

Les cellules dendritiques humaines exprimant BDCA3

Une cible prometteuse pour la vaccination

Karine Crozat, Marc Dalod

► Un des objectifs majeurs des vaccins contre le cancer ou les agents infectieux intracellulaires est l'induction de lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques (CTL) efficaces, capables de tuer les cellules tumorales ou infectées. Les cellules dendritiques (DC) sont des leucocytes spécialisés dans la présentation des antigènes peptidiques exogènes en association avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II) et l'activation consécutive des cellules T CD4⁺ naïves possédant un récepteur spécifique. Une autre spécificité fonctionnelle des DC est de présenter des peptides exogènes en association avec le CMH de classe I. Cette fonction, appelée présentation croisée, permet l'induction de CTL contre des antigènes qui ne sont pas synthétisés dans les DC, comme ceux issus de cellules tumorales. Les DC représentent une famille hétérogène, composée de différentes sous-populations exprimant des marqueurs phénotypiques et des fonctions distincts. Chez la souris, les DC portant le CD8 α et résidant dans les organes lymphoïdes sont spécialisées dans la présentation croisée et constituent d'excellentes cibles pour la vaccination contre des tumeurs ou des virus. Chez d'autres mammifères, aucune sous-population de DC spécialisée dans la présentation croisée n'avait été identifiée jusqu'à récemment. Plus généralement, il n'existait pas de correspondance claire entre les sous-populations de DC de divers mammifères, en partie parce que les marqueurs phénotypiques différaient d'une espèce à l'autre. Nous avons récemment contribué à démontrer l'existence d'homologies

entre les sous-populations de DC chez la souris, le mouton et l'homme, et identifié les DC ovines et humaines « professionnelles » de la présentation croisée. Ces études sont résumées et discutées ici, ainsi que leurs implications cliniques.

Les différentes sous-populations de DC résidentes des tissus lymphoïdes

Deux grandes catégories de DC ont été décrites chez les mammifères. Les DC plasmacytoïdes (pDC) sont capables de produire très rapidement de grandes quantités d'interférons (IFN) de type I lors d'infections virales. Les DC conventionnelles (cDC) incluent différentes sous-populations ayant des phénotypes, des fonctions et des localisations distincts. Chez la souris, il existe deux populations de cDC dans les organes lymphoïdes, chacune possédant une fonction distincte : l'une exprime la molécule CD11b, l'autre CD8 α . Les DC CD11b⁺ stimulent préférentiellement les lymphocytes T CD4⁺, favorisant une réponse de type Th2¹. Les DC CD8 α ⁺ stimulent préférentiellement les CTL et favorisent l'induction de réponses Th1. Chez l'homme, les cDC isolées à partir du sang expriment soit CD1c (BDCA1, *blood dendritic cell antigen 1*) soit CD141 (BDCA3). Jusqu'à récemment, aucune étude n'avait permis d'établir clairement si ces deux types de cDC possèdent des fonctions qui leur sont propres et

Centre d'immunologie Marseille-Luminy, CNRS-Inserm-Université de la Méditerranée, Parc scientifique et technologique de Luminy, Case 906, 13288 Marseille Cedex 09, France. crozat@ciml.univ-mrs.fr dalod@ciml.univ-mrs.fr

correspondent à des homologues des deux types de cDC murines.

Particularités fonctionnelles des DC murines CD8 α ⁺

Les DC CD8 α ⁺ reconnaissent les ARN double brin d'origine virale ou parasitaire grâce à l'expression spécifique d'un récepteur de type Toll (TLR3, *Toll like receptor 3*) et la protéine profiline du parasite *Toxoplasma gondii* grâce à TLR11. L'engagement de ces TLR dans les DC CD8 α ⁺ induit la sécrétion de fortes quantités d'IL (interleukine)-12 ou d'IFN de type I favorisant l'activation des CTL et l'induction de réponses Th1. L'IL-12 produite par les DC CD8 α ⁺ active aussi la production d'IFN- γ par les cellules *natural killer* (NK) dont la fonction cytotoxique contribue au contrôle des tumeurs et des virus.

Les DC CD8 α ⁺ sont capables d'endocyter des cellules du soi rendues nécrotiques ou apoptotiques par une infection, un stress métabolique ou une transformation tumorale. La reconnaissance spécifique des cellules nécrotiques ou apoptotiques par les DC CD8 α ⁺ fait intervenir CLEC9A (*C-type lectin domain family 9 member A*), une lectine capable de lier, sur une cellule cible, une molécule normalement intracellulaire mais exposée à la surface lorsque la membrane plasmique est rompue. La capture des cellules mortes et les voies de signalisation en aval de CLEC9A contribuent à conférer aux DC CD8 α ⁺ leur efficacité dans le processus de présentation croisée et donc leur importance dans l'induction de l'immunité antivirale ou anticancéreuse.

