

# IMMUNITÉ INNÉE ET POLYNUCLEAIRE NEUTROPHILE

DESC d'Allergologie et d'Immunologie clinique

MARGARITA HURTADO-NEDELEC

# PLAN

---

- ▶ INTRODUCTION IMMUNITE INEE
  - ▶ Composantes
  - ▶ Caractéristiques
  
- ▶ POLYNUCLEAIRE NEUTROPHILE
  - ▶ Granulopoïèse du neutrophile
  - ▶ Activation et interactions du PN (adhérence et migration)
  - ▶ Reconnaissance de l'agent pathogène
  - ▶ Mécanismes effecteurs: dégranulation/FRO/cytokines/NETS
  - ▶ Régulation de la réponse immunitaire
  - ▶ Etats d'activation du PN
  - ▶ Rôles pathologiques



# DIFFÉRENTS TYPES DE RÉPONSES IMMUNITAIRES

## ▶ Naturelle= innée

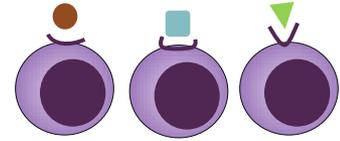
- ▶ Non spécifique
- ▶ Immédiate



- ▶ Interférons, complément
- ▶ Phagocytes (PN, mono)
- ▶ Cellules Natural Killer (NK)
- ▶ Cellules dendritiques (CD)
- ▶ **Récepteurs invariables, non clonaux**, ample distribution
- ▶ Reconnaissance de **PAMPs** (Pathogen Associated Molecular Patterns) ou **DAMPs** (Damage Associated Molecular Patterns)

## ▶ Adaptative= acquise

- ▶ Spécifique
- ▶ Quelques jours
- ▶ Mémoire immunitaire



- ▶ Anticorps (Ac.)
- ▶ Lymphocytes T (LyT)
- ▶ Lymphocyte B (LyB)
- ▶ **Récepteurs variables, clonaux** distribués sur les **lymphocytes**
- ▶ Reconnaissance de **structures spécifiques**



# CELLULES DE L'IMMUNITÉ INNÉE: LES PHAGOCYTES

---

- ▶ Précurseur commun myéloïde
- ▶ Similitudes: phagocytose, bactéricidie, certains marqueurs phénotypiques
- ▶ Différences: mécanismes effecteurs, durée de vie
- ▶ **Coopération** pendant l'initiation, la progression et la résolution de la réponse inflammatoire. Indispensable pour la défense anti-infectieuse, pour la régulation des réponses immunitaires innée et adaptative et pour la réparation tissulaire.



# CELLULES DE L'IMMUNITÉ INNÉE: LES PHAGOCYTES

---

## GRANULOCYTES



**POLYNUCLEAIRE NEUTROPHILE** : Cellules phagocytaires myéloïdes à granulations, Noyau polylobé, les 1ères à migrer du sang vers le foyer inflammatoire,

Action rapide, tueuse (bactéries à x extracellulaire, champignons), produisent des médiateurs de l'inflammation,  $\frac{1}{2}$  vie courte

**Mais aussi poly EOSINOPHILE : anti parasite**

**Poly BASOPHILE : allergie**

## MONOCYTES



Cellules phagocytaires mononuclées; 2ème ligne de défense; tuent bactéries à x intracellulaire, produisent de nombreuses cytokines et médiateurs de l'inflammation.

C. Présentatrices d'Ag, se transforment en macrophages dans les tissus qui possèdent des caractères dépendants du microenvironnement.

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

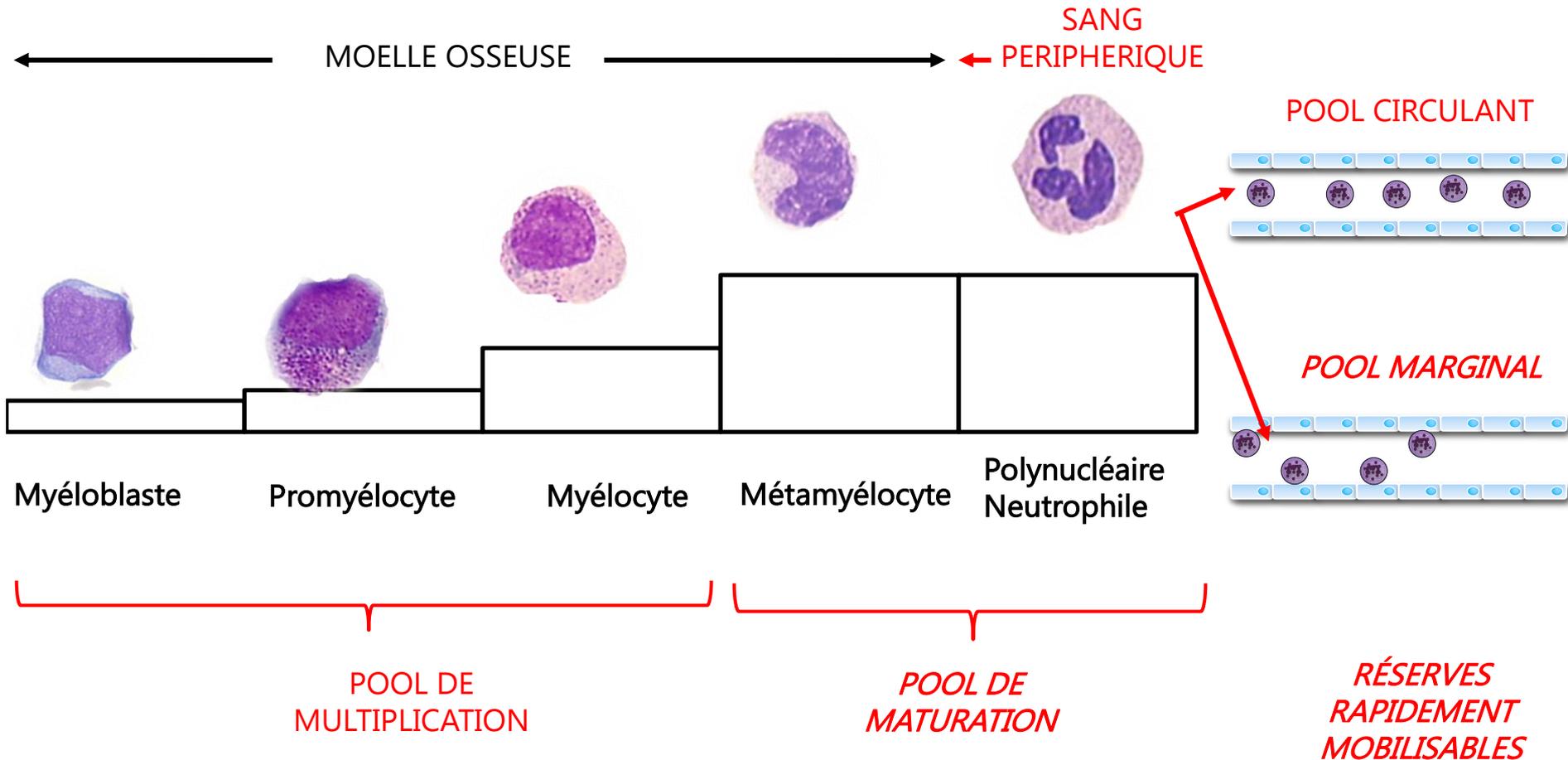
---

- ▶ POLYNUCLEAIRE NEUTROPHILE
  - ▶ Granulopoïèse
  - ▶ Activation et interactions du PN (adhérence et migration)
  - ▶ Reconnaissance de l'agent pathogène
  - ▶ Mécanismes effecteurs:  
dégranulation/FRO/cytokines/NETS
  - ▶ Régulation de la réponse immunitaire
  - ▶ Etats d'activation du PN
  - ▶ Rôles pathologiques



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

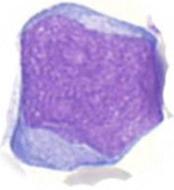
## Granulopoïèse



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Granulopoïèse

Myéloblaste



### GRANULATIONS AZUROPHILES

Myéloperoxydase  
Élastase  
Cathepsine G  
Protéinase 3

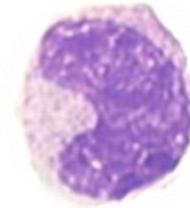
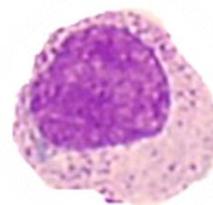
Promyélocyte



### GRANULATIONS SPÉCIFIQUES

Lactoferrine  
Récepteurs  
Lysozyme  
Métalloprotéinases  
Cytochrome b558  
Gp91<sup>phox</sup>/Gp22<sup>phox</sup>

