

## ENCADRE 1 : LA PEAU

La peau représente environ 2m<sup>2</sup> de surface et 15% du poids corporel. C'est un organe complexe ayant 4 fonctions essentielles : une fonction de protection, une fonction de sensibilité, une fonction métabolique et une fonction de thermorégulation.

### L'hypoderme

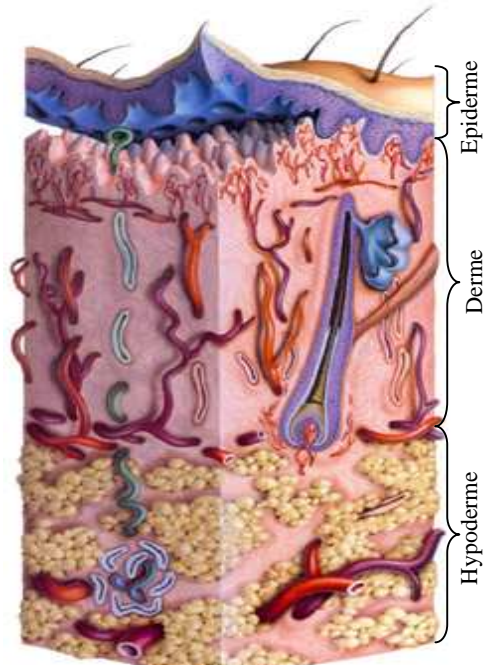
L'hypoderme est un tissu graisseux vascularisé composé de lobules adipeux contenant des adipocytes. Il sert de protection thermique et mécanique.

### Le derme

Le derme est un tissu conjonctif dense et fibro-élastique dont la production et le remodelage sont assurés par les fibroblastes. Il comprend également d'autres types cellulaires : des cellules endothéliales organisées en vaisseaux, des macrophages, des lymphocytes, des cellules dendritiques ou d'autres cellules immunitaires.

### L'épiderme

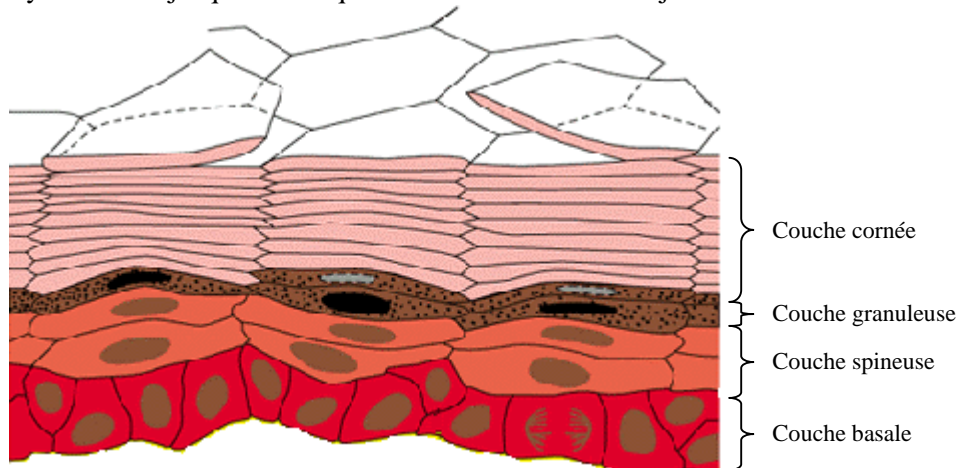
L'épiderme est un épithélium pluristratifié kératinisé. Son épaisseur varie de 40 µm à 1 à 6 mm selon sa localisation anatomique. Les kératinocytes constituent 90 à 95 % de la population épidermique. Les autres cellules présentes sont des cellules de Langerhans, des mélanocytes et des cellules de Merkel. Les kératinocytes prolifèrent dans l'assise basale puis se différencient progressivement pour former les différentes couches de l'épiderme en migrant depuis la profondeur vers la surface où elles desquament.



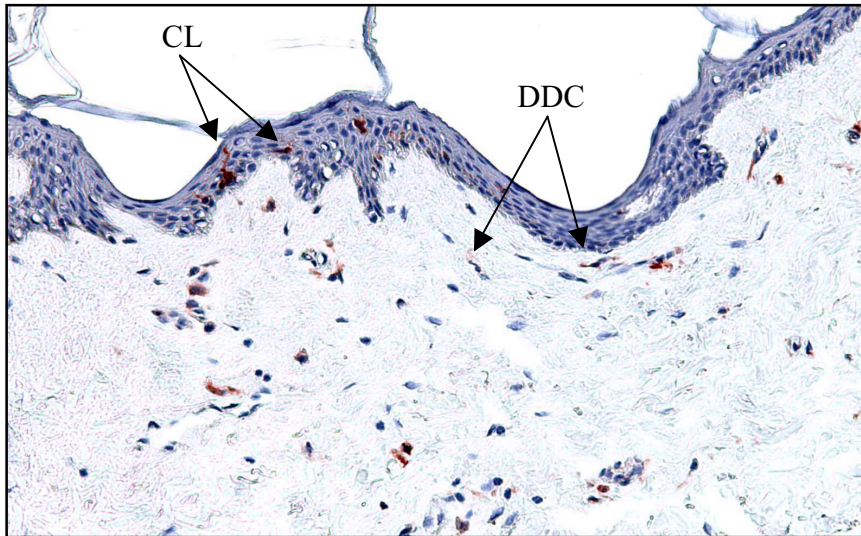
Coupe de peau  
(D'après Geras, In Dermatology, 1990)

L'épiderme est composé de plusieurs couches cellulaires :

- La **couche basale** est constituée de kératinocytes à large noyau cylindriques ou cubiques, en division.
- La **couche spinieuse** est composée de 5 à 15 assises de kératinocytes volumineux et polygonaux.
- La **couche granuleuse** comporte 1 à 3 assises de kératinocytes aplatis et fusiformes disposés parallèlement à la surface cutanée. Ils contiennent des grains de kératoyaline (granulations basophiles), c'est-à-dire un assemblage de protéines riches en histidine et de filaments de kératine.
- La **couche cornée** est la couche la plus superficielle de l'épiderme. Elle est composée de 5 à 10 assises kératinocytaires anucléées et aplaties dénommées les cornéocytes. Le cycle de différenciation depuis les kératinocytes basaux jusqu'à la desquamation se déroule en 21 jours.

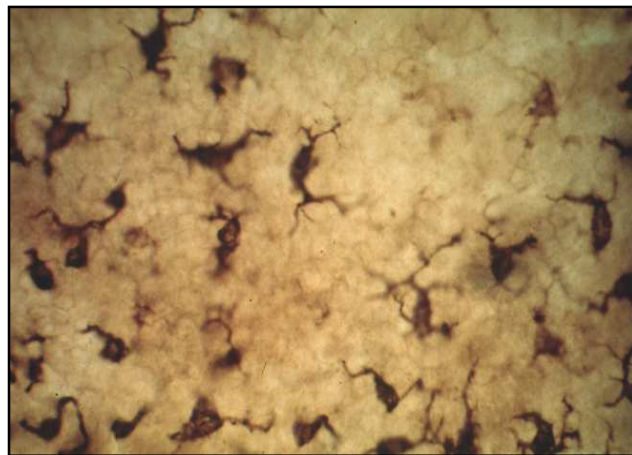


Organisation schématique de la structure de l'épiderme  
(www.marvistavet.com)



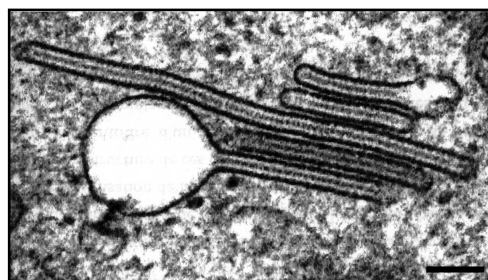
**Figure 1 : Localisation des cellules dendritiques dans une coupe de peau humaine normale**

Immunomarquage HLA-DR sur coupe de peau incluse en paraffine Histowax®. Dans l'épiderme sont visibles des cellules de Langerhans (CL) et dans le derme des cellules HLA-DR positives dont des cellules dendritiques dermiques (DDC). Grossissement x100



**Figure 2 : Réseau de cellules de Langerhans dans l'épiderme humain**

Les cellules de Langerhans sont colorées grâce à la révélation de leur activité enzymatique ATPase dans un feuillet épidermique (épiderme entier et aplati).



**Figure 3 : Aspect des granules de Birbeck en microscopie électronique (Photo Colette Dezutter-Dambuyant)**

La structure des granules de Birbeck en microscopie électronique révèle bien leur striation périodique caractéristique et leur forme en raquette de tennis. Echelle: 0.1µm.

ANTIGENES	Cellules de Langerhans	Cellules dendritiques dermiques
<b>CMH</b>		
CMH de classe I	+	+
CMH de classe II	++	++
<b>Hématopoïétique</b>		
CD45	+	+
CD45RA	-	
CD45RO	-	
<b>Lignée T</b>		
CD1a,b,c,d	++	+
CD2	-	-
CD3	-	-
CD4	+	+
CD8	-	-
<b>Lignée B</b>		
CD19	-	-
CD83	-	-
<b>Myéloïdes</b>		
CD13	±	+
CD14	-	2 pop + et -
CD33	+	+
<b>Adhérence</b>		
CD11a	-	±
CD11b	-	+
CD11c	+	+
CD18	±	+
CD50	+	
CD54	+	+
CD58	+	+
CD62L	+	
<b>Costimulation</b>		
CD40	+	+
CD80	-	-
CD86	±	+
ICOS-L	+	+
<b>Récepteurs de cytokines et chimiokines</b>		
CD123/IL3-R $\alpha$	-	-
CCR6	+	-
CCR7	-	+
<b>Lectines de type C</b>		
Langerin/CD207	++	-
DC-SIGN/CD209	-	+
B220/CD207	-	-
MMR/CD206	-	+
DEC205/CD205	-	±
<b>Autres</b>		
CD16	-	-
CD32	+	+
CD64	-	-
CD89	-	+
DC-LAMP	-	-
CD68	+	-

**Figure 4 : Phénotype des cellules de Langerhans et des cellules dendritiques dermiques humaines**

## ENCADRE 2 : LES CELLULES DENDRITIQUES DERMiques MURINES

Les DC du derme murin sont encore bien moins étudiées que leurs homologues humains. Ces DC sont dépourvues de granule de Birbeck et de phagolysosomes. Elles possèdent un noyau plurilobé et de longs prolongements cytoplasmiques (Lenz et al., 1993; Duraiswamy et al., 1994). Elles expriment fortement les molécules du CMH de classe II, et aucun marquage positif pour F4/80 (spécifique des macrophages) n'est retrouvé (Lenz et al., 1993). Dans le derme murin, deux populations de cellules CMH de classe II<sup>+</sup> CD45<sup>+</sup> se distinguent par l'expression de CD11b. Seule la population CD11b<sup>-</sup> est capable de capturer et de présenter des antigènes à des hybridomes T sans maturation *in vitro* (Duraiswamy et al., 1994).

Plus récemment, les travaux de Dupasquier et coll. démontrent que près de 70% de la population dermique murine est constituée de cellules mononucléées phagocytaires CD45<sup>+</sup> (Dupasquier et al., 2004) alors que les travaux antérieurs chez l'homme et chez la souris observaient seulement 5% de cellules mononucléées parmi les cellules dermiques (Meunier et al., 1993; Duraiswamy et al., 1994). Cette grande disparité serait liée aux techniques utilisées (marquages *in situ* versus purifications cellulaires). Les macrophages dermiques (F4/80<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup> mMGL<sup>+</sup> (*Macrophage Galactose/N-acetylgalactosamine-specific C-type Lectin* murine) représenteraient 60% de ces cellules CD45<sup>+</sup>, les 10% restants seraient identifiés comme des DDC et des CL migrantes (Dupasquier et al., 2006).

## ENCADRE 3 : LES CELLULES ENDOTHELIALES DU DERMIE

Les cellules endothéliales (CE) possèdent de multitudes fonctions. Elles interviennent dans le contrôle du trafic cellulaire, dans la régulation de la vasoconstriction et de la vasodilatation, dans la formation des nouveaux vaisseaux, dans l'homéostasie cellulaire, etc. Elles constituent une population très hétérogène distribuée dans tout l'organisme. Le profil d'expression et la fonction des cellules endothéliales varient selon leur localisation dans l'appareil circulatoire, mais également au sein même d'un organe en fonction du temps.

Dans le derme, deux réseaux vasculaires coexistent :

- le premier réseau, superficiel, est situé juste en dessous de l'épiderme et à l'interface entre le derme papillaire et réticulaire.

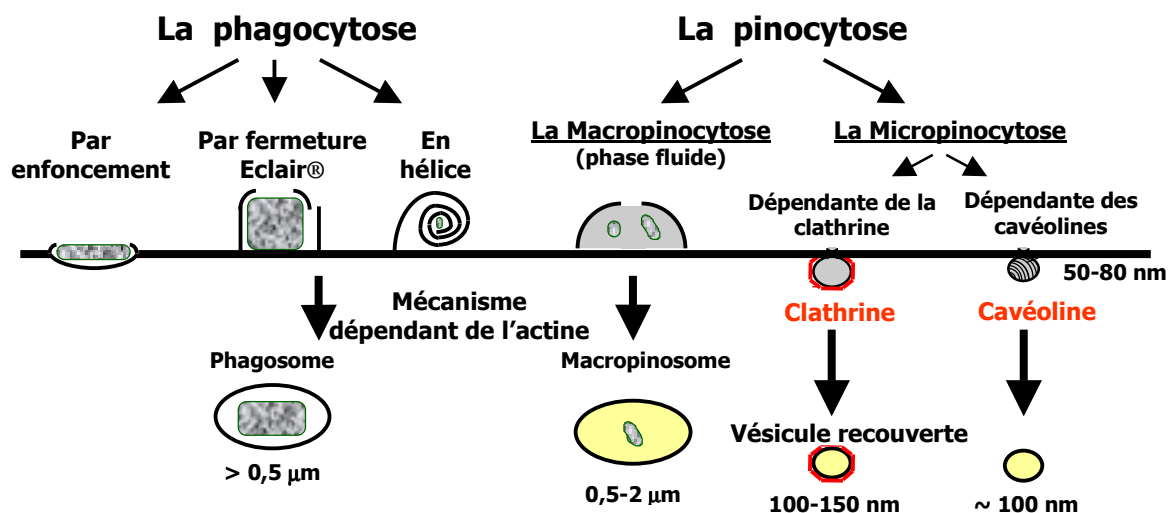
- le second réseau, plus profond, est situé à l'interface entre le derme et l'hypoderme.

Les CE forment à la fois les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques et participent à l'apport nutritionnel, à la thermorégulation de la peau, mais également au recrutement des cellules immunitaires et à la croissance pilaire.

Plusieurs équipes ont développé des techniques de purification des CE dermiques (Kraling et al., 1994; Hewett and Murray, 1996; Richard et al., 1998) permettant ainsi l'avancée des études phénotypiques et fonctionnelles de ces cellules.

