

# Chapitre I

## Généralités sur les réponses immunitaires

### 3. Cellules Présentatrices d'Antigènes (CPA)

#### I.3.1. Introduction

L'immunité adaptative renferme deux catégories de cellules fonctionnelles importantes :

1- Cellules Présentatrices d'Antigènes (CPA), qui sont chargées de reconnaître les antigènes, de les capturer, de les apprêter (préparer) et de les présenter aux cellules effectrices. Cette catégorie est représentée essentiellement par les cellules dendritiques (DC).

2- Cellules effectrices qui sont représentées par les Lymphocytes B (LB) et les Lymphocytes T (LT). Suite à leur activation, les LB se différencient en plasmocytes pour producteurs d'anticorps, alors que les LT se différencient en LT auxiliaires (T helper, LTh) qui sont les intermédiaires cellulaires des réponses immunitaires, ou en LT cytotoxiques (LTc) responsables de la réponses adaptative à médiation cellulaires. L'activation des LT et LB engendre également des cellules mémoires qui sont mobilisées au cours des réponses secondaires contre un même antigène.

Ces cellules toutes dérivent d'un même précurseur dans la moelle osseuse, la cellule souche hématopoïétique pluripotente (CSH). Ce précurseur, caractérisé par l'expression de CD34 (CSH CD34+), se différencie sous l'effet de nombreux facteurs en ces différentes cellules immunitaires. Au cours de leurs maturation, ces cellules acquièrent et expriment à la surface de leurs membranes plasmiques différentes molécules (Récepteurs, Corécepteurs, CD ...etc) qui leur permettent d'interagir les unes avec les autres pour remplir leurs différentes fonctions immunitaires, et qui permettent également de les identifier en immunocytochimie.

#### I.3.2. Reconnaissance des Ag par le système immunitaire adaptatif

Les réponses immunitaires adaptatives sont déclenchées lorsque les récepteurs des lymphocytes reconnaissent les antigènes. Les lymphocytes B et T diffèrent quant aux types d'antigènes qu'ils sont en mesure de reconnaître. Les récepteurs d'antigènes des lymphocytes B (Ac membranaire) peuvent reconnaître une grande variété de macromolécules (protéines, polysaccharides, lipides, acides nucléiques et même des molécules chimiques). Au contraire, la plupart des lymphocytes T ne sont en mesure de reconnaître que des fragments peptidiques d'antigènes protéiques, et seulement lorsque ces peptides sont présentés sur le CMHI ou CMHII des CPA. Ainsi les CPA doivent, dans un premier temps, reconnaître l'antigène, le capturer, préparer ces déterminants antigéniques puis les présenter aux LT.

##### I.3.2.1. Les motifs reconnus

###### a. Les PAMP

Les CPA reconnaissent les antigènes via des motifs exprimés à leurs surfaces. Ces motifs sont regroupés sous le nom de Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes, ou **PAMP** (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*). Les PAMP sont caractérisés par les trois propriétés suivantes :

- ils sont caractéristiques des microorganismes mais sont absents des cellules de l'hôte ;
- ils sont communs à de nombreuses espèces de microorganismes pathogènes, ce qui permet de compenser le nombre limité de récepteurs par rapport à l'énorme diversité des microorganismes potentiellement infectieux ;
- les molécules formant ces motifs sont essentielles pour la survie des microorganismes, ce qui limite l'apparition de mutants échappant à la reconnaissance.

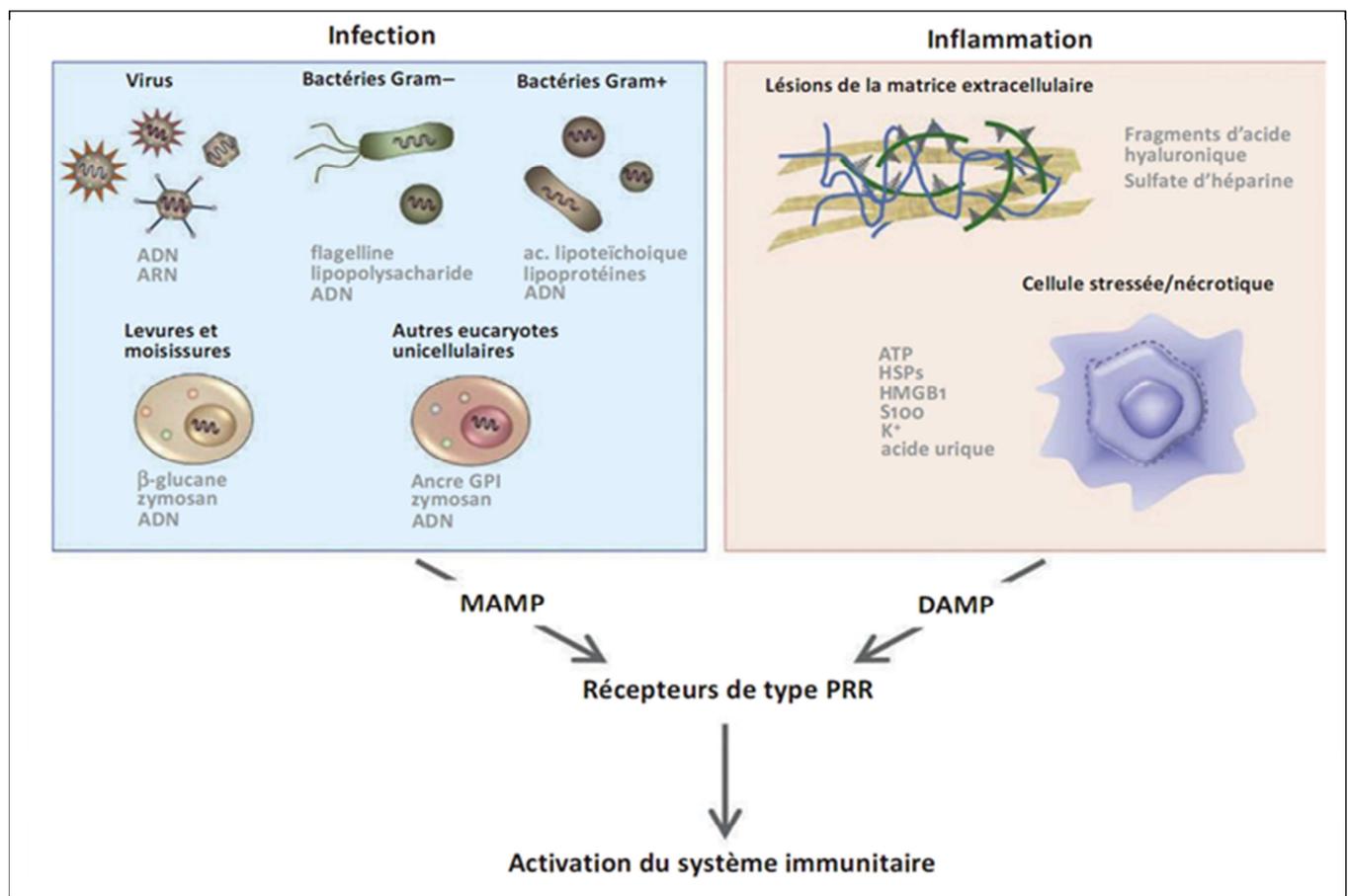
De nombreux MAMPs correspondent à des éléments retrouvés à la surface des micro-organismes. Les Lipopolysaccharides bactériens (LPS), anciennement appelés endotoxines, sont retrouvés à la surface des bactéries à Gram négatif. D'autres MAMPs sont retrouvés à la surface de :

- Bactéries : flagelline bactérienne, acide lipotéichoïque, peptidoglycanes ;
- Levures et moisissures:  $\beta$ -glucanes,  $\alpha$ -mannanes ;
- Autres eucaryotes unicellulaires : protéines ancrées au GPI (glycosylphosphatidylinositol).

Lorsque les microorganismes sont dégradés, par exemple lors de la phagocytose, ils peuvent aussi exposer des molécules internes. Ainsi, leurs acides nucléiques peuvent être détectés comme PAMP. Par exemple, les dinucléotides CpG de l'ADN bactérien (beaucoup moins souvent méthylés que chez les mammifères), les ARN simples et doubles brins des virus, constituent tous des PAMP qui peuvent déclencher des réponses immunitaires.

