Biologie des cellules présentatrices d'antigènes

Dr. Stéphanie Graff-Dubois
MCU UPMC,
INSERM U698: Immunopathologie cardiovasculaire
Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard, Paris.
tel: 01 40 25 85 95
Stephanie.graff-dubois@crc.jussieu.fr

11 février 2010

Plan

I. Généralités

II. Les différentes APCs
1. Les macrophages, les lymphocytes B et les cellules dendritiques
2. Capture des AG
3. Distribution
4. Propriétés

III. Les cellules dendritiques (DCs)
1. Les différents sous-types de DCs
2. Activation des DCs
3. Migration vers les organes lymphoïdes secondaires
4. Fonctionnalités

IV. Étude des fonctions immunologiques des DCs *in vitro*

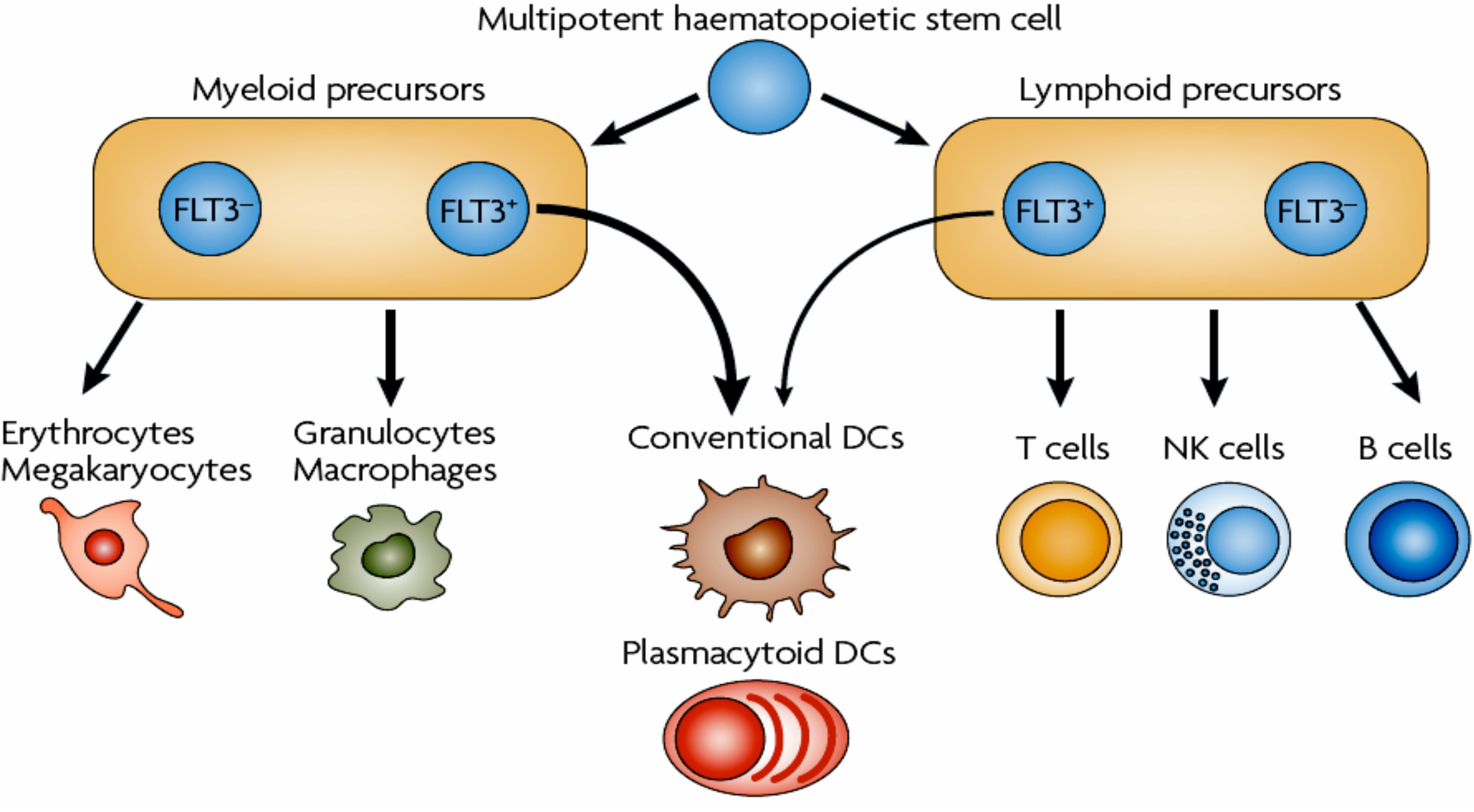
V. Applications thérapeutiques des DCs

Généralités

- Interface entre la réponse immune de type innée et la réponse immune adaptative

- APCs nécessaires à l'induction de la réponse immune adaptative:
  - Capture de l'AG (Rr +/- spécifiques)
  - Présentation de l'AG et des signaux de costimulation

Développement des APCs à partir des précurseurs hématopoïétiques



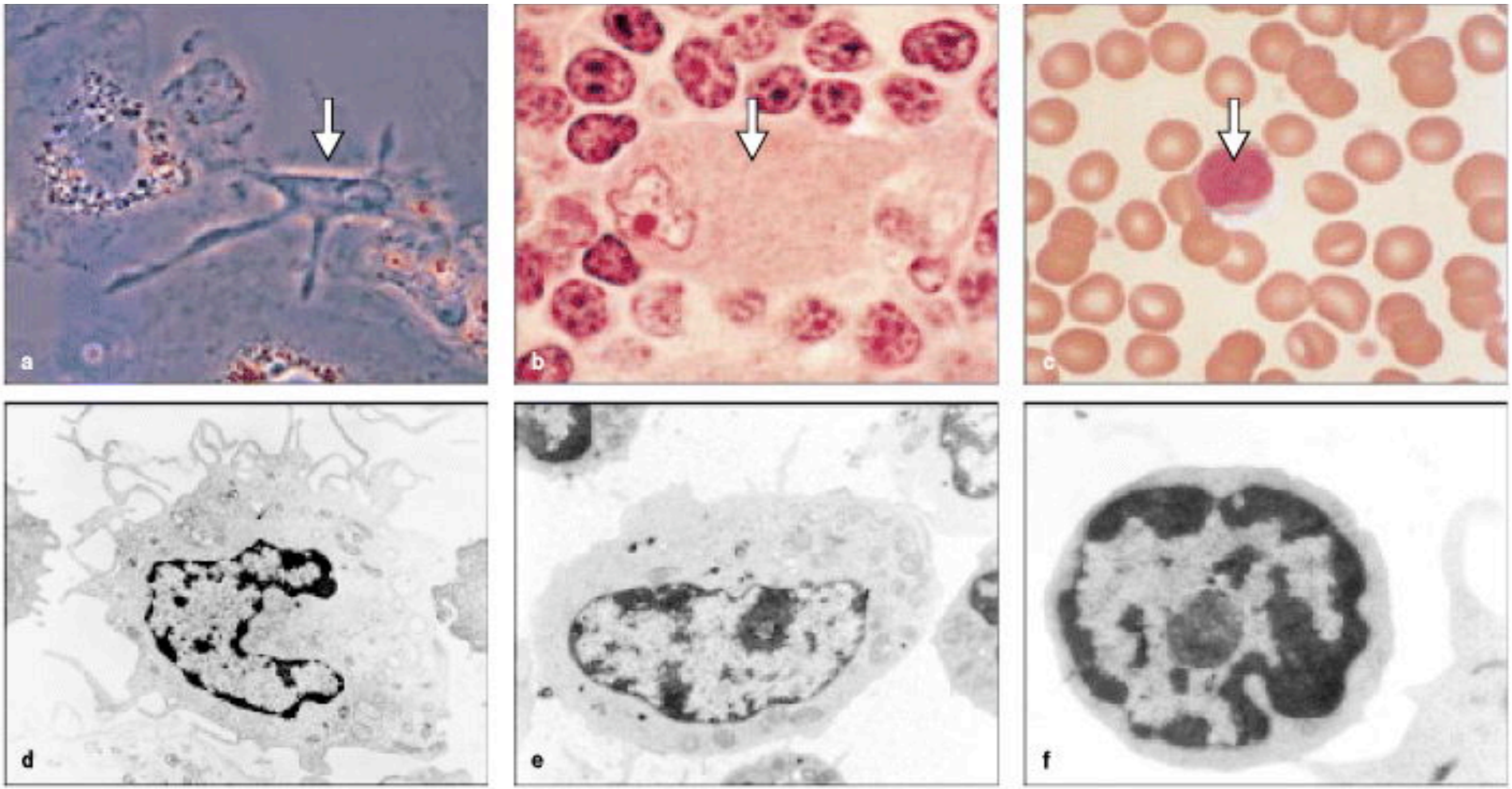
D'après *Nature Review Immunology*, Vol. 7, Janvier 2007

