



Etude in vivo des pré-DCs au cours de l'infection au VIH/SIV

Margaux Gardet

► To cite this version:

Margaux Gardet. Etude in vivo des pré-DCs au cours de l'infection au VIH/SIV. Immunité innée. Université Paris-Saclay, 2022. Français. NNT : 2022UPASQ058 . tel-04332683

HAL Id: tel-04332683

<https://theses.hal.science/tel-04332683>

Submitted on 9 Dec 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Etude in vivo des pré-DCs au cours de l'infection au VIH/SIV

In vivo study of pre-DCs during HIV/SIV infection

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 569 – Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué (ITFA)
Spécialité de doctorat : Immunologie

Graduate School : Life Sciences and Health. Référent : Faculté de pharmacie

Thèse préparée dans l'**unité de recherche Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes (Université Paris-Saclay, Inserm, CEA)**, sous la direction de **Benoit FAVIER**, Directeur de recherche.

Thèse soutenue à FONTENAY AUX ROSES,
le 8 décembre 2022, par

Margaux GARDET

Composition du Jury

Véronique GODOT Professeur, Université de Créteil	Présidente
Jean Daniel LELIEVRE Professeur - Praticien hospitalier, Université de Créteil	Rapporteur & Examineur
Elodie SEGURA Chargée de recherche, Institut Curie	Rapporteuse & Examinatrice
Charles Antoine DUTERTRE Chargé de recherche, Institut Gustave Roussy	Examineur
Benoit FAVIER Directeur de recherche, CEA – Paris Saclay	Directeur de thèse

*À ma Maman et à ma famille,
pour votre soutien sans limite,*

*À ma petite mamie, partie bien trop tôt,
que j'aime tant et qui me manque,*

À tous ceux qui m'ont épaulé,

*À toutes les personnes vivant avec le VIH
et leurs familles,*

Je vous dédie cette thèse.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier Roger Legrand, qui m'a accueillie dans son laboratoire, et m'a permis de mener à bien ce projet. Vous avez toujours été bienveillant à mon égard et merci pour la confiance que vous avez placée en moi. Sans vous, ce labo n'existerait pas et les étudiants n'y seraient pas aussi bien encadrés.

Merci aux membres de mon jury d'avoir accepté et pris le temps d'évaluer mon travail. Je tiens tout particulièrement à remercier le Dr Elodie Segura et le Pr Jean-Daniel Lelièvre pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être les rapporteurs de mon manuscrit. Merci pour vos retours qui ont contribué à améliorer cet écrit.

La plupart des Docteurs en Science vous diront la même chose, une thèse c'est long, c'est un Marathon et non un sprint. Pour certain, c'est 4 ans de labeur, pour d'autres c'est 4 ans de fun. Pour moi... ce fut les 2. Une thèse vient de pair avec le stress, l'acharnement, le doute, mais aussi la réussite, le dépassement de soi, la fierté et j'en passe. Dans mon cas, ma thèse m'a sauvée. Soyons honnête : une thèse c'est douloureux pour tout le monde, mais pensez à nous, grand cru de thésards COVID.... Sans elle je ne sais pas ce que je serai devenue, ni comment je n'aurai avancé.

Pour réussir une thèse, il faut être entouré. Et j'ai la chance d'avoir tout un village autour de moi qui m'a soutenue tout au long de ce périple. Ce village, ma famille, a dû faire face aux pires pertes qu'il était possible d'imaginer. Nous avons dû dire au revoir à beaucoup de personnes qui nous étaient chères, voire indispensables.

C'est pour cela que je tiens à remercier tout d'abord, Ma Chère Maman. Cela fait 28 ans que tu te bats, seule, pour Alexi et moi, et tu as réussi à me porter jusqu'ici à toi seule, tu es la femme la plus forte que je connaisse, et je ne saurai jamais te dire assez merci pour ce que tu m'as donné. J'ai une chance incroyable de pouvoir dire que je suis ta fille, et cette réussite, c'est tout autant la tienne que la mienne. Je t'aime.

Ensuite Alexi, mon Bou, l'Homme de ma vie, mon petit frère. Tu es la source de mes éclats de rire, et merci d'avoir toujours cru en moi comme tu l'as fait. Nous avons fait face aux épreuves les plus compliquées que nous ayons eu à vivre jusqu'ici, alors merci de m'avoir portée.

JackJack, que dire... Tu es un beau papa incroyable, et tes petites blagues ont toujours réussi à me faire sourire. Ton humour sans failles et ton optimisme m'ont toujours été d'une grande aide. Merci d'avoir été le pilier sur lequel nous avons pu nous reposer, et merci de me considérer comme ta fille.

Pauline, ma belle-Sœur peut-être, ma Sœur pour sûr. Ton entrée dans notre vie à apporter une légèreté, une tendresse nouvelle au sein de notre Famille. Tu as toujours été là, dans les bons comme les mauvais moments et ton amour m'a permis d'avancer et de me dépasser. Merci...

Maintenant, je souhaiterais remercier ma Petite Mamie. Tu nous as quittés le 25 juin 2021 et ce vide que tu as laissé derrière toi est atroce pour moi. Tu étais l'amour de ma vie, et jamais, jamais je n'aurais pu penser que tu me quittes, aussi tôt, comme cela, aussi soudainement. Après ta disparition, j'ai failli tout arrêter car tu étais la perte de trop, la plus inconcevable et la plus dure à surmonter. Mais j'ai continué cette thèse, pour toi et pour Maman, car je sais que j'étais ta fierté, ta petite fille Docteur. En arriver là aujourd'hui et ne pas pouvoir le partager avec toi, rend cet accomplissement très nuancé dans mon esprit et dans mon cœur, car tu devrais, tu dois, être à mes côtés en ce jour si particulier. Alors je te dédie cette thèse, je te dédie mon travail, car te rendre fière a été une de mes plus grandes motivations.

Enfin, merci aux Gardet, à Pascale, Julien, Cyril, Patty, Lou, Tess, et Sylvianne etc..., ainsi qu'à ma tante Gisèle, mon Oncle Jérémy, Claude, Maxime et Sarah.

Merci à Florian E, tu as su rendre cette fin de thèse la plus douce qu'il soit. Tu me soutiens au jour le jour et tu m'apportes bien plus que tout ce que tu pourrais imaginer. La vie est bien plus lumineuse depuis que tu es à mes côtés, alors merci. Et surtout, mention spéciale à toutes ces soirées au cours desquelles tu m'as écouté m'entraîner à présenter cette thèse, quelle patience tu as eu.

Je souhaiterais maintenant faire honneur à Benoît, Chef. Tu as décidé de parier sur moi après cet entretien en septembre 2017, et je ne pense pas que tu avais la moindre idée dans quoi tu allais t'embarquer n'est-ce pas ? Tu m'as porté au début et tu m'as même poussé dans mes retranchements. Tu m'as ainsi montré que j'étais capable de beaucoup de choses par moi-même, que j'étais une scientifique et que j'étais douée. Ensuite tu as su me laisser prendre ma liberté, tu me l'as même imposé je dirais et qu'est-ce que cela m'a terrifié. Mais finalement tu as eu raison, et grâce à toi, je sais ce que je vaux et ce que je veux. Malgré cela, tu es quand même resté présent quand il le fallait. Je sais que cela a été éprouvant de devoir gérer l'étudiante

émotive et stressée que je suis. Mon plus grand remerciement à ton égard est celui-ci : Merci d'avoir compris que j'avais besoin de ma thèse, que j'avais besoin de me jeter à corps perdu dedans afin de surmonter les épreuves. Tu l'as compris, et tu m'as laissé faire, tout en restant disponible si je trébuchais. Merci d'avoir créé ce sujet, qui m'a permis d'avancer et de produire tout ce travail. Tes idées, cette thèse, notre travail, jamais rien n'aurait pu naître sans ta volonté d'étudier cette petite population dont tout le monde se fichait à l'époque.

La suite de mes remerciements revient maintenant à Olivier. Faire partie de ton équipe, de ce thème de recherche dans cette ambiance aussi bienveillante a été un cadeau. Toi aussi tu m'as fait confiance, et ta bonne humeur a beaucoup contribué au bon déroulement de ce voyage. Malgré tout ton travail, et tout ce que l'année 2020 a apporté avec elle, tu as su rester présent à et l'écouter pour nous les étudiants et je tiens à préciser que cela n'est vraiment pas à la portée de tous les chefs. Alors merci à toi, et j'espère que nous retravaillerons ensemble un jour.

Je parlais précédemment de mon village, pour l'instant composée de ma famille et de mes chefs. Mais dans un village, il y a les amis, et l'un des plus beaux cadeaux de ce périple, fut d'en rencontrer ici et d'avoir créé notre petite famille à nous. Rien de tout cela n'aurait pu se réaliser, et je ne serais pas ici, à écrire ces lignes aujourd'hui, sans le soutien indéfectible de ma team, mes Chats.

Matthieu, ... tu sais déjà tout. Tu es le meilleur des amis que j'aurais pu rêver avoir à mes côtés. Nous avons commencé ensemble, et nous finissons ensemble. Tu es mon roc, mon soutien, mon épaule sur qui pleurer, l'épaule sur qui taper aussi soyons honnêtes. Tu es mon partenaire de labo, de coloc, de fun, de pleurs, de sport (et dieu sait que tout le sport que nous avons fait était nécessaire à notre sainteté d'esprit) et j'en passe. Alors merci, de ne jamais m'avoir abandonnée, d'avoir toujours été le premier présent, d'avoir pris soin de moi et de continuer de t'inquiéter pour moi. Nous sommes Docteurs aujourd'hui, nous avons atteint le saint Graal ; et même si nous avons sué, galéré, douté (plus que doutés même je dirais) je n'échangerai pour rien au monde ces 4 ans avec toi. Notre projet de bar tiendra toujours, le MarMat existera un jour, promis, mais pour l'instant, profitons de notre diplôme. Merci de n'avoir jamais abandonné notre thèse pour repartir à Dominos, je sais bien que les pizzas c'est plus simple... mais sans toi, cela n'aurait vraiment pas été pareil.

Nasta, mon petit cœur, mon chat d'amour, mon amie à moi. Tu as été la deuxième épaule sur qui m'appuyer, mais tu as surtout été mon rayon de soleil tous les matins au labo. Ta gentillesse et ton amitié sont l'une des plus belles choses qu'il m'ait été donné d'acquérir au cours de cette aventure. Alors je lève aujourd'hui mon verre à tout notre travail, à ton aide, à ton soutien, à ta présence, à tes milliers de gâtés, sans eux je n'aurais pas survécu. À toutes nos soirées, à nos danses endiablées, à nos concerts, à nos chants, à nos festivals, à nos voyages... et j'en passe. Merci pour tout, merci d'être une amie si parfaite.

Mathou, car oui il est inconcevable de t'appeler Mathilde. Tu es Mathou, mon Chat. Tu es arrivée paisiblement quelques mois après le début de cette aventure, et tout de suite, tes sourires et ta force de vivre m'ont conquis. Tu as ensuite conquis le cœur de mon meilleur ami, alors en soi nous étions toi et moi aussi faites pour partager notre vie ensemble. Ta douceur et ta joie de vivre sont pour moi un indispensable de mes journées. Merci d'avoir dansé avec moi jusqu'au bout de la nuit, d'avoir vécu avec moi dans notre petit paradis de coloc et de m'avoir fait remonter toutes les pentes sur lesquelles je glissais. Tu seras toujours la première (avec Nastou ^^) à qui je penserai quand on me demandera qui sont mes vraies amies. Alors, Cheers à tous nos futurs moments ensemble, et à toutes les musiques sur lesquelles nous n'avons pas encore bougé.

Yanis, Chat, Chatte. Alors toi, que dire ? On a ri, ça oui. Des fous rire de l'espace, qui sont venus réchauffés tous les moments grisâtres de cette thèse. Tu as toujours été présent, on s'est soutenu, on sait ce que l'autre ressent, et je t'assure que tu m'as permis de me rendre compte de beaucoup de choses, et surtout d'accomplir énormément, alors merci.

Loulou, mon Louis. Quand on qualifie quelqu'un d'ami, cela signifie que l'on est derrière lui à tout moment, quoiqu'il en coûte. Et c'est ce que nous avons fait. Tu es la gentillesse incarnée (mais tu sais déjà tout ça ...) et ta façon de toujours voir toute situation du bon côté (même quand je dois avouer que je n'en vois pas) m'a permis de voir certains moments de ces quatre ans d'une façon plus saine, plus heureuse. Tu es un ami extraordinaire, et un danseur hors pair. Tu seras toujours mon partenaire de soirée préféré.

Quentin, quand tu es arrivé dans mon bureau, jeune étudiant, nous avons tout de suite accroché. Tu as suivi tous mes périples, tu as toujours écouté. Tu m'as apporté bien plus que tu ne le penses et tes « Bonjour Mademoiselle » vont me manquer.

Oscar, my Buddy, my Daddy friend. Meeting you when you arrived in France was one of the most beautiful gifts of this thesis. You arrived, with the sun of Australia with you, and we made you discover France. I will always remember the first time you saw the snow falling at the CEA, how we laughed. You were always present and gave good advice. Your wisdom and knowledge gave me confidence because you always knew I could do it. This PhD could not have been done without you since you taught me everything. Thank you for sharing with me your rigor and your passion for cytometry. FlowJo has no secret for me anymore. Lastly, thank you for taking so much time to make my writing so perfect, like you.

Passons maintenant à l'autre partie de mon village. Les amis avec qui nous sommes partis en voyage, avec qui nous avons dansé plus qu'il ne le faut. Merci pour toutes ces parties de pétanque endiablées, ces soirées jusqu'au bout de la nuit. Je ne saurai citer tout ce que nous avons accompli tous ensemble. Marco, la pêche incarnée, l'optimisme suprême, le clubeur de folie, et le pipetteur de compétition. 4 ans avec toi ne seront jamais assez de rigolades. Julie B et Gaëlle, mes petits Chatons, mes pioupious. Vous rencontrer, vous intégrer à notre famille, vous aider à prendre votre envol de bébés thésards, m'ont tellement aidé moi-même, et tellement rendue heureuse. Vous êtes des perles, et des bêtes de thésardes, vous allez tout déchirer, et c'est à vous, ainsi qu'à Stan et Vincent que l'on passe le flambeau. Les gars, prenez soin d'elle et surtout continuez d'être aussi parfaits.

Un labo fonctionne comme une communauté. Nous sommes tous les maillons d'une grande chaîne et c'est pourquoi tout mon travail n'est rien sans le travail acharné des plateformes. Mes remerciements vont tout particulièrement à la team ASW et à Francis. Presque 5 ans que tu me supportes. Tu as toujours fait en sorte de me sortir du pétrin (qui soyons honnêtes M'était particulièrement destiné). Tu as tant contribué à me permettre de fournir le meilleur de moi-même afin de générer autant de données. Alors merci, et merci de ton soutien. J'aimerais aussi remercier Seb qui a toujours fait en sorte d'arranger les plannings déjà bien lourds pour me permettre de continuer mes recherches. Enfin, merci à toute l'équipe.

Nos recherches ne seraient pas possibles sans l'investissement journalier de l'équipe d'ANIMALLIANCE. Alors Merci du fond du cœur pour votre dévouement et votre travail.

Mario et Fanny, les Roi et Reine des cytomètres. Merci de m'avoir formé, d'avoir répondu à mes appels à l'aide quand le Fortessa se battait contre moi (même depuis

le Luxembourg). Je n'oublierai JAMAIS tous les moments passés au cytomètre et en analyse à chanter de nos plus belles voix et danser comme des diables.

Brice, Ernesto, Marjorie, Laurine, Maxence et Loïc, merci de nous avoir toujours suivi dans toutes nos aventures (et quelles aventures...), nos voyages et j'en passe. J'espère sincèrement continuer à voyager et sortir avec vous.

Sixtine, tu as su prendre le temps sur ta thèse pour me former quand je suis arrivée en stage et me lancer dans mon sujet. Merci de tout le temps que tu m'as consacré et de m'avoir montré ce que c'était de réussir une thèse avec Brio.

Candie, Julien L, Jean-Louis et Laura. Les anciens. Quand nous sommes arrivés en stage, vous avez su nous montrer le chemin, nous soutenir et nous rassurer. Merci d'avoir toujours été de bon conseil.

Je souhaiterais maintenant remercier les copines de bureau, Elodie, Justina, et Noémie qui ont subi mes coups de gueules, mes pleurs mais aussi mes rires.

Mon spécial Thank You revient à Florian M, mon co-thésard. Tu sais déjà tout, mais je tiens à te le redire : Merci d'avoir été à mes côtés, d'avoir partagé mes doutes, d'avoir compris ma frustration, d'avoir supporté les épreuves avec moi. Tu as été présent, tu as su m'apaiser quand il le fallait, et je sais que tu ne comprends comme personne ce que l'on ressent au cours d'une thèse. Je sais que tu vas briller à ta thèse, il ne manque plus qu'à ce que tu te fasses confiance maintenant.

Je tiens à remercier Anne-Sophie B, Nabilla et Elizabeth pour toutes les discussions que nous avons eues, et pour tous les conseils que vous m'avez apportés. Vous êtes de supers Femmes Chercheuses, merci de m'avoir conforté dans ce choix de carrière.

Ce qui est merveilleux dans ce labo, c'est que les chercheurs, les chefs et les grands chefs sont toujours bienveillants envers nous les étudiants. Frédéric D, le plus grand déconneur et le plus sportif de tous les chefs. Merci d'avoir toujours eu les mots pour me faire sourire et d'être toujours partant pour absolument tout. Te voir tous les matins en arrivant, à contribuer à me faire commencer mes journées dans la bonne humeur.

Pour finir sur le labo, je tiens à remercier tous les étudiants, ingénieurs, techniciens et autres chefs d'IDMIT qui ont contribué à la bonne ambiance dans notre labo, Florence, Julie, Laetitia, Laura, Cécile, Alexandra, Andréa, Cindy, Wesley, Jérôme, Natalia, Stephan, Sylvie, Marion, Karl, Julien D, Mimi, Elodie, Nathalie, Frédéric M,

Marie-Angela, Hélène, Delphine, Nicolas N, Yann, Alicia, Romain, Jean-Marie, Vanessa, Emma, Sophie, Thibaut, Céline, Mohit, Caroline, Christelle, Isabelle, Camille, Christine, Bruno, Claude, Fabienne, Marie, Léo, Annaëlle et Thibaut.

Je souhaiterais remercier Emmanuel B. Lorsque tu m'as accueilli en stage de M1, nous avons tous les deux beaucoup à apprendre. C'est grâce à toi que j'ai acquis l'autonomie nécessaire pour réussir ce parcours. Tu as été le premier à croire en moi et tu es toujours là aujourd'hui à me soutenir et à être le premier à m'encourager.

Je souhaite à tous les futurs thésards de se construire et de trouver leur Village. Le mien a été complété par ma team de Volley, Mélodie, Mélissa, Marine, Gaétan, Coach, Julien, Yo, Lina, Ali, Jordan, Marion, Patou et Stéphane. Vous avez tant contribué à mon bien-être, mental et physique, tant de rire qui m'ont fait déstresser et tant de matchs de folies qui ont permis de relâcher la pression.

L'envie de faire de grandes études a toujours été un moteur pour moi, et c'est pourquoi j'aimerais enfin adresser mes remerciements à mes amis qui m'encouragent et me soutiennent depuis nos 11 ans. William et Léo, 18 ans ensemble à travers toutes nos aventures et toujours là les uns pour les autres encore aujourd'hui. Je vous aime les gars et je suis fière des adultes que nous sommes devenus.

« Choisis un travail que tu aimes, tu n'auras pas à travailler un seul jour de ta vie »

AVANT-PROPOS

À ce jour, plus de 39 millions de personnes vivent avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et, malgré toute la prévention et les avancées scientifiques mises en place depuis le début de cette pandémie, le nombre de personnes nouvellement infectées continue d'alarmer les autorités de santé publique. Paradoxalement, l'accès aux traitements antirétroviraux permettant de vivre normalement avec la maladie, ainsi que l'émergence de traitements à visée prophylactique sont à l'origine d'une banalisation de la dangerosité de cette infection. Aucun traitement permettant d'éradiquer la maladie n'a, pour le moment, été trouvé, et ce, malgré tous les efforts déployés dans ce but. La compréhension des mécanismes viraux et immunitaires impliqués dans cette infection est donc d'autant plus primordiale aujourd'hui.

La complexité de l'infection ainsi que le diagnostic malheureusement tardif des patients ne permettent pas une étude complète des dérégulations du système immunitaire qui sont induites lors de la phase précoce de l'infection par le VIH. Dans ce contexte, l'étude des réponses immunitaires au sein d'un modèle d'infection inductible de primate non-humain représente un atout majeur dans la recherche préclinique contre le VIH. Au cours de mes travaux de thèse, nous avons utilisé un modèle de macaque *Cynomolgus* d'infection par le virus de l'immunodéficience simienne (SIV) afin d'étudier le rôle d'une nouvelle population de cellule dendritique qui joue un rôle clé dans la mise en place des réponses immunitaires, mais qui est préférentiellement infectée par le VIH *in vitro*. Les résultats obtenus au cours cette étude devraient apporter une meilleure compréhension sur la dérégulation de cette population de cellules lors de la phase précoce de l'infection par le SIV/VIH et pourraient ouvrir la voie vers l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

TABLES DES MATIERES

INTRODUCTION

I/	LE SYSTEME IMMUNITAIRE ET LES REPONSES INNEES	1
II/	LES CELLULES DENDRITIQUES	3
	<i>a) Ontogénie des cellules dendritiques</i>	<i>5</i>
	<i>b) Nomenclature des sous-populations de cellules dendritiques</i>	<i>8</i>
	1. Les cellules dendritiques conventionnelles de type 1	8
	Développement des cDC1	9
	Phénotype et localisation des cDC1	9
	Propriétés fonctionnelles et rôles des cDC1	10
	2. Les cellules dendritiques conventionnelles de type 2	11
	Développement des cDC2	11
	Phénotype et localisation des cDC2	11
	Propriétés fonctionnelles et rôles des cDC2	12
	Les DC3	13
	3. Les cellules dendritiques plasmacytoïdes	14
	Développement des pDCs	14
	Phénotype et localisation des pDCs	15
	Propriétés fonctionnelles et rôles des pDCs	15
	<i>c) Les pré-DCs</i>	<i>17</i>
III/	FOCUS SUR LES INFECTIONS PAR LE VIH ET MODELE D'ETUDE.	20
	<i>a) Le Virus de l'Immunodéficience Humaine</i>	<i>20</i>
	1. Histoire de l'infection au VIH	20
	2. Données quantitatives de la pandémie et mode de transmission du VIH	21
	3. Etiologie et structure virale	21
	4. Récepteurs, co-récepteurs et tropisme cellulaire du VIH	22
	Lymphocytes T CD4 ⁺ : principales cibles du VIH	23
	Monocytes / Macrophages	24
	Cellules Dendritiques	25
	5. Cycle de réplication du VIH	26
	6. Etablissement et stades de l'infection	28
	Infection primaire	28
	Infection chronique	28
	Phase SIDA	30
	7. Traitement antirétroviral	31
	<i>b) Infection par le SIV et modèle macaque</i>	<i>33</i>
	<i>c) Les cellules dendritiques chez le macaque</i>	<i>35</i>

IV/	DEREGULATION DES CELLULES DENDRITIQUES PAR LE VIH / SIV	37
a)	<i>Infection des cellules dendritiques par le VIH.....</i>	<i>37</i>
1.	Capture du VIH par les cellules dendritiques	37
	CD4, CCR5, CXCR4	38
	DC-SIGN.....	38
	SYNDECAN-3 et DCIR.....	39
	SIGLEC-1	40
2.	Internalisation et prise en charge du VIH au sein des DCs	40
	SAMHD1	41
	APOBEC.....	42
	TRIM5a et Rab15	42
3.	Transport du VIH par les DCs et trans-infection des LT CD4 ⁺	43
b)	<i>Dérégulation des cellules dendritiques au cours de l'infection par le VIH/SIV.....</i>	<i>44</i>
1.	Les cDCs dans le cadre de l'infection par le VIH	44
2.	Les pDCs dans le cadre de l'infection par le VIH	46
3.	Les cellules dendritiques au cours de l'infection par le SIV	48
c)	<i>Infection des pré-DCs par le VIH</i>	<i>49</i>
d)	<i>Infection des cellules dendritiques par le SARS-Cov2</i>	<i>50</i>
	OBJECTIFS.....	52
	RÉSULTATS	54
	DISCUSSION	116
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	126
	REFERENCES	130
	ANNEXES	164

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Ontogénie des cellules dendritiques	7
Figure 2: Structure du VIH.....	22
Figure 3: Cycle d'infection et de réplication du VIH	27
Figure 4: Phases cliniques de l'infection par le VIH	30
Figure 5: Modes d'action des traitements antirétroviraux.....	32
Figure 6: Marqueurs phénotypiques des DCs humaines et simiennes.....	36
Figure 7: Fonctionnement des facteurs de restrictions retrouvés au sein des DCs.	41
Figure 8: Marquage à l'AnnexinV des pré-DCs dans le sang et les ganglions de macaques infectés par le SIV.	119
Figure 9: Modèle proposé de la dérégulation des pré-DCs et ses impacts sur les réponses immunitaires au cours de l'infection par le VIH.	121
Figure 10: Suivi des pré-DCs de macaque au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 et comparaison avec l'infection SIV.....	125

ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

ART : Traitement Antiretroviral

ASDC : AXL Siglec 6 Dendritic Cells

BATF3 : Basic Leucine Zipper ATF-Like Transcription Factor 3

BDCA : Blood Dendritic Cell Antigen 2

CADM1 : Cell Adhesion Molecule 1

CCR7 : C-C chemokine receptor 7

CD : Cluster de Différenciation

cDCs : Cellules Dendritiques Conventionnelles

CDP : Common Dendritic cell Progenitor

CLEC : C-type Lectin domain containing

CLR : C-type lectin-like receptors

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

COVID-19 : COronaVIrus Disease appeared in 2019

CXCR : Récepteur aux Chimiokines de type CXC

DAMP : Motif moléculaire associé aux dommages cellulaires

DC : Cellules Dendritiques (Dendritic Cells)

DC3 : Cellule Dendritique de type 3

DCIR : DC ImmuReceptor

DCSIGN : DC-specific ICAM-grabbing non-integrin

FLT3L : FMS-like tyrosine kinase 3 ligand

GMDP : progéniteurs de granulocytes/monocytes et de cellules dendritiques

IFN I : Interféron de type I

ILT7 : Immunoglobulin-like transcript 7

IL-12 : Interleukine 12

IRF : Interferon Regulator factors

ISG : Interferon Stimulated Gene

LB : Lymphocytes B

LMPP : Lymphoid-primed Multipotential Progenitors

LPS : Lipopolysaccharide

LTc : Lymphocyte T cytotoxique

LT CD4⁺ / LT CD8⁺ : Lymphocytes T CD8 et T CD4

LTh : Lymphocytes T Helper

MCSF : Macrophage Colony-Stimulating Factor

MDP : Précurseur de Macrophage et de DC

MPP : Hematopoietic Multipotent Progenitors

Nect12 : Nectin-like molecule-2

NHP : Primate Non Humains

NK : Natural Killer

PAMPs : Pathogen-Associated Molecular Pattern

PBMC : Cellules mononuclées du sang périphérique

pDC : Cellules Dendritiques Plasmacytoïdes

PDL : Programmed cell death ligand 1

PRRs : Pattern Recognition Receptors

RI : Réponses Immunitaires

SAMHD1 : Sterile alpha motif and HD-domain containing protein 1

SARS-Cov-2 : Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2

SI : Système Immunitaire

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

SIV : Virus de l'immunodéficience simienne

TCR : T cell receptor

tDC : Transitional Dendritic Cell

TLR : Toll-Like Receptor

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

XCR1 : X-C Motif Chemokine Receptor 1

Introduction

I/ Le système immunitaire et les réponses innées

Le système immunitaire est un système complexe d'interactions cellulaires, moléculaires et chimiques nécessaires à la destruction d'un pathogène rencontré. La réponse immunitaire est mise en place en deux principaux temps : la reconnaissance du pathogène et sa destruction accompagnée de sa prise en charge, phase de l'immunité dite « *innée* » puis la mise en place d'une réponse immunitaire spécifique et efficace contre ce pathogène lors de la phase de l'immunité dite « *adaptative* ». Pendant plusieurs années, aucun lien n'était connu entre ces deux pans.

L'immunité innée est constituée à la fois par les barrières physiques (muqueuses, peau, mucus, sucs gastriques) et des acteurs cellulaires empêchant les agents infectieux de se disséminer dans notre organisme. Cette réponse immunitaire (RI) a comme particularité d'être mise en place très rapidement et de ne pas être spécifique des pathogènes. Les principales familles cellulaires de l'immunité innée sont : les macrophages, les neutrophiles, les monocytes, les cellules NK et les ILCs.

D'un autre côté, l'immunité adaptative repose sur l'activation des lymphocytes T et B. Les Lymphocytes T (LT) produisent principalement une réponse à médiation cellulaire alors que les lymphocytes B (LB) engendrent une réponse humorale par la production d'anticorps. Durant les années 1950, il était proposé que les lymphocytes exprimaient des récepteurs pour les antigènes et qu'ils proliféraient seulement quand l'antigène rencontré correspondait à ce récepteur (*Burnet, 1959*). Les mécanismes d'activation des lymphocytes restaient encore très peu connus.

En 1989, Charles Janeway émet l'idée que des récepteurs de l'immunité innée étaient en charge de la reconnaissance de motifs de microorganismes ou de tissus endommagés et que ces récepteurs permettaient de faire le lien entre les réponses

innées et adaptatives (*Charles A. Janeway Jr., 1989*). Ce postulat fut vérifié lorsque les équipes de Jules Hoffmann et de Charles Janeway découvrirent que des récepteurs activateurs des réponses innées nommés Toll-Like Récepteurs (TLR) régulaient les expressions de gènes impliqués dans l'activation des cellules immunitaires chez la drosophile et les mammifères (*Lemaitre et al., 1996; Medzhitov, Preston-Hurlburt and Janeway, 1997*). Cette découverte majeure a été récompensée du Prix Nobel de médecine en 2011.

Par ailleurs, ces travaux, associés à ceux de l'équipe de Bruce Beutler (*Poltorak et al., 1998*) ont permis de comprendre comment un pathogène entraînait l'activation de plusieurs voies de signalisation cruciales pour la mise en place des réponses immunitaires adaptatives. Il est maintenant admis que dans le but de détecter les infections et de remplir leur rôle de sentinelles, les cellules immunitaires innées expriment différents récepteurs de danger nommés « *Pattern Recognition Receptors* » ou PRR. Ces récepteurs sont exprimés à la surface des cellules, mais également dans les compartiments intracellulaires ou encore retrouvés sous formes solubles dans le sang, les tissus et différents fluides de l'organisme tel que la salive (*Janeway and Medzhitov, 2002; Zunt et al., 2009*). Ils ont pour but de reconnaître les pathogènes par le biais de motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) ou aux dommages cellulaires (DAMP) et d'induire une cascade de réactions menant à l'opsonisation, l'activation du complément et des processus de coagulation ou encore la production de médiateurs pro-inflammatoires (*Janeway and Medzhitov, 2002; Altfeld and Gale, 2015; O'Keeffe, Mok and Radford, 2015*). Deux principales familles de PRR sont connues à ce jour : les Récepteurs de type Lectines C ou « CLR » et les TLR. Les CLRs, exprimés par les cellules myéloïdes, permettent de détecter à la fois les microbes, mais aussi les cellules endommagées. L'engagement de ces PRRs active des voies d'endocytose et de phagocytose ainsi que les voies permettant l'activation des cellules stimulées (*Sancho and Reis e Sousa, 2012*). En

parallèle des CLR, les TLR représentent la classe de PRR la plus étudiée à ce jour. Une dizaine de TLR est identifiée chez l'Humain. Ils sont exprimés différemment selon le type cellulaire. Chaque TLR reconnaît un type de PAMP différent, par exemple, le TLR3 lie les doubles brins d'ARN alors que le TLR7 lie les simples brins d'ARN, le TLR4 reconnaît les lipopolysaccharides LPS provenant des bactéries et le TLR9 est activé suite à la reconnaissance de motifs ADN CpG des bactéries et virus. L'engagement des TLRs par les PAMP active les réponses inflammatoires et entraîne le recrutement des cellules immunitaires sur le site de l'infection (*Iwasaki and Medzhitov, 2004*).

Suite à la découverte des PRRs, une question subsistait toujours quant au lien entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. En effet, dans le cas où les cellules immunitaires innées ne pourraient vaincre le pathogène après l'engagement de leur PRR, le signal activant l'immunité adaptative restait inconnu. Ce n'est que lors de la découverte d'une population cellulaire nommée « Cellule Dendritiques » ou DCs que le pont entre les deux pans du système immunitaire fut déterminé.

II/Les Cellules Dendritiques

Les DCs ont été découvertes en 1973 par l'équipe du professeur Ralf Steinman (*Steinman and Cohn, 1973*), et ce travail fut couronné du prix Nobel en 2011. Les DCs expriment différents PRR qui, suite à leur engagement vont déclencher l'activation de ces cellules immunitaires et leur maturation aboutissant à la reconnaissance et la prise en charge du pathogène par endocytose ou phagocytose (*Banchereau et al., 2000*). Les DCs présentent les antigènes au niveau de leurs molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité ou « CMH » de type I ou II. En parallèle, elles migrent jusqu'aux organes lymphoïdes secondaires suite à l'expression de molécules d'adressage telles que le CCR7 (*Caux et al., 2000*). Les DCs sont également capables de produire plusieurs types de cytokines pro-

inflammatoires leur permettant d'orienter les réponses immunitaires selon le type de pathogène rencontré. Le panel de cytokines produit allant de l'interféron de type I (IFN I) à diverses chémokines, attire différents effecteurs immunitaires (NK, monocytes, lymphocytes T et B) nécessaires à l'endiguement rapide de l'agent infectieux (*Ueno et al., 2007*). En parallèle, la morphologie des DCs est modifiée afin de les faire gagner en mobilité et elles perdent leur capacité d'endocytose et de phagocytose. Enfin, l'expression des molécules du CMH-I et II ainsi que des molécules de costimulation telles que CD80, CD83, CD86 est augmentée ce qui est nécessaire à une activation optimale des lymphocytes T. Ces changements leur confèrent un état dit « mature » et optimisent leur capacité de présentation antigénique (*Steinman, 1998; Ueno et al., 2007*). Une fois la migration dans les organes lymphoïdes secondaires effectuée, les DCs continuent de sécréter des cytokines attirant les LB et LTs. Elles entrent alors en contact direct avec les cellules lymphoïdes naïves présentes dans le ganglion drainant le site de l'infection. Les DCs vont stimuler les lymphocytes T par l'action combinée de i) la présentation des antigènes par le CMH aux récepteurs des LTs ou « TCR » ii) l'interaction du récepteur CD28 des LTs aux molécules de costimulation iii) la production de cytokines. Cela conduit à l'activation et la prolifération des LTs: les réponses immunitaires adaptatives sont alors enclenchées (*Mellman, 2013*).

Les DCs sont aussi reconnues pour leur rôle dans l'homéostasie et le maintien de la tolérance périphérique (*Audiger et al., 2017*). Afin d'induire l'anergie des LT autoréactifs, les DCs immatures non-activées sont capables de présenter à ces lymphocytes des antigènes du soi afin d'induire l'anergie de cette population (*Steinman, 1998; Ueno et al., 2007; Dress, Wong and Ginhoux, 2018*).

D'autre part, les DCs matures activées peuvent elles aussi induire une expansion de LTs régulateurs de par leurs sécrétions de cytokines immuno-

modulatrices (IL-10) et de par l'expression de marqueurs phénotypiques adaptés tels que PD-L1 (*Gregori et al., 2010*).

Les études successives et l'avènement des techniques d'analyse en cellules uniques ont révélées que les DCs étaient constituées de populations cellulaires hétérogènes avec des fonctions spécifiques. Comme nous le verrons dans la suite de ce manuscrit, il est maintenant admis que les principales grandes familles de DC sont les DCs conventionnelles (cDCs), initialement baptisées DC myéloïdes ou mDC, les DC3, les DC plasmacytoïdes (pDCs), et les DCs de Langherans qui sont retrouvées dans la peau (*Collin, McGovern and Haniffa, 2013*). À ces populations s'ajoutent les pré-DCs sur lesquelles porte cette thèse. Ces populations cellulaires seront détaillées dans les parties suivantes de ce manuscrit.

a) Ontogénie des cellules dendritiques

L'étude de l'ontogénie des DCs est principalement menée grâce à l'utilisation du modèle murin, et l'étude de l'ontogénie des DCs humaines n'est permise que lors d'expériences *in vitro*. Malgré cela, il est considéré que les voies de développement des DCs sont relativement bien conservées entre ces deux espèces (*Dutertre, Wang and Ginhoux, 2014*). Les DCs proviennent d'une succession de différenciations de précurseurs prenant principalement place dans la moelle osseuse et en partie dans les tissus. Les cellules souches de la moelle osseuse exprimant le marqueur CD34 se différencient en « *lymphoid-primed multipotential progenitors* » ou LMPP. Ces précurseurs peuvent à la fois mener à la différenciation vers la voie lymphoïde ou vers la voie myéloïde grâce à la forte expression du facteur PU.1. Une fois engagés dans la voie myéloïde, les LMPP se différencient en *précurseur de macrophage et de DC* (MDP), qui, sous l'action du « *macrophage colony-stimulating factor* » ou MCSF et du « *FMS-like tyrosine kinase 3 ligand* » FLT3L perdent leur capacité à se différencier vers la voie monocyttaire et s'engagent alors vers la voie des DCs grâce à la différenciation en *précurseur commun aux*

cellules dendritiques ou CDP (Liu et al., 2009; Onai et al., 2013; Breton et al., 2015; Lee, Breton, Aljoufi, et al., 2015; Lee, Breton, Oliveira, et al., 2015; Cytlak et al., 2020). Les CDP, retrouvés dans la moelle, pourraient alors s'engager soit vers un devenir en DCs plasmacytoïdes, soit vers la voie des DCs conventionnelles (voir *Figure 1*) (Liu et al., 2009). Comme cela sera mentionné plus tard dans ce manuscrit, ce sont les expressions des facteurs de transcription E2-2 et id2 qui mèneront à la différenciation en pDCs ou en cDCs respectivement (Cisse et al., 2008; Scott et al., 2016). Malgré plusieurs études montrant le potentiel de différenciation des CDP en pDCs, l'ontogénie des pDCs n'est pas encore claire. Différentes études suggèrent que ces cellules pourraient en fait provenir directement de la différenciation des « *Hematopoietic Multipotent Progenitors* » ou MPP en « *Common Lymphoid progenitor* » CLP, suggérant alors l'appartenance des pDCs au pan lymphoïde et non myéloïde (Shigematsu et al., 2004; Onai et al., 2013; Dress et al., 2019; Ziegler-heitbrock et al., 2022).

Depuis plusieurs années, il est proposé qu'un précurseur des cDCs (pré-cDC), déjà, ou non, pré-engagé vers un destin cDC1 ou cDC2, soit retrouvé dans la moelle osseuse, mais aussi dans le sang périphérique (Naik et al., 2006; Jongbloed et al., 2010; Schlitzer, McGovern and Ginhoux, 2015; Ma et al., 2019). Ces pré-cDCs seraient alors capables de se différencier en cDC1 sous l'action du facteur de transcription IRF8, ou en cDC2 grâce à l'expression d'IRF4 une fois localisées dans les tissus (Liu et al., 2009; Ma et al., 2019).