### b. Les DAMP

En plus des PAMP de pathogènes, le système immunitaire peut reconnaître également des motifs moléculaires issus du Soi. Ces derniers composés ont été appelés DAMP (*Damage Associated Molecular Patterns*) ou alarmines. En fait, des molécules normalement intracellulaires peuvent être libérées dans le milieu extracellulaire, passivement à partir de cellules mortes, ou activement en réponse à un stress cellulaire. Lorsque ces molécules, comme les Hsp (protéines de choc thermique), HMGB1 (High-Mobility Group Box 1 : une molécule associée à la chromatine), les protéines S100, les acides nucléiques, l'ATP ou l'acide urique se retrouvent dans le milieu extracellulaire, elles deviennent alors des DAMPs qui peuvent déclencher des réponses immunitaires. Des molécules dérivées de la matrice extracellulaire peuvent également être générées suite à une lésion tissulaire, comme des fragments d'acide hyaluronique ou le sulfate d'héparine, qui représentent d'autres formes de DAMPs.



**Planche 01.** Les structures reconnues par les récepteurs de l'immunité innée sont des MAMP ou des DAMP. (Fournel et al., 2018)

### I.3.2.2. Les récepteurs des antigènes

#### a. Les récepteurs de l'immunité innée

La discrimination entre soi et non-soi pourrait être largement opérée par le système immunitaire grâce à des récepteurs appelés PRR (*Pattern Recognition Receptors*), ou récepteurs de reconnaissance des motifs. Ces récepteurs sont utilisés pour reconnaître et fixer les motifs moléculaires des antigènes (PAMPs et DAMPs).

Les PRR sont largement conservés et on les retrouve chez presque tous les eucaryotes. Chez les vertébrés, les PRR participent au déclenchement de l'inflammation, et jouent également un rôle clé dans l'initiation de la réponse adaptative, en participant à la maturation des cellules dendritiques.

On retrouve des PRRs membranaires (situés à la surface de la cellule ou au niveau de la membrane des endosomes), des PRRs cytosoliques, et des PRRs extracellulaires ou solubles.

- Les PRR solubles : ils jouent un rôle important dans la phagocytose, dans l'activation du complément, et dans l'activation de la réaction inflammatoire. Le plus souvent les PRR solubles sont des opsonines, parmi lesquels on peut citer :

- Les composants du complément,
- Les protéines MBP (*Mannan Binding Protein*) ou MBL (pour « Mannane Binding Lectin »),
- Les protéines CRP (*C-Reactive Protein*),
- Les protéines LBP (*pour LPS-binding protein*).

- Les PRR membranaires : ce sont beaucoup plus diversifiés, et sont impliqués dans la phagocytose, dans l'activation de la réponse inflammatoire, dans l'activation de la réponse antivirale, ou dans le transfert à d'autres PRR. Parmi lesquels on peut citer :

Les récepteurs MMR (*Macrophage Mannose Receptor*), les récepteurs aux lectines de type C (CLR pour *C-type Lectin Receptors*), les récepteurs du complément et les récepteurs *scavengers* (récepteurs de piégeage) qui jouent un rôle dans la phagocytose.

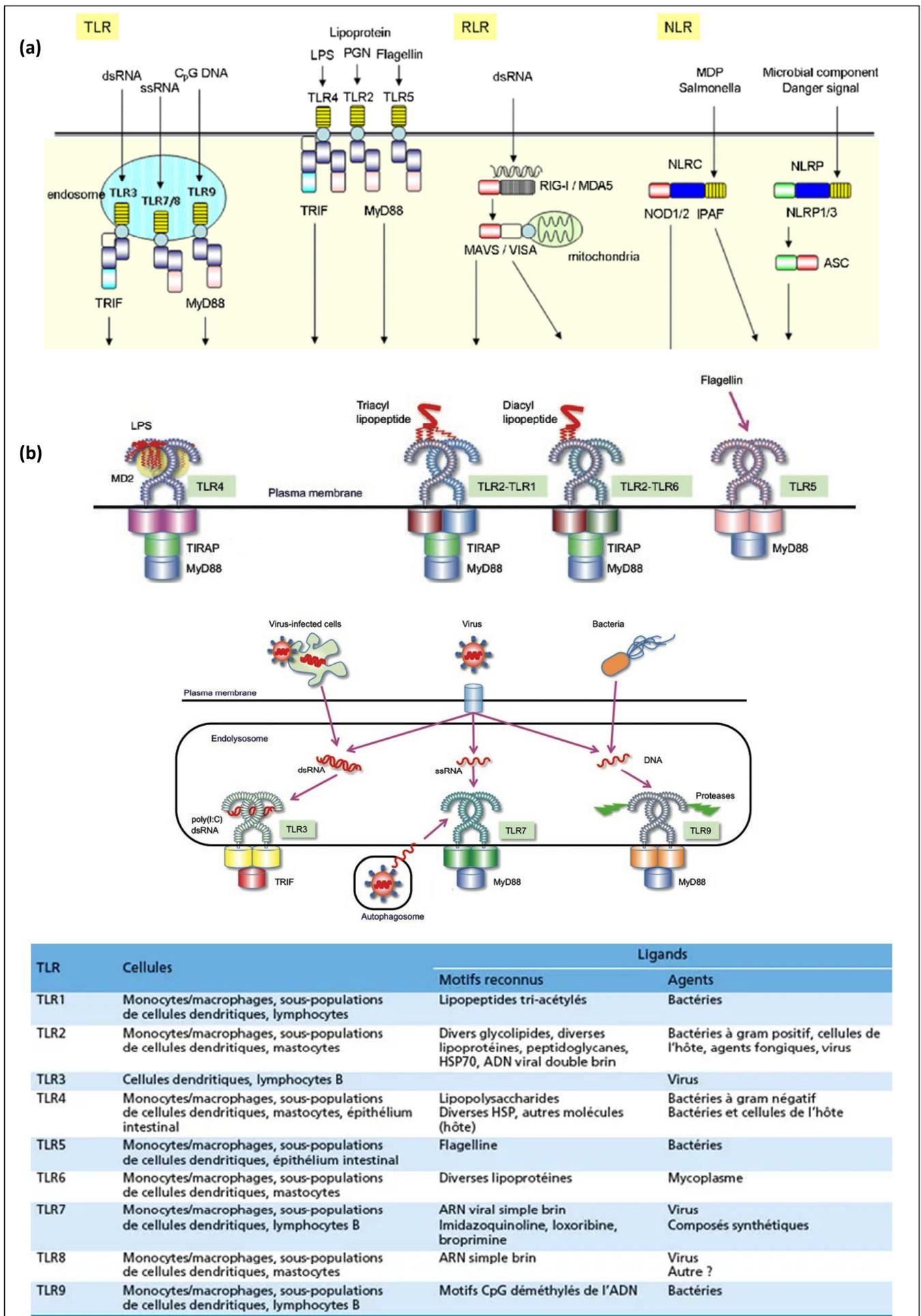
Les récepteurs TLR (*Toll-Like Receptors*) qui jouent un rôle dans l'activation de la réponse inflammatoire ainsi que de la réponse antivirale. Certains TLR sont localisés à la membrane plasmique, permettant de reconnaître plutôt des motifs de micro-organismes intacts, tandis que d'autres, situés à la membrane des vésicules d'endocytose (endosomes), reconnaissent plutôt des motifs issus de la dégradation des micro-organismes après leur internalisation, comme les acides nucléiques.

Ces récepteurs ne sont pas présents sur toutes les cellules ; en effet on les trouve globalement sur deux cellules caractéristiques, les macrophages et les cellules dendritiques. Les TLR sont des exceptions et se trouvent presque partout : cellules endothéliales, muscles...etc.

- Les PRR cytoplasmiques : si la famille des TLR constitue l'essentiel des récepteurs de l'immunité innée, il existe également deux autres familles qui sont cytoplasmiques et qui sont impliqués dans la reconnaissance de composants bactériens et viraux intracellulaires. Les PRR cytoplasmiques correspondent aux récepteurs NLR (*NOD-Like Receptors*) et RLR (*RIG-I-like receptors*).

Les récepteurs NLR sont une famille d'une vingtaine de protéines situées dans le cytoplasme et reconnaissant presque exclusivement des composants bactériens. Ils se subdivisent en 3 sous-familles : NOD, NALP et NAID. Les trois sous-familles recrutent des caspases qui clivent un certain nombre de cytokines en particulier les cytokines inflammatoires comme l'interleukine 1 se trouvant sous la forme inactive dans le cytoplasme et étant ainsi activé.