Les cellules présentatrices d'AG professionnelles

Les cellules dendritiques

Les macrophages

Les lymphocytes B

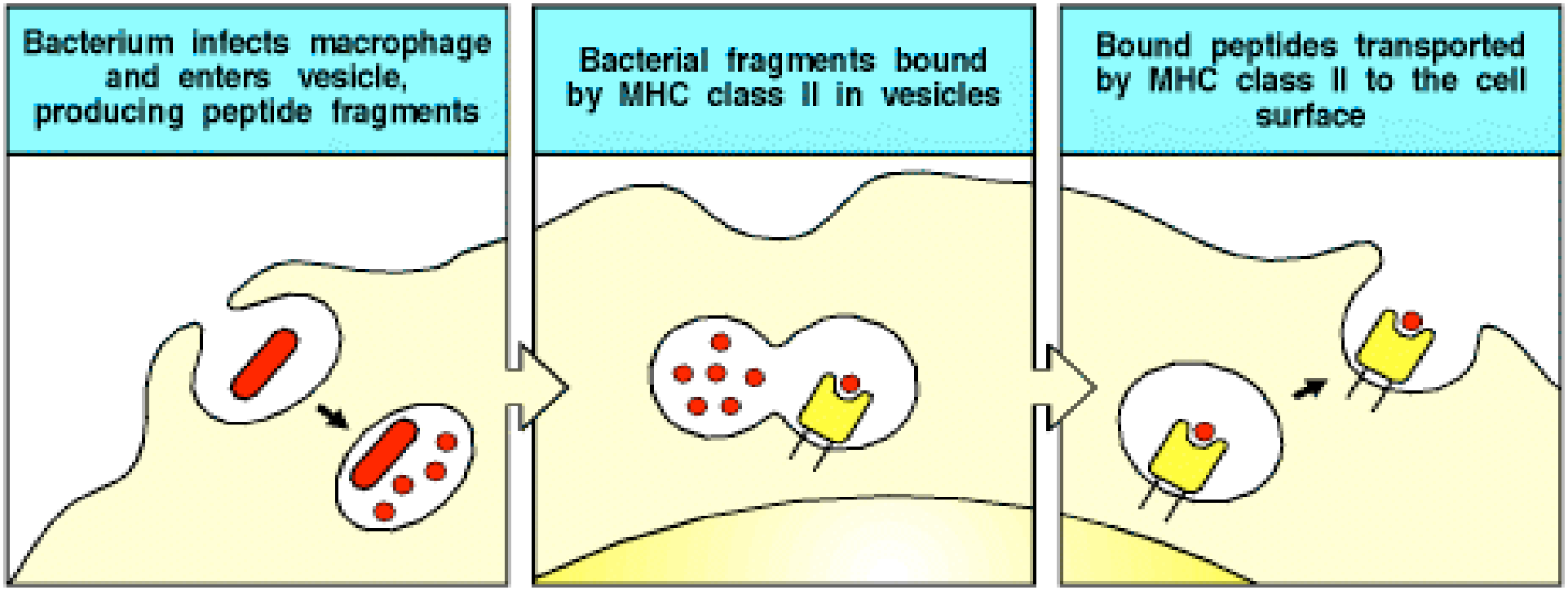


D'après *Immunobiology*, Janeway 5è edition

Présentation des AG par les macrophages

- Capacités d'endocytose exceptionnelles: internalisation de plus de 200% de leur surface par heure;
- Expression des molécules de CMH I, CMH II, et costimulation up régulée en condition inflammatoire mais moindre comparée aux B et DCs ➔ Stimulation T moins efficace
- Cross-présentation (présentation d'AGs exogènes sur les CMH I)
- Souris déplétée en macrophages ne présentent pas de déficience de l'immunité adaptative

Présentation des AG par les macrophages

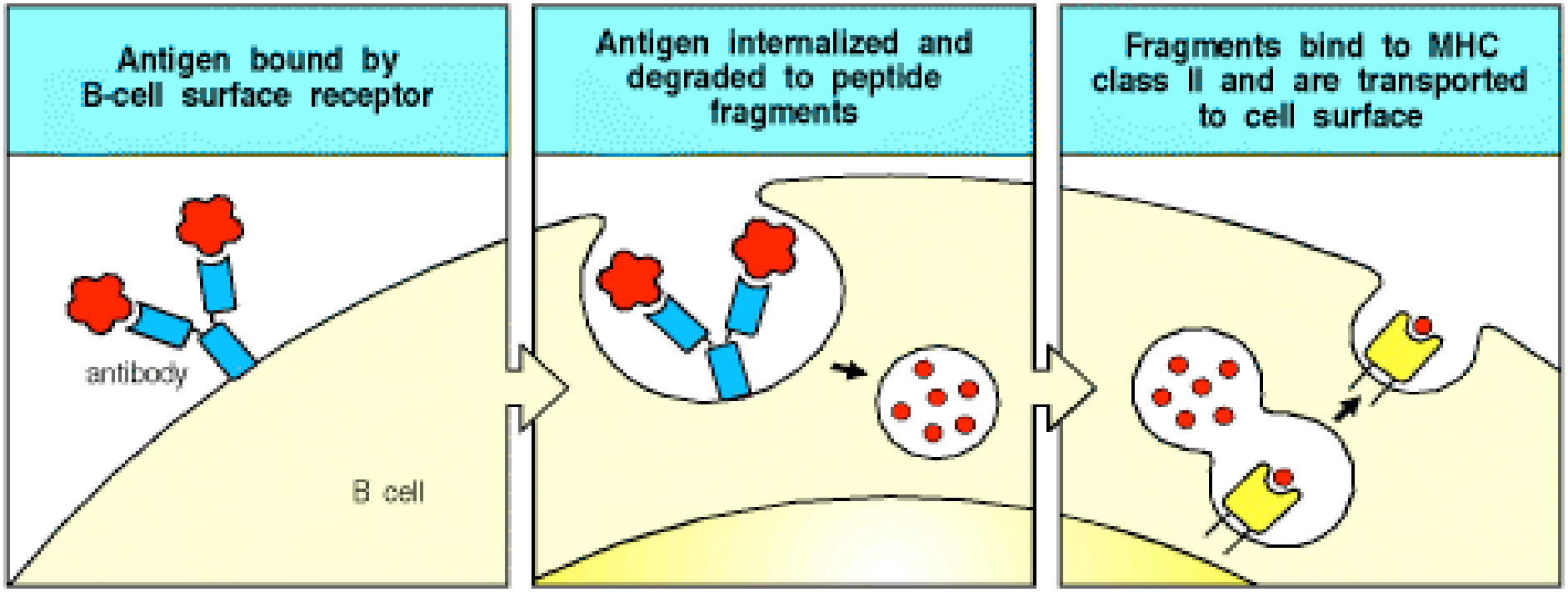


D'après *Immunobiology*, Janeway 5è edition

Présentation des AG par les lymphocytes B

- Capacités d'endocytose réduites
- Liaison des AGs sur les ACs de surface
- Expression de forts niveaux de molécules de CMH II, costimulation et d'adhésion (pour contact avec les LT)
- Présentation croisée limitée

Présentation des AG par les lymphocytes B



D'après *Immunobiology*, Janeway 5è edition

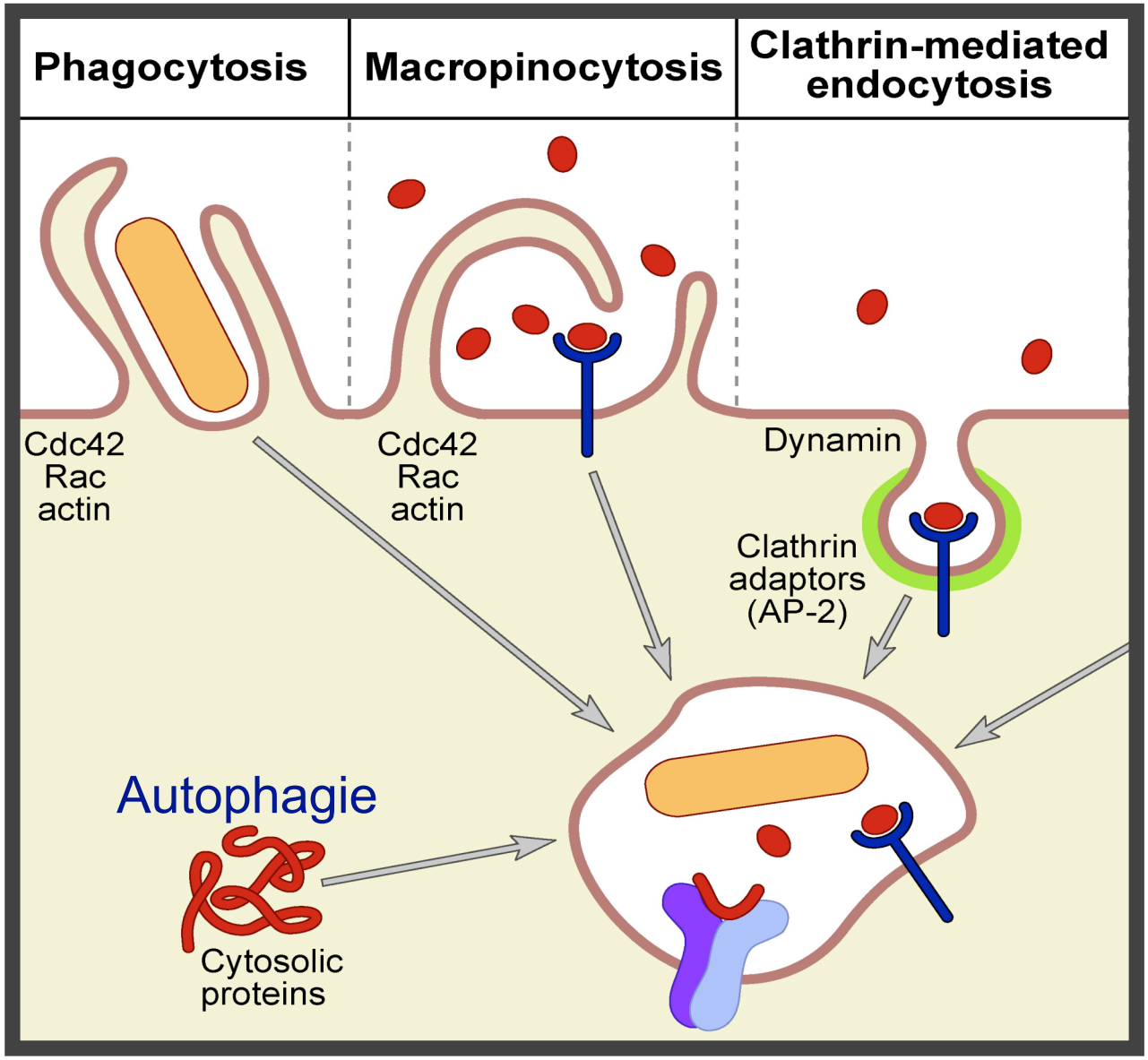
Présentation des AG par les DCs

- Capacités de surveillance et migratoires uniques
- Distribution tissulaire périphérique: OLII dans zone T (naïfs)
- Expression de forts niveaux de molécules de CMH I, CMH II, co-stimulation sur DCs matures
- Cross présentation