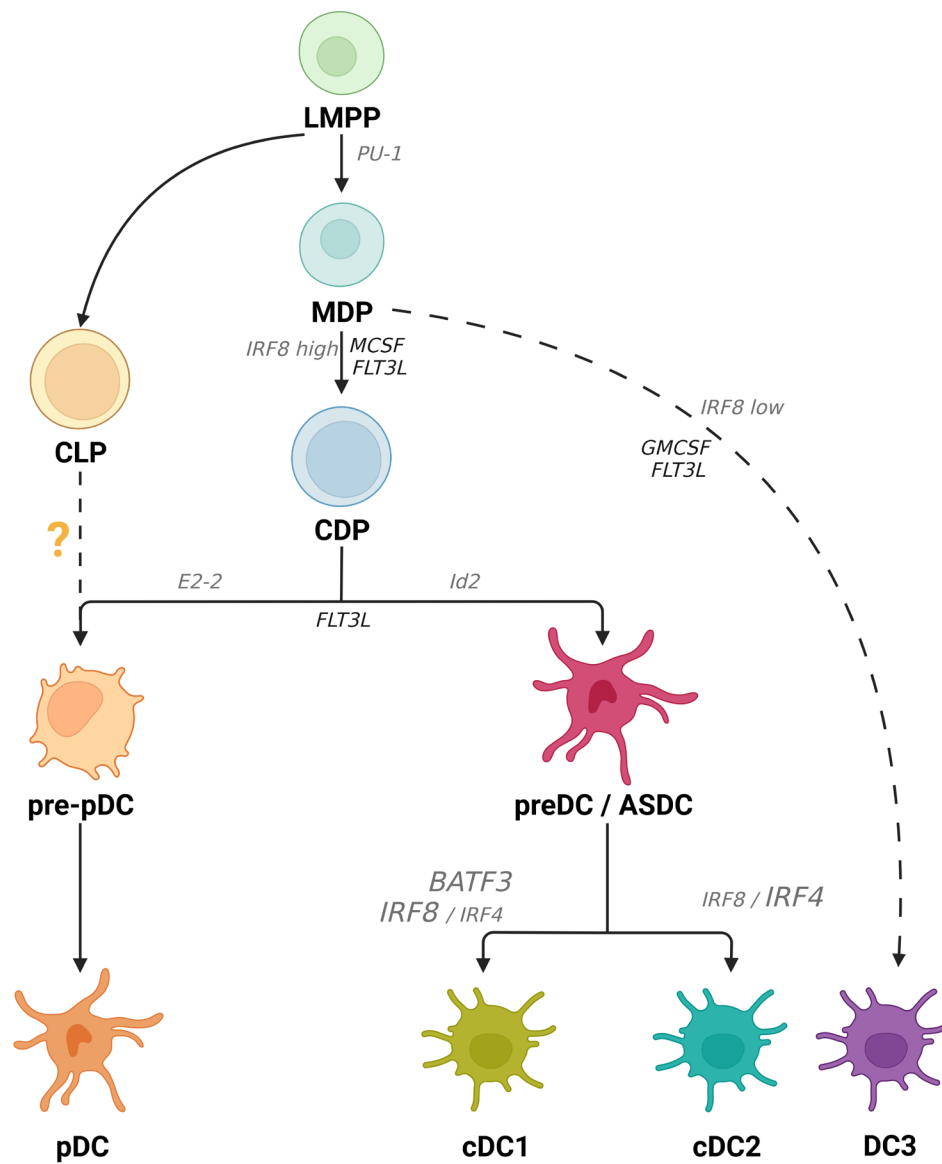


Figure 1: Ontogénie des cellules dendritiques
 Figure réalisée à l'aide de BioRender (2022).

b) Nomenclature des sous-populations de cellules dendritiques

En premier lieu, la nomenclature des DCs était seulement axée sur le phénotype extracellulaire des DCs et leur morphologie (*Dzionek et al., 2000; Macdonald et al., 2002; Ziegler-Heitbrock et al., 2010*), mais la classification se base aujourd'hui davantage sur le rôle, le phénotype, l'ontogénie et la localisation des sous-populations de DCs. Nous nous concentrerons sur les cDCs et les pDCs dans un premier temps dans cet écrit.

Les cDCs sont considérées comme étant les DCs présentatrices d'antigène par excellence, et ce rôle leur est possible grâce à leur forte expression des molécules du CMH-II comme le HLA-DR et des molécules de co-stimulation. Phénotypiquement, elles se différencient principalement des pDCs par l'expression des marqueurs CD11c et CD1c et l'absence du récepteur à l'IL3 appelé CD123. Deux sous-populations différentes phénotypiquement et fonctionnellement sont connues : les cDC1 et les cDC2 (*Dzionek et al., 2000; Macdonald et al., 2002*). La reconnaissance du pathogène par les cDCs est à l'origine de la production d'un panel de cytokines pro-inflammatoires (IL6, IL-12, IL15, IL23, TNF- α , IL1b, IFN lambda) afin de potentialiser au maximum la réponse immunitaire.

1. Les cellules dendritiques conventionnelles de type 1

Les cDC1, ont été identifiées par caractérisation phénotypique par cytométrie en flux et grâce aux méthodes de RNA-seq au sein des PBMCs du sang, du foie, du poumon, de la peau, mais aussi dans les organes lymphoïdes secondaires tels que la rate, les ganglions et les amygdales (*Lindstedt, Lundberg and Borrebaeck, 2005; Jongbloed et al., 2010; Poulin et al., 2010*). D'autres analyses transcriptomiques menées entre l'Homme et la souris ont montrés que les cDC1 humaines étaient l'équivalent des DCs murines exprimant le CD8a grâce à l'expression similaire de gènes tels que TLR3 et la *nectin-like molecule-2* « Necl2 » entre les deux espèces (*Robbins et al., 2008; Poulin et al., 2010*).

Développement des cDC1

Le développement des cDC1 à partir des précurseurs hématopoïétiques est décrit comme étant dépendant de l'expression du facteur de transcription BATF3 (Basic Leucine Zipper ATF-Like Transcription Factor 3) et pour le moment, seule son invalidation lors d'expériences in vitro prévient le développement de cDC1 (*Poulin et al., 2010*). A travers l'étude de l'ontogénie des DCs par l'utilisation du modèle murin, mais aussi grâce aux analyses en cellules uniques, il a été démontré que la différenciation des précurseurs vers un phénotype de cDC1 requiert l'expression des facteurs de transcriptions IRF8 et BATF3 (*Hsu et al., 2016; Lee et al., 2017; Ma et al., 2019; Kim et al., 2020; Bjaana et al., 2016; Durai et al., 2019*).

Phénotype et localisation des cDC1

Chez l'Homme, les cDC1 ont été retrouvées dans le sang, mais aussi en plus grande proportion dans plusieurs organes lymphoïdes secondaires comme la rate, les amygdales ou encore le thymus (*Haniffa et al., 2012; Nizzoli et al., 2013; Heidkamp et al., 2016*). Leur présence dans les tissus non lymphoïdes tels que le foie et les poumons a également été décrite (*Lavin et al., 2017*). Les cDC1 représentent une part de 0.03-0.08% des PBMC humains totaux (*Dzionek et al., 2000; Jongbloed et al., 2010*).

Les cDC1 humaines expriment de manière caractéristique les molécules BDCA-3 (« *Blood Dendritic Cell Antigen* ») ou CD141, ainsi que le CD11c, la molécule d'adhésion cellulaire 1 « *CADM1* » (ou NECL2), CLEC9a (« *C-type Lectin domain containing 9a* ») et le XCR1 (« *X-C Motif Chemokine Receptor 1* ») en conditions physiologiques (*Dzionek et al., 2000; Macdonald et al., 2002; Bachem et al., 2010; Jongbloed et al., 2010; Poulin et al., 2010, 2012*).

Propriétés fonctionnelles et rôles des cDC1

Le TLR3, exprimé dans les endosomes, est le PRR majoritairement exprimé par les cDC1, mais cette sous-population de DCs exprime aussi le TLR10 ainsi que les TLR1/2/6/8, mais de manière plus faible (*Hémont et al., 2013*). L'expression particulière du TLR3, permettant la reconnaissance des molécules d'ARN double brin, confère à la cDC1 un rôle particulier dans l'immunité antivirale. En effet, afin de pouvoir activer ce TLR, la cDC1 a besoin d'endocyter des éléments viraux exogènes : c'est le cas lorsque les cellules infectées ou nécrotiques sont phagocytées par les cDC1 afin de permettre leur destruction. Cette capacité leur permet de procéder à la présentation croisée des antigènes exogènes aux LT CD8⁺ via le CMH de type I et qui entraînent l'activation de LT CD8⁺ spécifiques du pathogène (*Bachem et al., 2010; Jongbloed et al., 2010; Poulin et al., 2010; Mittag et al., 2011; Haniffa et al., 2012; Segura et al., 2012; Segura, Durand and Amigorena, 2013; Chiang et al., 2016*). Grâce à cette capacité, les cDC1 sont capables de présenter les antigènes à la fois aux LT CD8⁺ via les molécules de CMH-I, mais aussi aux LT CD4, grâce à l'expression du CMH-II.

Afin d'induire une activation optimale des lymphocytes T, les cDC1 doivent exprimer les molécules de costimulations nécessaires à la formation de la synapse immunologique et ainsi l'induction de voies de signalisation soutenues dans la cellule T. Il a ainsi été démontré que suite à la stimulation du TLR3, les cDC1 augmentaient significativement leurs expressions des molécules CD80, CD86 et CD40 et étaient aussi dotées de fortes capacités migratoires (*Bachem et al., 2010; Jongbloed et al., 2010; Hémont et al., 2013; Colletti et al., 2016; Heidkamp et al., 2016*).

Outre l'activation des lymphocytes T, les cDC1 produisent massivement des cytokines en charge du recrutement des médiateurs de l'immunité sur les sites de l'infection et de la potentialisation de l'activation des lymphocytes. Les cDC1 sont

capables de produire de l'IL-12 qui permet l'induction de la production d'IFN- γ par les cellules NK entre autre, et entraîne une réponse de type Th1 (*Jongbloed et al., 2010; Poulin et al., 2010; Hémont et al., 2013*). D'autre part, la population de cDC1 représente la principale source d'IFN de type III, composée des IFN- λ 1 (IL-29), IFN- λ 2 (IL-28A) et les IFN- λ 3 (IL-28B) (*Sheppard et al., 2003*). Les IFN de type III sont reconnus pour leurs activités antitumorales et antivirales, bien que moins fortes que celles des IFNs de type I (*Lauterbach et al., 2010; Nizzoli et al., 2013*). Les IFN de type III semblent augmenter les capacités migratoires des DCs lors d'expériences ex-vivo de par l'induction de l'expression de la molécule d'adressage CCR7 à la surface des DCs (*Hsu et al., 2016*).

2. Les cellules dendritiques conventionnelles de type 2

Les cDC2 représentent la population de DC la plus abondante retrouvée dans le sang et les tissus (*Dzionek et al., 2000; Macdonald et al., 2002; Ouaguia et al., 2019*).

Développement des cDC2

Les cDC2 se différencient à partir des mêmes précurseurs que ceux présentés pour les cDC1. La balance de l'expression des facteurs de transcription IRF4 / IRF8 en faveur d'IRF4 est nécessaire à l'orientation de la différenciation des CDP vers la voie des cDC2 (*Cytlak et al., 2020; Kim et al., 2020*).

Phénotype et localisation des cDC2

La signature phénotypique des cDC2 est caractérisée par une forte expression du CMH-I et du CMH-II, mais aussi du marqueur CD1c (BDCA1) quel que soit le tissu (*Heidkamp et al., 2016; Sittig et al., 2016; See et al., 2017*). Elles partagent l'expression commune des marqueurs CD33 et CD11c avec les cDC1 et expriment spécifiquement le CD172a (ou SIRP1a) (*Macdonald et al., 2002*). Des analyses transcriptomiques ont permis de mettre en évidence une expression spécifique du récepteur inhibiteur connu sous le nom de LILRB3 ainsi que le CLEC10A par les cDC2

(Schütz and Hackstein, 2014; Heger et al., 2018). Bien que les cDC2 expriment moins de molécules de costimulation et de maturation que les cDC1, les cDC2 augmentent tout de même leur niveau d'expression de molécules de costimulation (CD40, CD80, CD83, CD86, ainsi que le HLA-DR) lorsque celles-ci entrent dans les organes lymphoïdes secondaires afin d'y remplir leur rôle de cellules présentatrices d'antigènes (Sittig et al., 2016).

Propriétés fonctionnelles et rôles des cDC2

Les cDC2 sont définies comme étant des cellules présentatrices d'antigènes sensibles aux infections virales comme le virus influenza, le VIH (Silvin Aymeric et al., 2017). Il est proposé que cette susceptibilité puisse être due à une expression différentielle de programmes génétiques comparée aux cDC1. Excepté le TLR9, les cDC2 sont décrites comme exprimant tous les TLR (Hémont et al., 2013) ce qui leur attribue la possibilité de détecter un grand nombre de signaux de danger. Selon le PRR activé, les signaux intracellulaires mènent à la production d'une pléiade de cytokines telles que les IL-1, l'IL6, l'IL10, l'IL23 ou encore le TNF- α (Nizzoli et al., 2013; Jin et al., 2014; Sittig et al., 2016). De plus, plusieurs travaux ont montré que, bien que la production de la forme active de l'interleukine 12, l'IL12p70, soit communes aux DC conventionnelles, les cDC2 se voyaient être plus efficaces que les cDC1 dans ce rôle sous certaine condition (Mittag et al., 2011; Nizzoli et al., 2013; Durand et al., 2019). Cette diversité de production cytokinique place les cDC2 au cœur de la régulation de la mise en place des réponses immunitaires et montre que les cDC2 possèdent une certaine plasticité fonctionnelle.

Outre la production de cytokines, les cDC2, à l'instar des cDC1, sont dotées de la capacité de présenter l'antigène à la fois aux LT CD4⁺, mais aussi aux LT CD8⁺ via le mécanisme de présentation croisée décrit précédemment (Mittag et al., 2011; Segura et al., 2012; Nizzoli et al., 2013; Segura, Durand and Amigorena, 2013; Segura and Amigorena, 2014; Chiang et al., 2016).

Les DC3

Récemment, des études en cellule unique à haute dimension ont permis de mettre en évidence une hétérogénéité cellulaire au sein de la population de monocytes CD14⁺ et ainsi d'identifier une nouvelle sous-population de DC (*Villani et al., 2017; Dutertre et al., 2019*). Cette nouvelle population de DC, nommée DC3, est retrouvée dans le sang, la moelle osseuse, la rate et le derme. Elle s'expand en conditions pathologiques/inflammatoires, et exprime le marqueur CD14, qui était jusqu'alors associé aux monocytes (*Bakdash et al., 2016*). Après exclusion des monocytes grâce au marqueur CD88, on retrouve les populations de cDC2 et de DC3 grâce à l'expression différentielle des marqueurs CD5 et CD14 au sein de la population HLADR⁺ CD1c⁺ (*Marongiu et al., 2021*). Suite à la découverte de cette sous-population de DC3, une nomenclature plus affinée a été mise en place après avoir observé que les DC3 exprimaient un continuum d'expression des marqueurs CD163 et CD14 selon l'état inflammatoire (*Bourdely et al., 2020; Cytlik et al., 2020*). Les DC3 non-inflammatoires seraient les cellules CD1c⁺ CD5⁻ CD163^{low} CD14^{low} tandis que les DC3 les plus inflammatoires seraient les cellules CD1c⁺ CD5⁻ CD163^{high} CD14^{high} (*Marongiu et al., 2021*).

De plus, au cours de ces deux dernières études, les équipes ont montré que les DC3 provenaient d'une voie de différenciation, différente de celle des cDC2. Les DC3 se différencient à partir des progéniteurs de granulocytes/monocytes et de cellules dendritiques (GMDP). Comme cela a été vu pour les cDCs, les DC3 dépendent de l'expression d'IRF8, mais dans leur cas, les GMDP doivent présenter une faible concentration d'IRF8 afin de s'orienter vers la voie des DC3 (*Cytlik et al., 2020*). Enfin, il semblerait que seul le GMCSF soit nécessaire à la différenciation des DC3 (*Bourdely et al., 2020*).

Au cours des études précédentes menées sur les DC3, une controverse reste encore à résoudre au sujet des capacités fonctionnelles des DC3 et particulièrement

leur rôle propre dans l'orientation des réponses des LTs helper (LTh) et LT CD8⁺. Cette nouvelle population de DC3 a pour l'instant seulement été proposée comme activant fortement les LT CD8⁺.

3. Les cellules dendritiques plasmacytoïdes

Au moment de la découverte des pDCs, ces cellules ont d'abord été nommées « monocytes plasmacytoïdes » ou même « Lymphocytes T plasmacytoïdes » en raison de leur morphologie. Ce nouveau type de monocyte était décrit comme produisant de l'interféron de type I (IFN-I) et infiltrant les tissus inflammés instaurant ainsi un état protecteur contre les infections virales (*Facchetti et al., 1988; Cella et al., 1999*). Au même moment, Siegal et al décrivaient un type cellulaire nommé *IFN producing cells* ou IPC exprimant les récepteurs CD4 et le CMH II, mais pas le CD11c (*Siegal et al., 1999*).

Développement des pDCs

Suite à la découverte des pDCs dans le sang, il a été observé qu'une population de cellules sanguines et retrouvée dans les amygdales était capable de se différencier en pDCs après l'ajout d'IL3 (facteur de croissance des pDCs) et de CD40L (*Grouard et al., 1997*). Plus tard, il a été montré que le développement des progéniteurs communs (CDP) présents dans la moelle osseuse vers un phénotype de pDC reposait sur l'expression du facteur de transcription E2-2 orientant la différenciation des CDPs vers le linéage des pDCs (*Cisse et al., 2008*). Des études de développement des DCs dans le modèle murin ont permis de démontrer que la perte de ce facteur à lui seul engendrait une absence de développement de pDC au sein de l'organisme, mais l'expression d'E2-2 n'est pas suffisante pour permettre une différenciation des CDP vers un phénotype de pDC. L'engagement du récepteur CD135, aussi connu sous le nom de FLT3 par son ligand FLT3L est de ce fait essentiel à la régulation de la différenciation des CDP (*Waskow et al., 2008*).

Phénotype et localisation des pDCs

Les pDCs sont dotées d'une morphologie très spécifique ce qui leur a d'ailleurs donné leur nom. Contrairement aux cDCs, les pDCs non activées sont plutôt rondes et comparables à un plasmocyte, leur noyau est excentré et leur réticulum endoplasmique et leur appareil de Golgi sont très développés. Une fois activées, elles acquièrent une morphologie proche des cDCs avec une apparition de dendrites leur permettant de potentialiser la présentation antigénique aux LTs (*Grouard et al., 1997; Siegal et al., 1999*).

Les pDCs représentent entre 0,2 à 0,8% des PBMC totaux du sang et sont retrouvées à la fois dans le sang, la moelle osseuse, les muqueuses et les tissus lymphoïdes (*Sozzani et al., 2010*). Au fur et à mesure des années, les connaissances sur leur phénotype se sont améliorées. Les premières études ont montré qu'elles étaient caractérisées par une absence d'expression des récepteurs spécifiques des lymphocytes (CD3, CD19, CD20), des monocytes (CD14), des NK (CD16 et CD56) et des cDCs (CD11c et CD33) et une forte expression des récepteurs CD45RA, HLA-DR, CD4, LILRB4 et CD123 (*Grouard et al., 1997; Collin, McGovern and Haniffa, 2013; Li, Cheng and Su, 2021*). À ces marqueurs s'ajoute l'expression de marqueurs connus comme étant spécifiques des pDCs : le BDCA-2 (ou CD303) et LILRA4 (ou ILT7) (*Bao and Liu, 2013; Li, Cheng and Su, 2021*). Il est à noter qu'au repos, le niveau d'expression du CMH II est tout de même plus faible que celui retrouvé à la surface des cDCs. Une fois activées, les pDCs voient l'expression du CMH-II ainsi que des molécules de costimulation CD80 et CD86 augmenter.

Propriétés fonctionnelles et rôles des pDCs

L'expression endosomale des TLR7 et TLR9 confèrent aux pDCs la capacité de reconnaître les acides nucléiques d'origine virale ou bactérienne, et tout particulièrement les ARN simples brins pour le TLR7 et l'ADN doubles brins pour le TLR9 (*Cella et al., 1999; Ito, Wang and Liu, 2005; Bao and Liu, 2013*). L'engagement

de ces PRR entraîne l'activation de différentes voies de signalisation intracellulaires menant à la maturation des pDCs et la production de fortes quantités de cytokines. En outre, les pDCs sont reconnues comme étant les principales cellules productrices d'IFN de type I, qui vont activer la production de gènes stimulés par les interférons « ISG » et induire ainsi l'instauration d'un arsenal de molécules antivirales. Cette capacité, alliée à leur expression spécifique de TLR endosomaux, leur attribue un rôle important dans les réponses immunitaires anti-virales. Bien qu'elles produisent majoritairement de l'IFN de type 1, elles restent capables de produire d'autres cytokines pro-inflammatoires comme l'IL6, l'IL-12 et du TNF- α ainsi que des chémokines permettant le recrutement de cellules immunitaires sur le lieu d'infection telles que les cellules NK et les lymphocytes T et B (*Villadangos and Young, 2008; Martín-Moreno and Muñoz-Fernández, 2019; Li, Cheng and Su, 2021*).

La maturation des pDCs implique non seulement d'augmenter l'expression des molécules de costimulation nécessaires à l'activation des LTs, mais aussi d'exprimer le récepteur CCR7 qui conduit à la migration vers les organes lymphoïdes secondaires (*Brandum et al., 2021*).

Bien que la présentation antigénique et l'activation des cellules T incombent principalement aux cDCs, les pDCs ont longtemps été décrites comme étant tout de même des cellules présentatrices d'antigène (CPA) (*Villadangos and Young, 2008*). Dans le cadre de l'infection par le VIH, les pDCs se dotent de la capacité à stimuler les LT CD4⁺ naïfs grâce à l'expression du CMH-II, bien que cette stimulation soit moins efficace que celle engendrée par les cDCs (*Fonteneau et al., 2004; Tel et al., 2013*). D'autre part, sachant que les pDCs expriment également la molécule de CMH de type I, elles seraient aussi capables de présenter des antigènes provenant d'exosomes ou de corps apoptotiques et d'activer ainsi les LT CD8⁺ (*Di Pucchio et al., 2008; Bastos-Amador et al., 2012*).

La capacité des pDCs à activer les LT grâce à la présentation antigénique reste encore malgré tout aujourd'hui discutée. La découverte d'une nouvelle population de DC, nommée **pré-DCs** (ou encore AS-DC ; tDCs) au sein des pDCs a mené à la discussion des fonctions propres aux pDCs (*See et al., 2017; Villani et al., 2017*). Ces nouvelles cellules seront présentées plus longuement dans la prochaine partie, mais il faut savoir que durant plusieurs années, la population de « pDC » était régulièrement décrite comme étant hétérogène (*Matsui et al., 2009; Zhang et al., 2017*). Des expériences visant à séparer des pré-DCs des pDCs ont montré que les pDCs ne semblaient finalement pas capables d'induire une prolifération optimale de la part des lymphocytes T (*See et al., 2017*).

Malgré cela, de nouvelles études réalisées sur des pDCs « pures », après avoir exclue les pré-DCs, mettent en évidence que suite à une activation ex vivo des pDCs, 3 sous-populations de pDCs ayant des fonctions distinctes sont retrouvées (*Alculumbre et al., 2018*). En effet, deux sous-populations de pDCs exprimant le récepteur PD-L1 sont responsables de la production massive d'IFN de type I, alors qu'une autre sous-population de pDC PD-L1⁻ est capable de procéder à la présentation antigénique, mais pas de produire d'interféron.

c) Les pré-DCs

Bien que les DCs soient étudiées depuis plusieurs années, il aura fallu attendre l'évolution des technologies d'analyses en haute dimension de cellules uniques pour atteindre une caractérisation plus précise des différentes sous-populations cellulaires et de leur ontogénie. Ces analyses en cellule unique ont permis d'affiner la nomenclature susmentionnée (*Chen et al., 2021*). Avant 2017, la population dite de « pDC » était connue comme hétérogène due à une sous-population de cellules exprimant le CD2, le CD81 et l'AXL, produisant de l'IL-12p70 et étant capable de stimuler de manière allogénique les LT CD4⁺ (*Matsui et al., 2009; Yu et al., 2015; Zhang et al., 2017*).

En 2017, plusieurs études transcriptomiques en cellule unique conduites chez l'Homme et validées par des études en cytométrie de masse, ont permis de caractériser une population de cellules précurseurs des cDCs dans le sang périphériques, mais aussi dans les tissus bien différentes des pDCs: les **pré-DCs ou ASDC** selon l'auteur (*Alcántara-Hernández et al., 2017; See et al., 2017; Villani et al., 2017*). Les pré-DCs humaines représentent jusqu'à 2 à 3% des DCs totales et expriment spécifiquement les récepteurs AXL et SIGLEC-6 ce qui a conduit au choix de leur seconde dénomination « ASDC ». Ces études ont permis de montrer que les pré-DCs partageaient à la fois des caractéristiques avec les pDCs et les cDCs (*See et al., 2017; Villani et al., 2017*). Sur le plan phénotypique, les pré-DCs humaines expriment à la fois les récepteurs CD45RA et le CD123 retrouvés à la surface des pDCs, mais aussi le CD11c et CD33, caractéristiques des cDCs. Outre les marqueurs CD2, CD81, AXL et Siglec-6, d'autres marqueurs ont été identifiées à la surface des pré-DCs tels que Siglec-1 (ou CD169) et CD5 (*Dutertre et al., 2019*).

Sur le plan fonctionnel, en plus de la production d'IL-12p70 et l'allostimulation des LTs, la culture in vitro sur cellules stromales de pré-DCs en présence de FLT3L mène préférentiellement à une différenciation de ces cellules vers un phénotype de cDC2 (*See et al., 2017; Villani et al., 2017*). Ces résultats, ajoutés à ceux obtenus grâce aux analyses des transcrits des pré-DCs ont mené à la conclusion que les pré-DCs étaient des précurseurs de cDCs provenant de la moelle osseuse qui sont retrouvés dans le sang et dans les organes lymphoïdes secondaires (*See et al., 2017; Villani et al., 2017*).

Une population de précurseurs de cellules dendritiques avait déjà été isolée quelques années auparavant chez la souris sans qu'une dénomination soit établie. Il était décrit que les DCs se renouvelaient grâce à des progéniteurs présents dans les tissus et que des précurseurs des cDCs étaient présents à la fois dans la moelle osseuse, mais aussi dans le sang et la rate des souris (*Naik et al., 2006; Liu et al.,*

2007). Les précurseurs des cDCs seraient ainsi produits dans la moelle osseuse des souris, et seraient déjà préorientées vers un destin cDC1 ou cDC2. Ils se différencieraient ensuite en cDCs matures dans les organes après s'y être implantées (*Schlitzer et al., 2015*). En même temps que la mise en évidence, citée précédemment, de progéniteurs circulants des cDCs dans le modèle murin, des études montraient l'existence d'une population équivalente, les *pré-cDC*, dans le sang et les tissus humain (*Breton et al., 2015; Lee, Breton, Oliveira, et al., 2015*). Ces cellules, exprimant le marqueur CD34, seraient alors des progéniteurs plus précoces des cDC que les pré-DC susmentionnées (*See et al., 2017; Villani et al., 2017*). Des analyses en cellules uniques supplémentaires pourraient déterminer la relation ontogénique entre les *pré-cDC* et les pré-DCs.

De plus, une combinaison des analyses CyTOF et transcriptomiques effectuées par l'équipe de Leylek et al. a permis de définir clairement l'orthologue murins des pré-DCs humaines AXL⁺ Siglec-6⁺ (*Leylek et al., 2019*). Les cellules en question, nommées **tDCs** pour *transitional* DC, ne produisent pas d'IFN- α et leur développement est dépendant du facteur *TCF4*. Il a été proposé par les auteurs de cette étude que les tDCs seraient une population à forte plasticité qui formerait un pont entre les pDCs et les cDCs du fait des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles partagées par les pré-DCs avec ces deux populations. Ces données restent à être étudiées et confirmées chez l'Homme.

Toujours chez la souris, la mise en évidence d'une population cellulaire précurseur des pDCs et cDCs illustre bien le fait que l'ontogénie des DCs est encore mal comprise et que les méthodes d'études chez la souris ne permettent pas de décortiquer totalement les processus de développement des DCs en conditions physiologiques totales (*Cabeza-Cabrerizo et al., 2019; Feng et al., 2022*).

Outre le rôle des pré-DCs dans l'ontogénie des cellules dendritiques, ces cellules immunitaires pourraient jouer différents rôles au cours de situations

pathologiques et notamment au cours d'infections virales. Par exemple, au cours de l'infection de souris par le virus de la grippe, il a été montré que l'infiltration de pré-DCs dans le poumon ainsi que la baisse de production de FLT3L pouvaient être à l'origine de la décroissance transitoire du nombre de cDCs retrouvées dans le poumon observée au cours de l'infection grippale (*Leylek et al. 2019 ; Beshara et al. 2018*). Ces résultats suggèrent donc un rôle important des pré-DCs dans la régulation des réponses immunitaires induites lors des infections virales.

III/ Focus sur les infections par le VIH et modèle d'étude.

a) Le Virus de l'Immunodéficience Humaine

1. Histoire de l'infection au VIH

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) a été découvert en 1983 par une équipe Française (*Barré-Sinoussi et al., 1983*). Ce virus était à l'époque la cause d'une épidémie en Afrique. L'association des données virologiques et historiques, effectuées à la suite de la découverte d'archives de journaux de médecine décrivant des cas de patients souffrant de symptômes que l'on sait maintenant être liés à la phase SIDA, supportent aujourd'hui l'hypothèse selon laquelle l'épidémie serait apparue dès les années 1950 au Congo. La forte diversité virale apparue au Congo suggère que les premières contaminations humaines auraient eu lieu au cours de moments de chasse aux chimpanzés lors desquelles des contacts sang à sang entre humains et chimpanzés auraient eu lieu. En effet, les chimpanzés sont des porteurs naturels de la forme simienne du virus de l'immunodéficience (SIV) (*Hahn et al., 2000*). L'épidémie se serait ensuite répandue suite à la forte augmentation de transfusions sanguines non contrôlées. La diversification des modes de vie et de transports a ensuite joué un rôle crucial dans la dissémination de l'épidémie au niveau mondial, menant à ce que l'on qualifie aujourd'hui de pandémie.

2. Données quantitatives de la pandémie et mode de transmission du VIH

À ce jour, plus de 39 millions de personnes vivent avec le VIH dans le monde et plus de 85 millions ont été infectées depuis le début de la pandémie. Le virus est responsable de plus de 40 millions de décès suite aux maladies liées au Syndrome d'Immunodéficience Acquisée « SIDA » et malgré toute la prévention mise en œuvre au cours des dernières années, 1,5 millions de personnes ont été nouvellement infectées en 2021. Bien que la majorité des infections soient effectuées lors de relations sexuelles non protégées (80%) (*Deeks et al., 2015*), la transmission materno-fœtale représente encore aujourd'hui un risque important d'infection, obligeant 1.7 millions d'enfants à vivre avec l'infection à ce jour.

Ces données, associées au fait qu'il est estimé que seulement 85% des personnes infectées connaissent leur statut sérologique, font de l'infection par le VIH un très fort enjeu de santé publique. (*Données récoltées sur le site UNAIDS le 25/08/2022*)

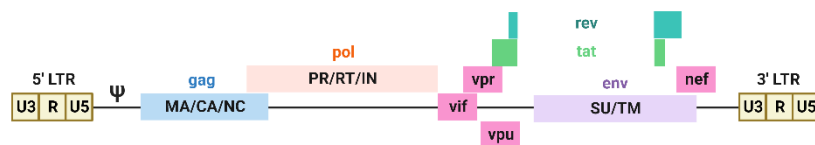
3. Étiologie et structure virale

Le VIH appartient à la famille des Rétrovirus et au genre Lentivirus. C'est un virus enveloppé à ARN positif simple brin capable d'intégrer son matériel génétique dans le génome de l'hôte. Deux types de VIH sont décrits à ce jour : le VIH de type 1 (*Barré-Sinoussi et al., 1983*) et le VIH de type 2 (*Clavel et al., 1986*). Le VIH1 représente le type viral responsable de la majorité des infections à ce jour alors que le VIH de type 2 est principalement retrouvé en Afrique de l'Ouest. Ces deux virus induisent tous deux le syndrome de l'immunodéficience humaine bien que le VIH-2 soit caractérisé par une plus lente progression de la maladie.

Le VIH est composé d'une double couche lipidique formant l'enveloppe virale dérivée de la membrane cytoplasmique de la cellule hôte. Plusieurs glycoprotéines externes sont retrouvées à la surface du virus telles que la gp120 et

la gp41, en charges de la reconnaissance des récepteurs viraux et de l'attachement à la cellule hôte (Turner and Summers, 1999). La capside virale englobe deux copies du génome ainsi que les enzymes nécessaires à l'établissement de l'infection au sein de la cellule hôte (Figure 2).

Génome VIH 1



Particule virale VIH 1

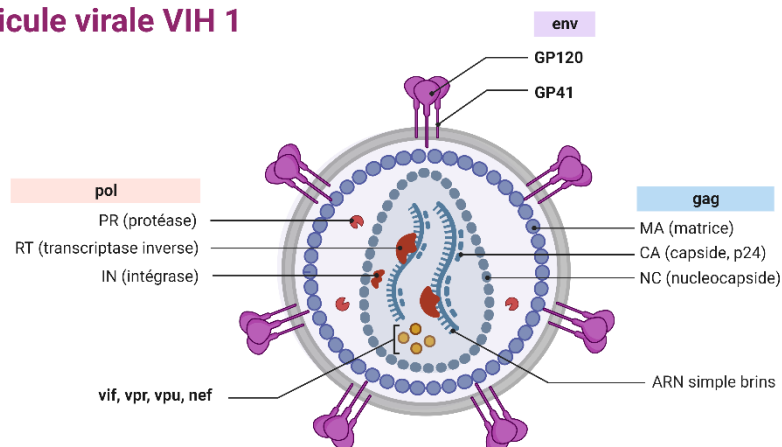


Figure 2: Structure du VIH

(Haut) Structure génomique du VIH. (Bas) Structure des particules virales ou virions du VIH.
Figure adaptée à partir du modèle «HIV-1 Genome and Structure» de BioRender (2022).

4. Récepteurs, co-récepteurs et tropisme cellulaire du VIH

Afin de pouvoir infecter une cellule, la reconnaissance du récepteur du VIH connu comme étant la molécule CD4 est nécessaire (Klatzmann et al., 1984; Turner and Summers, 1999). Ce récepteur de l'hôte est de haute affinité pour les glycoprotéines gp120 du virus et est principalement exprimé par les lymphocytes T CD4 (LT CD4⁺). Le rôle premier du CD4 à la surface des LT CD4⁺ est de se lier aux molécules du CMH-II afin de permettre l'activation du lymphocyte par les cellules

présentatrices d'antigène (*Mcdougal et al., 1986*). A moindre mesure, le CD4 est aussi exprimé par les monocytes, les macrophages et les DCs. Un second point d'attache est nécessaire à l'infection par le VIH et cet amarrage est possible grâce à des co-récepteurs. Les deux principaux co-récepteurs identifiés sont la molécule CCR5 et la molécule CXCR4. Ainsi, différentes souches virales sont décrites comme nécessitant la molécule CCR5 (virus à tropisme R5), la molécule CXCR4 (virus à tropisme X4) ou les deux co-récepteurs en même temps (virus à tropisme R5X4) (*Deng et al., 1996; Dragic et al., 1996*).

Lymphocytes T CD4⁺ : principales cibles du VIH

Les LT CD4⁺ représentent la population cellulaire majoritairement infectée par le virus. Les différentes sous-populations de LT CD4⁺ ne présentent pas les mêmes susceptibilités face à l'infection. Il a e effet été montré que les LT CD4⁺ mémoires des patients infectés par le VIH étaient moins performants à mettre en place une réponse mémoire et que leur nombre était diminué (*Chun et al., 1997; Spina, Prince and Richman, 1997*). Ce phénomène a été expliqué lorsqu'il a été décrit que la réplication virale était bien plus importante au sein de la sous-population des LT CD4⁺ mémoires, connue pour exprimer une forte quantité du co-récepteur CCR5. Par conséquent les LT CD4⁺ mémoires étaient détruits suite aux effets cytopathiques du virus (*Zagury et al., 1986*). Enfin, une autre sous-population de LT CD4⁺ se trouve être une des cibles préférentielles de l'infection : les LT helper folliculaires (TFh) (*Iyer et al., 2017*). Les TFh sont particulièrement présents au sein des centres germinatifs des ganglions, et ils sont décrits comme exprimant de très forts niveaux de CCR5 les rendant ainsi extrêmement susceptibles à l'infection. Ces cellules représentent donc un réservoir important de particules virales au cours de l'infection latente par le VIH (*Iyer et al., 2017*).

De plus, des expériences de stimulation antigénique ont permis de déterminer que l'activation des LT de patients infectés était à l'origine de forts

phénomènes d'apoptose (*Zagury et al., 1986; Groux et al., 1992; Muro-Cacho, Pantaleo and Fauci, 1995*). C'est pourquoi il est maintenant admis que l'activation des lymphocytes T concourt à leur propre destruction suite à l'infection.

Ainsi, la mort des cellules infectées suite à la production de nouvelles particules infectieuses du VIH nommée « virions », mais aussi suite aux phénomènes d'apoptoses incombés à la réplication virale et à la surstimulation des LT infectés participe à la baisse observée des LT CD4⁺ dans la circulation sanguine des patients. De plus, cette surstimulation a aussi le pouvoir de rendre les lymphocytes anergiques.

Monocytes / Macrophages

Au sein des cellules myéloïdes, les macrophages représentent la principale famille de cellules susceptibles à l'infection par le VIH du fait de leur forte expression du co-récepteur CCR5 (*Embretson et al., 1993; Koppensteiner, Brack-Werner and Schindler, 2012*). Bien que la susceptibilité des macrophages à l'infection par le VIH1 soit réduite par leur expression du facteur de restriction SAMHD1, l'expression de ce facteur peut être modulée par le cycle cellulaire induisant une fenêtre de sensibilité à l'infection directe par le VIH (*Hrecka et al., 2011*). Les facteurs de restrictions tels que SAMHD1 seront développés dans le chapitre IV. D'autre part, le rôle de phagocyte des macrophages leur confère la capacité d'endocyter des cellules infectées induisant ainsi leur infection indirecte (*Gobeil, Lodge and Tremblay, 2012*), de plus la présentation antigénique effectuée par des macrophages entraîne la dissémination virale vers les LTs lorsque la création de la synapse immunologique se produit entre un macrophage et un LT. D'autre part, la production de cytokines inflammatoire par les macrophages recrutant les lymphocytes dans les tissus concourt aussi à la dissémination virale.

Les macrophages sont décrits comme étant une population de cellules à longue durée de vie s'implantant dans les tissus afin d'y remplir leur rôle de

sentinelle immunitaire. Dans le cas de l'infection par le VIH, ils sont montrés comme étant résistants à l'effet cytopathique du virus contrairement aux LTs. Une proportion de la population de macrophages se voit donc être susceptible à l'infection, infectée par le virus et non sujet à la mort cellulaire. L'observation d'une telle population cellulaire a mené à l'émergence de la notion de « réservoirs viraux ». En effet, ces cellules présentes dans les tissus ne sont pas aussi sensibles aux traitements antirétroviraux et lorsque les traitements sont interrompus, le virus peut alors se réactiver et induire la progression de la maladie vers le stade SIDA.