Les cellules endothéliales lymphatiques (CEL) et les cellules endothéliales sanguines (CES) coexpriment toutes les deux CD31 (PECAM-1) et le facteur de Von Willebrand (Kriehuber et al., 2001; Unger et al., 2002; Pusztaszeri et al., 2006). Les CEL se distinguent par leur expression de podoplanin (Kriehuber et al., 2001) et LYVE-1 (Podgrabinska et al., 2002). L'expression de CD34 diffère également entre les CEL et les CES : absence ou faible expression sur les CEL alors qu'une forte expression est retrouvée sur les CES (Podgrabinska et al., 2002). L'expression de CD36 reste localisée au niveau du derme profond (Petzelbauer et al., 1993). Par ailleurs, CD146 est également exprimé sur les cellules endothéliales microvasculaires dermiques (HDMEC) (Li et al., 2003). Enfin, en conditions non inflammatoires, aucune expression de VCAM-1 (CD106) ni de E-Selectin (ELAM-1) n'est retrouvée sur les HDMEC (Petzelbauer et al., 1993). *In situ*, les HDMEC expriment le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (Cines et al., 1998). En culture, au contraire, l'expression est beaucoup plus faible mais est restaurée en conditions inflammatoires (Vora et al., 1994). Ainsi, il a été démontré que ces cellules sont capables d'apprêter des antigènes tels que Derp 1 et des les présenter à des clones T CD4<sup>+</sup> spécifiques (Vora et al., 1994).

## ENCADRE 4 : LES DIFFERENTES VOIES D'ENDOCYTOSE



### ☒ Capture non spécifique : la macropinocytose

Ce mécanisme est une endocytose en phase fluide dépendante du cytosquelette. Elle s'accompagne de la formation de larges vésicules (1 à 3 µm) permettant l'ingestion de composés solubles ou particuliers de manière non sélective. Ce processus est constitutif dans certaines DC.

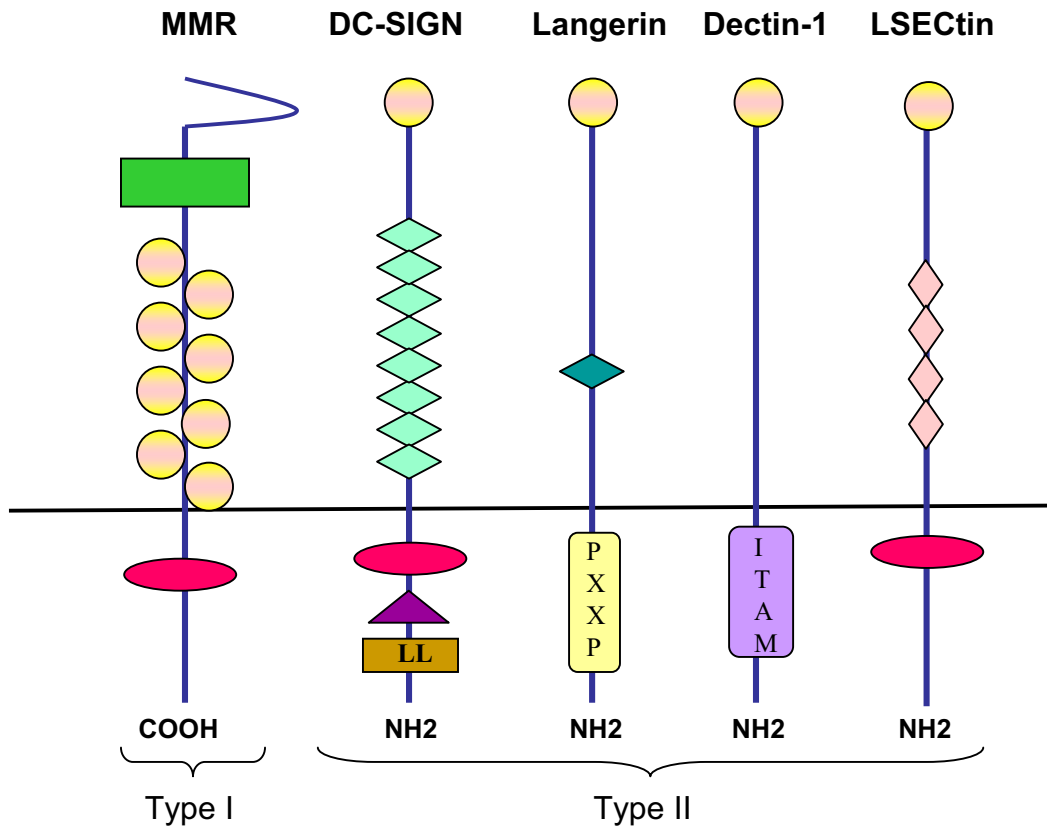
### ☒ Capture spécifique : la phagocytose et l'endocytose

#### - La phagocytose

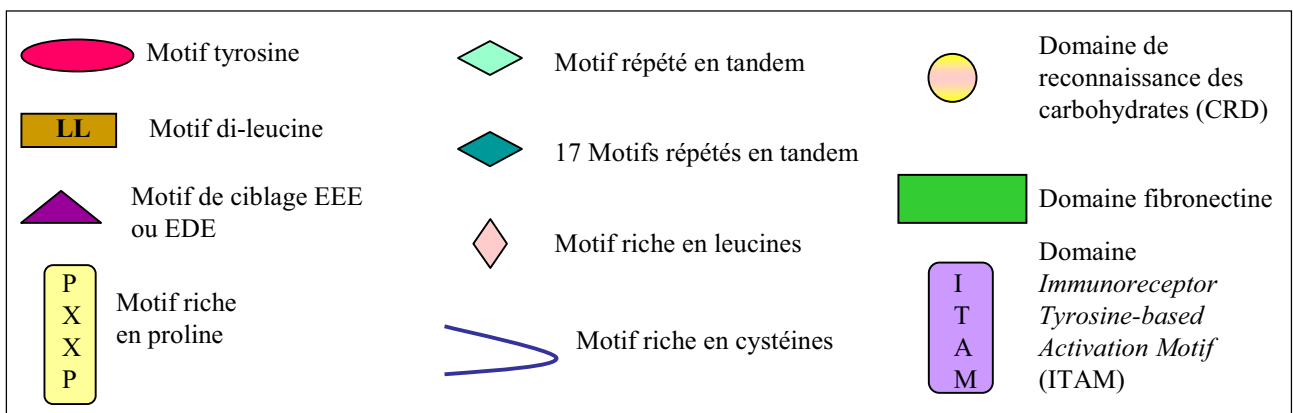
Le processus de phagocytose a été décrit par Metchnikoff en 1905 et permet l'ingestion de particules de taille importante (supérieure à 0,5 µm) telles que des agents infectieux ou des corps apoptotiques. L'internalisation de la particule commence par l'engagement de récepteurs ce qui entraîne un signal intracellulaire nécessaire au recrutement de l'actine. Ce processus peut se produire par enfoncement, en fermeture Eclair® ou en hélice. Cela aboutit à la formation d'une vésicule nommée vacuole ou phagosome. Celle-ci fusionne ensuite avec des compartiments intracellulaires tels que des lysosomes dans lesquelles la particule est dégradée.

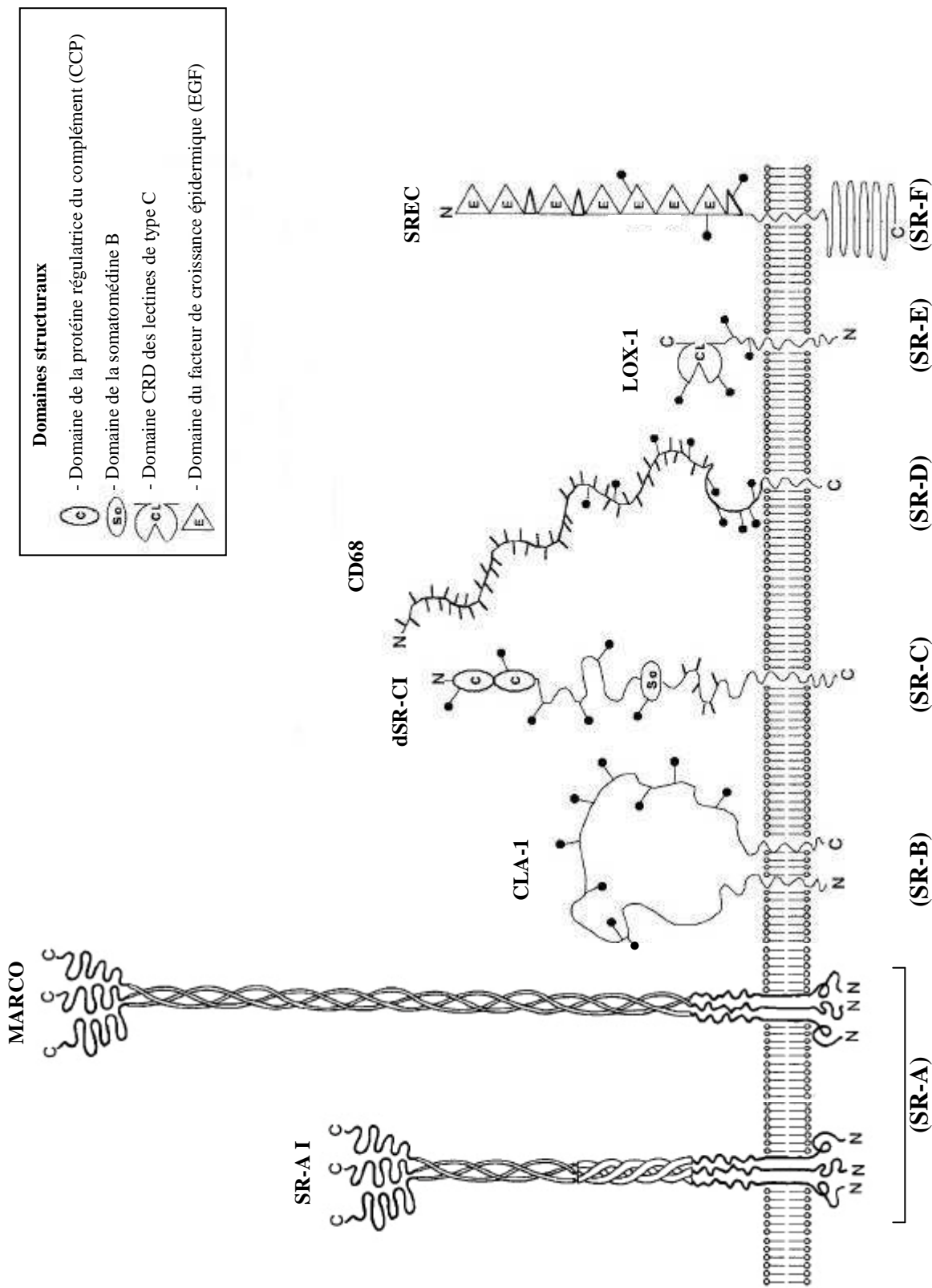
#### - L'endocytose dépendante de la clathrine

Cette endocytose médiée par récepteur permet l'ingestion sélective de petites particules. Elle est réalisée par des puits recouverts de clathrine. Elle nécessite aussi le recrutement de protéines adaptatrices permettant une cascade d'évènements indispensables à l'invagination, à la fission de la membrane et au ciblage des vésicules vers les endosomes et lysosomes. Les récepteurs sont, quant à eux, recyclés vers la membrane plasmique. La formation des puits recouverts nécessite trois classes majeures de protéines : la clathrine, les molécules adaptatrices fixant les récepteurs transmembranaires et des protéines associées.



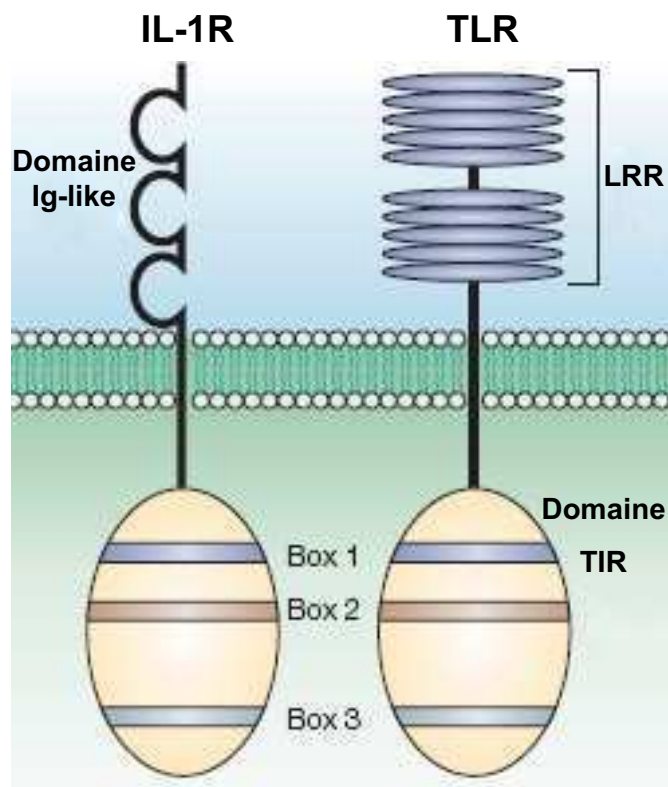
**Figure 5 :** Représentation schématique de différentes lectines de type C  
 (D'après Figdor et coll., Nature Review Immunology 2002)





**Figure 6 :** Représentation schématique des différentes familles des récepteurs *scavengers* (SR)

(D'après Gough et Gordon, Microbes and Infection 2000)



**Figure 7:** Représentation schématique de la structure d'un TLR comparativement au récepteur de l'interleukine 1  
(D'après Akira et coll., Nature Review Immunology 2004)

	mDC	pDC	MoDC
<b>TLR1</b>	++	+	++
<b>TLR2</b>	++	-	++
<b>TLR3</b>	++	-	++
<b>TLR4</b>	±	-	++
<b>TLR5</b>	+	-	+
<b>TLR6</b>	+	+	++
<b>TLR7</b>	-	++	-
<b>TLR8</b>	++	-	++
<b>TLR9</b>	-	++	-
<b>TLR10</b>	+	+	