Capture des AGs

- Macropinocytose: capture d'AG solubles. Constitutive chez DCs et macrophages
- Endocytose
  - Récepteur Fcγ de type I (CD64), II (CD32), III (CD16)
    - souris : les 3 sont présents sur DCs
    - LCs: RFcγI et RFcεI
    - DCs du sang: RFcγI, RFcγII
  - Récepteur au complément: CR3 (CD11b) et CR4 (CD11c)
  - Les Lectines de type C:
    - MMR (mannose récepteur) : DCs du sang , DCs interstitielles
    - DEC-205: uniquement sur DCs du sang
    - DC-SIGN: DCs interstitielles
    - Langerine: LCs
  - Les récepteurs « scavengers »: (CD36)
- Phagocytose de particules: corps apoptotiques ou nécrotiques, virus et bactéries (particules sup à 1µM)

Capture des AGs



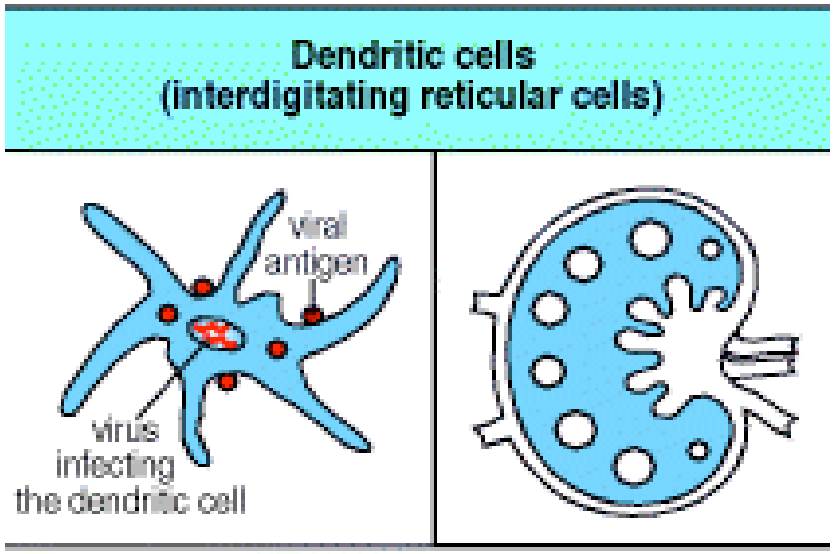
Compartiments endo et lysosomaux

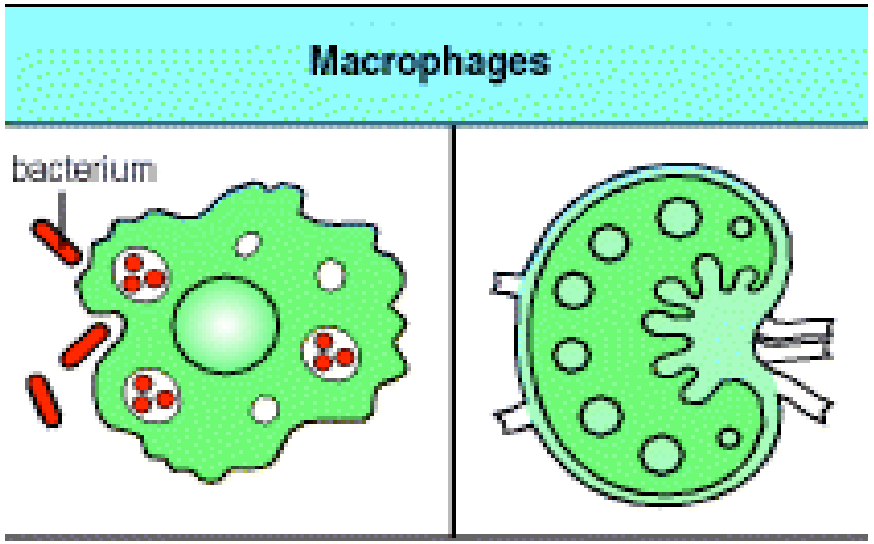
↓

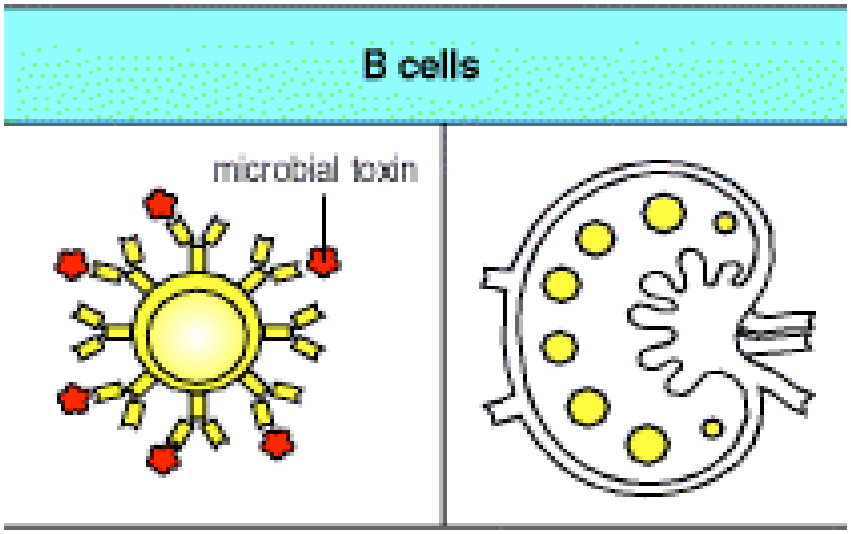
CMH II

D'après *Annual Review of Immunology* , Vol. 23, 2005

Distribution des APCs dans les ganglions





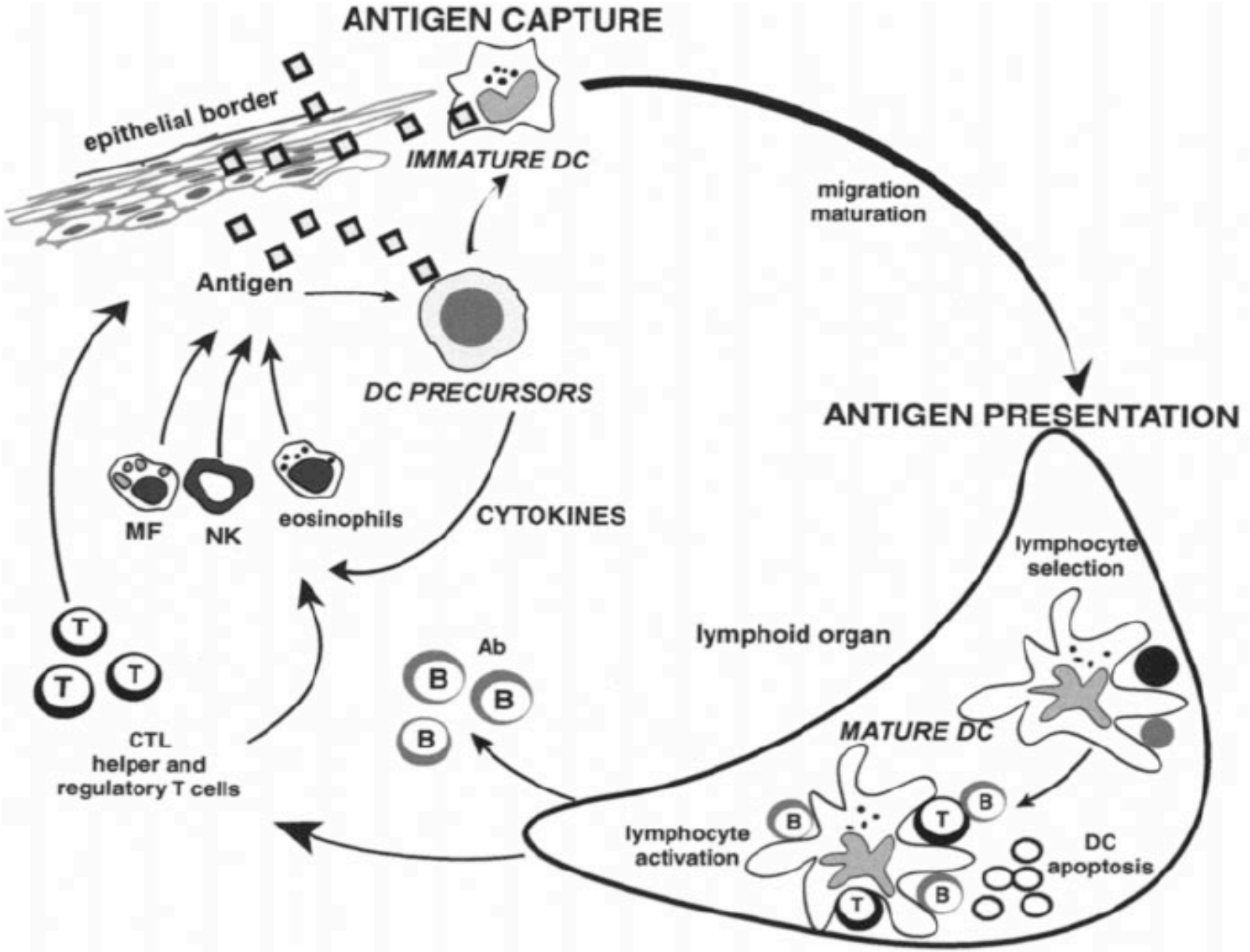


D'après *Immunobiology*, Janeway 5è edition

Propriétés des différentes APCs

	DCs	Macrophages	Lymphocytes B
Capture des AGs	Macropinocytose et phagocytose, infection virale +++	Phagocytose +++	Rr AG spécifique
Expression Du CMH	Faible dans les tissus et forte dans gg	Inductible par bactéries et CK - à +++	Constitutive et accrue avec activation +++ à ++++
Co-stimulation	Constitutive chez les DCs matures ++++	Inductible - à +++	Inductible - à +++
AG présentés	Peptides, AG viraux, allergènes	AG particulaires intracellulaires et pathogènes extracellulaires	AG solubles, toxines, virus
Localisation	Tissus lymphoïdes, interstitiels, épithéliums	Tissus lymphoïdes, interstitiels, cavités	Tissus lymphoïdes, Sang