Lambotte et al. ont ainsi montré que des macrophages et des monocytes infectés étaient retrouvés chez les patients sous traitement antirétroviral (ART). Les monocytes infectés du sang vont s'implanter dans les tissus afin de s'y différencier en macrophages et ainsi établir les réservoirs viraux (*O Lambotte, Y Taoufik, MG de Goer, C. Wallon, C. Goujard, 2000*).

En ce qui concerne les monocytes, la susceptibilité à l'infection n'est pas homogène entre les 3 sous-populations connues de monocytes. Le niveau plus élevé de molécules CD4 et CCR5 exprimées à la surface des monocytes exprimant le CD16 (monocytes non classiques et intermédiaires) confère à ces deux populations une susceptibilité plus accrue face à l'infection (*Ancuta et al., 2006; Ellery et al., 2007; Han et al., 2009*).

Cellules Dendritiques

Une autre population de cellule immunitaire a été identifiée comme étant une autre cible de l'infection par le VIH : les cellules dendritiques. Les mécanismes impliqués dans cette infection ainsi que les dérégulations engendrées seront présentés en détail dans les chapitres suivants.

Cellules dendritiques dérivées de monocytes (moDC)

Parmi les cellules présentatrices d'antigène connues, une population de cellules nommées moDC pour *Cellules Dendritiques dérivées de Monocytes* a été mise en évidence lors de contextes inflammatoires (León, López-Bravo and Ardavín, 2007). En effet, les monocytes sont décrits comme capables de se différencier en DC inflammatoires, ou moDC, au cours d'expériences *in vitro* mais aussi en condition pathologiques *in vivo* (Segura *et al.*, 2013; Tang-Huau and Segura, 2019). Tout comme les cellules dendritiques, les moDC peuvent capturer le VIH et le transférer aux LT CD4⁺ (Rhodes *et al.*, 2021). Cette capacité peut provenir de leur expression d'un des récepteurs au VIH, le récepteur Siglec-1, qui sera décrit plus tard dans ce manuscrit. D'autres part, les études ont montré que cette population de cellules immunitaires est elle aussi une cible de l'infection par le VIH (Sacchi *et al.*, 2014). Des études supplémentaires sont nécessaires afin de caractériser au mieux la susceptibilité des moDC à l'infection par le VIH car des travaux ont montré que ces cellules exprimaient des facteur de restriction limitant leur infection par le VIH (Ayinde *et al.*, 2015; Chauveau *et al.*, 2015; Rhodes *et al.*, 2021).

5. Cycle de réplication du VIH

Lors de la phase précoce du cycle, le virus reconnaît et se lie aux cellules hôtes. Lorsque la protéine gp120 du virus interagit avec le récepteur cellulaire CD4, cela entraîne un changement conformationnel de la gp120 lui permettant de rentrer en contact avec des co-récepteurs grâce à la gp41 (Figure 3) (Wilén, Tilton and Doms, 2012). L'intégration de la gp41 dans la membrane cellulaire mène à la fusion des membranes, et le virus accède au cytoplasme de la cellule hôte dans lequel il libère son génome. Celui-ci sera intégré au sein des chromosomes de la cellule infectée et les processus de transcription/traduction du génome proviral sont effectués par les mécanismes naturels de la cellule hôte. La dissémination du virus

est alors possible suite à l'assemblage des composants des nouveaux virions et leur relargage dans le milieu extracellulaire (Turner and Summers, 1999).

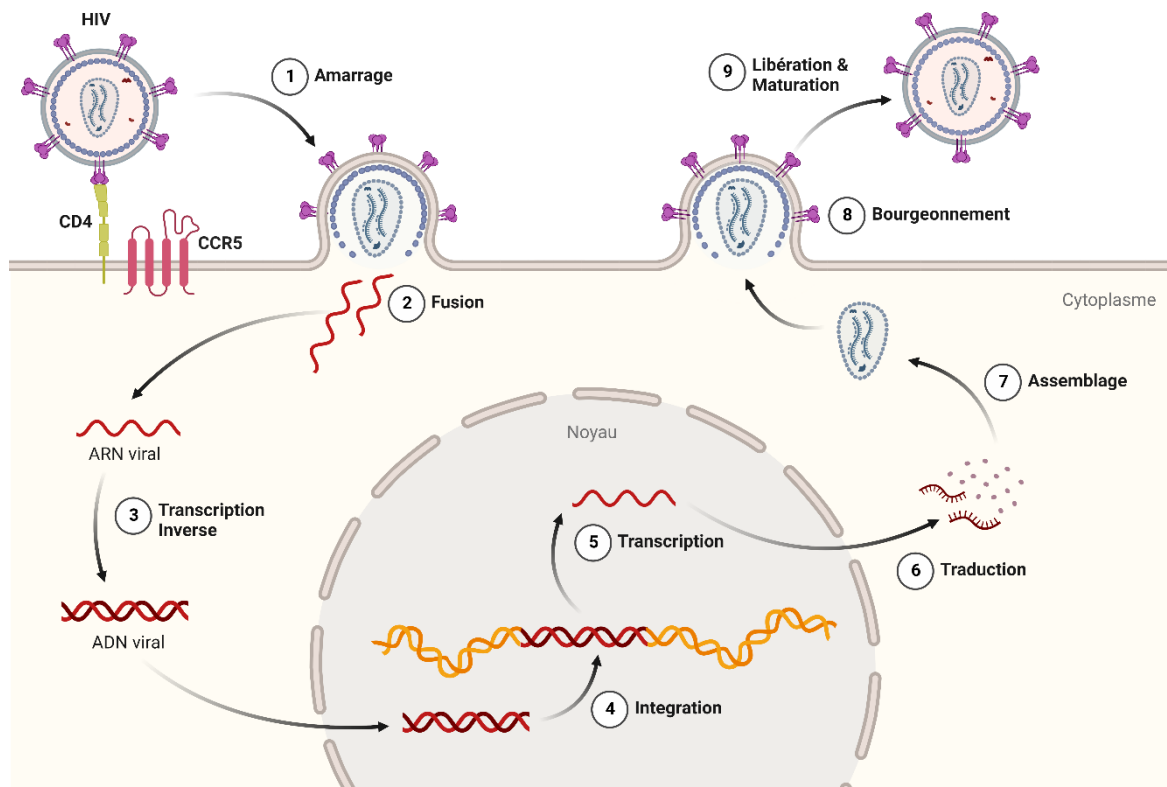


Figure 3: Cycle d'infection et de réplication du VIH

Le virus s'attache à la cellule hôte par la liaison au CD4 et un co-récepteur. Les membranes virales et cellulaires fusionnent par la suite afin de libérer le matériel génétique du virus au sein du cytoplasme de la cellule. L'ARN viral est transcrit par l'action de la transcriptase inverse afin d'obtenir un ADN double brins capable de s'intégrer au sein du génome de la cellule hôte. Suite à la transcription et à la traduction du code génétique, de nouvelles particules virales sont produites et relarguées dans le milieu extracellulaire.

Figure adaptée à partir du modèle «HIV Replication Cycle» de BioRender (2022).

6. Etablissement et stades de l'infection

Une fois entré dans l'organisme, le virus se retrouve dans les muqueuses et il se diffuse très rapidement. Sa prise en charge par les cellules de l'immunité innée, qui sera traitée dans de prochaines parties, contribue à l'adressage du virus vers les organes lymphoïdes secondaires et à la rencontre de ce dernier avec une forte quantité de cellules cibles. La période d'incubation du virus est variable en fonction des patients (*Deeks et al., 2015*). L'infection, qui va rapidement s'étendre à l'organisme, comprend différents stades au cours desquels les niveaux de charge virale et les réponses immunitaires anti-virales varient.

Infection primaire

Au bout de 10 jours d'infection, le virus est détectable dans le sang et la quantité de virus, appelée charge virale, est à son maximum (environ 10^7 copies du virus/ml). Durant ces premiers jours, le virus s'est répandu largement et c'est à ce moment-là que les patients sont les plus infectieux et expérimentent parfois certains symptômes « grippaux » (fièvre, maux de tête, lymphodénopathie, rash cutané). La phase primaire d'infection dure entre 2 à 4 semaines après l'infection du patient, et durant cette phase, l'organisme subit une forte déplétion de ses lymphocytes T CD4⁺ alors que les LT CD8⁺ et les anticorps, sont en expansion (*Koup et al., 1994*). Au bout de quelques semaines, une diminution de la charge virale plasmatique est observée grâce aux réponses immunitaires enclenchées. Néanmoins, celles-ci ne sont pas capables de résoudre l'infection et cela induit alors l'entrée dans une phase chronique (*Figure 4*).

Infection chronique

L'entrée dans la phase chronique de l'infection se produit alors que les réponses immunitaires ont repris le dessus sur la charge virale, et que le nombre de cellules cibles du virus a diminué à la suite de la forte réplication virale. La baisse du nombre de cellules cibles induit une diminution de la vitesse de production de

nouvelles particules virales. C'est pourquoi, au cours de la phase chronique, la réplication du virus continue à un niveau constant appelé « plateau » (*Mellors et al., 1996*). La durée de cette phase diffère selon les patients, mais en général elle s'étend sur plusieurs années et se trouve être globalement asymptomatique.

Au bout d'un mois, des anticorps anti-VIH sont décelables dans le sang permettant ainsi la détection de la séropositivité des patients. Ces anticorps témoignent de la mise en place d'une réponse immunitaire adaptative ayant entraînée l'activation des lymphocytes B. En parallèle, les LT CD8⁺, ou LT cytotoxiques, sont fonctionnellement défectueux comme cela a été montré par leur capacité réduite de production de cytokines/perforine, leur plus faible prolifération ou encore leur expression du récepteur inhibiteur PD1 à leur surface (*Shankar et al., 2000; Migueles et al., 2002; Zhang et al., 2003; Day et al., 2006*). De plus, il a été montré que le métabolisme des LT CD8⁺ était fortement impacté par l'infection (*Angin et al., 2019*).

Suite aux multiples répliquions virales, le virus s'établit au sein des LT CD4⁺ mémoires mais aussi au sein d'autres sous-populations cellulaires résistantes à l'apoptose induite par le VIH et possédant une longue durée de vie telle que les macrophages, créant ainsi des réservoirs viraux (*Chen et al., 2022*). Ces phénomènes mènent à une phase de latence virale lors de laquelle la charge virale augmente doucement au cours des années pendant que le nombre de LT CD4⁺ diminue (*McCune, 2001*). Lorsque le nombre de lymphocytes devient inférieur à 200 cellules/ μ l de sang, le système immunitaire se retrouve fortement signant ainsi l'entrée dans la phase SIDA.

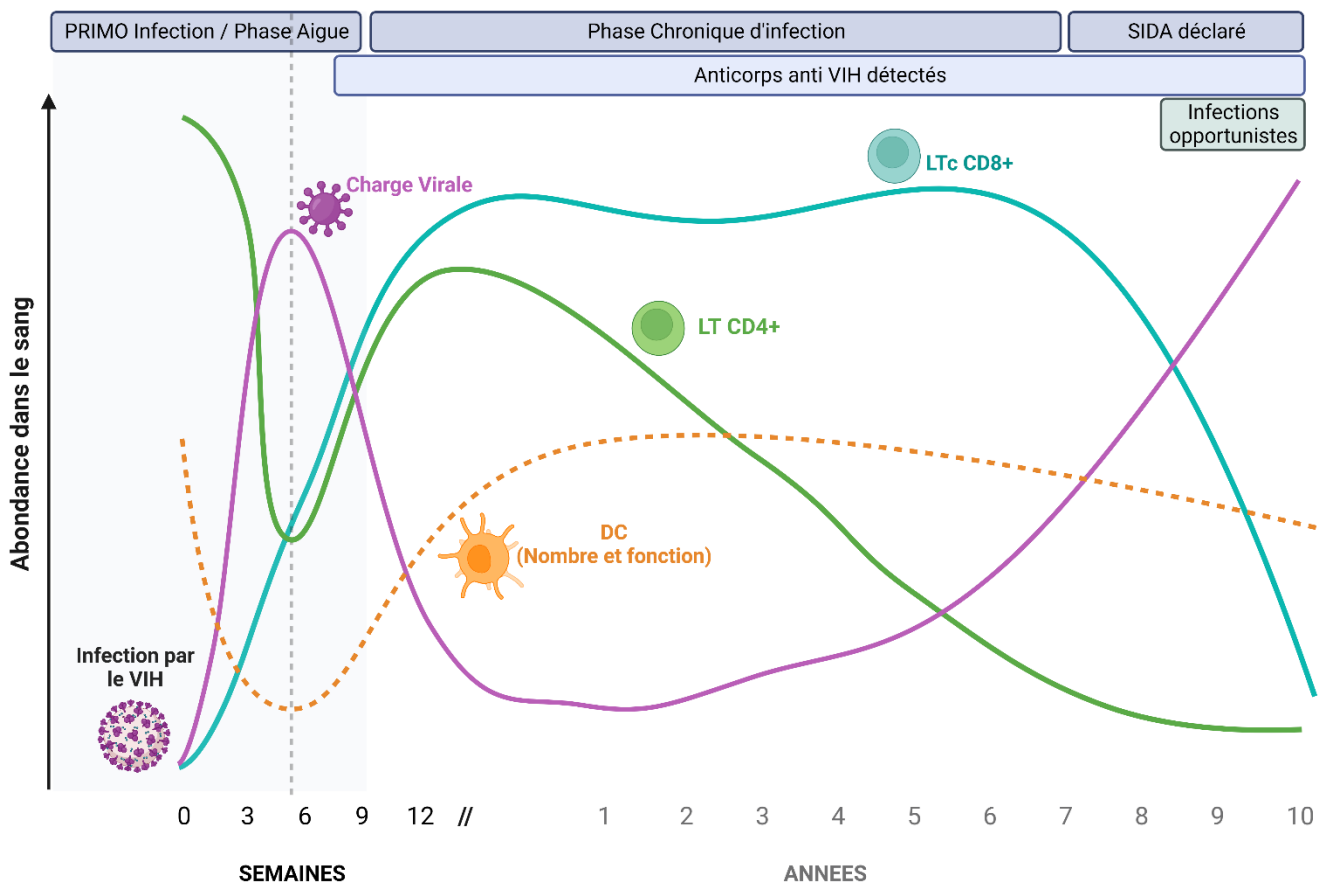


Figure 4: Phases cliniques de l'infection par le VIH

Au cours de la phase précoce d'infection, la charge virale augmente tandis que le nombre de lymphocytes T CD4⁺ diminue. Au moment du pic infectieux, les LT CD8⁺ sont activés afin de déclencher une réponse cellulaire contre l'infection. Les DCs sont impactées à la fois dans leur nombre et dans leur fonction au cours de la phase primaire d'infection.

Figure adaptée à partir du modèle « Time Course of COVID-19 Infection and Test Positivity » de BioRender (2022).

Phase SIDA

Les patients entrés en phase SIDA deviennent symptomatiques du fait de la multitude d'infection subie par l'organisme. Il a été montré qu'une des causes principales de ces infections opportunistes réside dans le fait que le taux de LT CD4⁺ décline fortement dans le sang mais aussi dans les tissus lymphoïdes associés au tube digestif. L'intestin des patients devient permissif aux infections et principalement aux translocations bactériennes. La rupture de la défense intestinale expose ainsi l'organisme à une activation immunitaire chronique induite par la rencontre entre le système immunitaire et divers pathogènes de la flore

microbienne intestinale. Ce phénomène est décrit comme étant la cause de l'exhaustion des cellules immunitaires (*Brenchley et al., 2004; Tincati, Douek and Marchetti, 2016*) entraînant une sensibilité accrue à des maladies dites « opportunistes » (*Saharia and Koup, 2013*). Les patients vont devoir faire face à des infections par des pathogènes tels que *Mycobacterium tuberculosis*, le cytomégalovirus ou encore à des cancers comme les sarcomes de Kaposi. L'apparition de cette phase symptomatique mène malheureusement dans la majorité des cas au décès du patient.

7. Traitement antirétroviral

La recherche contre le SIDA menée dès la découverte de l'infection a permis de mettre au point des traitements dit « antirétroviraux » permettant aux patients de vivre avec l'infection sans atteindre la phase SIDA. Les objectifs principaux du traitement sont d'empêcher la progression de la maladie vers la phase SIDA en maintenant ou restaurant le taux de LT CD4⁺ au-dessus d'un seuil de 500 cellules/ml permettant une protection de l'organisme contre les infections opportunistes. D'autre part, ces traitements permettent de contrôler la réplication virale du VIH et d'engendrer une réduction de la charge virale afin de la rendre quasiment indétectable dans le sang des patients. Enfin, la mise sous traitement a aussi pour but d'empêcher l'émergence de souches virales résistantes.

L'observance du traitement, bien que restant un enjeu majeur de la lutte contre le VIH, permet d'améliorer la santé et la qualité de vie des patients et de réduire au maximum le risque de transmission du virus à des tiers.

La mise en place du traitement est débutée le plus tôt possible dès la découverte de la séropositivité des patients, quel que soit le taux de lymphocytes T CD4⁺ ou de la charge virale. Il faut aussi savoir que l'interruption du traitement est à l'origine de ce que l'on appelle un « rebond virologique » consistant à la réémergence du virus. Les traitements actuels reposent sur l'administration

concomitante de deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (par exemple : ténofovir + emtricitabine ou abacavir + lamivudine) associés à un troisième agent étant soit un inhibiteur de la protéase (Darunavir / Ritonavir), ou un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (Ripilvirine) ou encore un inhibiteur de l'intégrase (Dolutégravir ou Elvitégravir). (Figure 5)

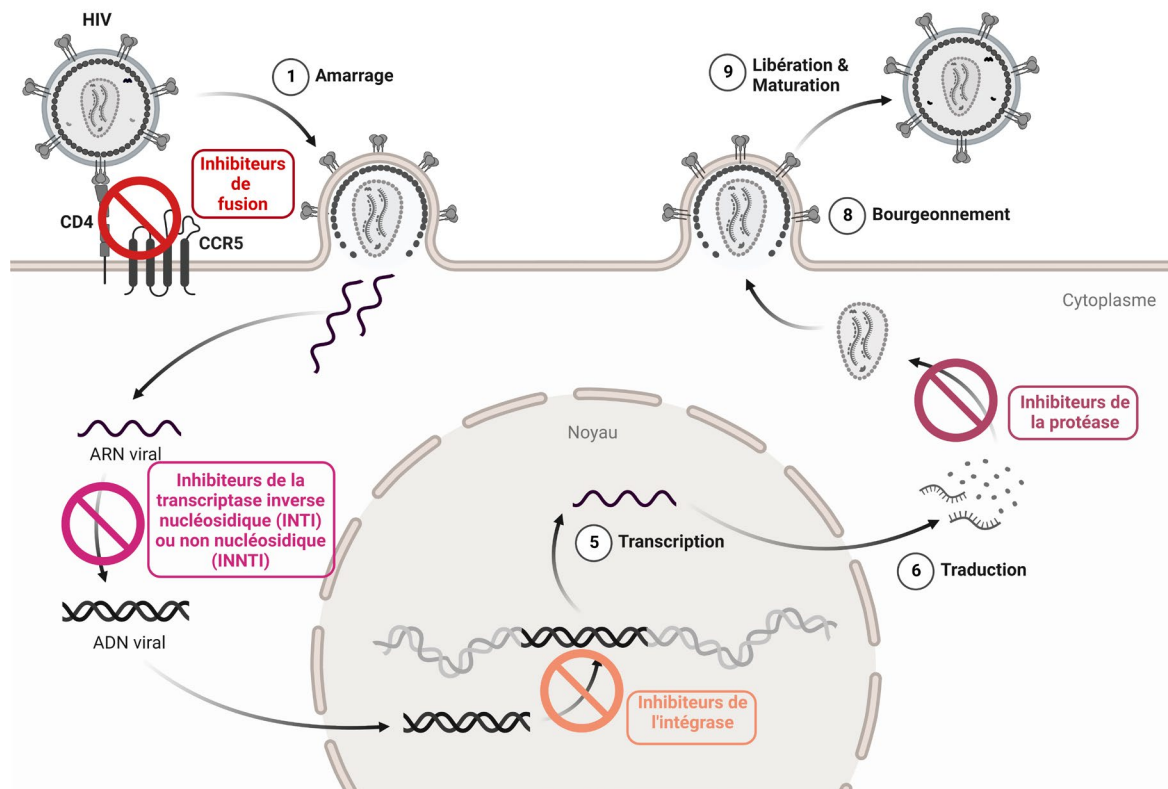


Figure 5: Modes d'action des traitements antirétroviraux

D'autre part, comme mentionné précédemment, l'existence de réservoirs viraux pose énormément de questions au sujet de la possibilité de guérir la maladie. Les réservoirs sont composés des LT CD4⁺ mémoires et des macrophages que l'on retrouve dans les tissus lymphoïdes, le foie, le cerveau et la moelle osseuse (Barton, Winckelmann and Palmer, 2017).

Pour cela, la recherche de traitements curatifs permettant d'atteindre et de détruire la présence virale même au sein des cellules réservoirs est primordiale à la lutte contre le VIH. Le problème repose aujourd'hui sur la caractérisation de ces

réservoirs qui restent encore très peu décrits (*Vansant et al., 2020*). Le souhait principal de thérapeutique se penche vers la mise en place de stratégies dites « Shock-and-Kill » visant à détruire tous les réservoirs viraux en forçant la transcription du VIH et ainsi réactiver le virus latent présent au sein des cellules réservoirs. Cette réactivation de l'expression virale, induite sous le contrôle du traitement antirétroviral, conduirait à tous les effets cytopathiques du virus, mais aussi à la mort des cellules réservoirs suite à l'activation des cellules immunitaires cytotoxiques menant ainsi à une purge des réservoirs viraux.

b) Infection par le SIV et modèle macaque

Le modèle macaque est utilisé depuis plusieurs années dans l'étude de différentes maladies infectieuses virales, bactériennes, fongiques ou même parasitaires (*Gardner and Luciw, 2008*).

Les macaques représentent la principale famille de Primate Non Humains (NHP) utilisée dans la recherche médicale. Les espèces les plus communes en recherche sont les macaques Rhésus (*M. Mulatta*), Cynomolgus (*M. Fascicularis*) et pigtail macaque (*N. Nemestrina*) (*Gardner and Luciw, 2008*). L'avantage de travailler sur un tel modèle repose sur le contrôle de l'induction de l'infection, le suivi précoce des événements immunologiques et l'accès aux organes lymphoïdes secondaires, lieux clef de la réponse immunitaire.

Le diagnostic tardif des patients ne permet pas l'étude des réponses immunitaires précoces à l'infection, c'est pourquoi un modèle d'étude est nécessaire à la compréhension et à l'étude des réponses immunitaires contre le VIH. Sachant qu'aucun autre modèle d'étude n'est connu à ce jour, outre les souris humanisées (*Hatziioannou and Evans, 2012*), le macaque reste le modèle d'étude pré-clinique de choix pour le VIH. Il est décrit comme mimant la physiopathologie ainsi que les réponses immunitaires observées chez l'humain lors de l'infection par

le VIH apportant ainsi des informations cruciales sur les événements immunologiques mise en jeu au cours de l'infection.

Les premiers essais d'infection de chimpanzés par du sang de patients infectés par le VIH n'ont pas permis d'observer une phase SIDA chez les animaux (*Alter et al., 1984*). Seuls quelques cas de tableaux cliniques similaires au SIDA sont observés chez cette espèce. L'année d'après, une équipe a isolé des souches de virus issues de macaques immunodéprimés présentant un tableau clinique similaire aux patients infectés par le VIH. Ce virus sera nommé plus tard : *Simian Immunodeficiency Virus* ou SIV (*Daniel et al., 1985*). Le SIV n'est actuellement pas présent au sein des espèces de macaque, mais il s'est tout de même répandu par accident au sein des animaux captifs (*Apetrei et al., 2005*). Certaines espèces sont connues pour être les hôtes naturels de l'infection, impliquant ainsi l'absence de déclaration d'une phase symptomatique et pathogénique de la maladie (*Chahroudi et al., 2012*). Bien que la période d'incubation soit plus courte chez le macaque cynomolgus que chez l'humain, un tableau clinique similaire est décrit. En effet, une baisse des LT CD4⁺ est observée associée à une forte charge virale de plus, l'absence d'un contrôle de la réplication virale et les translocations microbiennes mènent aussi à une phase SIDA déclarée au bout de 2 à 3 ans d'infection (*Barratt-boyes et al., 2011; Chahroudi et al., 2012*). Les similitudes de pathogénèse et de réponses immunitaires entre l'infection au VIH et celle au SIV font du macaque un des meilleurs modèle d'étude pré-clinique (*Lackner and Veazey, 2007; Mannioui et al., 2009; Antony and MacDonald, 2015*).

Néanmoins, même si le modèle macaque infecté par le virus du SIV a un nombre important d'avantage dans l'étude de l'infection, il faut garder à l'esprit qu'il n'est pas parfait. En effet, la souche du SIV utilisée au cours des infections se rapproche plus du VIH-2 de par son association à la protéine Vpx que du VIH-1. De ce fait, les infections des animaux ne sont pas représentatives de la grande majorité

des infections humaines par le VIH-1. D'autre part, afin d'induire une infection par le SIV menant à la mise en place d'une phase chronique, le virus est injecté généralement par voie intraveineuse à de fortes doses dans le but d'empêcher l'émergence d'animaux capables de contrôler l'infection. D'autre part, le coût de ces animaux ne permet pas des études composées d'un grand nombre de sujets. Ces conditions d'expérimentations, associées au fait que les animaux soient naïfs, non vaccinés, et élevés en élevage ou au sein des laboratoires, limitent ainsi les observations et les extrapolations possibles quant à la similitude avec les réponses immunitaires humaines.

c) Les cellules dendritiques chez le macaque

Afin de pouvoir mener l'étude des DCs chez le macaque, l'identification des différentes sous-populations de DCs au sein de ce modèle est nécessaire. Au cours des dernières années, différents travaux ont permis de mettre en place une nomenclature phénotypique des DCs simiennes. Bien que similaire à l'Humain, le macaque reste tout de même une espèce différente de la nôtre entraînant ainsi des différences d'expression de marqueurs sur certaines familles de cellules immunitaires (*Barratt-boyes et al., 2011*). D'autre part, les analyses principales étant menées grâce à la cytométrie en flux, l'identification des populations cellulaires repose aussi sur la cross réactivité des anticorps utilisés qui sont pour la grande majorité développés pour des études chez l'humain.

Différentes équipes ont déterminé que les cDCs et pDCs entre humains et macaques étaient phénotypiquement et fonctionnellement relativement similaires. Grâce à l'expression du CD123 et du CD11c, les pDCs (CD123⁺ CD11c⁻) étaient isolées des cDCs (CD123⁻ CD11c⁺) lors des analyses phénotypiques (*Coates et al., 2003; Teleshova et al., 2004; Brown and Barratt-Boyes, 2009*). D'autre part, l'intérêt principal du macaque est de pouvoir mener l'étude des DCs au sein des organes lymphoïdes secondaires, et il a été montré que les DCs du sang, des muqueuses et

des organes lymphoïdes secondaires conservaient le phénotype susmentionné à travers les tissus (*Barratt-boyes et al., 2011*). Néanmoins certains marqueurs permettant une classification plus fine des cDCs chez l'Humain ne sont pas retrouvés chez le macaque. Cela peut être expliqué soit par une différence de composition en acides aminés de l'épitope reconnu entraînant une non-reconnaissance du récepteur de la part de l'anticorps utilisé, soit par un manque total ou partiel d'expression de ce marqueur au sein de l'espèce. Par exemple, il a été montré que le marqueurs CD11c n'était en fait pas exprimé par les cDCs de macaques contrairement aux cDCs humaines (*Autissier et al., 2010; Dutertre, Wang and Ginhoux, 2014; Sugimoto et al., 2015*) et que le CD45RA ne permettait pas d'isoler les pDCs (Malleret, Mané, *et al.*, 2008). Ces nouvelles données remettent ainsi en cause les études précédant ces conclusions.

Afin d'isoler les cDC1 des cDC2, des études croisant les phénotypes des cDCs humaines, murines et simiennes ont montré que l'absence du marqueur CD141 à la surface des cDC1 pouvait être comblé par l'utilisation du marqueur CADM1 ou Necl2 (*Figure 6*) (*Dutertre et al., 2014; Dutertre, Wang and Ginhoux, 2014; Sugimoto et al., 2015; Williams et al., 2016*).

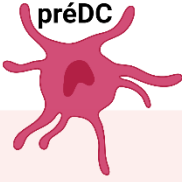
	cDC1	cDC2	préDC	pDC
	 CD11c int CD141+ XCR1+ CLEC9A+ BTLA+ CADM1+	 CD11c+ CD1c+ CD172a+ CLEC10A+	 AXL+ SIGLEC6+ SIGLEC1+ CD123int CD33+ CD45RA+	 CD123+ CD303+ CD304+ CD45RA+
	CADM1+	CD1c+ CD172a+ CLEC10A+	SIGLEC1+ CD123int	CD123+ CD303+

Figure 6: Marqueurs phénotypiques des DCs humaines et simiennes.

IV/ Dérégulation des cellules dendritiques par le VIH / SIV

Dans le cadre de l'infection par le VIH/SIV, nous avons déjà indiqué que les DCs étaient les principales cellules activatrices de la réponse immunitaire spécifique contre le virus. Les DCs sont les premières cellules à rencontrer le VIH/SIV au sein des muqueuses, et elles sont capables d'engendrer une réponse immunitaire anti VIH grâce à la génération et l'expansion de lymphocytes T et B après avoir migré dans les organes lymphoïdes secondaires. Leur rôle de sentinelle place donc les DCs au cœur de l'infection par la VIH, car comme nous le verrons dans les sections suivantes, les DCs vont jouer un rôle majeur dans la dissémination virale et seront fonctionnellement impactées par la présence du virus dans l'organisme (*Manches, Frleta and Bhardwaj, 2014*).

Il a été montré que le VIH était capable de se servir de ce rôle migratoire des DCs afin d'augmenter sa dispersion à travers l'organisme. En effet, grâce à l'infection des DCs et/ou à son amarrage au niveau des récepteurs membranaires des DCs, il va être véhiculé par ces cellules jusque dans les organes lymphoïdes secondaires qui se trouvent être enrichis en LT CD4⁺ et notamment en lymphocytes T_{fh}. Les différentes étapes du cycle d'infection ainsi que le rôle particulier des DCs joué à chaque stade vont être détaillés dans les parties suivantes.

a) Infection des cellules dendritiques par le VIH

1. Capture du VIH par les cellules dendritiques

Bien que les LT CD4⁺ soient la principale cible du virus, 1 à 3 % des DCs sont susceptibles à l'infection par le VIH (*Smed-Sørensen et al., 2005*). Comme cela a été exposé précédemment le virus a besoin de différents récepteurs afin d'infecter les cellules cibles du système immunitaire. Les différents co-récepteurs du VIH permettant tout particulièrement une infection et une liaison du virus aux DCs seront détaillés dans cette section.

CD4, CCR5, CXCR4

Comme cela a été préalablement présenté, le VIH utilise le récepteur CD4 et les co-récepteurs CCR5 et CXCR4 afin d'infecter les cellules cibles. Dans le cas des DCs, il est décrit que les pDCs et les cDCs du sang et des tissus expriment le CD4 (*Lee et al., 1999; Turville et al., 2002; Jardine et al., 2013*). Des études montrent que la maturation des DCs mène à une diminution de l'expression du CD4, et que chez les patients infectés, la proportion de DCs infectées restent 10 à 100 fois plus faible que celle des LT CD4⁺ (*McIlroy et al., 1995*).

Les cDCs expriment à la fois le CD4 et les co-récepteurs CCR5 et CXCR4 entraînant ainsi une infection de ces DCs (*Cameron et al., 2007*), mais il a été montré que l'infection des cDCs se produit principalement par endocytose du virus et non pas suite à une infection directe via les récepteurs CD4 et les co-récepteurs CCR5 et CXCR4 (*Granelli-Piperno et al., 2006; Altfeld et al., 2011*). Des études ont aussi montré que des cDC2 « like » retrouvées dans les muqueuses exprimaient très fortement le récepteur CCR5 à leur surface et interagissaient préférentiellement avec le VIH *in situ* (*Bertram et al., 2019*).

DC-SIGN

Le récepteur *DC-specific ICAM-grabbing non-integrin* ou DC-SIGN est connu comme pouvant interagir avec beaucoup de pathogènes différents et comme étant exprimé par les DCs des tissus muqueux (*Geijtenbeek et al., 2000*). Dans le cas du VIH, il est décrit comme étant un récepteur pouvant se lier aux glycoprotéines gp120 à la surface du virus, mais ne permet pas directement l'infection de la cellule hôte comme cela est le cas pour le CD4 (*Geijtenbeek and Gringhuis, 2009*). DC-SIGN joue un rôle primordial dans la transfection des LT CD4⁺ en favorisant l'attachement des particules virales à la surface des cellules présentatrices d'antigène qui vont ensuite les transporter vers les organes lymphoïdes secondaires (*Geijtenbeek et al., 2000*). D'autre part, l'amarrage du VIH à DC-SIGN induit l'activation du récepteur et

la cascade de signalisation qui s'ensuit engendre l'internalisation de DC-SIGN, entraînant le virus avec lui (*Moris et al., 2004*). Les voies de signalisations activées par cette internalisation mènent à la réduction de l'expression des gènes du CMH II et des ISG et à l'activation du facteur LARG favorisant ainsi la formation de la synapse immunologique entre les DCs et les LT CD4⁺ (*Hodges et al., 2007*). Cette internalisation du récepteur va également permettre aux DCs de procéder à la cross présentation du virus aux LT CD8⁺. C'est au cours de la présentation antigénique aux LT que le virus se voit donc capable d'infecter les LT CD4⁺ par trans-infection (*Engering et al., 2002*). En parallèle, les DCs produisent de l'IL10 suite à l'activation de DC-SIGN, et cette cytokine est connue pour induire une polarisation des LT CD4⁺ vers un phénotype de LT régulateurs (Treg) favorisant ainsi l'expansion virale.

Bien que DC-SIGN soit défini comme récepteur au VIH, une fois les DCs matures, elles perdent l'expression de ce récepteur, mais continuent de se faire infecter et de transmettre le virus aux LT CD4⁺. Ces observations montrent donc que d'autres récepteurs sont mis en jeu dans l'infection des DCs par le VIH.

SYNDECAN-3 et DCIR

D'autres molécules ont été identifiées comme servant de récepteurs au VIH à la surface des DCs. Parmi elles, la molécule SYNDECAN-3 a été montrée comme capable de se lier à la gp120 et de permettre l'infection en cis des DCs. Syndecan-3 joue aussi un rôle dans l'infection des LT CD4⁺ car les expériences visant à bloquer l'expression de cette molécule inhibent la transmission du virus par les DCs matures. D'autre part, l'inhibition concomitante de DC-SIGN et Syndecan-3 abroge totalement la capture et la transmission du virus par les DCs (*De Witte et al., 2007*).

Un autre récepteur est responsable de l'infection des LT CD4⁺ par les DCs en cis et en trans. Ce récepteur est connu sous le nom de DCIR et permet la capture du virus et l'infection productive des DCs (*Lambert et al., 2008*).

SIGLEC-1

La plupart des récepteurs décrits jusque-là se lient à la gp120 du VIH. D'autres récepteurs viraux sont capables de se lier à d'autres composants de l'enveloppe virale. C'est le cas du Siglec-1 se liant aux gangliosides GM3 du VIH. Ces facteurs d'attachement sont montrés comme nécessaires à la capture du VIH par les cDCs grâce à la liaison au Siglec-1 (*Izquierdo-Useros, Lorzate, Contreras, et al., 2012; Izquierdo-Useros, Lorzate, Puertas, et al., 2012*). D'autre part, le Siglec-1 est essentiel à la trans-infection des LT CD4⁺ par les DCs matures et à l'internalisation du VIH par les DCs. (*Pino et al., 2015; Hammonds et al., 2017*). Ainsi, l'ajout d'un anticorps monoclonal bloquant dirigé contre Siglec-1 lors de culture de DCs et de VIH in vitro inhibe la capture du virus (*Ruffin et al., 2019*). Bien qu'exprimé sur des sous-populations de DCs et comme nous l'avons vu, particulièrement à la surface de pré-DCs, le Siglec-1 est aussi exprimé par les monocytes et les macrophages. De plus, il a été montré que les patients atteints du VIH et sous traitement voient leurs niveaux de Siglec-1 diminuer à la surface des monocytes (*Pino et al., 2015*).

2. Internalisation et prise en charge du VIH au sein des DCs

Comme nous l'avons vu, les récepteurs exprimés par les DCs permettent l'endocytose du VIH, mais celle-ci ne mène pas à l'infection productive des DCs. En revanche, il est nécessaire de procéder à la fusion entre les membranes des DCs et du virus afin d'entraîner l'infection des cellules présentatrices d'antigène (*Janas et al., 2008*). Une fois entré dans le cytoplasme des DCs, le virus doit intégrer son génome au sein du génome de la DC hôte et procéder ensuite à la réplication virale. Les différentes expériences d'infection des DCs par le VIH ont montré que bien que les DCs immatures soient sujettes à l'infection productive par le virus R5, les cDCs matures internalisent les virus R5 et X4, mais la réplication virale y est bloquée. Ce blocage peut être effectué soit au moment de la rétro-transcription soit après

l'intégration virale et il est rendu possible grâce à l'intervention de facteurs de restriction (*Figure 7*).

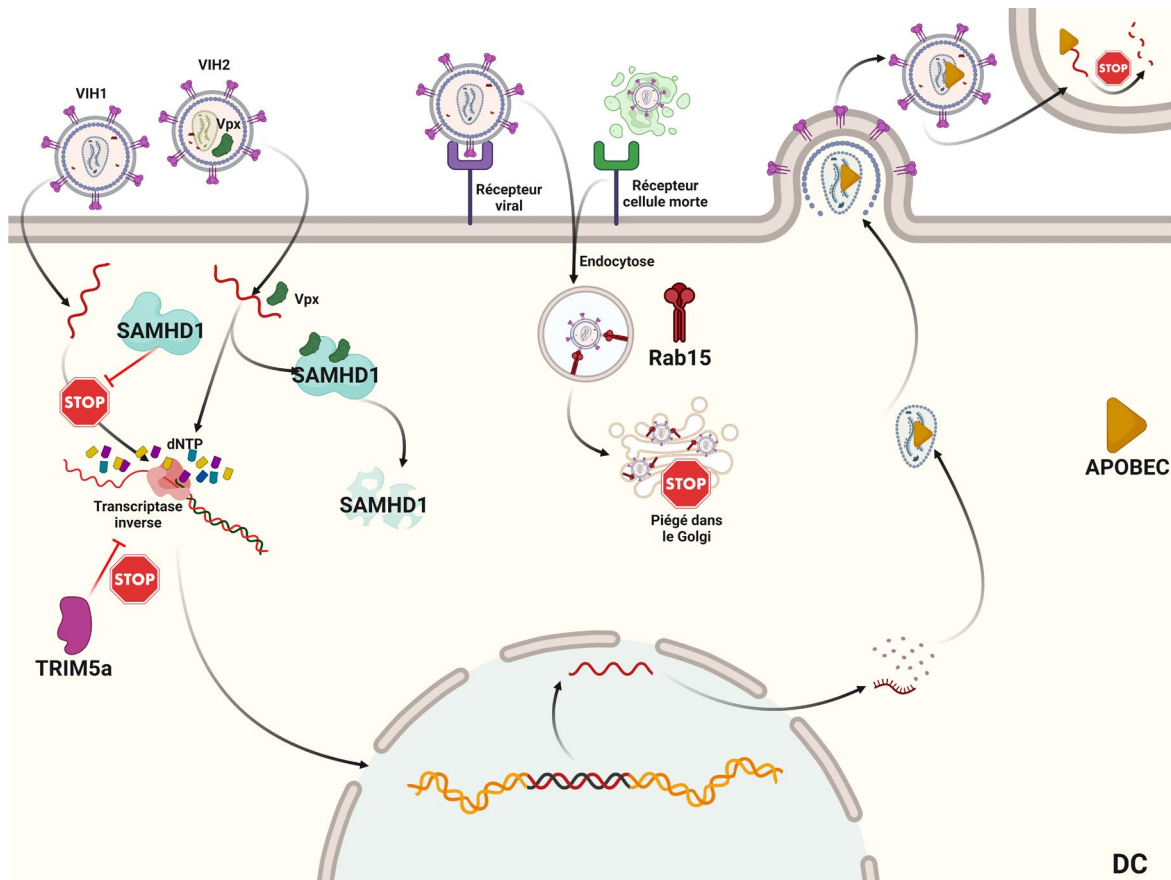


Figure 7: Fonctionnement des facteurs de restrictions retrouvés au sein des DCs.