Les récepteurs RLR reconnaissent essentiellement des composant viraux, principalement des acides nucléiques viraux, et vont activer toutes les voies de signalisation : NF- $\kappa$ B, MAP-kinases et interféron.



**Planche 02.** (a) Les familles de récepteurs des antigènes (Récepteurs de l'immunité innée) (Sangjun and Yu, 2011). (b) Les membres de la famille des récepteurs TLR et leurs ligands correspondant (Roosnek, 2013).

## b. Les récepteurs de l'immunité adaptative

Ces récepteurs sont impliqués dans l'activation des LT et des LB, ils sont représentés par le TCR (*T-Cell Receptor*) et le BCR (*B-Cell receptor*). L'engagement de ces récepteurs conduit à la maturation et la différenciation final de cellules de la réponse adaptative.

### 1- Le récepteur T pour l'antigène (T-Cell receptor ou TCR)

Le lymphocyte T reconnaît via son TCR des peptides antigéniques présentés par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Le TCR des lymphocytes T CD4 reconnaît des peptides de 12 à 25 acides aminés présentés par les CMH de classe II des cellules présentatrices d'antigène (CPA). Ces peptides proviennent de la dégradation intra cellulaire de protéines extracellulaires. Le TCR des lymphocytes T CD8 reconnaît des peptides de 9 acides aminés présentés par les CMH de classe I, présents sur toutes les cellules de l'organisme. Ces peptides sont d'origine intracellulaire.

Il est important de distinguer le TCR proprement dit, permettant la reconnaissance de l'antigène, du complexe TCR-CD3 qui assure la transduction d'un signal d'activation dans le lymphocyte T suite à cette reconnaissance.

#### *- Module de reconnaissance - le TCR*

On distingue deux types de TCR en fonction des chaînes qui le constituent : TCR<sub>αβ</sub> et TCR<sub>γδ</sub>. Ces derniers représentent un type de lymphocytes T particuliers minoritaires dans le sang circulant (<10 % des lymphocytes T) qui sera abordé en fin de chapitre. Les TCR ont une structure de type "immunoglobulin like" et sont composés d'une chaîne α et d'une chaîne β comportant chacune un domaine variable et un domaine constant. Chaque TCR est différent d'un lymphocyte T à l'autre, les différences étant liées à des modifications dans les régions variables des chaînes qui le composent. Ces deux chaînes sont reliées par un pont disulfure. La partie intracytoplasmique (COOH terminale) du TCR est courte.

#### *- Module de transduction du signal - le complexe CD3*

Le TCR qui reconnaît l'antigène est associé au complexe CD3 qui transmet un signal à l'intérieur de la cellule. Contrairement au TCR, le complexe CD3 est formé de plusieurs peptides invariants : les chaînes γ, δ, ε et ζ/η. Les chaînes γ, δ, et ε du complexe CD ont, comme les chaînes du TCR une structure "immunoglobulin like", mais possèdent toutefois une queue intra-cytoplasmique un peu plus longue. Ces chaînes constituent des molécules CD3 hétérodimériques εγ et εδ (CD3ε-CD3γ et CD3ε-CD3δ). Les chaînes ζ et leur variant la chaîne η s'associent en homodimère (ζ ζ), dont le domaine extracellulaire est réduit. Elles comportent une longue portion intracytoplasmique avec plusieurs motifs de type ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif*) sièges de résidus tyrosine cibles de phosphorylation par des protéines kinases spécifiques à l'origine de la transduction d'un signal d'activation. Il y a aussi des ITAM sur les autres chaînes du CD3, 10 ITAM en tout pour un complexe TCR-CD3.

#### *- Les molécules CD4 et CD8*

Les molécules CD4 et CD8 sont des déterminants majeurs des lymphocytes T et permettent de distinguer en périphérie des lymphocytes auxiliaires exprimant la molécule CD4 et des lymphocytes cytotoxiques exprimant la molécule CD8. Ces molécules, également importantes pour distinguer les différents stades de maturation des thymocytes au cours de l'ontogénie, appartiennent à la superfamille des immunoglobulines. Les molécules CD4 et CD8 stabilisent l'interaction CMH/TCR en interagissant avec une partie faiblement polymorphe du CMH et participent à la signalisation intracellulaire.

### 2- Le récepteur B pour l'antigène (B-Cell receptor ou BCR)

C'est l'élément fonctionnel majeur de la lignée B, marqueur le plus spécifique et dont l'expression est restreinte aux LB. Contrairement au TCR, qui ne reconnaît que des fragments peptidiques présentés sur le CMH, le BCR est capable de reconnaître des motifs libres de différentes natures (sans qu'ils ne soient présentés par le CMH). Le complexe moléculaire BCR comprend:

- *Module de reconnaissance*

Le module de reconnaissance, des Ag par le BCR, est constitué d'une molécule d'Ig de membranaire (mIg) dont la structure est identique à celle des Ac solubles à l'exception de l'extrémité C terminale des chaînes lourdes (H) qui possède une région transmembranaire (TM) formée d'une vingtaine d'acides aminés et une très courte région cytoplasmique.

Le BCR des lymphocytes B matures comporte une IgM et une IgD membranaires (IgMm, IgDm) qui possèdent la même chaîne légère et le même domaine VH (mêmes spécificité antigénique). Les chaînes  $\mu$  et  $\delta$  résultent de l'épissage alternatif d'un même ARN primaire contenant les deux transcrits:  $C\mu$  et  $C\delta$ . Les IgM membranaires sont monomériques ( $\mu 2L2$ ). Le BCR des lymphocytes B mémoires ne comportent pas d'IgDm et comportent en général, une seule classe d'Ig (IgG, IgA ou IgE).

- *Module de transduction du signal d'activation*

Il s'agit d'un hétérodimère formé des molécules transmembranaires  $Ig\alpha$  (CD79a) et  $Ig\beta$  (CD79b) liées par un pont disulfure (S-S). L'hétérodimère  $Ig\alpha/Ig\beta$  assure la transduction du signal induit par la reconnaissance spécifique d'un Ag par les domaines variables de l'Ig de surface.  $Ig\alpha/Ig\beta$  possèdent dans leurs régions cytoplasmiques des motifs ITAM qui servent de substrats pour les protéines tyrosine kinase, intervenant dans la signalisation intracellulaire.

**c. Molécules de présentation**

La présentation des déterminants antigéniques repose sur l'expression de protéines membranaires hautement variable d'une espèce à l'autre, et même d'un individu à l'autre, ce sont des molécules de CMH ou Complexe Majeur d'Histocompatibilité (système HLA chez l'Homme). On distingue deux classes de CMH, I et II.

1- *Le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH-I)*

Les molécules du CMH-I sont présentes sur toutes les cellules nucléées de l'organisme (donc pas les globules rouges) à des taux variables (expression la plus importante au niveau des lymphocytes). Ces cellules ont pour fonction de présenter les molécules d'Ag aux LT-CD8 qui deviendront des LT cytotoxiques.

Chaque individus possèdent sur ces cellules nucléées 6 types de molécules de classe I du CMH (deux molécules HLA-A, deux molécules HLA-B et deux molécules HLA-C) mais exprimés plusieurs milliers de fois. Ces molécules de classe I sont composées de deux chaînes polypeptidiques  $\alpha$  et  $\beta 2m$ , qui présentent toutes deux des domaines "immunoglobuline-like" (Ig-Like) et qui sont associées de manière non covalente. La chaîne  $\alpha$  (ou chaîne lourde) est codée par les gènes HLA-A, HLA-B et HLA-C. Elle est polymorphique et donc varie suivant les 6 gènes que l'individu possède. Elles présentent trois domaines "immunoglobuline-like" :  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  et  $\alpha 3$ .

La chaîne  $\beta$  (ou chaîne légère), non-polymorphique, est dite  $\beta 2$ -microglobuline et possède un domaine "immunoglobuline-like" :  $\beta 2m$ .

Les molécules du CMH-I sont constituées de 4 parties caractéristiques :

- La région de liaison au peptide antigénique ou région PBR (pour *Peptide Binding Region*) est formée par les domaines  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  qui forment une cavité (sillon peptidique, poche peptidique) dans laquelle ira se loger le peptide antigénique.
- La région immunoglobuline-like est formée par les domaines  $\beta 2m$  et  $\alpha 3$  et est la région qui fixe le CD8.
- La région transmembranaire qui est unique, la chaîne  $\beta 2m$  ne présentant pas de segment transmembranaire.
- La région intra-cytoplasmique qui également unique pour les mêmes raisons que pour la région transmembranaire.

