Introduction à la biologie des parasites
Immunité anti-parasitaire
(4ème partie)

Pascal Launois
Université de Lausanne

IF2004 IP-d,e,e'
5, 6 et 8 avril 2004

Parasite et système immunitaire

- **Le parasite:**
  - **Longue durée de vie (chronicité?)**
  - **Métamorphose**
    - **Multiples stades de dévelopment**
    - **Variation antigénique**
  - **Mécanismes d'évasion**
- **Le systeme immunitaire :**
  - **Réponse à mediation cellulaire (cellules T)**
  - **Réponse humorale (cellules B)**

Importance des infections parasitaires

- **Pays en voie de dévelopement**
- **Infections émergentes dans les pays dits développés**
  - **Cryptosporidies**
  - **Toxoplasma gondii**
- **SIDA**
  - **T. gondii**

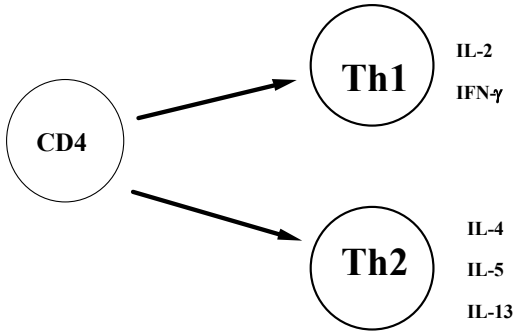
Parasitoses chez l'homme

Parasitose	Incidence (nouveaux cas)	Prevalence (nombre de cas)	Methodes de contrôle
Protozoaires			
Paludisme	300-500 millions	Non connu	contrôle du vecteur, traitement, moustiquaires
Maladie de Chagas (*T. cruzi*)	800 000	18 millions	Contrôle du vecteur
Leishmanioses	1-8 millions	12 millions	Contrôle du vecteur , traitement
Maladie du sommeil (*T. brucei rhodiense* et *T. gambiense*)	Non connu	30 000	Contrôle du vecteur
Helminths	Non connu		
Ascaris		250 millions	traitement, hygiène
Shistosomiase		200 millions	traitement, hygiène
Ankylostomoses		151 millions	traitement, hygiène
Filarioses lymphatiques		120 millions	traitement, hygiène
Onchocercose		18 millions	traitement

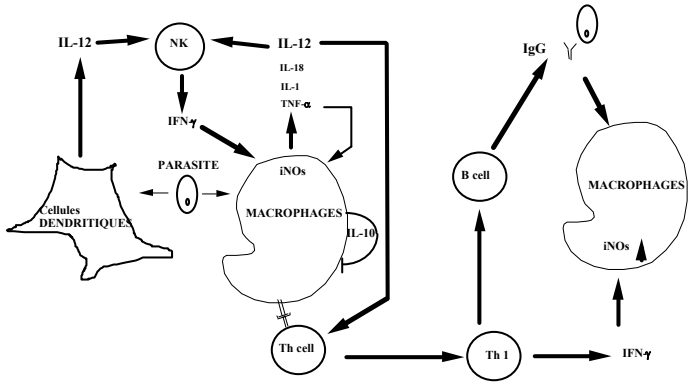
La réponse immunitaire

- Les différents éléments de la réponse immunitaire
  - Les cellules T produisent des cytokines
    - $CD4^+$ reconnaisant les antigènes dans le contexte du CMH de classe II
    - $CD8^+$ reconnaissant les antigènes dans le contexte du CMH classe I
  - Les cellules B produisant les anticorps
  - Les autres cellules
    - NK
    - NK1.1
    - Cellules γ/δ etc…
  - Les cellules présentant l'antigène : macrophages, cellules dendritiques