SAMHD1

Les études *in vitro* de l'infection montrent que les monocytes et DCs matures ne répliquent pas le VIH alors que les DCs immatures infectées produisent de nouveaux virions pouvant infecter les LT CD4⁺ (*Granelli-Piperno et al., 1998*). Les mécanismes impliqués au sein des DCs matures n'étaient alors pas encore décrits. Ce n'est qu'en 2011 que le facteur de restriction SAMHD1 fut découvert. Ce facteur est exprimé par les cellules myéloïdes lors des étapes précoces du cycle viral (*Laguet et al., 2011*) et bloque la réplication du VIH au sein des DCs en déplaçant le pool de dNTP nécessaire à la réplication inverse (*Goldstone et al., 2011*).

Comme cela a été mentionné précédemment, deux types de VIH sont capables d'infecter l'Homme : le VIH de type 1 et le VIH de type 2. Les études de transduction des DCs in vitro par les VIH-1 et VIH-2 ont souligné que le VIH-1 n'était pas capable de transduire les DCs au contraire du VIH-2. Cette particularité repose sur l'expression de la molécule Vpx par le VIH-2 capable de dégrader SAMHD1 (*Hrecka et al., 2011*) rendant ainsi les DCs permissives à l'infection par le VIH-2.

APOBEC

Ce facteur de restriction exprimé par les DCs agit sur les étapes tardives du cycle de réplication virale par son interaction avec la protéine Vif du VIH au moment de l'encapsulation des nouveaux virions. En se faisant enfermer dans les nouvelles enveloppes de virions, le facteur APOBEC se retrouve lié au matériel génétique du VIH. Lors de l'infection d'une nouvelle cellule cible, APOBEC va engendrer des mutations au moment de la réplication virale concourant alors à la baisse d'infectiosité du virus (*Zheng et al., 2004*).

TRIM5a et Rab15

TRIM5a a été découvert au sein de la famille des grands singes. Il est décrit comme étant plus efficace chez les singes que chez l'humain, ce qui pourrait expliquer pourquoi les macaques sont moins sensibles à l'infection. Son mode d'action commence au niveau de la réplication des virus qu'il est capable de bloquer en inhibant l'accumulation de transcriptase inverse (*Wu et al., 2006*). De plus, au moment de la formation de la capsid virale, TRIM5a engendre sa dégradation par le protéasome (*Stremlau, Owens and Perron, 2004*).

Enfin, les cDC1 et les pDCs sont montrées comme résistantes à l'infection par le VIH-1 au contraire des cDC2. Cette résistance est permise en partie par l'expression d'une protéine de trafic vésiculaire nommée Rab15, exprimée par les DCs, bloquant la fusion virale et piégeant le virus au sein de l'appareil de Golgi (*Silvin Aymeric et al., 2017; Wong and Iwasaki, 2017*).

3. Transport du VIH par les DCs et trans-infection des LT CD4⁺

Les DCs capturent le VIH principalement par endocytose et présentent ensuite les peptides viraux (*Derby, Martinelli and Robbiani, 2011*). Comme nous l'avons vu, plusieurs récepteurs à la surface des DCs sont capables de fixer le VIH, octroyant aux DCs le rôle de véhicules du VIH. En parallèle, l'internalisation des virus par les DCs dans des endosomes (*Garcia et al., 2005*) va aussi résulter en une infection des LT CD4⁺ lors de la formation de la synapse immunologique. Lors de la rencontre des DCs avec des LTs de la circulation sanguine ou des muqueuses, ou lors de la migration des DCs vers les organes lymphoïdes secondaires, le VIH va alors se disséminer à travers l'organisme et infecter les LT CD4⁺ rencontrés. La création d'une synapse immunologique entre une DC et un LT va ainsi permettre l'infection des LTs par les virions présents à la membrane cellulaire ou un recrutement des virions internalisés au niveau de la synapse immunologique. Ce phénomène d'infection est appelé « la trans-infection » à travers une synapse dite virologique (*Cameron et al., 1992; Garcia et al., 2005*). La transmission du VIH des DCs vers les LT CD4⁺ nécessite donc un contact étroit entre ces deux types de cellules (*Tsunetsugu-Yokota et al., 1997; Perez-Zsolt et al., 2022*).

Un autre mécanisme contribuant à la surinfection de la population de LT CD4⁺ repose sur la création par les DCs d'exosomes contenant des particules virales. Les DCs immatures arrivées dans les organes lymphoïdes secondaires peuvent en effet, par exocytose, relâcher dans le milieu extracellulaire de nouveaux virions. Les exosomes en question sont tapis de molécules de CMH-II concourant alors à l'activation des LT CD4⁺ par contact avec leur TCR, augmentant ainsi leur susceptibilité à l'infection (*Wiley and Gummuluru, 2006; Chiozzini et al., 2017*).

b) Dérégulation des cellules dendritiques au cours de l'infection par le VIH/SIV

L'évasion du virus aux réponses immunitaires repose sur sa capacité à impacter l'activation des cellules présentatrices d'antigène et particulièrement des DCs et ainsi empêcher la mise en place de réponses immunitaires adaptatives adéquates à son élimination. Pour ce faire, le virus est capable d'éviter la détection virale par le TLR8 présent dans le compartiment endosomal de la DC en induisant une augmentation de la concentration de snapin (*Khatamzas et al., 2017*). Cette surexpression engendre une accumulation de particules virales dans des endosomes ne portant pas le TLR8 et ainsi une endocytose du VIH n'entraînant pas, ou peu, de signalisation intracellulaire des TLR activateurs des DCs. D'autre part, afin de favoriser la dissémination virale, le VIH est responsable de plusieurs dérégulations des pDCs et cDCs qui ont été décrites durant les dernières années. Les différents impacts de l'infection au VIH/SIV sur les DCs vont être exposés dans les parties suivantes.

1. Les cDCs dans le cadre de l'infection par le VIH

Le diagnostic tardif des patients ne permet pas une analyse des temps très précoces de l'infection, c'est pourquoi la plupart des études portent sur l'étude des DCs au cours des phases chroniques. Ainsi, les patients séropositifs, qu'ils soient symptomatiques ou asymptomatiques montrent des taux réduits de cDCs dans la circulation sanguine et cette baisse est d'autant plus sévère que la charge virale est élevée (*Macatonia et al., 1990; Donaghy et al., 2001; Barron et al., 2003*). Mais, les patients atteints du VIH depuis peu montrent eux aussi des taux de cDCs (et particulièrement de cDC2) plus faibles dans le sang que les patients contrôles (*Sabado et al., 2010; Diao et al., 2015*).

Il a été décrit que la chute du taux de cDCs dans le sang des patients était à la fois due à la migration des cDCs vers les organes lymphoïdes secondaires, mais

aussi à une induction des voies apoptotiques au sein de cette famille de cellules (Meera *et al.*, 2010). La mise sous traitement des patients permet d'observer un nombre plus conséquent de cDCs, traduisant une reprise de contrôle de la part du système immunitaire sur l'infection une fois la réplication virale inhibée (Barron *et al.*, 2003).

Au niveau phénotypique, les études ne se mettent pas en accord sur l'impact de l'infection au niveau de la maturation des cDCs. En effet, certaines études ont montré que la maturation et la fonction des cDCs étaient impactées par l'infection (Donaghy *et al.*, 2003; Granelli-Piperno *et al.*, 2004; Martinson *et al.*, 2007) alors que d'autres équipes ont déterminé que les cDCs restent tout de même capables de répondre à des stimulations du TLR7 et d'up-réguler les marqueurs de costimulations tels que le CD40, CD80, CD83 et CD86 (Ebner *et al.*, 1998; Sabado *et al.*, 2010). En outre, la mise sous ART rétablit le niveau d'expression de ces molécules de costimulations (Barron *et al.*, 2003). Bien que les études ne soient pas en accord sur le phénotype de costimulation des cDCs, elles s'accordent sur les capacités réduites des cDCs à induire l'alloprolifération des LTs et à procéder à la présentation antigénique (Huang *et al.*, 2012). De ce fait, les cDCs provenant de patients séropositifs qu'ils soient symptomatiques ou non présentent des cDCs incapables d'induire une activation optimale des LTs ex vivo (Macatonia *et al.*, 1990; Donaghy *et al.*, 2003).

Comme cela a été mentionné précédemment, les cDCs permettent de stimuler les LTs grâce à l'expression élevée des molécules du CMH-I et II et de molécules de costimulation, mais elles coordonnent aussi les cellules immunitaires et les attirent sur les lieux des infections par le biais de productions de cytokines et chimiokines. A ce titre, il a été montré que dans un contexte d'infection par le VIH, les effets activateurs des cellules NK exercés par les cDCs étaient diminués suite à l'infection des patients (Altfeld *et al.*, 2011), et que les cDCs produisaient de fortes

doses d'IL10 induisant l'inhibition des réponses immunitaires (*Granelli-Piperno et al., 2004*).

2. Les pDCs dans le cadre de l'infection par le VIH

L'expression des récepteurs/co-récepteurs du VIH par les pDCs les rend susceptibles d'être infectées et l'expression du TLR-7 induit l'activation des pDCs suite à l'infection virale (*Manches, Frleta and Bhardwaj, 2014*). Il est montré que le nombre de pDCs chute dans le sang au cours des mois suivant l'infection des patients (*Chehimi et al., 2002; Meera et al., 2010; Sabado et al., 2010*). Plus le patient est symptomatique, plus le niveau de pDCs retrouvé dans la circulation sanguine est faible (*Lehmann et al., 2008*). Une seconde étude menée par le même groupe a montré que les pDCs semblaient s'accumuler dans les ganglions des patients non traités coïncidant alors avec la hausse de l'expression du CCR7 et de leurs capacités migratoires (*Lehmann et al., 2010*). La perte de pDCs dans la circulation sanguine est donc expliquée à la fois par leur migration vers les organes (organes lymphoïdes secondaires, intestin et rate) mais aussi principalement par un fort phénomène d'apoptose qui pourrait résulter de la sur-activation des pDCs au cours de l'infection (*Nascimbeni et al., 2009; Lehmann et al., 2010; Meera et al., 2010*).

Les stades déjà tardifs d'infection des patients rendent l'analyse de la dynamique des pDCs compliquée et ne permettent pas de conclure de manière claire sur la migration de pDCs au cours des stades précoces de l'infection. Par contre, les comparaisons de la proportion de pDCs entre les patients mis sous ART et les patients n'ayant pas encore reçu de traitement indiquent que les antirétroviraux permettraient de restaurer partiellement les niveaux sanguins de pDCs (*Barron et al., 2003; Hsu et al., 2016*). Néanmoins, l'analyse de la dynamique des pDCs lors des stades précoces de l'infection reste encore peu étudiée.

Du côté phénotypique, les pDCs sont décrites comme exprimant de plus haut niveau de certaines molécules de costimulations (CD40/CD86) et de maturation

(CD83) à leur surface (*Barron et al., 2003; Martinson et al., 2007; Lehmann et al., 2010*). Mais cette maturation n'est pas due à une plus forte réponse à la stimulation de leur TLR7. En effet, les analyses in vitro ont permis de constater que les pDCs de patients infectés voyaient leur capacité de réponse à la stimulation du TLR7 très impactée contrairement aux pDCs issues de la circulation de patients sains (*Martinson et al., 2007*). Les pDCs seraient ainsi réfractaires à une nouvelle stimulation ex vivo une fois fortement stimulées in vivo par le VIH et elles exprimeraient de ce fait moins de molécules de costimulations et produiraient ainsi des quantités plus faibles d'IFN-I lors de ces expériences ex vivo (*Chehimi et al., 2002; Tilton et al., 2008*).

In vivo, les pDCs de patients en phase chronique sont la source d'une forte production d'interférons de type I responsable de la sur activation des lymphocytes entraînant leur exhaustion et la hausse de leur susceptibilité à l'infection (*Martín-Moreno and Muñoz-Fernández, 2019*). Les études des réponses fonctionnelles en phase aigüe ne sont pas rendues possibles et seules des études in vitro de pDCs humaines peuvent aider à la compréhension des mécanismes. Ainsi, bien que la production d'IFN I in vivo soit détectable en phase chronique, le temps de mise en place de la sécrétion d'interféron en phase précoce semble retardée par le virus comme cela a été documenté dans les études in vitro menées par Lo et al (*Lo et al., 2012*).

Les études mentionnées précédemment soulèvent un fort biais d'analyse du fait de la manipulation de cellules in vitro et l'absence d'analyses de temps très précoces. Le besoin de travailler dans un modèle d'étude d'infection inductible est de ce fait justifié et c'est pourquoi les dérégulations des DCs observées au cours de l'infection par le SIV vont être maintenant présentées.

3. Les cellules dendritiques au cours de l'infection par le SIV

Bien que la plupart des études sur l'infection au VIH soient effectuées directement à partir de sang de patients, l'accès à des organes clefs de la réponse immunitaire et aux temps précoces d'infection restent encore compromis. L'infection par le SIV dans le modèle macaque permet de pallier à cela, mais le nombre d'études des DCs au cours de l'infection SIV n'est pas aussi fourni que les études menées chez l'Homme. Malgré cela, le modèle macaque a permis d'apporter des réponses au sujet du déroulé des réponses immunitaires innées au cours des temps précoces d'infection et au sein des organes lymphoïdes secondaires.

Une forte diminution du nombre de cDCs dans la circulation sanguine lors de la primo infection associée à une augmentation de l'expression du récepteur inhibiteur LILRB2 a ainsi été décrite (*Alaoui et al., 2018*). D'autres études ont aussi montré que les cDCs étaient fortement déplétées dans le sang et la moelle des animaux au cours de l'infection (*Malleret, Karlsson, et al., 2008; Barratt-boyes et al., 2011; Wijewardana et al., 2014*). Peu d'études portent sur la caractérisation des cDC1 au cours de l'infection, mais Dutertre et al. ont tout de même montré grâce à l'utilisation du marqueur CADM1 que les cDC1 étaient augmentées de manière transitoire dans le sang durant les premiers jours d'infection au SIV et déplétées au cours de la phase chronique (*Dutertre et al., 2014*).

En ce qui concerne les pDCs, plusieurs analyses ont mené à la conclusion que les pDCs étaient recrutées très précocement dans les tissus lymphoïdes et dans l'intestin expliquant ainsi en partie la déplétion observée dans le sang au cours de la phase primaire d'infection au SIV et lors de la phase chronique (*Diop et al., 2008; Malleret, Karlsson, et al., 2008; Malleret, Mané, et al., 2008; Barratt-boyes et al., 2011; Reeves et al., 2012; Bruel et al., 2014*).

Les cDCs retrouvées dans le sang, malgré leur déplétion, montrent des phénotypes d'activation au moment des temps précoces d'infection (*Wijewardana*

et al., 2010). Les DCs sont donc déplétées du sang suite à l'apoptose et à la migration dans les tissus et leur phénotype semblent être impacté par l'infection. La production de cytokine de la part des DCs a aussi été analysée, et les résultats montrent que les pDCs voient leur production d'IFN décliner au cours de l'infection (*Bruehl et al., 2014*).

c) Infection des pré-DCs par le VIH

La découverte de pré-DCs chez l'humain a soulevé beaucoup de questions au sujet de leur implication au cours de différentes infections. Comme nous l'avons vu précédemment, les pré-DCs expriment spécifiquement le récepteur Siglec-1, et celui-ci est connu pour être un récepteur du VIH. Ces données orientent donc l'étude des pré-DCs dans le cadre de l'infection au VIH.

L'équipe de P. Benaroch a montré que les pré-DCs sont susceptibles à l'infection par le VIH comme aucun autre sous type de DC (*Ruffin et al., 2019*). Leur expression du Siglec-1 promeut une attache du VIH qui va se servir de cet amarrage pour infecter les pré-DCs grâce à une fusion des enveloppes virales et membranaires. D'autre part, les analyses de microscopies effectuées au sein de cette étude exposent clairement la présence de vacuoles intracellulaires contenant une forte quantité de virions du VIH. Ces compartiments seraient alors des lieux de production de nouvelles particules virales s'accumulant dans ces espaces intracellulaires en attendant d'être relargués. Enfin, au sein du pool de DCs totales, les pré-DCs sont désignées comme étant les cellules présentatrices d'antigènes les plus efficaces dans la transmission du VIH aux LTs lors des expériences in vitro.

Ces travaux ont ensuite mené à l'étude transcriptomique des voies de signalisation impliquées lors de la réponse antivirale des pré-DCs contre le VIH. Après isolation et exposition à des souches de virus, il a été montré que les pré-DCs montaient une forte réponse intracellulaire en comparaison avec ce qui est observé

pour les cDC2 (*Brouiller et al., 2022*). Les réponses des pré-DCs à l'infection sont indépendantes de la réplication virale, mais l'activation de cette dernière augmente fortement leurs réponses. Deux principales voies de réponses ont été identifiées : l'une menant à l'expression d'ISG, alors que l'autre permet d'entamer la maturation des pré-DCs. Ces différentes réponses à l'infection révèlent que les pré-DCs jouent un rôle particulier dans l'activation des LTs et que le choix de l'une ou l'autre des voies pourraient être impliqué dans la mise en place des réponses immunitaires créées contre l'infection.

Les pré-DCs sont ainsi une cible préférentielle de l'infection au contraire des autres sous types de DCs, et cette particularité pourrait impacter de bien des manières les réponses immunitaires. Ces études nous suggèrent fortement que les pré-DCs seraient un acteur majeur de la réponse immunitaire contre le VIH et que leur étude dans ce contexte infectieux s'avérerait très pertinente.

d) Infection des cellules dendritiques par le SARS-Cov2

En décembre 2019, une nouvelle infection respiratoire est découverte chez les patients atteints de pneumonies (*Zhu et al., 2020*). Le virus en cause est alors baptisé « SARS-Cov2 » pour « Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2 » et il sera vite reconnu comme responsable d'une nouvelle pandémie : la pandémie du « *Coronavirus Disease 2019* » ou « COVID-19 » (*Lévy et al., 2021*). Le virus du Sars-Cov2 est aujourd'hui la cause de plus de 609 millions d'infections et, bien que l'infection ne mène pas systématiquement au décès, plus de 6,5 millions de décès ont été recensés. La majorité (80%) des personnes positives au virus n'expérimenteront pas ou peu de symptômes, alors que quelques patients auront besoin d'une hospitalisation afin de mettre en place une assistance respiratoire afin de faire faces aux conséquences des formes graves de la maladie. Les symptômes les plus courants de la maladie sont une toux prononcée, des problèmes respiratoires, une perte d'odorat et une fièvre modérée. Dans certains cas les plus

graves, la réponse immunitaire du patient face au virus est responsable d'une tempête cytokinique entraînant une sur activation systémique du système immunitaire menant à des dommages tissulaires et à la dysfonction des organes.

Le SARS-Cov2 utilise le récepteur ACE2 exprimé à la surface des cellules cibles afin de les infecter. Une fois entré dans la cellule, le génome du virus sera répliqué afin de générer de nouvelles particules virales et les virions seront relargués dans le milieu extracellulaire par exocytose (*Klein et al., 2020*).

Depuis l'explosion de la pandémie, plusieurs équipes se sont penchées sur l'implication des DCs au cours de l'infection. Il a été montré que les sous-populations de DCs (pré-DCs, pDCs, cDCs, et DC3) voyaient leur fréquence diminuer dans la circulation sanguine des patients (*Runhong Zhou et al., 2020; Kvedaraite et al., 2021; Lévy et al., 2021; Pérez-Gómez et al., 2021; Winheim et al., 2021*). Cette diminution peut être expliquée par une hausse de l'activation des voies apoptotiques au sein des populations de DCs des patients (*Marongiu et al., 2021; Saichi et al., 2021*).

En parallèle de cette diminution, les études indiquent que les capacités fonctionnelles des DCs, et plus particulièrement des pDCs étaient impactées. Les pDCs produisent ainsi plus d'IFN de type I et l'expression des molécules de costimulations est impactée lors de l'infection (*Runhong Zhou et al., 2020; Kvedaraite et al., 2021; Lévy et al., 2021; Onodi et al., 2021; Severa et al., 2021; Singh et al., 2022*). Les cDCs montrent aussi des capacités de présentations antigéniques diminuées lors de l'infection des patients (*Saichi et al., 2021*).

En ce qui concerne les pré-DCs, outre leur diminution dans le sang, il a été montré qu'elles diminuaient l'expression de l'AXL, du Siglec-1 et de la molécule inhibitrice CD200R à leur surface traduisant ainsi une modification phénotypique des cellules (*Kvedaraite et al., 2021; Winheim et al., 2021*).

Objectifs

Les cellules dendritiques jouent un rôle majeur dans la mise en place des réponses immunitaires précoces impliquées dans la lutte contre les pathogènes infectieux. Il a été démontré que les DCs sont fortement dérégulées au cours de l'infection par le VIH et particulièrement au cours de la phase précoce de l'infection. De plus, les pré-DCs ont été décrites comme étant préférentiellement infectées par le VIH au cours d'expériences menées in vitro. Ainsi, il est donc primordial d'accéder à la phase initiale de l'infection afin de caractériser les réponses immunitaires précoces des pré-DCs. En effet, l'infection des pré-DCs par le VIH, mais aussi les processus inflammatoires et immunosuppresseurs induits dès les premiers jours de l'infection, pourraient impacter leur capacité de production de cytokines (IL-12, TNF- α) et de présentation des antigènes aux lymphocytes T CD4⁺. En outre, l'infection pourrait avoir un impact sur leur capacité de différenciation en cDCs efficaces.

L'objectif de mes travaux de thèse visait donc à caractériser in vivo l'impact de l'infection au VIH sur la dynamique et la fonction des pré-DCs dès les premiers stades de l'infection. Pour atteindre cet objectif, nous avons utilisé un modèle de macaque d'infection inductible par le SIV. Néanmoins, les pré-DCs n'avaient pas encore été caractérisées chez le macaque au début de nos travaux. Nous avons donc dû au préalable identifier l'équivalent des pré-DCs humaines dans ce modèle. Par la suite, nous avons réalisé un suivi longitudinal des pré-DCs de macaque afin de caractériser leur dynamique, leur phénotype et leur fonction dans divers compartiments tissulaires dès les premiers stades de l'infection par le SIV. Au cours de cette étude, nous avons également étudié la dynamique et le phénotype des pré-DCs dès les premiers jours de l'infection résolutive par le SARS-CoV-2. En effet, bien que de nombreuses études réalisées à partir d'échantillons de patients ont apportées une meilleure compréhension sur la régulation des réponses immunitaires au cours de l'infection par le SARS-CoV-2, les événements très

précoces ne sont pas accessibles chez les patients infectés. Au final, nos travaux apportent une meilleure compréhension des réponses immunitaires précoces mises en jeux au cours d'une infection virale chronique (SIV) mais aussi dans le cadre d'une infection résolutive (SARS-Cov2).

Résultats

Article: Dysregulation of dendritic cell precursors in early SIV infection

Article en préparation.

Les avancées technologiques mènent à la découverte régulière de nouvelles sous-populations de cellules immunitaires soulevant ainsi des questionnements quant au rôle précis de ces cellules au cours des infections et des pathologies.

A ce titre, la découverte d'une population circulante précurseur des cellules dendritiques conventionnelles exprimant fortement le récepteur Siglec-1, qui se lie au VIH, a mené à l'étude de ces cellules, nommées pré-DCs, au cours de l'infection *in vitro* par le VIH. Ces recherches ont montré que les pré-DCs étaient préférentiellement infectées par le VIH au contraire des autres sous-populations de DCs et qu'elles devenaient un lieu de production de nouvelles particules virales. Bien que ces données *in vitro* suggèrent une dérégulation des pré-DCs ainsi qu'un rôle possible sur la dissémination du VIH, des études *in vivo* sont nécessaires à la caractérisation des mécanismes mis en jeux en contexte physiopathologique.

Au cours de notre étude, nous avons émis l'hypothèse que l'infection de l'organisme par le VIH induirait une dérégulation des pré-DCs dès les phases précoces de l'infection. Ceci conduirait à la mise en place de réponses immunitaires inefficaces pour le control de la réplication du virus. Par exemple, l'infection des pré-DCs pourrait concourir à leur destruction suite à la libération des nouveaux virions, mais aussi à un défaut de différenciation engendrant alors des cDCs fonctionnellement déficientes. D'autre part, les fonctions des pré-DCs pourraient être atténuées par les processus inflammatoires induits lors de l'infection par le VIH. L'étude des pré-DCs du sang, mais aussi des organes lymphoïdes secondaires, au cours de l'infection, est donc primordiale pour mieux comprendre l'impact du VIH sur ces cellules.

Dans ce but, nous avons décidé d'étudier la dynamique des pré-DCs au sein du modèle macaque *Cynomolgus* d'infection par le SIV. Ce modèle d'étude permet de mimer la physiopathologie de l'infection ainsi que les réponses immunitaires observées chez l'Homme. Les pré-DCs ont ainsi été suivies phénotypiquement et fonctionnellement au cours de l'infection inductible de 12 macaques, et ce, dès le 3^e jour de l'infection des animaux. Afin de mener ces études, il nous a d'abord fallu mettre au point une stratégie d'analyse permettant d'isoler les pré-DCs des autres sous-populations de DCs au sein de la circulation sanguine des animaux, mais aussi dans les tissus. Nos données montrent que les pré-DCs expriment un niveau élevé de molécules du CMH-II ainsi que les marqueurs CD123, Siglec-1 et Ki67 comme cela été rapporté pour l'Humain. De plus, ce phénotype permet d'identifier les pré-DCs dans différents tissus chez le macaque.

Etant donné que les pré-DCs sont présentes en faible proportion dans la circulation sanguine, les analyses fonctionnelles ex-vivo sur cellules purifiées sont compliquées. Dans ce contexte, nous avons donc mené une analyse de la capacité de production intracellulaire de cytokines par les pré-DCs présentes dans des cellules immunitaires mononuclées de différents compartiments stimulées ex vivo. Grâce à cela, nous avons ainsi montré que les pré-DCs étaient capables de produire du TNF- α et de l'IL-12 suite à une activation des TLR7/8 comme cela avait été montré chez l'homme.

Le suivi des pré-DCs tout au long de l'infection par le SIV a ensuite été mené au sein de 12 macaques dont 6 ont été traités en phase chronique par des traitements antirétroviraux. Nos résultats montrent que les pré-DCs sont fortement diminuées dans le sang à J+10 post-infection et que cette diminution est associée à une augmentation du nombre de pré-DCs dans les ganglions périphériques traduisant un recrutement des pré-DCs vers les organes lymphoïdes secondaires. Nous avons également mis en évidence une dérégulation phénotypique des pré-

DCs caractérisée par un manque d'expression des molécules de costimulations, dans les organes lymphoïdes secondaires, qui sont nécessaires à l'activation des lymphocytes T CD4⁺. Enfin, les pré-DCs recrutées dans les ganglions périphériques suite à l'infection ont une capacité atténuée de production d'IL-12 suite à une stimulation ex vivo des TLR7/8.

Ces caractéristiques pourraient ainsi refléter une incapacité globale des pré-DCs à générer des réponses immunitaires adaptatives et notamment la polarisation des LT CD4⁺ naïfs vers un phénotype Th1 ainsi qu'une mise en place inefficace de la production d'interféron gamma par les cellules NK. Ces dysfonctions pourraient participer aux mécanismes de dérégulation des réponses immunitaires précoces induits par l'infection entraînant un échappement immunitaire et une persistance du VIH.

Dysregulation of dendritic cell precursors (pre-DC) in early SIV infection

Margaux Gardet¹, Oscar Haigh¹, Sixtine Coindre¹, Florian Meurisse¹, Nastasia Dimant¹,
Delphine Desjardin¹, Relouzat Francis¹, Roger Le Grand¹, Olivier Lambotte^{1,2}, Benoit
Favier^{1, 3}

¹ CEA - Université Paris-saclay, Inserm U1184, Immunology of Viral Infections and Autoimmune Diseases (IMVA), IDMIT Department, IBJF, DRF, Fontenay-aux-Roses, France

² Public-Hospital Assistance of Paris, Department of Internal Medicine and Clinical Immunology, Paris-Saclay University Hospital Group, Bicêtre Hospital, le Kremlin-Bicêtre, France

³Lead contact footnote

Corresponding author: benoit.favier@cea.fr

Abbreviations

HIV: Human Immunodeficiency Virus; SIV: Simian Immunodeficiency Virus; DC: Dendritic Cells; cDC: conventional Dendritic Cells; pDC: plasmacytoid Dendritic Cells; TLR: Toll-like receptor; IL: Interleukin; IFN: interferon; LN: Lymph Node; BM: Bone Marrow; PBMC: Peripheral Blood Mononuclear Cells; LNMC: Lymph Node Mononuclear Cells; BMMC: Bone Marrow Mononuclear Cells; TNF: Tumor Necrosis Factor; MHC-II: Major Histocompatibility Complex II.

Abstract

Dendritic cells (DC) include distinct populations that play an important role in the shaping of immunity to pathogens. However, HIV elicits dysregulation of DC functions to promote disease progression. High-dimensional analyses have recently revealed a novel subset of circulating dendritic cell precursors (pre-DC), which are highly susceptible to HIV infection *in vitro*. The interplay between HIV and pre-DC during infection *in vivo* has not been defined. Upon measuring the proportion of circulating DC that were pre-DC, and characterizing their phenotype, from HIV⁺ patients at different stages of the infection, no differences were found. Employing a Cynomolgus macaque model of SIV infection, human pre-DC equivalents were characterized for the first time. This approach enabled the assessment of pre-DC dynamics and functionality during SIV infection, and across tissues. We found that circulating pre-DC decreased sharply during early phase of SIV infection,

but began to recover during chronic phase and upon anti-retroviral therapy (ART). Additionally, pre-DC accumulated in lymph nodes (LN) during early SIV infection, and remained elevated during chronic phase in the absence of ART. Interestingly, LN pre-DC neglected to increase costimulatory molecules, and their production of IL-12p40 following TLR7/8 stimulation was attenuated.

These findings pinpoint the dynamics and functions of human pre-DC-equivalents in acute and chronic SIV-infected macaques, which represent a pre-clinical infection model for human disease. Thus, this study provides a deeper understanding of the immune dysregulation mechanisms elicited by HIV infection in humans.

Introduction

Dendritic cells (DC) are a heterogeneous population that include conventional (cDC1 and 2) and plasmacytoid (pDC) DC, which play a critical role in the orchestration of immune responses thanks to their unique capacity to sense pathogen and to produce immune-stimulating signals (Collin et al., 2013; Dzionek et al., 2000; Merad et al., 2013; Minoda et al., 2017; Villar & Segura, 2020). These professional antigen presenting cell subsets elicit T cell responses by presenting foreign antigen alongside costimulatory molecules, and a fine-tune immune outcomes by further production of cytokines IL-12, IL-6, TNF- α and interferons. pDC produce high amount of type-I-IFNs (Cella et al., 1999). To initiate innate and adaptive immune responses against pathogens, activated DC migrate to lymph node niches. Recently, a new subset of circulating dendritic cells (pre-DC, also named ASDC), were identified in human peripheral blood (See et al., 2017; Villani et al., 2017). Produced in the bone marrow, pre-DC transit through the bloodstream into peripheral tissues and secondary lymphoid organs, to seed themselves and start their differentiation process into cDC. Human pre-DC share some surface markers of pDC, including: CD123, CD45RA and MHC-II, and can produce IL-12 and TNF- α . However unlike pDC, pre-DC do not produce

type-I-IFNs following TLR stimulation (See et al., 2017). Despite their precursor phenotype, human pre-DC express higher levels of MHC-II than pDC, and can stimulate CD4⁺ T cell proliferation *in vitro* (J. Lee et al., 2015; Matsui et al., 2009; See et al., 2017; Villani et al., 2017). These studies demonstrate that the functional capacity of pre-DC lies even beyond their cDC precursor ability since they can directly participate in initiating immune responses against pathogens.

DC dysregulation is a hallmark of HIV infection, and is associated with the rate of disease progression (Barratt-boyces et al., 2011; Bashirova et al., 2014; Bruel et al., 2014; Coindre et al., 2018; Huang et al., 2012; Lichterfeld & Yu, 2012; Majumder et al., 2005; Manches et al., 2014). Recently, pre-DC were identified as a major target of HIV infection, *in vitro*, due to the expression of Siglec-1 compared to other DC subsets, suggesting that the direct infection of pre-DC, could influence DC dysregulation and disease progression (Ruffin et al., 2019).

The macaque model of infection with SIV is the most relevant animal model for pathogenic HIV infection, and facilitates characterization of DC behavior during HIV infection, in blood and secondary lymphoid organs where the shaping of adaptive immune responses occurs (Aarnink et al., 2011; Antony & MacDonald, 2015; Barratt-boyces et al., 2011; Gardner & Luciw, 2008; Kader et al., 2013). This model has been instrumental, by us and others, in demonstrating DC deregulation during SIV infection, which are implicated disease hallmarks in HIV (Alaoui et al., 2018; Bruel et al., 2014; Malleret, Karlsson, et al., 2008; Malleret, Mané, et al., 2008). Even though pre-DC are more susceptible to HIV infection than other DC subsets *in vitro*, the interplay between HIV infection and pre-DC remains uncharacterized *in vivo*. This is because, to date, the pre-DC phenotype in macaques has remained undefined. This study addresses this shortfall by the development of a flow cytometry strategy for the characterization of human-equivalent pre-DC in Cynomolgus macaque blood and secondary lymphoid organs, which was used to monitor the dynamics of

pre-DC during the course of SIV infection. Furthermore, pre-DC could be isolated from blood and secondary lymphoid organs of SIV-infected macaques, and were evaluated phenotypically and functionally for their ability to respond to TLR agonists. The findings of this study reveals the extent of pre-DC dysregulation during SIV infection *in vivo*, which is likely to be representative of pre-DC dysregulation during HIV infection in humans.

Materials and methods

Study subjects & ethics

Samples were processed from four different human groups. The C06 ANRS PRIMO cohort was approved by the Paris-Cochin ethics committee. Blood samples were collected from HIV patients at enrolment, before any treatment, and 1 year after effective cART. Primary infection phase was defined by negative or indeterminate HIV ELISA results, but with either p24 antigen⁺, HIV-RNA⁺ plasma, with an evolving western blot profile (no anti-Pol antibodies), or with a seronegative test performed less than 6 months prior to HIV⁺ status. The CO21 ANRS CODEX Cohort was approved by the ethics committee of Ile de France VII. Elite Controllers (EC) patients of this cohort had been infected for > 5 years without ART. EC had plasma HIV RNA values below 400 copies/mL (Walker-Sperling et al., 2017). Blood samples of healthy subjects were obtained from the “Etablissement Français du Sang” (EFS). All subjects gave written informed consent to participate in the study. Clinical parameters were summarized in Table 1.

Cynomolgus macaques

Macaca fascicularis were imported from Mauritius Island, and housed in Infectious Diseases Models and Innovative Therapies (IDMIT) laboratory belonging to the “Commissariat à l’Energie Atomique et aux Energies Alternatives” (CEA, Fontenay-aux-Roses, France. Animal studies was approved by the ethics committee “Comité d’éthique en expérimentation animale” No. 44, and by the “Ministère de l’Education Nationale, de

l'Enseignement Supérieur et de la Recherche" (France) (reference 2015102713323361.02 (APAFIS-2453)). All animal treatments and procedures were performed according to French national regulations and, by association, European regulations under the direct supervision of national veterinary inspectors (CEA accreditation No. D92-032-02) (European Directive 2010/63, recommendation No. 9), in compliance with the Standards for Human Care of the Office for Laboratory Animal Welfare (OLAW, USA; under OLAW Assurance No. A5826-01).

SIV infections & sample collection

Cynomolgus macaques expressing the MHC-I H6 haplotype were excluded, as they are inclined to naturally control SIVmac251 viral infection. All procedures were performed under general anesthesia by intramuscular injection of 10 mg / ml Ketamine (Rhone-Merieux, Lyon, France). Animals were infected intravenously with a single 1000AID50 dose of SIVmac251 ($n = 12$) on day 0. From days 182 to 910, Group 2 received intravenous ART (emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate reverse transcriptase inhibitors (40 mg / kg, and 5.1 mg / kg, respectively), combined with dolutegravir integrase inhibitor (2.5 mg / kg)) daily.

Blood was collected in lithium heparin tubes (Vacutainer, BD, USA) and bone marrow was collected by aspiration from the iliac crest using a 18G syringe containing 10 mg / mL citrate dextrose. Lymph nodes were harvested from four different sites: right and left iliac and right and left axillary nodes. Spleens were collected at the time of euthanasia or when the clinical end points were reached.

SIV viral load quantification

Plasma from whole blood samples was obtained by centrifugation at 1500 x g for 10 min. SIV RNA was isolated from plasma using a High Pure viral RNA kit (Roche Diagnostics, Meylan), according to manufacturer specifications. Quantitative RT-PCR using primers

towards the gag region of SIV genomic RNA was used to quantify plasma viral load, as previously described (Karlsson et al., 2007).

Tissues processing

Lymph node samples were divided in half with a scalpel before mechanical dissociation of single cells, by passing through a 70 µm nylon filter using gentle pressure applied with a sterile syringe plunger. The filter was washed with R10 media (RPMI 1640 GlutaMAX (Gibco) supplemented with 10% FBS (Sigma-Aldrich) + 1% Penicillin, Streptomycin, and Neomycin (Gibco)). Lymph node myeloid cells (LNMC) were recovered by centrifugation at 500 x g (4°C) for 10 mins, and were resuspended in PBS (Gibco). Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated using a 1.077 density Ficoll cushion (Eurobio), centrifuged at 600 x g for 20 mins, and resuspended in R10 media. Plasma was removed from bone marrow (BM) samples by centrifugation at 600 x g for 10 mins, and then the cells were then resuspended in PBS before being overlaid onto a Ficoll gradient (as for blood, defined above). The layer of purified BM mononuclear cells (BMMC) were then recovered. Whole spleens were collected into GentleMACS tubes (Miltenyi), with RPMI medium (Gibco). GentleMACS dissociation was performed using manufacturer recommendations, and then samples were passed through a 100 µm nylon filter. Filtrate was diluted in PBS before Ficoll gradient purification, as described for blood samples above. All single cell suspension products were counted using a Vi-Cell XR automated hemocytometer (Beckman Coulter).