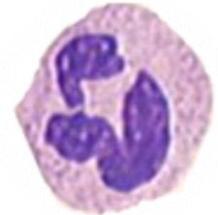
Myélocyte Métamyélocyte



### GRANULATIONS GÉLATINASE

Gélatinase  
Métalloprotéinases  
Gp91<sup>phox</sup>/Gp22<sup>phox</sup>

PN



### VÉSICULES SÉCRÉTOIRES

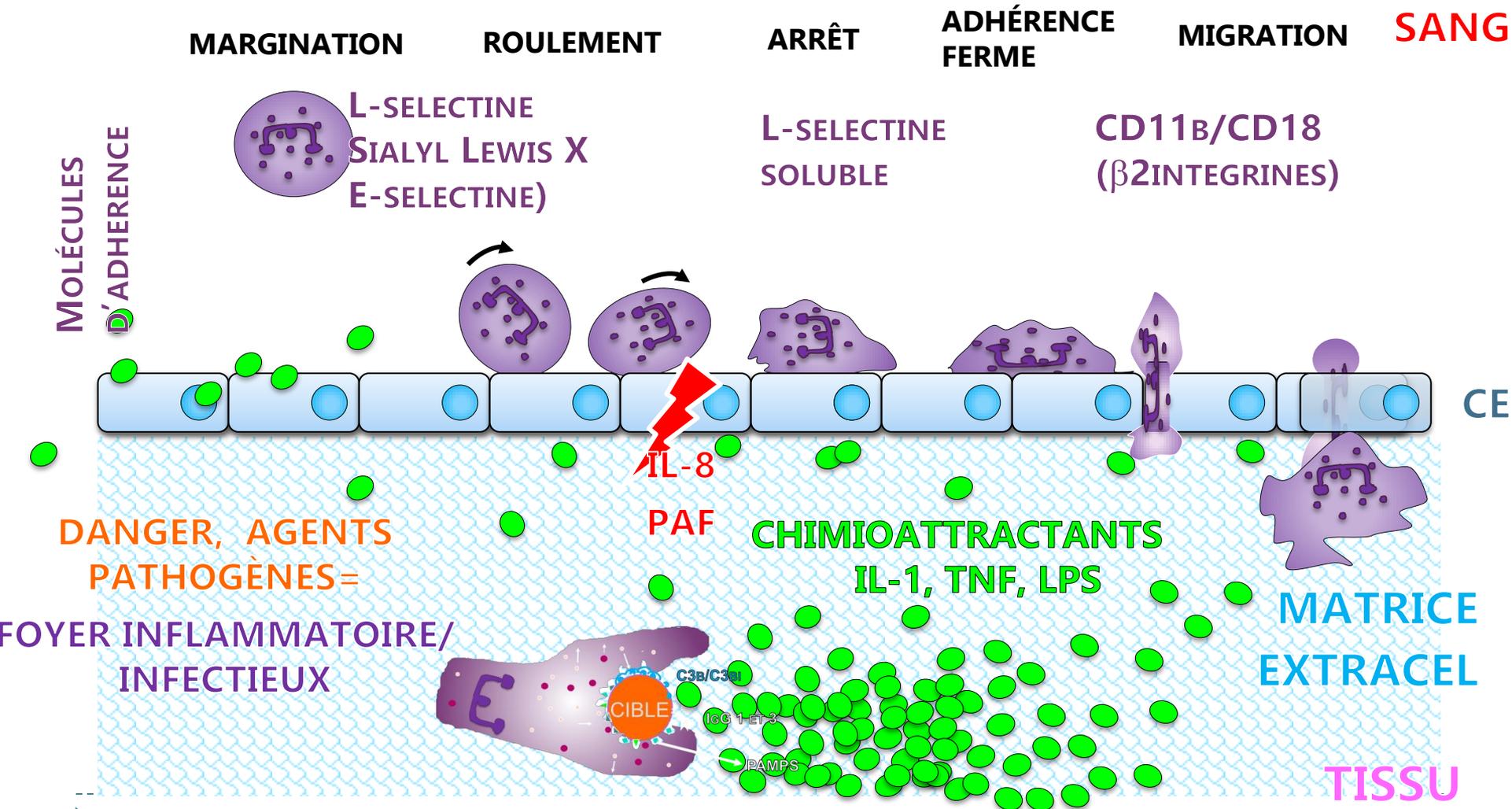
CD16  
IFN-R  
TNF-R  
CXCR4  
TLR  
CD14

TENDANCE À  
L'EXOCYTOSE



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Cascade d'adhérence et fonctions effectrices

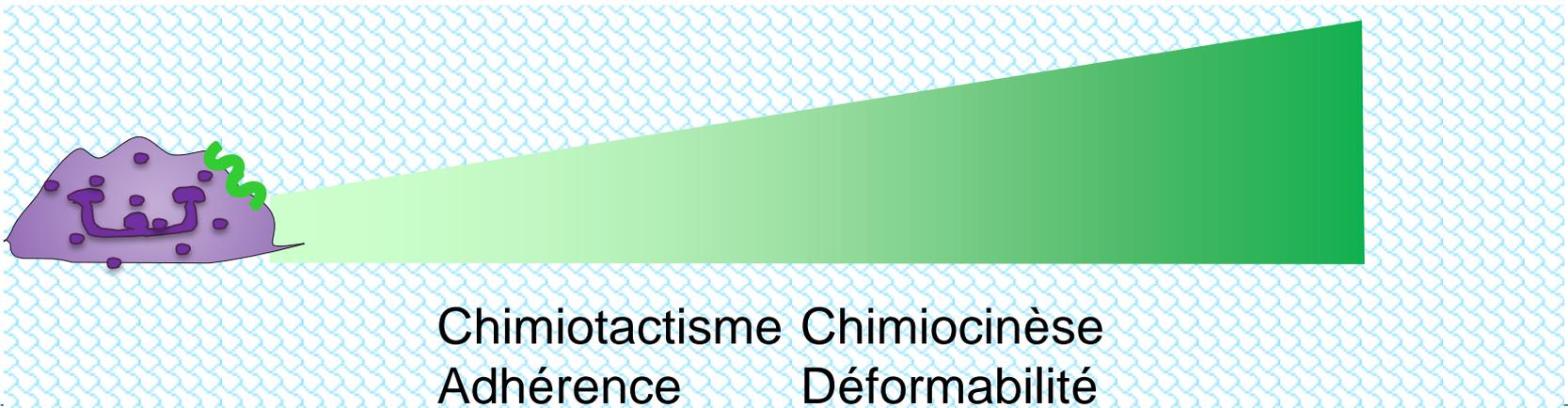


# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Facteurs chimioattractants

---

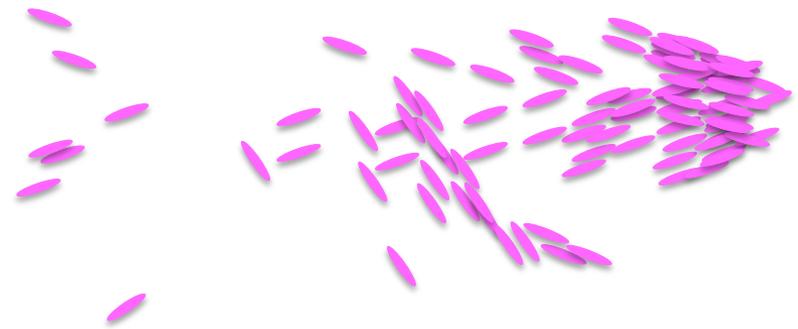
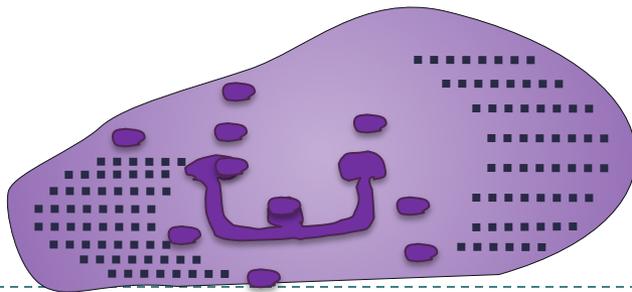
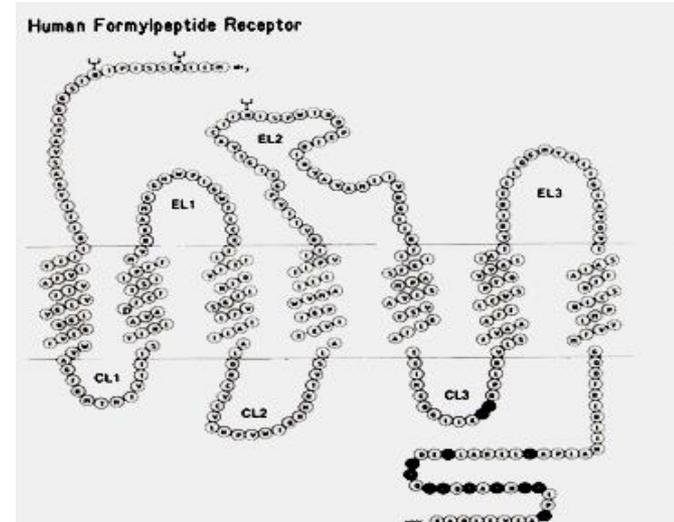
- ▶ Peptides signaux des protéines bactériennes
  - ▶ N-formyl-peptides : fMLP
- ▶ Protéines du complément, C5a
- ▶ Médiateurs produits par les cellules du foyer inflammatoire
  - ▶ PAF, leucotriène B4, chimiokines : IL-8
  - ▶ **= AMPLIFICATION DE LA MIGRATION PHAGOCYTAIRE**



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Facteurs chimioattractants

- ▶ Récepteurs à 7 domaines transmembranaires
- ▶ Couplés à des protéines G
- ▶ Modification du cytosquelette du PN
  - ▶ Polymérisation/dépolymérisation des filaments d'actine
  - ▶ Polarisation du PN



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Activation et interactions

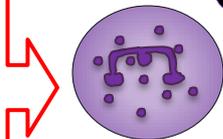


### AGENTS PATHOGÈNES

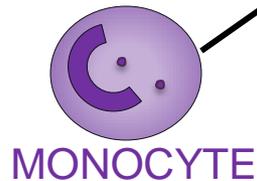
COMPLÉMENT  
C3a C5a

N-FORMYL  
PEPTIDES

ENDOTOXINES



FRO ( $O_2^{\cdot -}$ )  
ENZYMES



MONOCYTE

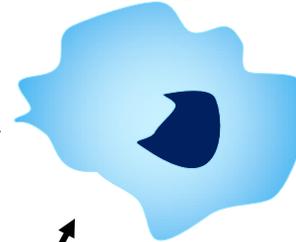
### CYTOKINES

LTB4  
PAF  
IL-8  
TNF  
IL-1  
IL-6  
GM-CSF  
G-CSF  
IL-10

IFN $\gamma$

IL-12 ← NK

### MACROPHAGE



TISSU

### CELLULE DENDRITIQUE



AG

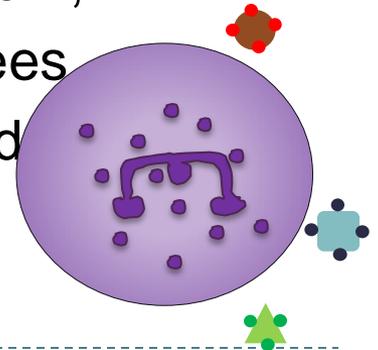
ORGANES  
LYMPHOÏDES



# RÉCEPTEURS DE L'IMMUNITÉ INÉE

---

- ▶ **Récepteurs invariables, non clonaux**, ample distribution cellulaire : **Pattern Recognition Receptors**
- ▶ Reconnaissance de
  - ▶ **PAMPs** (Pathogen Associated Molecular Patterns) : invariables, conservées au cours de l'évolution et indispensables à la survie du pathogène
  - ▶ **DAMPs** (Damage Associated Molecular Patterns) : exprimés par des cellules stressées ou endomagées. « Soi modifié », molécules plasmatiques ou nucléaires qui sont oxydées lorsqu'elles sont exposées à l'extérieur d