Le CMHI est la molécule de présentation des antigènes endogènes ou intracellulaire.

## 2- Le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II)

Les molécules du CMH II sont présentes sur un nombre de cellules beaucoup plus restreint : les macrophages, les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les cellules épithéliales du thymus (impliquées dans l'éducation des LT). On appelle ces cellules les cellules présentatrices d'antigènes (CPA ou CPAg) qui ont pour fonction de présenter les molécules d'Ag aux LT-CD4 qui deviendront des LT helpers (ou LT auxiliaires).

Chez l'être humain le CMHII est représenté essentiellement par les molécules HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR. Ces molécules de classe II sont également composées de deux chaînes polypeptidiques  $\alpha$  et  $\beta$ , qui présentent toutes deux des domaines "immunoglobuline-like", qui sont associées de manière non covalente et qui sont cette fois-ci codées toutes les deux par le CMH :

La chaîne  $\alpha$  présente deux domaines Ig-like :  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$ .

La chaîne  $\beta$  présente deux domaines Ig-like :  $\beta 1$  et  $\beta 2$ .

Les molécules du CMH-II sont constituées de 4 parties caractéristiques :

- La région de liaison au peptide antigénique ou région PBR (pour *Peptide Binding Region*) est formée par les domaines  $\alpha 1$  et  $\beta 1$  qui forment la cavité (sillon peptidique ou poche peptidique) dans laquelle ira se loger le peptide antigénique.
- La région immunoglobuline-like est formée par les domaines  $\alpha 2$  et  $\beta 2$  est la région qui fixe le CD4.
- La région transmembranaire constituée de deux segments, un provenant de la chaîne  $\alpha$  et l'autre de la chaîne  $\beta$ .
- La région intra-cytoplasmique est également constituée de deux segments pour les mêmes raisons que la région transmembranaire.

Les molécules de CMHII se spécialisent dans la présentation des antigènes exogènes ou extracellulaires.

### Remarque :

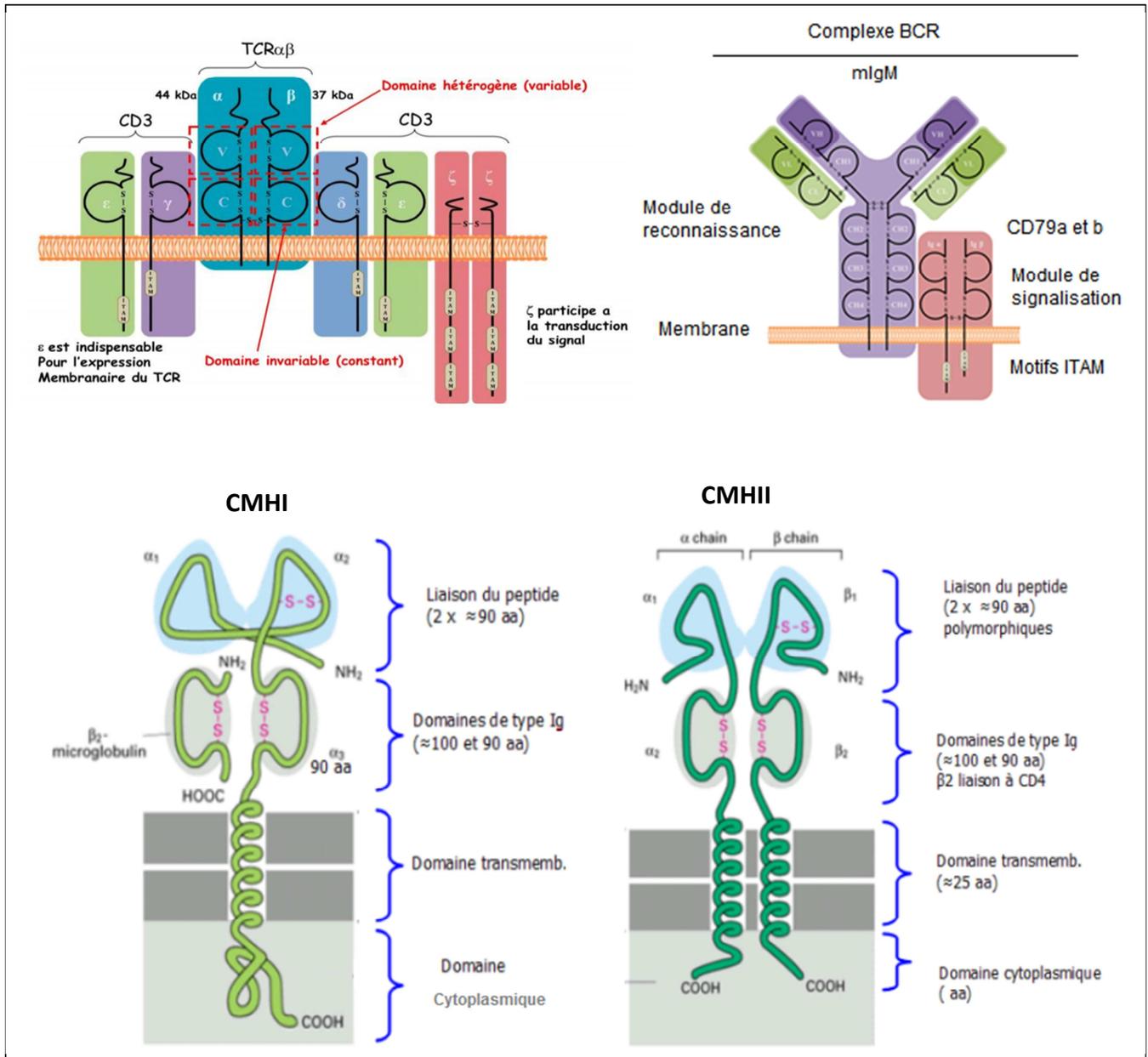
Il est important de préciser que les molécules du CMH de classe I et de classe II ne présentent que des peptides et donc des molécules de nature protéique ; certains polysaccharides peuvent tout de même être présentés. L'interaction entre le peptide et le CMH est extrêmement peu spécifique, permettant aux molécules du CMH de présenter des milliers de peptides différents. Un peptide peut se fixer sur des molécules différentes, on parle de "reconnaissance dégénérée".

## 3- Les molécules CD1

A côté des molécules de classe 1 et de classe 2 du CMH, il existe d'autres molécules ayant la capacité de présenter des antigènes, ce sont les molécules CD1. Ces molécules sont structurellement proches des molécules de classe 1 du CMH mais elles sont invariantes, bien qu'il en existe plusieurs isotypes (Différents types de CD1 : CD1a, b, c, d et e). Elles ont la caractéristique de présenter des lipides et des glycolipides qui seront reconnus par le TCR présenté par les cellules NKT et les lymphocytes présentant un TCR- $\gamma\delta$ . Parmi les lipides reconnus on compte les glycosphingolipides d'origine bactérienne, ou d'origine endogène produit lors de l'interaction avec des bactéries.

Les protéines CD1 sont constituées d'une chaîne lourde (la chaîne  $\alpha$ ) glycosylé associée, de manière non covalente, à une chaîne de  $\beta 2$ -microglobuline ( $\beta 2m$ ). La chaîne lourde comporte trois domaines extramembranaires ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ), un domaine transmembranaire et une courte portion intracytoplasmique.

A l'opposé des molécules du CMH de classe I, les molécules CD1 ont une distribution cellulaire restreinte comme celles du CMH de classe II. Les protéines CD1 de groupe 1, initialement décrites sur les thymocytes humains, sont exprimées à la surface de plusieurs populations de cellules présentatrices d'antigènes, des cellules dendritiques de la zone médullaire thymique, des cellules de Langerhans présentes dans l'épiderme et dans certains autres épithéliums, des cellules dendritiques dermiques et des cellules mononucléaires du sang périphérique. La distribution des molécules CD1 du groupe 2 est surtout connue chez les lymphocytes B et T, les macrophages, les cellules dendritiques et la majorité des cellules fraîchement isolées de la moelle osseuse



**Planche 03.** Récepteurs et molécules de présentation de la réponse immunitaire adaptative (planche adaptée de différentes sources).

### I.3.3. Les Cellules Présentatrices de l'Antigène

Les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) constituent une interface entre la réponse immunitaire innée et la réponse immunitaire adaptative. Elles sont nécessaires à l'induction de la réponse adaptative grâce à leur capacité de capturer l'Ag et de le présenter aux LT, ainsi que leur expression de molécules de co-stimulation indispensables à l'activation des LT.