**Figure 8 :** Expression des TLR par différentes populations de cellules dendritiques humaines

(D'après Iwasaki et Medzhitov, Nature Immunology 2004)

mDC: DC myéloïdes; pDC: DC plasmacytoïdes; MoDC: DC dérivées de monocytes

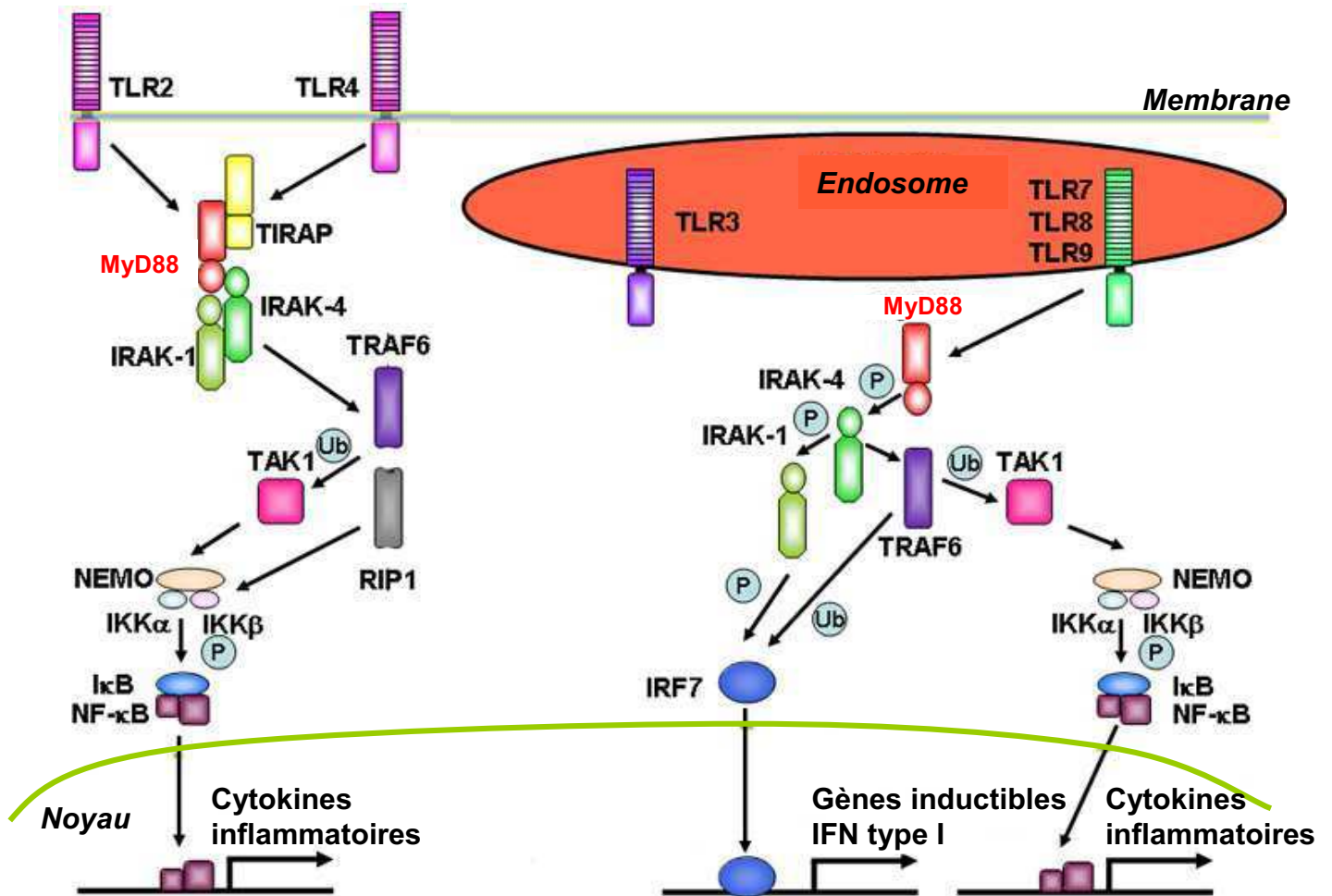


TLR	Ligands	Origine
<b>TLR1/2</b>	Lipoprotéines tri-acétylées (Pam3Cys)	Bactéries et mycobactéries
<b>TLR2</b>	Lipoarabinomannane	Mycobactéries
	Lipopolysaccharides (LPS) atypiques	<i>Legionella pneumophila</i> , <i>Leptospira interrogans</i>
	Porines	<i>Neisseria</i>
	Phospholipomannane	<i>Candida albicans</i>
	Mucines glycosylphosphatidylinositol (t-GPI-mucin)	<i>Trypanosoma</i>
	Hémagglutinine	Virus de la rougeole
<b>TLR2/6</b>	Lipoprotéines di-acétylées	<i>Mycoplasma fermentans</i>
	Acide lipotéichoïque	<i>Streptocoques</i>
	Peptidoglycane	Bactéries Gram+
	Zymozan	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<b>TLR3</b>	ARN double brin	Virus à ARN et ADN
	ARN double brin	<i>Schistosoma mansoni</i>
	Poly (IC)	ARN double brin synthétique
	ARN messagers	Endogène
<b>TLR4</b>	LPS	Bactéries Gram-
	Phospholipides glycoinositol (GIPL)	<i>Trypasonoma</i>
	Protéines de fusion	Virus respiratoire syncytial
	Protéines d'enveloppe	Virus murin tumoral mammaire
	Protéines de choc thermique hsp60 et hsp70	Endogène
	Héparane sulfate, acide hyaluronique	Endogène
<b>TLR5</b>	Flagelline	Bactéries flagellées
<b>TLR7</b>	ARN simple brin	Virus à ARN
	Imidazoquinolines (R-848, Imiquimod)	Synthétique
	Loxoribine	Synthétique
	ARN interférents	Synthétique
	Ribonucléoprotéines riches en U	Endogène
<b>TLR8</b>	ARN simple brin	Virus à ARN
	R848	Synthétique
<b>TLR9</b>	ADN motifs CpG non méthylés	Bactéries
	ADN motifs CpG non méthylés	Virus à ADN
	?	<i>Leishmania donovani</i> , <i>Leishmania major</i>
	Complexes immuns Ig/ADN	Endogène
<b>TLR10</b>	?	?
<b>TLR11</b>	?	Bactéries uropathogènes
	Molécule profilin-like	<i>Toxoplasma gondii</i>
<b>TLR12</b>	?	?
<b>TLR13</b>	?	?

**Figure 9 : Les différents ligands des TLR**

(D'après Akira et coll., Cell 2006)

	Bactéries
	Champignons
	Virus
	Parasites
	Endogène/Hôte

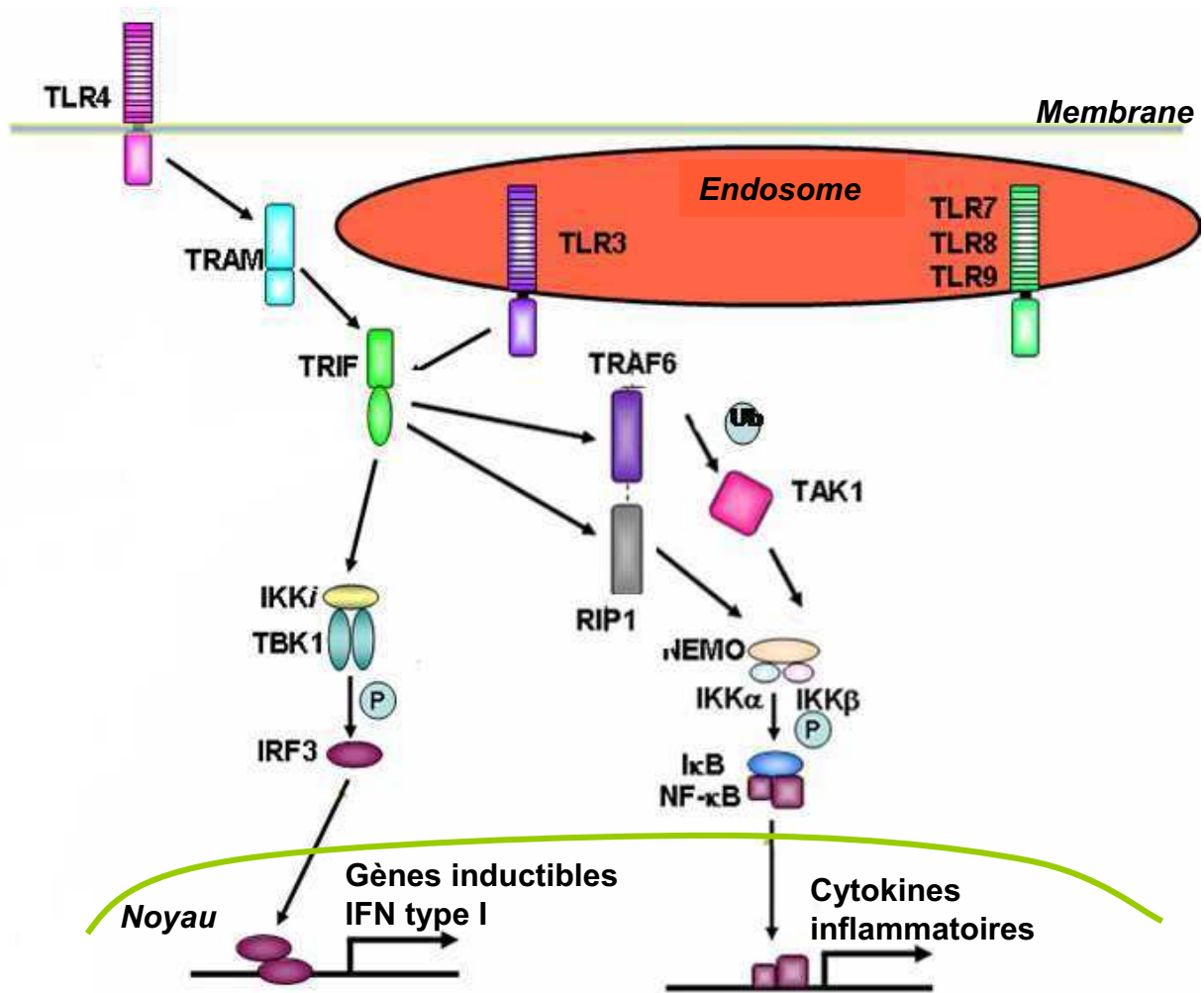


**Figure 10 :** Voies de signalisation MyD88 dépendantes

(D'après [www.biken.osaka-u.ac.jp/act/act\\_akira\\_e.php](http://www.biken.osaka-u.ac.jp/act/act_akira_e.php))

Ub Ubiquitination

P Phosphorylation

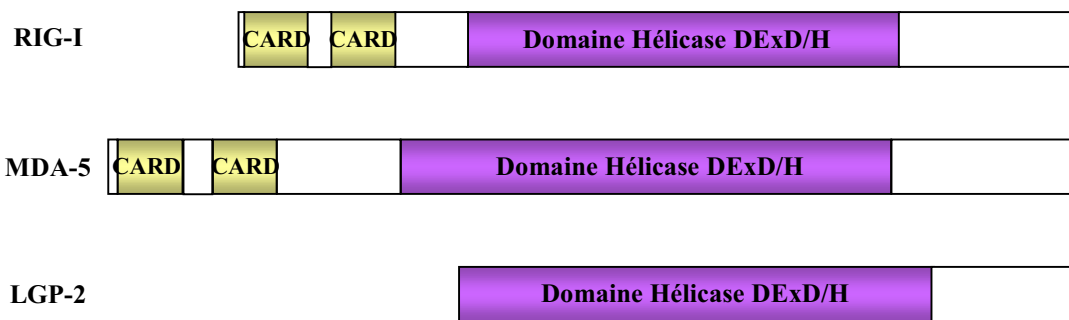


**Figure 11 : Voies de signalisation MyD88 indépendantes**

(D'après [www.biken.osaka-u.ac.jp/act/act\\_akira\\_e.php](http://www.biken.osaka-u.ac.jp/act/act_akira_e.php))

Ub Ubiquitination

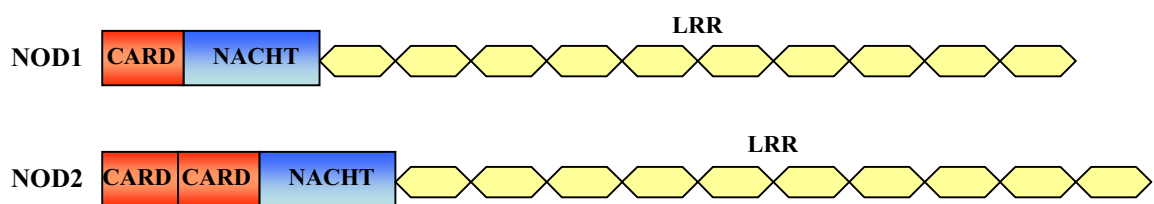
P Phosphorylation



**Figure 12** : Représentation schématique de la structure des récepteurs *RIG-Like*  
RIG-I, MDA-5 et LGP-2

(D'après Yoneyama et coll., Journal of Immunology 2005)

CARD = *Caspase recruiting domain*



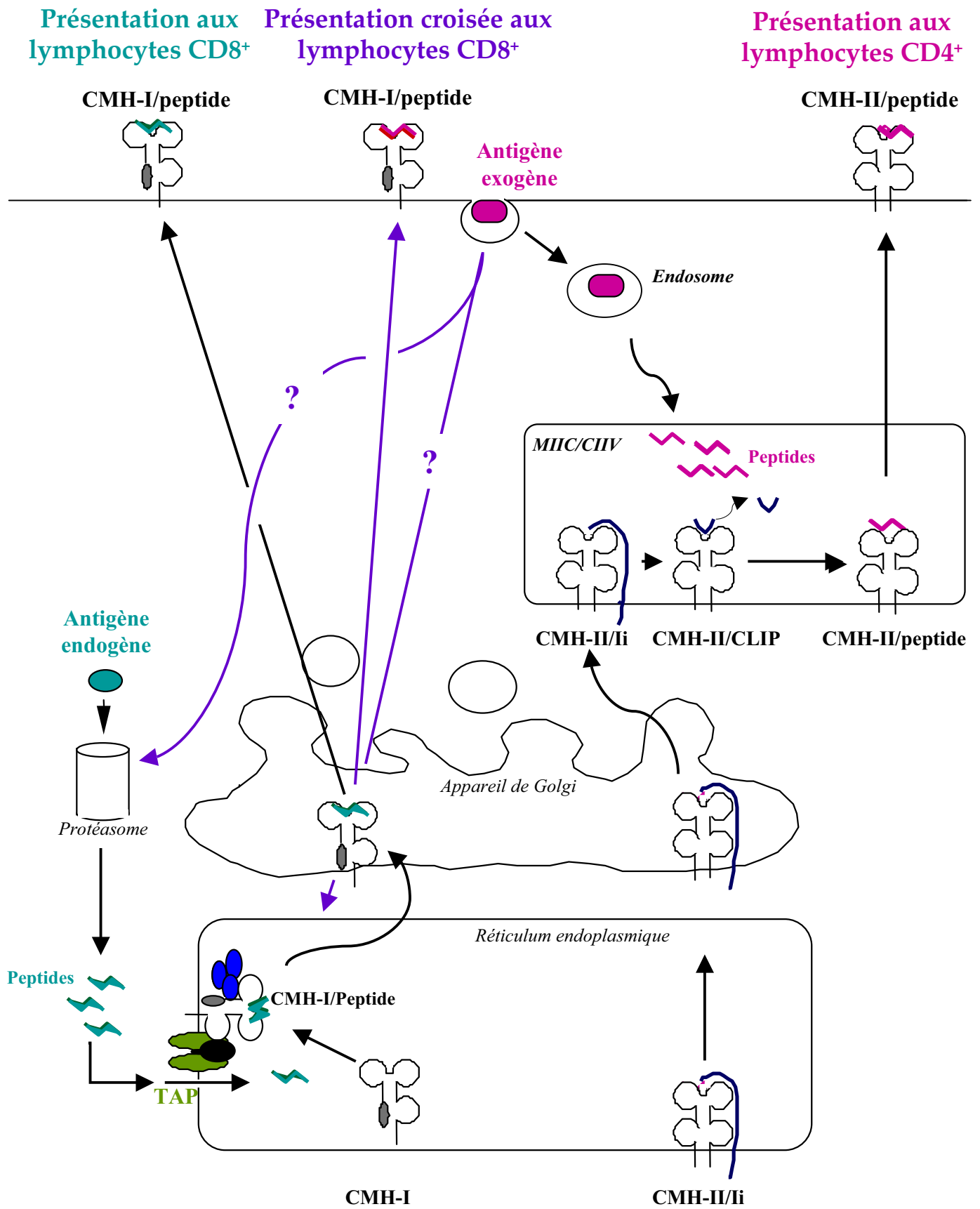
**Figure 13 : Représentation schématique de la structure des récepteurs NOD1 et NOD2**

(D'après Fritz et coll., Nature Immunology 2006)

CARD = *Caspase recruiting domain*

NACHT = représente les domaines présents dans Naip, CIITA, HET-E, TP-1

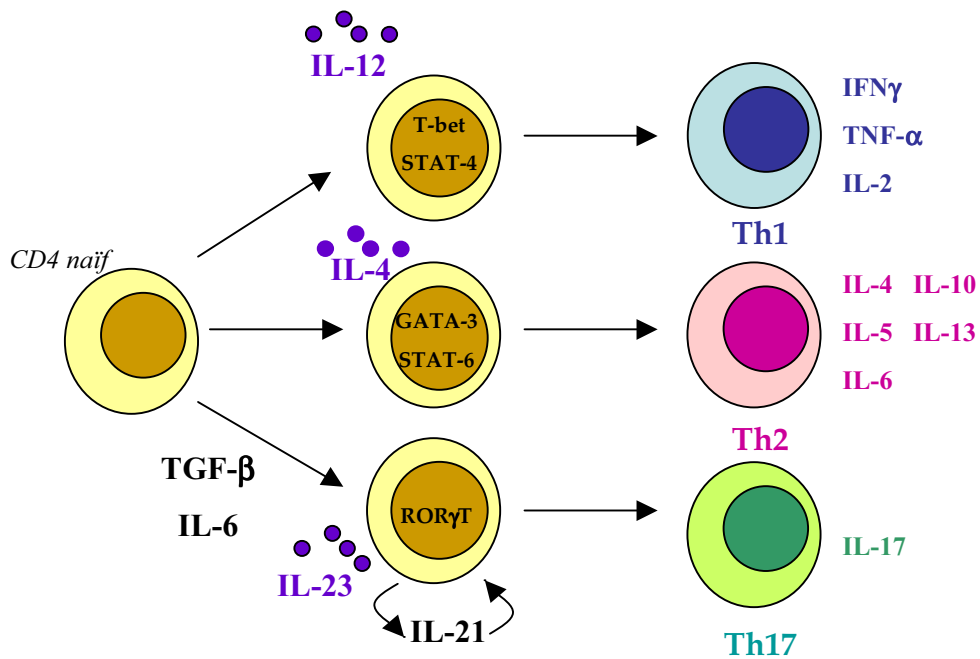
LRR = *Leucine Rich Repeat*



**Figure 14 : Voies de présentation antigénique de classe I et II**

Les flèches en violet représentent les possibles voies de présentation croisée.