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance de l'agent pathogène

---

### ▶ *Pattern Recognition Receptors (PRR)*

- ▶ Toll Like Receptors
  - ▶ Lectines de type C
- } Membranaires

- ▶ NOD-like receptors
  - ▶ RIG-like receptors
- } Cytoplasmiques

### ▶ *Récepteurs du complément* \*

### ▶ *Récepteurs Fc* \*

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance de l'agent pathogène

---

### ▶ Toll Like Receptors

- ▶ Inflammation: Production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires : TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12 et IL-8
- ▶ Activation des cellules de l'immunité innée : NK et neutrophiles
- ▶ Réponse antivirale: Production d'IFN de type I, IFN- $\alpha$  et IFN- $\beta$
- ▶ Activation de l'immunité adaptative: Production IFN de type I, IL-12, augmentation de l'expression des molécules de co-stimulation (CD80, CD86) et maturation des CPA (rôle important des cellules dendritiques → changement phénotypique des CD)



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance de l'agent pathogène

---

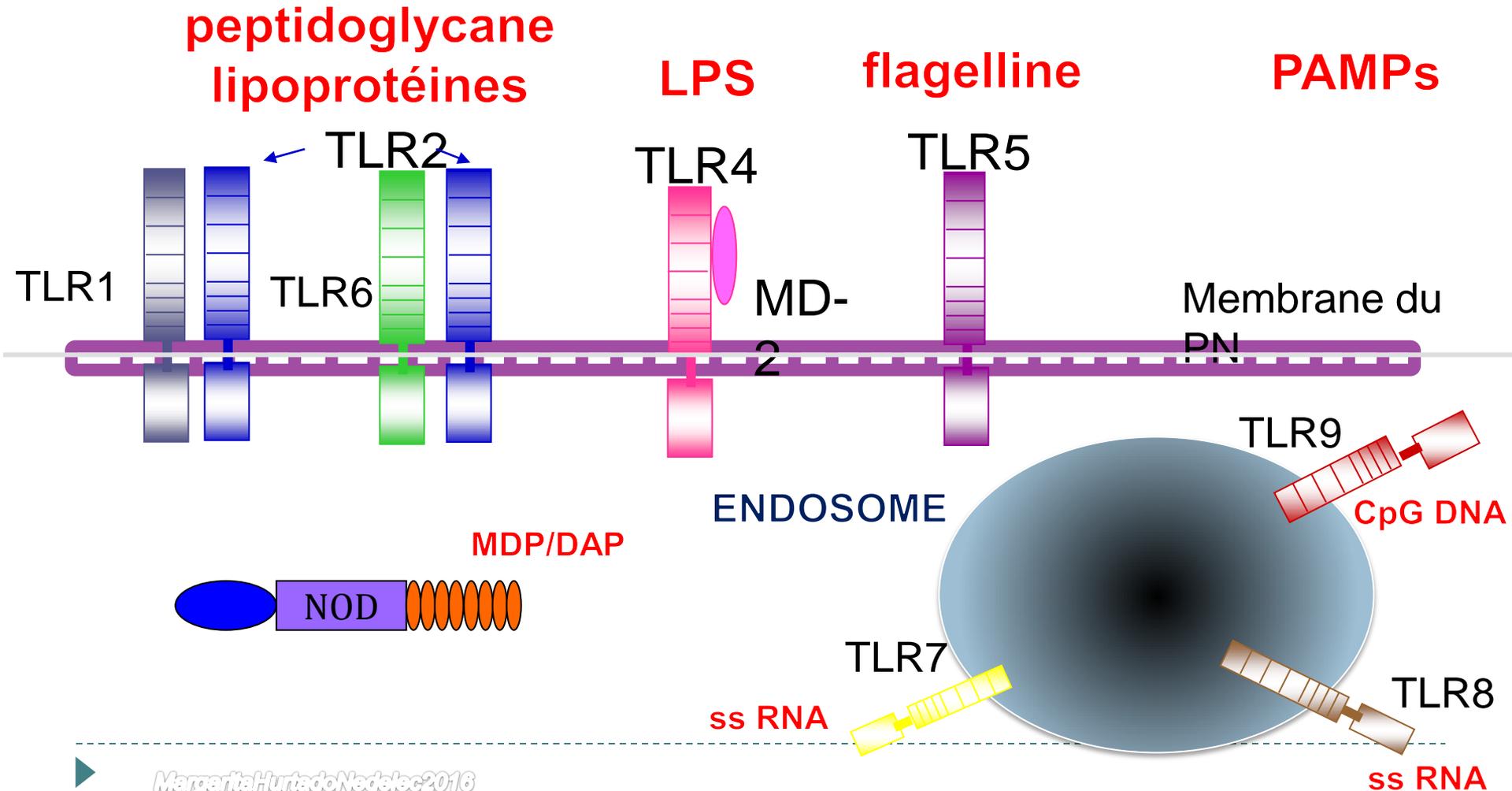
### ▶ Toll Like Receptors

- ▶ Reconnaissance des Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). TLR4 → B. gram-, LPS, M. tuberculosis, glycolipides
- ▶ TLR2 → B. gram+, peptidoglycane, lipoprotéines, glycolipides, HSP60, zymosan, cellules nécrotiques



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance *TLRs* *NLRs*



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance de l'agent pathogène

---

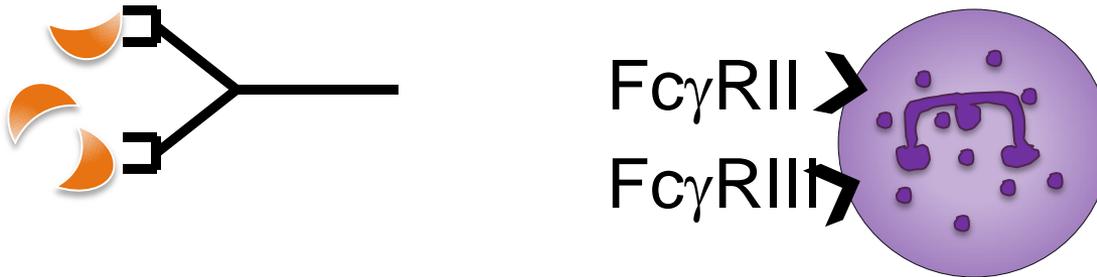
- ▶ Récepteurs du complément et récepteurs Fc
  - ▶ CR1, CR3, Fc $\gamma$ RIIa, Fc $\gamma$ RIIIb et Fc $\gamma$ RI
  - ▶ Reconnaissance des dérivés de la fraction C3 et du fragmente Fc des IgG déposés sur les surfaces pathogènes (bactéries encapsulées et levures) et faciliter leur phagocytose (opsonisation)



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance Opsonisation

- ▶ Immunoglobulines de classe G (IgG1 et IgG 3)



- ▶ Fragments du C3 du complément



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance de l'agent pathogène

---

- ▶ Lectines de type C
  - ▶ Capacité d'endocytose et de signalisation.
  - ▶ Reconnaissance de résidus glycosylés présents sur plusieurs agents pathogènes: *T. cruzi*, *S. manzoni*, VIH, Ebola virus , *M. tuberculosis*, *C. albicans*, *A. fumigatus*
  - ▶ Dectin-1 → B-glican champignons
  - ▶ Mincle → *Malassezia* fungi, composantes mycobactériennes et des « signaux de danger cytoplasmique »

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance d'agents pathogènes intracel.

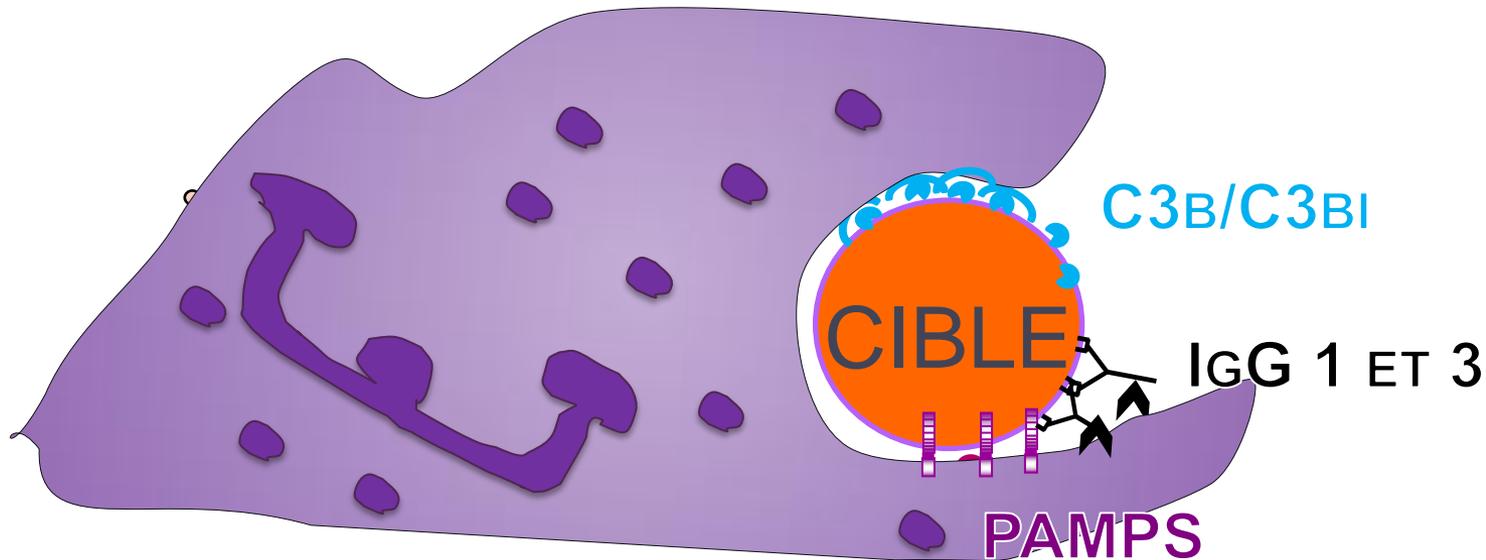
---

- ▶ RIG-like receptors (retinoic acid inducible gene)
  - ▶ Famille d'hélicases à ARN
  - ▶ Détecteurs cytoplasmiques de l'ARN double brin (flavivirus, orthomyxovirus, paramyxovirus et rhabdovirus)
  - ▶ Induction de réponses anti-virales IFN $\alpha/\beta$