#### I.3.3.2. Caractéristiques des CPA

Les CPA partagent certaines caractéristiques communes qui leur permettent d'assurer la fonction de présentation des Ag :

- Elles sont d'origine hématopoïétique et dérivent d'une cellule souche hématopoïétique CD34<sup>+</sup> (HSC CD34<sup>+</sup>).
- Elles expriment des récepteurs de surface (PRR) leur permettant la reconnaissance et la capture des Ag.
- Elles ont la capacité de phagocytose et de trafic intracellulaire indispensable pour la dégradation de l'Ag en peptides antigéniques.

- Elles exhibent un pouvoir migratoire qui leur permet de quitter les tissus et de rejoindre les organes lymphoïdes secondaires pour y présenter l'Ag.
- Elles expriment d'une façon constitutive des molécules de présentation HLA I et HLA II, leur permettant la présentation des peptides antigéniques aux TCR des cellules LT.
- Elles expriment des molécules de co-stimulation (B7 et CD40), de migration (CCR7) et d'adhérence cellulaire (ICAM1, LFA-1, LFA-3)

### I.3.3.3. Les différents types de CPA

Les principales cellules présentatrices d'antigène sont les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B. Ainsi que, les cellules endothéliales ou épithéliales qui, après stimulation par l'interféron  $\gamma$  (INF $\gamma$ ), expriment les molécules CMH de classe II. Cependant, seules les cellules dendritiques sont considérées des CPA professionnelles, car elles sont les seules CPA capables d'activer les LT naïfs.

#### a. Les cellules dendritiques (DC)

Les DC sont une population très hétérogène de cellules présentatrices d'Ag aux diverses fonction. Les premières DC ont été décrites par Paul LANGERHANS (en 1868), qui observa pour la première fois, l'existence d'une population de cellules de morphologie irrégulière au sein de l'épiderme cutané. Ces cellules ont ensuite été identifiées par STEINMAN et COHN (1973) pour être d'origine hématopoïétique, et le terme cellule dendritique fut introduit. Ces dernières avaient pour propriétés une forte mobilité, une faible activité endocytaire et une absence d'expression de récepteur au fragment Fc des Ig, et se caractérisaient par leurs longs prolongements cytoplasmiques (>10  $\mu$ m).

Il existe plusieurs sous-populations de DC, que l'on retrouve sous deux états : immatures quand elles capturent l'Ag ; et matures quand elles le présentent au LT. Dans le sang, les DC représentent 1 à 2 % des cellules mononucléées. Dans les organes lymphoïdes, les DC (cellules inter-digitées) comptent pour 0.5 à 2 % des cellules, et sont localisées dans les zones T. Dans le thymus, les DC sont principalement localisées à la jonction corticomédullaire, mais aussi dans la médullaire: elles y jouent un rôle crucial dans la sélection négative au cours de la différenciation T.

#### - Les sous-populations des cellules dendritiques

#### \* Les cellules dendritiques myéloïdes ou conventionnelles (mDC ou cDC)

Les DC conventionnelles (cDC), aussi appelées DC classiques ou myéloïdes (mDC), dérivent de la lignée myéloïde et elles sont présentes dans les muqueuses et les sous-muqueuses. Les DC de l'épiderme, ou cellules de Langerhans représentent l'exemple typique de ce type de DC. Elles représentent 3 à 8% des cellules de l'épiderme et se caractérisent par une morphologie très étirée, et la présence de granules de Birbeck, il s'agit vraisemblablement d'endosomes impliqués dans la présentation des Ag. Elles sont marquées par leur expression de molécules de CD1a. L'épiderme d'un homme adulte contient environ  $10^9$  cellules de Langerhans. On retrouve également dans les muqueuses des tractus digestifs, respiratoires et génitaux, des DC immatures ressemblant aux cellules de Langerhans.

Suite à la captation des antigènes et sous l'influence de cytokines inflammatoires telles que le TNF $\alpha$ , les cellules de Langerhans quittent la peau et migrent vers la zone T des ganglions où elles peuvent activer des LT spécifiques avant de mourir. Les DC dermiques migrent également vers les centres germinatifs des ganglions afin d'y activer des cellules T. Un très faible nombre de DC peut être isolé à partir du sang : il s'agit probablement de précurseurs DC en route vers la peau ou les divers organes. Les DC matures ne semblent entrer dans la circulation que très rarement. Au contact d'antigènes qu'elles capturent et dégradent, elles deviennent des cellules dendritiques matures.

Cette population de DC se distingue, notamment par l'expression du marqueur membranaire CD11c (intégrine alpha X), ainsi qu'une plus forte expression des molécules du CMH-II (HLA-DR). Les cDC renferment deux sous-populations bien distinctes : les cDC1 exprimant le BDCA3/CD141<sup>high</sup> et les cDC2 exprimant le BDCA1/CD1c<sup>+</sup>, et représentant respectivement environ 5 à 10% et 50% des DC totales du sang (BDCA pour *Blood Dendritic Cells Antigen*).

Les cDC1 sont caractérisées par une plus faible expression de CD11c et l'absence totale d'expression de CD11b. Les cDC1 ont tout d'abord été décrites comme un type de DC du sang exprimant fortement la glycoprotéine transmembranaire BDCA3 (thrombomoduline, CD141, Blood dendritic cell antigen 3) qui peut aussi être exprimée de façon modérée par d'autres cellules comme les cDC2. Les cDC1 expriment fortement TLR3, mais aussi d'autres types de PRR tels que les TLR 1, 2, 6, 8 et 10, et les CLR (*C-type Lectine Receptors*). De plus, elles expriment plus fortement les marqueurs d'activation CD40, CD80 (B7.1), et CD86 (B7.2). Ces cellules sont caractérisées également par ainsi que leur synthèse de forte quantité de l'IL-12 notamment, ainsi que la production d'IFN de type III, IFN- $\beta$ , CXCL9/10, IL-6, TNF- $\alpha$  et CCL5.

Les cDC2 peuvent reconnaître de nombreux signaux de danger grâce à un large panel de PRR. Tout comme pour les monocytes, elles expriment par exemple les TLR1, 2, 4, 5, 6 et 8 et des CLR, participant notamment à l'internalisation des Ag. Après la reconnaissance d'un signal de danger, les cDC2 peuvent produire de nombreuses cytokines telles que le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , l'IL-6 et l'IL-8, et semblent être les principales DC productrices d'IL-10 et d'IL-23. Les cDC2 sont également douées de la capacité de présentation croisée d'Ag, leur permettant ainsi d'activer efficacement les LT CD8+, comme elles sont aussi capables d'activer les LT CD4+. En effet, il a été démontré in vitro que les cDC2 peuvent induire la différenciation de LT naïfs en LT Th1, Th2 et Th17, témoignant de leur capacité à induire une large variété de réponses immunitaires

\* Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (lymphoïdes ou pDC)

Ce sont des cellules circulantes, rondes et sans dendrites à l'état basal mais elles se développent en cellules dendritiques conventionnelles après activation, elles sont donc capables de présenter l'Ag. Ces cellules sont appelées 'précurseurs plasmacytoïdes de cellules dendritiques' lorsqu'elles sont à l'état immature. Après stimulation par un Ag viral en général, elles produisent une grande quantité d'IFN $\alpha$ , comme elles peuvent également produire de l'IFN $\beta$ , mais en quantité beaucoup moins importante que pour l'IFN $\alpha$ . Ces cellules sont présentes dans le sang et les organes lymphoïdes et se distinguent des cDC par l'expression de CD45RA, BCDA2 ainsi que les récepteurs  $\alpha$  à l'IL-3 (IL-3R $\alpha$ ) ou CD123. Elles sont caractérisées également par une forte production de l'IFN $\gamma$  indiquant leur implication dans la réponse antivirale.

\* Les cellules dendritiques folliculaires (FDC)

Les cellules dendritiques folliculaires (FDC, *Follicular Dendritic Cells*) sont exclusivement rencontrées dans les follicules lymphoïdes (rate et ganglions lymphatiques) et sont surtout développées au sein des zones claires des centres germinatifs (Zone B). Elles ont une origine stromale (partagent différents marqueurs de surface avec d'autres cellules d'origine stromale). Les FDC ont une longue durée de vie, elles portent des prolongements cytoplasmiques dendritiques complexes qui s'entremêlent pour former un réseau enveloppant les cellules lymphoïdes B et T des centres germinatifs. Elles expriment des molécules d'adhésion permettant des interactions avec les cellules lymphoïdes.