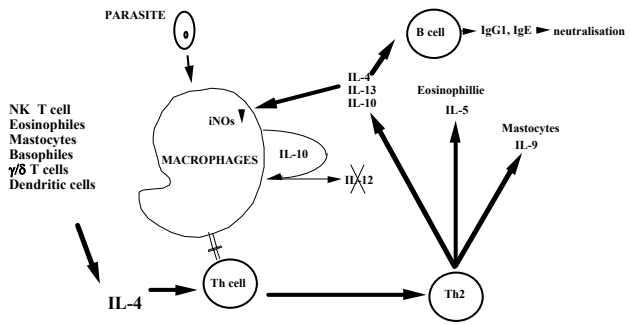
La réponse Th1/Th2

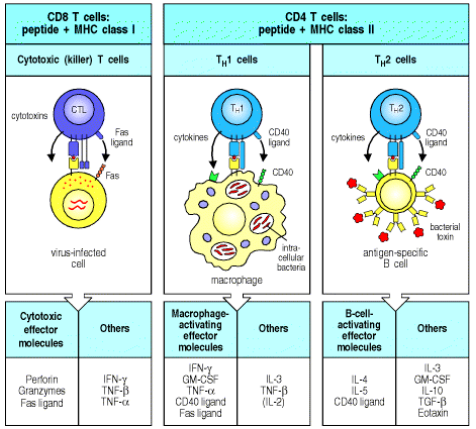


Réponse Th1

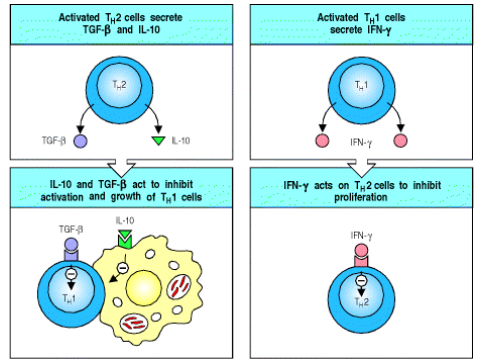


Réponse Th2





Regulation de la réponse Th1 par Th2 et vice versa



Réponse Th1/Th2 et infection naturelle

- **Réponse protectrice = élimination totale du parasite**
  - **Évènement rare**
- **Réponse protectrice partielle**
  - **Infection chronique et persistante (parasites non complètement éliminé)**
  - **Empêche l'infection mortelle**
  - **Induit souvent certaines pathologies**
- **Réponse Th1 protectrice = intra cellulaire (leishmanioses)**
- **Réponse Th2 protectrice = extra cellulaire (helminthiases)**

Plan

1. **Les réponses induites par differents parasites**
   - **-réponse Th1 protectrice**
   - **-réponse Th1 pathologique**
   - **-réponse Th2 protectrice**
   - **-réponse Th2 pathologique**

2. L'influence de la réponse immunitaire envers le parasite sur les autres réponses (auto-immunité?)

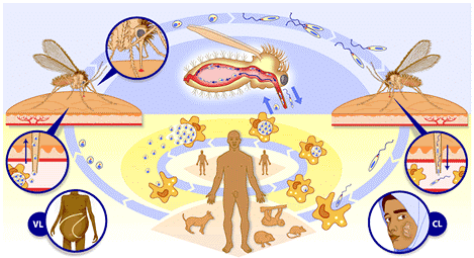
3. Les mécanismes utilisés par le parasite pour échapper au système immunitaire

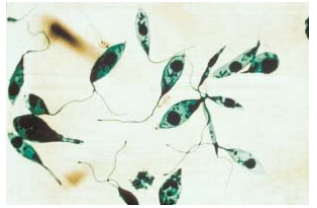
3. les stratégies utilisables dans le développement d'un vaccin (paludisme)

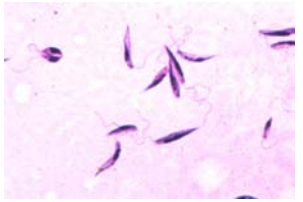
Réponse Th1 protectrice

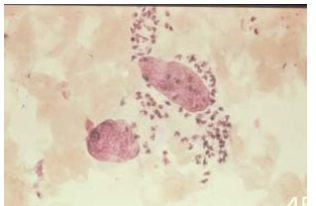
- **Protozoaires**

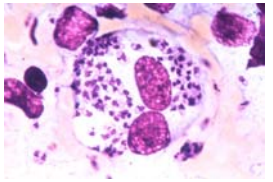
1. Leishmania major











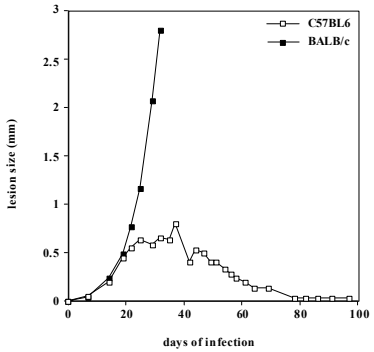
Leishmanioses

Leishmaniose cutanée

Leishmaniose viscerale

Leishmaniose mucco-cutanée

Le modele murin d'infection par *L. major* = Leishmaniose cutanée

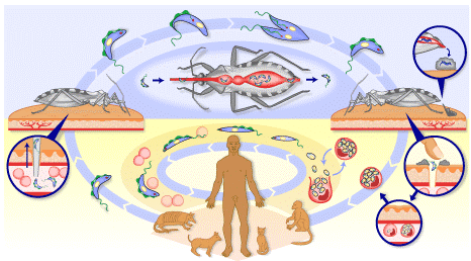


Réponse Th1 protectrice et infection à *L. major*

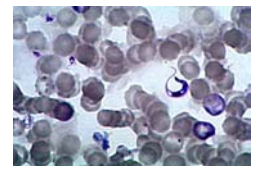
- **Résolution des lésions**
  - **Activation des macrophages par l'IFN-γ produit par les cellules NK et CD4+ Th1**
    - **IFN-γ $^{-/-}$, IFN-γR $^{-/-}$ et iNOs $^{-/-}$ sur un backgroung genetique resistant ⇒ sensibles**
    - **Traitement avec inhibiteur de NO synthase (L-N6-iminoethyl-lysine) ⇒ sensibles**
- **Protection = non sterile**
  - **Traitement lors de la resolution des lesions par inhibiteur de la NO synthase ⇒ reactivation des lesions**

