoclastiques in vitro → C de mo osseuse cultivées en prés de M-CSF
  - Surnageant de CT activées ou des CT activées tuées (fixées) → Expriment RANK-L au niv mbr
  - Ds les 2 cas → Prod de grosses C multinucléées marquées en rouge par la TRAP = Ostéoclastes prod en prés de CT act

## D) Cellules T activées et ostéoclastogenèse in vivo :

- CTLA4 = régulateur de l'activation des cellules T
- CTLA4 KO = activation constitutive des cellules => baisse de la densité osseuse



Les CD4<sup>+</sup> activées induisent une ostéolyse RANK-L dépendante

- Modèle d'activation chronique des C T qui est le KO de CTLA4
- **CTLA4 :**
  - Indispensable pr la rép immunitaire
  - Contrôle l'activation C T → Régulateur négatif
  - Perte CTLA4 → CT activées en permanence → ↓ densité osseuse
  - Ces cellules activées de façon constitutive → Injectées chez souris sans LT (modèle Rag1<sup>-/-</sup>)
  - Puis mesure de l'effet des CT activées.
  - Coupe de fémur → C Rag1<sup>-/-</sup> infectées par LT CD4<sup>+</sup> non activés (en rose l'os et en bleu les C)
  - Chez souris injecté de C T activées de façon constitutive → ↓ Colorat° rose = ↑ résorption osseuse
  - On a aussi ↑ nbr ostéoclastes bloquée si inject° OPG
  - ⇒ **Cette ↑ résorption osseuse passe par sécrét° de RANK-L car OPG = inhibiteur spé de RANK-L.**
- **Donc :**
  - **C T CD4<sup>+</sup> act :**
    - ❖ Impliquées ds format° ostéoclastes via RANK-L
    - ❖ Présentes tt au lg de la vie
    - ❖ Sécrètent de nbeux autres fact modulateurs format° d'ostéoclastes → Analyse rôle de INF-γ → Destruct° osseuse obs ds souris KO pr R à INF-γ
  - Le + svt → Sans assoc ac perte osseuse → Existence d'1 méca contre-balançant l'effet de RANK-L

## E) Sous-populations de cellules T :

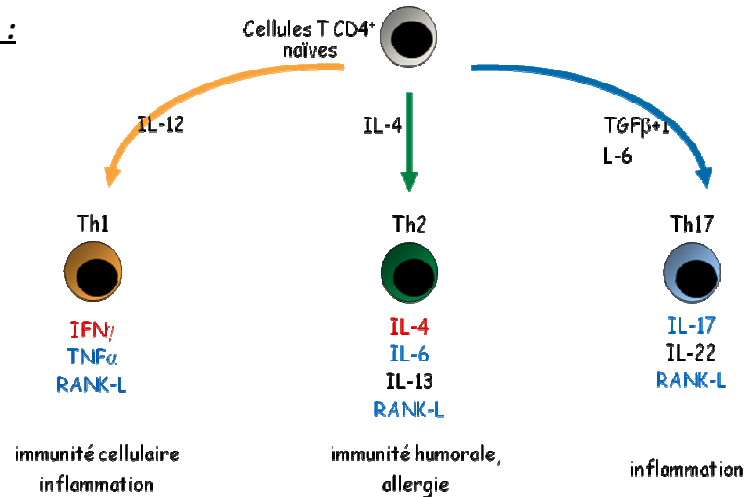
- **LT act :**

- Impliqués ds perte osseuse liée à l'inflammat°
- Induisent ostéoclastogénèse via RANK-L
- Inhibent ostéoclastogénèse via INF- $\gamma$  et IL-4
- ⇒ **Effet dominant de la balance entre fact positifs et négatifs +++**

- **Caract d'1 sous-pop de LT CD4+ ostéoclastogénique :**

- Peu ou pas de prod d'INF- $\gamma$  et IL-4
- Sécrét° RANK-L
- Induct° sécrét° RANK-L par C stromales