Antibody staining of cells & flow cytometry analysis

Macaque serum, diluted (10%) in R10 media, was used to saturate FcR binding sites to inhibit non-specific antibody staining at 4°C for 20 mins. Antibody cocktails were prepared in staining buffer using previously calculated titers. Five million cells were labeled from each sample, first with anti-CADM1 + live/dead stain (Fisher Scientific), for 15 mins at room temperature (RT) in the dark before washing with PBS, pelleting at 500 x g for 5 min. Then

pellet was resuspended and incubation with remaining antibody cocktail was performed before being washed with PBS and pelleting at 500 x g for 5 min. Cells were then fixed with 1x Cell Fix (BD Biosciences), and acquired using a FORTRESSA X20 flow cytometer (Becton Dickinson) and DIVA software. FlowJo v10.8.1. was used for analysis of all cytometry data. Antibody details are described in Table 2.

TLR agonist stimulation ex vivo & intracellular cytokine staining

Mononuclear cells from blood, lymph nodes or bone marrow were stimulated for 3 hours with 10 µg / mL R848 / Resiquimod (Sigma), or 25 µg / mL PolyI:C (Invivogen), or 1 µg / mL LPS (Invivogen), diluted in RSG10 (RPMI medium + 10% FCS + 1X Sodium pyruvate (Thermo Fisher) + 1% Glutamate). After two hours of stimulation, Brefeldin A (100 µg / mL final concentration; Sigma) was added for one more hour. Cells were then washed and permeabilized using the Foxp3 / Transcription Factor Staining Buffer Set (Invitrogen). Following the fixation step, FcR binding sites were saturated as described for antibody staining. After washing, cells were resuspended in 1x PermWash (eBioscience) containing anti-Ki67 antibody (See table 2) for one hour at 4°C. For the final 20 mins, a cocktail of anti-cytokine antibodies were added (See table 2).

RNA sequencing & SIVmac251 genome quantification

Blood pre-DC and pDC were sorted by flow cytometry from PBMC harvested 11 months p.i., and total RNA were extracted using RNA-easy kit (Qiagen) according to the manufacturer recommendation. mRNA was purified and amplified with SMART-seq v4 kit (Takara). Sequencing was performed by through Illumina (Hi-seq 2x150 bp). Results were challenged against SIVmac251 genome reference (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KF051800.1>).

Statistical analysis

All statistical analysis were performed using GraphPad Prism 8 (Table 2). Nonparametric Mann-Whitney U test or a paired nonparametric Wilcoxon signed–rank test was performed

between unpaired or paired data, respectively. Friedman test was used to analyze longitudinal data. Comparisons of data between groups, or pooled sample analyses used a Kruskal Wallis test.

Results

Characterization of circulating human pre-DC in the late phase of primary HIV infection

Human blood pre-DC were characterized from i) non-infected (N-I) donors ($n = 16$), ii) late-stage HIV primary infection patients (*between 1 and 3 months post infection*; $n = 13$), iii) after one year of effective ART, and iv) from EC patients ($n = 10$), by flow cytometry (Figure 1). Clinical parameters of HIV-infected patients are shown in Table 1. cDC1, cDC2, pDC and pre-DC were defined from PBMC; pre-DC were MHC-II⁺ CD141⁻ CD123⁺ AXL⁺ (Figure 1A). This DC subset (N-I: median=1.042, SD=0.5829) appeared to experience a subtle decrease ($p = 0.068$; *Mann-Whitney test*) in late primary HIV infection (*primo*: median=0.6529, SD=0.3810), in comparison to N-I donors (Figure 1B). Interestingly, ART appeared to elicit a bidirectional effect on the frequency of pre-DC in blood, as half ($n = 7$) of HIV-infected donors demonstrated an increased pre-DC frequency after ART, while $n = 3$ appeared to decrease and $n = 3$ barely changed (Figure 1B). A similar effect was observed in pDC frequencies (Figure 1C), which trended lower ($p = 0.011$, *Kruskal-Wallis test*) after HIV infection, but with almost all patients responding to ART with increased frequencies of pDC in the blood ($p = 0.0398$; *Wilcoxon test*). In contrast, these changes were not so obvious in the frequency of cDC2 (Figure 1C).

We also investigated if HIV infection status influenced the maturation state of blood pre-DC. Expression of costimulatory molecules (CD40, CD80, CD86 and CD83) on the surface of pre-DC was compared between patient groups. CD86 was expressed by most pre-DC (Figure 1D) as expected (See et al., 2017; Villani et al., 2017), regardless of the infectious

state (N-I: mean = 72.28%, SD= 12.27%, Primo: mean = 74.26%, SD= 9.96%, ART: mean = 74.50%, SD= 9.73% and EC: mean = 81.41%, SD= 9.93%), with a high MFI trend in EC. Smaller proportions of pre-DC expressed CD40 ($\approx 15\%$), CD80 ($\approx 4.7\%$) or CD83 ($\approx 10.15\%$), regardless of the infectious state. While the expression of these co-stimulatory molecules on pre-DC was not significantly affected by HIV infection, ART appeared to elicit a bidirectional trend (*vs primo*) in patients, of either an increase or decrease in CD40, CD83 and CD86 frequency, which was also observed by MFI changes (Figure 1D).

These results suggest that circulating pre-DC abundance and phenotype are not severely affected in late phase of primary HIV infection. However, the decreasing trend in pre-DC proportion after HIV infection, changes in costimulatory molecule expression and after ART justified the further scrutiny of pre-DC dynamics during the first days after infection. Since such samples are almost impossible to obtain (due to the delay between patient infection and diagnosis), the Cynomolgus macaque SIV infection model, which recapitulate the pathophysiology of HIV infection as it occurs in humans, was used to study early immune responses.

Multiparameter flow cytometry analysis define human pre-DC equivalents in Cynomolgus macaques

Since pre-DC were undefined in Cynomolgus macaques, a flow cytometry gating strategy was designed using antibodies to discriminate circulating human pre-DC from other DC subsets in humans (Figure 2A and 2B), which would be compatible for use in macaques. Human pre-DC markers, including CD45RA and CD33, were not compatible with Cynomolgus macaques (Figure S1A). However, a combined CD123 and Siglec-1 approach in humans (HLA-DR⁺ CD123⁺ Siglec-1⁺ and BDCA-2⁺ lin⁻ cells; Figure 2B), overcame the need for CD45RA and CD33 discrimination (Figure 2 A-C). Thus, this strategy effectively differentiated pre-DC from pDC, cDC1 and cDC2 subsets in Cynomolgus macaque PBMC (Figure 2D). This strategy was also applied to human PBMC, which correctly identified pre-

DC as the Axl⁺ Siglec-6⁺ population (Figure S1B). However, Axl and Siglec-6 expression were not detected in PBMC from Cynomolgus macaque (Figure S1C).

To further validate the identity of the Cynomolgus macaque pre-DC subset in PBMC, MHC-II expression was compared between pre-DC and other DC subsets. In agreement with human studies, expression of MHC-II on macaque pre-DC was lower than that of cDC2, but higher than for pDC (Figure 2E and S1D).

Additionally, TIGIT has been reported to be specifically expressed on pDC, but not by other DC subsets in macaque (M. Y.-H. Lee et al., 2021). Concordantly, TIGIT expression was restricted to pDC making it an additional selection marker for the discrimination of pre-DC from cDC1, cDC2 and pDC (Figure 2E and S1D). pre-DC identity using our gating strategy was further validated by the intracellular expression of the proliferation marker Ki67. In contrast to pDC, macaque and human pre-DC expressed Ki67 (Figure 2F and S1E). In fact, among Lin⁻CD123⁺ MHC-II⁺ cells, only pre-DC defined by Lin⁻/CD123⁺/MHC-II⁺/Siglec-1⁺/BDCA-2^{low} show intracellular expression of Ki67 to clearly differentiate pre-DC from pDC and other DC subsets (Figure 2F).

The frequency of pre-DC were then compared between PBMC of Cynomolgus macaques and humans. The frequency of circulating pre-DC was slightly higher in Cynomolgus macaques (mpre-DC) than in humans (hpre-DC) (Figure 2G), while the frequency of pDC in peripheral blood was lower in Cynomolgus macaques than in humans, in agreement with a previous study (Bjornson-hooper et al., 2019).

Additional studies have identified pre-DC in bone marrow, skin and secondary lymphoid organs, in uninfected conditions (Alcántara-Hernández et al., 2017; Cabeza-Cabrero et al., 2019; Leylek et al., 2019; Schlitzer et al., 2015; See et al., 2017). To determine if macaque pre-DC retained their phenotype (Lin⁻/CD123⁺/MHC-II⁺/Siglec-1⁺/BDCA-2^{low}) in other tissue, lymph nodes, spleen and bone marrow were also analyzed for the presence of pre-DC using this gating strategy (Figure 3A). Unsupervised t-SNE analysis (using:

MHC-II, CD123, Siglec-1, BDCA-2, CD1c, CADM1, CD45 and CD11b) and a manual gating overlay of pre-DC (red), pDC (orange), cDC1 (green) and cDC2 (blue) confirmed pre-DC identity by the independent clustering of pre-DC from pDC and cDC subsets, in all tissues (Figure 3B). In addition, pre-DC from different tissues were always clustered in the same distinct t-SNE island, confirming consistent marker expression between the different compartments during the resting state.

These results identified human-equivalent pre-DC in different Cynomolgus macaques, to be Lin⁻MHC-II⁺CD123⁺Siglec-1⁺BDCA-2^{low} TIGIT⁻ Ki67⁺. The minimal flow cytometry strategy (Lin⁻MHC-II⁺CD123⁺Siglec-1⁺BDCA-2^{low}) was validated, and could be applied across tissues for discrimination of pre-DC from pDC and other DC subsets.

Differential expression of costimulatory molecules according to tissue localization, & DC cytokine production upon TLR agonist stimulation by Cynomolgus macaque pre-DC

Using our validated macaque pre-DC gating strategy, we interrogated the expression of co-stimulatory molecules and production of DC cytokines under TLR stimulation by Cynomolgus macaque pre-DC. Resting state coexpression of CD83 and CD86, or CD40 vs HLA-DR were compared between pre-DC, pDC and cDC2 from PBMC, LNMC or spleen in healthy macaques (Figure 3C). While PBMC-derived subsets lacked expression of CD83 and CD86, almost half of pre-DC from LNMC expressed CD86 (45%), and 27.4% coexpressed CD83. pDC from LNMC did not express CD83 or CD86, while these markers were coexpressed on cDC2 LNMC with similar frequencies to pre-DC. In addition, a significant proportion of splenic pre-DC (21%) coexpressed CD83 and CD86, while CD83⁺ or CD86⁺ pDC or cDC2 were rarely observed.

Abundant frequencies of CD40⁺ DC were observed in all subsets in the LN and most pre-DC and cDC2 were CD40⁺ in the spleen. Therefore, costimulatory phenotype of pre-DC was different across tissues during the resting state in healthy macaques.

Pre-DC cytokine production capacity upon TLR7/8 stimulation was examined *ex vivo*. Similar to human pre-DC (See et al., 2017), Cynomolgus macaque pre-DC produced TNF- α and IL-12p40, but not interferon alpha (IFN- α) after incubation with R848 (Resiquimod) (Figure 3D). In contrast, incubation with R848 elicited abundant pDC coexpression of IFN- α and TNF- α and IL-12. No cytokine production was observed by the three subsets after stimulation with PolyI:C or LPS (Figure 3D). The capacity of pre-DC to produce IL-12p40 and TNF- α was conserved across tissues, as significant numbers of IL-12p40⁺ and TNF- α ⁺ pre-DC were detected after TLR7/8 stimulation when isolated from LNMC, splenocytes or BMMC (Figure S2).

Altogether, these data demonstrate shared phenotypic and functional capacities of Cynomolgus macaque pre-DC across tissues, which recapitulate the phenotypic and functional capacity of human pre-DC, and their cross-species homology.

Circulating pre-DC decrease from peripheral blood & accumulate in lymph nodes during early SIV infection

Pre-DC dynamics were investigated in peripheral blood and tissues of SIV-infected Cynomolgus macaques, during early and late primary infection, as well as during chronic phase, with (n = 6) or without ART (n = 6), in separate groups (Figure 4A). Viral load was frequently monitored to define the different phases of infection. From 3 days *post* infection, viral load was detected significantly higher than baseline, to define the early acute infection (Figure 4B). Day 10 p.i. represents the peak of viremia, ($\approx 10^7$ RNA copies/mL), which stabilized around day 35 to levels, to define chronic phase which continued until the end of the experiment. In the macaques that received ART at day 182, during chronic phase, a rapid decrease of viral loads occurred within 7 days, plummeting below the detection threshold at this time (Figure 4B). CD4 T cell were also monitored in blood. An abrupt decrease in CD4 T cells was elicited by SIV infection and slowly declined during the course of chronic phase (Figure 4C).

The amount of blood pre-DC significantly decreased at the peak of viral load (day 10 *post* infection) (Figure 4D), whereas the proportion of pre-DC increased in lymph nodes (Figure 4E). During chronic phase, a partial recovery of blood pre-DC was observed (Figure 4D), while pre-DC presence remained elevated in untreated animal LN (Figure 4F). Ki67 proliferation marker expression by pre-DC from blood and lymph nodes was also investigated during the course of SIV infection (Figure 4G and H). The major portion of blood pre-DC (88,19%) in uninfected animals, and during the different phases of SIV infection, expressed Ki67, while acute phase SIV infection elicited a decline in the proportion of pre-DC that expressed Ki67 (day 3 = 80,40%; day 10 = 72.72%) and recovery in the blood occurred during chronic phase (91,37%) (Figure 4G). However, only a small portion of LN pre-DC from uninfected animals expressed Ki67 (23.34%), which elevated significantly to 49,41% during acute, and to 45,67% during chronic phases (Figure 4H). The increased proportion of Ki67⁺ pre-DC in LN during acute and chronic infection, from low resting state levels, strongly suggests that blood pre-DC are recruited into the LN from the time of SIV infection, and that chronic infection elicits persisting recruitment to LN for the course of infection.

For comparison, pDC and cDC2 dynamics were also evaluated at the same time (Figure S3A and B). Concordant with previous studies (Alaoui et al., 2018; Bruel et al., 2014; Malleret, Mané, et al., 2008), both pDC and cDC2 numbers rapidly decreased in PBMC of infected animals during acute SIV infection, and accumulating in LN, with a trend not unlike pre-DC dynamics.

Moreover, ART induced a decrease in the frequency of pre-DC in the lymph nodes, which returned to uninfected proportion levels (Figure 4I right vs 4F).

ART also affected pDC and cDC2 blood-LN dynamics (Figure S3C & D). pDC numbers in the blood exploded after ART (Figure S3C left), and did not return to uninfected proportion levels in the LN (Figure S3D left). While cDC2 dynamics in blood were similar to pre-DC,

with cDC2 numbers returning to uninfected levels (Figure S3C right), cDC2 frequencies in the LN continued to rise after ART (Figure S3D right). Thus, ART influenced the dynamics of pre-DC, pDC and cDC2 differently in chronic SIV-infected animals.

Due to the observed decline in circulating pre-DC numbers during early SIV infection (Figure 4D and I left), an 'emergency hematopoiesis state' was considered that might compensate for the loss of pre-DC in the blood, in the BM. Only subtle changes in the frequency of pre-DC occurred in the BM during early SIV infection, but there was an increased trend of pre-DC during chronic infection (Figure 4J). The proportion of pDC, on the other hand, crashed in BM during the early phase of the infection, rebounding partially by chronic infection phase, while cDC2 frequency appeared to gradually decline over the course of SIV infection (Figure S3F). Interestingly, the Ki67⁺ proportion of pre-DC in BM seems to decline from acute infection to chronic infection phase, and was not replenished (Figure 4J, right). Even though pre-DC were ever present in blood and BM over the course of SIV infection (Figure 4G), the decline of Ki67⁺ pre-DC in BM suggests that chronic infection with SIV may eventually exhaust the BM pre-DC compartment (Figure 4J, left).

Altogether, our data demonstrated the dynamics of pre-DC during SIV infection, which decline in blood early during acute infection, but were recruited to LN. pre-DC in blood only partially recovered and accumulation persisted in LN during chronic phase. However, proliferating BM pre-DC declined considerably during chronic infection. ART reversed chronic phase pre-DC LN dynamics, returning to uninfected levels.

SIV infection impairs LN pre-DC functionality

Activation phenotype (CD83, CD86 and MHC-II) of pre-DC from PBMC, LNMC or spleen was assessed during the different phases of SIV infection. Although blood pre-DC numbers dropped during the primary infection phase, the remaining circulating cells would be exposed to virus due to high viral load in hosts. While an activated phenotype was expected, activation markers CD83, CD86 and MHC-II were decreased in this circulating

pre-DC pool during acute infection (Figure 5A and B); these markers all returned to basal expression on chronic phase blood pre-DC (Figure 5A). In the LN, pre-DC had significant increase of CD83 and CD86 expression only during chronic phase (Figure 5C and D). Moreover, MHC-II expression appeared downregulated during acute phase infection, to partially rebound during chronic phase (Figure 5C and D).

Spleen is a major secondary lymphoid organ, functioning to facilitate adaptive immune response initiation via promotion of DC-T cell interactions. While spleen was not accessible during early infection, splenic pre-DC were harvested at euthanasia, in ART or untreated animals (Figure 5E). Pre-DC from macaques in SIV chronic infection exhibited higher expression of CD83 compared to pre-DC from non-infected macaques. Also observed was a non-significant trend of CD86 and MHC-II up-regulation on splenic pre-DC from untreated macaques, which may have been partially ameliorated by ART (Figure 5E).

To explore apoptosis as an explanation for blood pre-DC loss during primary infection, we longitudinally analyzed expression of the cell death marker CD95 on pre-DC in two newly infected animals. Upregulation of CD95 expression on blood pre-DC was triggered by SIV infection, with over 70% expressing high levels during all phases of SIV infection. At day 10 p.i., all blood and LN pre-DC expressed high levels of CD95, suggesting their susceptibility to apoptosis at the peak of infection (Figure 5F, G and H).

SIV and HIV stimulate DC primarily through a TLR7/8 pathway (Bao & Liu, 2013; Cella et al., 1999; Khatamzas et al., 2017). After *ex vivo* stimulation of PBMC, LNMC or BMMC with the TLR7/8 agonist R848, IL-12p40 and TNF- α expression by pre-DC was measured. A proportion of pre-DC in the blood and lymph nodes retained the ability to secrete IL-12p40 and TNF- α during the course of SIV infection (Figure 6A-C). A higher frequency of stimulated blood pre-DC expressed IL-12p40 and TNF- α when harvested at the peak of infection, 10 days p.i. (Figure 6A). In contrast, the capacity for IL-12p40 production by LNMC- and BMMC-derived pre-DC from early and chronic phases of SIV infection were

severely attenuated, almost completely lost by BMMC-derived pre-DC (Figure 6B and C). Only a non-significant decrease in the frequency of LN pre-DC producing TNF- α occurred during acute phase of SIV infection (Figure 6B), while the frequency of BMMC producing TNF- α upon stimulation increased throughout the course of SIV infection (Figure 6C). Production of IFN- α was barely detected from R848-stimulated PBMC or LN pre-DC (Figure 6D). In contrast and as expected, stimulation of PBMC- or LN-derived pDC with R848 elicited robust production of IFN- α (Figure S4); in blood and lymph nodes higher frequencies of IFN- α -producing pDC were detected when harvested at the peak of infection, on D 10 p.i.. However, the capacity of pDC to produce TNF- α or IL-12p40 under TLR7/8 stimulation was not significantly modified by SIV infection.

These data indicate that SIV infection affects pre-DC functionality early during SIV infection, by inhibition of costimulatory and MHC-II molecule expression, and disabling production of IL-12p40 in LN and BM upon TLR7/8 stimulation.

Discussion

The DC response to HIV infection seems to be affected in blood of HIV-infected patients, where they display a more activated phenotype, and they are reduced in numbers (Diao et al., 2015; Donaghy et al., 2001; Sabado et al., 2010; Soumelis et al., 2001; Yonkers et al., 2011). The discovery of preDC (See et al., 2017; Villani et al., 2017) has led to a new field of interest regarding their involvement in the development of immune responses to viral infection. In particular, the study of preDC following HIV infection is significant because of the expression of Siglec-1, an HIV receptor, specifically by this subset (Ruffin et al., 2019). Since pre-DC also possess DC-like functionality (See et al., 2017; Villani et al., 2017), we questioned whether decreases in blood pre-DC and changes in their activation phenotype would also be observed in HIV-infected patients. When we compared sample of non-infected human with primary HIV infected, before and after ART, a trend of decreased pre-

DC was evident during primary HIV infection. Furthermore, ART seemed to affect the level of costimulatory molecule expression by human pre-DC. This lack of observed significant change was in agreement with a recent study, which also did not identify significant modifications of circulating pre-DC activation or abundance during primary HIV infection (Brouiller et al., 2022). However this study and ours relied on late-stage sampling from patients (as a consequent of diagnosis time), and the delay may have concealed significant pre-DC changes that are more likely to occur directly after infection. As hypothesized, we observed drastic changes in pre-DC dynamics and functionality using a macaque SIV infection model, which enabled the longitudinal analysis of pre-DC from the early days post infection until chronic phase, before or after implementation of ART. Concordantly, the consequence of sampling late after HIV infection was demonstrated using the SIV model, as by day +35 *post* SIV infection, pre-DC number and phenotype had reverted to near-normal levels in the blood. Therefore, our data highlight the importance of immune monitoring early after infection, particularly for tracking of dendritic cell behaviour, during the first days after HIV infection.

This macaque model has been used previously to define the dynamics and functions of pDC and cDC during SIV infection (Barratt-Boyes et al., 2006; Bruel et al., 2014; M. Y.-H. Lee et al., 2021; Malleret, Karlsson, et al., 2008; Malleret, Mané, et al., 2008; Wijewardana et al., 2010). Even though this model is outstanding for the study of early immune responses to HIV, and in peripheral tissues, discrepancies in some key markers for human-equivalent DC identification are present (including CD141 and CD11c) (Autissier et al., 2010; Brown & Barratt-Boyes, 2009; Dutertre et al., 2014; Leylek et al., 2019). Similarly, we found that some markers for human-equivalent pre-DC, such as Axl, Siglec-6 and CD45RA, were not suitable to isolate pre-DC in the macaque. Even so, these markers were not essential since we developed in this study a multiparameter flow cytometry strategy to unambiguously isolate human-equivalent macaque pre-DC from other DC subsets, in blood and secondary lymphoid organs, after SIV infection. This strategy employed common

surface markers that were shared between macaque and human pre-DC, including: CD123, Siglec-1, BDCA-2 and MHC-II. Moreover, in both species, pre-DC produced IL-12 and TNF- α , but not type-I-IFN upon TLR7/8 stimulation.

Using this validated gating strategy, we identified decreases in circulating pre-DC during early SIV infection and an increased proportion of pre-DC to total DC in LN of SIV-infected animals. This could reflect their migration into secondary lymphoid organs, as previously reported for pDC in the SIV model (Bruehl et al., 2014), as well as into sites of infection, as observed in the lungs of mice during influenza infection (Beshara et al., 2018; Leylek et al., 2019). Additionally, HIV infection in the gut constitutes a major reservoir of viral replication within the draining LN (Brenchley & Douek, 2008). While intestinal tissue was unavailable during this study other LN, like those draining the gut, are likely to also be major sites for pre-DC recruitment during SIV/HIV infection.

Ki67 is a proliferation protein expressed during all the cell cycle stages except G0. It has been shown that mouse pre-DC from different compartment express high level of this protein (Cabeza-Cabrero et al., 2019) and this is what we have demonstrated in human and in the macaque. Ki67 expression by pre-DC has allowed pre-DC isolation from the pDC and its expression by pre-DC support the fact that pre-DC are able to produce new cells through proliferation.

While there was a proportion of Ki67 expressing pre-DC in LN before SIV infection, their proportion nearly doubled during early and chronic SIV infection. Therefore, either the LN pre-DC pool expanded, or additional Ki67⁺ pre-DC are recruited from the blood in response to SIV infection. These profound increases continued during chronic phase of infection but was tempered by ART treatment, to suggest that active SIV infection is directly responsible for the increased presence of pre-DC in the LN. However, in the BM, the proportion of pre-DC that were Ki67⁺ dropped drastically, to suggest that over the course of chronic SIV infection, these pre-DC exit BM, and are recruited to LN. The fate of pre-DC is determined

early during SIV infection, as we observed a shift in death receptor Fas (CD95) expression by 100% of pre-DC between 3 and 10 days *post* SIV infection, in the blood and lymph nodes. This coincided with the peak of viral load, and the loss of pre-DC from circulation. Therefore, pre-DC losses, and their eventual fate during early SIV infection could be a direct result of apoptosis triggered by infection (Ashany et al., 1999; Brown et al., 2009; Bruel et al., 2014; Varanasi et al., 2014), or as a bystander response to the inflammatory environment elicited by SIV infection, as previously reported for other DC subsets (Laforge et al., 2011). In the end, SIV infection promoted death receptor expression on pre-DC and draws them into LN where they likely die.

The chronic accumulation of Ki67⁺ pre-DC in LN may also reflect deregulation of pre-DC function, to affect the host's capacity to maintain cDC subset numbers during chronic SIV infection. In this regard, pre-DC activated as a cause of SIV upregulate death receptors, migrate through the blood to secondary lymphoid organs to die, instead of proliferation and maturation into cDC. While their numbers in BM were dropping, blood pre-DC didn't appear to be activated, and LN pre-DC lacked CD86 expression and decreased significantly their MHC-II expression during early SIV infection. This signature reflected an immature phenotype or a delayed activation which also has been reported for cDC in chronic phase of SIV infection (Wijewardana et al., 2014). The lack of costimulatory and MHC-II molecule up-regulation on pre-DC could further lead to poor presentation of viral antigens to T cells in the lymph nodes, and thus elicit ineffective adaptive responses.

Across both species, pre-DC also performed DC-like functions by the production of IL-12 and TNF- α upon TLR7/8 stimulation, but not IFN- α like pDC (See et al., 2017; Villani et al., 2017; Zhang et al., 2017). This DC-like capacity was observed in a higher proportion of pre-DC in blood at the peak of viral replication. However, BM and LN pre-DC were lacking in their ability to produce IL-12p40 during early or chronic SIV infection. Thus, like pDC, it is possible that pre-DC in LN become refractory to *ex vivo* restimulation due to SIV infection (Malleret, Mané, et al., 2008; Miller & Bhardwaj, 2013; Sabado et al., 2010). It is well

established that IL-12 is a major factor for induction of Th1 differentiation, and is also an activator of NK cell antiviral function (Ferlazzo et al., 2004; Kaplan et al., 1996). Therefore, the attenuated capacity of pre-DC to produce IL-12p40 in lymphoid tissue could participate to the mechanisms of immune dysregulation elicited by SIV/HIV (Louis et al., 2010). We further observed altered costimulatory molecule expression elicited on pre-DC by SIV infection. Since pre-DC can directly stimulate CD4⁺ T cells via antigen presentation, or after differentiating into cDC1 or cDC2 (Breton et al., 2015; See et al., 2017; Villani et al., 2017), it is important for future studies to determine i) how SIV infection affects the capacity of pre-DC to elicit/influence T cell responses during SIV infection, and ii) if SIV affects the differentiation of pre-DC into cDC1 or cDC2, and if these progeny are affected in their ability in shaping T cell responses. In addition to the difficulty of obtaining sufficiently purified cells, such a study would require a combination of culture medium conditions, cytokines and/or stromal cells suitable for the differentiation and survival of macaque pre-DC *in vitro*, which are currently undefined.

We demonstrated ongoing changes in pre-DC dynamics, activation and death phenotype, and direct functionality during the course of SIV infection. Some of these changes persisted during chronic infection, but were rectified by ART to some extent. Since pre-DC are a relatively new subset, it remains unknown if pre-DC themselves are targets for SIV infection. Previously, a high degree of active SIV infection has been reported in pDC from the LN of chronically SIV infected-macaques (M. Y.-H. Lee et al., 2021). To this date, previous studies have not differentiated pDC from pre-DC with isolation procedures, thus it is likely that reported 'pDC' also include pre-DC. Therefore, we simultaneously isolated pre-DC and pDC from the blood of a single chronically infected animal and performed transcriptomic analysis to identify SIV infected cells, as a proof of concept. Surprisingly, infection of blood pDC was low while pre-DC from blood contained higher number of SIV RNA reads than blood pDC (Figure S6). These preliminary results support the initial theory that SIV/HIV would preferentially infects pre-DC.

However, the implication of pre-DC in the viral reservoir need to be confirmed with a larger number of animals, and in HIV-infected patients. Such a study would provide important information on HIV pathophysiology and the contribution of pre-DC as a reservoir for dissemination of virus, and in immune dysfunction following their migration into secondary lymphoid organs. In this regard, germinal centers of lymph nodes are enriched in memory and follicular helper CD4⁺ CCR5⁺ T cells that represent a major reservoir of the virus.

In summary, this study identified human equivalent of pre-DC in macaque preclinical model and demonstrated that SIV infection induces pre-DC dysregulation that may affect the development of effective anti-viral immune responses with direct implications in the pathophysiology of HIV infection in humans. Future studies aiming to characterize the impact of this dysregulation on disease progression, but also the contribution of pre-DC from tissues as reservoir, will be crucial for the design of new therapeutic strategies against HIV.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MG, OL, BF: conceptualization. SC and FM: methodology. MG: investigation. ND, DD,FR and RLG and CH: study management. MG, BF: formal analysis and writing of the original draft. MG, BF and OH: review and editing. BF: supervision.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the staff of the animal facility of IDMIT, particularly Q Sconosciuti, B. Delache, M.Pottier, S. Langlois, J.M. Robert, N. Dhooge. The Infectious Disease Models and Innovative Therapies Research Infrastructure (IDMIT) is supported by the “Programmes

Investissements d'Avenir" (PIA), managed by the ANR under references ANR-11-INBS-0008 and ANR-10-EQPX-02-01. We'd like to thank F. Abdallah for her help for the tissues processing and during the experiments. We also thank J. Van Wassenhove, M. Gomez Parcheco, W. Gros and A.S. Gallouet for flow cytometry staining, N. Bosquet, L. Bossevoit, M. Leonec, L. Moenne-Loccoz and J. Morin for the RT-qPCR assays. We thank the ANRS (French National Agency for AIDS research) CO6 PRIMO and CO21 CODEX cohort for helpful collaboration and all the medical professionals involved in blood sampling at the Hôpital Kremlin-Bicêtre. M.G. received a PhD scholarship from the University of Paris-Saclay and ANRS.

561

Aarnink, A., Dereuddre-Bosquet, N., Vaslin, B., Le Grand, R., Winterton, P., Apoil, P. A., & Blancher, A. (2011). Influence of the MHC genotype on the progression of experimental SIV infection in the Mauritian cynomolgus macaque. *Immunogenetics*, 63(5), 267–274. <https://doi.org/10.1007/s00251-010-0504-6>

Alaoui, L., Palomino, G., Zurawski, S., Zurawski, G., Coindre, S., Dereuddre-Bosquet, N., Lecuroux, C., Goujard, C., Vaslin, B., Bourgeois, C., Roques, P., Le Grand, R., Lambotte, O., & Favier, B. (2018). Early SIV and HIV infection promotes the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in cDCs. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(10), 1871–1887. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2712-9>

Alcántara-Hernández, M., Leylek, R., Wagar, L. E., Engleman, E. G., Keler, T., Marinkovich, M. P., Davis, M. M., Nolan, G. P., & Idoyaga, J. (2017). High-Dimensional Phenotypic Mapping of Human Dendritic Cells Reveals Interindividual Variation and Tissue Specialization. *Immunity*, 47(6), 1037-1050.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.11.001>

Antony, J. M., & MacDonald, K. S. (2015). A critical analysis of the cynomolgus macaque, *Macaca fascicularis*, as a model to test HIV-1/SIV vaccine efficacy. *Vaccine*, 33(27), 3073–3083. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.12.004>

Ashany, D., Savir, A., Bhardwaj, N., & Elkon, K. B. (1999). Dendritic cells are resistant to

- 580 apoptosis through the Fas (CD95/APO-1) pathway. *Journal of Immunology*, 163(10),
581 5303–5311.
582 <http://www.jimmunol.org/content/163/10/http://www.jimmunol.org/content/163/10/530>
583 3.full#ref-list-1
- 584 Autissier, P., Soulas, C., Burdo, T. H., & Williams, K. C. (2010). Immunophenotyping of
585 lymphocyte, monocyte and dendritic cell subsets in normal rhesus macaques by 12-
586 color flow cytometry: Clarification on DC heterogeneity. *Journal of Immunological*
587 *Methods*, 360(1–2), 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2010.06.017>
- 588 Bao, M., & Liu, Y. J. (2013). Regulation of TLR7/9 signaling in plasmacytoid dendritic cells.
589 In *Protein and Cell* (Vol. 4, Issue 1, pp. 40–52). Protein Cell.
590 <https://doi.org/10.1007/s13238-012-2104-8>
- 591 Barratt-Boyes, S. M., Brown, K. N., Melhem, N., Soloff, A. C., & Gleason, S. M. (2006).
592 Understanding and exploiting dendritic cells in human immunodeficiency virus
593 infection using the nonhuman primate model. *Immunol Res*, 36(1–3), 265–274.
- 594 Barratt-boyes, S. M., Wonderlich, E. R., Kader, M., Wijewardana, V., & Barratt-boyes, S.
595 M. (2011). Dissecting the role of dendritic cells in simian immunodeficiency virus
596 infection and AIDS. *Immunologic Research*, 50(2–3), 228–234.
597 <https://doi.org/10.1007/s12026-011-8220-3>.Dissecting
- 598 Bashirova, A. A., Martin-Gayo, E., Jones, D. C., Qi, Y., Apps, R., Gao, X., Burke, P. S.,
599 Taylor, C. J., Rogich, J., Wolinsky, S., Bream, J. H., Duggal, P., Hussain, S.,
600 Martinson, J., Weintrob, A., Kirk, G. D., Fellay, J., Buchbinder, S. P., Goedert, J. J.,
601 ... Yu, X. G. (2014). LILRB2 Interaction with HLA Class I Correlates with Control of
602 HIV-1 Infection. *PLoS Genetics*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004196>
- 603 Beshara, R., Sencio Id, V., Soulard, D. E., Barthé Lé My Id, A., Fontaine, J., Pinteau, T.,
604 Deruyter, L., Bachar, M., Id, I., Paget, C., Sirard, J.-C., Trottein, F., & Faveeuw Id, C.
605 (2018). Alteration of Flt3-Ligand-dependent de novo generation of conventional

- dendritic cells during influenza infection contributes to respiratory bacterial superinfection. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007360>
- Bjornson-hooper, Z. B., Fragiadakis, G. K., Spitzer, M. H., Madhireddy, D., McIlwain, D., & Nolan, G. P. (2019). A comprehensive atlas of immunological differences between humans , mice and non-human primates. *Immune Atlas*.
- Brenchley, J. M., & Douek, D. C. (2008). HIV infection and the gastrointestinal immune system. *Mucosal Immunology*, 1(1), 23–30. <https://doi.org/10.1038/mi.2007.1>
- Breton, G., Lee, J., Zhou, Y. J., Schreiber, J. J., Keler, T., Pühr, S., Anandasabapathy, N., Schlesinger, S., Caskey, M., Liu, K., & Nussenzweig, M. C. (2015). Circulating precursors of human CD1c and CD141 dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 212(3), 401–413. <https://doi.org/10.1084/jem.20141441>
- Breton, G., Zheng, S., Valieris, R., Tojal da Silva, I., Satija, R., & Nussenzweig, M. C. (2016). Human dendritic cells (DCs) are derived from distinct circulating precursors that are precommitted to become CD1c + or CD141 + DCs. *The Journal of Experimental Medicine*, 213(13), 2861–2870. <https://doi.org/10.1084/jem.20161135>
- Brouiller, F., Nadalin, F., Aït Mohamed, O., Bonté, P.-E., Delaugerre, C., Lelièvre, J.-D., Ginhoux, F., Ruffin, N., & Benaroch, P. (2022). Single-cell RNA-Seq analysis reveals dual sensing of HIV-1 in blood Axl + dendritic cells. *BioRxiv*, 2022.01.03.474732. <https://doi.org/10.1101/2022.01.03.474732>
- Brown, K. N., & Barratt-Boyes, S. M. (2009). Surface phenotype and rapid quantification of blood dendritic cell subsets in the rhesus macaque. *Journal of Medical Primatology*, 38(4), 272–278. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.2009.00353.x>
- Brown, K. N., Wijewardana, V., Liu, X., & Barratt-Boyes, S. M. (2009). Rapid influx and death of plasmacytoid dendritic cells in lymph nodes mediate depletion in acute simian immunodeficiency virus infection. *PLoS Pathogens*, 5(5).