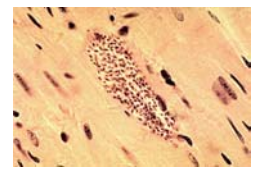
Réponse Th1 et *Trypanosoma crusi*

- **Protozoaires**
  2.Trypanosoma cruzi (Trypanosomiase américaine)



***Trypanosoma cruzi* (maladie de Chagas)**





Maladie de Chagas

Phase aigue initiale

- **Signes locaux: oedème au niveau piqure aspect "furoncle"**
- **Signes géneraux : fatigue, fièvre 1-2 mois, adénopathies, hépato-splénomégalie**
- **Signes loalisés : cardiaque (tachycardie) et neurologiques (convulsions)**

guérison 1-2 mois

Phase silencieuse asymptomatique (10-20 ans)

Phase chronique (30%)

formes cardiaques : cardiomegalie avec risque de mort subite
formes digestives mega-organes (oesophage et colon)
neuropathies avec des troubles moteurs et sensitifs

!!! Chez immunodéprimés = méningo-encéphalite et cardiopathie aigue

Réponse Th1 protectrice et maladie de Chagas

- **Protection dépendante des $CD8^+$**
  - **Souris déficientes en CMH classe I ($I^{-/-}$) ou en β2 microglobuline ($\beta 2m^{-/-}$) sur fond génetique résistant ⇒ sensibles**
- **Protection dépendante de l'IFN-γ**
  - **Administration IFN-γ diminue les lésions**
  - **Neutralisation de l'IFN-γ augmente les lesions**

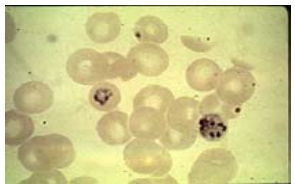
⇒ Protection = $CD8^+$ produisant de l'IFN-γ

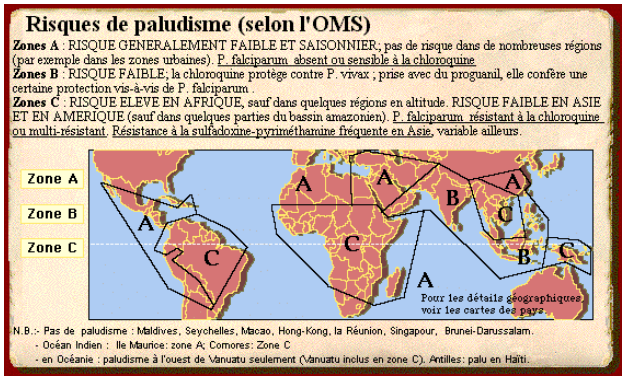
⇒ (en accord avec le fait que *T. cruzi* puisse sortir des vésicules intra cellulaires pour devenir cytosolique)