Les DCs dans l'induction de la RI



From *Annu. Rev. Immunol*. Vol.18, 2000

Les différents sous-types de DCs

- Les pré-DCs
- Les DCs conventionnelles
  - Les DCs capables de migrer: DCs migratoires
  - Les DCs résidentes des organes lymphoïdes
- Les DCs plasmacytoïdes
- Les DCs inflammatoires

Les pré-DCs

- Ne présentent pas d'emblée les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des DCs. Après activation, elles peuvent se différencier en différents sous-types de DCs.

Ex:

- monocytes
- DC plasmacytoïdes

Les DCs conventionnelles

- Les DCs de type migratoire:

Sentinelles des tissus périphériques

Migration vers les gglions lymphatiques

Dans OLII: phénotype mature et capacité de capture de l'AG réduite.

Présentation des AG captés en périphérie aux LT

Ex: Cellules de Langerhans (épiderme), DCs de l'intestin, des tracti respiratoires et reproducteurs, DCs du derme et DCs interstitielles.

Les DCs conventionnelles

- Les DCs résidentes des organes lymphoïdes

  – Elles ne migrent pas vers les OLII via les vaisseaux lymphatiques mais collectent et présentent les AG du soi ou étranger au sein même des OL

  – Chez la souris:

  cDCs CD8+ (CD8α+++) et cDCs CD8-

  Elles ne présentent pas le même profil de sécrétion cytokinique et de présentation antigénique sur les molécules de classe I du CMH.

Ex: la plupart des DCs du thymus et de la rate. Dans les gglions, la 1/2 des DCs sont au repos et semblent être des DCs résidentes. Elles présentent un phénotype immature.

Les DCs de type inflammatoire

- Nouvelle population de DCs
- Ne sont pas présentes à l'état de repos
- Induites par un signal inflammatoire ou infectieux

Ex:

- pDCs stimulatées par le virus de l'influenza
- DCs productrices de TNF et de NO synthase = Tip DCs (chez la souris) après une infection par la Listeria et chez l'homme (psoriasis)

Les DCs plasmacytoïdes

- Cellules circulantes, rondes, sans dendrites, à 1/2 vie relativement longue
- Après stimulation par un AG viral ou microbien
  - production de larges quantités d'INF de type I (INFα)
  - présentation des AG ➔ cDCs
  - pDCs au repos = pré-DCs
- Associées à une immunité anti-virale et désordres auto-immuns

Les différents sous-types de DCs

	Epidermal Langerhans cells	Dermal Interstitial DCs	Blood Myeloid DCs	Blood Plasmacytoid DCs
C-type lectin	Langerin	DC-SIGN Mannose Receptor	(DC-SIGN) (Mannose Receptor)	BDCA-2
Specific molecules	CD11c CD1a E-cadherin	CD11c CD1a/CD14 CD11b CD36 Factor XIIIa	CD11c	CD123 ILT7
TLRs	1, 2, 3, 6, (7), (10)	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	1, 2, 3, 4, 5, 6, (7), 8, 10	1, 6, 7, 9, 10

peau

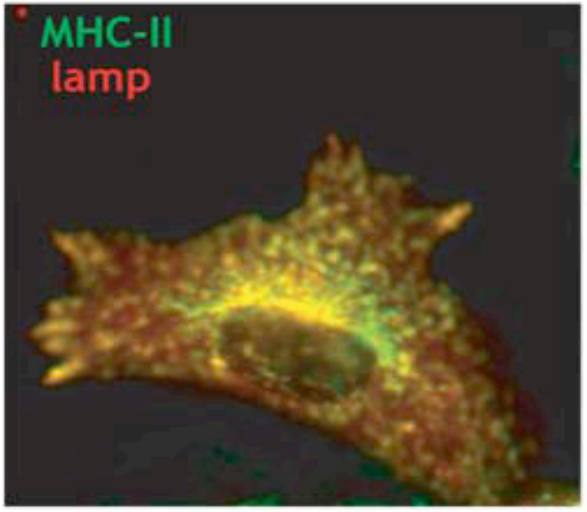
sang

D'après *Immunological Reviews* , Vol. 219, 2007

L'activation des DCs

L'activité biologique des DCs est liée et régulée par leur état de maturation

Immature DC



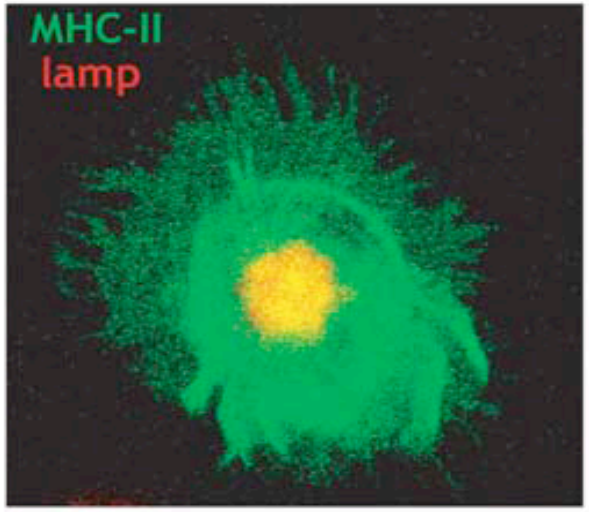
Peripheral and lymphoid tissues

Highly endocytic

Low surface MHC-II and costimulators

Antigen accumulation

Mature DC



Lymphoid tissues

Endocytosis reduced

High surface MHC-II and costimulators

T cell stimulation

La maturation des DCs

- Augmentation rapide et transitoire de la macropinicytose puis quasi totale down-régulation
- Augmentation de l'expression des CMH I, CMH II et molécules de costimulation à la membrane plasmique
- Niveaux d'expression tels que la surface des DCs augmente (apparition des dendrites)

La maturation des DCs

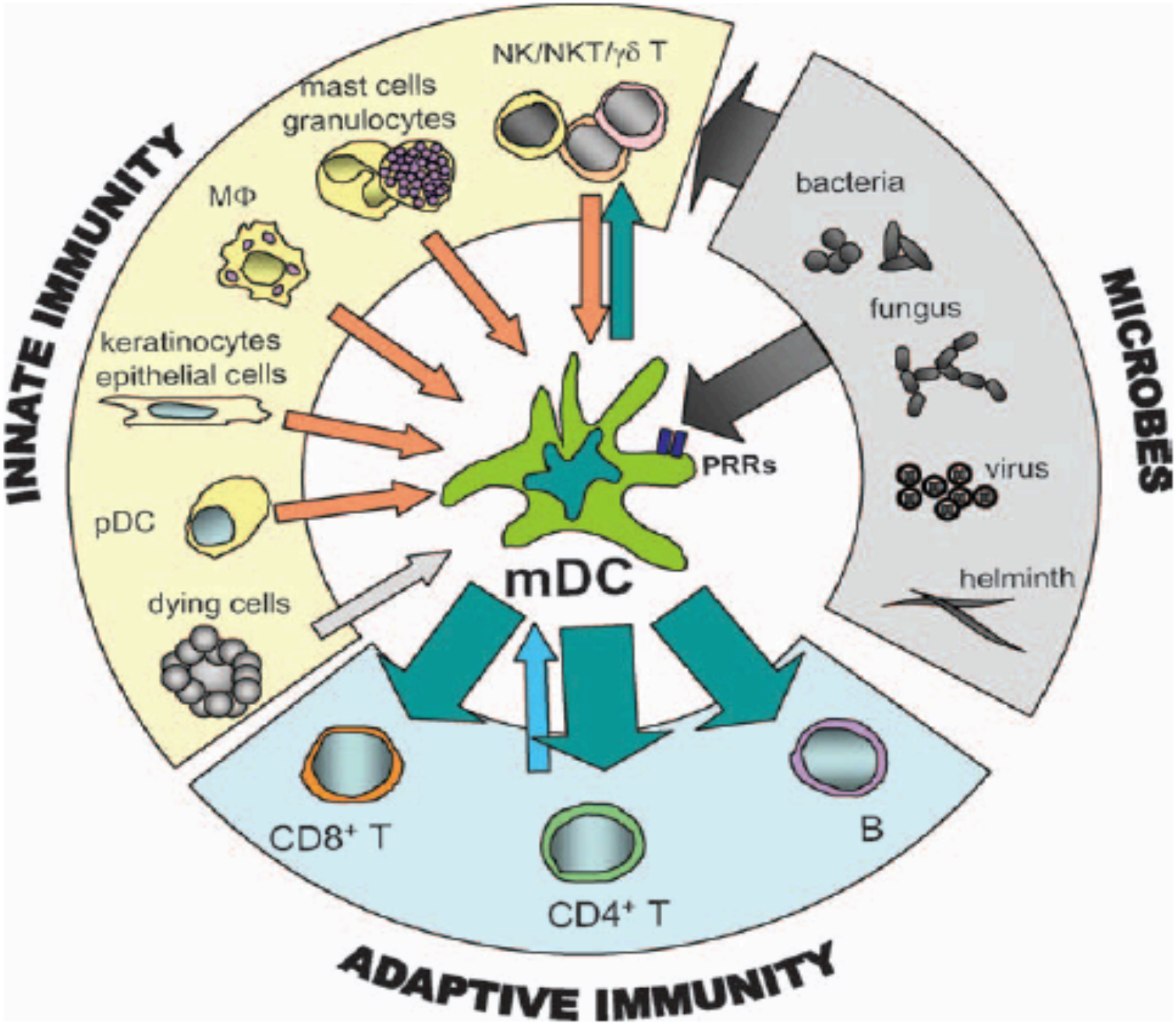
- Etat de maturation historiquement associé au capacités de stimulation des DCs
  - DCs immatures induisent la tolérance
  - DCs matures activent

