



Biologie des cellules présentatrices d'antigènes

Stéphanie Graff-Dubois

Immunobiology of Antigen presentation

INSERM UMR-S945 Faculté de Médecine Hôpital Pitié-Salpêtrière

stephanie.graff-dubois@upmc.fr

01 40 77 99 11

11 février 2011

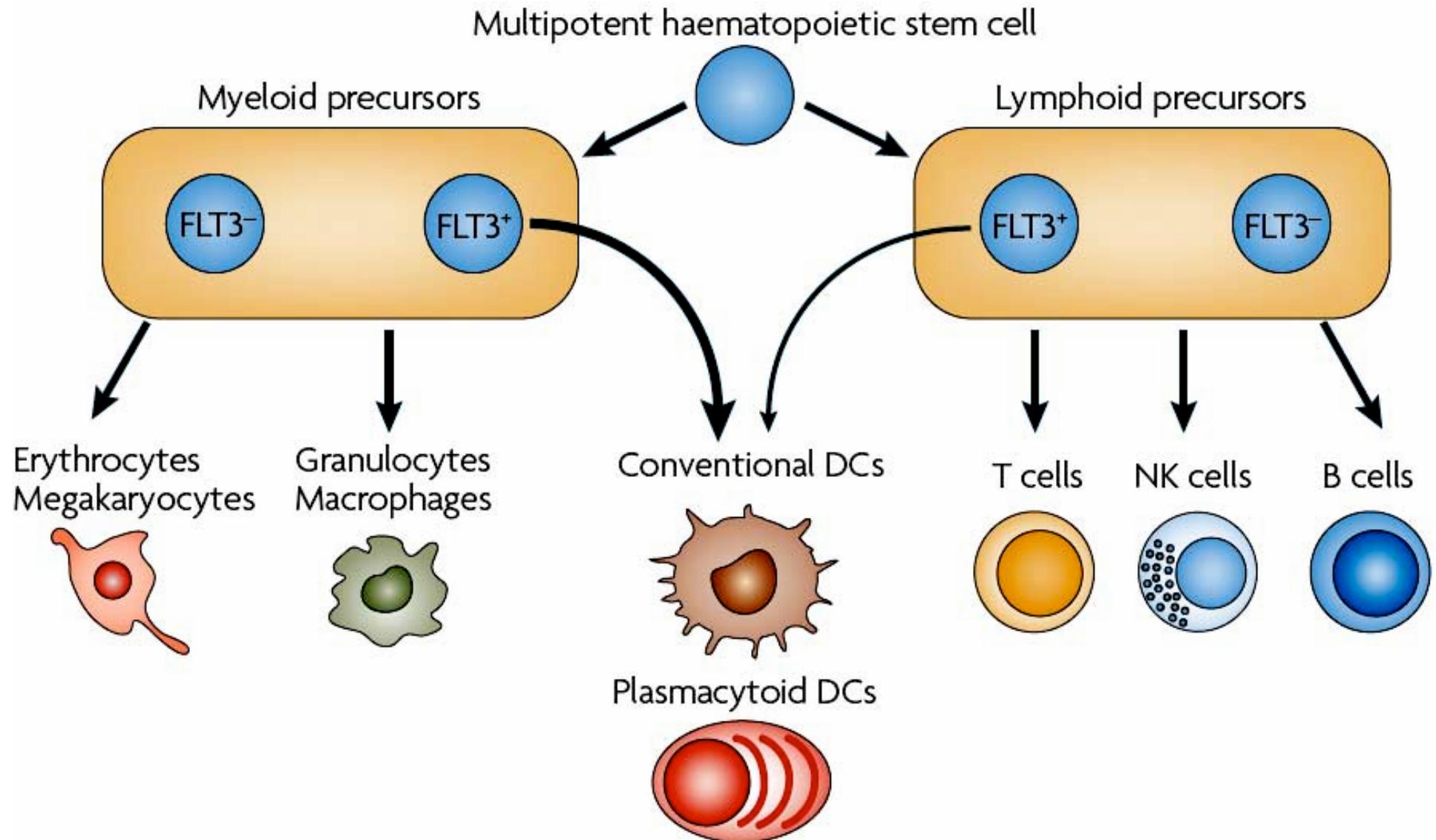
Plan

- 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



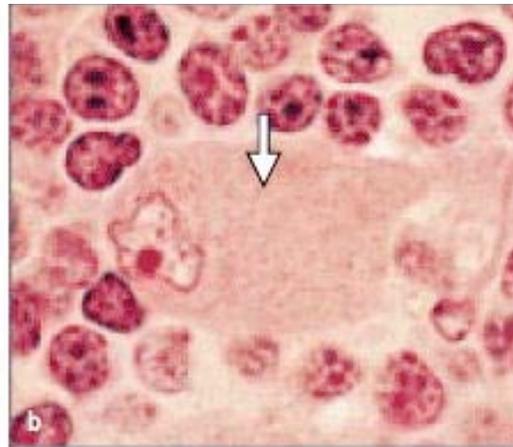
Les cellules présentatrices d'AG professionnelles

II.

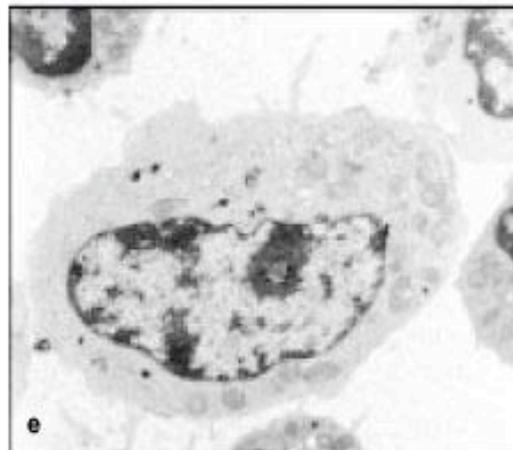
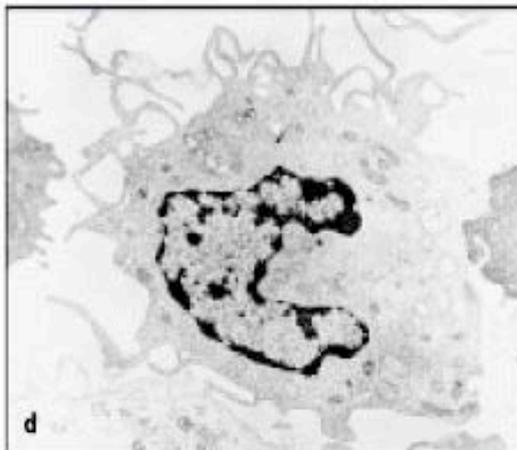
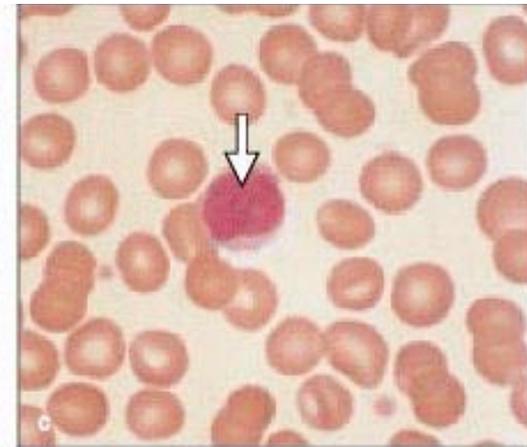
Les cellules
dendritiques