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Reconnaissance Adhérence et Englobement



- ▶ Adhérence → Signalisation → Fin de la dégranulation et activation des fonctions effectrices

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Destruction de l'agent pathogène

---

- ▶ Phénomènes indépendants de l'oxygène
  - ▶ Dégranulation dans le phagosome
    - ▶ Diminution du pH
    - ▶ Protéines cationiques à activité bactéricide
      - Lysozyme
      - BPI (*bactericidal permeability increasing protein*)
      - Sérine protéases (élastase, cathepsine G)
  - ▶ Dégranulation dans la membrane
    - ▶ Augmentation de l'expression des récepteurs (fMLP, CD11b/CD18)

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Destruction de l'agent pathogène

---

### ▶ Phénomènes dépendantes de l'oxygène

#### ▶ Activation de la NADPH oxydase

##### ▶ Production de formes réactives de l'oxygène



□ Anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ )

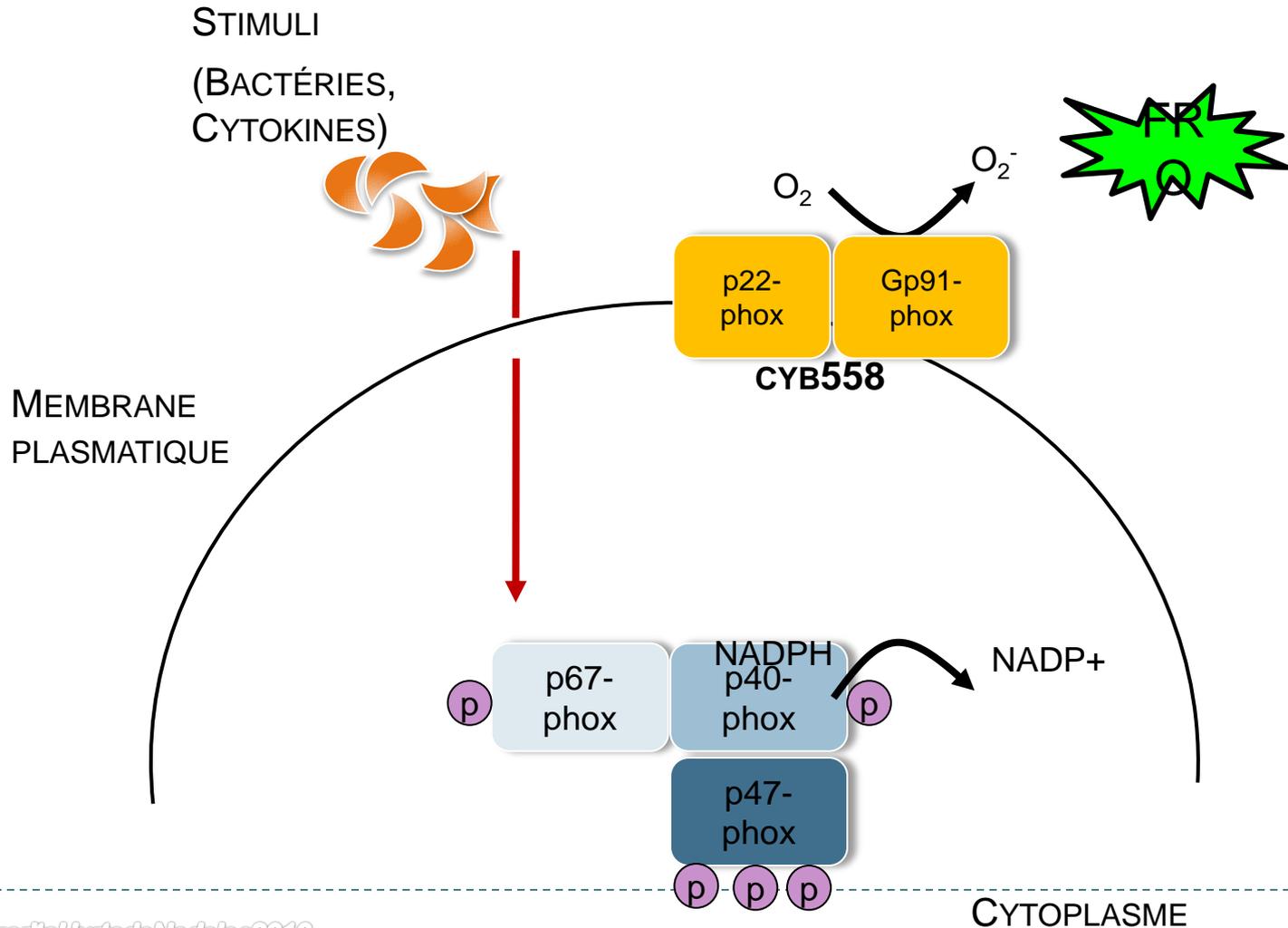
□ Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )

▶ Oxydent de façon non spécifique et puissante différents substrats organiques tels que les protéines, l'ADN, les lipides et les sucres



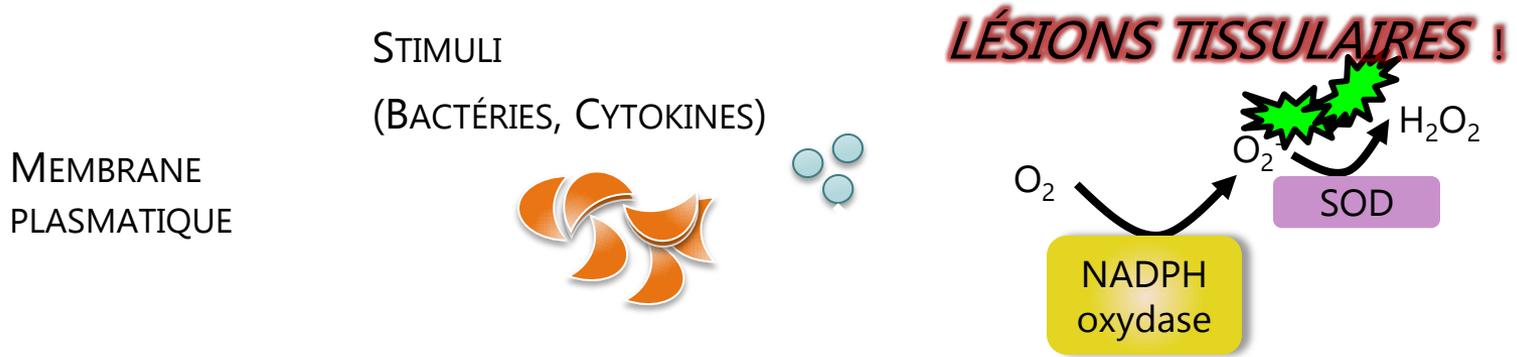
# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Assemblage NADPH oxydase