- 631 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000413>
- 632 Bruel, T., Dupuy, S., Démoulins, T., Rogez-Kreuz, C., Dutrieux, J., Corneau, A., Cosma,
633 A., Cheynier, R., Dereuddre-Bosquet, N., Le Grand, R., & Vaslin, B. (2014).
634 Plasmacytoid Dendritic Cell Dynamics Tune Interferon-Alpha Production in SIV-Infected
635 Cynomolgus Macaques. *PLoS Pathogens*, 10(1).
636 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003915>
- 637 Cabeza-Cabrerizo, M., van Blijswijk, J., Wienert, S., Heim, D., Jenkins, R. P., Chakravarty,
638 P., Rogers, N., Frederico, B., Acton, S., Beerling, E., van Rheeën, J., Clevers, H.,
639 Schraml, B. U., Bajénoff, M., Gerner, M., Germain, R. N., Sahai, E., Klauschen, F., &
640 Reis Sousa, C. (2019). Tissue clonality of dendritic cell subsets and emergency
641 DCpoiesis revealed by multicolor fate mapping of DC progenitors Europe PMC
642 Funders Group. *Science Immunology*, 4(33).
643 <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aaw1941>
- 644 Cella, M., Jarrossay, D., Faccheth, F., Alebardi, O., Nakajima, H., Lanzavecchia, A., &
645 Colonna, M. (1999). Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and
646 produce large amounts of type I interferon. *Nature Medicine*, 5(8), 919–923.
647 <https://doi.org/10.1038/11360>
- 648 Coindre, S., Tchitchek, N., Alaoui, L., Vaslin, B., Bourgeois, C., Goujard, C., Avettand-
649 Fenoel, V., Lecuroux, C., Bruhns, P., Le Grand, R., Beignon, A.-S., Lambotte, O., &
650 Favier, B. (2018). Mass Cytometry Analysis Reveals the Landscape and Dynamics of
651 CD32a+ CD4+ T Cells From Early HIV Infection to Effective cART. *Frontiers in*
652 *Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01217>
- 653 Collin, M., McGovern, N., & Haniffa, M. (2013). Human dendritic cell subsets. *Immunology*,
654 140(1), 22–30. <https://doi.org/10.1111/imm.12117>
- 655 Diao, Y., Geng, W., Fan, X., Cui, H., Sun, H., Jiang, Y., Wang, Y., Sun, A., & Shang, H.
656 (2015). Low CD1c+myeloid dendritic cell counts correlated with a high risk of rapid

- 657 disease progression during early HIV-1 infection. *BMC Infectious Diseases*, 15(1).
 658 <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1092-8>
- 659 Donaghy, H., Pozniak, A., Gazzard, B., Qazi, N., Gilmour, J., Gotch, F., & Patterson, S.
 660 (2001). Loss of blood CD11c⁺ myeloid and CD11c⁻ plasmacytoid dendritic cells in
 661 patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load. *Blood*, 98(8), 2574–
 662 2576. <https://doi.org/10.1182/blood.V98.8.2574>
- 663 Dutertre, C.-A., Becht, E., Irac, S. E., Khalilnezhad, A., Narang, V., Khalilnezhad, S., Ng,
 664 P. Y., van den Hoogen, L. L., Leong, J. Y., Lee, B., Chevrier, M., Zhang, X. M., Yong,
 665 P. J. A., Koh, G., Lum, J., Howland, S. W., Mok, E., Chen, J., Larbi, A., ... Ginhoux,
 666 F. (2019). Single-Cell Analysis of Human Mononuclear Phagocytes Reveals Subset-
 667 Defining Markers and Identifies Circulating Inflammatory Dendritic Cells. *Immunity*,
 668 51, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.08.008>
- 669 Dutertre, C.-A., Jourdain, J.-P., Rancez, M., Amraoui, S., Fossum, E., Bogen, B., Sanchez,
 670 C., Couedel-Courteille, A., Richard, Y., Dalod, M., Feuillet, V., Cheynier, R., &
 671 Hosmalin, A. (2014). TLR3-Responsive, XCR1⁺, CD141(BDCA-3)⁺/CD8⁺ +-
 672 Equivalent Dendritic Cells Uncovered in Healthy and Simian Immunodeficiency Virus-
 673 Infected Rhesus Macaques. *The Journal of Immunology*, 192(10), 4697–4708.
 674 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302448>
- 675 Dzionek, A., Fuchs, A., Schmidt, P., Cremer, S., Zysk, M., Miltenyi, S., Buck, D. W., &
 676 Schmitz, J. (2000). BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: Three Markers for Distinct
 677 Subsets of Dendritic Cells in Human Peripheral Blood. *The Journal of Immunology*,
 678 165(11), 6037–6046. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.11.6037>
- 679 Ferlazzo, G., Pack, M., Thomas, D., Paludan, C., Schmid, D., Strowig, T., Bougras, G.,
 680 Muller, W. A., Moretta, L., & Münz, C. (2004). Distinct roles of IL-12 and IL-15 in human
 681 natural killer cell activation by dendritic cells from secondary lymphoid organs. *PNAS*,
 682 101(47), 16606–16611. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407522101>

- 683 Gardner, M. B., & Luciw, P. A. (2008). Macaque models of human infectious disease. *ILAR*
684 *Journal*, 49(2), 220–255. <https://doi.org/10.1093/ilar.49.2.220>
- 685 Huang, J., Al-Mozaini, M., Rogich, J., Carrington, M. F., Seiss, K., Pereyra, F., Lichterfeld,
686 M., & Yu, X. G. (2012). Systemic inhibition of myeloid dendritic cells by circulating HLA
687 class I molecules in HIV-1 infection. *Retrovirology*, 9, 11.
688 [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Cit](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=22289474)
689 [ation&list_uids=22289474](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=22289474)
- 690 Kader, M., Smith, A. P., Guiducci, C., Wonderlich, E. R., Normolle, D., Watkins, S. C.,
691 Barrat, F. J., & Barratt-Boyes, S. M. (2013). Blocking TLR7- and TLR9-mediated IFN-
692 α Production by Plasmacytoid Dendritic Cells Does Not Diminish Immune Activation
693 in Early SIV Infection. *PLoS Pathogens*, 9(7).
694 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003530>
- 695 Kaplan, M. H., Sun, Y. L., Hoey, T., & Grusby, M. J. (1996). Impaired IL-12 responses and
696 enhanced development of Th2 cells in Stat4- deficient mice. In *Nature* (Vol. 382, Issue
697 6587, pp. 174–177). <https://doi.org/10.1038/382174a0>
- 698 Karlsson, I., Malleret, B., Brochard, P., Delache, B., Calvo, J., Le Grand, R., & Vaslin, B.
699 (2007). Dynamics of T-Cell Responses and Memory T Cells during Primary Simian
700 Immunodeficiency Virus Infection in Cynomolgus Macaques. *Journal of Virology*,
701 81(24), 13456–13468. <https://doi.org/10.1128/jvi.01619-07>
- 702 Khatamzas, E., Hipp, M. M., Gaughan, D., Pichulik, T., Leslie, A., Fernandes, R. A., Muraro,
703 D., Booth, S., Zausmer, K., Sun, M., Kessler, B., Rowland-Jones, S., Cerundolo, V.,
704 & Simmons, A. (2017). Snapin promotes HIV -1 transmission from dendritic cells by
705 dampening TLR 8 signaling. *The EMBO Journal*, 36(20), 2998–3011.
706 <https://doi.org/10.15252/emj.201695364>
- 707 Laforge, M., Campillo-Gimenez, L., Monceaux, V., Cumont, M. C., Hurtrel, B., Corbeil, J.,
708 Zaunders, J., Elbim, C., & Estaquier, J. (2011). HIV/SIV infection primes monocytes

- 709 and dendritic cells for apoptosis. *PLoS Pathogens*, 7(6).
 710 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002087>
- 711 Lee, J., Breton, G., Oliveira, T. Y. K., Zhou, Y. J., Aljoufi, A., Puhr, S., Cameron, M. J.,
 712 Sékaly, R.-P., Nussenzweig, M. C., & Liu, K. (2015). Restricted dendritic cell and
 713 monocyte progenitors in human cord blood and bone marrow. *The Journal of*
 714 *Experimental Medicine*, 212(3), 385–399. <https://doi.org/10.1084/jem.20141442>
- 715 Lee, M. Y.-H., Upadhyay, A. A., Walum, H., Chan, C. N., Dawoud, R. A., Grech, C., Harper,
 716 J. L., Karunakaran, K. A., Nelson, S. A., Mahar, E. A., Goss, K. L., Carnathan, D. G.,
 717 Cervasi, B., Gill, K., Tharp, G. K., Wonderlich, E. R., Velu, V., Barratt-Boyes, S. M.,
 718 Paiardini, M., ... Bosinger, S. E. (2021). Tissue-specific transcriptional profiling of
 719 plasmacytoid dendritic cells reveals a hyperactivated state in chronic SIV infection.
 720 *PLoS Pathogens*, 17(6), e1009674. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009674>
- 721 Leylek, R., Alcántara-Hernández, M., Lanzar, Z., Lüdtkke, A., Perez, O. A., Reizis, B., &
 722 Idoyaga, J. (2019). Integrated Cross-Species Analysis Identifies a Conserved
 723 Transitional Dendritic Cell Population. *Cell Reports*, 29(11), 3736-3750.e8.
 724 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.11.042>
- 725 Lichterfeld, M., & Yu, X. G. (2012). The emerging role of leukocyte immunoglobulin-like
 726 receptors (LILRs) in HIV-1 infection. *Journal of Leukocyte Biology*, 91(1), 27–33.
 727 <https://doi.org/10.1189/jlb.0811442>
- 728 Louis, S., Dutertre, C.-A., Vimeux, L., Fery, L., Henno, L., Diocou, S., Kahi, S., Deveau, C.,
 729 Meyer, L., Goujard, C., & Hosmalin, A. (2010). IL-23 and IL-12p70 production by
 730 monocytes and dendritic cells in primary HIV-1 infection. *Journal of Leukocyte Biology*,
 731 87(4), 645–653. <https://doi.org/10.1189/jlb.1009684>
- 732 Majumder, B., Janket, M. L., Schafer, E. A., Schaubert, † Keri, Huang, X.-L., Kan-Mitchell,
 733 J., Rinaldo, C. R., & Ayyavoo, V. (2005). Human Immunodeficiency Virus Type 1 Vpr
 734 Impairs Dendritic Cell Maturation and T-Cell Activation: Implications for Viral Immune

- 735 Escape. *Journal of Virology*, 79(13), 7990–8003.
 736 <https://doi.org/10.1128/JVI.79.13.7990-8003.2005>
- 737 Malleret, B., Karlsson, I., Manéglier, B., Brochard, P., Delache, B., Andrieu, T., Muller-
 738 Trutwin, M., Beaumont, T., McCune, J. M., Banchereau, J., Le Grand, R., & Vaslin, B.
 739 (2008). Effect of SIVmac infection on plasmacytoid and CD1c+myeloid dendritic cells
 740 in cynomolgus macaques. *Immunology*, 124(2), 223–233.
 741 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02758.x>
- 742 Malleret, B., Mané, B., Karlsson, I., Lebon, P., Nascimbeni, M., Perié, L., Brochard, P.,
 743 Delache, B., Calvo, J., Andrieu, T., Spreux-Varoquaux, O., Hosmalin, A., Le Grand,
 744 R., & Vaslin, B. (2008). Primary infection with simian immunodeficiency virus:
 745 plasmacytoid dendritic cell homing to lymph nodes, type I interferon, and immune
 746 suppression. *Blood*, 112(12), 4598. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-06>
- 747 Manches, O., Frleta, D., & Bhardwaj, N. (2014). Dendritic cells in progression and
 748 pathology of HIV infection. *Trends in Immunology*, 35(3), 114–122.
 749 <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.10.003>
- 750 Matsui, T., Connolly, J. E., Michnevitz, M., Chaussabel, D., Yu, C.-I., Glaser, C., Tindle, S.,
 751 Pypaert, M., Freitas, H., Piqueras, B., Banchereau, J., & Palucka, A. K. (2009). CD2
 752 Distinguishes Two Subsets of Human Plasmacytoid Dendritic Cells with Distinct
 753 Phenotype and Functions. *The Journal of Immunology*, 182(11), 6815–6823.
 754 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802008>
- 755 Merad, M., Priyanka, S., Helft, J., Miller, J., & Mortha, A. (2013). The Dendritic Cell Lineage:
 756 Ontogeny and Function of Dendritic Cells and Their Subsets in the Steady State and
 757 the Inflamed Setting. *Changes*, 41(9), 15–25. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074950>.The
- 759 Miller, E., & Bhardwaj, N. (2013). Dendritic cell dysregulation during HIV-1 infection.
 760 *Immunol Rev*, 4(1), 139–148. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2839.A>

- 761 Minoda, Y., Virshup, I., Rojas, I. L., Haigh, O., Wong, Y., Miles, J. J., Wells, C. A., &
 762 Radford, K. J. (2017). Human CD141⁺ dendritic cell and CD1c⁺ dendritic cell undergo
 763 concordant early genetic programming after activation in humanized mice in vivo.
 764 *Frontiers in Immunology*, 8(OCT). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01419>
- 765 Ruffin, N., Gea-Mallorquí, E., Brouiller, F., Jouve, M., Silvin, A., See, P., Dutertre, C.-A.,
 766 Ginhoux, F., & Benaroch, P. (2019). Constitutive Siglec-1 expression confers
 767 susceptibility to HIV-1 infection of human dendritic cell precursors. *PNAS*, 116(43),
 768 21685–21693. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911007116>
- 769 Sabado, R. L., Brien, M. O., Subedi, A., Qin, L., Hu, N., Taylor, E., Dibben, O., Stacey, A.,
 770 Fellay, J., Shianna, K. V., Siegal, F., Shodell, M., Shah, K., Larsson, M., Lifson, J.,
 771 Nadas, A., Marmor, M., Hutt, R., Margolis, D., ... Bhardwaj, N. (2010). Evidence of
 772 dysregulation of dendritic cells in primary HIV infection. *Blood*, 116(19), 3839–3852.
 773 <https://doi.org/10.1182/blood-2010-03-273763>
- 774 Schlitzer, A., Sivakamasundari, V., Chen, J., Sumatoh, H. R. Bin, Schreuder, J., Lum, J.,
 775 Malleret, B., Zhang, S., Larbi, A., Zolezzi, F., Renia, L., Poidinger, M., Naik, S., Newell,
 776 E. W., Robson, P., & Ginhoux, F. (2015). Identification of cDC1- and cDC2-committed
 777 DC progenitors reveals early lineage priming at the common DC progenitor stage in
 778 the bone marrow. *Nature Immunology*, 16(7), 718–728.
 779 <https://doi.org/10.1038/ni.3200>
- 780 See, P., Dutertre, C. A., Chen, J., Günther, P., McGovern, N., Irac, S. E., Gunawan, M.,
 781 Beyer, M., Händler, K., Duan, K., Bin Sumatoh, H. R., Ruffin, N., Jouve, M., Gea-
 782 Mallorquí, E., Hennekam, R. C. M., Lim, T., Yip, C. C., Wen, M., Malleret, B., ...
 783 Ginhoux, F. (2017). Mapping the human DC lineage through the integration of high-
 784 dimensional techniques. *Science*, 356(6342).
 785 <https://doi.org/10.1126/science.aag3009>
- 786 Soumelis, V., Scott, I., Gheyas, F., Bouhour, D., Cozon, G., Cotte, L., Huang, L., Levy, J.

- 787 A., Liu, Y.-J., V, S., I, S., F, G., D, B., G, C., L, C., L, H., JA, L., & YJ, L. (2001).
 788 Depletion of circulating natural type 1 interferon-producing cells in HIV-infected AIDS
 789 patients. *Blood*, 98(4), 906–912. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V98.4.906>
- 790 Varanasi, V., Khan, A. A., & Chervonsky, A. V. (2014). Loss of the death receptor CD95
 791 (Fas) expression by dendritic cells protects from a chronic viral infection. *PNAS*,
 792 111(23), 8559–8564. <https://doi.org/10.1073/pnas.1401750111>
- 793 Villani, A. C., Satija, R., Reynolds, G., Sarkizova, S., Shekhar, K., Fletcher, J., Griesbeck,
 794 M., Butler, A., Zheng, S., Lazo, S., Jardine, L., Dixon, D., Stephenson, E., Nilsson, E.,
 795 Grundberg, I., McDonald, D., Filby, A., Li, W., De Jager, P. L., ... Hacohen, N. (2017).
 796 Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes,
 797 and progenitors. *Science*, 356(6335). <https://doi.org/10.1126/science.aah4573>
- 798 Villar, J., & Segura, E. (2020). The More, the Merrier: DC3s Join the Human Dendritic Cell
 799 Family. *Immunity*, 53(2), 233–235. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.07.014>
- 800 Walker-Sperling, V. E., Pohlmeier, C. W., Veenhuis, R. T., May, M., Luna, K. A.,
 801 Kirkpatrick, A. R., Laeyendecker, O., Cox, A. L., Carrington, M., Bailey, J. R., Arduino,
 802 R. C., & Blankson, J. N. (2017). Factors Associated With the Control of Viral
 803 Replication and Virologic Breakthrough in a Recently Infected HIV-1 Controller.
 804 *EBioMedicine*, 16, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.01.034>
- 805 Wijewardana, V., Bouwer, A. L., Brown, K. N., Liu, X., & Barratt-Boyes, S. M. (2014).
 806 Accumulation of functionally immature myeloid dendritic cells in lymph nodes of
 807 rhesus macaques with acute pathogenic simian immunodeficiency virus infection.
 808 *Immunology*, 143(2), 146–154. <https://doi.org/10.1111/imm.12295>
- 809 Wijewardana, V., Soloff, A. C., Liu, X., Brown, K. N., & Barratt-Boyes, S. M. (2010). Early
 810 myeloid dendritic cell dysregulation is predictive of disease progression in simian
 811 immunodeficiency virus infection. *PLoS Pathogens*, 6(12).
 812 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001235>

- 813 Yonkers, N. L., Rodriguez, B., Asaad, R., Lederman, M. M., & Anthony, D. D. (2011).
 814 Systemic immune activation in HIV infection is associated with decreased MDC
 815 responsiveness to TLR ligand and inability to activate naive CD4 T-cells. *PLoS ONE*,
 816 6(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023884>
- 817 Zhang, H., Gregorio, J. D., Iwahori, T., Zhang, X., Choi, O., Tolentino, L. L., Prestwood, T.,
 818 Carmi, Y., & Engleman, E. G. (2017). A distinct subset of plasmacytoid dendritic cells
 819 induces activation and differentiation of B and T lymphocytes. *PNAS*, 114(8), 1988–
 820 1993. <https://doi.org/10.1073/pnas.1610630114>

Table 1: Summary of patients living with HIV and healthy subject clinical parameters

	Primary HIV (n=13)	HIV cART (n=12)	HIV controllers (n=10)	Healthy (n=12)
Age median (min-max), in years	40 (24-57)	40 (25-55)	46 (33-52)	39,5 (18-73)
Gender	M	M	M (2) F (8)	M (10) F (2)
Days since HIV-1 diagnosis median (min-max), in days	39,61 (19-64)	455,42 (387-768)	7 786 (4 359-10 994)	N/A
Treatment	Naive	cART	Naive	Naive
RNA HIV load at diagnosis median (min-max), in copies/mL	2 941 703,2 (22 909 – 20 892 961)	<50	<40	N/A

Table 2: Reagents and ressources

REAGENT or RESSOURCE	SOURCE	IDENTIFIER
Biological Samples		
Whole Blood from healthy donors	Etablissement Français du Sang	-
Whole Blood from HIV-infected patients	C06 ANRS PRIMO cohort	-
Whole Blood from Cynomolgus macaques	IDMIT Facility	-
Tissues from Cynomolgus macaques	IDMIT Facility	-
Chemicals		
Ficoll	Eurobio	Cat# CMSMSL01-01
Fetal Bovine Serum	Sigma Aldrich	Cat# F7524
RPMI 1640 GlutaMAX	Gibco	Cat# 61870-010
Penicillin Streptomycin Neomycin	Gibco	Cat# 15640-055
Sodium pyruvate 1X	Thermo Fisher	Cat# 11360039
GentleMACS tubes	Miltenyi	Cat# 130-093-237
Macaque serum	IDMIT Facility	-
PBS	Gibco	Cat# 14190-094
Staining buffer	BD Pharmingen	Cat# 554657
R848 / Resiquimod	Sigma	Cat# SML0196
LPS	Invivogen	Cat# TLRL-SMLPS
Poly(I:C) HMW	Invivogen	Cat# tlrl-pic
CPG ODN 2216	Invivogen	Cat# tlrr-2216
BFA	Sigma	Cat# B-7651
	FISHER	
CellFix Solution	SCIENTIFIC SAS	Cat# 12756879
Critical Commercial Assays		
Foxp3 / Transcription Factor Staining Buffer Set	Invitrogen™ eBioscience™	Cat# 00-5523-00
PermWash 1X solution	Invitrogen™ eBioscience™	Cat# 00-8333-56
Permeabilization Buffer (10X)	Invitrogen™ eBioscience™	Cat# 12766048
	FISHER	
Live/Dead Fixable Blue Dead	SCIENTIFIC SAS	Cat# 10114812
RNeasy Micro Kit (50)	Qiagen	Cat# 74004
	Roche	
High Pure viral RNA Kit	Diagnostics	Cat# 11 858 882 001

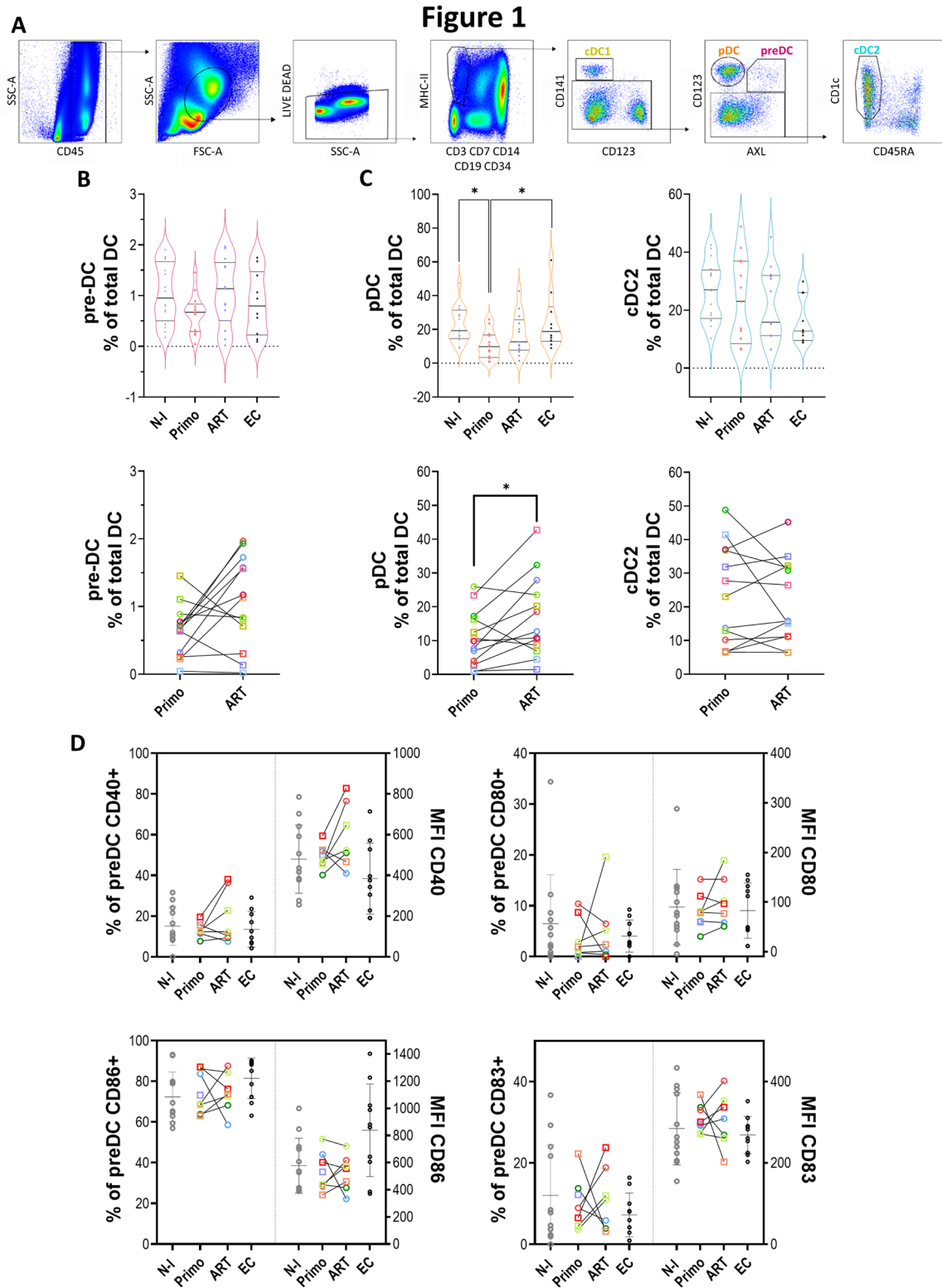
Software

FlowJo Software v10.0.8	BD Bioscience	https://www.flowjo.com/solutions/flowjo/downloads
GraphPad Prism 8	GraphPad Software, Inc.	https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/

Antibodies

Anti-human SynCAM (TSLC1/CADM1)	Cliniscience	Cat# CM004-3
Anti-human AXL BV650 (clone 108724)	BD	Cat# 747860
Anti-human AXL AF700 (clone FAB154N)	R&D System	Cat# FAB154N
Anti-human BDCA-2 PEVIO615 (clone AC144)	Miltenyi	Cat# 130113194
Anti-human BDCA-2 APC (clone AC144)	Miltenyi	Cat# 130113190
Anti-human CD11b BV785 (clone ICRF44)	Sony	Cat# 2106730
Anti-human CD11b BV711 (clone ICRF44)	Biolegend	Cat# 301344
Anti-human CD11C BV650 (clone 3,9)	Biolegend	Cat# 301638
Anti-human CD123 PerCP-cy5.5 (clone 7G3)	BD	Cat# 558714
Anti-human CD14 V450 (clone M5E2)	BD	Cat# 558121
Anti-human CD14 V500 (clone M5E2)	BD	Cat# 561391
Anti-human CD141 BV711 (clone 1A4)	BD	Cat# 563155
Anti-human CD141 PE (clone 1A4)	BD	Cat# 559781
Anti-human CD163 BB515 (clone REA812)	Miltenyi	Cat# 130-112-285
Anti-human CD19 V450 (clone HIB19)	Sony	Cat# 2111160
Anti-human CD1c APCcy7 (clone L161)	Biolegend	Cat# 331520
Anti-human CD1c PE dazzle (clone L161)	Biolegend	Cat# 331532
Anti-human CD20 V450 (clone L27)	BD	Cat# 655872
Anti-human CD3 V450 (clone SP34-2)	BD	Cat# 560351
Anti-human CD33 PE (clone AC104,3E3)	Miltenyi	Cat# 130-113-349
Anti-human CD34 pacific blue (clone 581)	Sony	Cat# 2317560
Anti-human CD40 APC (clone 5C3)	Biolegend	Cat# 334310
Anti-human CD45 V500 (clone HI30)	BD	Cat# 560777
Anti-NHP CD45 V500 (clone D058-1283)	BD	Cat# 561489
Anti-human CD45RA BV785 (clone 5H9)	BD	Cat# 741010
Anti-human CD5 PE (clone REA782)	BD	Cat# 130-110-990
Anti-human CD56 V450 (clone B159)	BD	Cat# 560360
Anti-human CD7 eFluor450 (clone 124-1D1)	Fisher Scientific	Cat# 15539626
Anti-human CD8 V450 (clone RPA-T8)	BD	Cat# 560347
Anti-human CD80 PEcy7 (clone L307.4)	BD	Cat# 561135
Anti-human CD83 FITC (clone HB15)	Biolegend	Cat# 305306
Anti-human CD86 BUV737 (clone 2331)	BD	Cat# 563412
Anti-human CD88 PEcy7 (clone S5/1)	Miltenyi	Cat# 130-104-287
Anti-human CD95 APC (clone DX2)	BD	Cat# 558814

Donkey anti-chicken FITC	Jackson immunoresearch	Cat# 703096155
Donkey anti-chicken PE	Jackson immunoresearch	Cat# 703116155
Anti-human HLADR AF700 (clone L243-G46-6)	Biolegend	Cat# 307626
Anti-human HLADR APC-cy7 (clone L243-G46-6)	Biolegend	Cat# 307618
Anti-human IFN- α PE (clone LT27:295)	Miltenyi	Cat# 130-092-601
Anti-human IL-12/IL-23 p40 BIOTIN (clone C8.6)	Biolegend	Cat# 508801
Anti-human Ki67 BV786 (clone B56)	BD	Cat# 563756
Anti-human LILRB2 APC (clone 45D1)	biolegend	Cat# 338708
Anti-human Siglec-1 PEVIO770 (clone 7-239)	Miltenyi	Cat# 130-098-640
Anti-human Siglec-1 PE (clone 7-239)	Miltenyi	Cat# 130-098-654
Anti-human Siglec-6 PE (clone FAB2859P)	R&D System	Cat# FAB2859P
Anti-human TIGIT PerCP-eFluor™ 710 (clone MBSA43)	ebioscience	Cat# 46950042
Anti-human TNF- α AF700 (clone MAB11)	Biolegend	Cat# 502928
Streptavidine BV650	Biolegend	Cat# 405232



821 **Figure 1: Analysis of circulating human pre-DC and HIV influence**

822 (A) DC were defined by flow cytometry as MHC-II^{hi} dead⁻ and lin⁻ CD45⁺ PBMC, cDC1 were
823 defined as CD141⁺, and from the CD141⁻ CD123⁺ events, pDC were AXL⁻ while pre-DC were
824 AXL⁺. CD123⁻ events that were CD1c⁺ and CD45RA⁻ were defined as cDC2.

825 (B) Proportion of circulating pre-DC were calculated as a percentage of total DC in non-infected
826 donors (N-I), primary HIV-infected patients (Primo), the same Primo patients (connecting lines)
827 at 1-year post ART commencement (ART), and elite controller (EC) patients.

828 (C) The proportion of total DC in blood that were pDC or cDC2 were quantified. Statistical
829 Kruskal Wallis test were performed between the different groups and the p-values were
830 corrected for multiple testing with the Benjamini, Krieger and Yekutieli method (* = p<0.05,
831 Kruskal Wallis). Statistical Wilcoxon test was performed to assess the impact of ART (pDC p-
832 Value: p=0.039).

833 (D) Expression of CD80, CD83, CD86 and CD40 on was analyzed as a percentage of pre-DC,
834 and as mean fluorescence intensity (MFI).

Figure 2

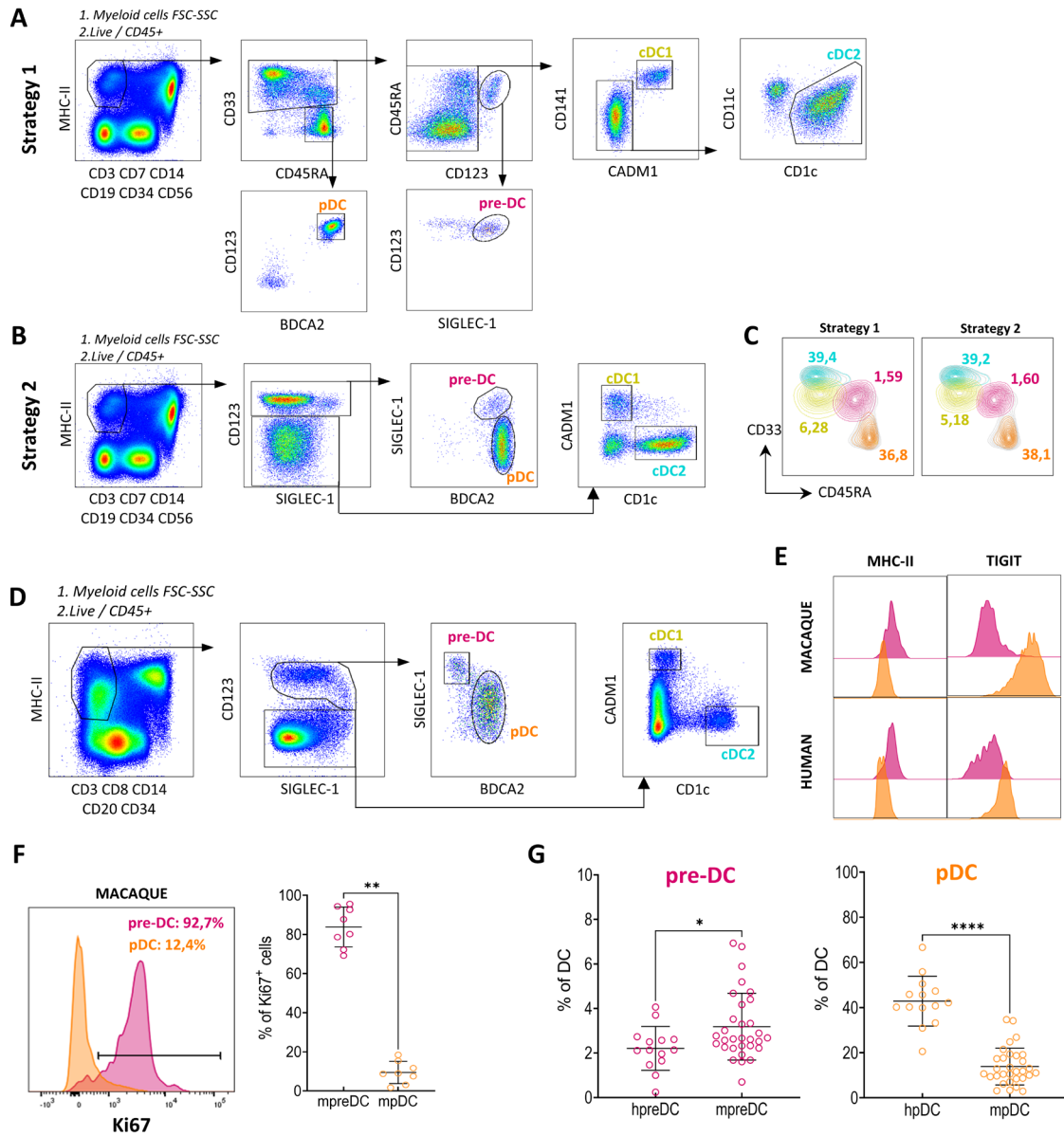


Figure 2: Identification of human pre-DC equivalent in Cynomolgus macaque

(A) Representative flow cytometry gating strategy of the different human DC HLA-DR⁺ subpopulations identifying CD33⁻ CD45RA⁺ CD123⁺ BDCA2⁺ pDC (orange), CD33⁺ CD123⁺ Siglec-1⁺ pre-DC (red), CD33⁺ CD123⁻ CADM1⁺ CD141⁺ cDC1 (green) and CD33⁺ CD123⁻ CD141⁻ CD1c⁺ cDC2 (blue).

(B) Representative flow cytometry gating strategy of the different human DC subpopulations identifying CD123⁺ BDCA2⁺ Siglec-1⁻ pDC (orange), CD123⁺ Siglec-1⁺ BDCA2^{low} pre-DC (red), CD123⁻ CADM1⁺ cDC1 (green) and CD123⁻ CD1c⁺ cDC2 (blue)

(C) DC subsets, defined using the two different gating strategies previously described (CD33/CD45RA vs CD123/Siglec-1), were compared on CD33 vs CD45 facs plots, with a color overlay of the pre-gated DC subsets. Frequency of DC (Live CD45⁺ MHC-II⁺ Lin⁻) cells were quantified and compared using the different gating strategies, presented in the graph.

(D) Representative flow cytometry gating strategy to identify circulating pre-DC in Cynomolgus macaques: CD123⁺ Siglec-1⁺ BDCA2^{low} pre-DC (red), CD123⁺ BDCA2⁺ Siglec-1⁻ pDC (orange), CD123⁻ CADM1⁺ cDC1 (green) and CD123⁻ CD1c⁺ cDC2 (blue).

(E) Representative analysis of the expression level of MHC-II and TIGIT (MFI) on human and macaque circulating pre-DC (red) and pDC (orange) (n=6).

(F) Analysis of Ki67 expression in macaque pre-DC (red) and pDC (orange) and proportions of Ki67⁺ pre-DC (mpre-DC) and pDC (mpDC) among 8 macaques. Statistical Wilcoxon test was performed (p=0.0078).

(G) Frequency of human (n = 14) vs macaque (n = 30) blood pre-DC (hpreDC and mpreDC, respectively), or blood pDC (hpDC and mpDC). Statistical Mann-Whitney test was performed (pre-DC: p=0.0217; pDC: p<0.0001)

Figure 3

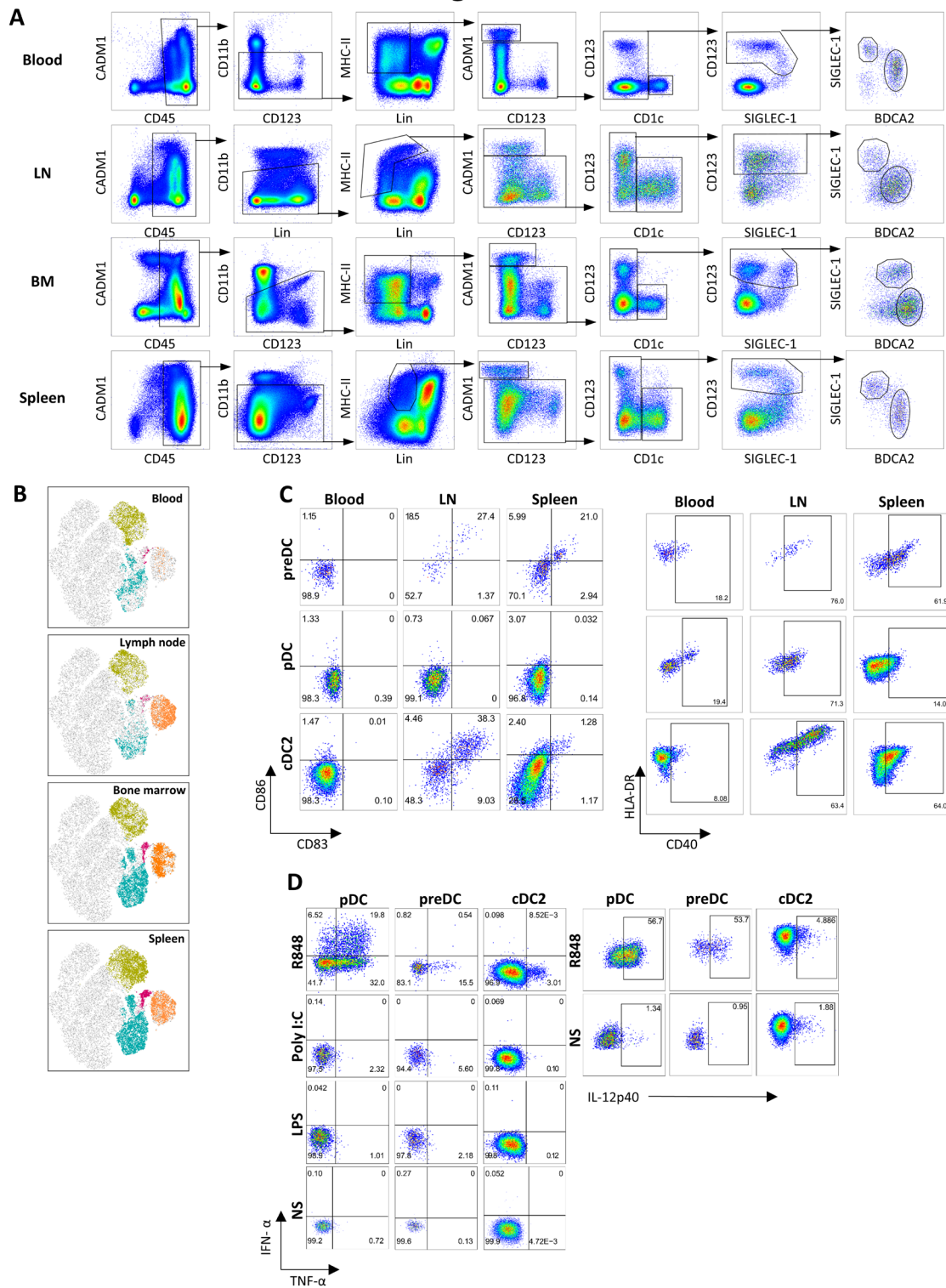


Figure 3: Characterization of pre-DC, pDC and cDC across tissues in Cynomolgus macaque

(A) Representative flow cytometry gating strategy to identify pre-DC, pDC and cDC from blood, peripheral lymph nodes (LN), bone marrow (BM) and spleen of one Cynomolgus macaque out of 6.

(B) Unsupervised flow cytometry analysis of DC from blood, lymph nodes, bone marrow and spleen of a representative macaque. All of the CD45⁺ MHC-II⁺ Lin⁻ (CD3/CD8/CD14/CD20/CD34⁻) cells from the different tissues were isolated by manual gating and then concatenated into a unique file. t-SNE analysis using 8 markers (HLA-DR, CD123, BDCA-2, Siglec-1, CADM1, CD1c, CD11b, CD45) was used to deconvolute the data into 2 dimensions for the tissues. Subsets gated in (A) were overlayed on the t-SNE plot to color subsets (pre-DC in red, pDC in orange, cDC1 in green and cDC2 in blue).

(C) Expression of CD86, CD83 and CD40 on pre-DC, pDC and cDC2 among blood, lymph node and spleen samples analyzed with the gating strategy previously described.

(D) PBMC were purified from macaque blood and cultured in the presence of PolyIC, R848, LPS or R10 media (NS) for 2 hours, before BFA was added and cultures left for an additional 1 hour before fixation and intracellular staining for IFN- α , TNF- α and IL-12p40. Expression of these cytokines was demonstrated in pseudocolour plots in pDC, preDC and cDC2.