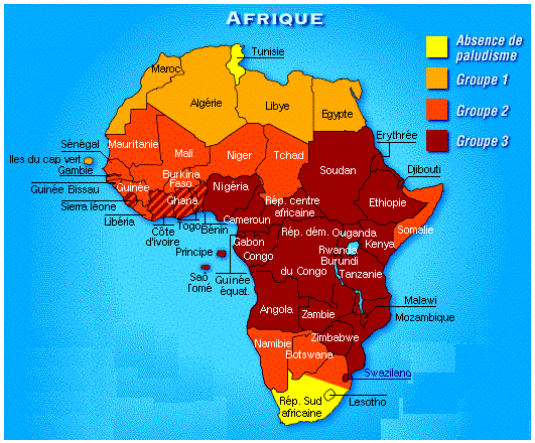
Plasmodium falciparum

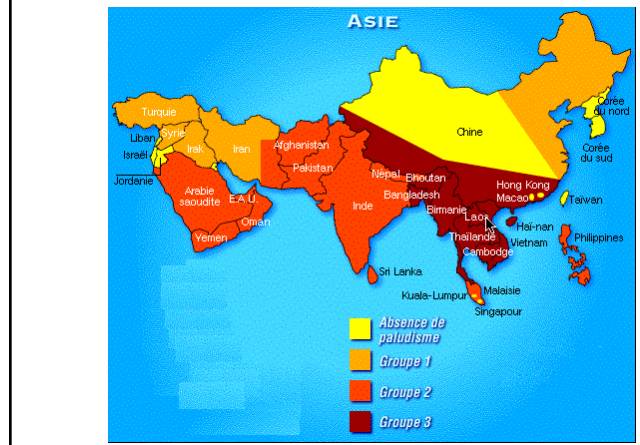
Protozoaires

3. *P.falciparum*

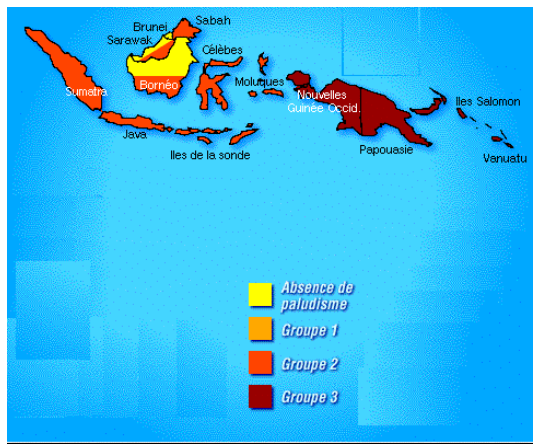


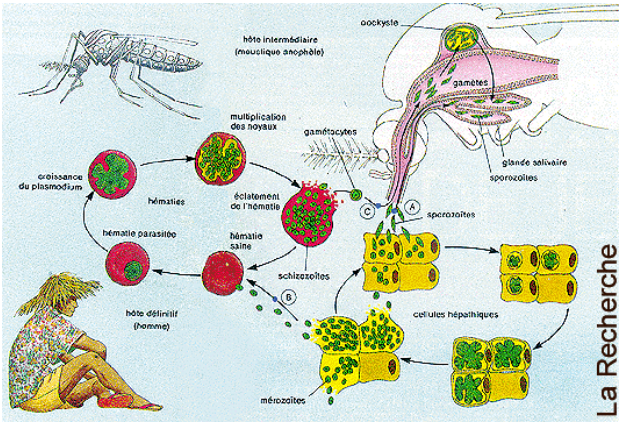



AFRIQUE
Absence de paludisme
Groupe 1
Groupe 2
Groupe 3
Tunisie
Maroc
Algérie
Libye
Egypte
Sénégal
Mauritanie
Mali
Niger
Tchad
Soudan
Erythrée
Djibouti
Iles du cap vert
Gambie
Guinée Bissau
Guinée
Burkina Faso
Nigéria
Ghana
Sierra léone
Libéria
Côte d'ivoire
Togo
Bénin
Cameroun
Rép. centre africaine
Ethiopie
Rép. dém. Ouganda
Somalie
Kenya
Gabon
Congo
Rwanda
Burundi
Principe
Sao Tomé
Guinée équat.
du Congo
Tanzanie
Angola
Zambie
Malawi
Mozambique
Namibie
Zimbabwe
Botswana
Swaziland
Rép. Sud africaine
Lesotho


ASIE
Absence de paludisme
Groupe 1
Groupe 2
Groupe 3
Turquie
Liban
Syrie
Israël
Irak
Iran
Afghanistan
Pakistan
Chine
Corée du nord
Corée du sud
Jordanie
Arabie saoudite
E.A.U.
Oman
Yemen
Inde
Népal
Bhoutan
Bangladesh
Birmanie
Hong Kong
Macao
Taiwan
Laos
Hai-nan
Thaïlande
Vietnam
Philippines
Cambodge
Sri Lanka
Kuala-Lumpur
Malaisie
Singapour

AMÉRIQUE
Absence de paludisme
Groupe 1
Groupe 2
Groupe 3
Guatemala
Mexique
Belize
Honduras
El Salvador
Nicaragua
Costa Rica
Panama
Guyana
Vénézuéla
Surinam
Colombie
Guyane française
Equateur
Brésil
Pérou
Bolivie
Paraguay
Chili
Argentine
Uruguay
République dominicaine
Cuba
Bahamas
Puerto Rico
Jamaïque
Haïti
St Barthélémy
St Martin
Guadeloupe
Martinique
Sainte Lucie
Grenadines


Brunei
Sabah
Sarawak
Célèbes
Sumatra
Bornéo
Moluques
Nouvelles Guinée Occid.
Iles Salomon
Java
Iles de la sonde
Papouasie
Vanuatu
Absence de paludisme
Groupe 1
Groupe 2
Groupe 3



Réponse Th1 protectrice et paludisme

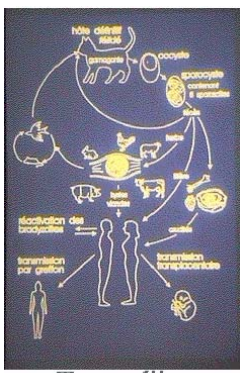
- Cycle complexe.
  - 2 stades intra cellulaires
    - Hepatocytes (MCH classe I positive)
    - GR (pas de MCH classe I et II)
  - 1 stade extracellulaire

⇒Réponse anticorps contre les sporozoites/stades erythrocytaires
Transfer d'anticorps (*P. berghei* ou *P. yoelli*) = protection