Les
macrophages



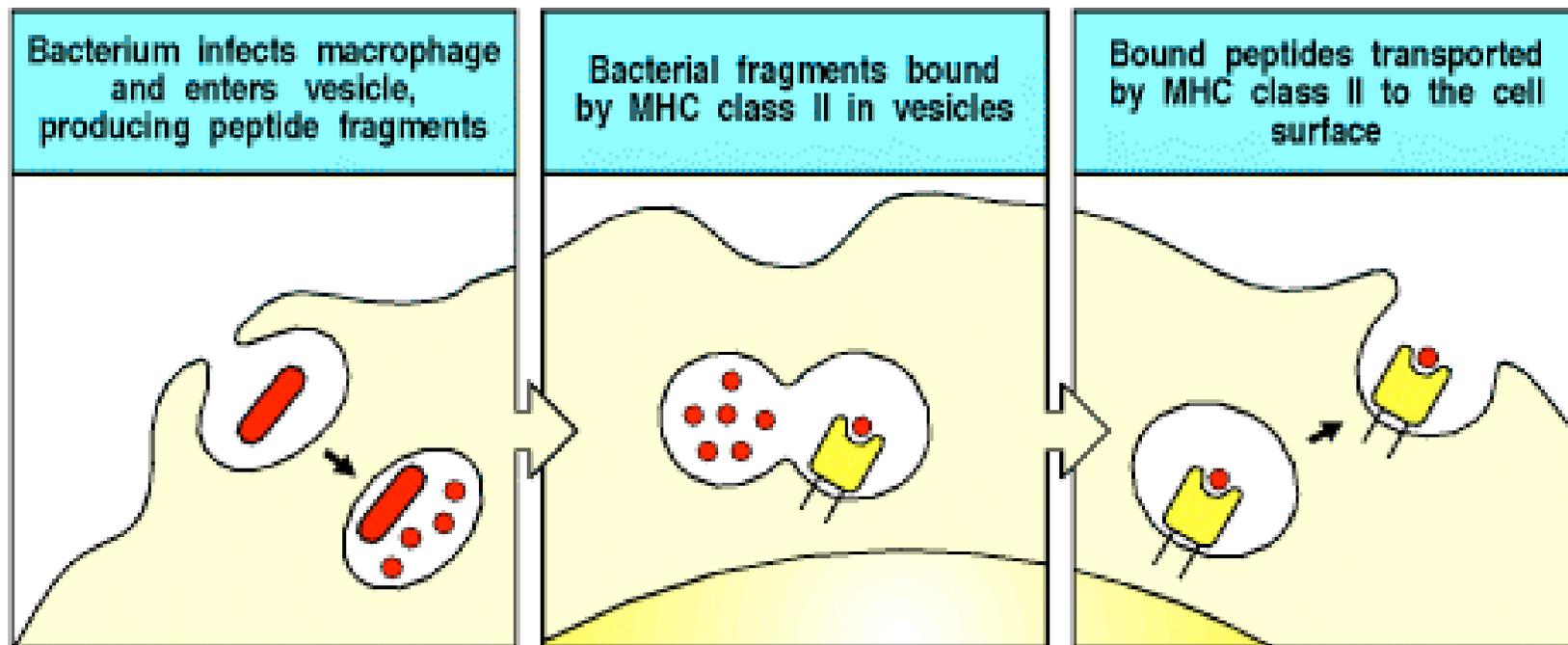
Les
lymphocytes B



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

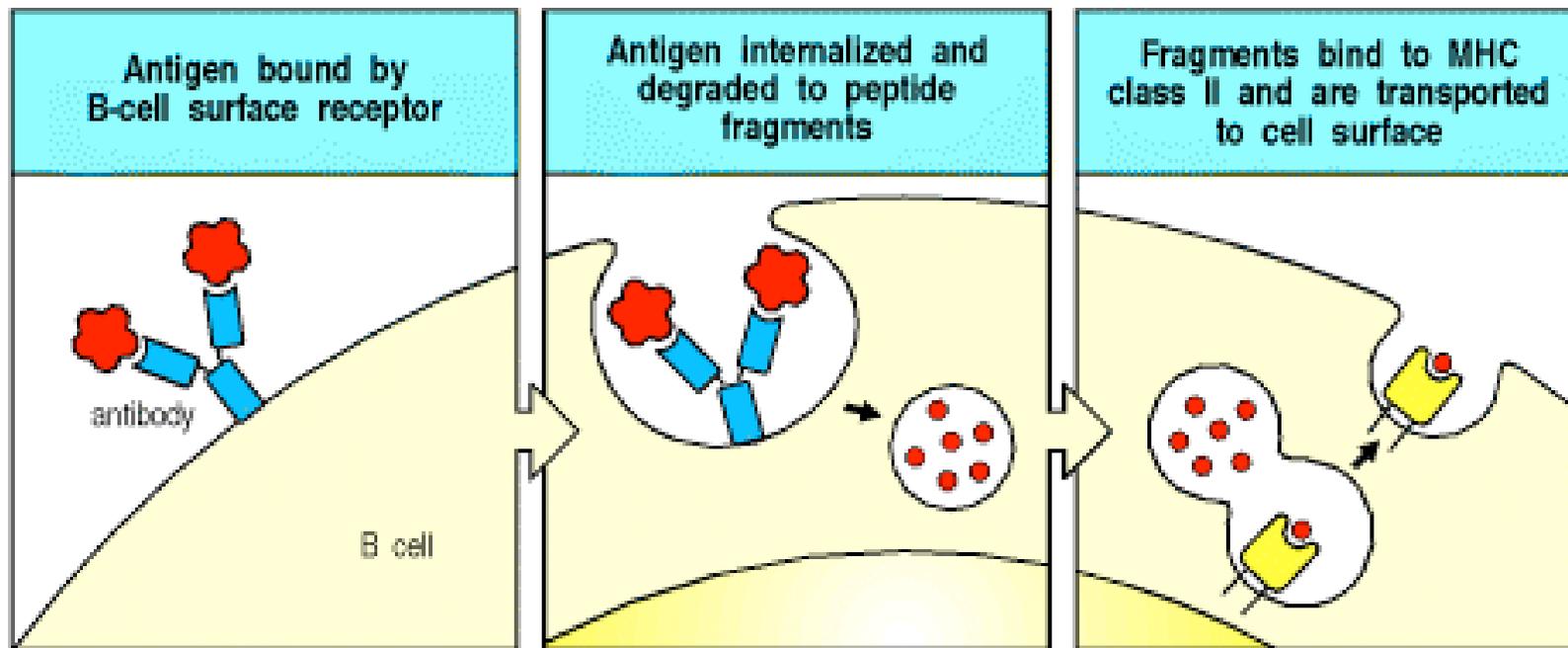
Présentation des AG par les macrophages



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



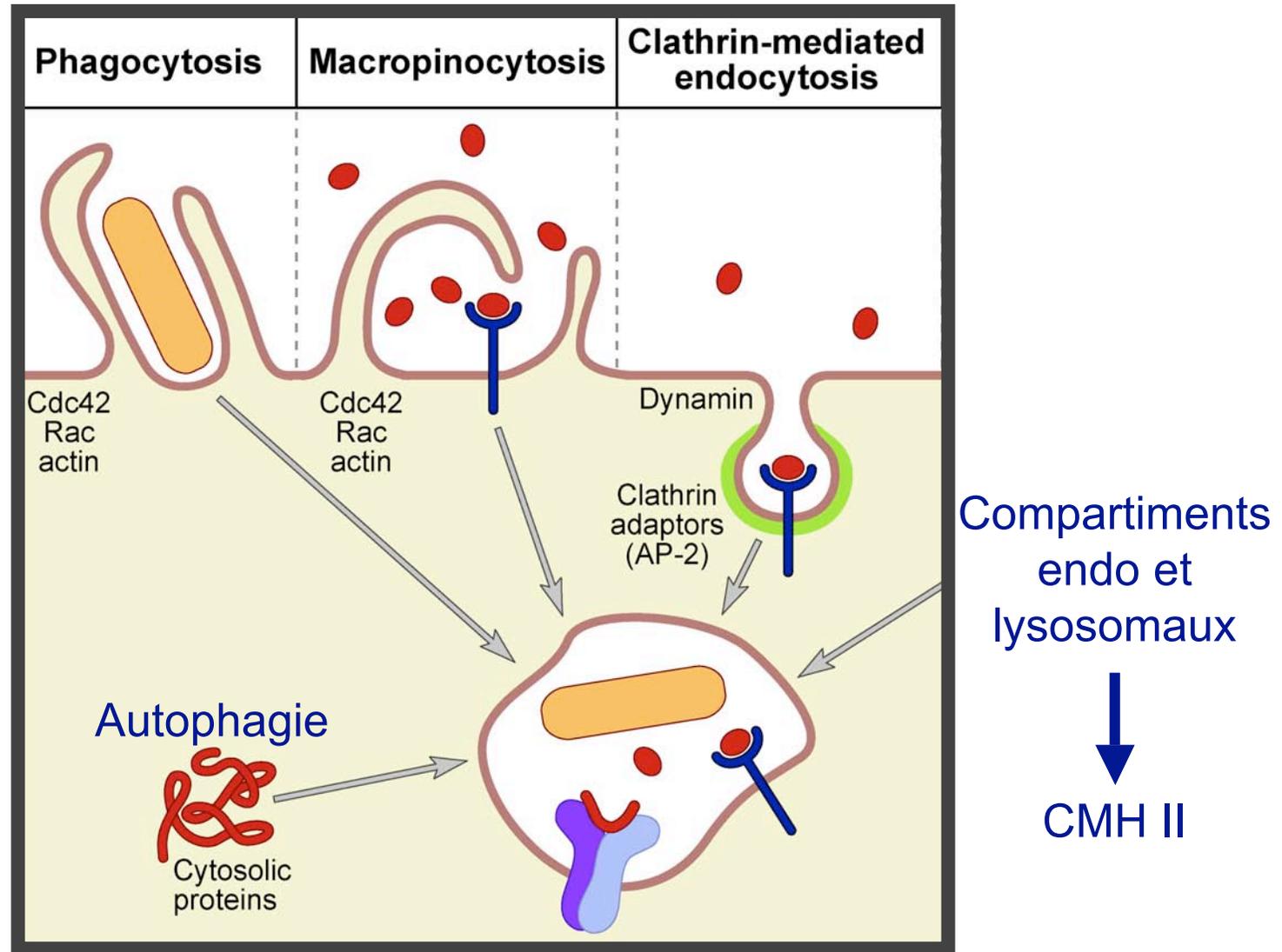
Présentation des AG par les DCs

- 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

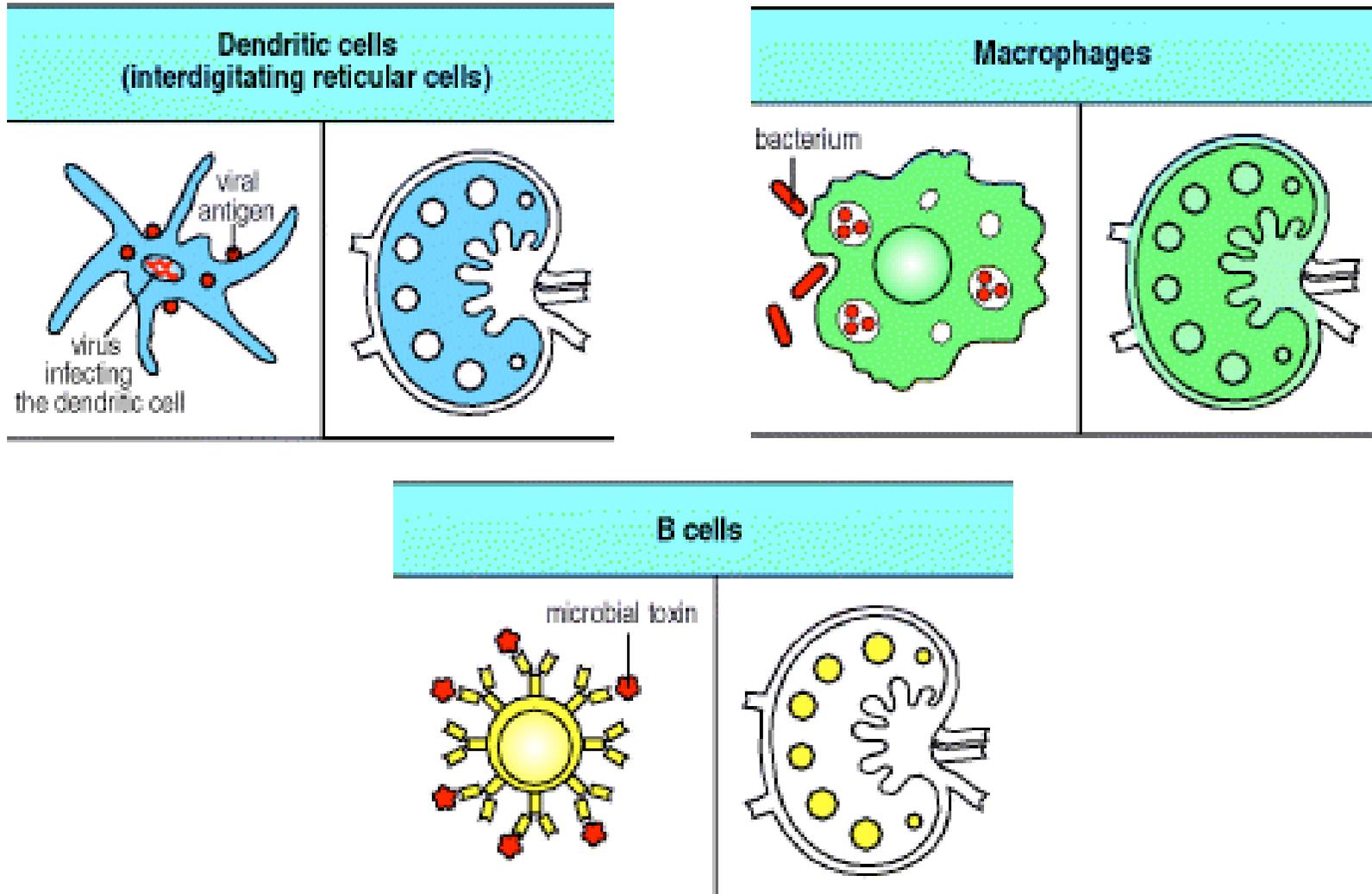
- **Macropinocytose**: capture d'AG solubles. Constitutive chez DCs et macrophages
- **Endocytose**
 - Récepteur Fc γ de type I (CD64), II (CD32), III (CD16)
 - souris : les 3 sont présents sur DCs
 - LCs: RFc γ I et RFc ϵ I
 - DCs du sang: RFc γ I, RFc γ II
 - Récepteur au complément: CR3 (CD11b) et 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 1 μ M)

Capture des AGs



Distribution des APCs dans les ganglions

II.3.