Figure 4

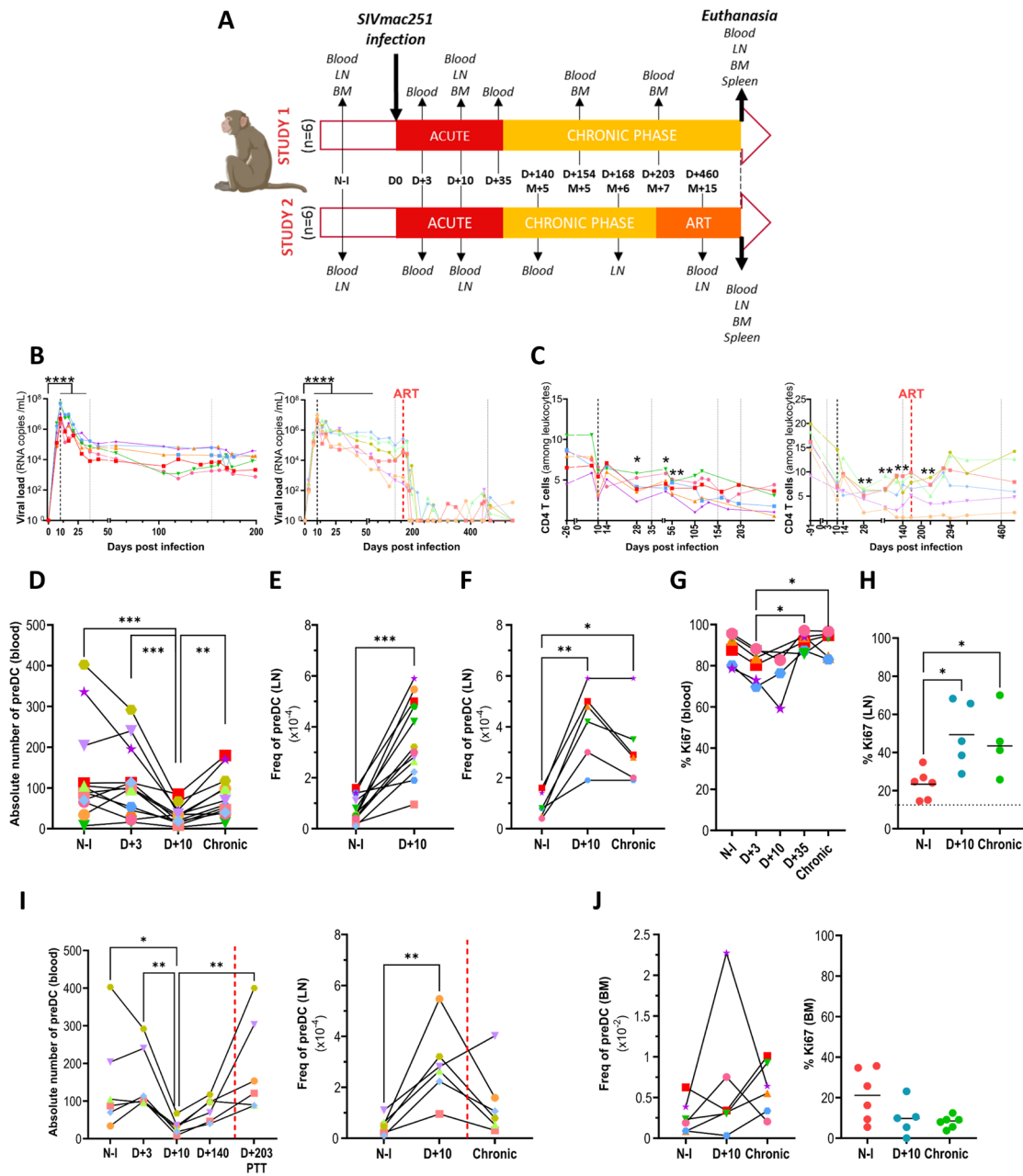


Figure 4: Analysis of the dynamics of macaque pre-DC at different stages of SIV infection.

(A) Study timeline: Cynomolgus macaques (n = 12) were infected with SIVmac251 on day 0 and randomly assigned into two groups. Blood was sampled for viral load and T cell quantification, while samples for DC and pre-DC analysis were performed as mentioned during acute infection, and during chronic infection. Group 2 animals received ART on week 24 post infection and blood and LN spleen were sample 290 days after.

(B) SIV viral load was quantified as RNA copies/mL of plasma, between groups by RT-qPCR (left Group 1, right Group 2).

(C) The absolute count of blood CD4+ T cells was quantified from purified PBMC by flow cytometry (left Group 1, right Group 2).

(D) The absolute count of pre-DC from blood was quantified from all animals (n=12), regardless of group, in absence of treatment.

(E) Dynamics of pre-DC in lymph nodes before and 10 days after SIV infection were calculated as a frequency of CD45+ cells from all animals (n = 12), regardless of group.

(F) Follow-up of pre-DC frequency among CD45+ leukocytes in lymph nodes during acute and chronic phase of SIV infection (n = 6).

(G-H) The proportion of Ki67-expressing pre-DC in the blood (G) and peripheral lymph nodes (H), was analysed in group one. (n=6)

(I) pre-DC frequency in blood (left) and lymph node (right), from animals that received ART (n = 6).

(J) Frequency of pre-DC among leukocytes from bone marrow and proportion of Ki67+ pre-DC during SIV infection (n=6)

Administration of ART is indicated by red dotted line. * ** and *** indicated $p < 0.05$, 0.005 and 0.0005, respectively. Friedman test were performed and were corrected for multiple testing with the Benjamini, Krieger and Yekutieli method to compare the absolute number and the frequencies of pre-DC during SIV infection, while Wilcoxon test was performed to compare pre-DC frequency in the lymph node before infection and during acute infection. Kruskal-Wallis test was performed to compare the frequencies of pre-DCs between different groups.

Chronic time point corresponds to 7 months of infection.

Figure 5

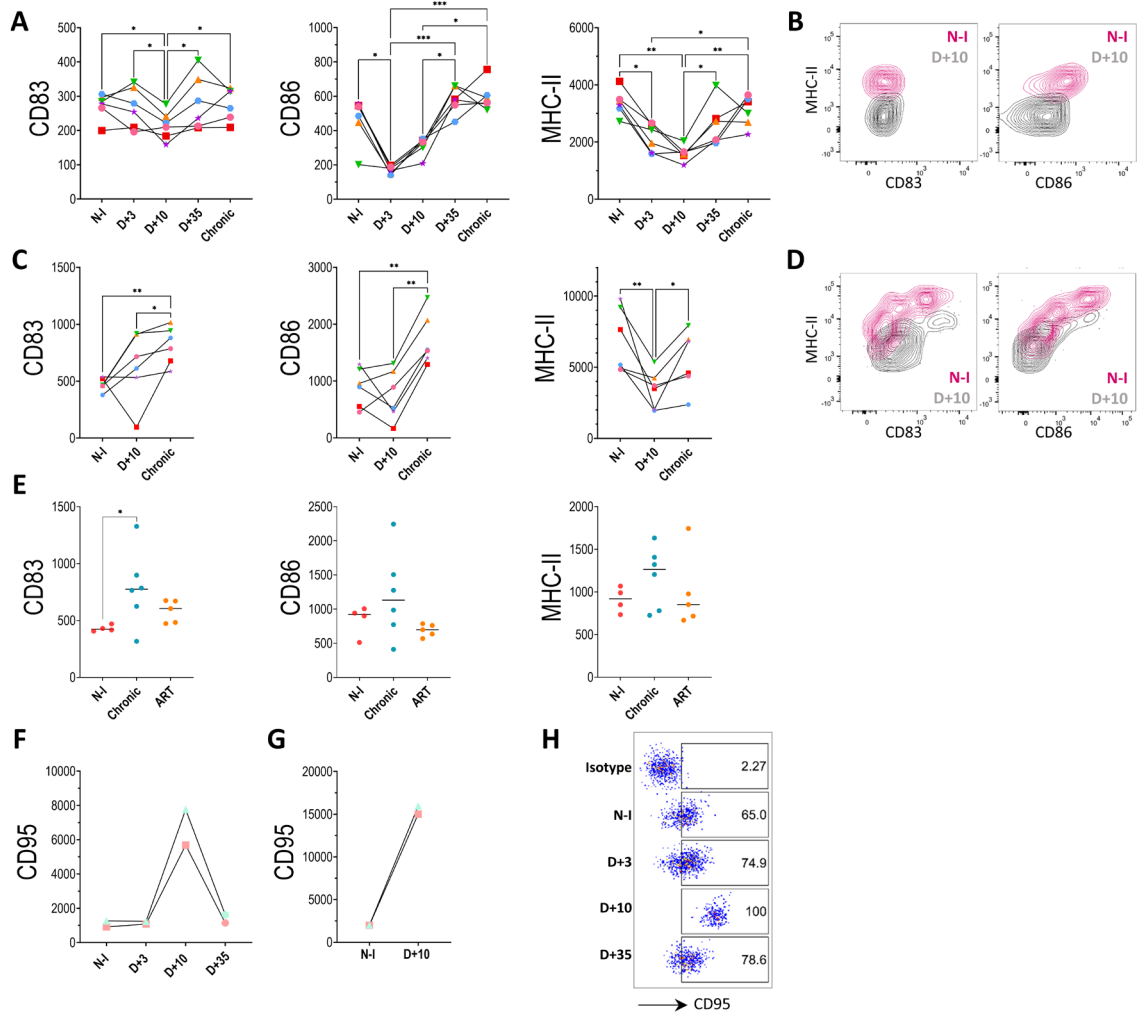


Figure 5: Follow-up of costimulatory molecules and MHC-II on pre-DC during SIV infection

PBMC were isolated from SIV-infected Cynomolgus macaques before infection and on days 3, 10, 35 and 7 months after infection in the blood, in the LN and in the BM corresponding to uninfected, early acute, late acute and chronic infection phase.

(A-B) CD83, CD86 and MHC-II cell surface expression mean fluorescent intensity (MFI) was quantified using flow cytometry, from PBMC-derived pre-DC (A) and as contour plots in (B) from a representative macaque before (red) and 10 days (black) after the SIV infection.

(C-D) Costimulation surface expression was quantified from LN-derived pre-DC in (C) and in (D), from a representative macaque before (black) and 10 days (red) after the SIV infection.

(E) Costimulation surface expression was quantified from splenocyte-derived pre-DC

(F-H) CD95 expression was quantified using flow cytometry, from PBMC-derived (F) and LNMC-derived pre-DC in (G). While (H) demonstrates CD95 expression by blood pre-DC at different time of infection by pseudocolour dot plots as MFI.

The results are represented as mean fluorescence intensity or MFI.

Figure 6

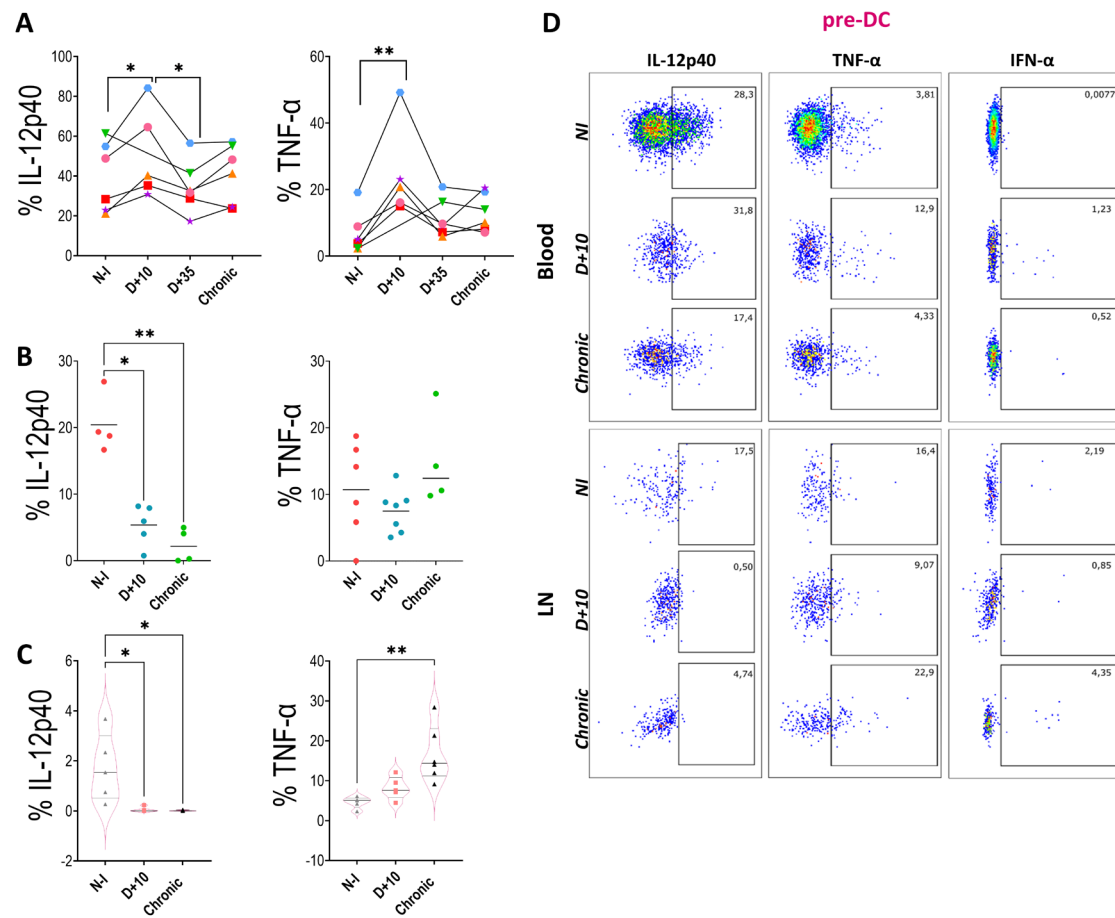
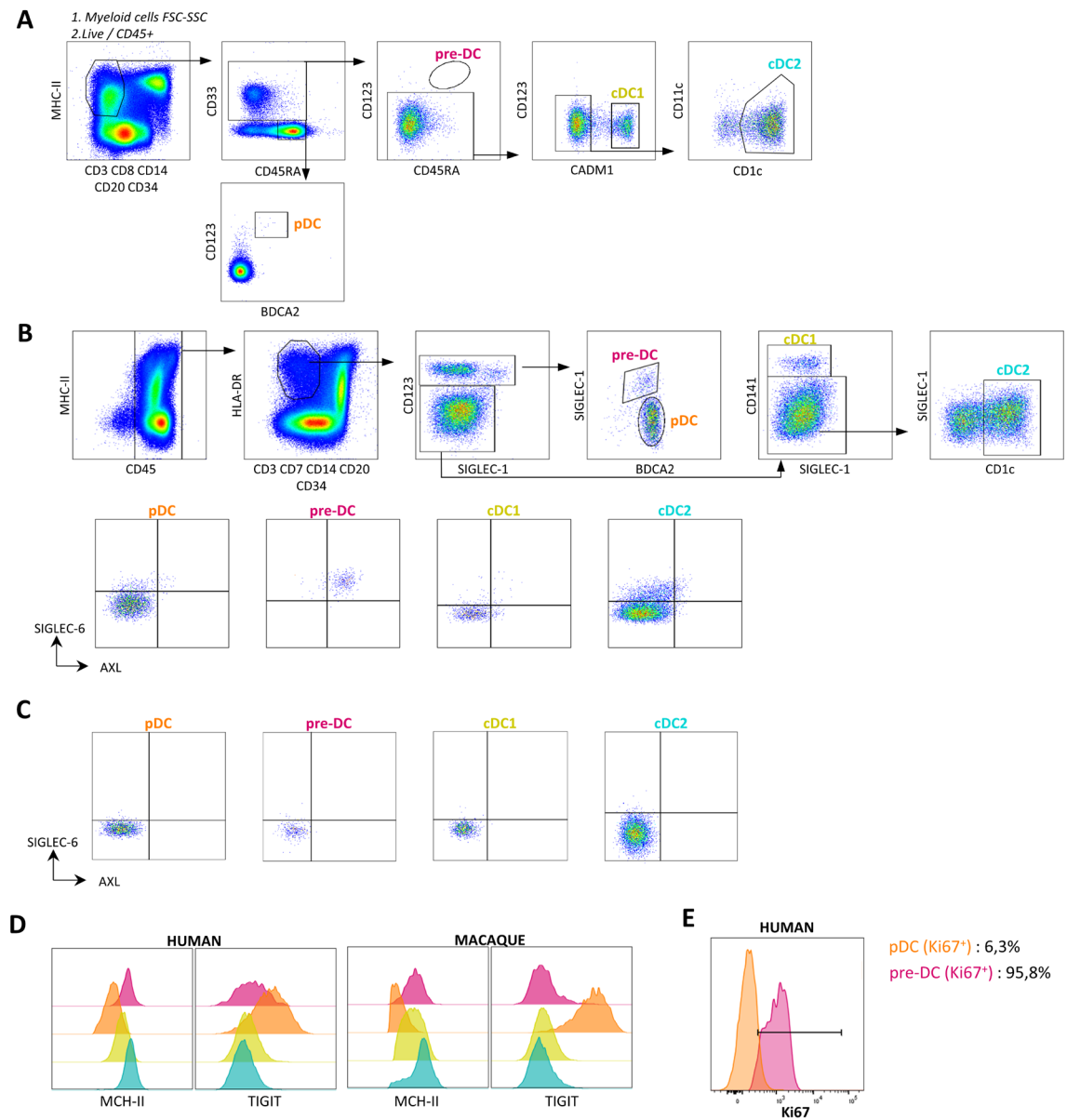


Figure 6: Analysis of IL-12 and TNF- α production following TLR7/8 stimulation of pre-DC from SIV-infected macaques

pre-DC from blood (A), lymph node (B) and bone marrow (C) were gated by flow cytometry analysis and intracellular production of IL-12-40 or TNF- α after 2 hours of ex-vivo stimulation by R848 followed by 1 hour of Brefeldin A at different time points of SIV infection was analyzed.

(D) Dot plot analysis of blood and lymph nodes pre-DC stained for TNF- α , IL-12 and IFN- α expression after R848 ex-vivo stimulation from a representative infected macaque.

Figure S1



927 **Figure S1: Characterization of macaque blood pre-DC by multiparameter flow cytometry**

928 (A) Gating strategy using CD45RA and CD33 applied on PBMCs from Cynomolgus macaque.
 929 This analysis shows that CD45RA and CD33 are not suitable to characterize pre-DC or pDC in
 930 Cynomolgus macaque.

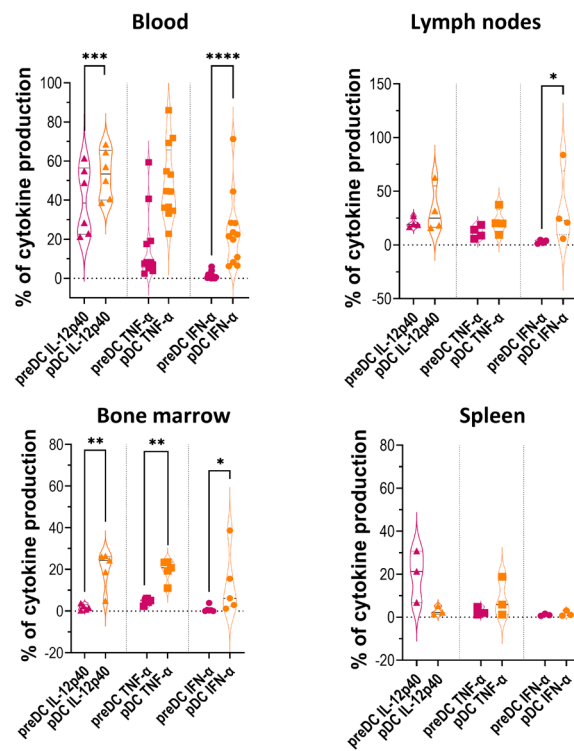
931 (B) Gating strategy to identify DC subsets among human PBMCs using, CD123, Siglec-1,
 932 BDCA-2, CD141 and CD1c markers. Dot-plot analysis show that only pre-DC co-express
 933 Siglec-6 and Axl.

934 (C) Flow cytometry analysis of Siglec-6 and Axl expression on macaque pDC, pre-DC, cDC1
 935 and cDC2 isolated by gating strategy from Figure 2D. No expression of Siglec-6 or Axl is
 936 observed on DC subsets. Data are shown for one out of six macaques.

937 (D) Flow cytometry histogram showing MHC-II and TIGIT expression on human and macaque
 938 pre-DC (red), pDC (orange), cDC1 (green) and cDC2 (blue). Data are shown for one
 939 representation human and on representative macaque.

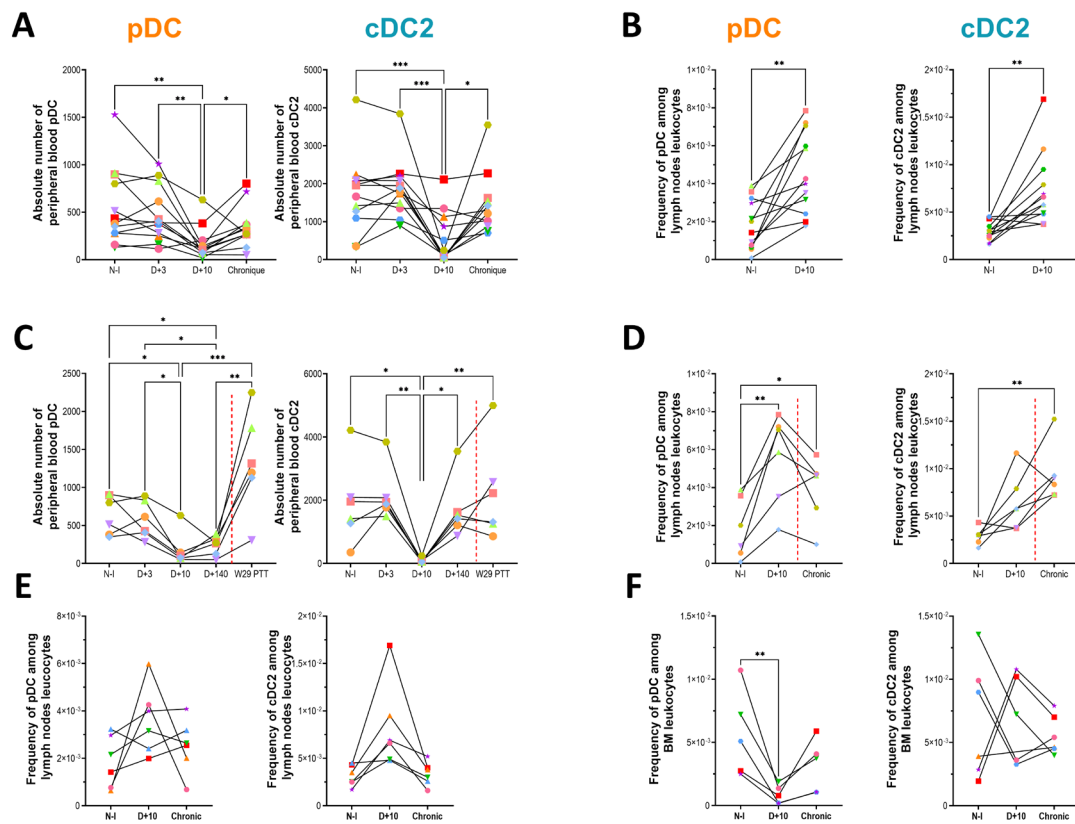
940 (E) Flow cytometry analysis of the percentage of Ki67⁺ pre-DC (red) and pDC (orange) in
 941 human.

Figure S2



942 **Figure S2. Analysis of cytokine production capacity by macaque pre-DC and pDC from**
943 **different tissues after R848 *ex vivo* stimulation**
944 pre-DC (red) and pDC (orange) from either blood, lymph nodes, bone marrow and spleen were
945 analyzed for their capacity to produce IL-12-40, TNF- α or IFN- α after 3 hours of R848 *ex vivo*
946 stimulation.

Figure S3



947 **Figure S3. Dynamics of DC subsets during SIV infection among macaque's blood, lymph**
 948 **node, bone marrow and spleen**

949 (A) Blood pDC (left) and cDC2 (right) absolute numbers during SIV infection (n=12).

950 (B) Frequency of pDC (left) and cDC2 (right) among lymph node leukocytes during SIV infection
 951 (n=12).

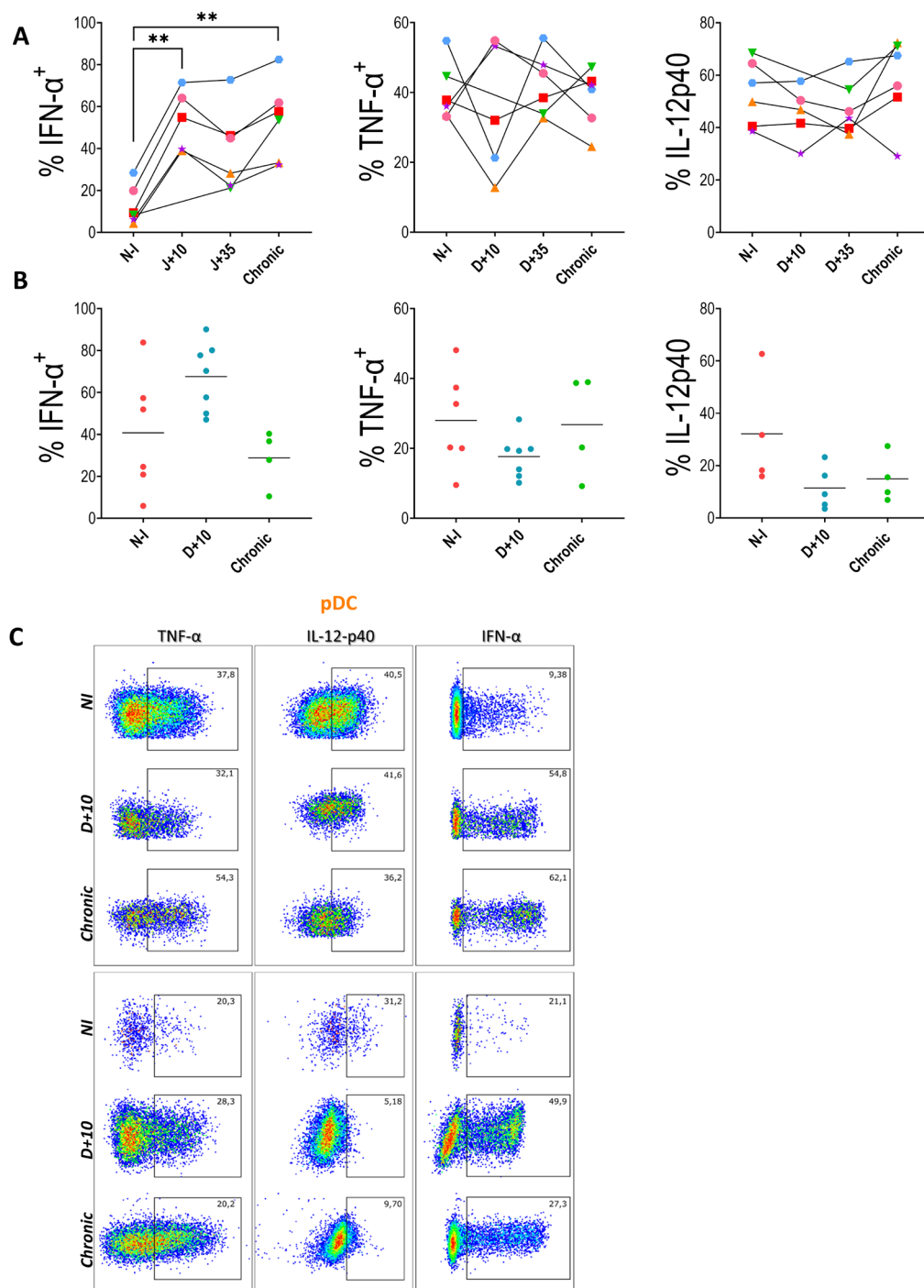
952 (C) Impact of ART on the absolute numbers of blood pDC (left) and cDC2 (right).

953 (D) Impact of ART on pDC (left) and cDC2 (right) frequency among the lymph node leukocytes
 954 (n=6).

955 (E) Frequency among lymph node leukocytes of pDC (left) and cDC2 (right) during SIV infection
 956 of untreated macaques (n=6).

957 (F) pDC (left) and cDC2 (right) frequency among leukocytes from bone marrow during SIV
 958 infection (n=6).

Figure S4

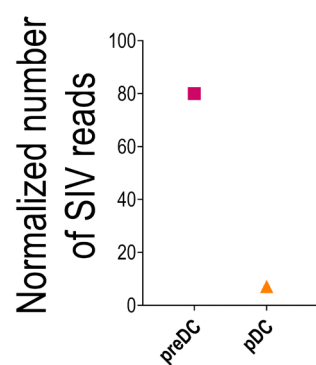


959 **Figure S4: Impact of SIV infection on cytokine production capacity by pDC following ex**
960 **vivo stimulation by R848.**

961 Analysis of IFN- α , TNF- α and IL-12 intracellular production by pDC from blood (A) and lymph
962 nodes (B) after 3 hours of R848 ex vivo stimulation during SIV infection follow-up.

963 (C) Dot plots of pDC showing TNF- α , IL-12 and IFN- α expression after ex vivo R848 stimulation
964 from a representative macaque.

Figure S5



965 **Figure S5: SIV RNA quantification in purified circulating pre-DC and pDC in chronic**
966 **phase of SIV infection**

967 Raw read counts of SIV transcripts mapped to SIVmac251 in pre-DC and pDC isolated from
968 peripheral blood of one infected macaque during chronic phase of SIV infection. Read counts are
969 shown for one macaque.

Discussion

Très peu d'études ont été menées à ce jour sur le rôle des pré-DCs au cours des infections virales et seules quelques études ont été conduites *in vivo* à l'aide d'un modèle murin (*Beshara et al., 2018; Cabeza-Cabrerizo et al., 2019; Leylek et al., 2019*). Il a cependant été décrit que les pré-DCs exprimaient spécifiquement un récepteur du VIH, la molécule Siglec-1, ce qui a conduit à l'étude des pré-DCs au cours de l'infection *in vitro* par le VIH (*Ruffin et al., 2019; Brouiller et al., 2022*). Ces études montrent que les pré-DCs sont une cible préférentielle de l'infection par le VIH et seraient capables de produire un grand nombre de nouvelles particules virales.

Nos analyses des pré-DCs au sein de la circulation sanguine de patients vivants avec le VIH à des temps précoces d'infection (< 60 jours) n'ont pas permis d'observer de différences significatives de leur abondance ou de leur phénotype. Ces résultats concordent avec nos données sur l'abondance et le phénotype des pré-DCs dans le modèle macaque à J+35 post infection par le SIV qui correspond au seuil minimal que l'on peut étudier chez les patients infectés par le VIH. Nos résultats obtenus dans le modèle macaque seraient donc bien en adéquation avec ceux obtenus chez l'homme.

Au cours de ces travaux, il a d'abord été nécessaire de mettre au point l'analyse des pré-DCs par cytométrie en flux au sein des cellules de la circulation sanguine et des tissus de macaques. La première difficulté rencontrée fut l'absence de signal avec les anticorps anti-AXL et Siglec-6 sur les pré-DCs de macaque ainsi qu'une différence de distribution de population cellulaire du marqueur CD45RA entre l'Humain et le macaque (*Malleret, Mané, et al., 2008*). Il est bien établi que malgré la phylogénie très proche du macaque *Cynomolgus* et de l'Homme, certaines sous-populations de cellules immunitaires ne conservent pas forcément l'expression de certains marqueurs entre ces deux espèces (*Brown and Barratt-Boyes, 2009; Dutertre et al., 2014; Dutertre, Wang and Ginhoux, 2014; Williams et*

al., 2016). Cette observation a aussi été constatée au cours de l'étude des pré-DCs au sein du modèle murin lors de laquelle il a été montré que le récepteur AXL n'est pas exprimé par la souris et semblerait être exprimé spécifiquement chez l'Homme (*Leylek et al., 2019*). Cette constatation expliquerait pourquoi il ne nous a pas été possible d'utiliser les marqueurs AXL et Siglec-6 au sein de notre modèle d'étude. L'absence de marquage pourrait résulter d'une absence d'expression des gènes correspondants, ou à des différences dans la séquence en acides aminés qui entraveraient la cross réactivité des anticorps envers leur cible chez le macaque. Malgré ces difficultés, nous avons tout de même réussi à développer un panel de cytométrie permettant d'étudier spécifiquement les pré-DCs grâce aux marqueurs CD123, Siglec-1 et BDCA2. Nous avons utilisé cette stratégie lors du suivi longitudinal des pré-DCs au cours de l'infection de 12 animaux par le SIV. Nos principaux résultats révèlent que les pré-DCs sont recrutées dans les ganglions en phase aigüe de l'infection, mais ne sont pas complètement activées. Ces résultats concordent avec d'autres études montrant que les autres types de DCs en culture avec le VIH augmentent l'expression de la molécule CD83 in vitro mais ne sont pas activées (*Fonteneau et al., 2004; Cao, Lee and Lu, 2005*). Au cours de l'infection par le SIV, une plus grande proportion de pré-DCs exprimant le marqueur Ki67 est retrouvée dans les ganglions périphériques suggérant ainsi que les pré-DCs présentes dans la circulation sanguine migrent vers les organes lymphoïdes secondaires. Ces résultats peuvent être mis en miroir avec ceux obtenus chez la souris lors desquels il a été montré que les pré-DCs sont recrutées dans le poumon au cours de l'infection de souris par le virus de la grippe (*Leylek and Idoyaga, 2019*). Durant nos analyses, nous avons également étudié l'entrée en apoptose des pré-DCs au cours de l'infection. Dans ce but, nous avons effectué un marquage des pré-DCs du sang et des ganglions avec de l'Annexin-V. Nos résultats montrent qu'une très forte proportion de pré-DCs circulantes (mais pas de pDCs) entre en apoptose dans le sang 10 jours après l'infection par le SIV (*Figure 8*). Une induction de

l'apoptose en phase chronique d'infection a également observée pour les autres sous-populations de cDCs dans le modèle SIV (*Laforge et al., 2011*). Ces fortes proportions de pré-DCs qui seraient en apoptose sont corrélées avec le pic de charge viral ainsi que l'induction de processus inflammatoires.

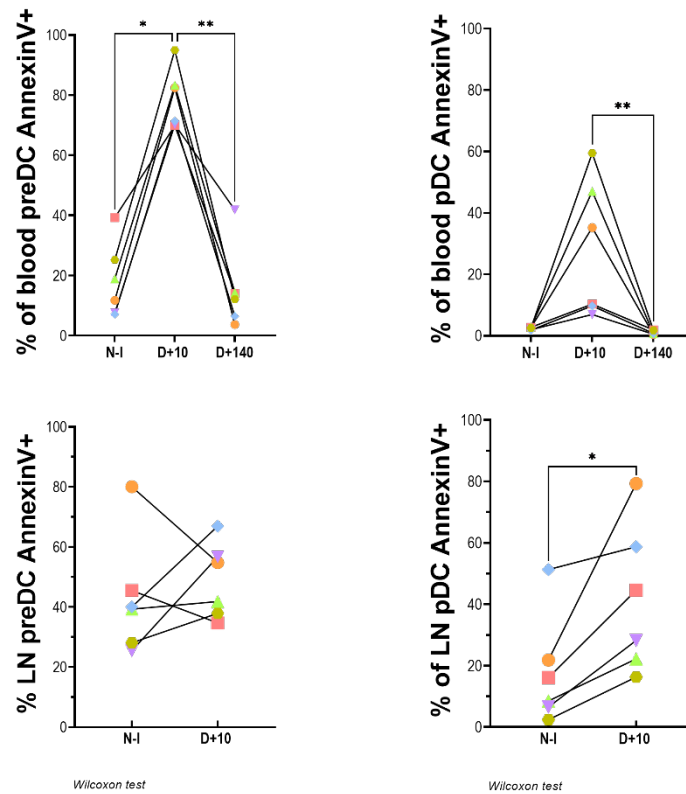


Figure 8: Marquage à l'AnnexinV des pré-DCs dans le sang et les ganglions de macaques infectés par le SIV.

Les pré-DCs circulantes (**Haut Gauche**) retrouvées dans le sang au moment du pic infectieux présentent un fort taux de marquage des phosphatidylsérines suggérant une entrée en apoptose dans le sang qui n'est pas retrouvée dans les ganglions (**Bas Gauche**). Les pDCs circulantes (**Haut Droite**) présentent de plus faibles proportions de cellules positives pour le marquage AnnexinV mais une augmentation de la proportion de pDCs AnnexinV+ est retrouvée dans le ganglion 10 jours après l'infection (**Bas Droite**).

Nous avons également analysé l'expression du marqueur CD95, qui est le récepteur à Fas-L, à la surface des pré-DCs au cours de l'infection de deux macaques. Nous avons constaté une forte induction de l'expression de CD95 sur les pré-DCs au moment du pic infectieux. La hausse du CD95 dans le sang, mais aussi dans les ganglions suggère que les pré-DCs deviennent bien plus sensibles aux signaux apoptotiques de FAS-L. Ces données coïncident avec des études montrant que les DCs expriment fortement le marqueur CD95 in vivo et seraient ainsi bien plus susceptibles à être éliminées par les réponses immunitaires de l'hôte (*Ashany et al., 1999; Brown et al., 2009; Bruel et al., 2014; Varanasi, Khan and Chervonsky, 2014*). Néanmoins, ces résultats ont été menés sur 2 macaques et devront être confirmés sur un groupe plus conséquent d'animaux. Afin de caractériser plus finement l'apoptose il nous aurait fallu réaliser des co-marquages avec du 7-AAD ainsi que des marquages intracellulaires de Caspases activées ou des molécules de survie (Bcl-2) et ainsi déterminer si les pré-DCs subissent toutes un phénomène d'apoptose ou si des processus nécrotiques sont mis en jeux (*Dillon et al., 2011; Wijewardana et al., 2014*). Néanmoins, certains de ces marqueurs ne sont pas compatibles avec le processus de fixation des échantillons infectés que nous devons effectuer avant l'acquisition des données au cytomètre en dehors de la zone de confinement biologique (P3). Il faudrait donc développer un marquage et un suivi des phénomènes d'apoptoses et de nécroses au sein des zones confinées de notre laboratoire afin de pouvoir conclure sur ces résultats.

Bien que nos résultats montrent qu'une dérégulation des pré-DCs prend lieu au cours de l'infection, la rareté de cette population au sein de la circulation sanguine rend les études fonctionnelles difficiles. De ce fait, nous avons mené des études de stimulation de PBMCs ex-vivo et suivi leur capacité de production intracellulaire de cytokines. Ces résultats confirment la dérégulation observée au niveau phénotypique en soulignant que les pré-DCs recrutées dans les ganglions

périphériques ne sont plus capables de produire d'IL-12 suite à une stimulation des TLR7/8 (*Figure 9*). L'IL-12 est notamment connue pour ces implications au niveau de la différenciation des LT CD4⁺ vers une voie de type Th1 (*Kaplan et al., 1996*). De plus, l'IL-12 joue aussi un rôle sur le recrutement des cellules NK et leur production d'IFN gamma et il a été montré que l'infection par le VIH influe négativement sur l'activation des cellules NK en inhibant leur communication avec les DCs (*Altfeld et al., 2011*). Ces constatations pourraient donc être expliquées par les facultés affaiblies des pré-DCs à produire de l'IL-12 une fois arrivées dans le ganglion.