⇒ Réponse Th1 contre les stades intra hépatiques
Administration d'IL-12 souris et singes = résistance (*P. cynomolgi* ou *P.yoelli*)
Clone Th1 produisant de l'IFN-γ = protection lors transfer adoptif
souris IL-12 $^{-/-}$ = infection léthale
souris IFN-γ $^{-/-}$ et IFN-γR $^{-/-}$ = sensible à l'infection létale

Réponse Th1 protectrice et *T. gondii*

- Protozoaires
  4. T. gondii



T. gondii

Réponse Th1 protectrice et *T. gondii*

- Infection à *T. gondii* non restreinte à l'homme
- Chez l'invidu non immunodeprimé
  - Infection chronique
  - Enkystement dans les muscles et le SNC
- Nécessité de l'IFN-γ et du TNF-α
  - Neutralisation de l'IFN-γ et/ou du TNF-α = dissemination
  - inhibition de la NO synthase = dissemination
- Nécessité des CD4 et des CD8
  - Depletion des CD4 et/ou des CD8 = dissemination
- Vaccination avec une souche avirulente protège contre une infection

⇒ $CD4^+$ ΩIL-2 Ω$CD8^+$ ΩIFN-γ

Réponse Th1 protectrice et protozoaires

- Role of $CD4^+$ Th1 = Leishmaniose
- Role des $CD8^+$ Th1 = maladie de Chagas
- Role des $CD4^+$ et $CD8^+$ Th1 = Toxoplasmose

Réponse Th1 et pathologie

- <u>Malaria cérébrale</u>
  - Chez l'homme
    - Congestion des vaisseaux (sequestration des GR infectées)
    - Hémorragies
    - Oedeme cérébral?
  - Chez la souris (*P. berghei* ANKA)
    - Hémorragies
    - Oedeme cérébral
    - adhésion de monocytes et de parasites sur les vaisseaux endothéliaux cérébraux

Réponse Th1 et malaria cérébrale chez la souris

- Depend de
  - CD4, CD8, γ/δ T cells
  - IFN-γ, TNF-α
    - Neutralisation = prevention de la CM
  - LTα
    - Taux élevés dans CM

Réponse Th1 et pathologie des helminthes

- Filarioses
  - *Wuncheria bancrofti*
  - *Brugia malayi*
  - *Brugia timori*

Réponse Th1 et pathologie des filarioses

Cycle:
- Microfilaire dans le sang =souvent asymptomatique
- Ver adulte dans les vaisseaux sanguins = pathologie sévère type éléphantiasis

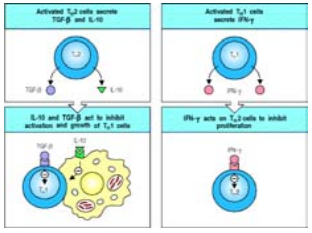
- Cellules T stimulées
  - IFN-γ = pathologie severe
  - IL-4, IL-10 = microfilarémie

Réponse Th1 et pathologie

Th1 induit elle-méme la pathologie?

malaria cerebrale

Impossibilité de développer une réponse Th2 qui normalement régule la réponse Th1 ?



⇒ Modèle d'infection par *Toxoplasma gondii*

- ***T. gondii***
  - souche ME49 haute dose voie orale
    - C57BL/6 réponse Th1 avec inflammation très severe ileon (iléite) / absence d' IL-4 et IL-10 chez C57BL/6
    - BALB/c réponse Th1 mais réaction intestinale minime /présence d' IL-4 et IL-10 chez BALB/c
    - souris BALB/c IL-4 $^{-/-}$ et IL-10 $^{-/-}$ = mortalité accélérée avec augmentation de la réponse Th1

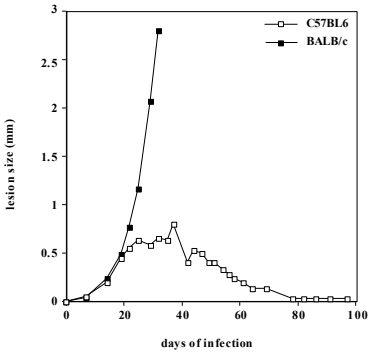
Réponse Th2 et protection

- Helminths
  - *Trichuris muris*
  - *Nypostrongylus braziliensis*
  - *Strongyloides stercocalis*

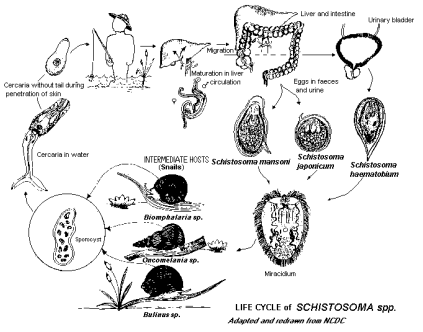
- Association réponse Th2 et résistance à l'infection
  - Quels mécanismes ?
    - Production IgE/IgG1
      - » transfer IgE associé a l'expulsion de *Trichinella spiralis*
      - » augmentation des IgG1 associée a l'expulsion de T. *spiralis*
      - » complexe Ac-Ag = Anticorps dependant cytotoxicité ADCC
    - Mastocytes
      - » Souris déficientes en mastocytes = pas d'expulsion des vers
    - Cytokines Th2 :
      - » IL-4, IL-13, IL-9 ????