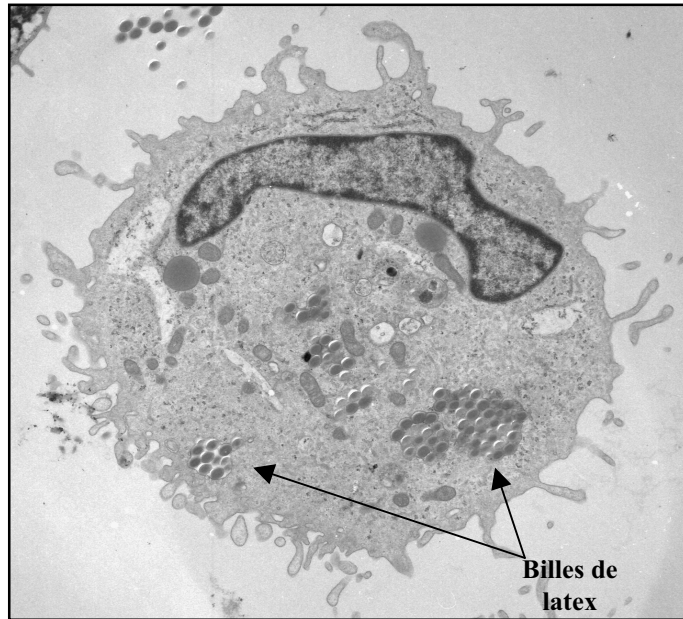
MIIC= Compartiment de classe II; CIIV= vésicule de classe II



**Figure 15 : Voies de différenciation des T *helpers* Th1, Th2 et Th17**

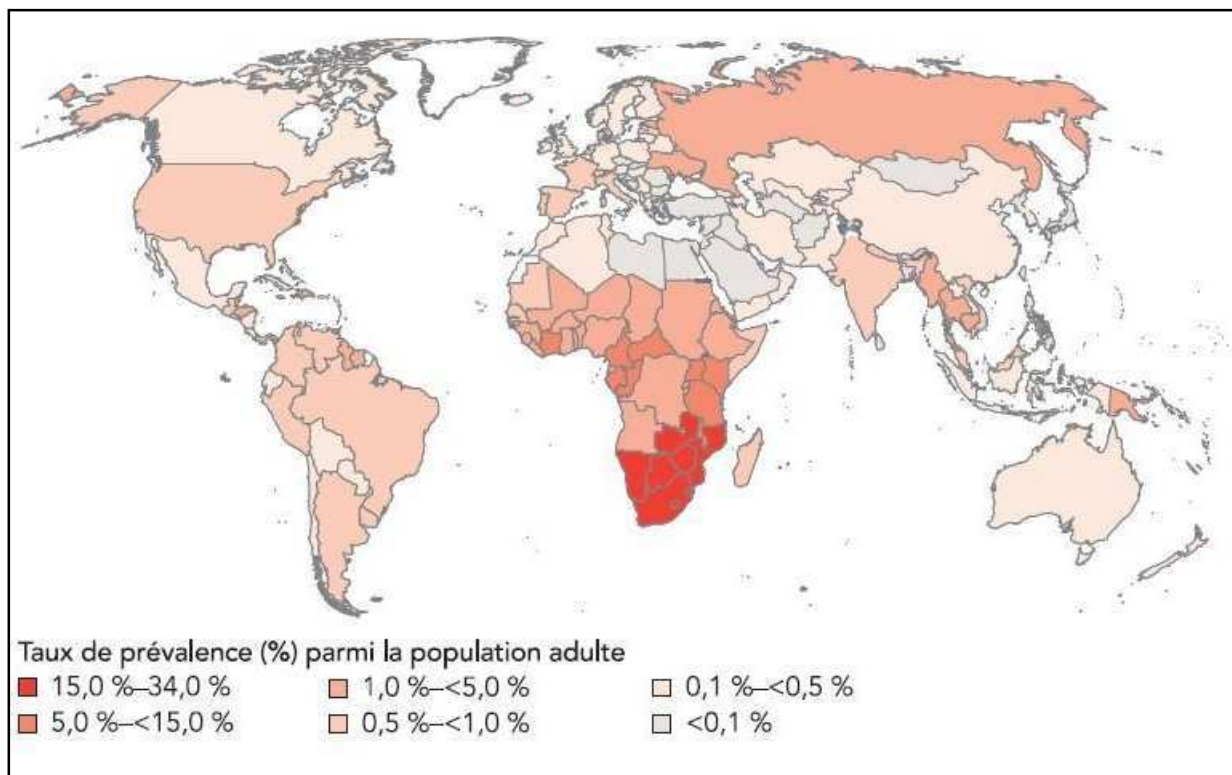
(D'après L. Steinman Nature Medecine 2007, C.Dong Nature Review Immunology 2006)

Dans les noyaux sont indiquées les facteurs de transcription spécifiques à chaque voie de différenciation.

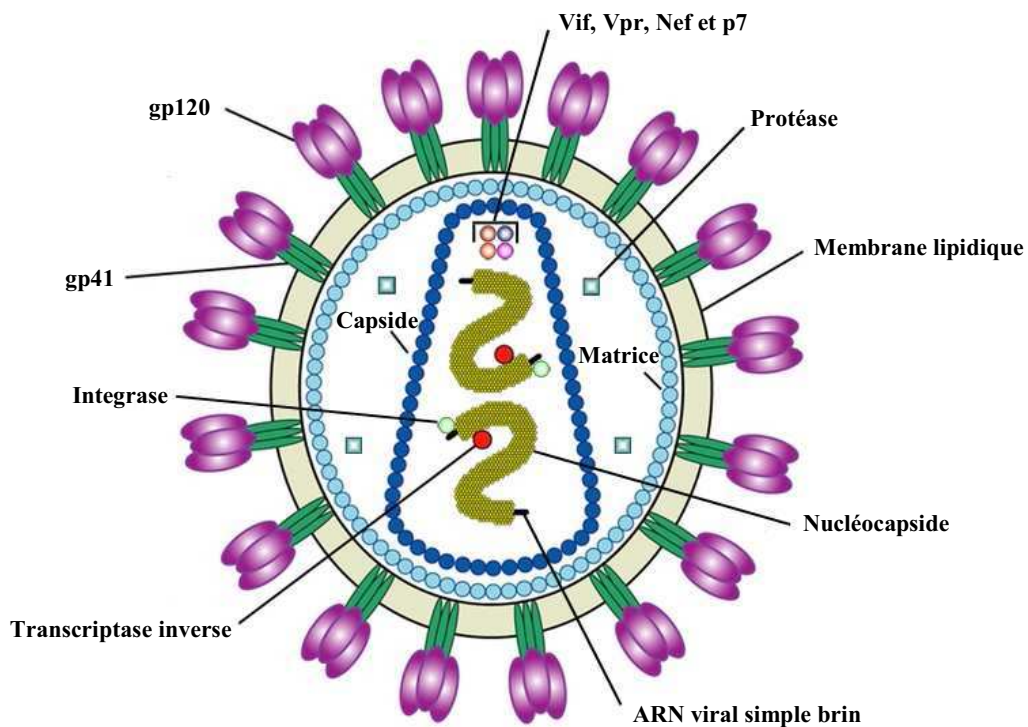


**Figure 16** : Cellule de Langerhans ayant phagocyté des billes de latex  
(Photo Colette Dezutter-Dambuyant)

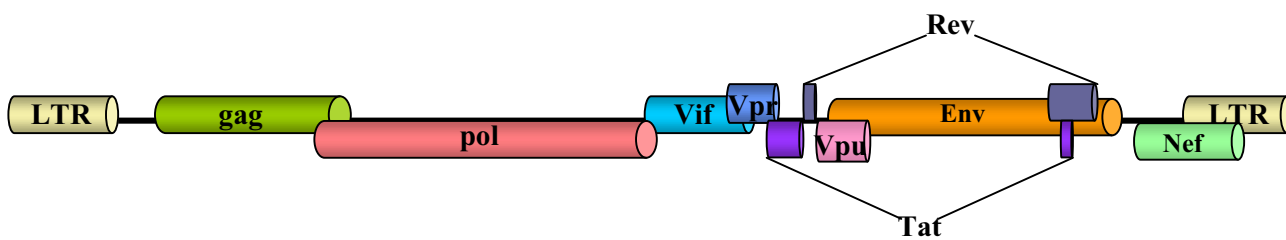




**Figure 17 : Répartition mondiale de l'infection au VIH en 2005**  
 (d'après le rapport sur l'épidémie mondiale de SIDA 2006, [www.unaids.org](http://www.unaids.org))



**Figure 18:** Structure de la particule du VIH-1  
(modifiée d'après [www.niaid.nih.gov](http://www.niaid.nih.gov))



**Figure 19:** Représentation schématique de l'organisation génomique du VIH-1

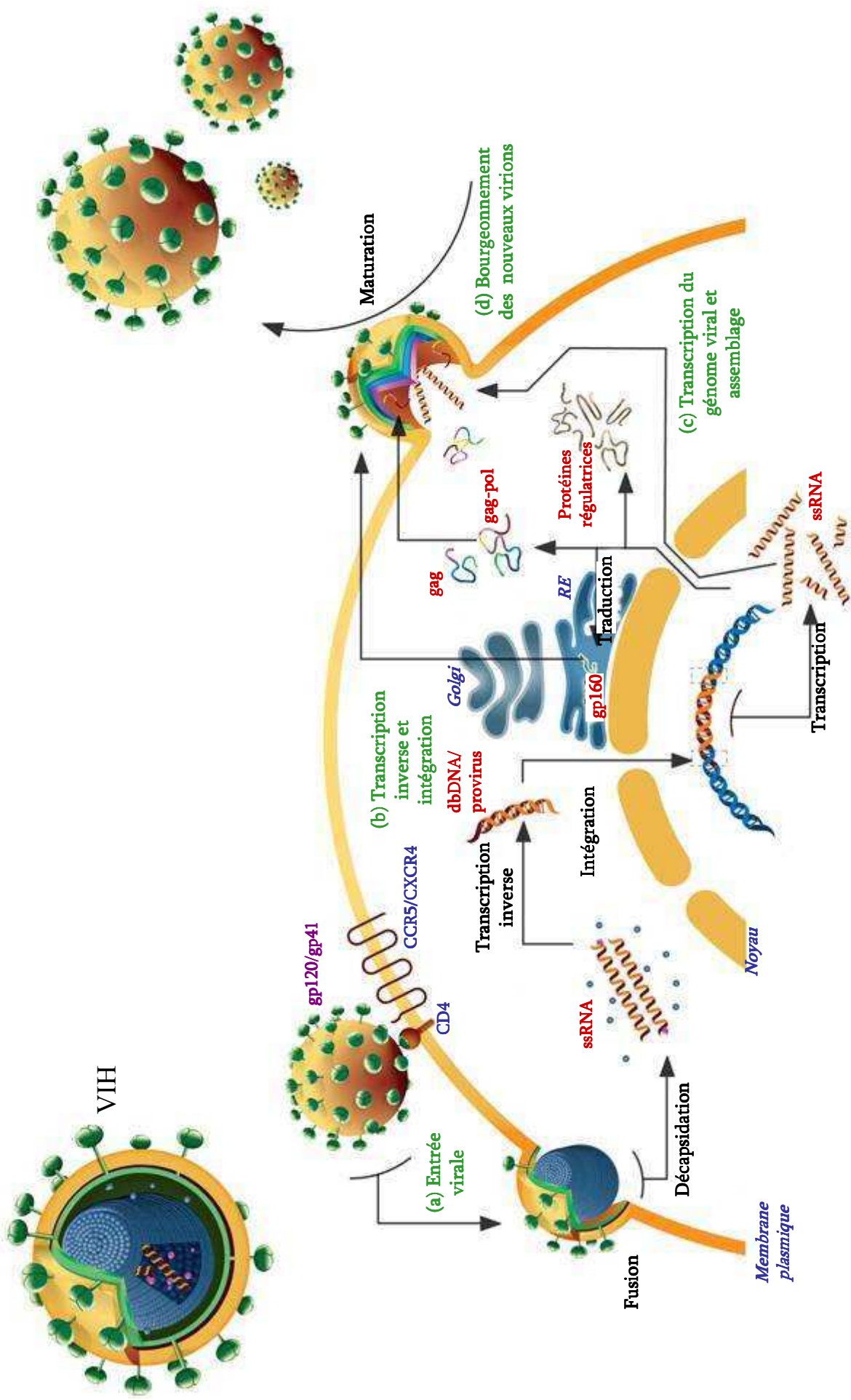
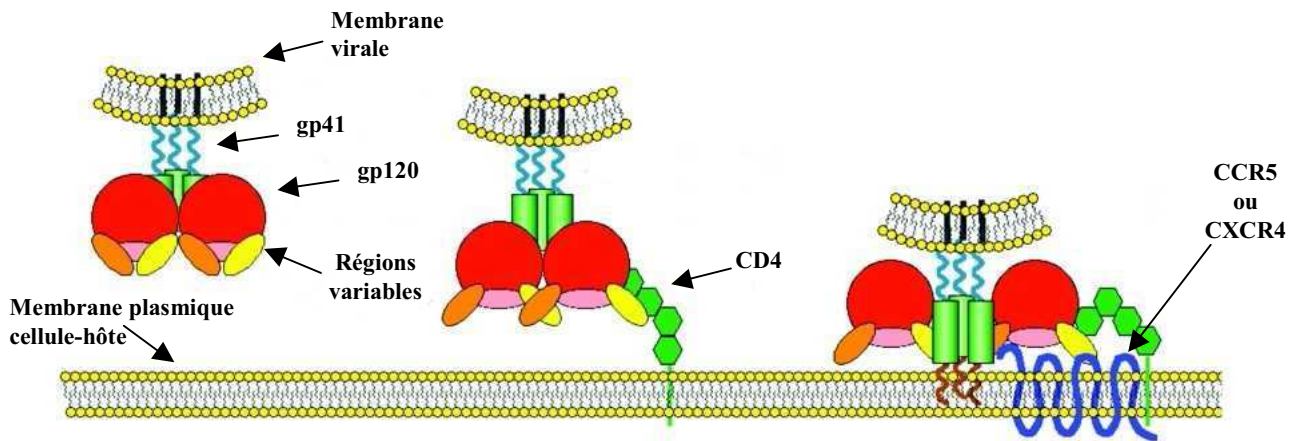
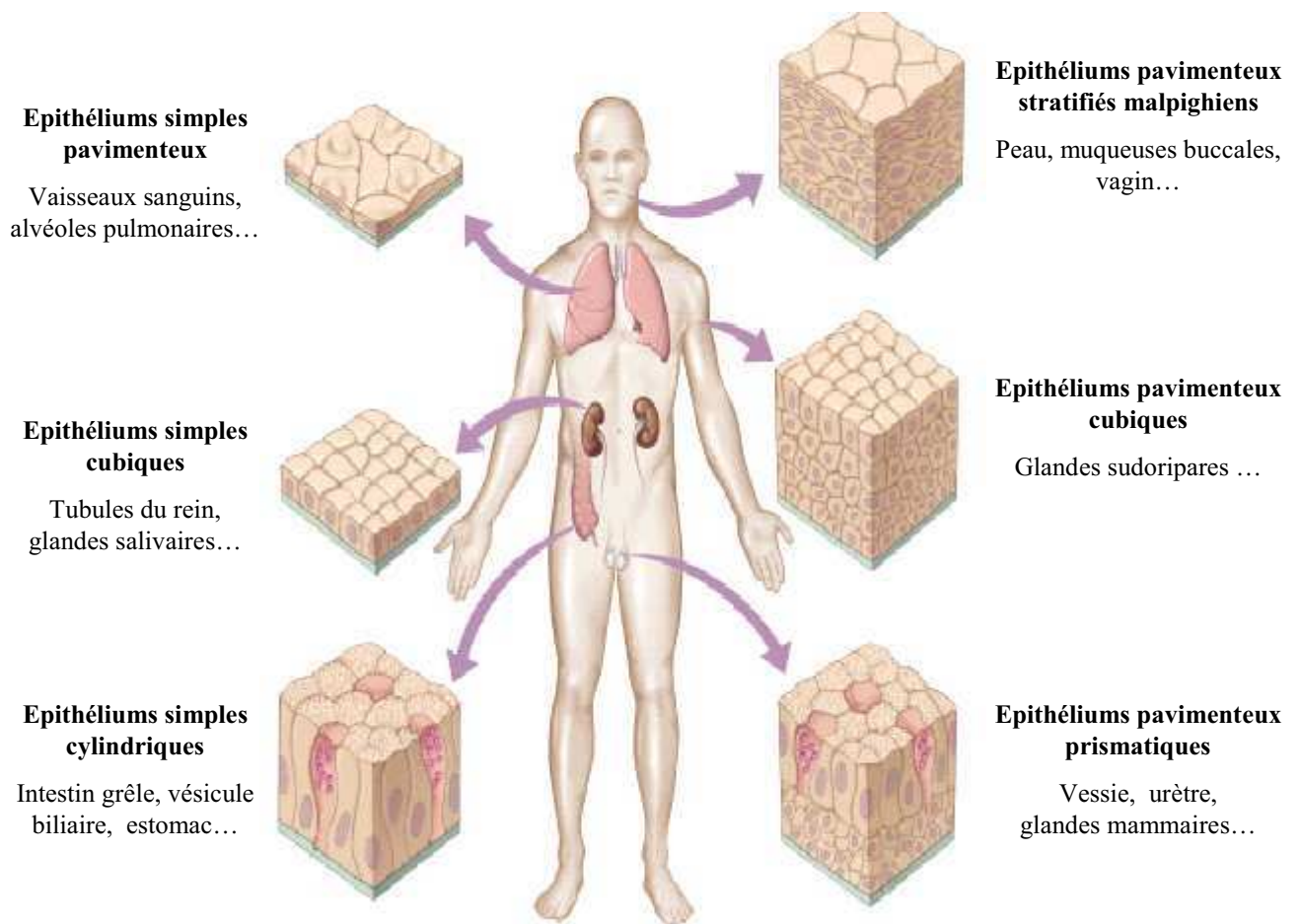