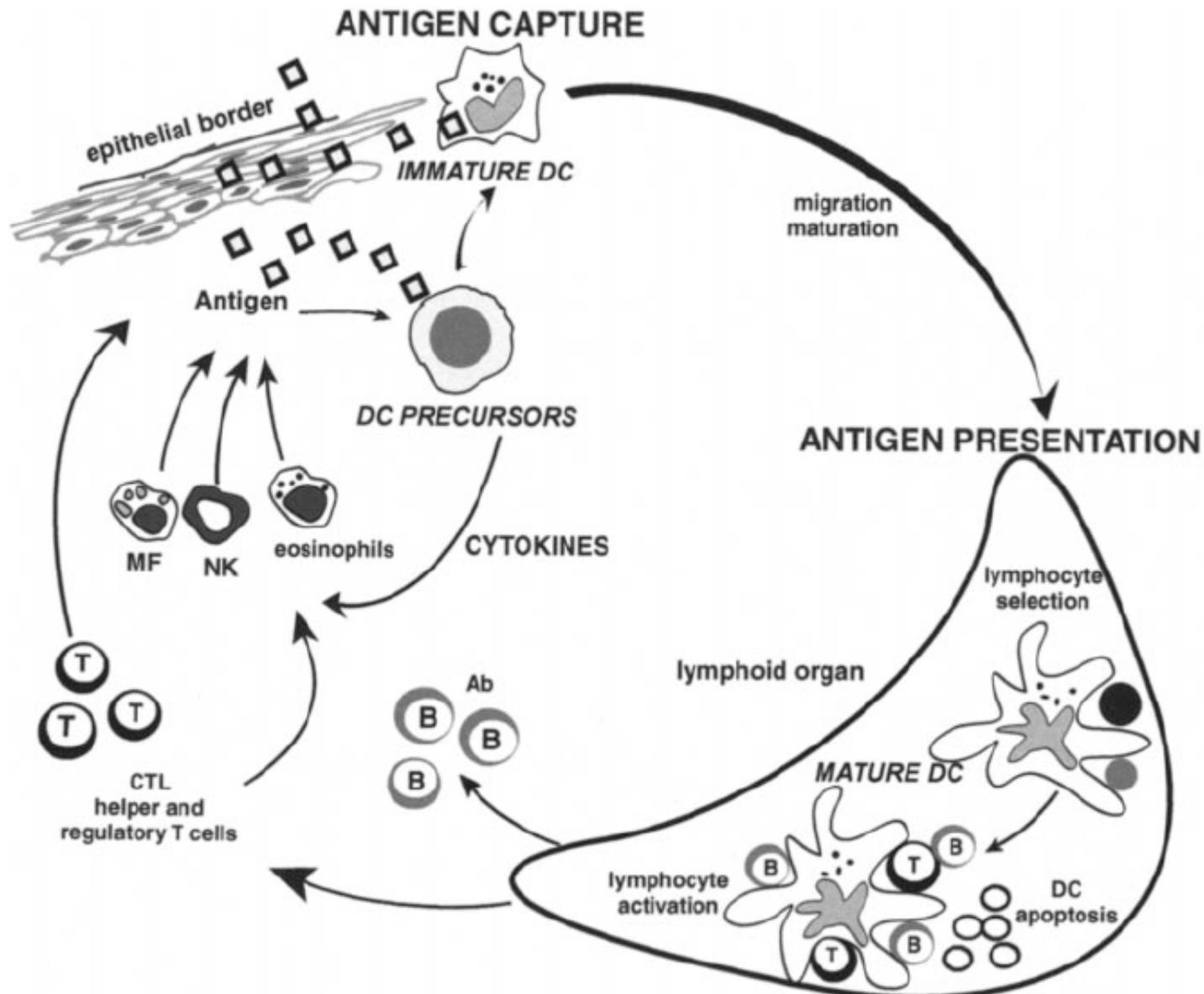
D'après *Immunobiology*, Janeway 5è edition

Propriétés des différentes APCs

II.4.

	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 particulières 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^{III}.



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⁺ (CD8 α +++) 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 stimulées 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 ($\text{INF}\alpha$)
 - présentation des AG \rightarrow cDCs
 - pDCs au repos = pré-DCs
- Associées à une immunité anti-virale et désordres auto-immuns

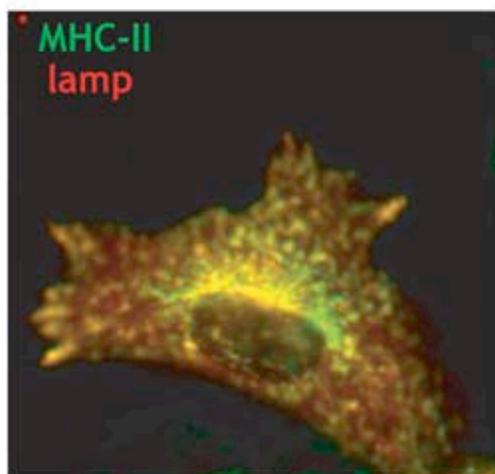
Les différents sous-types de DCs

	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	

L'activation des DCs

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

Immature DC

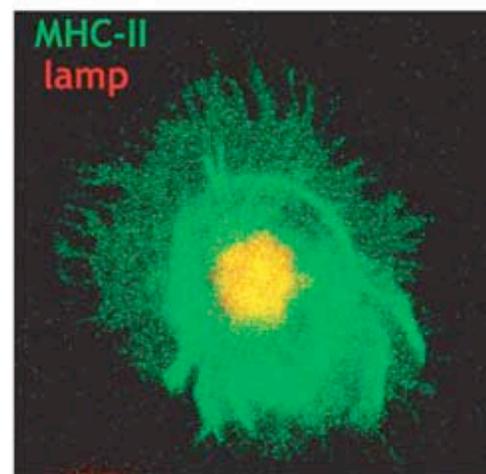


Peripheral and lymphoid tissues
Highly endocytic
Low surface MHC-II and costimulators

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 macropinocytose 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)

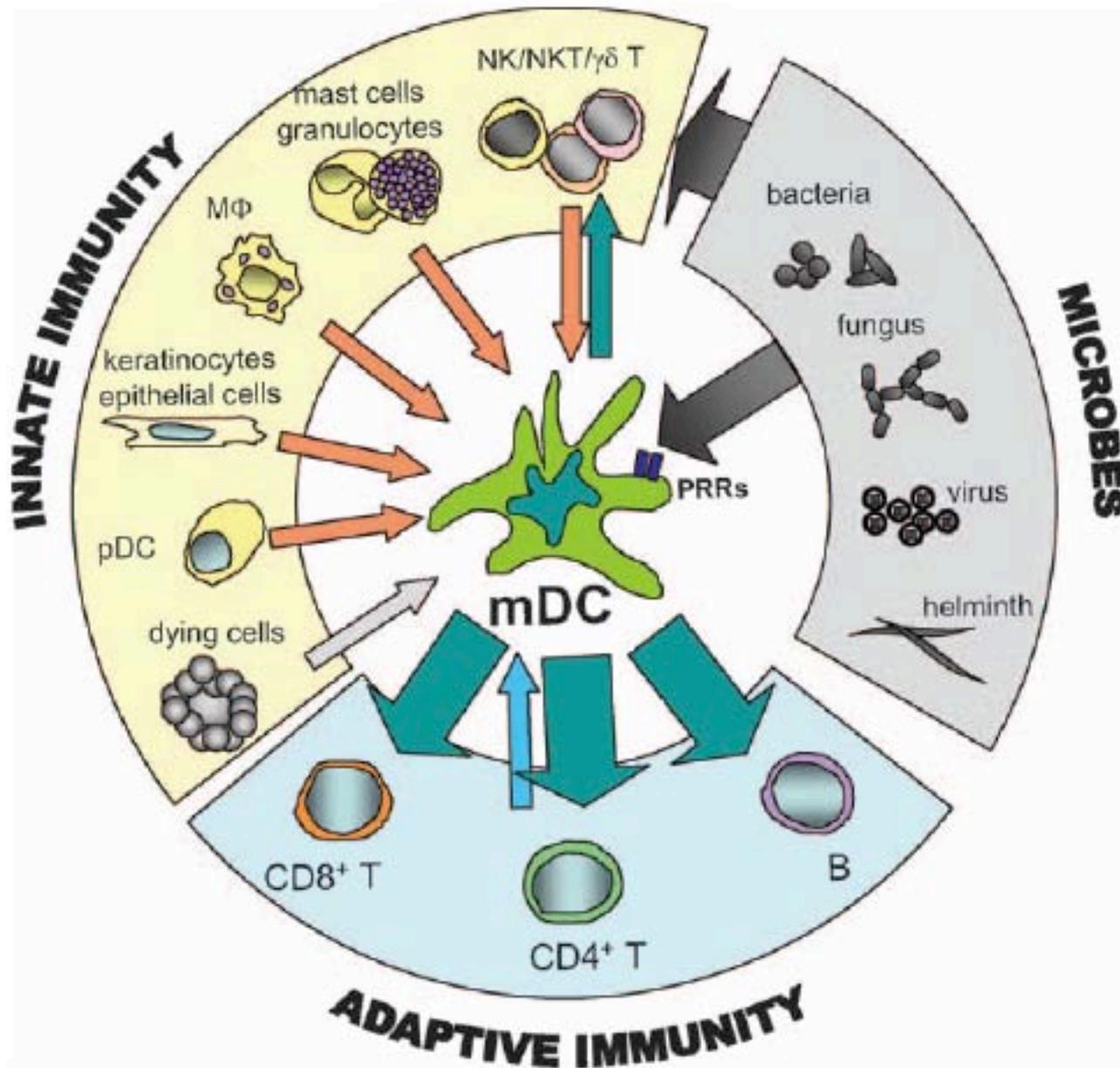
La maturation des DCs

- Etat de maturation historiquement associé aux capacités de stimulation des DCs
 - DCs immatures induisent la tolérance
 - DCs matures activent
- mais...
 - DCs matures peuvent induire la tolérance
 - DCs intermédiaires