Les cellules dendritiques folliculaires fixent l'antigène à leur surface sans l'internaliser et le présentent aux cellules B. Les cellules dendritiques folliculaires ont à leur surface des récepteurs pour les fragments du complément par lesquels elles captent l'antigène au sein d'un complexe immun. Ces cellules sont marquées principalement par des Ac anti-CD35 qui est un récepteur pour le C1q, C4b, C3b et iC3b (protéines du complément).

\* Les cellules dendritiques inflammatoires (mo-DC)

Dans des contextes inflammatoires, les monocytes sont capables de se différencier en plusieurs types cellulaires dont les DC inflammatoires, aussi appelées DC dérivées de monocytes ou mo-DC. Cette population de DC est moins identifiées que les autres. On observe cependant l'expression des marqueurs CD1c, CD1a et Fc $\epsilon$ R1 par ces cellules inflammatoires ce qui indiquerait qu'elles appartiennent bien à la famille des DC. Des mo-DC CD16 $^-$  BDCA1 $^+$  CD14 $^+$  ont aussi été identifiées dans certains contextes inflammatoires. L'expression du Fc $\epsilon$ R1 les différencie des macrophages et l'analyse transcriptomique de ces cellules les définit comme une population intermédiaire entre des DC et des macrophages. En outre, les MoDC identifiées semblent capables de promouvoir la synthèse d'IL-17A par les LT mémoires autologues via leur production de TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 et IL-23. Cette population est encore objet de plusieurs recherches.

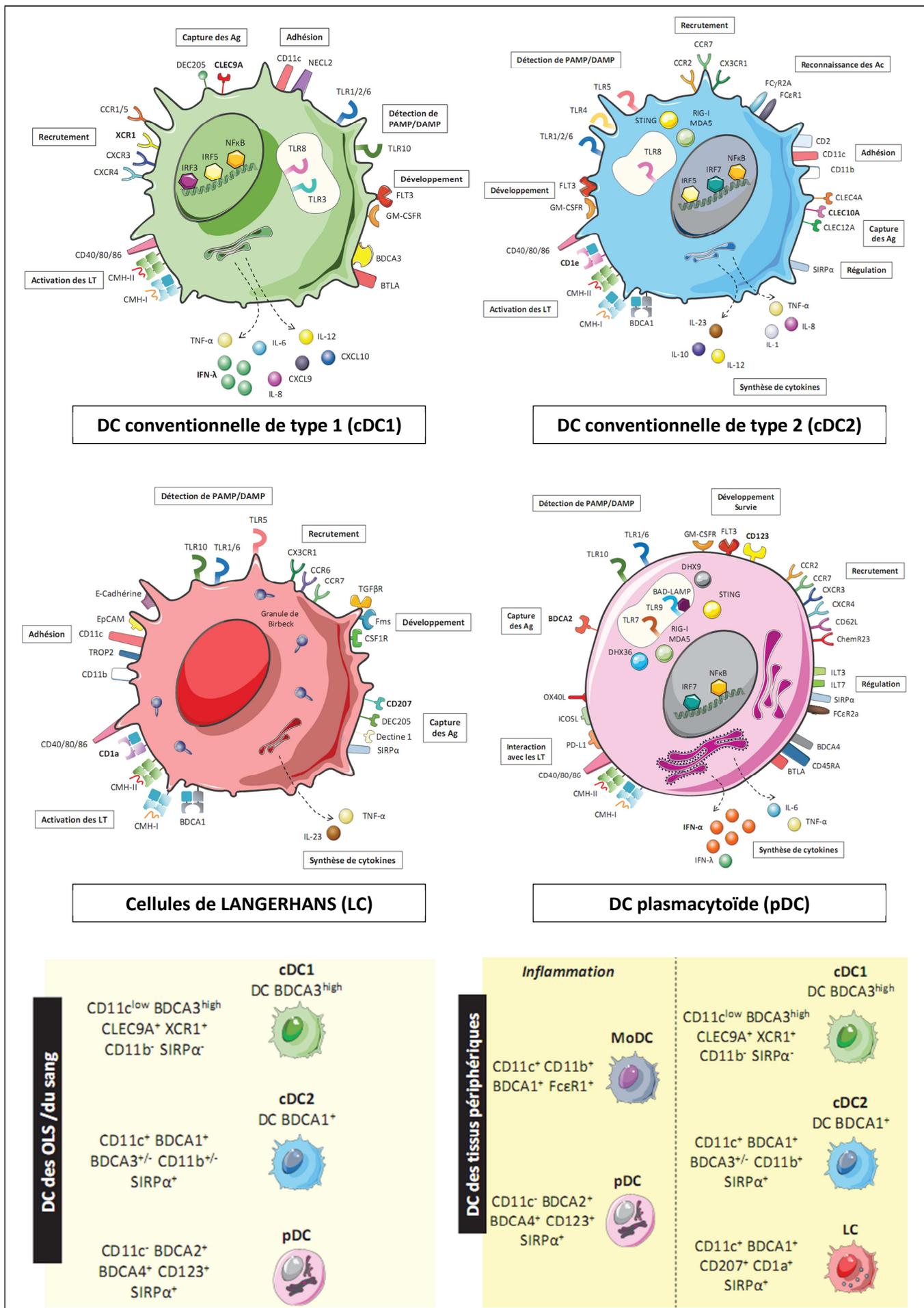


Planche 04. Caractéristiques des différentes sous-populations des cellules dendritiques et leur distribution tissulaire (adaptée de Hubert, 2018).

## b. Les Macrophages

Les macrophages dérivent des monocytes ayant quitté la circulation sanguine et migré vers les tissus pour se différencier en macrophage tissulaires. Ils sont présents en grand nombre particulièrement dans tous les tissus conjonctifs associés au tractus gastro-intestinal, dans les poumons (où ils se retrouvent à la fois dans le tissu interstitiel et les alvéoles), le long de certains vaisseaux du foie (cellules de Kuppfer), et dispersés dans la rate, où ils éliminent des cellules sanguines sénescentes.

Les macrophage participent à l'immunité innée en tant que défense non spécifique, mais sont capables de participer à l'immunité adaptative via le phénomène d'opsonisation. Leur rôle est de phagocyter les débris cellulaires et les agents pathogènes. Les macrophages présentent en fait une capacité endocytaire exceptionnelle, ils sont capable d'internaliser jusqu'à 200% de leur volume.

Comme les cellules dendritiques, les macrophages expriment les molécules de CMHI et II, et des molécules de co-stimulation mais à moindre degré, et donc une activation LT moins efficace. Les macrophages sont capables de présenter des antigènes associés aux molécules du CMHII, et donc de stimuler des lymphocytes CD4<sup>+</sup>, comme ils montrent une capacité de présentation croisée (présentation du même Ag sur CMHI et CMHII). Cependant une déplétion en macrophage n'engendre pas une déficience de l'immunité adaptative.

## b. Les Lymphocytes B

Les lymphocytes B sont essentiellement des cellules clés de la réponse humorale acquise, mais leur forte expression de CMHII, des molécules de costimulation (B7 et CD40) et d'adhésion avec LT. Cependant leur capacité d'endocytose, qui se fait essentiellement via leurs Ac membranaires, est réduite par rapport aux DC et macrophages. De plus leur capacité de présentation croisée est également très limitée.