- mais...
  - DCs matures peuvent induire la tolérance
  - DCs intermédiaires

Signaux inducteurs de maturation des DCs

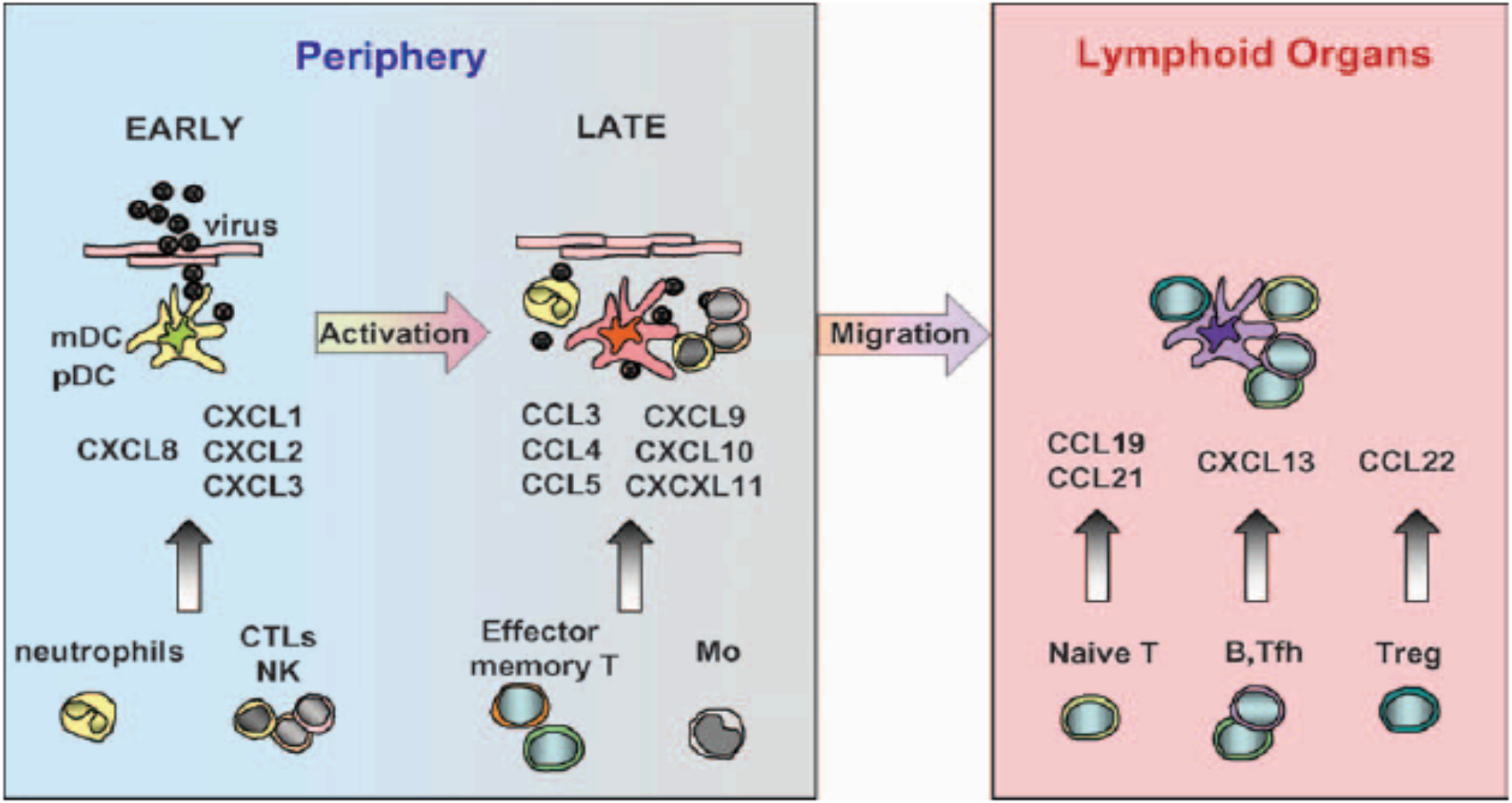
- Via les Toll-like receptor (TLR) après liaison à des pathogen associated molecular patterns (PAMPs)
- Cytokines proinflammatoires
- Interactions cellulaires (CD40L sur les T), les cellules NK
- Interruption des contacts homotypiques entre DCs immatures

Activation des DCs



D'après *Immunological Reviews* , Vol. 219, 2007

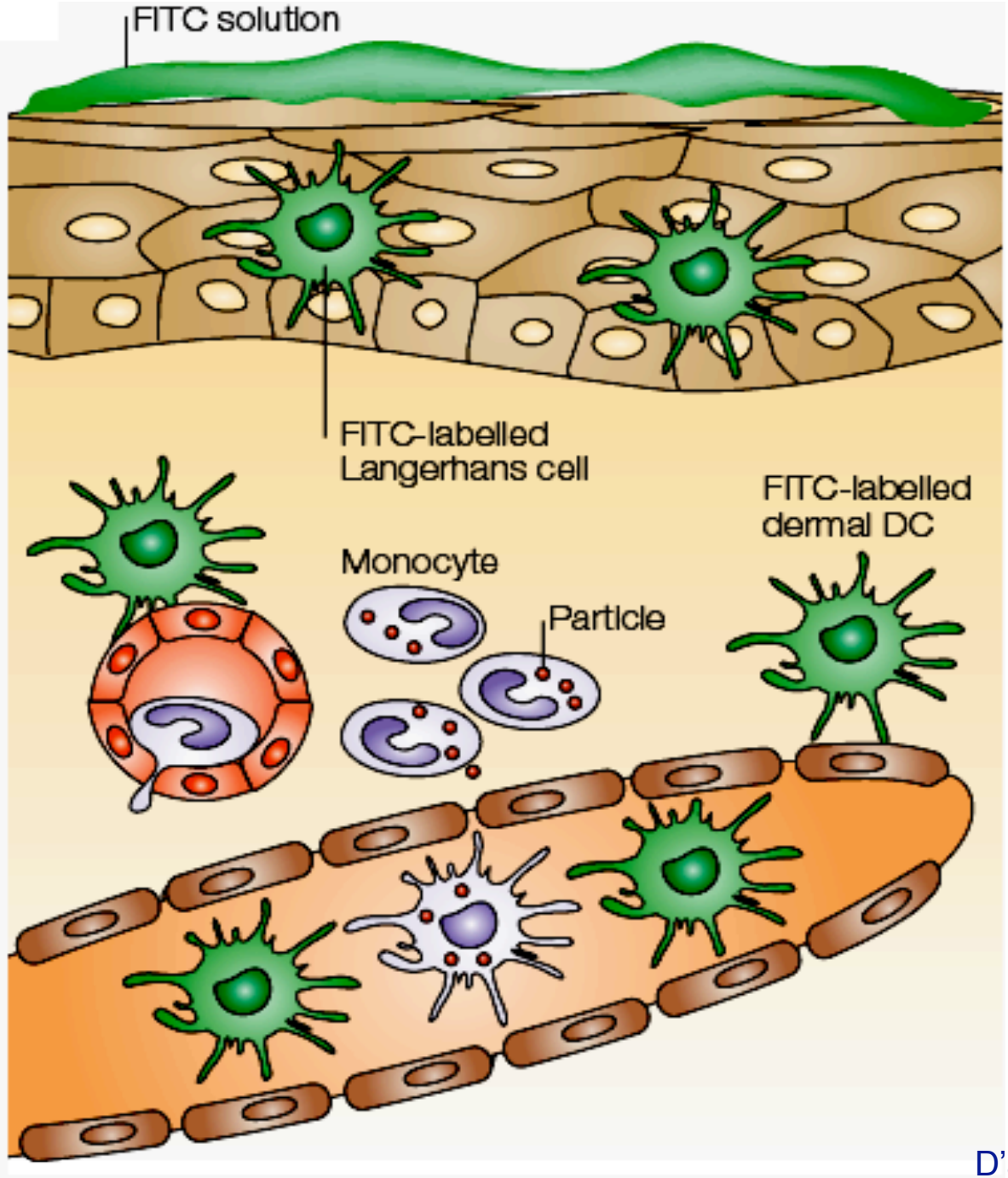
Synchronisation du SI autour des DCs



Early= 2-4h **Late= 4-8h** **Sup 12h**

D'après *Immunological Reviews* , Vol. 219, 2007

Suivi de la migration des DCs



•FITC painting ➔ marquage des LCs et des DCs du derme. Suivi de la migration dans les OLII