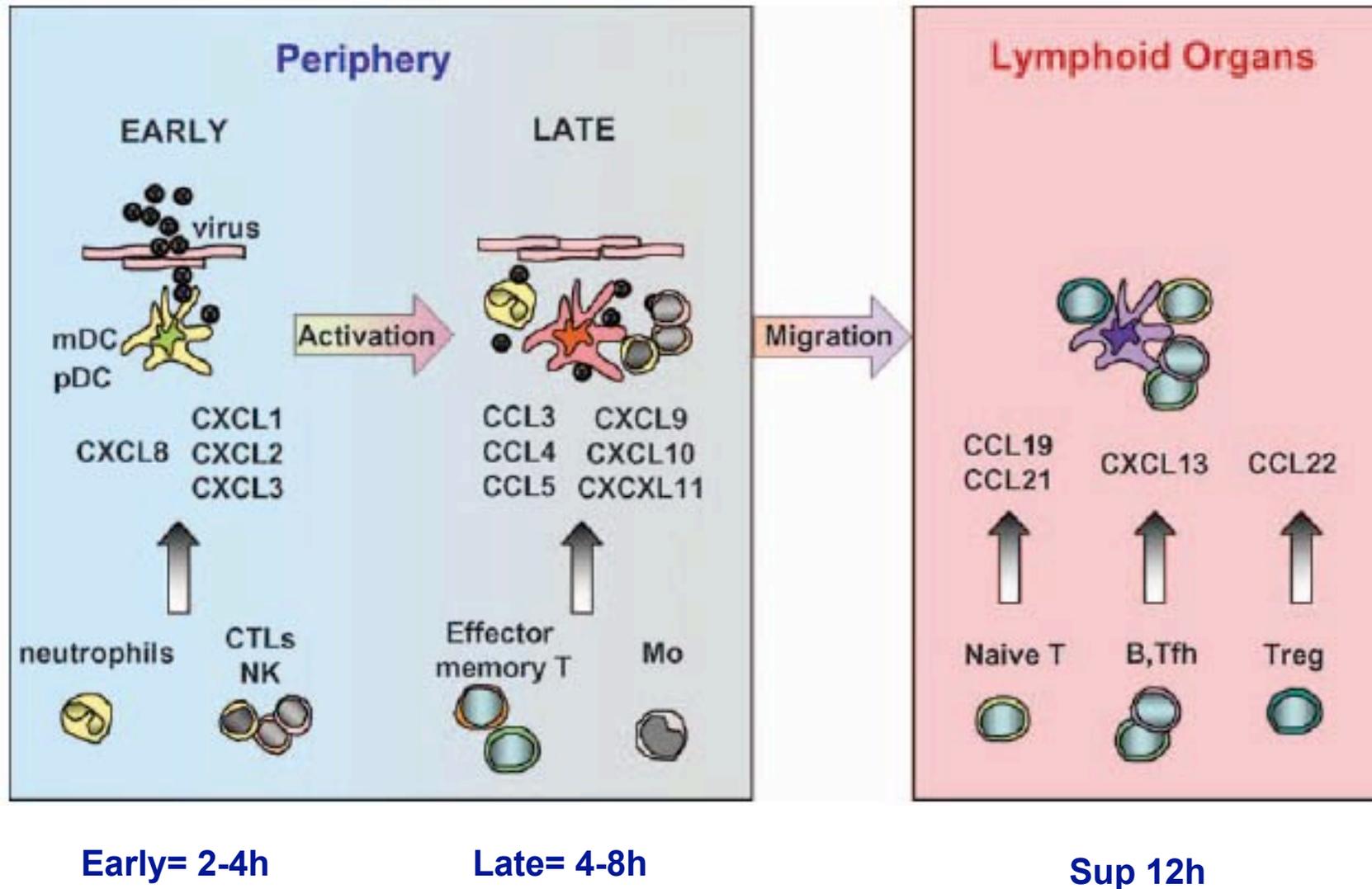
Signaux inducteurs de maturation des DCs

- 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

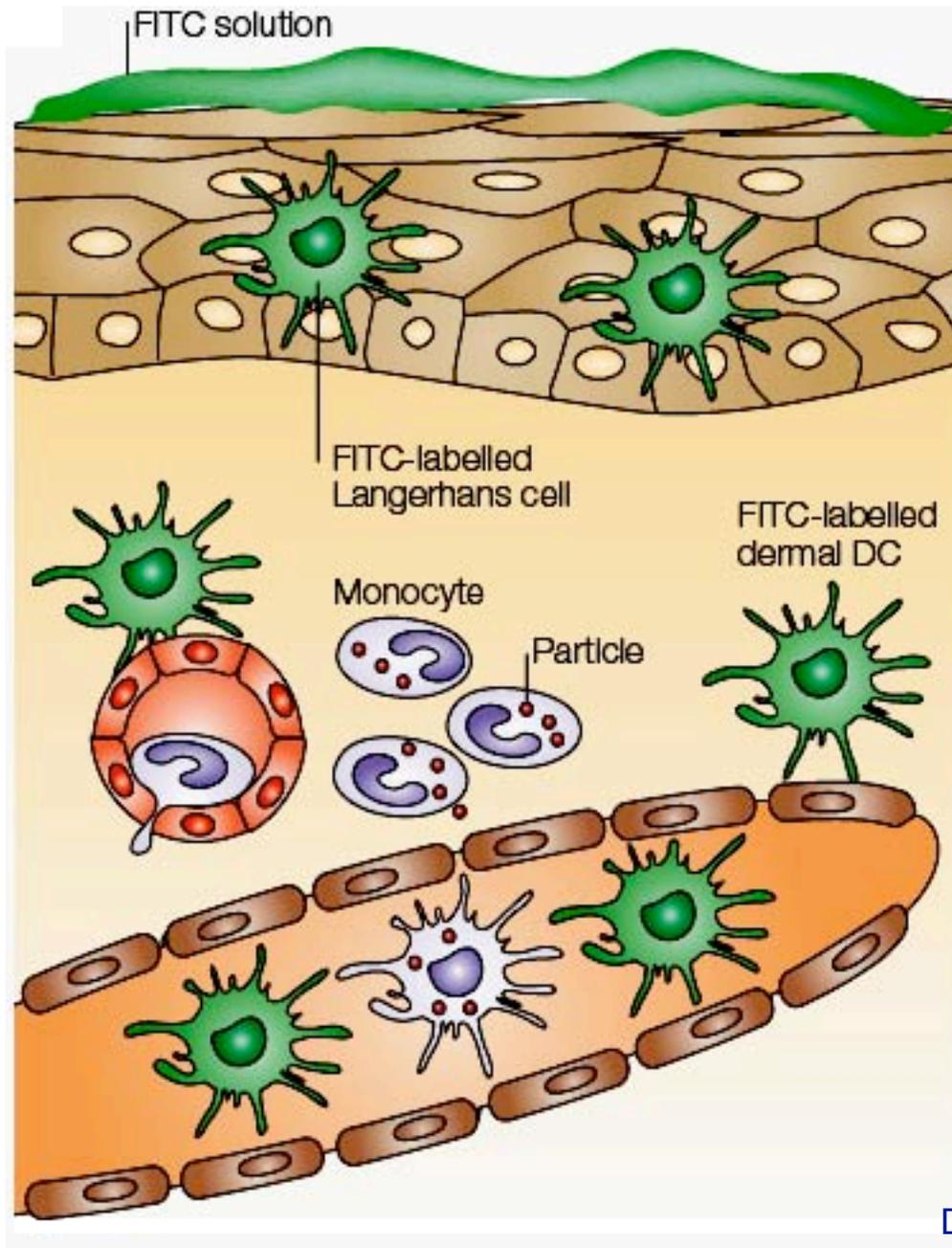


Synchronisation du SI autour des DCs



Suivi de la migration des DCs

III.3.