Figure 20 : Représentation schématique du cycle du VIH-1  
(modifiée d'après [www.tibotec.com](http://www.tibotec.com))

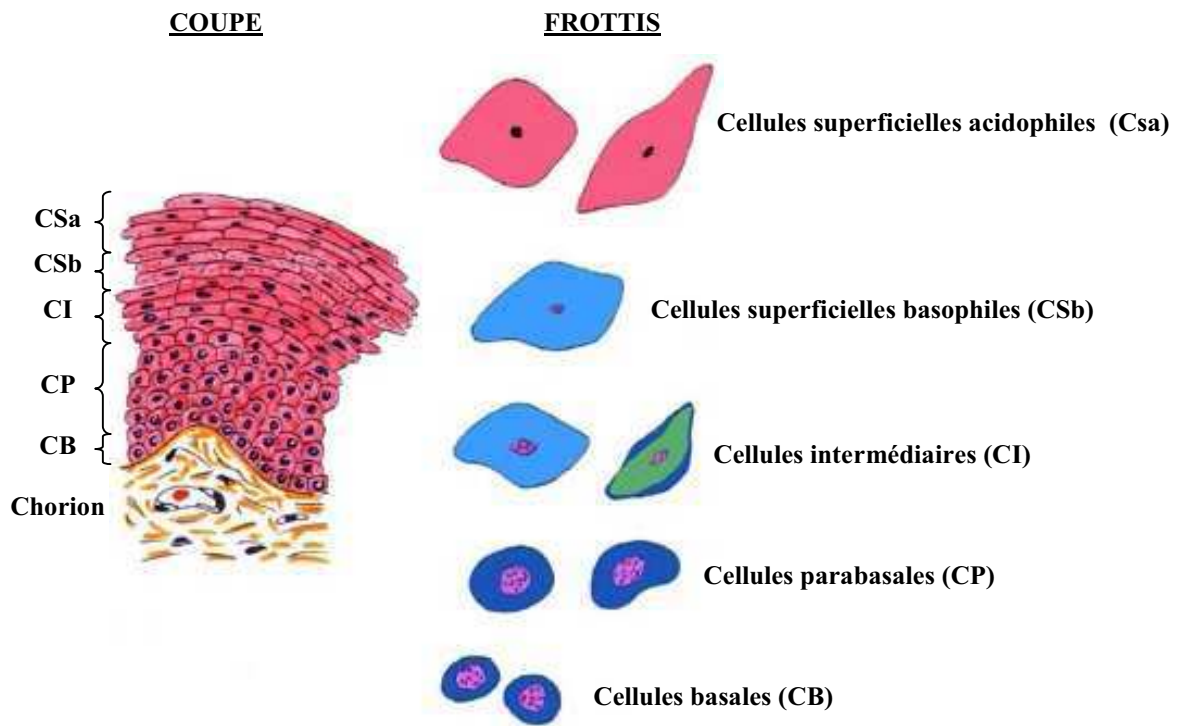


**Figure 21:** Représentation schématique de la reconnaissance et de l'entrée du VIH-1

(d'après Moore et Doms, PNAS 2003)



**Figure 22: Les différents types d'épithéliums chez l'homme**  
(D'après thèse Sandy Dumont N°251-2004 Université Claude Bernard Lyon 1)



**Figure 23: Représentation schématique de la structure de l'épithélium vaginal**  
 (D'après thèse Sandy Dumont N°251-2004 Université Claude Bernard Lyon 1)

## ENCADRE 5 : LES MODELES DE PEAUX RECONSTRUITES *IN VITRO*

### Epidermes reconstruits

Le premier modèle d'épiderme différencié reconstruit *in vitro* a été mis au point par Prunieras et coll. (Prunieras et al., 1983) puis repris par L'Oréal (Regnier et al., 1986). Dans ce modèle, les kératinocytes sont cultivés sur un **support biologique acellulaire**. Un derme mort désépidermisé (DED, *Dead de-Epidermized Dermis*), qui permet de conserver un grand nombre de composants de la jonction dermo-épidermique (JDE) et ainsi d'obtenir une différenciation épidermique poussée.

Le modèle commercialisé par SkinEthic, appartenant au groupe Episkin de L'Oréal, est obtenu par culture de kératinocytes sur un **support synthétique** de type membrane de polycarbonate (Rosdy and Clauss, 1990). D'autres épidermes reconstruits utilisant ce principe ont également été développés : EpiDerm™ de la société MatTek et Mimetop® de la société BASF Beauty Care.

Enfin, d'autres modèles consistent à recouvrir un support synthétique inerte par un support biologique (gel de collagène) de manière à favoriser l'adhésion, la prolifération et la différenciation kératinocytaire. C'est le cas du modèle Episkin de L'Oréal (Tinois et al., 1991).

Ces modèles peuvent être complétés par l'intégration d'autres types cellulaires tels que des mélanocytes (Todd et al., 1993; Bessou et al., 1995) ou des cellules de Langerhans (Regnier et al., 1997).

### Dermes reconstruits

La première reconstruction dermique développée a été la **lattice de collagène** (Bell et al., 1979). Les fibroblastes sont intégrés dans une matrice de collagène de type I qu'ils remanient en la contractant. La lattice se rétracte et forme ainsi un derme équivalent.

Les **éponges de collagène** sont des biopolymères à base de collagène dans lesquels les phénomènes de rétraction ne sont pas observés. Le modèle de la Banque de Tissu et de Cellules du Dr. Damour est composé de collagène de type I et III, de chondroïtine-4-sulfate et de chondroïtine-6-sulfate ainsi que de chitosan (Shahabeddin et al., 1990). Ce support est commercialisé par BASF Beauty Care sous le nom de Mimedisk®. Après ensemencement, les fibroblastes vont remanier l'éponge et produire de la Matrice Extra Cellulaire (MEC) pour donner un équivalent dermique, Mimederm® (Berthod and Damour, 1997).

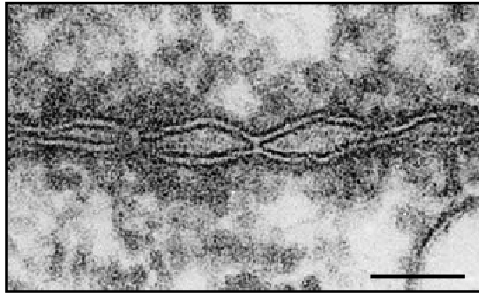
Enfin, seuls quelques modèles consistent à laisser les fibroblastes néo-synthétiser la MEC sans support matriciel pré-existant. Ces modèles sont basés sur l'utilisation de l'acide ascorbique pour favoriser la prolifération des fibroblastes et la production de MEC (Phillips et al., 1994; Michel et al., 1999).

Ces dermes équivalents peuvent être endothélialisés par l'ajout de cellules endothéliales ombilicales dans des lattices (Hudon et al., 2003) ou des éponges de collagène (Tremblay et al., 2005), mais également rendus immunocompétents par l'intégration de DC (Dumont et al., 2004; Guironnet et al., 2001).

### Peaux reconstruites

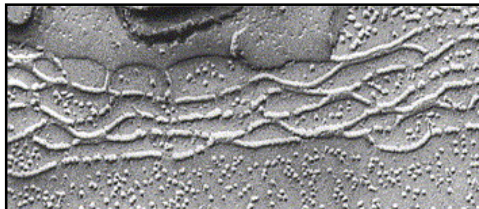
La plupart des modèles de dermes reconstruits cités précédemment ont été utilisés comme substrats dermiques pour l'élaboration de peaux reconstruites entières. Ainsi, ces modèles peuvent être réalisés en ensemencant des kératinocytes à la surface de lattices de collagène (Bell et al., 1981; Prunieras et al., 1983; Pigeon and Asselineau, 2005), mais également sur une éponge de collagène (Black et al., 2005; Saintigny et al., 1993 ; Shahabeddin et al., 1990 ).

Tous ces modèles peuvent être complexifiés par l'ajout de mélanocytes (Nakazawa et al., 1997; Souto et al., 2006 ), de DC (Fransson et al., 1998; Dezutter-Dambuyant et al., 2006) ou de mélanocytes (Black et al., 1998 ; Sahota et al., 2003).

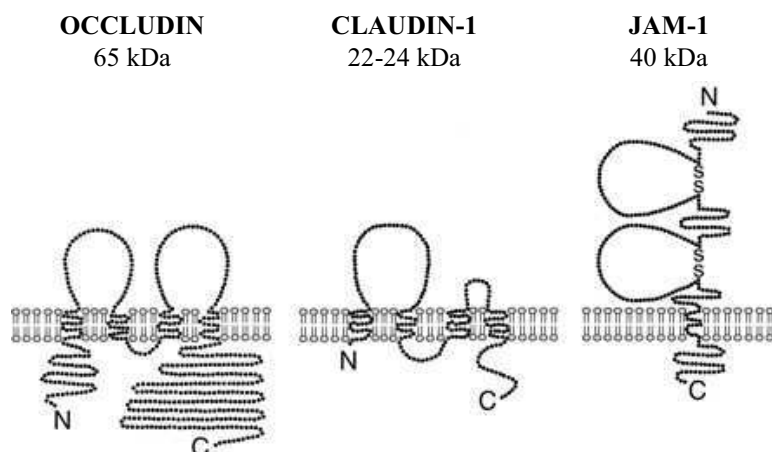


**Figure 24:** Microscopie électronique de l'épididyme de souris  
(d'après Furuse et Tsukita, Trends in Cell biology 2006)

Echelle: 100 nm



**Figure 25:** Cryofracture d'un épithélium de rein de souris  
(d'après Furuse et Tsukita, Trends in Cell biology 2006)



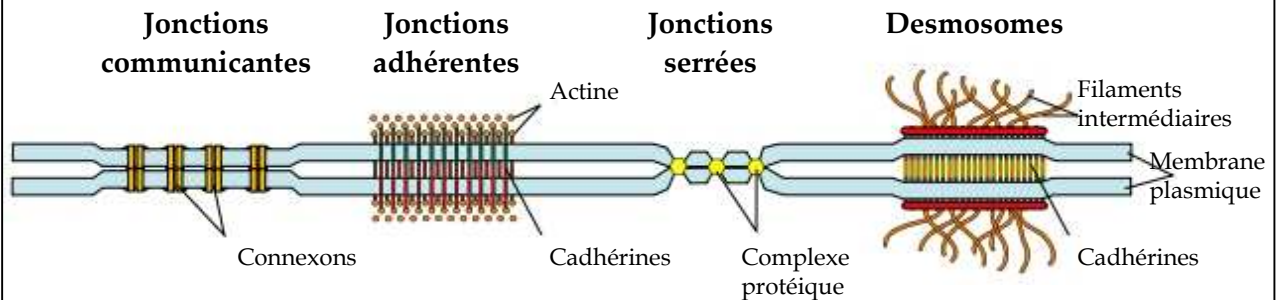
**Figure 26:** Représentation schématique de la structure de l'Occludin, de Claudin-1 et de JAM-1

(d'après Schneeberger and Lynch, Am J Physiol Cell Physiol 2004)



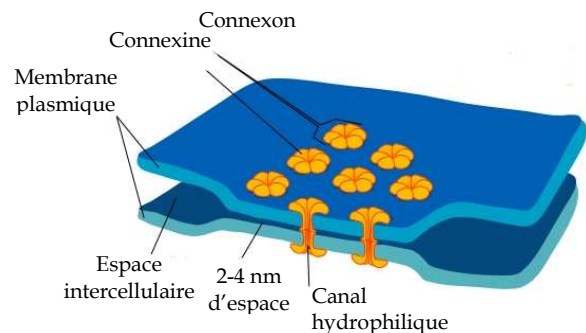
## ENCADRE 6 : LES JONCTIONS INTERCELLULAIRES

Les jonctions intercellulaires permettent d'assurer la cohésion d'un tissu tout en permettant la communication cellulaire.