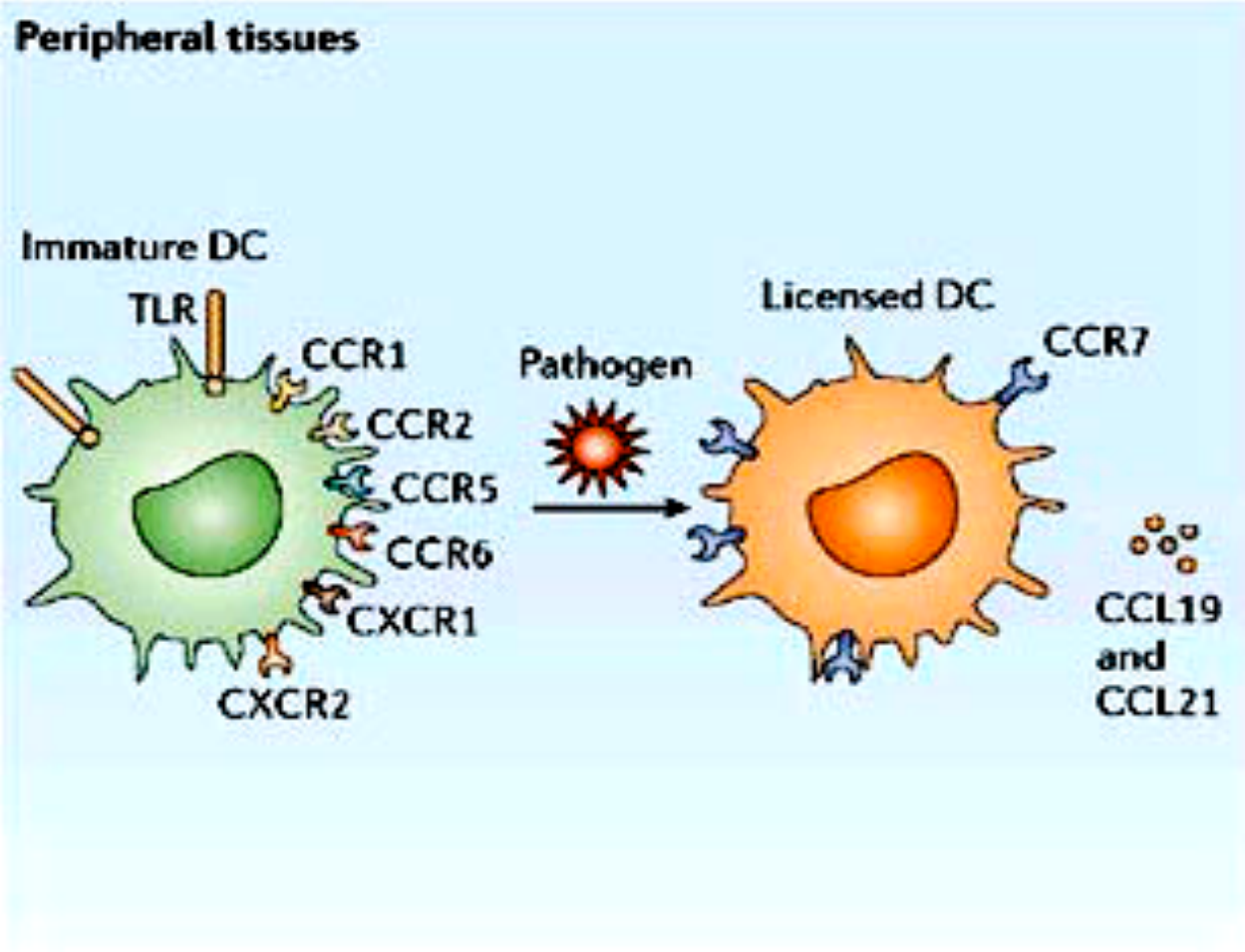
D'après *Nature Review Immunology*, Vol. 5, août 2005

Migration des DCs vers les organes lymphoïdes secondaires

- CCR7 = un récepteur clé de la migration des DCs vers OLII
  - Expression induite avec la maturation des DCs.
  - Ligands: CCL19 et CCL21= chimiokines exprimées dans les vaisseaux lymphatiques.

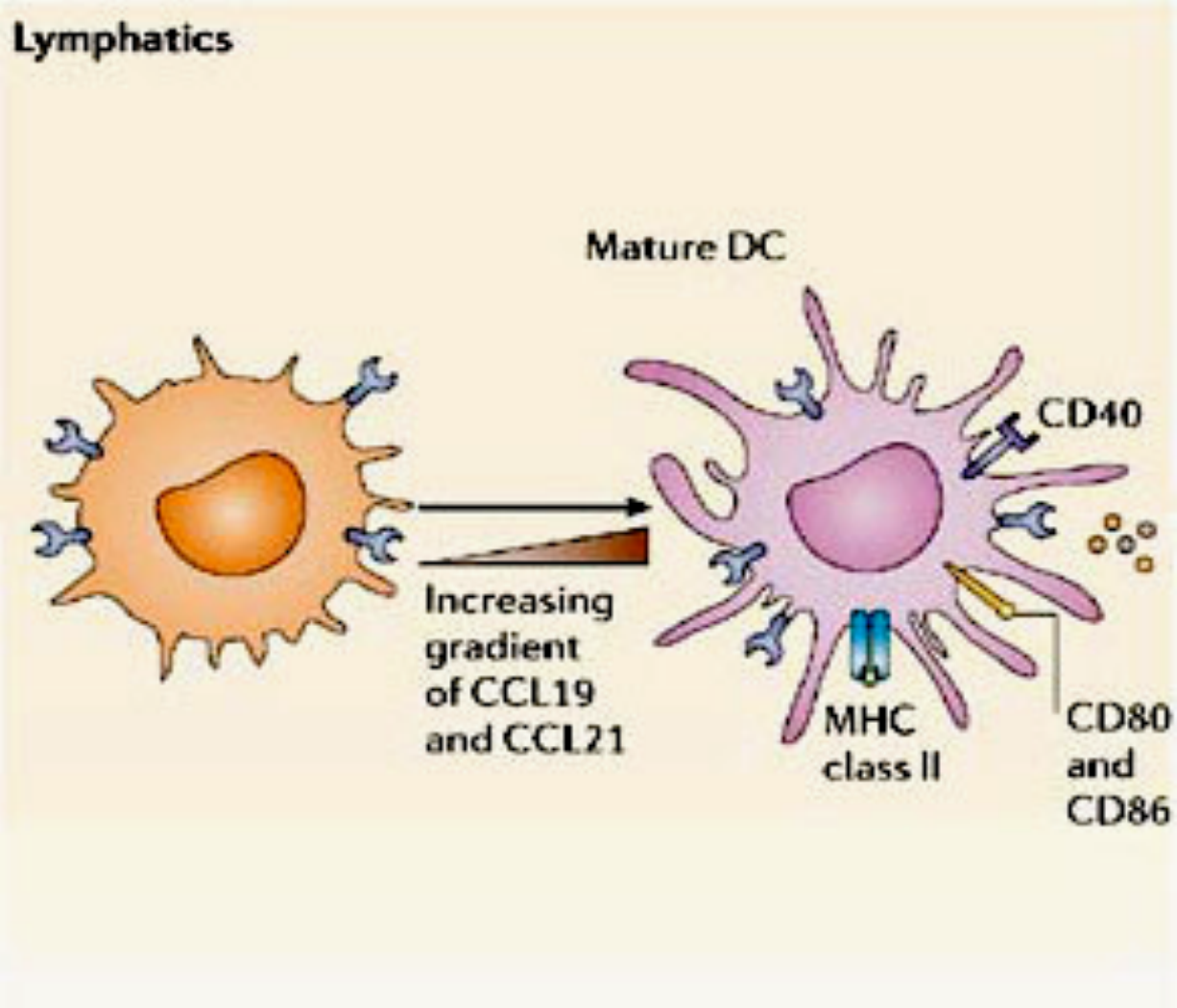
- Integrines: LFA-1

Migration des cellules dendritiques vers les organes lymphoïdes II aires



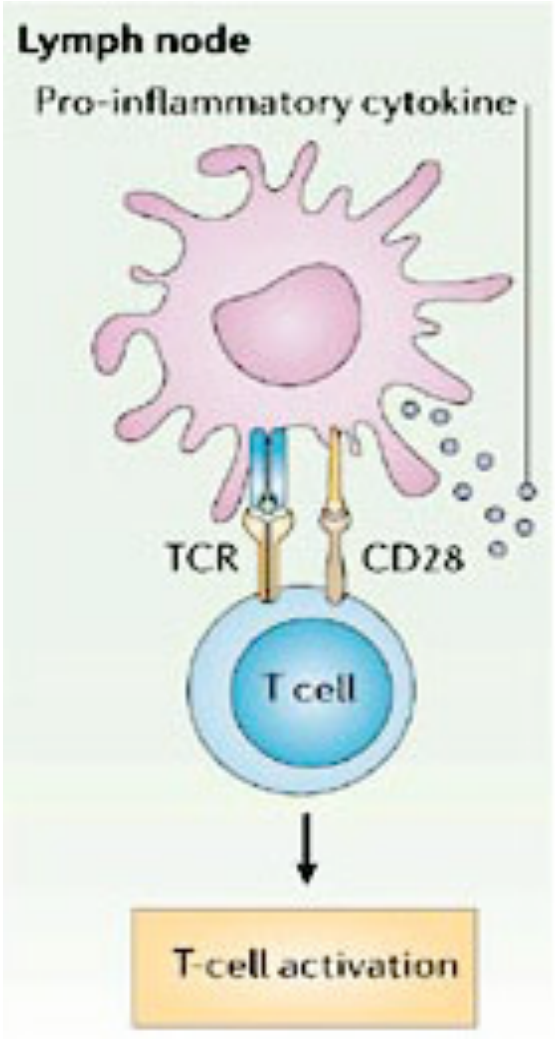
D'après *Nature Reviews Immunology*, Vol. 6, Février 2006