¹ Les cellules Th1 (*T helper*) et Th2 sont des cellules T effectrices issues d'une différenciation terminale de précurseurs T CD4 naïfs. Les cellules Th1 produisent principalement de l'IFN γ (interféron γ) alors que les cellules Th2 produisent essentiellement de l'IL-4 (interleukine-4), de l'IL-5 et de l'IL-13 (repris de [15]).



| | | | |
|--|--|--|---|
| | | | |
| Souris | pDC (rate, ganglions, moelle osseuse, sang) | DC CD8α ⁺ (rate, ganglions) | DC CD11b ⁺ (rate, ganglions) |
| Homme | pDC (sang, rate, ganglions) | DC BDCA3 ⁺ (sang, rate, amygdales) | DC BDCA1 ⁺ (sang, rate, amygdales) |
| Mouton | pDC (lymphe, ganglions, sang, rate) | DC CD26 ⁺ (peau, lymphe, ganglions) | DC CD26 ⁻ (peau, lymphe, ganglions) |
| Marqueurs phénotypiques communs* | Non identifiés | XCR1, CLEC9A, NECL2, CD26 | SIRPα |
| Facteurs de transcription communs | TCF4(E2-2), IRF8, IRF7, RUNX2 | IRF8, BATF3 | IRF4 |
| Spécialisation fonctionnelle | <ul style="list-style-type: none"> • Immunité antivirale • Production d'IFN type I | <ul style="list-style-type: none"> • Immunité contre les pathogènes intracellulaires et le cancer • Présentation antigénique croisée | <ul style="list-style-type: none"> • Immunité contre les pathogènes extracellulaires ? • Présentation antigénique CMH-II • Induction d'une immunité humorale ? |

Figure 1. Équivalences phénotypiques et fonctionnelles des sous-populations de cellules dendritiques murines, humaines et ovines. Pour chaque population de DC sont indiqués son nom usuel dérivé de sa caractérisation phénotypique habituelle dans l'espèce animale considérée, ainsi que les tissus où ces cellules ont été observées pour l'instant (entre parenthèses). Le tissu souligné correspond à celui le plus utilisé pour les études réalisées dans l'espèce considérée. Il est à noter que chez la souris, il existe, dans les tissus non lymphoïdes comme la peau et l'intestin, des sous-populations de DC équivalen-

tes à celles trouvées dans le ganglion et la rate bien que de phénotype un peu différent [13]. Cela reste à évaluer chez l'homme. La sous-population des pDC a été identifiée indépendamment chez la souris, l'homme et le mouton, bien qu'aucun marqueur phénotypique commun pour ces cellules entre ces espèces n'ait été jusqu'à présent identifié. Cependant, chez la souris et l'homme, les mêmes facteurs de transcription sont nécessaires à la différenciation et aux fonctions des pDC. Récemment, des équivalences phénotypiques et fonctionnelles ont été montrées entre DC CD8α⁺ murines, DC BDCA3⁺ humaines et DC CD26⁺ ovines, notamment l'efficacité à réaliser la présentation croisée ainsi que le partage de l'expression de certains marqueurs ou facteurs de transcriptions importants dans la biologie des DC CD8α⁺ murines. Notre connaissance sur les DC CD11b⁺ murines, BDCA1⁺ humaines et SIRPα⁺ ovines est plus restreinte. *Excepté pour XCR1, les marqueurs phénotypiques mentionnés ne sont pas exclusifs à chaque sous-population. Aussi, l'identification rigoureuse des sous-populations de DC doit être effectuée grâce à l'utilisation d'une combinaison de marqueurs [13].

Les DC BDCA3 sont les homologues humaines des DC CD8α murines

Les DC humaines exprimant BDCA3 et les DC murines CD8α⁺ partagent une signature génique très proche, ce qui a conduit à formuler un certain nombre d'hypothèses quant aux fonctions et à l'ontogénie des DC BDCA3⁺ [1-3]. Quatre études publiées récemment, dont la nôtre, ont formellement consolidé cette découverte princeps (Figure 1).