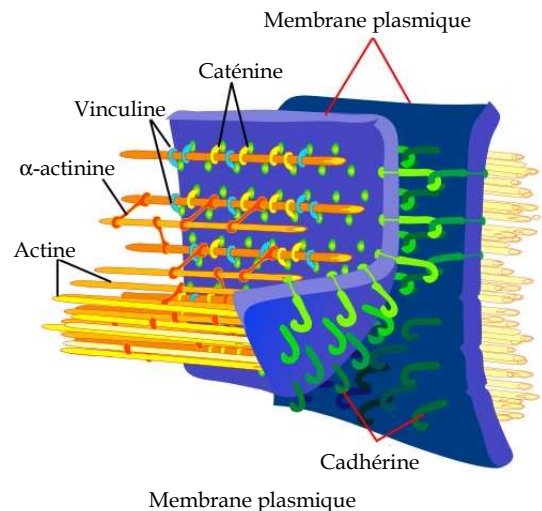
### Les jonctions communicantes ou jonctions Gap

Ce sont des canaux qui mettent en communication le cytoplasme de 2 cellules. Les canaux sont formés de 2 connexons. Chaque connexon est constitué par un hexamère de 6 protéines transmembranaires, les connexines. A travers ce canal de 2 nm de diamètre, toutes les molécules solubles dans l'eau peuvent traverser.



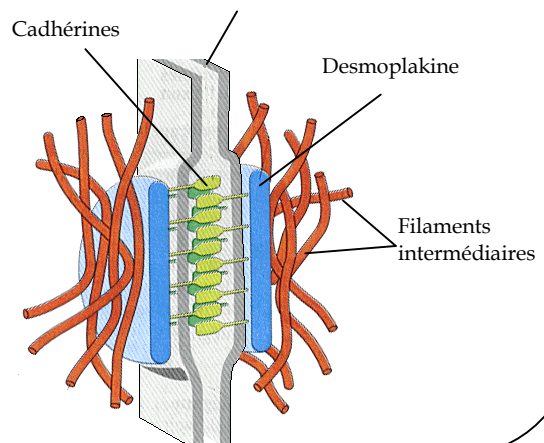
### Les jonctions adhérentes

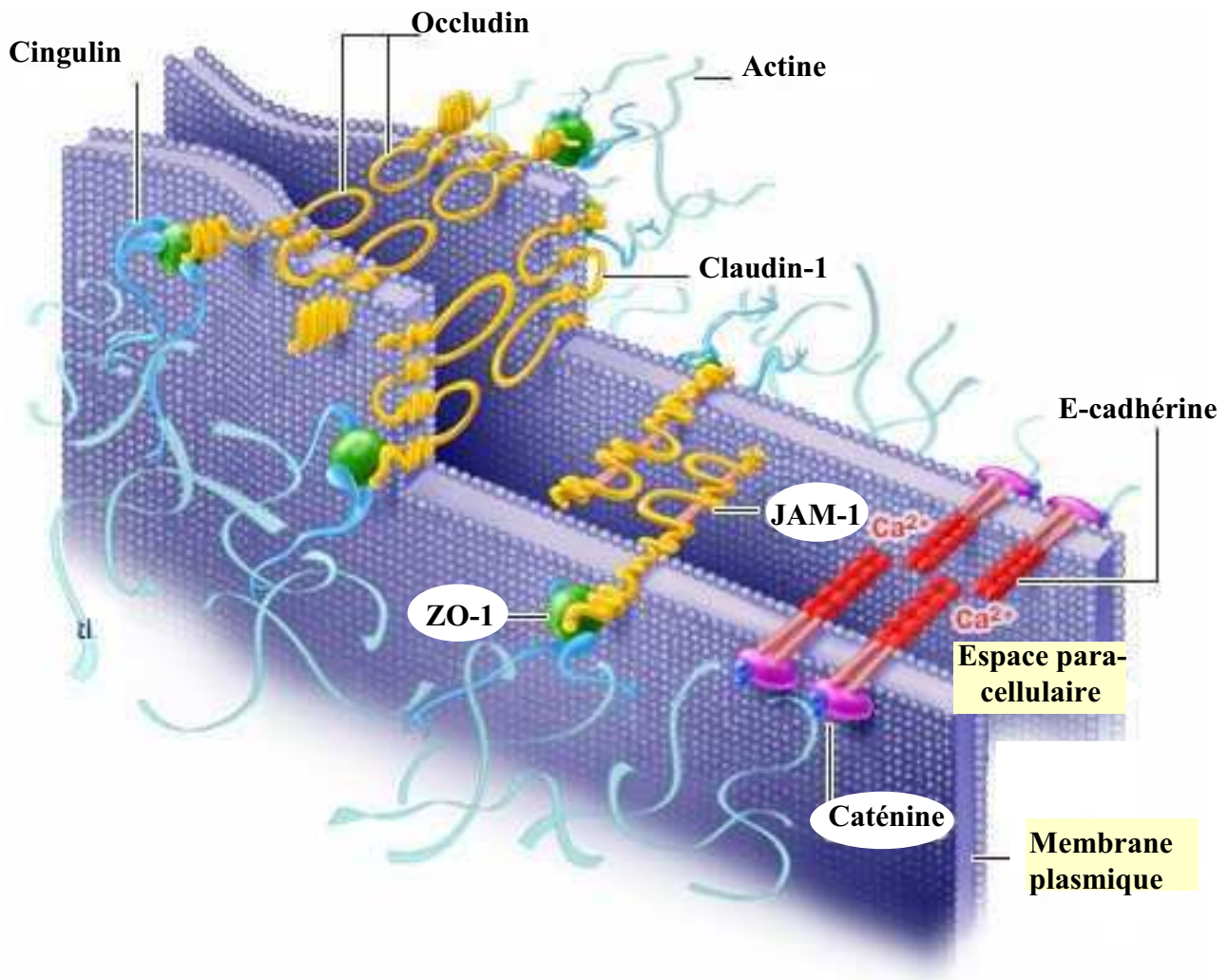
Les jonctions adhérentes sont formées de cadhérines, dont la E-cadhérine, qui s'associe avec des filaments d'actine *via* d'autres protéines de liaison à l'actine telles que la vinculine ou l' $\alpha$ -actinine. Les caténines ( $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ ) permettent l'association entre les cadhérines et ces protéines de liaison à l'actine.



### Les desmosomes

Les desmosomes sont des points de contact en forme de bouton pression. Sur chaque membrane cellulaire, une plaque cytoplasmique dense, la desmoplakine, est connectée au cytosquelette, réseau de filaments intermédiaires (kératines par exemple). Les cadhérines desmosomales, les desmoglénines et les desmocollines, fixées à la plaque cytoplasmique, s'associent pour relier les 2 plaques cytoplasmiques.

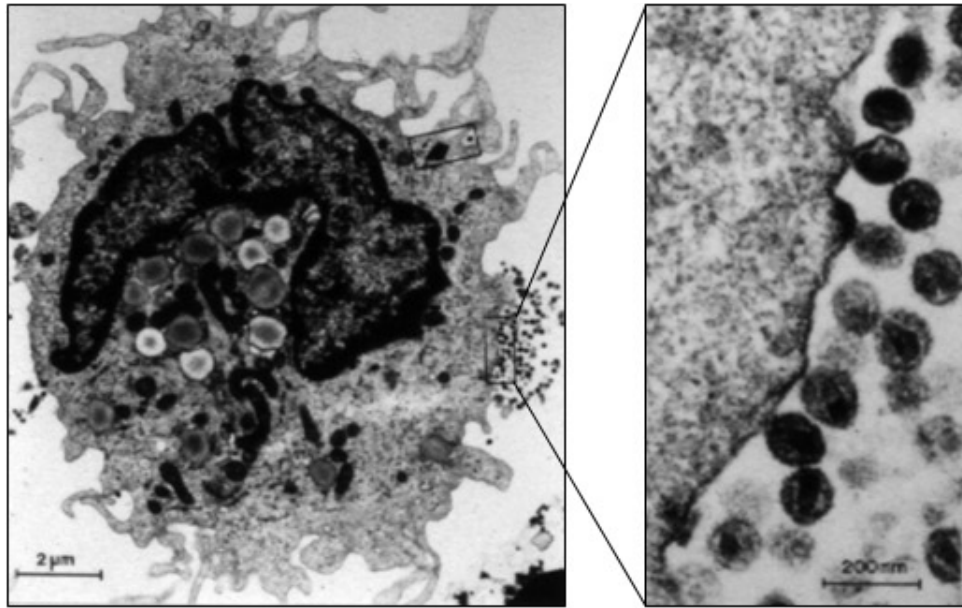




**Figure 27: Représentation schématique de la composition d'une jonction serrée**

(Modifiée d'après Natestch Pharmaceutical Company Inc.)

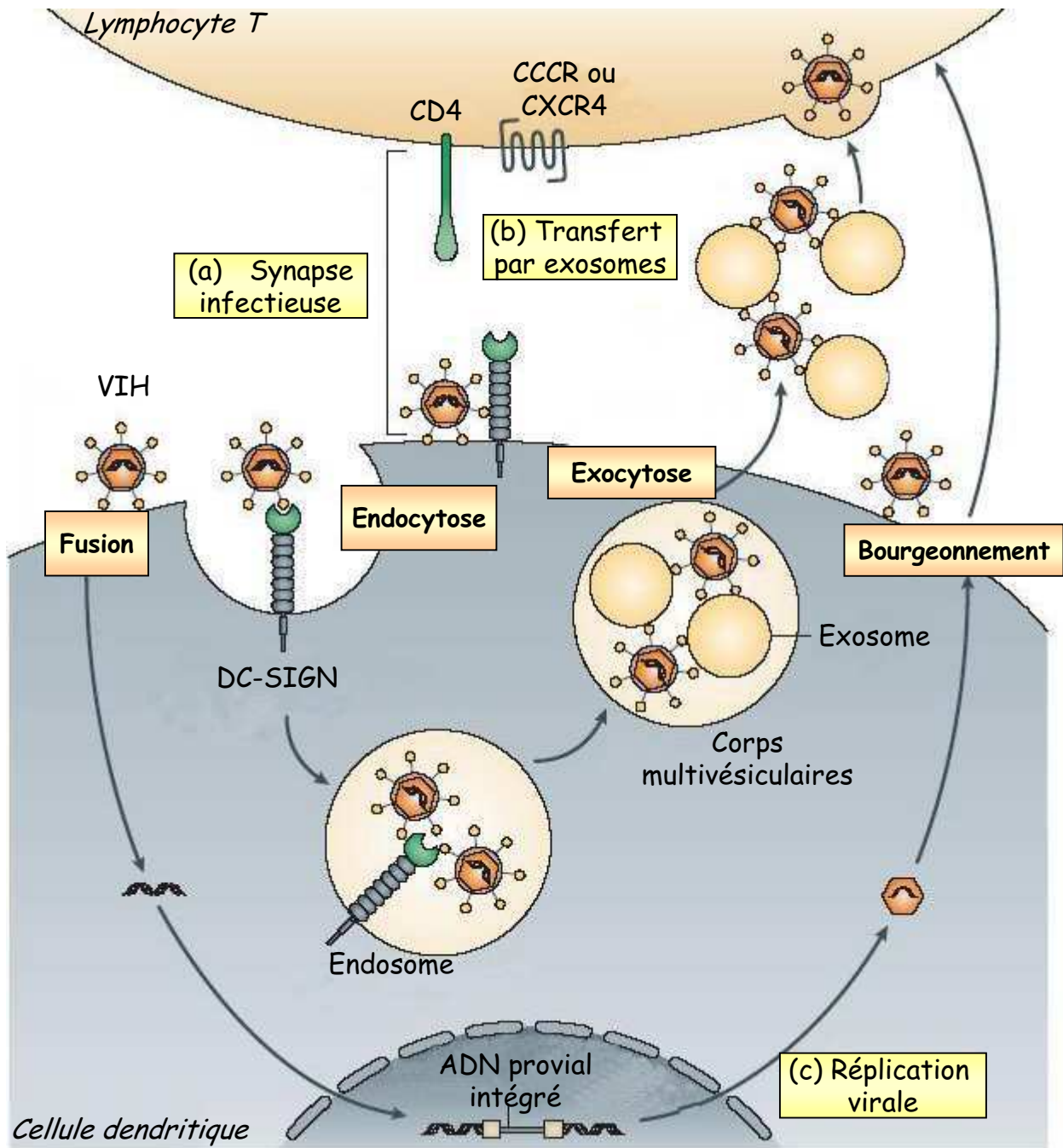
Entre deux cellules, les Occludin, les Claudins et les JAM, protéines transmembranaires, de chaque cellule interagissent entre elles et forment un contact serré. Ces protéines membranaires interagissent également avec des protéines cytoplasmiques telles que ZO-I et Cingulin, connectant les jonctions serrées au réseau de filaments du cytosquelette mais aussi à d'autres protéines cytosoliques telles que des facteurs de transcription permettant de moduler l'expression des protéines des jonctions serrées.



**Figure 28: Relarguage de virions par une cellule de Langerhans infectée par le VIH en microscopie électronique**

(Photo Colette Dezutter-Dambuyant)

Cellule de Langerhans fraîchement isolée infectée par le VIH et relarguant au bout de 4 jours des particules virales. Les virions néosynthétisés bourgeonnent à un pôle de la membrane plasmique.

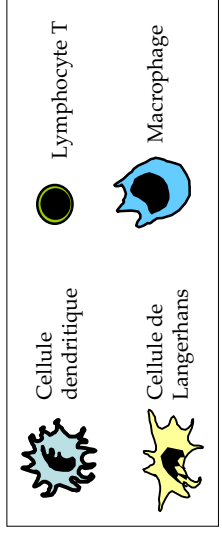
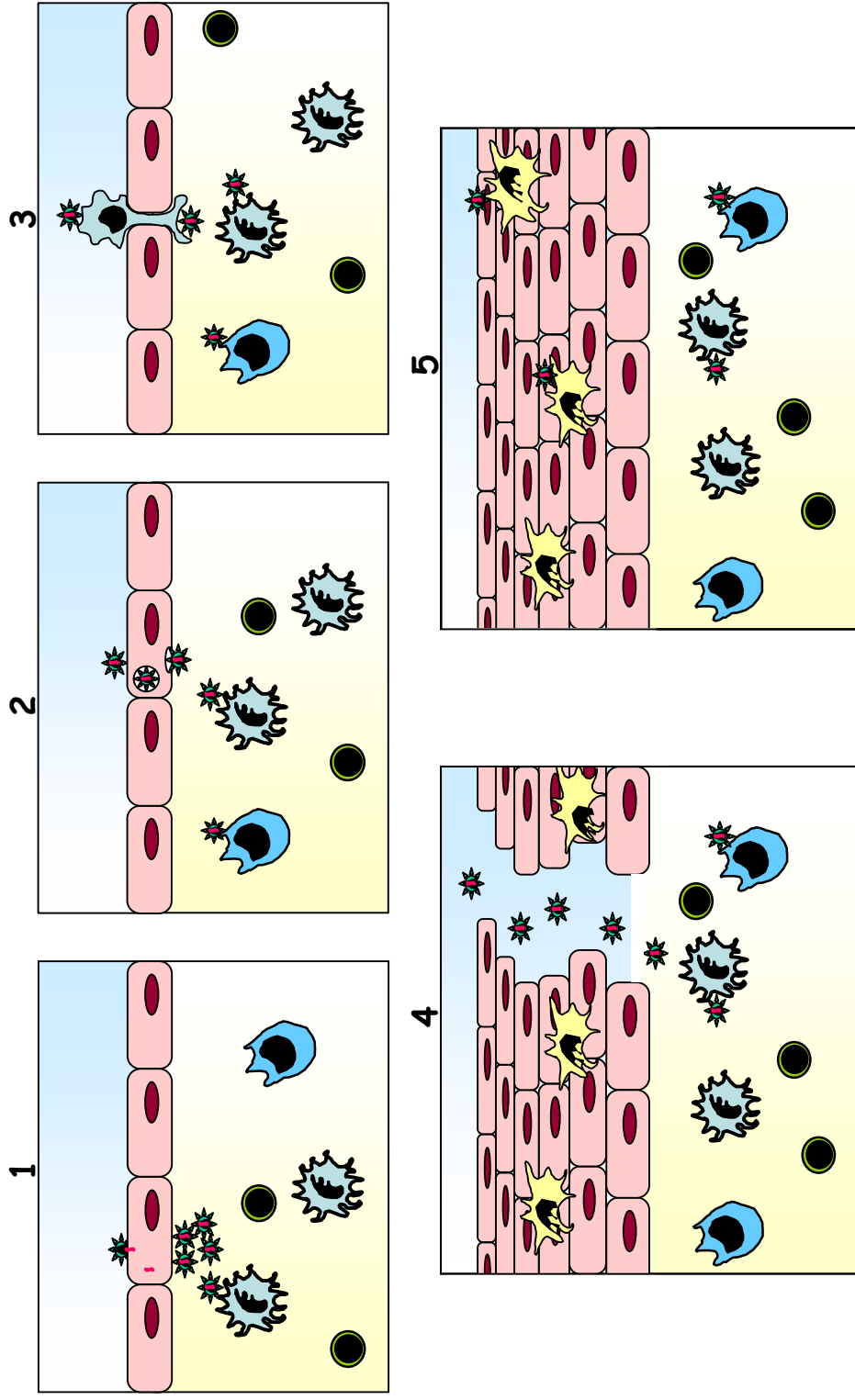


**Figure 29: Mécanismes de transmission du VIH des cellules dendritiques aux lymphocytes T**

(D'après Wu et KewalRamani, Nature Review Immunology 2006)

2 mécanismes de transmission ont été établis:

- **La trans-infection** intervient par deux voies différentes:
  - (a) transmission par la synapse infectieuse
  - (b) transmission par des exosomes dans lesquels le virus est associé.
- La **cis-infection** intervient plus tard après l'exposition initiale de la cellule dendritique avec le VIH et résulte en l'infection de celle-ci avec la production *de novo* de virions.