Migration des cellules dendritiques vers les organes lymphoïdes II aires



D'après *Nature Reviews Immunology*, Vol. 6, Février 2006

Les DC matures gagnent les zones T des ganglions ➔ activation des T naïfs



D'après *Nature Reviews Immunology*, Vol. 6, Février 2006

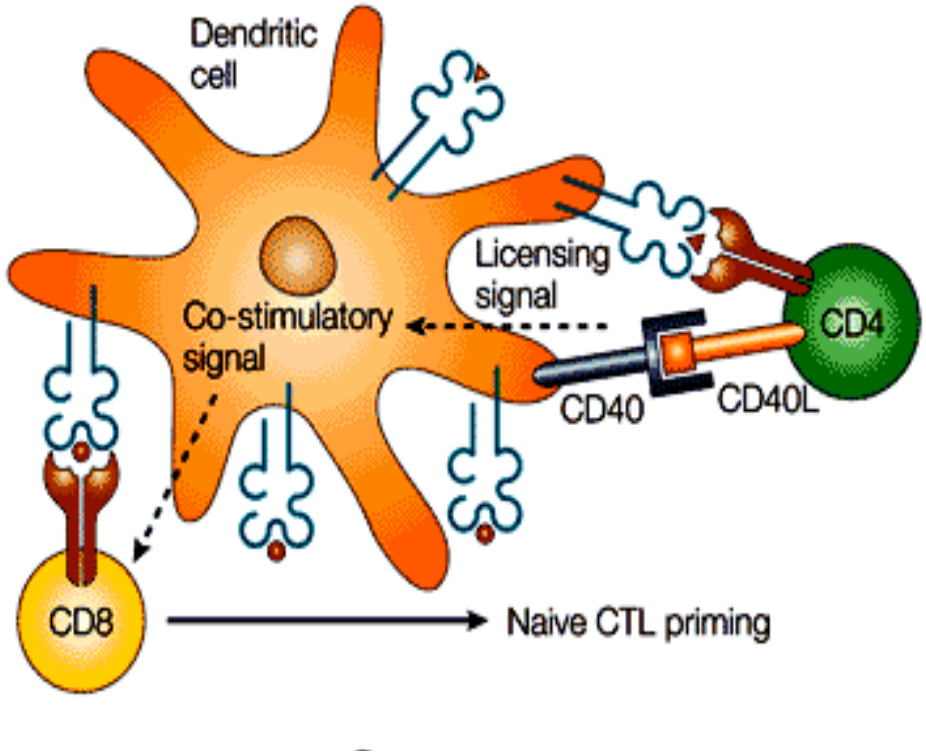
Signaux 1, 2 et 3 conduisant à l'activation des T naïfs

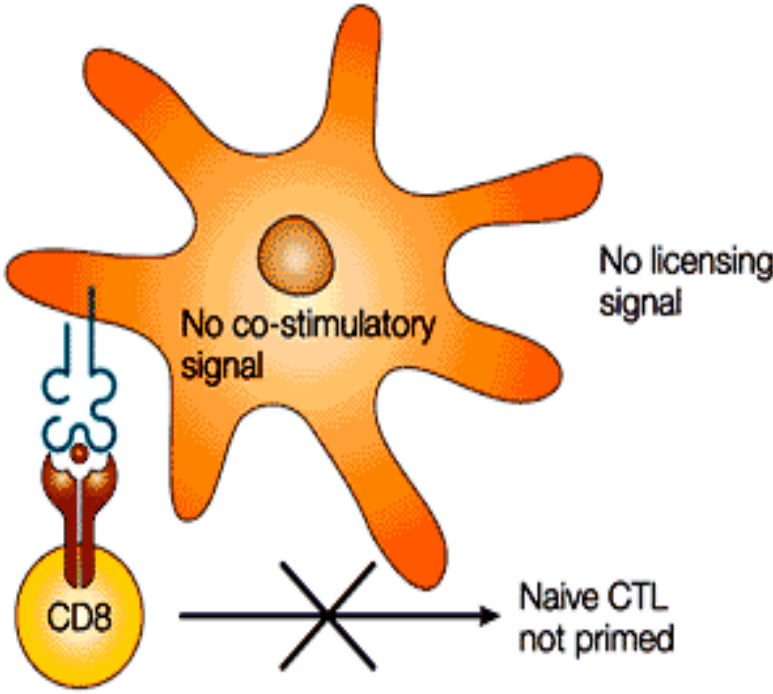
- Signal 1 délivré par l'interaction du TCR avec un complexe CMH/peptide approprié. Si signal unique ➔ anergie, délétion où induction T régulateur.

- Signal 2 = costimulation. Ajouté au signal 1, conduit à l'activation ➔ expansion clonale, différenciation en T effecteur ou mémoire. Interaction CD80/CD86 avec CD28.

- Signal 3 = cytokines sécrétées par les DCs qui orientent la réponse T.
  - IL-12 ➔ TH1
  - Notch ligand ➔ TH2

Priming des T naïfs par les cellules dendritiques





Signal 1: interaction CMH/TCR
Signal 2: interactions CD80-CD86 / CD28
CD40/CD40L
Signal 3: cytokines

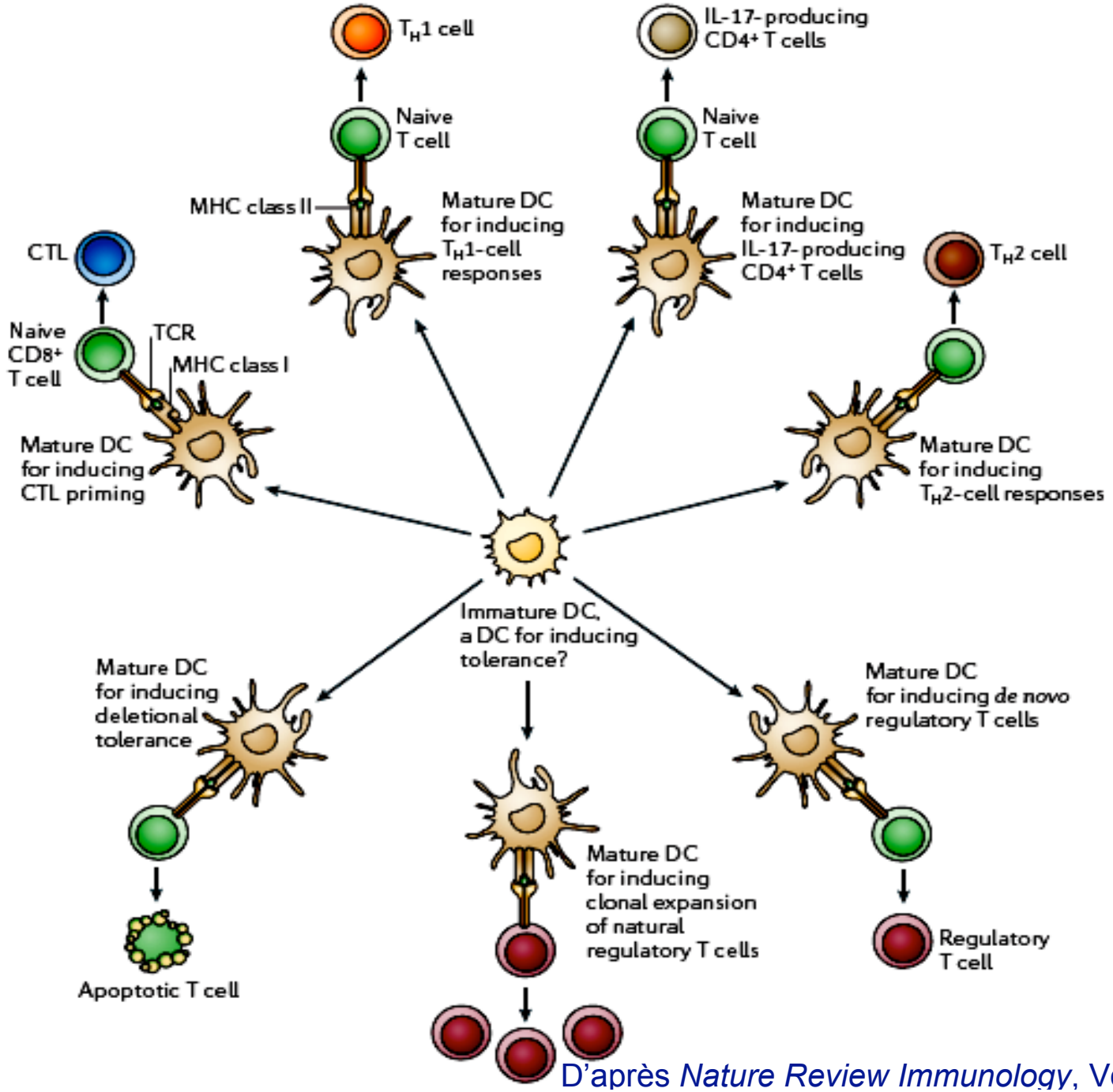
en absence de co-stimulation, pas de priming