Les DC BDCA3⁺ humaines sont présentes dans les organes lymphoïdes comme les amygdales, les ganglions, la moelle osseuse et la rate. Bien qu'elles n'expriment pas CD8α, les DC BDCA3⁺ humaines partagent avec les DC CD8α⁺ murines l'expression sélective d'autres molécules de surface telle que CLEC9A [4-8] et la molécule d'adhésion NECL2 (*nectin-like protein 2*) [8, 9, 16]. NECL2

reconnaît une molécule, CRTAM (*cytotoxic and regulatory T-cell molecule*), associée aux cellules T restreintes au CMH-I, présente à la surface des CTL activées, des cellules NK et NKT, ce qui induit la production d'IL-22, d'IFN-γ et la prolifération de ces lymphocytes. Les DC BDCA3⁺ humaines expriment aussi sélectivement des facteurs de transcription indispensables au développement des DC CD8α⁺ mais pas à celui des DC CD11b⁺ murines, tels que BATF3 (*basic leucine zipper transcriptional factor ATF-like 3*) et IRF8 (*interferon regulatory factor 8*) [3, 7, 8]. Les DC CD8α⁺ murines et BDCA3⁺ humaines partagent donc vraisemblablement une voie développementale spécifique. Les DC BDCA3⁺ humaines expriment sélectivement TLR3 et sont capables, en réponse à la fixation de son ligand, de sécréter de l'IL-12

et de l'IFN-I. Les DC BDCA3⁺ humaines sont particulièrement efficaces pour effectuer une présentation croisée d'antigènes dérivés de tumeurs [8] ou de cellules infectées par le virus de l'immunodéficience humaine [2], le virus de l'herpes *simplex* [10] ou du cytomégalo virus [7]. Ces études suggèrent donc une conservation des propriétés fonctionnelles des DC de type CD8α⁺ au cours de l'évolution (Tableau 1).

XCR1 : un récepteur de chimiokine exclusivement exprimé par les DC de type CD8α⁺ dans diverses espèces

Jusqu'à présent, les populations de DC n'étaient identifiables que grâce à l'utilisation d'une combinaison de marqueurs moléculaires. L'étude des transcriptomes des DC a révélé que le gène codant le récepteur de chimiokine XCR1



| Propriété ¹ | Fonction | Conséquences pour la présentation croisée/interaction avec les CTL |
|---|--|---|
| Capture efficace des cellules mortes | Permettre la présentation via le CMH-I d'antigènes qui ne sont pas synthétisés de façon endogène dans les DC | Activer ou rendre tolérants les CTL selon le contexte de la présentation croisée |
| Expression de CLEC9A | Participer à la reconnaissance des cellules mortes, à leur endocytose et à leur trafic intracellulaire | Diriger l'endocytose des antigènes issus de cellules mortes vers les endosomes dédiés à la présentation croisée |
| pH endosomal alcalin | Contrôler l'activité protéolytique des endosomes | Préserver l'intégrité des épitopes dérivés des antigènes issus de cellules mortes |
| Perméabilité endosomes/cytosol | Permettre le passage des antigènes endocytés vers le cytosol | Permettre la présentation croisée des antigènes endocytés par re-routage vers le protéasome dans le cytosol |
| Expression d'IDO1 (indoleamine 2,3-dioxygénase 1) | Inhiber l'activation des lymphocytes T par déprivation en tryptophane et synthèse de catabolites immunomodulateurs | Promouvoir la tolérance par les DC ayant endocyté des cellules mortes normales |
| Expression de TLR3 | Reconnaître des ARNdb pour promouvoir la production d'IFN-I et d'IL-12 en réponse aux virus | Promouvoir l'immunogénicité des DC ayant endocyté des fragments de cellules infectées par des virus |
| Expression de XCR1 | Chémotaxie vers XCL1 | Vraisemblablement faciliter la rencontre et stabiliser les interactions cellulaires avec les CTL ? |

Tableau 1. Liste hypothétique des propriétés des DC XCR1+ leur conférant leur efficacité à effectuer la présentation croisée et à activer les CTL. ¹Les propriétés indiquées en lettres bleues ont été démontrées à la fois pour les DC CD8 α ⁺ murines, CD26⁺ ovines et BDCA3⁺ humaines, celles en police normale pour les DC CD8 α ⁺ murines et CD26⁺ ovines, et celles en italique uniquement pour les DC CD8 α ⁺ murines.

(chemokine *XC receptor 1*) était exclusivement exprimé par les DC CD8 α ⁺ chez la souris [1, 2, 11]. Ce gène est également exprimé sélectivement par les DC BDCA3⁺ isolées du sang et des amygdales chez l'homme [2, 10]. L'expression de XCR1 apparaît donc suffisante pour définir les DC CD8 α ⁺ chez la souris et BDCA3⁺ chez l'homme.