**Figure 30: Mécanismes potentiels de la transmission du VIH à travers les muqueuses**

Cinq grands mécanismes de transmission du VIH à travers les muqueuses sont proposés:

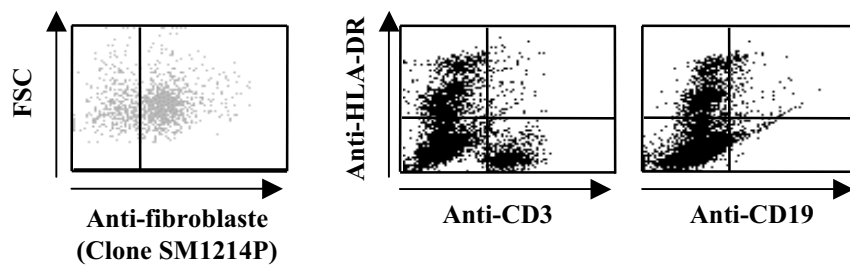
- (1) Infection des cellules épithéliales
- (2) Transcytose à travers les cellules épithéliales
- (3) Transmigration de cellules infectées
- (4) Détérioration de l'intégrité de la muqueuse
- (5) Capture directe par les cellules de Langerhans

Microbicides	Stades de développement
<b>Surfactants</b>	
Nonoxynol-9	Interruption de son usage comme microbicide après échec essais cliniques
Savvy™ (C31G)	Essais cliniques de phase III
Invisible Condom™ (Sodium Lauryl Sulphate)	Essais cliniques de phase I/II
<b>Modificateurs de pH</b>	
Acidform™	Essais cliniques de phase I
Buffergel™	Essais cliniques de phase II/III
<b>Agents polyanioniques</b>	
Ushercell (sulfate de cellulose)	Interruption de son usage comme microbicide après échec essais cliniques
Carraguard®	Essais cliniques de phase III
PRO-2000	Essais cliniques de phase II/III
Vivagel (SPL7013)™	Essais cliniques de phase I
CAP (Cellulose acétate phthalate)	Essai cliniques de phase I
<b>Agents interagissant avec l'enveloppe virale</b>	
Cyanovirin-N	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
<b>Agents interagissant avec gp120</b>	
2G12	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
b12	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
PRO-542	Testé <i>in vitro</i> dans un modèle d'explant cervical humain
BMS-378806	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
<b>Agents interagissant avec gp41</b>	
2F5	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
C52L	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
Enfuvirtide	Etudes <i>in vitro</i>
C34	Testé <i>in vitro</i> dans un modèle de muqueuse humaine
4E10	Etudes <i>in vitro</i>
<b>Agents ciblant les co-récepteurs viraux</b>	
TNX-355	Essais cliniques de phase II/III en traitement thérapeutique de patients VIH+
CMPD-167	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
Vicriviroc®	Interruption de son usage après développement effets secondaires néfastes
Maraviroc®	Essais cliniques de phase II/III en traitement thérapeutique de patients VIH+
Aplaviroc®	Interruption de son usage après développement effets secondaires néfastes
PRO-140	Essais cliniques de phase II/III en traitement thérapeutique de patients VIH+
CCR5mab004	Essais cliniques de phase I en traitement thérapeutique de patients VIH+
PSC-RANTES	Testé dans un modèle primate d'infection vaginale au SHIV
AMD3100	Essais cliniques de phase I en traitement thérapeutique de patients VIH+
<b>Agents inhibiteurs de la réplication</b>	
UC-781	Essais cliniques de phase I
Tenofovir	Essais cliniques de phase II/III
Dapivirine	Essais cliniques de phase I

**Figure 31: Tableau récapitulatif de certains microbicides en cours de développement**

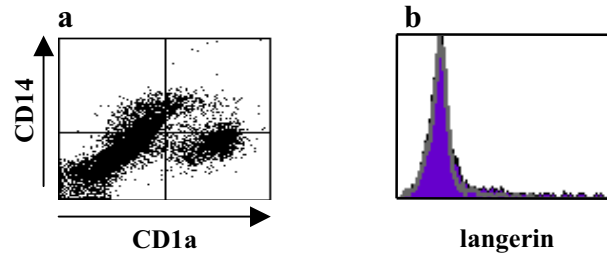
(D'après Lederman, et coll., Nature Review Immunology 2006 et McGowan, Biologicals 2006)

SHIV, virus de l'immunodéficience simien-humain



**Figure 1 supplémentaire : Présence majoritaire de fibroblastes dans la suspension dermique humaine**

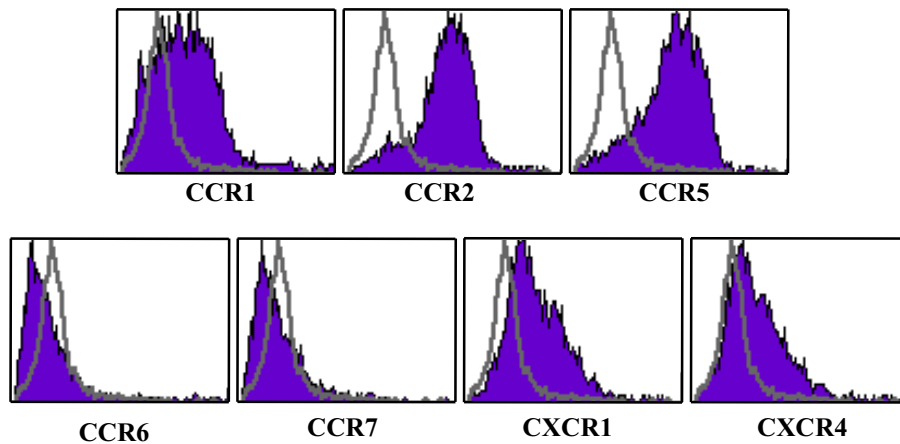
Marquage par cytométrie en flux de la suspension cellulaire totale dermique après dissociation enzymatique.



**Figure 2 supplémentaire**

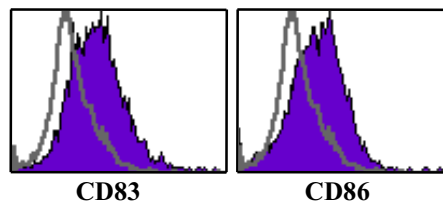
- (a) Deux populations  $CD1a^{forte} CD14^{faible}$  et  $CD1a^{faible} CD14^{fort}$  sont présentes dans le derme. Double marquage par cytométrie en flux de suspension cellulaire totale de derme.
- (b) Les DDC n'expriment pas la langerin. Marquage par cytométrie en flux de cellules dendritiques du derme  $HLA-DR^{forte} CD1c^{+}$  isolées par purification magnétique *via*  $CD1c$ . Le contrôle isotypique est représenté en gris.





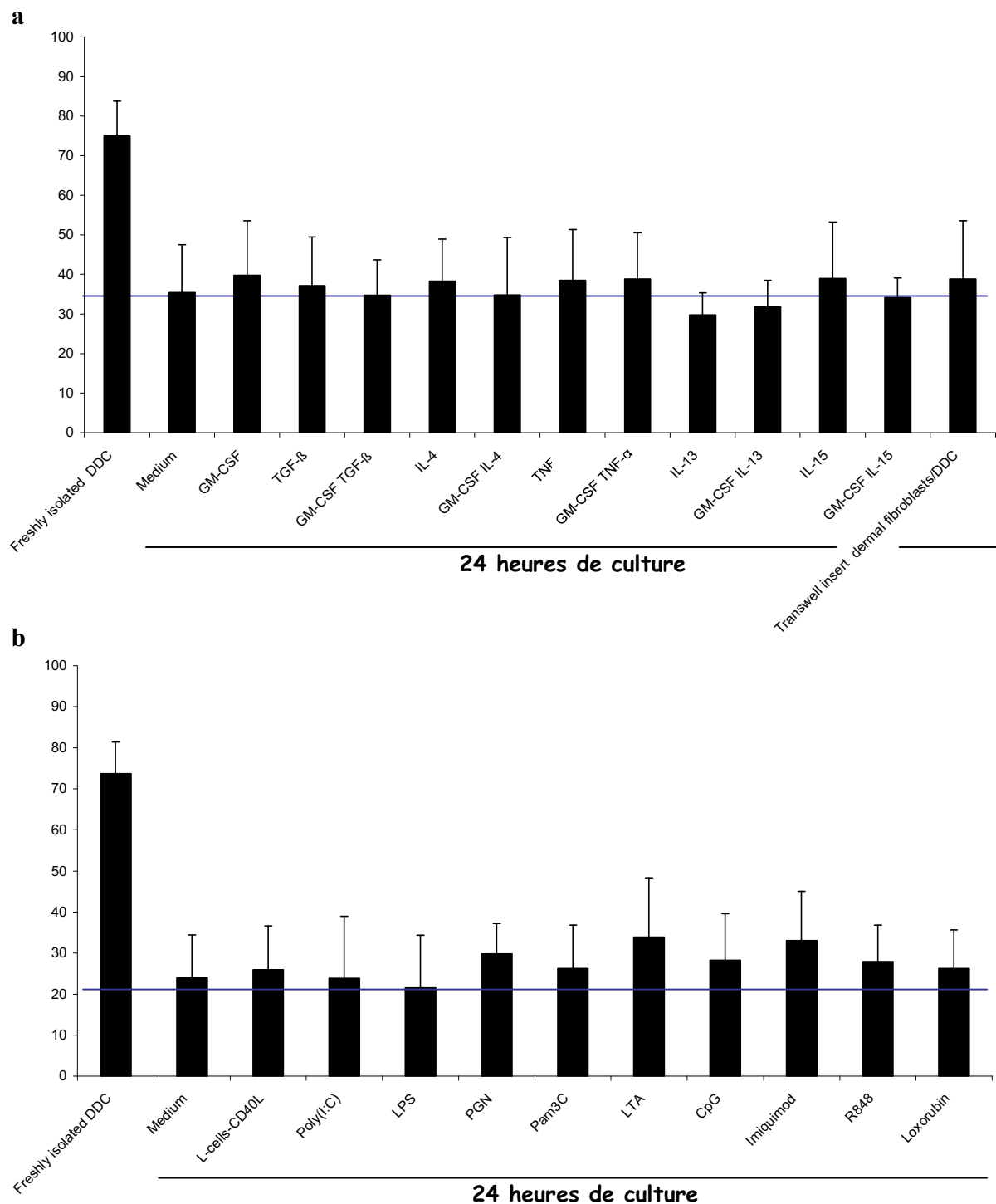
**Figure 3 supplémentaire :** Les cellules dendritiques dermiques expriment des récepteurs de chimiokines

Marquage par cytométrie en flux de cellules dendritiques du derme HLA-DR<sup>forte</sup> CD1c<sup>+</sup> isolées par purification magnétique *via* CD1c. Les contrôles isotypiques sont représentés en gris.



**Figure 4 supplémentaire :** Les cellules dendritiques dermiques sont faiblement activées

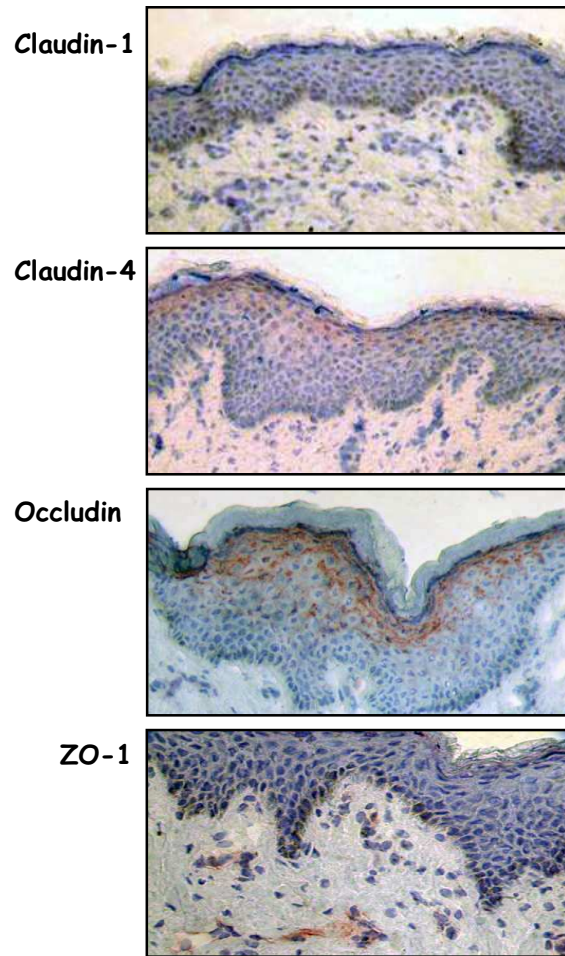
Marquage par cytométrie en flux de cellules dendritiques du derme HLA-DR<sup>forte</sup> CD1c<sup>+</sup> isolées par purification magnétique *via* CD1c. Les contrôles isotypiques sont représentés en gris.



**Figure 5 supplémentaire : Les cellules dendritiques dermiques survivent difficilement *ex vivo***

Mesure de la viabilité des DDC fraîchement isolées cultivées pendant 24 heures en milieu de culture seul ou additionné de différents composés. La viabilité est déterminée par cytométrie en flux par marquage à l'iodure de propidium.