D'après *Nature Reviews Immunology*, Novembre 2001

Fonctions effectrices des DCs

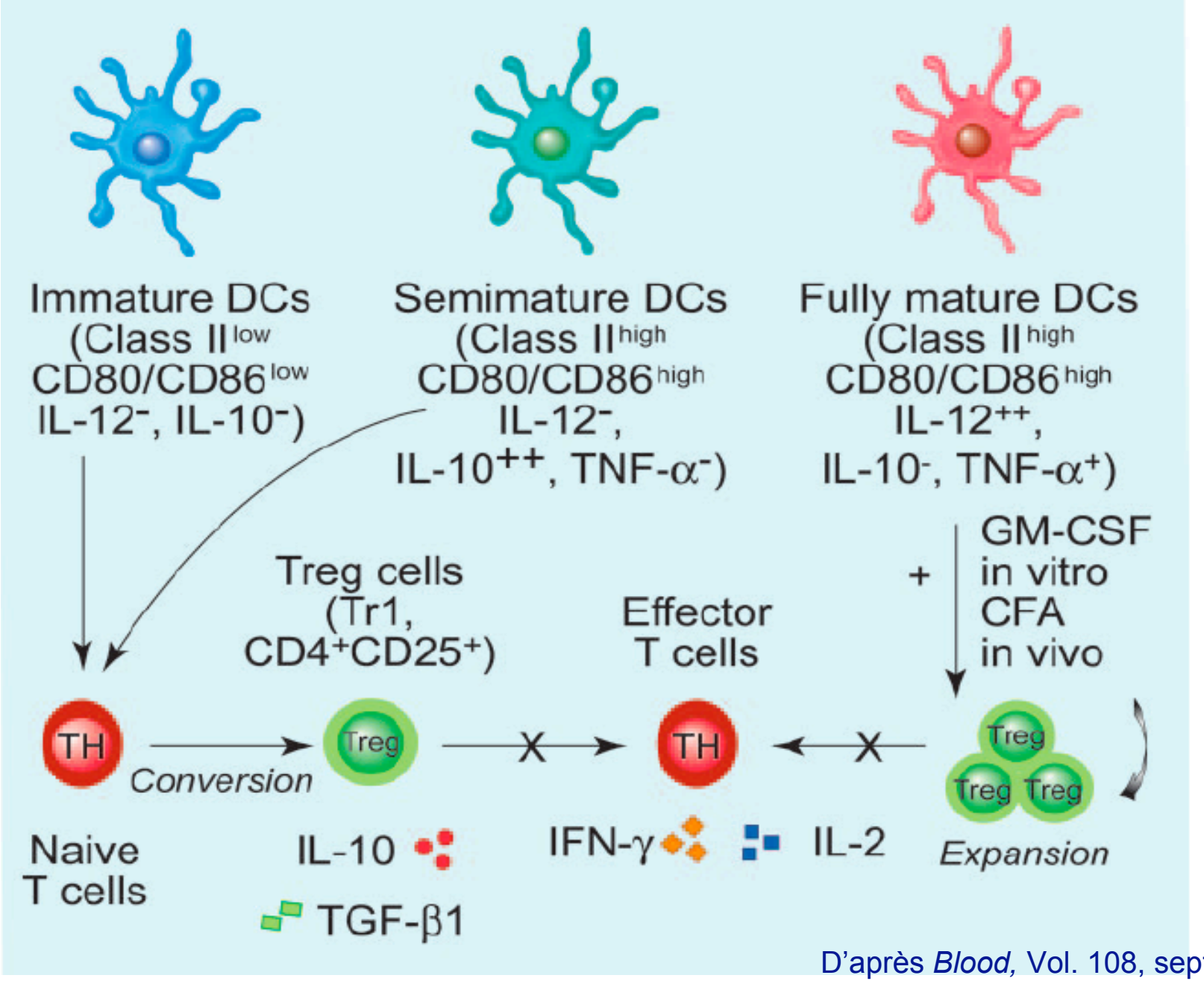
Activation

Tolérance



D'après *Nature Review Immunology*, Vol. 6, Juin 2006

Stade de maturation des DCs et induction de la tolérance



D'après *Blood,* Vol. 108, septembre 2006

Étude des fonctions immunologiques des DCs *in vitro*

IV.

- Différenciation des monocytes CD14+ (homme)
- Différenciation de progéniteurs de la moëlle osseuse (souris)
- Différenciation de cellules souche prolifératives CD34+ ➔ cellules de Langerhans
- Différenciation de DCs plasmacytoïdes (homme et souris)

Les DCs dérivées des monocytes (Mo-DCs): un modèle d'étude

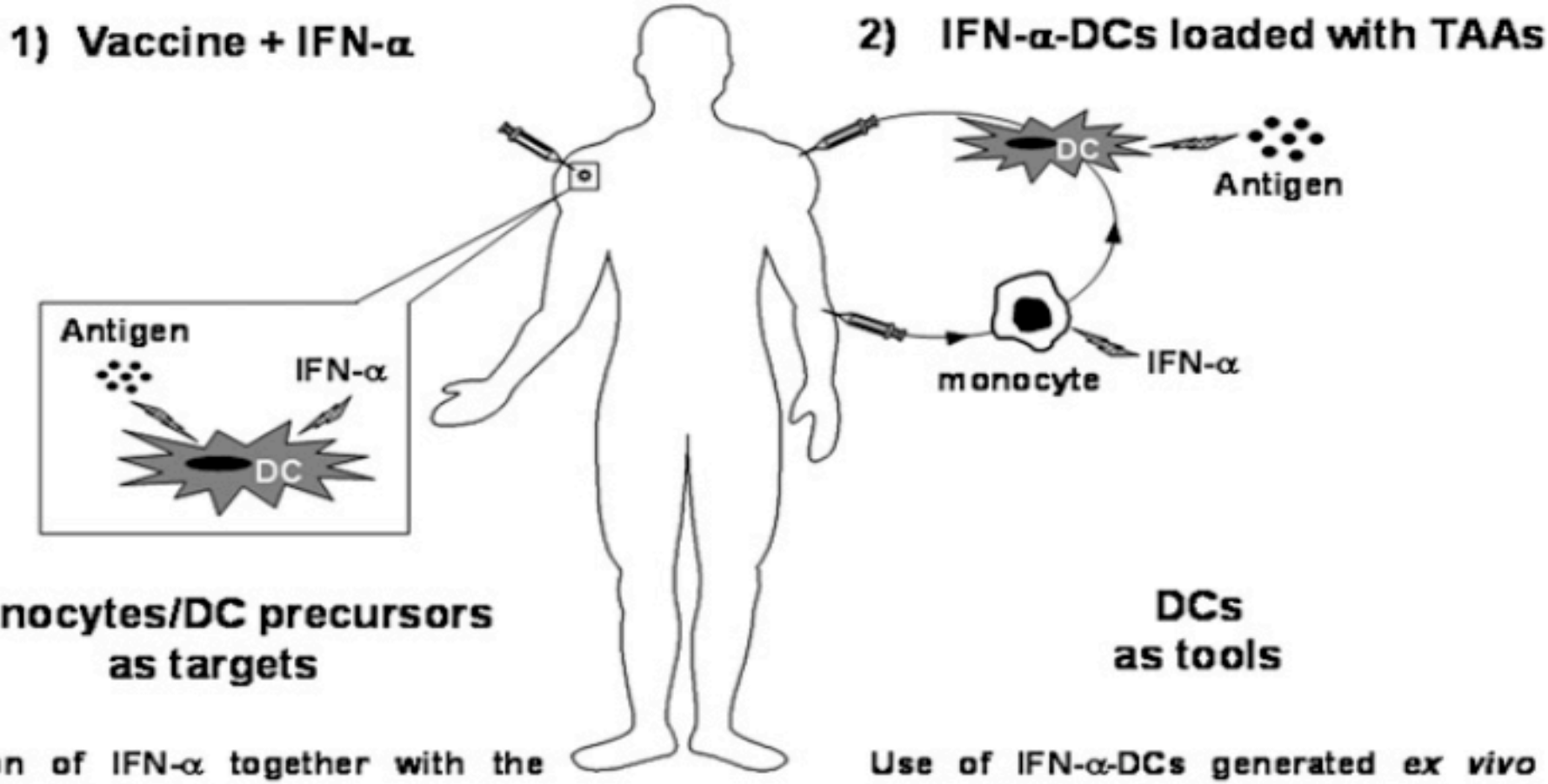
- Différenciation des monocytes CD14+ : 5-6jrs en présence de GM-CSF + IL-4 ➔ Mo-DCs immatures.
- Caractéristiques similaires aux DCs myéloïdes, du derme et interstitielles immatures.
- Phénotype des Mo-DCs immatures: CD11c, CD25, DC-SIGN (CD209), CMH II.

Applications thérapeutiques des DCs

- DCs tolérogènes dans maladies auto-immunes. (modèles expérimentaux: EAE)
- Activation de réponses immunitaires anti-tumorales

Vaccins anti-tumoraux à base de cellules dendritiques

V.



Monocytes/DC precursors as targets

Injection of IFN-α together with the cancer vaccine to promote:

- recruitment and differentiation of DC precursors
- activation of DCs
- expansion/survival of T cell immunity

DCs as tools

Use of IFN-α-DCs generated *ex vivo* from monocytes as powerful cellular adjuvants for therapeutic vaccines capable of:

- breaking tolerance against TAAs;
- counteracting disease-induced immune suppression

D'après *Biochimie*, Vol. 89, 2007

Vaccins à base de cellules dendritiques

- DCs pulsées
  - avec lysats tumoraux
  - avec peptides
- DCs transformées avec de l'ADN (vecteurs rétro-viraux) et élèctroporation ARN
- DCs chargées avec des protéines
- DCs fusionnées avec cellules tumorales