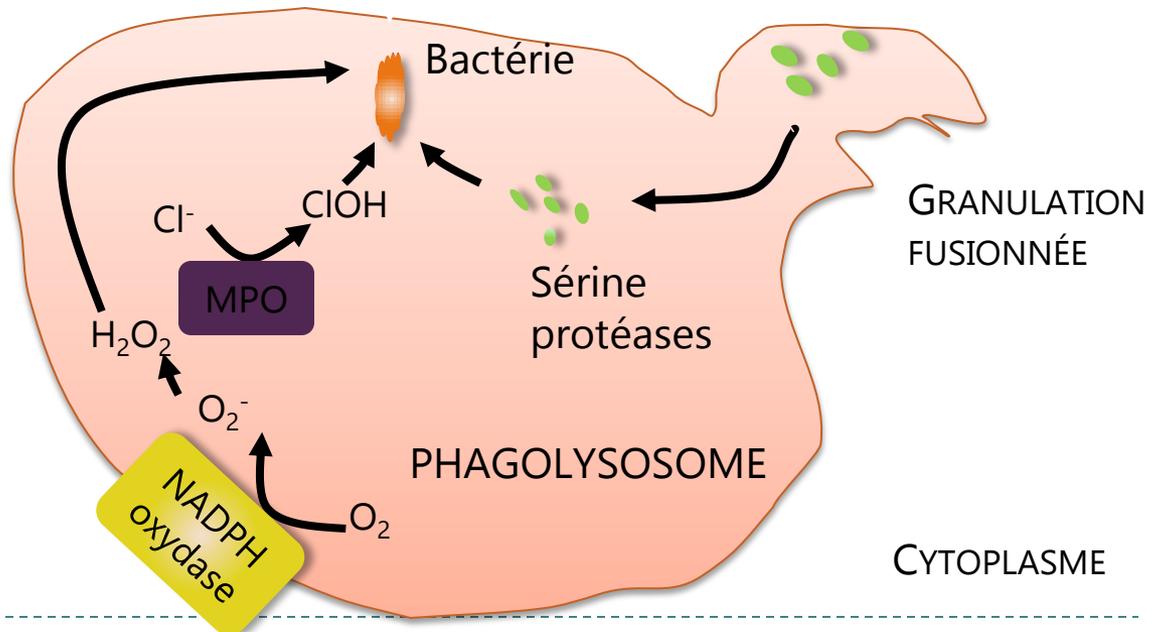


# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Explosion oxydative



- ▶ Explosion oxydative
  - ▶ anti-bactérienne
  - ▶ anti-fongique



# GRANULOMATOSE SEPTIQUE CHRONIQUE (CGD)

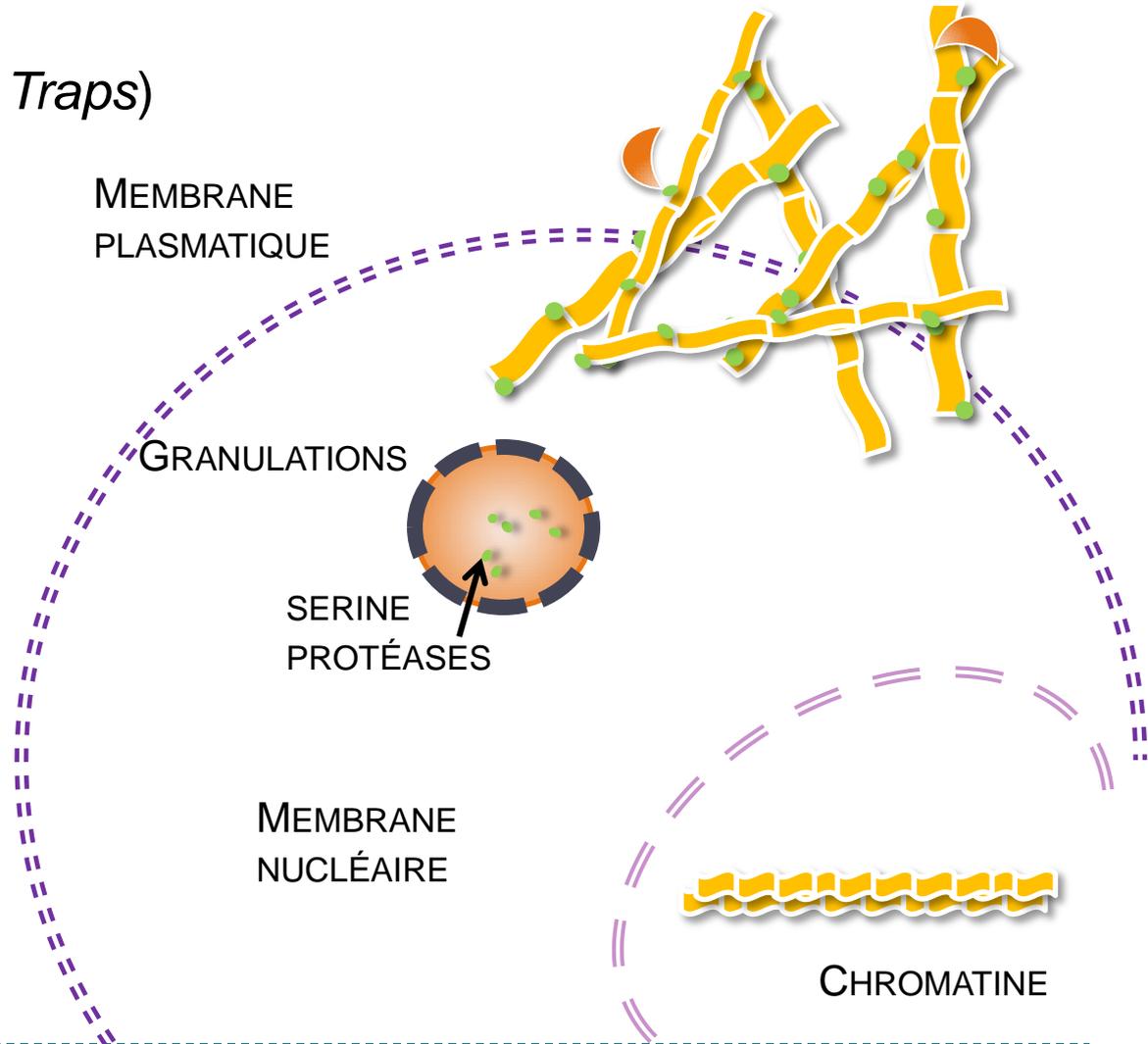
---

- ▶ Mutations dans les gènes codant les différentes composantes de la NADPH oxydase
- ▶  $1/2 \times 10^5$  naissances
- ▶ Infections bactériennes et fongiques, graves et à répétition
- ▶ Pneumopathies
- ▶ Lymphadénites
- ▶ Abscesses sous-cutanés, pulmonaires, hépatiques
- ▶ Atteintes ORL multiples
- ▶ Atteintes granulomateuses intestinales
- ▶ Ostéomyélites
- ▶ **Dx : déficit de la production des FRO + western blot+ recherche mutation**

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

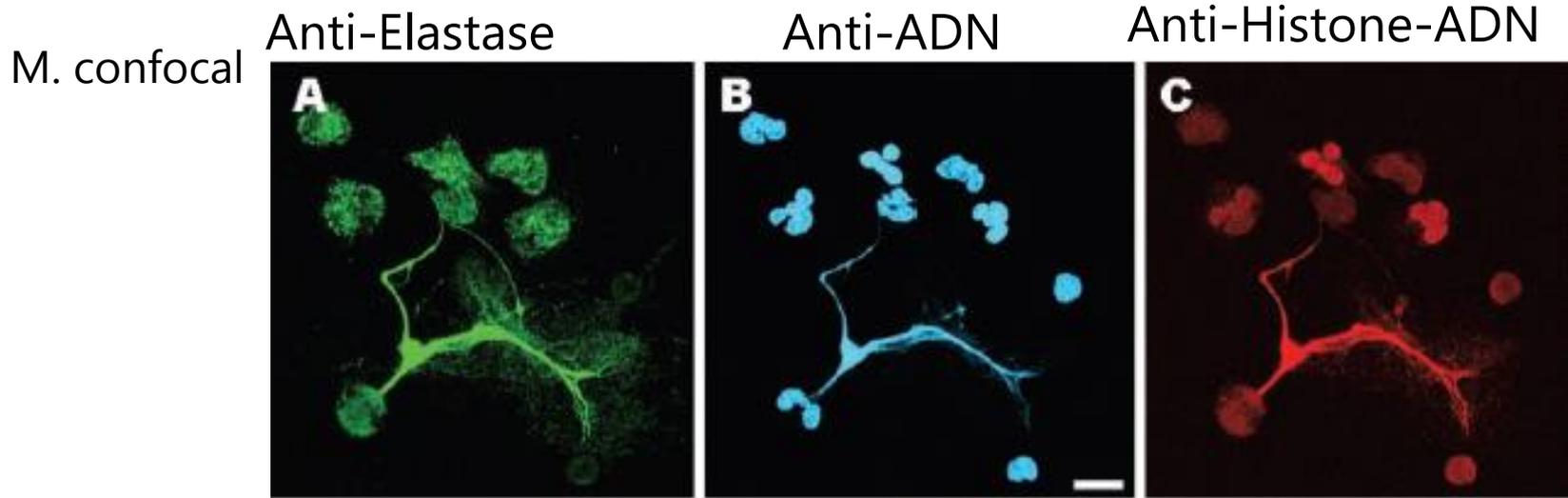
## Destruction de l'agent pathogène NETs

(*Neutrophil Extracellular Traps*)



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Destruction de l'agent pathogène



Granules primaires (Cathepsin G, MPO...),  
Granules 2aires, tertiaires (lactoferrine, gélatinase...)

**Mécanisme apoptotique dépendant des FRO**

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Destruction de l'agent pathogène NETs

- ▶ Moyen de défense post-mortem du PN
- ▶ Risque d'induction de processus autoimmuns ?
  - ▶ (exposition prolongée d'ADN, histones, protéines modifiées... associées à des Ag bactériens)

# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Régulation des réponses immunitaires

### Pro-inflammatory cytokines

IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF, BAFF, APRIL

### Anti-inflammatory cytokines

IL-1RA, TGF $\beta$

### Immunoregulatory cytokines

IL-12 and IL-23

### Angiogenic molecules

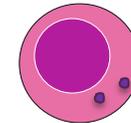
VEGF, HGF, FGF2

### Colony stimulating factors

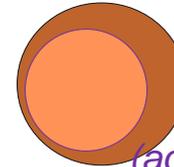
G-CSF AND GM-CSF



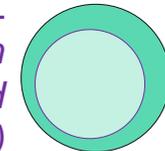
MONOCYTE  
(proliferation,  
recruitment,  
activation)



NK CELL  
(cytokine  
production)



T CELL  
(activation  
and  
proliferation)



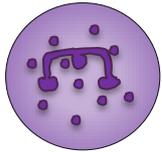
B CELL  
(survival and  
proliferation)



MACROPHAGE  
(antimicrobial activity)



DENDRITIC  
CELL  
(maturation)



# Neutrophil and immune regulation

## Pro-inflammatory cytokines

IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF, BAFF, APRIL

## Anti-inflammatory cytokines

IL-1RA, TGF $\beta$

## Immunoregulatory cytokines

IL-12 and IL-23

## Angiogenic molecules

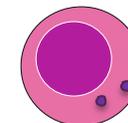
VEGF, HGF, FGF2

## Colony stimulating factors

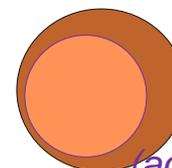
G-CSF AND GM-CSF



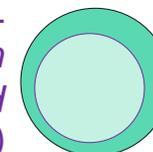
MONOCYTE  
(proliferation,  
recruitment,  
activation)



NK CELL  
(cytokine  
production)



T CELL  
(activation  
and  
proliferation)



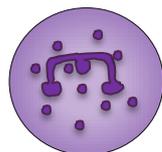
B CELL  
(survival and  
proliferation)



DENDRITIC  
CELL  
(maturation)



MACROPHAGE  
(antimicrobial activity)



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Régulation des réponses immunitaires

- ▶ « Processing » de molécules importantes dans l'inflammation
  - ▶ La cathelicidine: Hcap18 → LL37 peptide anti microbien

### ELASTASE

- ▶ Pro-IL-1b → IL-1b : amplification de la réponse inflammatoire

### PROTEINASE 3

- ▶ Collagène → peptides chimiotactiques

### GELATINASE

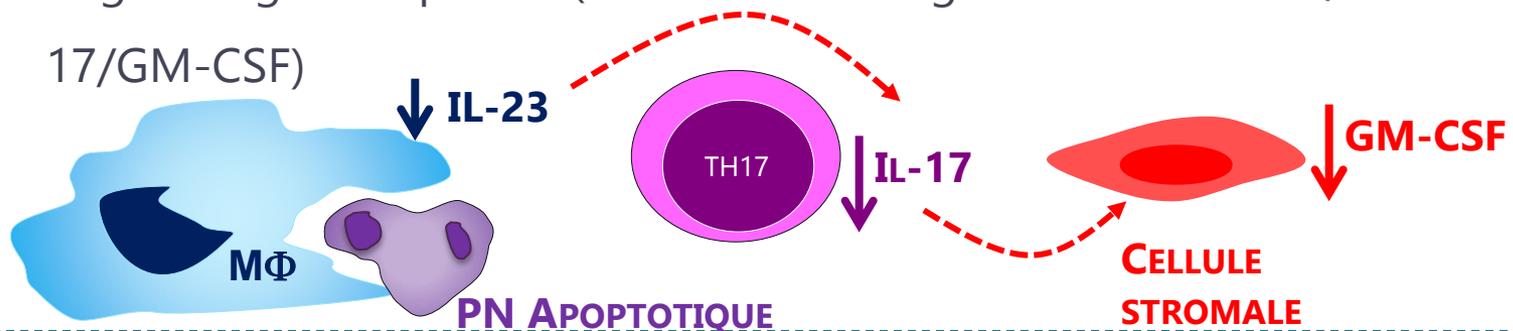
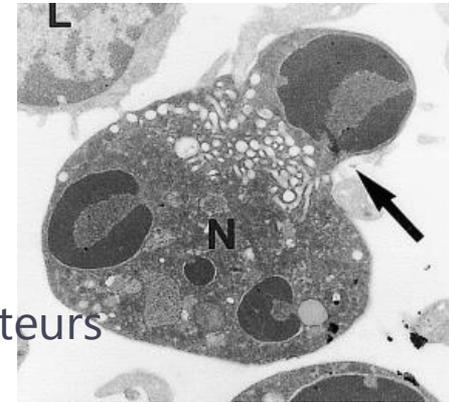


# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Régulation des réponses immunitaires

### ▶ APOPTOSE

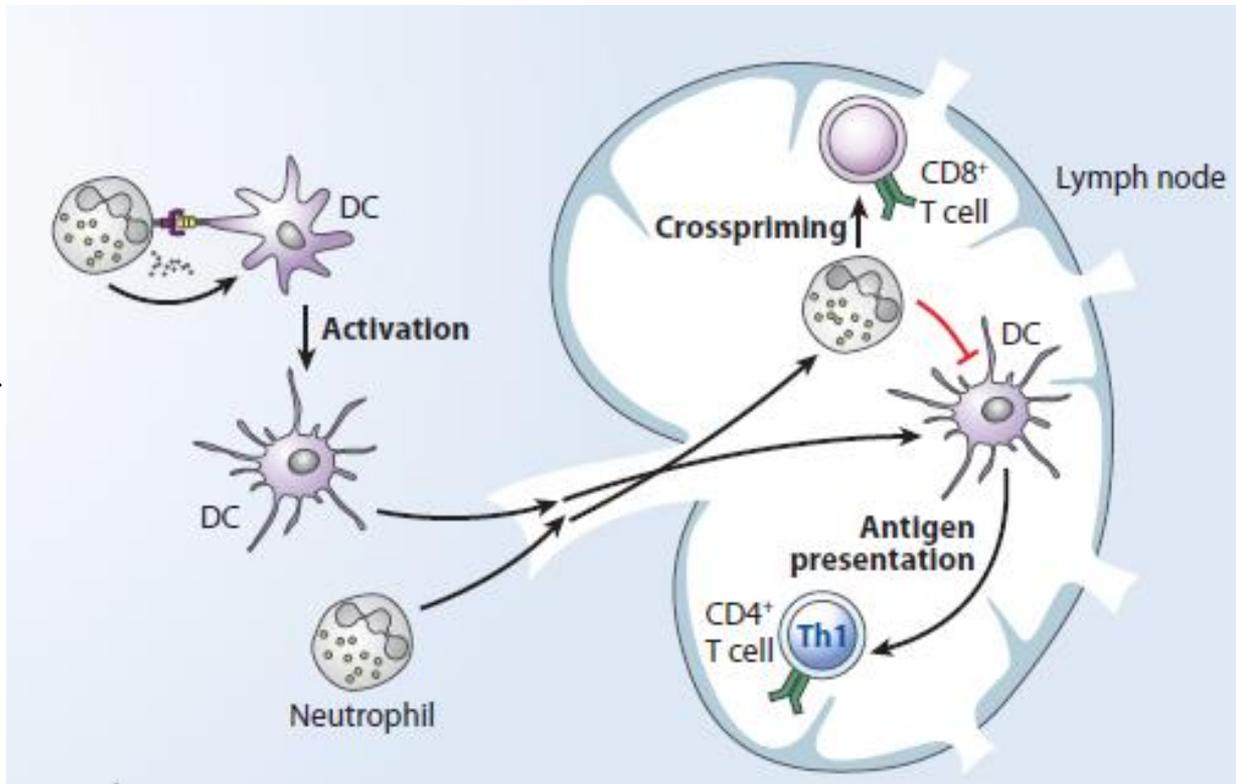
- ▶ Permet l'élimination par les macrophages (efferocytose)
- ▶ Limite la réponse inflammatoire
- ▶ Protège les tissus en augmentant la production de médiateurs anti-inflammatoires par le MΦ (IL-10)
- ▶ Favorise la réparation tissulaire (VEGF, TGFbeta, « resolvines »)
- ▶ Régule la granulopoïèse (rétrocontrôle négatif via l'axe IL-23/IL-17/GM-CSF)



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Régulation des réponses immunitaires

- ▶ Modèles murins
- ▶ Cross-présentation antigénique aux LyTCD8+
- ▶ Neutrophiles « pulsés » avec des Ag
- ▶ Co-culture avec LyT
- ▶ Expression des molécules CMHII et des



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Régulation des réponses immunitaires

- ▶ *Priming* ou amorçage
  - ▶ Le prétraitement par un agoniste augmente la réponse a un deuxième stimulus
  - ▶ Réponse maximale lors du deuxième stimulus
  - ▶ Etape de « vérification » préalable a l'activation
  - ▶ Inhibition du chimiotactisme et fixation du PN
  - ▶ Inhibition de l'apoptose

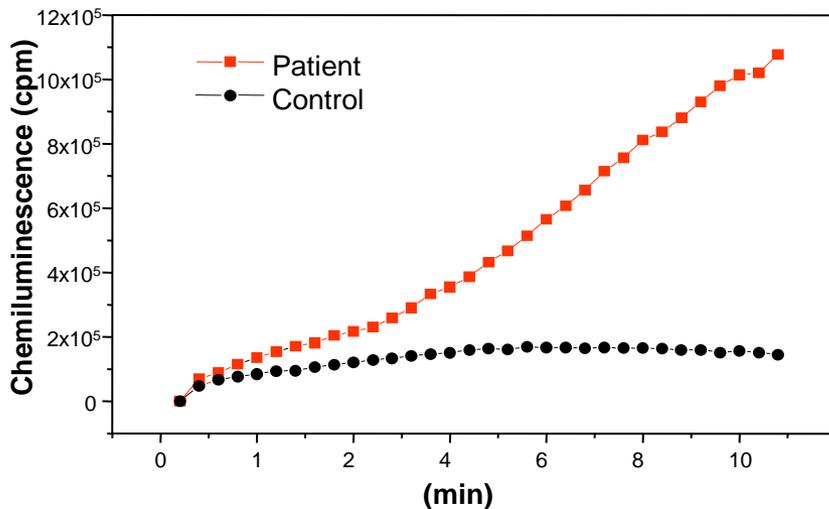
# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## États d'activation

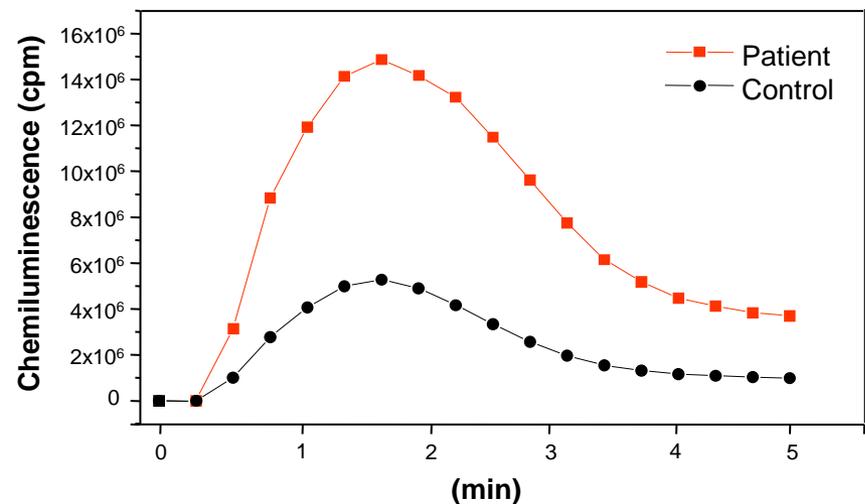
---

### ► *Priming* ou amorçage

Resting



fMLP  $10^{-7}$  M



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Régulation des réponses immunitaires

### ▶ Désensibilisation

- ▶ Un premier contact avec un agent pharmacologique diminue la réponse ultérieure
- ▶ Clivage et internalisation des récepteurs
- ▶ Découplage des signaux transductionnels
- ▶ Inhibition par certains médiateurs