XCR1 induit spécifiquement la migration *in vitro* des DC CD8 α ⁺ murines et BDCA3⁺ humaines en réponse au ligand XCL1 (*XC chemokine ligand 1* ou *lymphotactin*) [2, 10]. XCL1 est produit par les cellules NK et les CTL activés et semble stocké dans les lymphocytes T mémoires d'où il est libéré instantanément après stimulation [2]. Les souris n'exprimant pas XCR1 développent une réponse anti-*Listeria monocytogenes* plus faible que celle des souris contrôles [2]. Ainsi la voie de signalisation faisant intervenir le couple XCL1/XCR1 constituerait un nouveau mécanisme de recrutement par les CTL

et NK des DC CD8 α ⁺ dans les organes lymphoïdes.

Le gène *Xcr1* est conservé chez les vertébrés, du poisson téléostéen le tétodon - dont le génome ne représente qu'un huitième du génome humain - aux mammifères supérieurs, ce qui atteste de l'importance vraisemblable de XCR1 dans les mécanismes de l'immunité. Dans la lymphe de mouton, deux sous-types de cDC ont été définis selon l'expression de CD26 [12]. L'étude de leur transcriptome, associée à des analyses fonctionnelles, a montré que les DC CD26⁺ ovines possèdent toutes les caractéristiques des DC CD8 α ⁺ murines (Tableau 1), alors que leur contrepartie CD26⁻ serait l'équivalent des DC CD11b⁺ murines (Figure 1). Ces résultats nous ont conduit à proposer que la structuration des DC en sous-populations caractérisées chacune par un programme d'expression génique et des fonctions spécifiques est conservée chez les vertébrés. Il devrait donc être

possible de simplifier les nomenclatures actuellement utilisées pour désigner les DC et faciliter ainsi la comparaison des études réalisées par différents laboratoires, dans différents tissus ou chez différentes espèces animales (Figure 1) [13].

Conclusion

L'identification des DC BDCA3⁺ comme cellules professionnelles de la présentation croisée d'antigènes ouvre une nouvelle piste très prometteuse pour l'élaboration de vaccins antiviraux et antitumoraux. L'identification de molécules sélectivement exprimées par les DC BDCA3⁺, comme XCR1, devrait permettre de cibler les antigènes précisément dans ces DC. Cependant, une caractérisation plus approfondie des DC BDCA3⁺ est nécessaire pour établir la meilleure façon de les manipuler afin d'induire des réponses CTL et Th1 antivirales ou antitumorales ayant les critères requis pour une réponse protectrice [14].

Il importe par exemple de déterminer si les DC BDCA3⁺ sont présentes dans la peau et les muqueuses [17] et quelles sont leurs caractéristiques fonctionnelles dans ces tissus, quelle voie d'administration utiliser pour la vaccination, et comment cibler l'antigène vaccinal vers les DC BDCA3⁺ (par quel récepteur endocytaire en combinaison avec quel adjuvant ?). ♦

Human BDCA3 dendritic cells: a promising target for the design of innovative vaccines