Réponse Th2 et pathologie

- *L. major*



Schistoma mansoni : particularités



S. mansoni : particularités

- **Passage des oeufs des vaisseaux ⇒ intestin = perforation**
  - **⇒ Inflammation**
  - **⇒ Passage de bactéries = exposition aux endotoxines bactériennes⇒ cachexie**

-réponse Th1 associée à la morbidité (cachexie)

Neutralisation du TNF-α = baisse de la morbidité
Importance des lésions corrélée avec la production de NO

-réponse Th2 = protection contre la réponse inflammatoire trop importante

souris déficientes en IL-4 = augmentation de la morbidité

⇒La réponse Th2 controle la pathologie médiée par la réponse Th1

S. mansoni : particularités

- **Formation du granulome dans le foie**
  - **association granulome et réponse Th2**
    - **Oesinophiles dans le granulome**
    - **CD4 necessaire à la formation du granulome**
    - **Neutralisation IL-4 = baisse de la taille du granulome**

    ⇒ CD4 Th2 nécessaire a la formation du granulome
  - **Role du granulome?**
    - **Pathologie .**
      - **Association avec fibrose et insuffisance hepatique**
      - **Association Th2/fibrose :**
        - » **Neutralisation IL-4 = baisse de la fibrose**
    - **Protection**
      - **SCID mice = pas de granulome et mort par necrose cellulaire**

⇒Alternative pour ne pas mourir et compromis pour vivre avec l'infection

S. mansoni : conclusions

- **Réponse Th2**
  - **Plutot protectrice dans le passage des oeufs des vaisseaux vers l'intestin**
  - **Plutot pathologique dans la formation du granulome dans le foie**

⇒complexité des problèmes à élucider avant l'obtention d'un vaccin

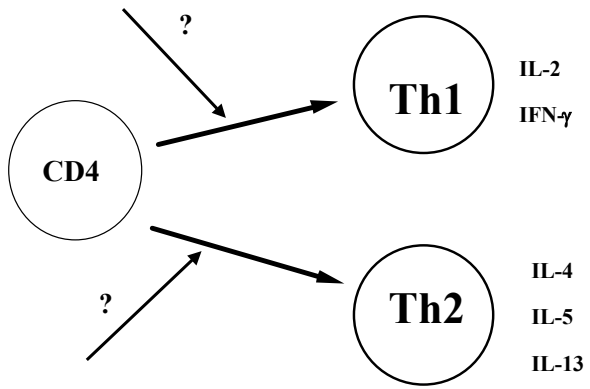
développement d'une réponse Th1
développement d'une réponse Th2
fine balance entre les 2

développement d'une réponse Th1 protectrice
protozoaires
développement d'une réponse Th2 protectrice
helminths
fine balance entre réponse pathologique Th1 et régulatrice Th2

⇒ complexité des problèmes a élucider avant l'obtention d'un vaccin anti - parasitaire

⇒ comprendre la differentiation Th1/Th2

Quels sont les facteurs influençant le développement d'une réponse Th1 ou Th2 ?



Quels sont les facteurs influençant le développement d'une réponse Th1 ou Th2 ?

- **La nature de l'antigène**
  - **Il n'existe pas d'antigène Th1 ou Th2**
  - **Dépend de la nature du milieu**
- **La voie d'administration de l'antigène**
  - **L'injection iv de *Leishmania* induit la protection contre l'injection ulterieure par voie sc chez la souris sensibles**
- **Le site d'inoculation**
  - ***L. major* dans le coussinet plantaire de souris resistantes SWR = réponse Th1**
  - ***L. major* dans le dos = réponse Th2**
- **La dose d'antigène**
  - **Basse dose =Th2**
  - **Haute dose = Th1**

Quels sont les facteurs influençant le développement d'une réponse Th1 ou Th2 ?

- La nature des APC
  - Macrophages et DCs = réponse Th1
  - Cellules B = réponse Th2
- La nature des facteurs de co-stimulation
  - CD40-CD40L = réponse Th1
  - CD86 = réponse Th2
  - CTLA-4 = resolution des réponses Th1 et Th2
    - Reconnaissance CD28 sur les cellules T et B7.1 (CD80) et/ou B7.2 (CD86) sur les APC
    - Regulation positive de CTLA-4 sur les cellules T
    - Liaison sur CD80-CD86 (meilleure affinité)
    - Signal négatif = résolution de la lésion

Quels sont les facteurs influençant le développement d'une réponse Th1 ou Th2 ?