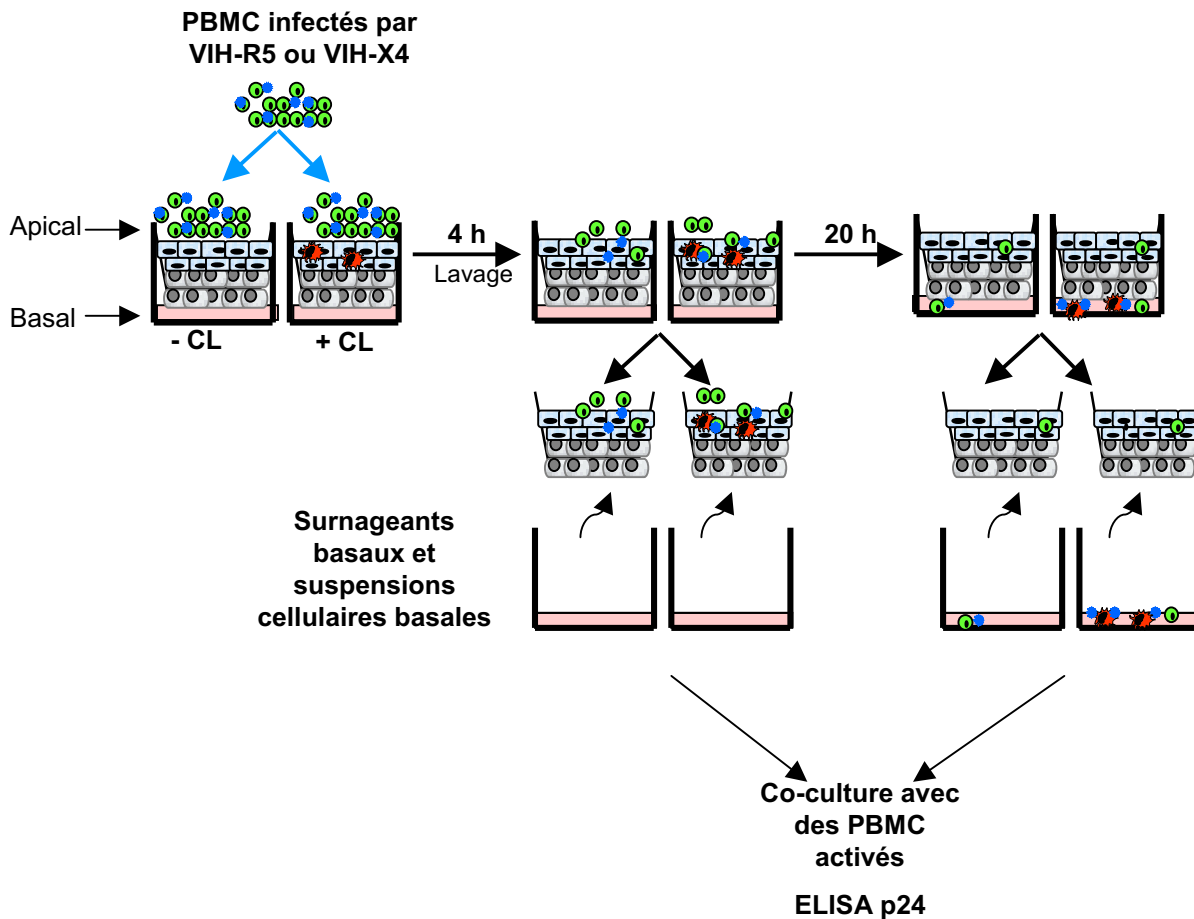
- (a) Mesure de la viabilité des DDC après 24 heures de culture avec différentes cytokines ou dans des inserts de type transwell contenant dans le compartiment apical la fraction cellulaire non purifiée, c'est-à-dire majoritairement des fibroblastes. (milieu n=8, ligand n=3 minimum)
- (b) Mesure de la viabilité des DDC après 24 heures de culture avec différents ligands des TLR (n=3)



**Figure 6 supplémentaire** : Expression de Claudin-4 et Occludin par l'épithélium de prépuce humain normal

Marquage par immunohistochimie des protéines des jonctions serrées Claudin-1, Claudin-4, Occludin et ZO-1 sur coupes de prépuce congelées. Contre-coloration à l'hématoxyline.

Echelle: x 200



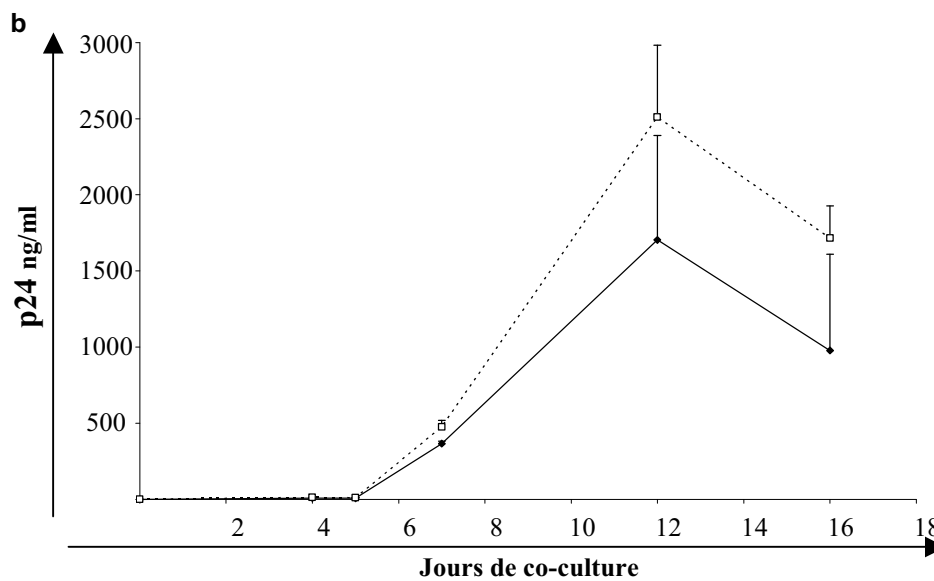
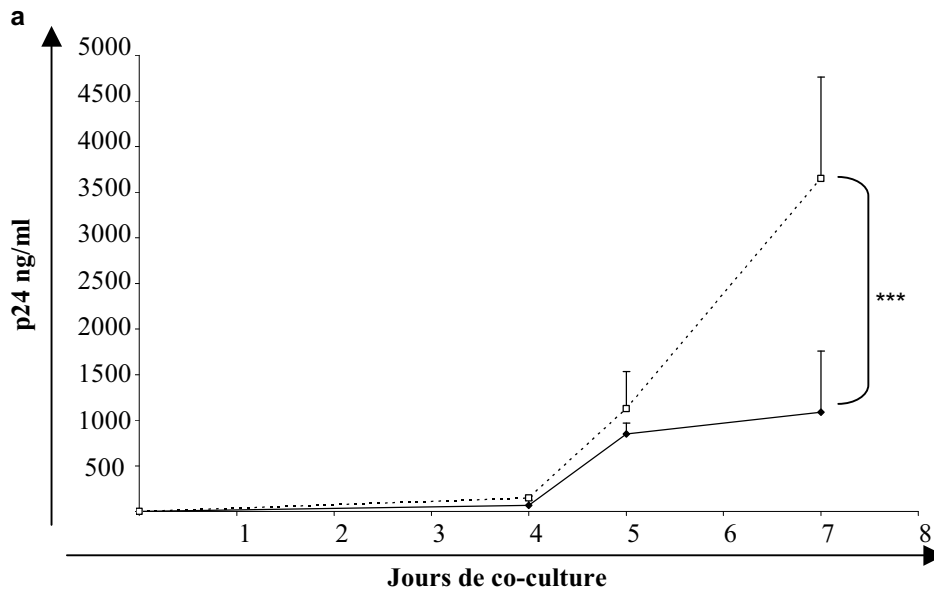
**Figure 7 supplémentaire : Schéma du protocole d'infection des muqueuses reconstruites à 4 et 24 heures**

Les muqueuses intégrant ou non des CL sont incubées avec  $1.10^6$  PBMC infectés par du VIH de tropisme R5 ou X4. Après 4 heures d'incubation, les milieux apicaux et basaux sont collectés puis remplacés et la culture est prolongée pendant 20 heures. Les milieux basaux collectés à 4 et 24 heures sont centrifugés de manière à séparer les surnageants des suspensions cellulaires. Les surnageants et suspensions cellulaires basaux sont alors mis en co-culture avec des PBMC activés de manière à détecter s'il y a eu passage du VIH infectieux sous forme de particules virales libres ou dans des cellules infectées. Les surnageants de cette co-culture sont récoltés et l'antigène p24 est dosé par ELISA.

Virus	Reconstruction	p24 (pg/ml)
92BR025/ R5	+ LC	NS
	- LC	NS
91US054/ X4	+ LC	NS
	- LC	NS

**Figure 8 supplémentaire : Aucune particule virale n'est transmise à travers la muqueuse vaginale en 24 heures**

Dosage de l'antigène p24 par ELISA dans les surnageants basaux à 24 heures. Les résultats sont représentatifs de 3 reconstructions indépendantes. NS = Non Significatif.

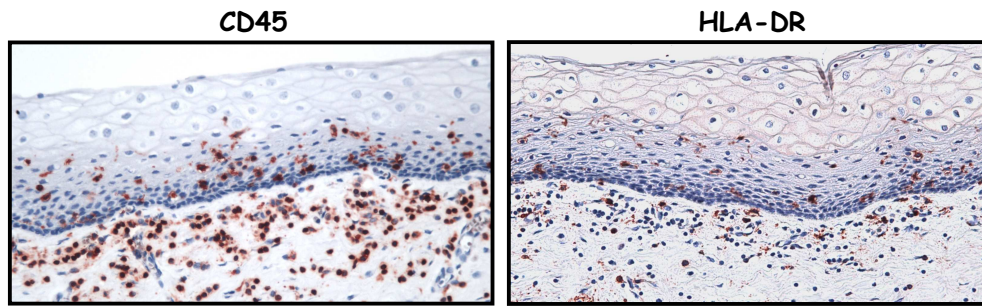


**Figure 9 supplémentaire: Infection et passage de virus de type X4 et de type R5 à travers la muqueuse vaginale à 24 heures, et rôle des cellules de Langerhans dans la transmission des virus de type X4**

Cinétique de la co-infection des PBMC rapporteurs avec les suspensions cellulaires basales des muqueuses reconstruites infectées après 24 heures par du virus de type X4 (a) ou de type R5 (b). Dosage de l'antigène p24 par ELISA.

Les lignes en pointillés représentent les muqueuses avec CL, les lignes continues les muqueuses sans CL. Les valeurs sont représentatives de 3 muqueuses indépendantes.

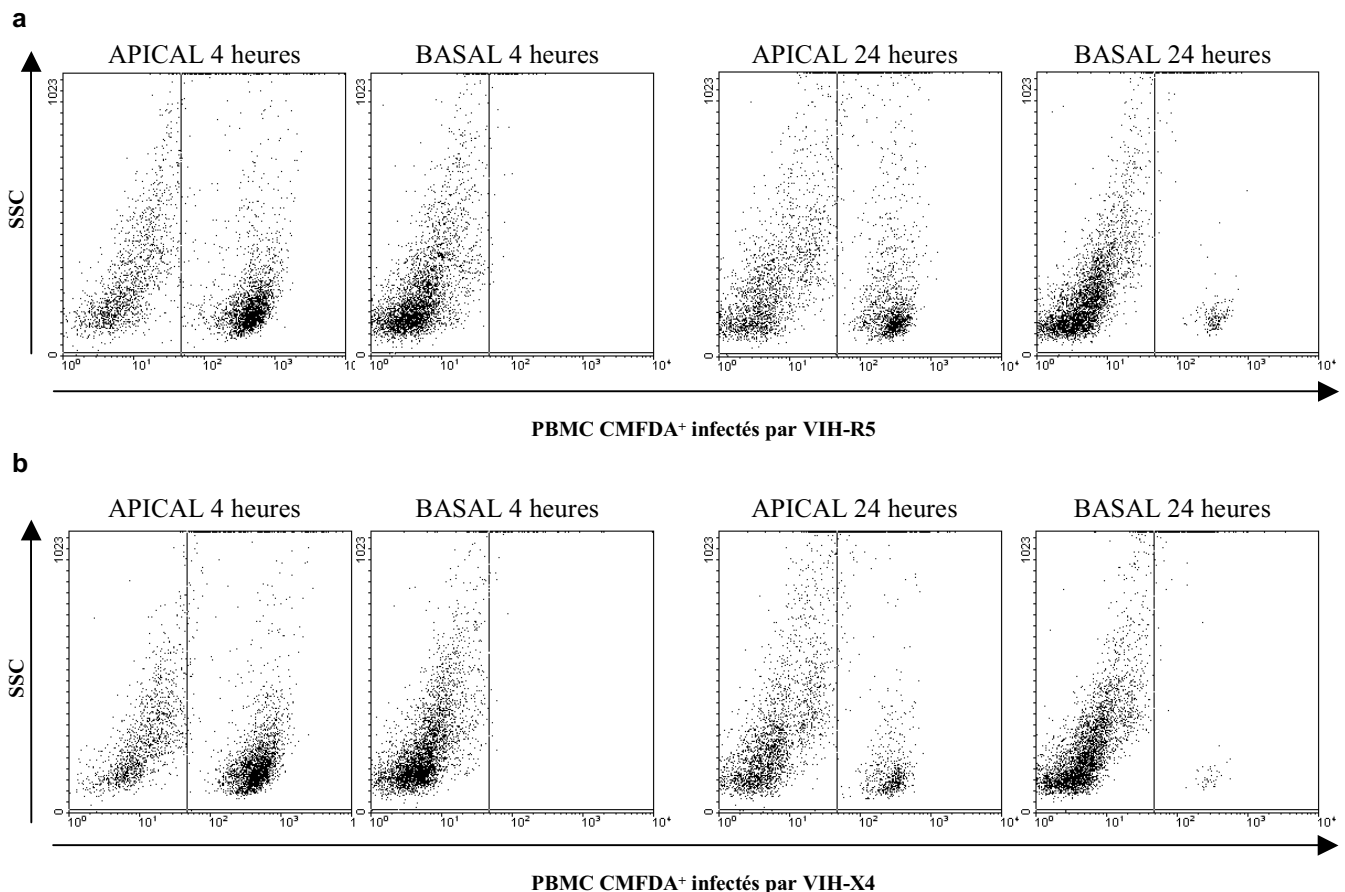
(\*\*\*  $P < 0.001$ )



**Figure 10 supplémentaire :** Au sein de l'épithélium vaginal, sont présents des cellules de Langerhans et des lymphocytes T intra-épithéliaux

Marquages par Immunohistochimie sur coupes de vagin inclus en Histowax®. Contre-coloration à l'hématoxyline. Echelle: x 200

De nombreux lymphocytes T intra-épithéliaux sont détectés dans l'épithélium après marquage par CD45 ; en effet, l'observation du marquage HLA-DR révèle uniquement la présence des cellules de Langerhans, ces nombreuses cellules CD45<sup>+</sup> ne sont alors pas toutes des cellules de Langerhans.



**Figure 11 supplémentaire :** Des cellules CMFDA<sup>+</sup> infectées traversent la muqueuse vaginale

1.10<sup>6</sup> PBMC infectés par du VIH de type R5 ou X4 et marqués par du Cell Tracker vert CMFDA sont incubés dans le compartiment apical des muqueuses reconstruites. Après 4 heures d'incubation, les milieux apicaux et basaux sont collectés puis remplacés et la culture est prolongée pendant 20 heures. 25.10<sup>4</sup> PBMC non marqués sont ajoutés pour culotter chaque échantillon, qui sont ensuite analysés par cytométrie en flux. (a) PBMC infectés par la souche virale 92BR025 (R5), (b) PBMC infectés par la souche virale 91US054 (X4). Un dot représentatif est présenté, n=6.