- **Th17 → Pas d'inhibiteur de l'ostéoclastogénèse**



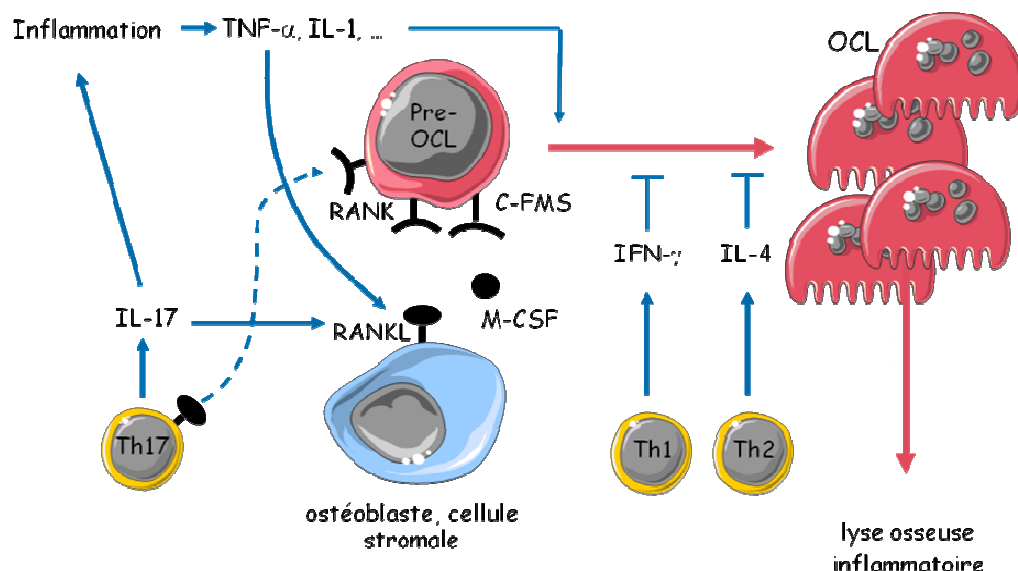
Ce qui importe c'est le rapport de ces différentes populations

- **Etude de l'effet de chacun des sous pop de LT sur la  $\neq$  ostéoclastique:**

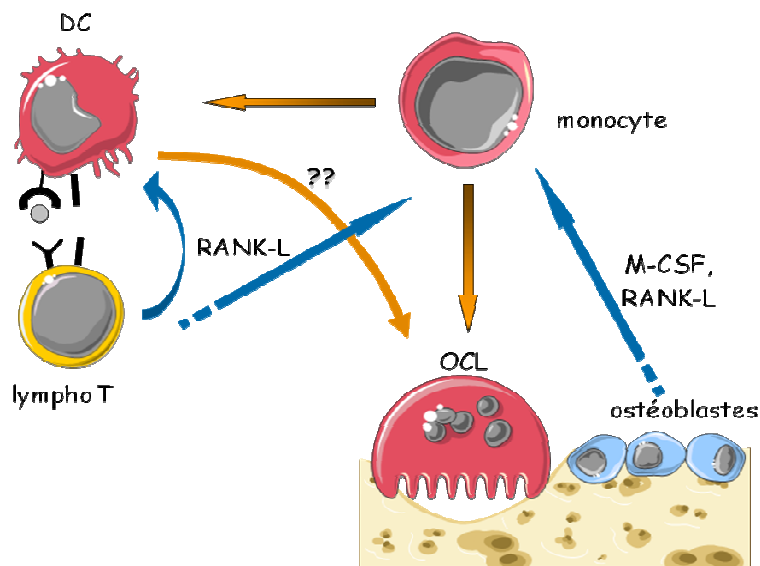
- Mm tech
- D'abord → Induct° format° ostéoclastique sans C T.
- Effet négatif des pop Th1 et Th2 sur  $\neq$  ostéoclastique car bcp d'INF- $\gamma$
- **Th17 → Bcp d'IL-17 → Act° sur ostéoblastes et C stromales qui produisent RANK-L = Effet indirect**

- **Si phénotype IL-17 -/- :**

- Pas de  $\neq$  de densité osseuse ac la souris normale
- Mais inflammat° induite ap inject° de LPS → Pas de résorpt° osseuse car pas d'ostéoclastes
- ⇒ **TH-17 induisent format° ostéoclastes pdt inflammat°**