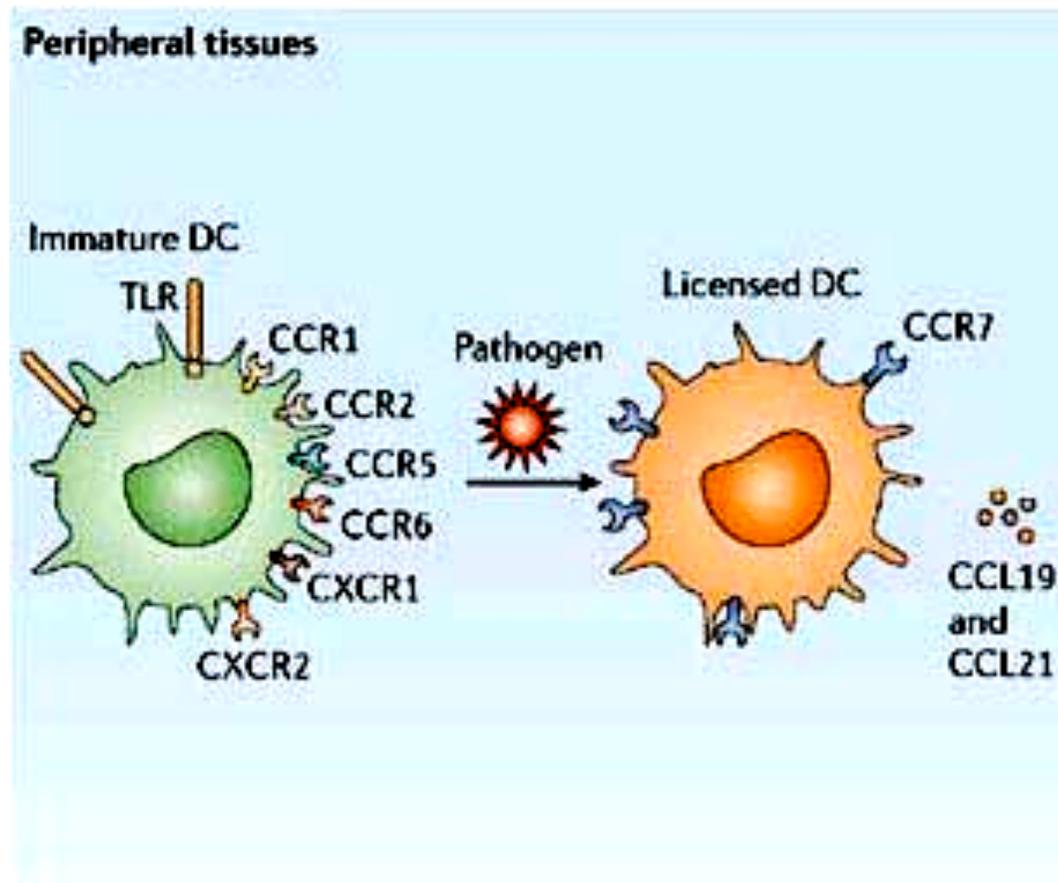
- FITC painting → marquage des LCs et des DCs du derme. Suivi de la migration dans les OLII

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

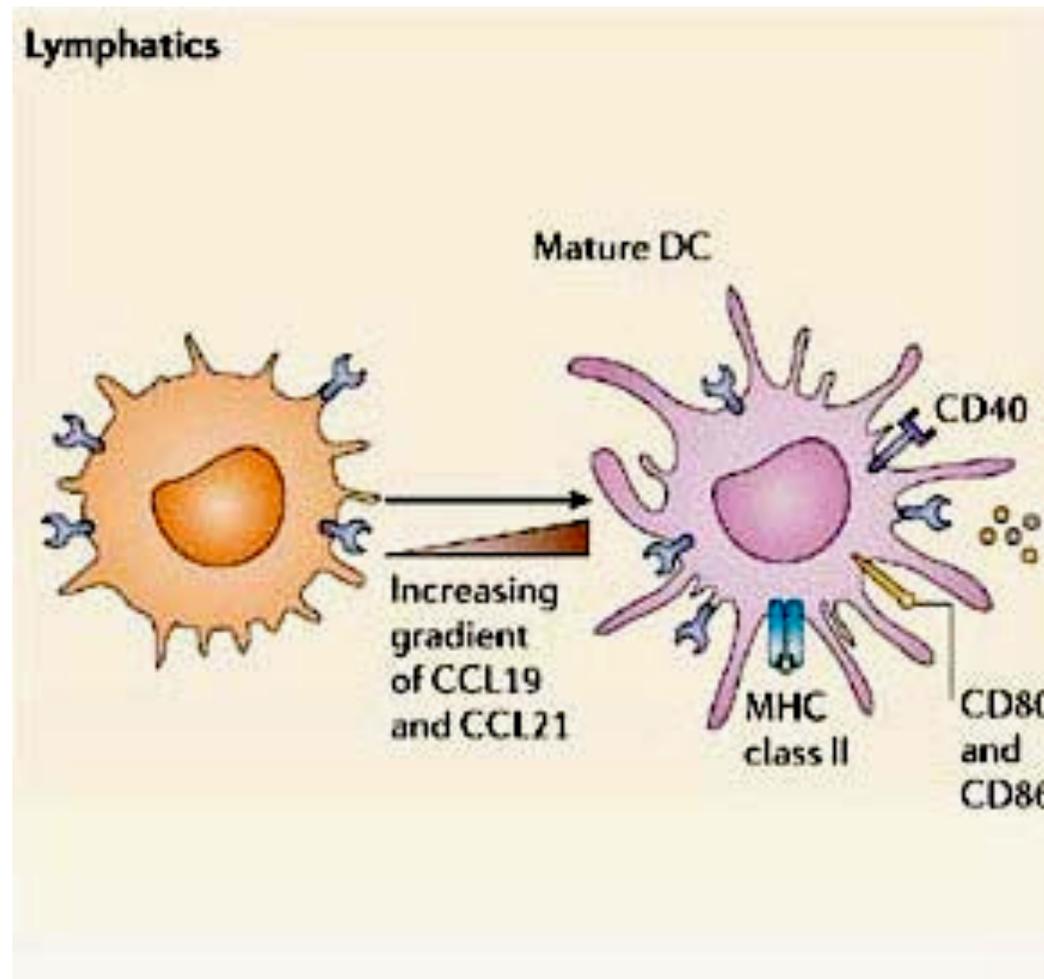
Migration des cellules dendritiques vers les organes lymphoïdes II aires

III.3.