- L'affinité du TCR pour le peptide reconnu
  Faible affinité = réponse Th2
  Forte affinité = réponse Th1
- La nature des cytokines
  IL-4, IL-10 and IL-13 = réponse Th2
  IL-12, IL-27, IFN = réponse Th1

Autres ?
facteurs génétiques ????

2. L'influence de la reponse immunitaire envers le parasite sur les autres réponses

A. sur les réponses contre d'autres pathogènes

- Immunosuppression
  - Impossibilité des cellules T à proliférer en réponse à des antigènes spécifiques autres que ceux du parasite ou à des mitogènes
    - augmentation des maladies intercurrentes (paludisme)
- Immunodéviation
  - Modulation de la réponse induite par le parasite sur une autre réponse
    Ex. Infection par *Mycobacterium bovis* BCG
    BCG Injecté souris saines ⇒ Th1
    BCG injecté souris infectees par helminthes ⇒ Th2

⇒Important dans les campagnes de vaccination +++
ex: region endémique pour la schistosomiase et filariose = moins bonne réponse au vaccin anti-tétanique

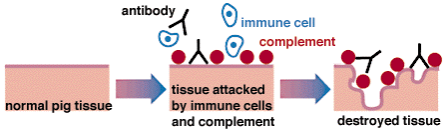
2. L'influence de la reponse immunitaire envers le parasite sur les autres réponses

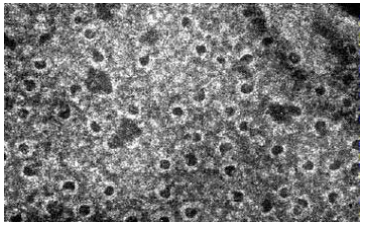
- **A. sur les réponses auto-immunes**
  - Diabete insulino-dependent dans les souris NOD ⇒ réponse Th1 envers les cellules pancréatiques
  - infection à *S. mansoni* ⇒ réponse Th2
  - Souris NOD infectées par *S. mansoni*
    - Réponse Th2 avec inhibition de la réponse Th1 envers les cellules pancréatiques
    - Moins de diabète
    ⇒ Influence de l'infection parasitaire sur une réponse immunitaire

    aucune preuve formelle chez l'homme
    Mais possibilité à ne pas écarter.

3. Les mécanismes d'échappement du parasite

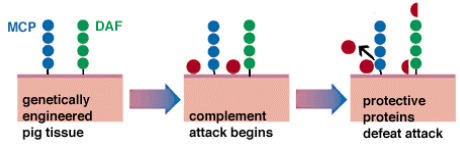
-Echaper à la lyse du complément





MAC complex

a



-Echaper à la lyse du complément

- **Molecules ayant une activite DAF, ex . *T. cruzi***
- **Adhesion de DAF à la surface du parasite**
- **Expression de molecules capAbles d'inhiber l'insertion du complexe d'attaque membranaire sur le parasite (MAC), ex *T. brucei***

- **Evasion immunitaire**

surtout parasite extracellulaire

P. falciparum

***T. rhodensiensis* (trypanosomiase africaine)**

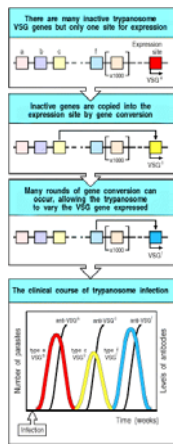
expression de molecules de surface tres variable = variant

Trypanosoma

VSG Variant Surface Glycoprotein chez *Trypanosomia*
exposée à la surface d'un parasite

Plasmodium falciparum

genes VAR (50-150 variants)
PfEMP1 P.f. Erythrocyte Membrane Protein 1
expression sur GR infecté



- **Dérobement immunitaire (pathogènes intra-cellulaires)**

  Envahissement des cellules sans les activer

  Leishmania

  Inhibition spécifique d'IL-12

  autres cytokines inflammatoires =production normale

  Th2 cytokines (IL-10) = pas de rôle

  ⇒ peu d'IFN-γ ⇒ pas d'activation des macrophages

  ⇒ survie du parasite

- **Camouflage (*S. mansoni*)**

  Association de molécules à la surface du parasite pour empêcher l'action des anticorps

  mécanisme jamais vraiment prouvé

  mais possible (cf rôle du traitement par Praziquantel)

  Praziquantel = altération de la paroi du parasite

  Abs reconnaissent protéines de surface après traitement par Praziquantel

  rôle?