**Tableau I.** Comparaison entre les différents types de cellules présentatrices de l'Ag (Abbas et al, 2018).

| Type cellulaire       | Expression de :  |   | Fonction principale  |
|-----------------------|--|---|--|
|                       | CMH de classe II   | Costimulateurs  |  |
| Cellules dendritiques | Constitutive ; augmente avec la maturation ; amplifiée par l'IFN- $\gamma$ | Constitutive ; augmente avec la maturation ; induite par les ligands des TLR, l'IFN- $\gamma$ et les cellules T (interactions CD40-CD40L) | Présentation d'un antigène aux lymphocytes T naïfs au début d'une réponse d'une cellule T à un antigène protéique (sensibilisation)                    |
| Macrophages           | Faible ou négative ; induite par l'IFN- $\gamma$                           | Faible, induite par les ligands des TLR, l'IFN- $\gamma$ et les cellules T (interactions CD40-CD40L)                                      | Présentation de l'antigène aux cellules T CD4 <sup>+</sup> effectrices dans la phase effectrice des réponses immunitaires cellulaires                  |
| Lymphocytes B         | Constitutive ; amplifiée par des cytokines (par exemple IL-4)              | Induite par les cellules T (interactions CD40-CD40L), interconnexion des récepteurs d'antigène  | Présentation d'antigène à des cellules T auxiliaires CD4 <sup>+</sup> au cours de réponses immunitaires humorales (interactions entre cellules T et B) |

### I.3.3. Présentation des antigènes par les Cellules dendritiques

La présentation de l'antigène est un processus complexe qui se déroule en plusieurs étapes :

#### I.3.3.1. Reconnaissance, capture et internalisation de l'antigène

L'Ag est tout d'abord reconnu par les PRR (TLR, CLR ...etc) exprimés sur la surface des DC. Ces PRR reconnaissent des PAMPs et des DAMPs spécifiques des Ag. L'Ag est ensuite capturé et internalisé à l'intérieur de la cellule, ceci repose sur différents mécanismes :

- La macropinocytose qui permet de filtrer les liquides extra-cellulaires et de capturer les protéines solubles.
- L'endocytose qui suit la fixation des antigènes sur des récepteurs de type lectine (CLR), de Fc (FcγRI et II) ou de complément (CR3/C11b et CR4 CD11c).
- La phagocytose de particules infectieuses ou non qui repose elle aussi sur la liaison à des récepteurs spécifiques (TLR, PRR).
- Enfin, certains virus peuvent infecter directement les DC.

#### I.3.3.2. Apprêtement de l'antigène (*Processing*)

Un fois à l'intérieur de la cellule, l'Ag subit un processus d'apprêtement qui consiste en une dégradation de cet Ag et sa fragmentation en petits peptides qui seront chargés sur les molécules de CMH. On distingue, selon le type d'Ag :

##### a. La voie endogène (voie de CMHI)

Les molécules du CMH-I présentent les peptides antigéniques produits dans la cellule (Ag intracellulaires), correspondant soit aux antigènes du soi (protéines tumorales), soit aux antigènes provenant de virus mais synthétisés par la cellule infectée. Donc, le CMH de classe I charge les peptides endogènes provenant du cytoplasme. Les molécules antigéniques sont dégradées par le protéasome en peptides de taille de 8 à 10 acides aminés (une moyenne de 9 acides aminés).

La chaîne lourde  $\alpha$  et la chaîne légère  $\beta$  vont être synthétisées de manière indépendante dans le réticulum endoplasmique de la cellule. Le complexe formé de la chaîne  $\alpha$  et de la chaîne  $\beta$ -microglobuline nécessite une association avec des protéines chaperonnes qui serviront à maintenir la conformation. Ce complexe protéique s'associe ensuite à deux molécules, TAP-1 et TAP-2 (*Transporter Associated with Antigen Processing*), présentes dans la membrane du réticulum et qui y forment un transporteur. Ce canal permet le passage de peptides antigéniques formés dans le cytoplasme lors de la digestion préalable par le protéasome. Une fois dans la lumière du réticulum un peptide antigénique se fixe dans la région de liaison au peptide antigénique. Alors que les protéines chaperons se détachent du complexe qui pourra ainsi migrer vers la membrane plasmique, via l'appareil de Golgi, où il sera exposé aux L<sup>T</sup>CD8<sup>+</sup>.

##### b. La voie exogène (voie de CMHII)

Les molécules du CMH-II présentent les peptides antigéniques produits à l'extérieur de la cellule (peptides exogènes). L'antigène est dégradé par le système endo-lysosomal en peptide de taille variable (entre 12 et 25 acides aminés, avec une moyenne de 14 aa). La chaîne  $\alpha$  et la chaîne  $\beta$  sont synthétisées de manière indépendante dans le réticulum endoplasmique de la cellule présentatrice d'antigène et vont former un complexe avec la chaîne invariante (Li) qui s'associe avec la région de liaison au peptide antigénique. Une fois le complexe est formé, il migrera vers l'appareil de Golgi, ce dernier forme une vésicule responsable de la dégradation de la chaîne invariante, et le CMH se trouve associé à un dérivé de la chaîne Li, le peptide CLIP. La fusion de la vésicule contenant le CMHII-CLIP avec l'endolysosome, contenant les peptides antigéniques, permet l'échange de CLIP contre un peptide antigénique qui sera chargé sur le CMHII. Une fois le peptide chargé, le complexe CMHII-Peptide sera envoyé à la membrane plasmique des cellules présentatrices d'Ag.

### c. La présentation croisée (CMHI et CMHII)

La présentation croisée (*cross-presentation*) désigne une voie de processing supplémentaire, propre aux cellules dendritiques, qui donne à des antigènes internalisés l'accès aux mécanismes décrits ci-avant, permettant leur dégradation, transport et assemblage avec les molécules du CMHI. La *cross-presentation* permet aux cellules dendritiques de déclencher et de soutenir des réponses cellulaires cytotoxiques contre des agents pathogènes qui ne les infectent pas, et occupe donc une place importante dans l'immunité adaptative.

Par rapport au processing des protéines endogènes, cette voie se distingue donc par la communication entre la voie endosomique (voie CMHII), responsable de l'acquisition des antigènes, et les compartiments impliqués dans leur processing, le cytosol et le RE (voie CMHI). La nature précise de cette communication reste incertaine, mais plusieurs modèles ont été proposés. Un premier modèle proposait l'existence d'un mécanisme de transport membranaire entre les endosomes et le cytosol, qui permettait aux antigènes internalisés d'accéder au pool d'antigènes cytosoliques. Un modèle plus récent, celui du « RE-phagosome », propose au contraire que le phagosome, formé avec un apport important de membranes et de protéines du RE, fonctionnerait comme un compartiment spécialisé réunissant tous les éléments requis pour le processing des antigènes. Par ailleurs, ce modèle intègre difficilement le rôle important, dans la *cross-presentation*, du routage des molécules CMH I dans la voie endosomale (voie CMHII). Toutefois, il n'existe pas encore de modèle précis permettant de décrire les détails du mécanisme cellulaire de la *cross-presentation*.

#### **I.3.3.3. La maturation et la migration des cellules dendritiques**

Les pathogènes ou des molécules associées aux pathogènes induisent la maturation des DC. Cette maturation s'accompagne de changements phénotypiques et fonctionnels majeurs transformant de façon coordonnée et séquentielle d'une cellule capturant l'antigène en une cellule présentant l'antigène. La maturation est extrêmement liée à la migration des DC des tissus vers les organes lymphoïdes.

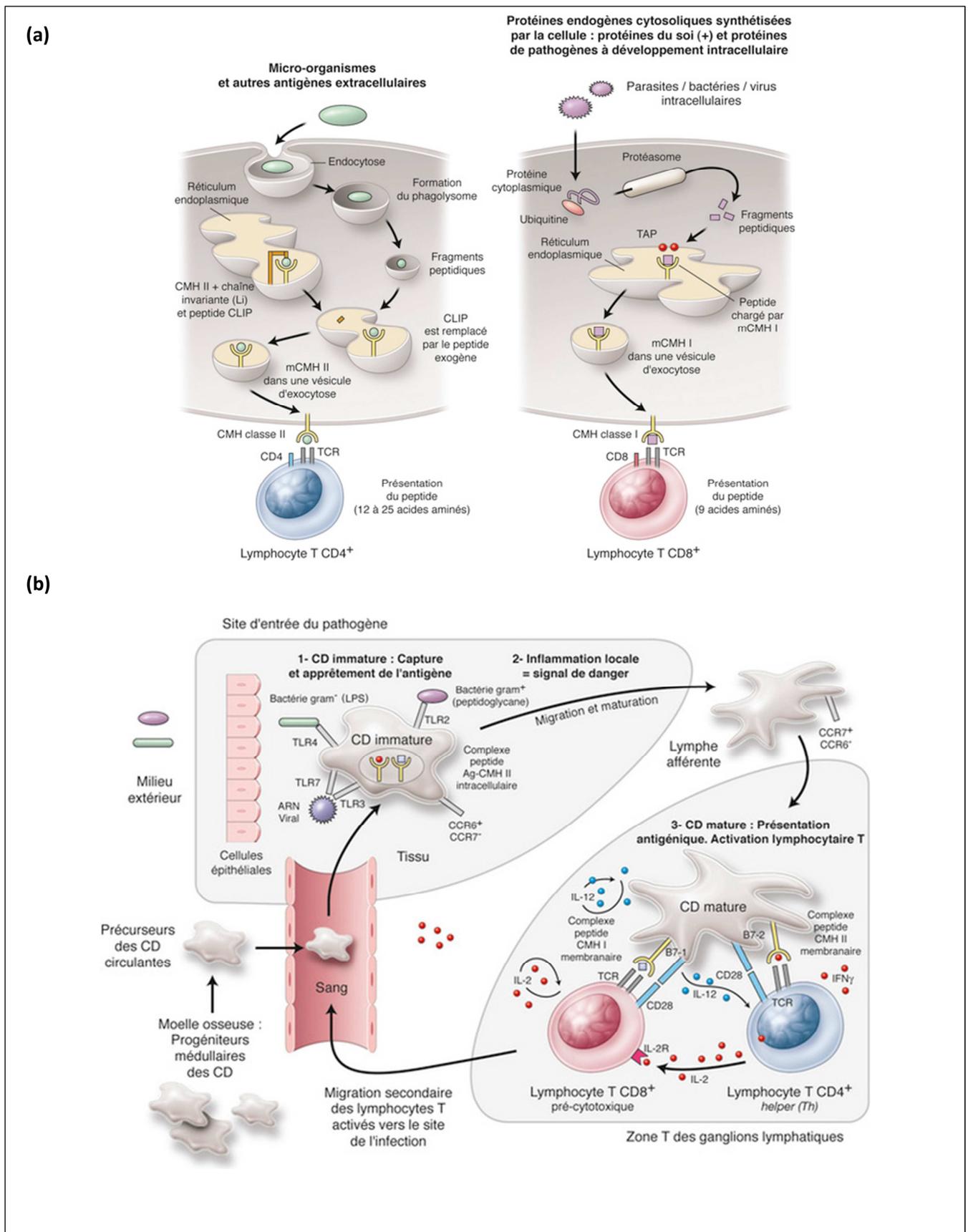
Les signaux capables d'induire la maturation des DC sont :