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

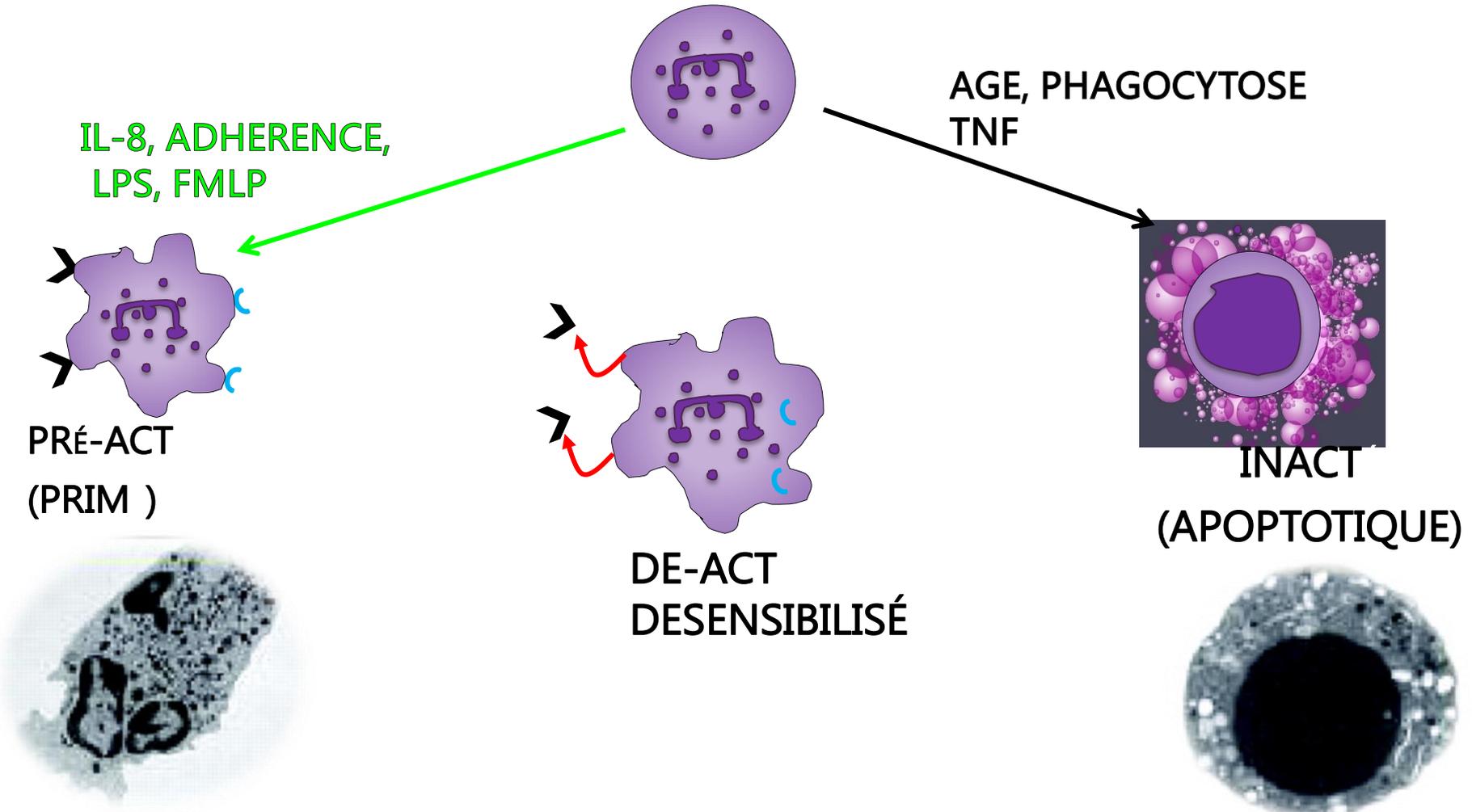
## Régulation des réponses immunitaires

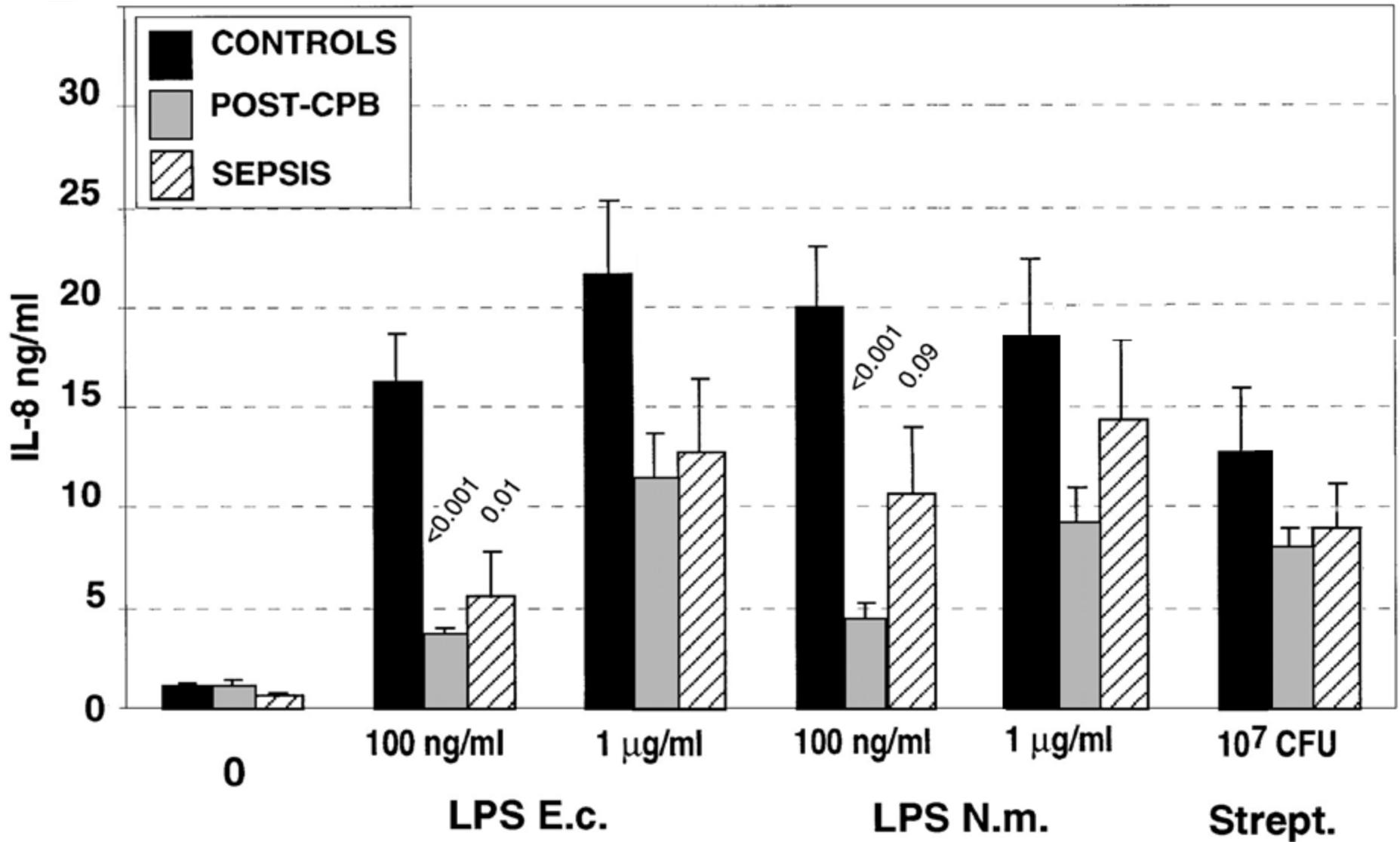
- ▶ Inactivation
  - ▶ Apoptose
  - ▶ Spontanée
  - ▶ Induite par phagocytose
  - ▶ Irreversible



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

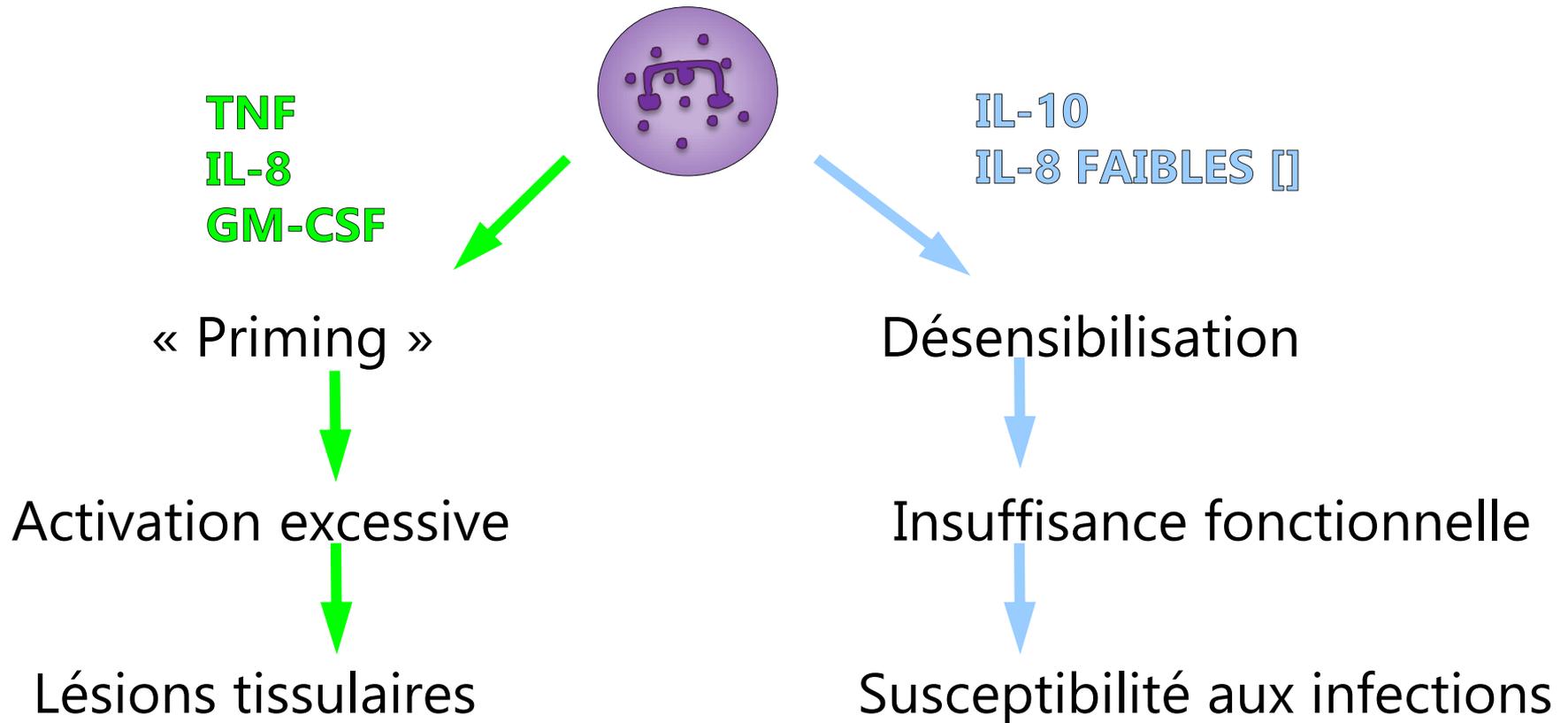
## États d'activation





# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Équilibre des états d'activation



*Une meilleure compréhension des processus physiopathologiques est nécessaire au développement d'agents pharmacologiques adaptés*