- **Déviation de la réponse immunitaire au profit du parasite**
  - ***T. muris***

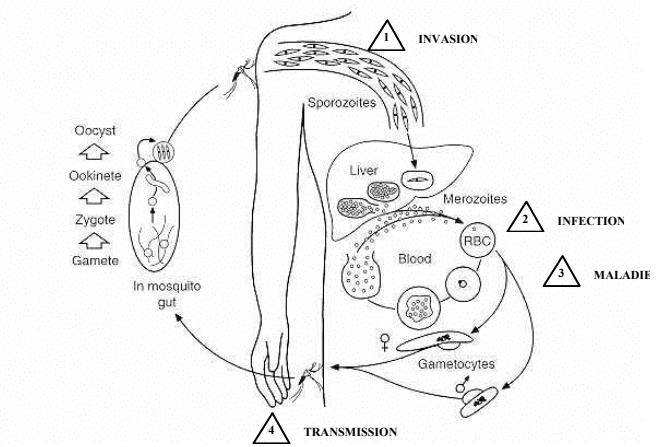
    Réponse Th1 = survie du parasite

    Réponse Th2 = expulsion du parasite

  Exploitation au profit du parasite

  présence de molécules à la surface du parasite de molécules ressemblant à l'IFN-γ

4. La vaccination anti parasitaire : le modele "paludisme"



Vaccination dirigée contre les stades pré-erythrocytaires

- **Irradiated sporozoites = protection**

  Anticorps dependante : CSP antigène de CircumSPorozoite
  neutralise les sporozoïtes AVANT l'entrée dans le foie

  CD8 dépendante (IFN-γ)
  induction de NO dans les hépatocytes

  Autres antigenes cibles de la réponse immune
  SSP2/TRAP Sprorozoite Surface Protein 2/ Thrombospondin Related Anonymous Protein
  STARP Sprorozoite Threonine and Asparagine Rich Protein
  SALSA Sporozoite And Liver Stage Antigen
  LSA-1 Liver Stage Antigen-1
  MSP-1 Merozoite Surface Protein 1

Vaccination dirigée contre les stades pré-erythrocytaires

- **Plusieurs problèmes**
  - **Anticorps**
    - **necessite de tres haut taux d'anticorps anti-CSP pour être efficace chez la souris**
  - **CD8 /IFN-γ/NO**
    - **uniquement apres injection unique (jamais si doses repetees)**
    - **or infection multiples chez les sujets vivant en zone d'endémie**
  - **Echappemet d'un ou plusieurs sporozoites :**
    - **quel effet sur la pathologie?**

Vaccination dirigée contre les stades pré-erythrocytaires

- **Lors essais chez l'homme vaccinés par de sporozoites irradiés**
  - **Anticorps anti-CSP et autres antigènes de surface**
  - **Présence de $CD8^+$ à activité cytolytique**
    - **mais pas de corrélation entre le taux et la protection**
- **Lors d'infection naturelle**
  - **Anticorps dans les populations exposées du Kenya et Brésil (CSP)**
  - **50% des adultes au Kenya des cellules cytotoxiques contre la CSP**
  - **Induction de CTL mémoire chez australiens ayant eu des accès palustres**

Vaccination dirigée contre les stades erythrocytaires

Serait la plus adaptée car les formes erythrocytaires sont responsables de la maladie
MAIS variation antigénique importante (génes VAR- 50 et 100 copies).

Immunité humorale +++
transfer passif d'anticorps provenant de sujets immunisés
à des enfants = protection

faciliter la destruction des GR infectés mais mécanismes non connus précisement

Cibles
MSP-1 Merozoite Surface Protein 1
AMA1 Apical Membrane Antigen 1
genes VAR?

Vaccination anti-maladie/pathologie

- **Pathologie et paludisme chez l'homme :**
  - **Signes cliniques**
    - **Fievre, frissons,**
    - **Anémie**
    - **Hypoglycémie**
    - **Insuffisance rénale**
    - **Paludisme cérébral : congestion des vaisseaux, hemorragies cérébrales, oedeme**

Vaccination anti-maladie/pathologie

- **Modéle animal de paludisme cérébral**
  - **Infection par *P. berghei* ANKA**
    - **Hemorragies**
    - **Oedeme cerebral**
    - **Attachement des monocytes et parasites aux cellules endothéliales**
  - **Depend**
    - **Des CD4 , CD8 et γ/δ (souris KO ou traitées par Ac)**
    - **de l'IFN-γ et de la LTα**
    - **Du TNF-α induit par les toxines parasitaires (GPI glycosylphosphtidylinositol)**
  - **Cibler ces molecules afin d'obtenir des anticorps neutralisants: Immunisation des souris avec GPI protège contre infections**
  - **Immunoprophylaxie (Ac anti-TNF-α?)**

Vaccination anti-transmission

- **Pourrait prevenir la transmission de variant (utilité en association avec autres vaccinations anti -*P. falciparum*)**
- **Intérêt dans les endroits où il n'existe pas de réservoir = éradication.**
- **Cible : gametes chez l'homme**

  stades sporogoniques chez le moustique (les Acs copntenus dans les repas sanguins pourraient inhiber le developpement du parasite)

  Pfs 25, 28, 230 et Pfs 48/45

  invariant +++