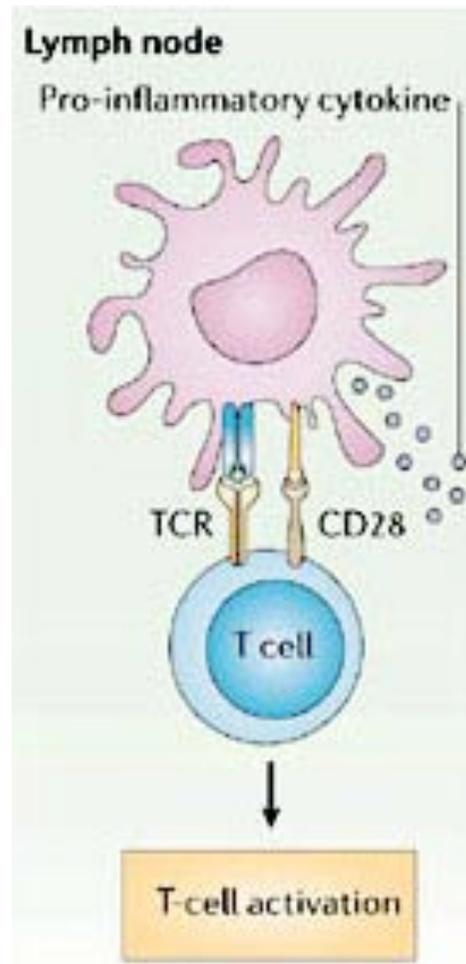
Migration des cellules dendritiques vers les organes lymphoïdes II^{aires}

III.3.



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

Les DC matures gagnent les zones T^{III.3.}
des ganglions → activation des T naïfs

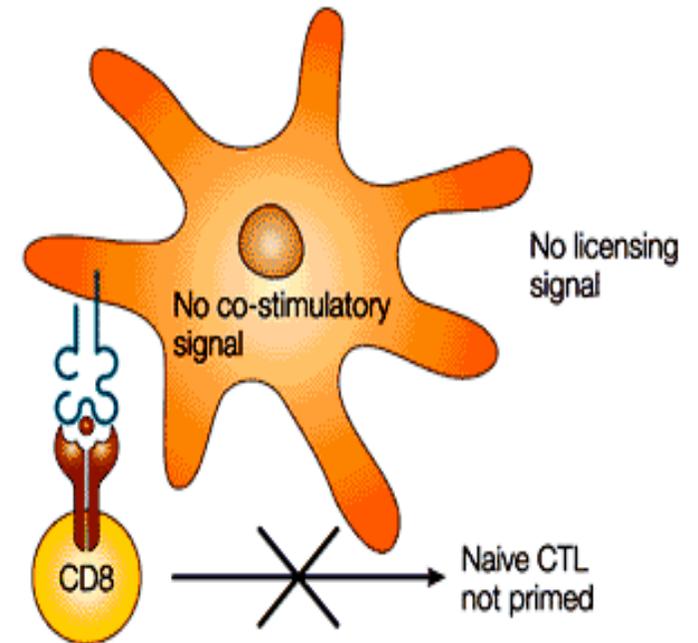
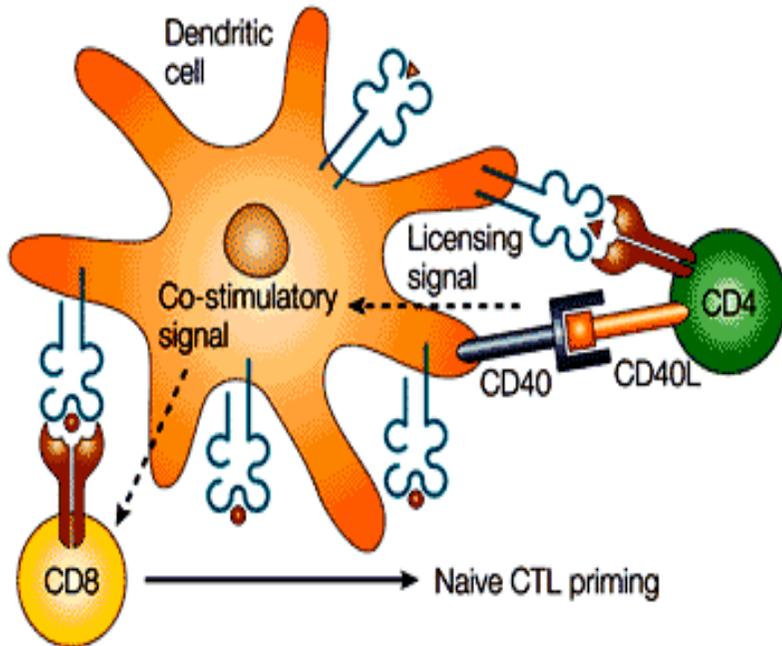


D'après *Nature Reviews Immunology*, Vol. 6, Février 2006

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 ou 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

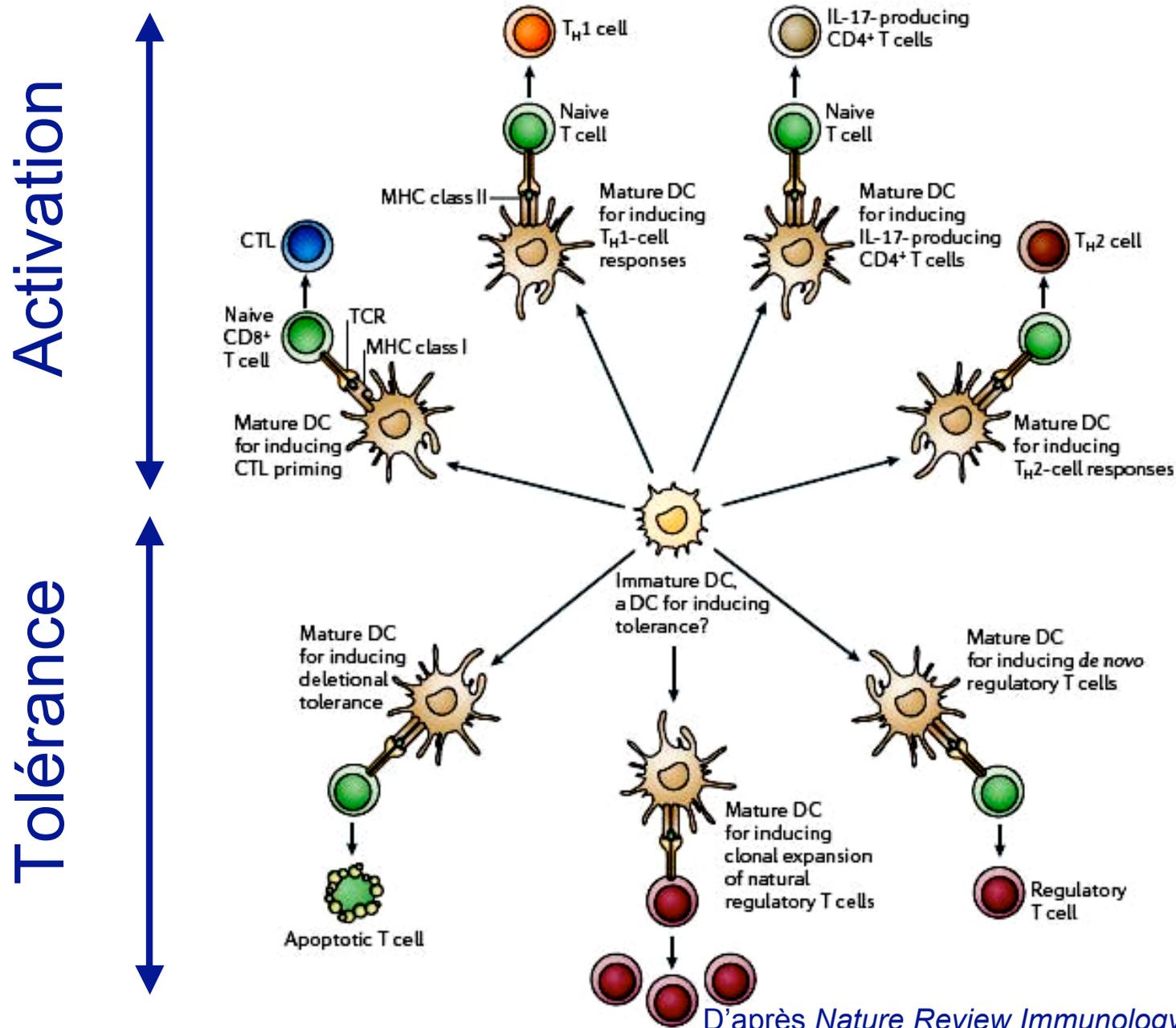
Priming des T naïfs par les cellules dendritiques III.4.