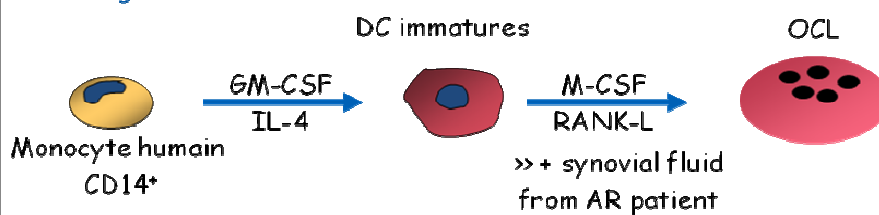


### III) Rôle des cellules dendritiques dans la résorption osseuse :



	monocyte	DC	ostéoclaste
Rôle	Précurseur	Présentation antigénique	Résorption osseuse
Localisation	Sang, BM	tissus	os
Marqueurs	CD11b <sup>+</sup> Ly6C <sup>+</sup>	CD11c <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> / <sup>-</sup> Ly6C <sup>-</sup>	CD11c <sup>+</sup> / <sup>-</sup> CD11b <sup>+</sup> / <sup>-</sup> Ly6C <sup>-</sup> Cellule multinucléée

#### In vitro generated DCs

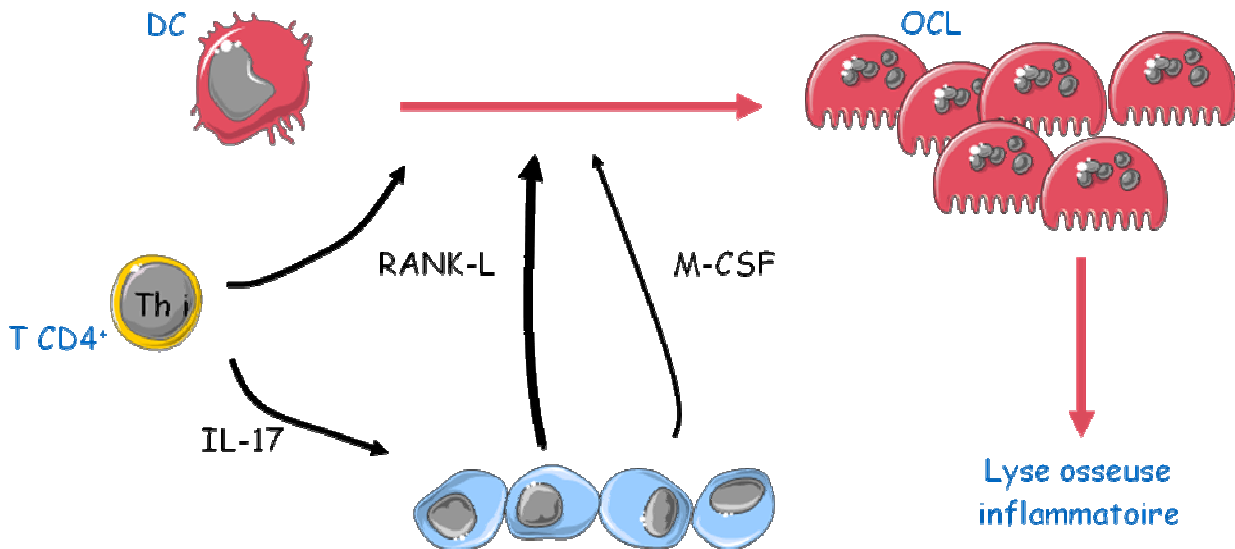


#### Ex vivo sorted DCs





- **Méca contrôlant la  $\neq$  des C dendritiques en ostéoclastes :**
  - Non détecté chez souris saine
  - Détecté ds 1 modèle où RANK-L est  $\nearrow$
  - Rôle connu des CD4+ act ds l'  $\nearrow$  de RANK-L
  - **CT CD4+ nécessaire à la  $\neq$  des C dendritiques en ostéoclastes**



- **Nécessité de LT inflammatoire + 1 forte express° de RANK-L :**
  - ⇒ Voie de  $\neq$  pathologique
  - ⇒ Pourrait participer à l'ostéolyse inflammatoire

#### IV) Conclusion :

- C immunitaire impliquées ds  $\neq$  des ostéoclastes
- **CT:**
  - AXE RANK-L/RANK/OPG  $\rightarrow$  Connect° physio entre la rep immune et le métabo osseux
  - C osseuses influencées par cytokines exprimées par les LT CD4 + act
- **C dendritiques :**
  - Se différencient en ostéoclastes  $\rightarrow$  Participat° à résorpt° osseuse
  - Nécessitent condit° inflammatoire = TH-17