REMERCIEMENTS

L'équipe de Marc Dalod est financée par l'ARC (bourse post-doctorale à Karine Crozat et financement fixe à Marc Dalod), l'ANR (ANR-07-MIME-018-01 projet « pDCphysiology », ANR-08-MIEN-008-02 projet « EMICIF », ANR-09-BLAN-0073-02 projet « PhyloGen-DC ») et des dotations institutionnelles au CIML.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Robbins SH, Walzer T, Dembele D, et al. Novel insights into the relationships between dendritic cell subsets in human and mouse revealed by genome-wide expression profiling. *Genome Biol* 2008 ; 9 : R17.
- Crozat K, Guiton R, Contreras V, et al. The XC chemokine receptor 1 is a conserved selective marker of mammalian cells homologous to mouse CD8alpha⁺ dendritic cells. *J Exp Med* 2010 ; 207 : 1283-92.
- Crozat K, Guiton R, Williams M, et al. Comparative genomics as a tool to reveal functional equivalences between human and mouse dendritic cell subsets. *Immunol Rev* 2010 ; 234 : 177-98.
- Sancho D, Mourao-Sa D, Joffre OP, et al. Tumor therapy in mice via antigen targeting to a novel, DC-restricted C-type lectin. *J Clin Invest* 2008 ; 118 : 2098-110.
- Caminschi I, Proietto AI, Ahmet F, et al. The dendritic cell subtype-restricted C-type lectin Clec9A is a target for vaccine enhancement. *Blood* 2008 ; 112 : 3264-73.
- Huysamen C, Willment JA, Denney KM, Brown GD. CLEC9A is a novel activation C-type lectin-like receptor expressed on BDCA3⁺ dendritic cells and a subset of monocytes. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 16693-701.
- Jongbloed SL, Kassianos AJ, McDonald KJ, et al. Human CD141⁺ (BDCA-3)⁺ dendritic cells (DCs) represent a unique myeloid DC subset that cross-presents necrotic cell antigens. *J Exp Med* 2010 ; 207 : 1247-60.
- Poulin LF, Salio M, Griessinger E, et al. Characterization of human DNGR-1⁺ BDCA3⁺ leukocytes as putative equivalents of mouse CD8alpha⁺ dendritic cells. *J Exp Med* 2010 ; 207 : 1261-71.
- Galibert L, Diemer GS, Liu Z, et al. Nectin-like protein 2 defines a subset of T-cell zone dendritic cells and is a ligand for class-I-restricted T-cell-associated molecule. *J Biol Chem* 2005 ; 280 : 21955-64.
- Bachem A, Guttler S, Hartung E, et al. Superior antigen cross-presentation and XCR1 expression define human CD11c⁺CD141⁺ cells as homologues of mouse CD8, dendritic cells. *J Exp Med* 2010 ; 207 : 1273-81.
- Dorner BG, Dorner MB, Zhou X, et al. Selective expression of the chemokine receptor XCR1 on cross-presenting dendritic cells determines cooperation with CD8, T cells. *Immunity* 2009 ; 31 : 823-33.
- Contreras V, Urien C, Guiton R, et al. Existence of CD8alpha-like dendritic cells with a conserved functional specialization and a common molecular signature in distant mammalian species. *J Immunol* 2010 ; 185 : 3313-25.
- Williams M, Henri S, Tamoutounour S, et al. From skin dendritic cells to a simplified classification of human and mouse dendritic cell subsets. *Eur J Immunol* 2010 ; 40 : 2089-94.
- Pulendran B. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. *Nat Rev Immunol* 2009 ; 9 : 741-7.
- Leung-Theung-Long S, Guerdier S. Les cellules Th17 : une nouvelle population de cellules T CD4 effectrices pro-inflammatoires. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 972-6.
- Fournier G, Garrido-Urbani S, Reymond N, Lopez M. Nectines et nectines-like : marqueurs, acteurs et cibles de l'oncogenèse. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 273-9.
- Le Borgne M, Dubois B, Kaiserlian D. Cellules dendritiques des muqueuses et de la peau : recruter pour vacciner. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 819-25.

NOUVELLE

SNARE, V-ATPase et neurotransmission

Oussama El Far, Michael Seagar

Inserm UMR 641,
Neurobiologie des canaux ioniques,
Faculté de Médecine, Secteur Nord,
Université de la Méditerranée, CS80011,
boulevard Pierre Dramard,
13344 Marseille Cedex 15 France.
oussama.elfar@univmed.fr

> La communication entre neurones repose principalement sur les synapses chimiques et par conséquent sur la libération de neurotransmetteurs. Au niveau des terminaisons nerveuses, des vésicules synaptiques remplies de neurotransmetteurs s'arriment à la membrane plasmique et subissent des étapes de maturation qui les rendent compétentes pour la fusion avec la membrane plasmique. La libération de neurotransmetteurs s'effectue par un processus d'exocytose dépendant du calcium. Quand l'influx calcique déclenche la machinerie de fusion mem-

branaire, un pore de fusion connectant la lumière des vésicules synaptiques à la fente synaptique s'ouvre et permet la libération des neurotransmetteurs.

Protéines SNARE et fusion membranaire

L'exocytose nécessite l'assemblage de complexes moléculaires très conservés, comprenant des protéines SNARE (*soluble NSF [N-ethylmaleimide-sensitive factor] attachment protein receptors*) et des senseurs calciques, à l'interface entre vésicule synaptique et membrane plasmique

[1-3]. Les protéines SNARE forment des complexes hétérotrimériques qui, comme une fermeture éclair, permettent de rapprocher les bicouches des membranes plasmique et vésiculaire (Figure 1). Les SNARE synaptiques constituent la machinerie de fusion membranaire de base et incluent deux t-SNARE de la membrane plasmique : syntaxine 1 et SNAP-25, et une v-SNARE vésiculaire : VAMP2 (ou synaptobrevine) [4, 5]. Une illustration évidente de l'importance fonctionnelle de ces protéines est donnée par le fait qu'elles sont les cibles des neurotoxines