- Des molécules associées aux pathogènes (PAMP) comme le lipopolysaccharide (LPS), l'acide lipotéichoïque, l'ADN bactérien, ou l'ARN double brin.
- Des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF $\alpha$ , l'IL1, l'IL6, GM-CSF et l'IFN $\gamma$ .
- La molécule CD40L (CD154) exprimée par les lymphocytes T auxiliaires activées (ligand de CD40-L, une molécule de costimulation).
- La présence de cellules nécrotiques mais non apoptotiques
- Certaines molécules de choc thermique ou HSP (Heat shock proteins) exprimées par des microorganismes ou lors d'un stress cellulaire (DAMP).
- Les récepteurs Toll-like (TLR) permettent aux DC de décoder le micro-environnement dans lequel elle baigne, et d'y réagir en conséquence.

La maturation s'accompagne de:

- Une diminution considérable de la capacité des DC à capturer l'antigène.
- Une augmentation du taux d'expression des molécules de CMH classe I et II.
- L'expression en grande quantité des molécules de costimulation CD80 (B7.1), CD86, CD40 (B7.2), et des molécules d'adhérence CD54 (ICAM-1), CD58 (LFA-3) qui interagissent respectivement avec LFA-1(CD11b) et CD2 sur les LT.
- La production de cytokines: l'IL12 est produite largement par les DC sous l'influence de nombreux pathogènes et de certaines cytokines comme l'IFN $\gamma$  ou l'IL4. Les cellules dendritiques peuvent également sécréter d'autres cytokines pro-inflammatoires comme le TNF $\alpha$ , l'IL1, l'IL6, l'IL15, l'IL18, et l'IL23.
- Une modification d'expression de récepteurs aux chimiokines. En fait, la migration des DC vers les organes lymphoïdes repose sur l'existence de récepteurs spécifiques (CCR7) pour des chimiokines spécifiques (CCL19 et CCL21) sécrétées dans ces organes.
- Des modifications morphologiques importantes qui se traduisent par une diminution de l'adhérence, une augmentation de la mobilité et une réorganisation du cytosquelette avec apparition de longues dendrites très mobiles.

Cette maturation des DC aura atteint son maximum en arrivant au niveau des organes lymphoïdes secondaires, où elles complètent leur fonction principale de présenter les Ag aux LT.



**Planche 05.** (a) Les voies de présentation de l'Ag. (b) Maturation des cellules dendritiques et présentation des Ag (adaptée de Hubert, 2018).

### I.3.3.4. Présentation de l'Ag et activation des LT

Contrairement aux autres CPA, les DC sont les seules capables d'activer les lymphocytes T naïfs grâce à une forte expression de molécules du complexe CMH-Peptide (10 à 100 fois plus que les autres CPA) qui interagissent avec les molécules de TCR et leurs co-récepteurs CD4/CD8 (Premier signal de stimulation). Une activation efficace nécessite également un contact ferme entre la DC et le LT, ce contact est pérennisé (maintenu plus longtemps) par de nombreuses molécules d'adhérence (ICAM1-LFA1, LFA3-CD2) qui participent à la formation de la synapse immunologique.

La communication entre les DC et les LT se fait dans le deux sens au niveau de cette synapse : par l'intermédiaire du CD40L. Le lymphocyte T est capable de stimuler, via le CD40 la production de certaines cytokines, notamment l'IL-12, par les DC. Celle-ci (IL-12) en retour est capable d'induire la différenciation des LT, de provoquer la sécrétion d'IFN $\gamma$  par les cellules NK ou d'activer les lymphocytes T cytotoxiques CD8.

### I.3.3.5. DC et Tolérance

Les cellules dendritiques jouent également un rôle majeur dans la tolérance centrale et périphérique des cellules T. En l'absence d'inflammation ou d'infection, le rôle des cellules dendritiques tissulaires serait de maintenir la tolérance périphérique au soi.

Dans l'immense majorité des cas, l'initiation d'une réponse immunitaire contre un antigène ne s'accompagne pas de réponse auto-immune. Or, un grand nombre de lymphocytes T expriment des TCR autoréactifs (réactifs contre le soi) et sont donc potentiellement dangereux, et des autoantigènes (antigènes du soi) sont constamment présentes par les DC lors d'une réponse immunitaire. Ces lymphocytes T autoréactifs doivent ainsi être rendus tolérants. Dans le thymus (tolérance centrale), les lymphocytes T autoréactifs de haute affinité qui ont passé l'étape de sélection positive subissent un processus de délétion (sélection négative) lorsqu'ils pénètrent dans la jonction cortico-médullaire et la médullaire et interagissent avec les DC qui s'y trouvent et qui expriment de fortes quantités de complexes CMH-peptides du soi. Certains autoantigènes ne sont jamais exprimés dans le thymus ou ne sont exprimés dans l'organisme que tardivement, c'est-à-dire après que le répertoire T soit établi. Des mécanismes de tolérance périphérique, c'est-à-dire extrathymique, sont donc nécessaires pour éviter les réactions auto-immunes. Les lymphocytes T autoréactifs peuvent être rendus tolérants par induction d'anergie, par délétion ou par l'action de cellules T dites régulatrices ou suppressives.

Les DC jouent un rôle important dans la tolérance périphérique, mais les mécanismes précis restent mal connus. L'hypothèse dominante est que des DC circulent en permanence des tissus vers les organes lymphoïdes et y transportent des autoantigènes tissulaires phagocytés, probablement sous forme de cellules apoptotiques. Ces DC présenteraient ces complexes CMH-peptide du soi de façon tolérogène aux cellules T autoréactives et pourraient représenter une sous-population de DC spécialisée dans l'induction de tolérance ou des DC qui resteraient dans un état relativement immature et qui migreraient de façon constitutive. Les mécanismes d'action de ces DC tolérogènes sont imparfaitement connus, mais des travaux ont montré que les DC immatures sont capables d'induire une anergie. Ainsi, lorsqu'une cellule T reconnaît un antigène en l'absence des signaux de co-stimulation, très peu d'IL-2 est produit et la cellule naïve ne prolifère pas. Dans ce cas, la cellule naïve entre dans un état de paralysie fonctionnelle appelée anergie. La caractéristique principale d'une cellule anergique est son incapacité de produire de l'IL-2. Cet état empêche la prolifération et la différenciation des cellules naïves en cellules effectrices même si l'antigène est présenté aux lymphocytes T anergiques par une CPA contenant à la fois le complexe CMH-peptide approprié et les molécules de co-stimulation. Ce phénomène permet ainsi d'assurer la tolérance des cellules T aux antigènes du soi.