# DÉRÉGULATION DU PN DANS DIFFÉRENTES PATHOLOGIES

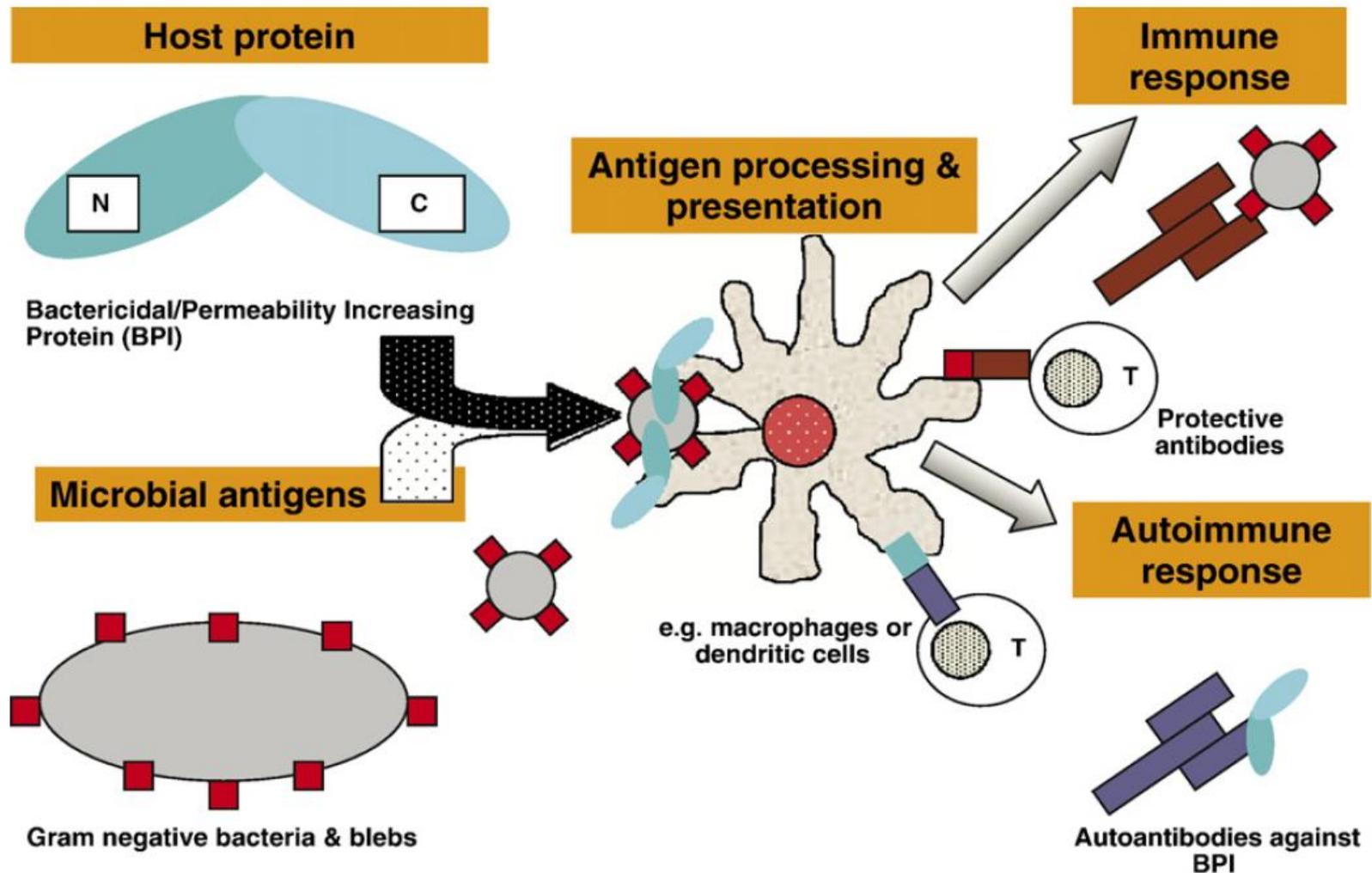
# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Rôle des complexes immuns (CI)

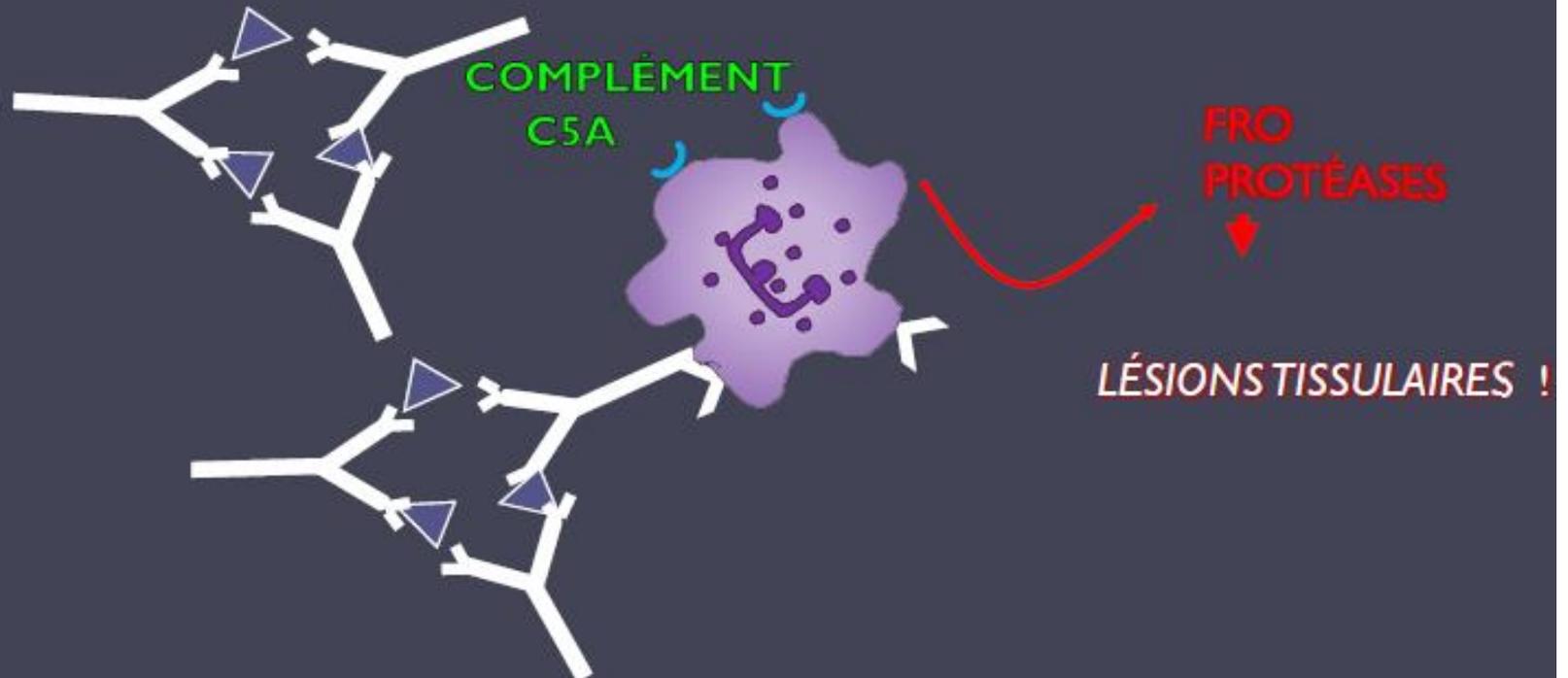
- ▶ Pathologies auto-immunes, ou inflammatoires stériles
- ▶ Activation du PN via les FcR
- ▶ Dans la circulation (vascularites à ANCA)
- ▶ Dans les tissus en cas dépôt des CI (PR, alevolites allergiques, dermatites)

# RUPTURE DE LA TOLERANCE

## Mimetisme moléculaire

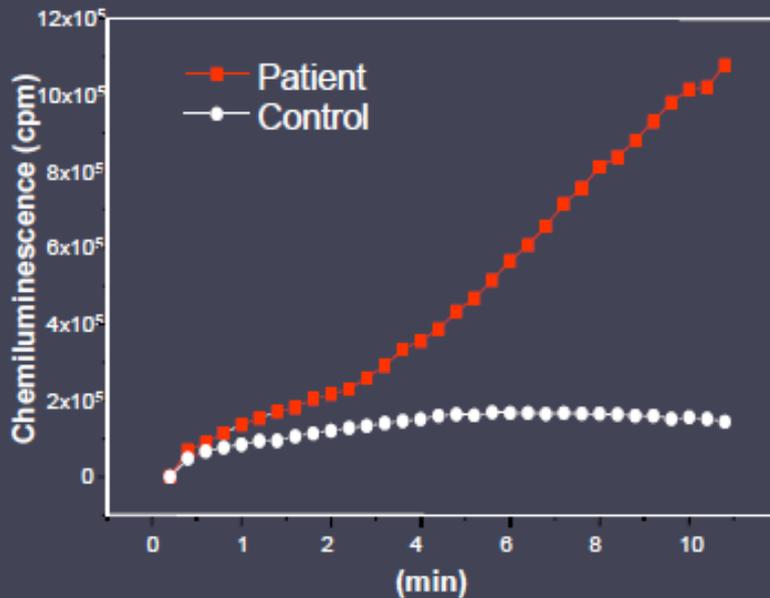


# MALADIES AUTO-IMMUNES

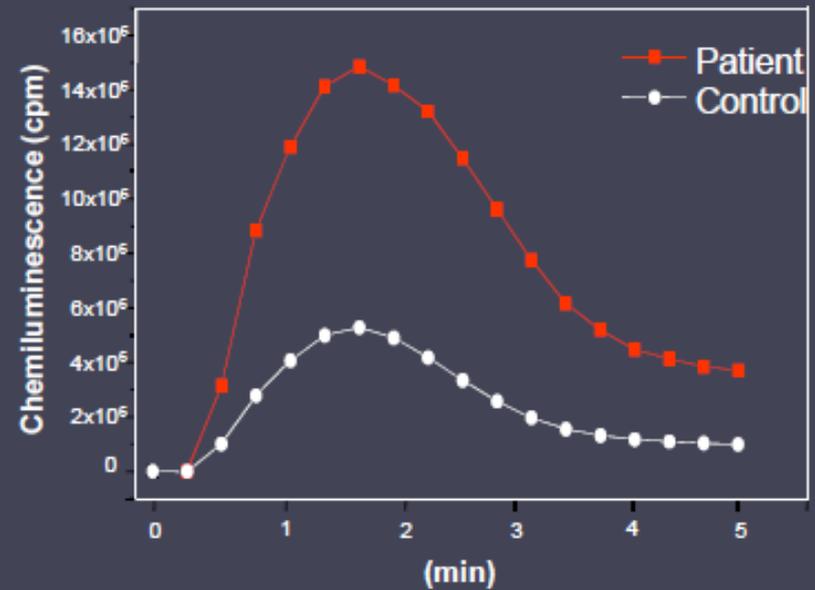


# POLYARTHRITE RHUMATOIDE

## REPOS



## fMLP 10<sup>-7</sup> M



# LE POLYNUCLÉAIRE NEUTROPHILE

## Régulation des réponses immunitaires

- ▶ Recrutement des **cellules dendritiques immatures** : MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MIP3  $\alpha$ , Défensine  $\alpha$
- ▶ Transfert de l'Ag (?)
- ▶ Maturation de la cellule dendritique  $\rightarrow$  TNF $\alpha$