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

en absence de co-stimulation,
pas de priming

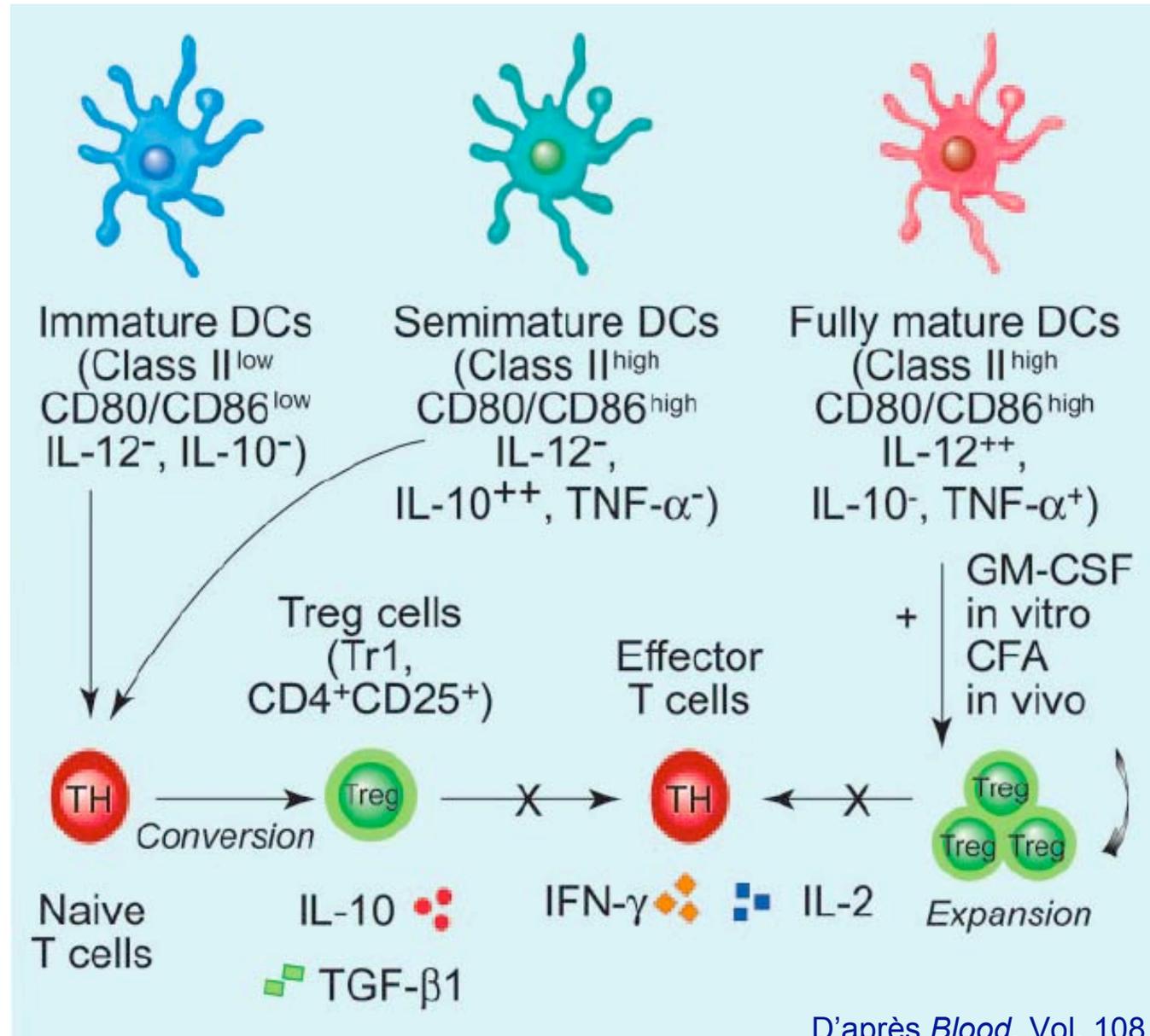
Fonctions effectrices des DCs



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

Stade de maturation des DCs et induction de la tolérance

III.4.



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

- 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

IV.

- 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.

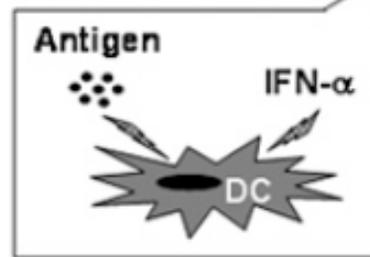
Applications thérapeutiques des DCs

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

Vaccins anti-tumoraux à base de cellules dendritiques

V.

1) Vaccine + IFN- α

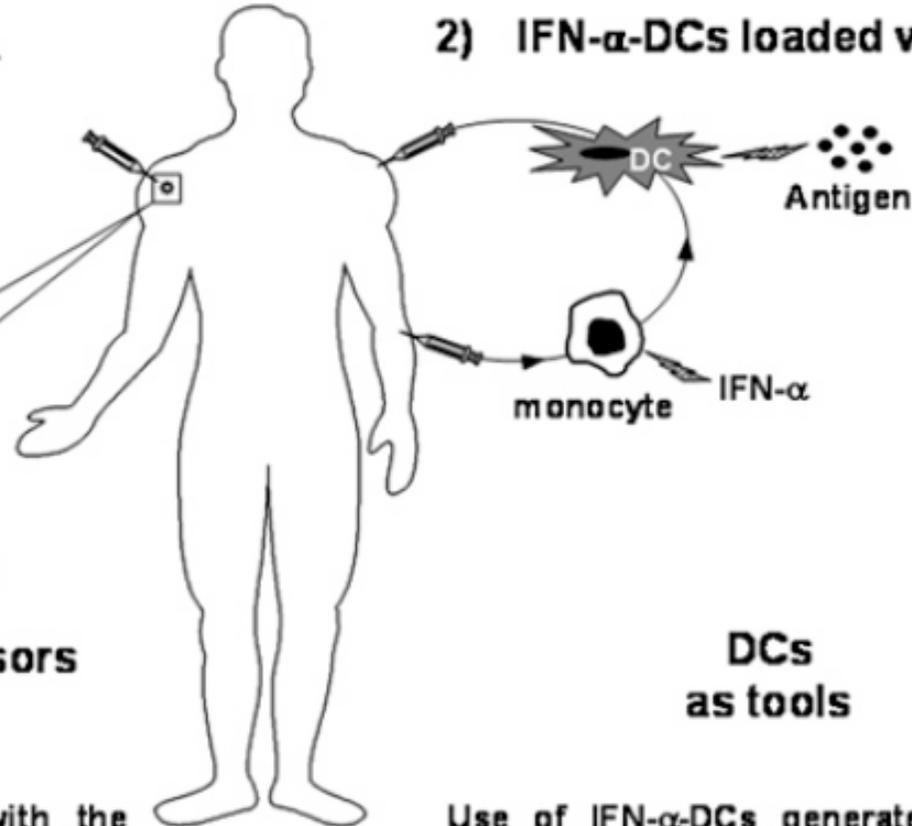


Monocytes/DC precursors as targets

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

2) IFN- α -DCs loaded with TAAs



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

Vaccins à base de cellules dendritiques

V.

- DCs pulsées
 - avec lysats tumoraux
 - avec peptides
- DCs transformées avec de l'ADN (vecteurs rétro-viraux) et électroporation ARN
- DCs chargées avec des protéines
- DCs fusionnées avec cellules tumorales
- <http://www.provence.com>