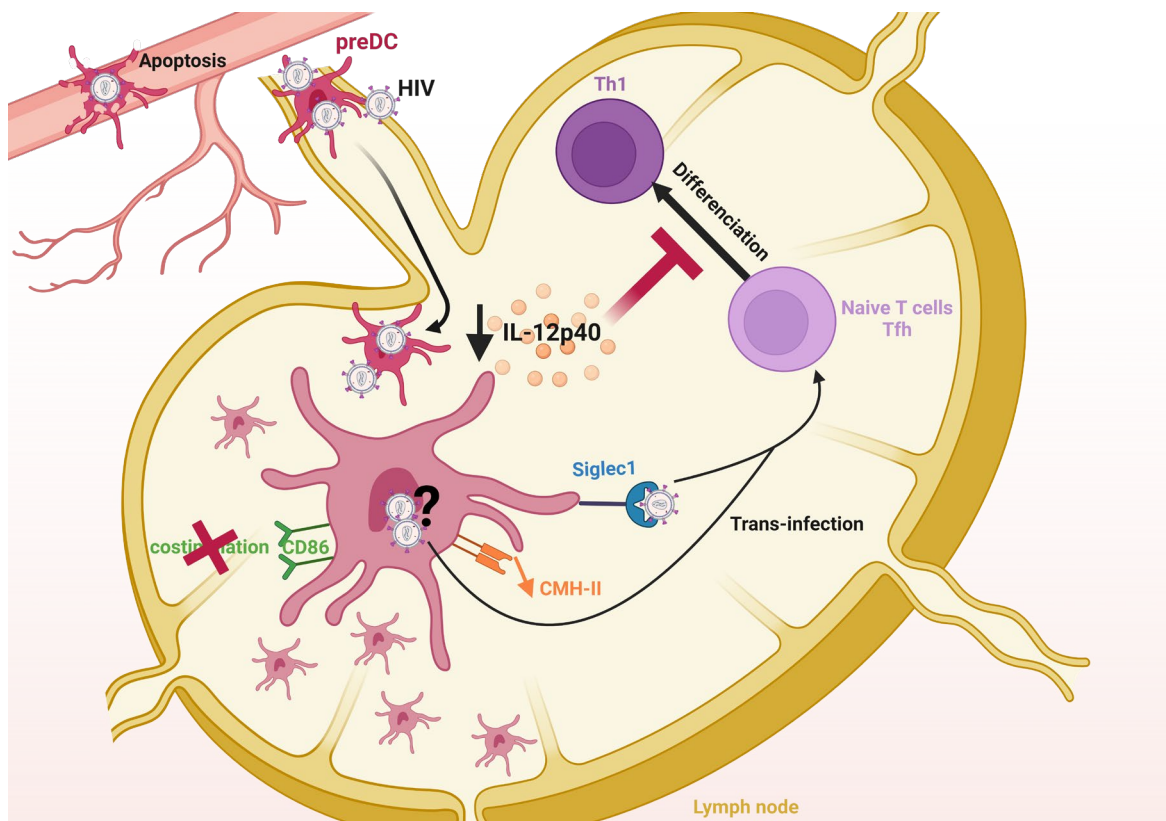


Figure 9: Modèle proposé de la dérégulation des pré-DCs et ses impacts sur les réponses immunitaires au cours de l'infection par le VIH.

Une autre difficulté a été rencontrée quant à la validation *in vivo* des observations menées lors des expériences montrant que les pré-DCs sont préférentiellement infectées par le virus *in vitro*. Afin de mener à bien cette étude, nous avons choisi de procéder au tri et à l'isolation de pré-DCs et des pDCs de la circulation sanguine de deux macaques en phase chronique d'infection par le SIV et à séquencer le transcriptome de ces cellules. Malheureusement, du au faible nombre de pré-DCs retrouvées dans le sang et les restrictions éthiques liées au volume de prélèvement autorisé, seules les pré-DCs et pDCs provenant d'un seul macaque ont pu être analysées. Ainsi, nous avons recherché la présence d'ARN viral du SIV au sein des deux populations de DCs triées. Nos résultats sont prometteurs, car ils montrent que seules les pré-DCs de cet animal possèdent de l'ARN du SIV. Cela signifierait donc que, contrairement à ce qui a été décrit (*Lee et al., 2021*), les pDCs CD123⁺ des macaques ne seraient finalement pas infectées et que les résultats obtenus dans les études antérieures résulteraient de la présence de pré-DCs infectées au sein du pool de pDCs triées. Mais une autre hypothèse pourrait expliquer ces résultats et serait que la détection d'ARN du SIV au sein de la population de pré-DCs proviendrait de la présence de virus accroché à la surface des pré-DCs grâce à l'expression du récepteur Siglec-1. Des études complémentaires sur un plus grand nombre d'animaux visant à caractériser l'infection des pré-DCs dans les tissus seront donc nécessaires pour déterminer l'implication de cette population dans la formation du réservoir. A ce titre, des approches d'analyse en haute dimension sur coupe de tissus incluant des méthodes de RNA ou DNA scope seraient très pertinentes pour répondre à cette question.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer la plus forte susceptibilité des pré-DCs à l'infection. Tout d'abord, nous savons que les pré-DCs expriment les mêmes niveaux de SAMHD1 que les autres DCs (*Ruffin et al., 2019*). Mais des études ont montré que ce facteur de restriction est inactif durant les phases G1 et S du cycle

cellulaire (*Cribier et al., 2013; Pauls et al., 2014*), et donc au sein des cellules en prolifération. La forte proportion de pré-DCs exprimant le Ki67 suggère que ces cellules se trouvent encore en phase de prolifération. SAMHD1 serait alors inactivé la plupart du temps au sein des pré-DCs les rendant ainsi susceptibles à l'infection alors que les autres DCs ne sont pas décrites comme proliférantes. De plus, Rocha-Perugini et al. ont montré que la molécule CD81, exprimée par les endosomes des pré-DCs, inhibe l'activité de SAMHD1 augmentant ainsi l'infection par le VIH. En effet, l'interaction de CD81 avec SAMHD1 va induire la dégradation de ce facteur de restriction (*Rocha-perugini et al., 2017*).

L'infection par le SIV induit une dérégulation des réponses immunitaires associée à une progression vers une phase chronique de la maladie. Au cours de ma thèse, nous avons pu étudier les pré-DCs dans un contexte d'infection par le virus du SARS-CoV-2 dans le sang et les ganglions des animaux. A contrario de l'infection par le SIV, le modèle macaque d'infection par le SARS-CoV-2 induit des réponses immunitaires conduisant à un contrôle naturel de la réplication virale et une résolution de l'infection. Il a déjà été montré que l'infection au SARS-CoV-2 induit un déclin du nombre de DCs, dont les pré-DCs, dans le sang des patients hospitalisés (*Kvedaraite et al., 2021*). Les analyses effectuées dans le sang des patients atteints de la maladie révèlent que l'expression des récepteurs CD83, CD86 et HLA-DR à la surface des pré-DCs diminuent significativement pour les patients expérimentant une forme sévère de la maladie (*Runhong Zhou et al., 2020; Kvedaraite et al., 2021*). Nos données chez le macaque montrent que la charge virale des animaux culmine dans la trachée trois jours après le début de l'infection. Cette augmentation est associée à une diminution des lymphocytes circulants ($R=-0,7067$, $p=0,0089$) (*Figure 10*). Dans le sang des animaux infectés, la dynamique des pré-DCs circulantes n'a pas été significativement modifiée jusqu'à la résolution de l'infection (jour 30). Bien que seulement deux animaux aient été étudiés au moment

du pic infectieux, une augmentation transitoire du nombre de pré-DCs dans les ganglions lymphatiques est observée. De plus, l'expression des molécules de costimulation montre que l'expression du CD83 est augmentée et que le CD86 n'a pas été réduit par l'infection au SARS-CoV-2 dans le sang. Enfin l'expression du récepteur CD86 sur les pré-DCs dans le ganglion se voit être significativement augmentée au contraire de ce qui a été observé au cours de l'infection par le SIV. Ces données suggèrent que la dynamique de recrutement des pré-DC dans les ganglions est similaire pendant l'infection au SARS-CoV-2 et au SIV. Cependant, l'expression phénotypique des marqueurs de costimulation, qui est sévèrement impactée au cours de l'infection par le SIV, semble être induite par l'infection au SARS-CoV-2. Bien que ces données soient prometteuses au sujet de la dynamique des pré-DCs au cours de l'infection par le SARS-CoV-2, très peu d'animaux ont été étudiés. De ce fait, plusieurs expériences complémentaires doivent être réalisées afin de renforcer les premières observations réalisées à travers cette étude. La comparaison entre l'infection par le SARS-CoV-2 et le SIV comporte des limites telles que le type de virus (rétrovirus vs coronavirus), les voies d'entrées, les cellules cibles et les organes infectés. Au cours de cette étude, nous avons analysé des lavages broncho-alvéolaires de macaques infectés par le SARS-CoV-2, mais nous n'avons pas retrouvé les pré-DCs en quantité suffisante pour pouvoir les analyser. Il est possible que lors de leur migration dans ce compartiment les pré-DCs subissent une modification de leur phénotype qui a empêché leur caractérisation par cytométrie en flux. Une étude par RNA-seq en cellule unique du pool de cellules dendritiques dans les lavages broncho-alvéolaires des animaux infectés pourrait résoudre ces problèmes d'identification. Enfin, la mise au point d'un modèle de forme grave de COVID19 chez le macaque permettrait de comparer la régulation des cellules dendritiques en phase précoce de l'infection par le SARS-CoV-2 en fonction de la progression de la maladie. Néanmoins, les différentes études et mises

au point réalisées à travers le monde suggèrent jusqu'à présent que ce modèle serait résistant aux formes graves (Muñoz-Fontela et al., 2020).

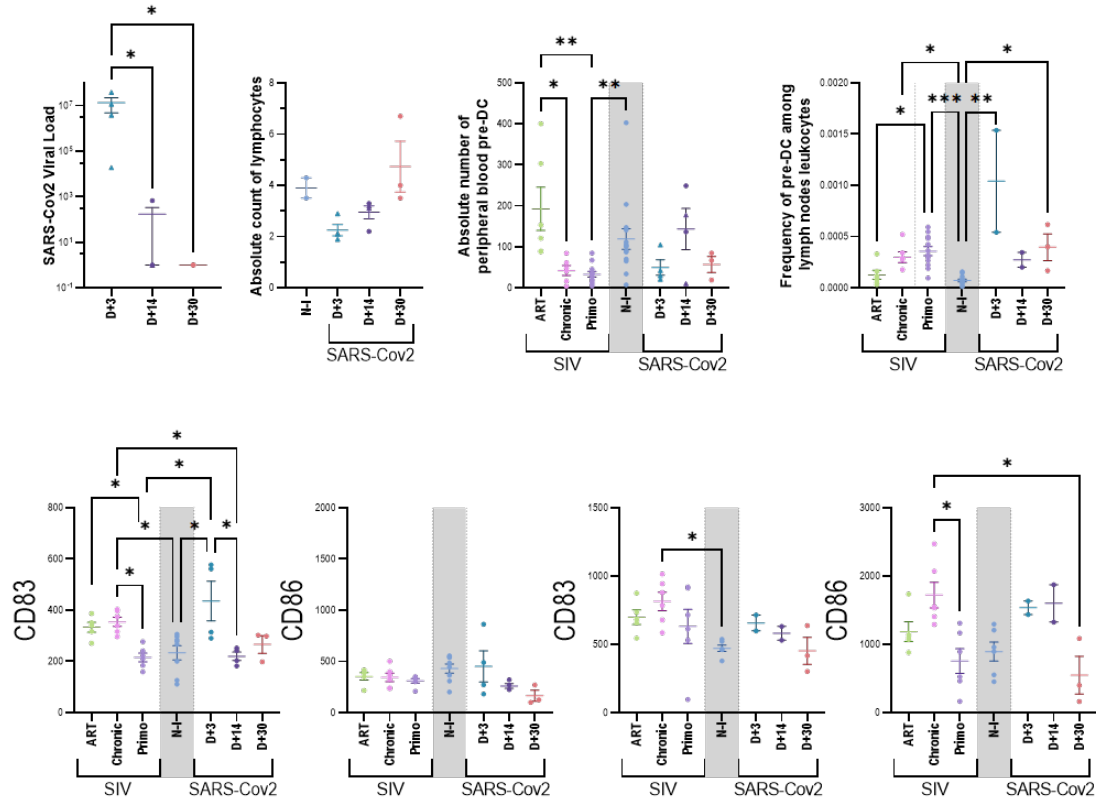


Figure 10: Suivi des pré-DCs de macaque au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 et comparaison avec l'infection SIV

(A-B) Charge virale plasmatique (A) et nombre absolu de lymphocytes (B) de macaques infectés prélevés à 3, 14 ou 30 jours post-infection. (C) Comparaison des nombres de pré-DCs dans le sang et de la fréquence des pré-DC retrouvées dans les ganglions lymphatiques au cours de l'infection par le SIV et par le SARS-CoV-2. (D-E) Expression de molécules CD86 et CD83 à la surface des pré-DCs circulantes (D) et à la surface des pré-DCs des ganglions (E). Les résultats sont exprimés en Intensité Moyenne de Fluorescence ou MFI.

Conclusion et Perspectives

Malgré la connaissance du VIH depuis les années 1980, cette infection demeure toujours un problème de santé publique majeur au niveau mondial. Dans ce cadre, nos recherches s'inscrivent dans une dynamique scientifique visant à caractériser au mieux la physiopathologie de l'infection afin de faire évoluer les connaissances et émerger de nouvelles solutions thérapeutiques.

Les DCs ont toujours été décrites comme dysfonctionnelles au cours de l'infection par le VIH. L'utilisation de modèle d'études animaux a permis de pousser cette caractérisation jusqu'à l'étude des DCs au cours des réponses immunitaires très précoces à l'infection dans le sang, mais aussi dans les organes lymphoïdes secondaires des animaux. Ces dysfonctions ont été montrées comme responsables de l'échappement du VIH aux réponses immunitaires et in fine, à la dissémination du virus dans l'organisme.

La découverte des pré-DCs (*See et al., 2017; Villani et al., 2017*) et la mise en évidence de leur susceptibilité à l'infection par le VIH (*Ruffin et al., 2019; Brouiller et al., 2022*) ont ouvert un nouveau champs d'étude. Dans ce cadre, nos recherches se sont portées sur la caractérisation des pré-DCs in vivo au cours de l'infection par le SIV.

Au cours de ces études, nous avons tout d'abord identifié la population homologue des pré-DCs humaines chez le macaque par des analyses en cytométrie en flux. La mise en place d'une telle stratégie s'est révélée cruciale pour la suite de nos travaux. Comme nous venons de le voir à travers les résultats de ces études, la dérégulation des pré-DCs induite par l'infection pourrait être à l'origine de dysfonctionnements se produisant au niveau de la mise en place de la réponse immunitaire adaptative. En effet, le recrutement de cellules infectées, porteuses du virus et productrices de nouveaux virions au sein des ganglions lymphatiques concourent à la dissémination virale aux LT CD4⁺. De plus, la baisse d'expression des molécules de costimulation ainsi que la perte de production d'IL-12 pourraient

contribuer à l'incapacité des pré-DCs à induire l'activation des LT CD4 conduisant à la mise en place de réponses immunitaires atténuées.

L'expression de la molécule Siglec-1 a été décrite à la fois sur les pré-DCs mais aussi à la surface des macrophages. Ce marqueur est responsable de la capture du VIH par les macrophages et les expériences de traitement in vitro par des anticorps dirigés contre le récepteur Siglec-1 ont montré que ce traitement inhibait la capture du virus (*Pino et al., 2015*) ainsi que l'infection des macrophages (*Jobe, Kim and Rao, 2016*). D'autre part, au cours de l'étude in vitro de l'infection des pré-DCs par le VIH, un ajout d'anti-Siglec-1 s'est montré suffisant pour empêcher la transmission du virus aux LT CD4⁺ en culture (*Ruffin et al., 2019*). Ces données, associées à nos résultats suggèrent donc que le traitement potentiel des patients avec des anticorps monoclonaux anti-Siglec-1 pourraient prévenir l'infection des pré-DCs, mais aussi des macrophages par le VIH. Ce traitement pourrait également i) réduire la transmission du virus aux lymphocytes T CD4⁺ ii) améliorer l'expression des molécules de co-stimulation et la production de cytokines par les pré-DCs. Cependant, un traitement comportant seulement un anticorps monoclonal dirigé contre la molécule Siglec-1 visant à empêcher l'infection des pré-DCs et des macrophages ne serait probablement pas suffisant. Les solutions thérapeutiques qui permettront d'éradiquer cette maladie devront être composées d'associations d'agents thérapeutiques ciblant plusieurs acteurs de la réponse antivirale contre le VIH. Il a notamment été proposé par plusieurs équipes que le récepteur inhibiteur LILRB2 (*Lichterfeld and Yu, 2012; Bashirova et al., 2014; Alaoui et al., 2018*), dont l'expression est fortement augmentée à la surface des DCs et des monocytes au cours de l'infection par le SIV/VIH, pourrait être une cible thérapeutique pertinente visant à améliorer les réponses immunitaires anti-virales. Des études précliniques dans le modèle SIV combinant de traitements anti-rétroviraux couplés à des anticorps monoclonaux bloquants LILRB2 et Siglec-1 pourraient mener au

développement de stratégies thérapeutiques visant à améliorer les réponses immunitaires et diminuer le réservoir viral.

Références

- Aarnink, A. *et al.* (2011) 'Influence of the MHC genotype on the progression of experimental SIV infection in the Mauritian cynomolgus macaque', *Immunogenetics*, 63(5), pp. 267–274. doi:10.1007/s00251-010-0504-6.
- Alaoui, L. *et al.* (2018) 'Early SIV and HIV infection promotes the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in cDCs', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(10), pp. 1871–1887. doi:10.1007/s00018-017-2712-9.
- Alcántara-Hernández, M. *et al.* (2017) 'High-Dimensional Phenotypic Mapping of Human Dendritic Cells Reveals Interindividual Variation and Tissue Specialization', *Immunity*, 47(6), pp. 1037–1050.e6. doi:10.1016/j.immuni.2017.11.001.
- Alculumbre, S.G. *et al.* (2018) 'Diversification of human plasmacytoid predendritic cells in response to a single stimulus article', *Nature Immunology*, 19(1), pp. 63–75. doi:10.1038/s41590-017-0012-z.
- Alter, H.J. *et al.* (1984) 'Transmission of HTLV-III infection from human plasma to chimpanzees: An animal model for AIDS', *Science*, 226(4674), pp. 549–552. doi:10.1126/science.6093251.
- Altfeld, M. *et al.* (2011) 'DCs and NK cells: Critical effectors in the immune response to HIV-1', *Nature Reviews Immunology*, pp. 176–186. doi:10.1038/nri2935.
- Altfeld, M. and Gale, M. (2015) 'Innate immunity against HIV-1 infection', *Nature Immunology*, 16(6), pp. 554–562. doi:10.1038/ni.3157.
- Ancuta, P. *et al.* (2006) 'CD16+ monocytes exposed to HIV promote highly efficient viral replication upon differentiation into macrophages and interaction with T cells', *Virology*, 344(2), pp. 267–276. doi:10.1016/j.virol.2005.10.027.
- Angin, M. *et al.* (2019) 'Metabolic plasticity of HIV-specific CD8+ T cells is associated with enhanced antiviral potential and natural control of HIV-1 infection', *Nature Metabolism*, 1(7), pp. 704–716. doi:10.1038/s42255-019-0081-4.

- Antony, J.M. and MacDonald, K.S. (2015) 'A critical analysis of the cynomolgus macaque, *Macaca fascicularis*, as a model to test HIV-1/SIV vaccine efficacy', *Vaccine*, 33(27), pp. 3073–3083. doi:10.1016/j.vaccine.2014.12.004.
- Apetrei, C. *et al.* (2005) 'Molecular Epidemiology of Simian Immunodeficiency Virus SIVsm in U.S. Primate Centers Unravels the Origin of SIVmac and SIVstm', *Journal of Virology*, 79(14), pp. 8991–9005. doi:10.1128/jvi.79.14.8991-9005.2005.
- Ashany, D. *et al.* (1999) 'Dendritic cells are resistant to apoptosis through the Fas (CD95/APO-1) pathway.', *Journal of immunology*, 163(10), pp. 5303–11.
- Audiger, C. *et al.* (2017) 'The Importance of Dendritic Cells in Maintaining Immune Tolerance', *The Journal of Immunology*, 198(6), pp. 2223–2231. doi:10.4049/jimmunol.1601629.
- Autissier, P. *et al.* (2010) 'Immunophenotyping of lymphocyte, monocyte and dendritic cell subsets in normal rhesus macaques by 12-color flow cytometry: Clarification on DC heterogeneity', *Journal of Immunological Methods*, 360(1–2), pp. 119–128. doi:10.1016/j.jim.2010.06.017.
- Ayinde, D. *et al.* (2015) 'SAMHD1 Limits HIV-1 Antigen Presentation by Monocyte-Derived Dendritic Cells', *Journal of Virology*, 89(14), pp. 6994–7006. doi:10.1128/jvi.00069-15.
- Bachem, A. *et al.* (2010) 'Superior antigen cross-presentation and XCR1 expression define human CD11c + CD141 + cells as homologues of mouse CD8 + dendritic cells', *The Journal of Experimental Medicine*, 207(6), pp. 1273–1281. doi:10.1084/jem.20100348.
- Bakdash, G. *et al.* (2016) 'Expansion of a BDCA1+ CD14+ myeloid cell population in melanoma patients may attenuate the efficacy of dendritic cell vaccines', *Cancer Research*, 76(15), pp. 4332–4346. doi:10.1158/0008-5472.CAN-15-1695.

- Banchereau, J. *et al.* (2000) 'Immunobiology of dendritic cells', *Annual Review of Immunology*, pp. 767–811. doi:10.1146/annurev.immunol.18.1.767.
- Bao, M. and Liu, Y.J. (2013) 'Regulation of TLR7/9 signaling in plasmacytoid dendritic cells', *Protein and Cell*. Protein Cell, pp. 40–52. doi:10.1007/s13238-012-2104-8.
- Barratt-boyes, S.M. *et al.* (2011) 'Dissecting the role of dendritic cells in simian immunodeficiency virus infection and AIDS', *Immunologic Research*, 50(2–3), pp. 228–234. doi:10.1007/s12026-011-8220-3.Dissecting.
- Barratt-Boyes, S.M. *et al.* (2006) 'Understanding and exploiting dendritic cells in human immunodeficiency virus infection using the nonhuman primate model', *Immunol Res*, 36(1–3), pp. 265–274.
- Barré-Sinoussi, F. *et al.* (1983) 'Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)', *Science*, 220(4599), pp. 868–871. doi:10.1126/science.6189183.
- Barron, M.A. *et al.* (2003) 'Influence of plasma viremia on defects in number and immunophenotype of blood dendritic cell subsets in human immunodeficiency virus 1-infected individuals', *Journal of Infectious Diseases*, 187(1), pp. 26–37. doi:10.1086/345957.
- Barton, K., Winckelmann, A. and Palmer, S. (2017) 'HIV-1 Reservoirs During Suppressive Therapy', *Physiology & behavior*, 176(12), pp. 139–148. doi:10.1016/j.tim.2016.01.006.HIV-1.
- Bashirova, A.A. *et al.* (2014) 'LILRB2 Interaction with HLA Class I Correlates with Control of HIV-1 Infection', *PLoS Genetics*, 10(3). doi:10.1371/journal.pgen.1004196.
- Bastos-Amador, P. *et al.* (2012) 'Capture of cell-derived microvesicles (exosomes and apoptotic bodies) by human plasmacytoid dendritic cells', *Journal of Leukocyte Biology*, 91(5), pp. 751–758. doi:10.1189/jlb.0111054.

- Bertram, K.M. *et al.* (2019) 'Identification of HIV transmitting CD11c+ human epidermal dendritic cells', *Nature Communications*, 10(1). doi:10.1038/s41467-019-10697-w.
- Beshara, R. *et al.* (2018) 'Alteration of Flt3-Ligand-dependent de novo generation of conventional dendritic cells during influenza infection contributes to respiratory bacterial superinfection', *PLoS ONE* [Preprint]. doi:10.1371/journal.ppat.1007360.
- Bjornson-hooper, Z.B. *et al.* (2019) 'A comprehensive atlas of immunological differences between humans , mice and non-human primates', *immune atlas* [Preprint].
- Bourdely, P. *et al.* (2020) 'Transcriptional and Functional Analysis of CD1c+ Human Dendritic Cells Identifies a CD163+ Subset Priming CD8+CD103+ T Cells', *Immunity*, 53(2), pp. 335-352.e8. doi:10.1016/j.immuni.2020.06.002.
- Brandum, E.P. *et al.* (2021) 'Dendritic cells and ccr7 expression: An important factor for autoimmune diseases, chronic inflammation, and cancer', *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15). doi:10.3390/ijms22158340.
- Brenchley, J.M. *et al.* (2004) 'CD4 + T Cell Depletion during all Stages of HIV Disease Occurs Predominantly in the Gastrointestinal Tract', *The Journal of Experimental Medicine*, 200(6), pp. 749–759. doi:10.1084/jem.20040874.
- Brenchley, J.M. and Douek, D.C. (2008) 'HIV infection and the gastrointestinal immune system', *Mucosal Immunology*, 1(1), pp. 23–30. doi:10.1038/mi.2007.1.
- Breton, G. *et al.* (2015) 'Circulating precursors of human CD1c and CD141 dendritic cells', *The Journal of Experimental Medicine*, 212(3), pp. 401–413. doi:10.1084/jem.20141441.
- Breton, G. *et al.* (2016) 'Human dendritic cells (DCs) are derived from distinct circulating precursors that are precommitted to become CD1c + or CD141 + DCs', *The Journal of Experimental Medicine*, 213(13), pp. 2861–2870. doi:10.1084/jem.20161135.

- Brouiller, F. *et al.* (2022) 'Single-cell RNA-Seq analysis reveals dual sensing of HIV-1 in blood Axl + dendritic cells', *bioRxiv*, p. 2022.01.03.474732. doi:10.1101/2022.01.03.474732.
- Brown, K.N. *et al.* (2009) 'Rapid influx and death of plasmacytoid dendritic cells in lymph nodes mediate depletion in acute simian immunodeficiency virus infection', *PLoS Pathogens*, 5(5). doi:10.1371/journal.ppat.1000413.
- Brown, K.N. and Barratt-Boyes, S.M. (2009) 'Surface phenotype and rapid quantification of blood dendritic cell subsets in the rhesus macaque', *Journal of Medical Primatology*, 38(4), pp. 272–278. doi:10.1111/j.1600-0684.2009.00353.x.
- Bruel, T. *et al.* (2014) 'Plasmacytoid Dendritic Cell Dynamics Tune Interferon-Alpha Production in SIV-Infected Cynomolgus Macaques', *PLoS Pathogens*, 10(1). doi:10.1371/journal.ppat.1003915.
- Burnet, F.M. (1959) *The clonal selection theory of acquired immunity*, *The clonal selection theory of acquired immunity*. Nashville, Vanderbilt University Press, 1959. doi:10.5962/bhl.title.8281.
- Cabeza-Cabrerizo, M. *et al.* (2019) 'Tissue clonality of dendritic cell subsets and emergency DCpoiesis revealed by multicolor fate mapping of DC progenitors Europe PMC Funders Group', *Science Immunology*, 4(33). doi:10.1126/sciimmunol.aaw1941.
- Cameron, P.U. *et al.* (1992) 'Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type-1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4+ T cells', *Science*, 257(5068), pp. 383–387. doi:10.1126/science.1352913.
- Cameron, P.U. *et al.* (2007) 'Preferential Infection of Dendritic Cells during Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection of Blood Leukocytes', *Journal of Virology*, 81(5), pp. 2297–2306. doi:10.1128/JVI.01795-06.

Cao, W., Lee, S.H. and Lu, J. (2005) 'CD83 is preformed inside monocytes, macrophages and dendritic cells, but it is only stably expressed on activated dendritic cells', *Biochemical Journal*, 385(1), pp. 85–93. doi:10.1042/BJ20040741.

Caux, C. *et al.* (2000) 'Dendritic cell biology and regulation of dendritic cell trafficking by chemokines', *Springer Seminars in Immunopathology*, pp. 345–369. doi:10.1007/s002810000053.

Cella, M. *et al.* (1999) 'Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon', *Nature Medicine*, 5(8), pp. 919–923. doi:10.1038/11360.

Chahroudi, A. *et al.* (2012) 'Natural SIV hosts: Showing AIDS the door', *Science*. American Association for the Advancement of Science, pp. 1188–1193. doi:10.1126/science.1217550.

Charles A. Janeway Jr. (1989) 'Approaching the Asymptote? Evolution and Revolution in Immunology', *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 54, pp. 1–13.

Chauveau, L. *et al.* (2015) 'HIV-2 infects resting CD4+ T cells but not monocyte-derived dendritic cells', *Retrovirology*, 12(1), pp. 1–13. doi:10.1186/s12977-014-0131-7.

Chehimi, J. *et al.* (2002) 'Persistent Decreases in Blood Plasmacytoid Dendritic Cell Number and Function Despite Effective Highly Active Antiretroviral Therapy and Increased Blood Myeloid Dendritic Cells in HIV-Infected Individuals', *Journal of Immunology*, 168(9), pp. 4796–4801. doi:10.4049/jimmunol.168.9.4796.

Chen, B. *et al.* (2021) 'Unraveling the Heterogeneity and Ontogeny of Dendritic Cells Using Single-Cell RNA Sequencing', *Frontiers in Immunology*, 12(September), pp. 1–13. doi:10.3389/fimmu.2021.711329.

Chen, J. *et al.* (2022) 'The reservoir of latent HIV', *Frontiers in cellular and infection microbiology*. Front Cell Infect Microbiol, p. 945956. doi:10.3389/fcimb.2022.945956.

- Chiang, M.C. *et al.* (2016) 'Differential uptake and cross-presentation of soluble and necrotic cell antigen by human DC subsets', *European Journal of Immunology*, 46(2), pp. 329–339. doi:10.1002/eji.201546023.
- Chiozzini, C. *et al.* (2017) 'Trans-dissemination of exosomes from HIV-1-infected cells fosters both HIV-1 trans-infection in resting CD4+ T lymphocytes and reactivation of the HIV-1 reservoir', *Archives of Virology*, 162(9), pp. 2565–2577. doi:10.1007/s00705-017-3391-4.
- Chun, T.W. *et al.* (1997) 'Differential susceptibility of naive and memory CD4+ T cells to the cytopathic effects of infection with human immunodeficiency virus type 1 strain LAI', *Journal of Virology*, 71(6), pp. 4436–4444. doi:10.1128/jvi.71.6.4436-4444.1997.
- Cisse, B. *et al.* (2008) 'Transcription Factor E2-2 Is an Essential and Specific Regulator of Plasmacytoid Dendritic Cell Development', *Cell*, 135(1), pp. 37–48. doi:10.1016/j.cell.2008.09.016.
- Clavel, F. *et al.* (1986) 'Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS', *Science*, 233(4761), pp. 343–346. doi:10.1126/science.2425430.
- Coates, P.T.H. *et al.* (2003) 'Dendritic cell subsets in blood and lymphoid tissue of rhesus monkeys and their mobilization with Flt3 ligand', *Blood*, 102(7), pp. 2513–2521. doi:10.1182/blood-2002-09-2929.
- Coindre, S. *et al.* (2018) 'Mass Cytometry Analysis Reveals the Landscape and Dynamics of CD32a+ CD4+ T Cells From Early HIV Infection to Effective cART', *Frontiers in Immunology*, 9. doi:10.3389/fimmu.2018.01217.
- Colletti, N.J. *et al.* (2016) 'TLR3 signaling promotes the induction of unique human BDCA-3 dendritic cell populations', *Frontiers in Immunology*, 7(MAR), pp. 2–6. doi:10.3389/fimmu.2016.00088.

- Collin, M., McGovern, N. and Haniffa, M. (2013) 'Human dendritic cell subsets', *Immunology*, 140(1), pp. 22–30. doi:10.1111/imm.12117.
- Cribier, A. *et al.* (2013) 'Phosphorylation of SAMHD1 by Cyclin A2/CDK1 Regulates Its Restriction Activity toward HIV-1', *Cell Reports*, 3(4), pp. 1036–1043. doi:10.1016/j.celrep.2013.03.017.
- Cytlak, U. *et al.* (2020) 'Differential IRF8 Transcription Factor Requirement Defines Two Pathways of Dendritic Cell Development in Humans', *Immunity*, 53(2), pp. 353–370.e8. doi:10.1016/j.immuni.2020.07.003.
- Daniel, M.D. *et al.* (1985) 'Isolation of T-cell tropic HTLV-III-like retrovirus from macaques', *Science*, 228(4704), pp. 1201–1204. doi:10.1126/science.3159089.
- Day, C.L. *et al.* (2006) 'PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression', *Nature*, 443(7109), pp. 350–354. doi:10.1038/nature05115.
- Deeks, S.G. *et al.* (2015) 'HIV infection', *Nature Reviews Disease Primers*, 1. doi:10.1038/nrdp.2015.35.
- Deng, H.K. *et al.* (1996) 'Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1', *Nature*, 381(6584), pp. 661–666. doi:10.1038/381661a0.
- Derby, N., Martinelli, E. and Robbiani, M. (2011) 'Myeloid dendritic cells in HIV-1 infection', *Current Opinion in HIV and AIDS*, 6(5), pp. 379–384. doi:10.1097/COH.0b013e3283499d63.
- Diao, Y. *et al.* (2015) 'Low CD1c+myeloid dendritic cell counts correlated with a high risk of rapid disease progression during early HIV-1 infection', *BMC Infectious Diseases*, 15(1). doi:10.1186/s12879-015-1092-8.

- Dillon, S.M. *et al.* (2011) 'Blood Myeloid Dendritic Cells from HIV-1-Infected Individuals Display a Proapoptotic Profile Characterized by Decreased Bcl-2 Levels and by Caspase-3+ Frequencies That Are Associated with Levels of Plasma Viremia and T Cell Activation in an Exploratory St', *Journal of Virology* [Preprint]. doi:10.1128/JVI.01118-10.
- Diop, O.M. *et al.* (2008) 'Plasmacytoid Dendritic Cell Dynamics and Alpha Interferon Production during Simian Immunodeficiency Virus Infection with a Nonpathogenic Outcome', *Journal of Virology*, 82(11), pp. 5145–5152. doi:10.1128/jvi.02433-07.
- Donaghy, H. *et al.* (2001) 'Loss of blood CD11c+ myeloid and CD11c- plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load', *Blood*, 98(8), pp. 2574–2576. doi:10.1182/blood.V98.8.2574.
- Donaghy, H. *et al.* (2003) 'Dysfunction and infection of freshly isolated blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients infected with HIV-1', *Reactions*, 101(11), pp. 4505–4511. doi:10.1182/blood-2002-10-3189.Supported.
- Dragic, T. *et al.* (1996) 'HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5', *Nature*, 381(6584), pp. 667–673. doi:10.1038/381667a0.
- Dress, R.J. *et al.* (2019) 'Plasmacytoid dendritic cells develop from Ly6D+ lymphoid progenitors distinct from the myeloid lineage', *Nature Immunology*, 20(7), pp. 852–864. doi:10.1038/s41590-019-0420-3.
- Dress, R.J., Wong, A.Y.W. and Ginhoux, F. (2018) 'Homeostatic control of dendritic cell numbers and differentiation', *Immunology and Cell Biology*, 96(5), pp. 463–476. doi:10.1111/imcb.12028.
- Durand, M. *et al.* (2019) 'Human lymphoid organ cDC2 and macrophages play complementary roles in T follicular helper responses', *Journal of Experimental Medicine*, 216(7), pp. 1561–1581. doi:10.1084/jem.20181994.

- Dutertre, C.-A. *et al.* (2014) 'TLR3-Responsive, XCR1+, CD141(BDCA-3)+/CD8 +- Equivalent Dendritic Cells Uncovered in Healthy and Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Macaques', *The Journal of Immunology*, 192(10), pp. 4697–4708. doi:10.4049/jimmunol.1302448.
- Dutertre, C.-A. *et al.* (2019) 'Single-Cell Analysis of Human Mononuclear Phagocytes Reveals Subset-Defining Markers and Identifies Circulating Inflammatory Dendritic Cells.', *Immunity*, 51, pp. 1–17. doi:10.1016/j.immuni.2019.08.008.
- Dutertre, C.A., Wang, L.F. and Ginhoux, F. (2014) 'Aligning bona fide dendritic cell populations across species', *Cellular Immunology*. Academic Press Inc., pp. 3–10. doi:10.1016/j.cellimm.2014.08.006.
- Dzionek, A. *et al.* (2000) 'BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: Three Markers for Distinct Subsets of Dendritic Cells in Human Peripheral Blood', *The Journal of Immunology*, 165(11), pp. 6037–6046. doi:10.4049/jimmunol.165.11.6037.
- Ebner, S. *et al.* (1998) 'Expression of maturation-/migration-related molecules on human dendritic cells from blood and skin', *Immunobiology*, 198(5), pp. 568–587. doi:10.1016/S0171-2985(98)80079-X.
- Elhmozi-Younes, J. *et al.* (2017) 'In depth comparative phenotyping of blood innate myeloid leukocytes from healthy humans and macaques using mass cytometry', *Cytometry Part A*, 91(10), pp. 969–982. doi:10.1002/cyto.a.23107.
- Ellery, P.J. *et al.* (2007) 'The CD16 + Monocyte Subset Is More Permissive to Infection and Preferentially Harbors HIV-1 In Vivo', *The Journal of Immunology*, 178(10), pp. 6581–6589. doi:10.4049/jimmunol.178.10.6581.
- Embretson, J. *et al.* (1993) 'Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS.', *Nature*, 362(6418), pp. 359–362. doi:10.1038/362359a0.

- Engering, A. *et al.* (2002) 'The Dendritic Cell-Specific Adhesion Receptor DC-SIGN Internalizes Antigen for Presentation to T Cells', *The Journal of Immunology*, 168(5), pp. 2118–2126. doi:10.4049/jimmunol.168.5.2118.
- Facchetti, F. *et al.* (1988) 'Plasmacytoid T cells. Immunohistochemical evidence for their monocyte/macrophage origin', *American Journal of Pathology*, 133(1), pp. 15–21.
- Feng, J. *et al.* (2022) 'Clonal lineage tracing reveals shared origin of conventional and plasmacytoid dendritic cells', *Immunity*, 55(3), pp. 405–422.e11. doi:10.1016/j.immuni.2022.01.016.
- Ferlazzo, G. *et al.* (2004) 'Distinct roles of IL-12 and IL-15 in human natural killer cell activation by dendritic cells from secondary lymphoid organs', *PNAS*, 101(47), pp. 16606–16611. doi:10.1073/pnas.0407522101.
- Fonteneau, J.-F. *et al.* (2004) 'Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activates Plasmacytoid Dendritic Cells and Concomitantly Induces the Bystander Maturation of Myeloid Dendritic Cells', *Journal of Virology*, 78(10), pp. 5223–5232. doi:10.1128/jvi.78.10.5223-5232.2004.
- Gallo, R.C. *et al.* (1983) 'Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS)', *Science*, 220(4599), pp. 865–867. doi:10.1126/science.6601823.
- Garcia, E. *et al.* (2005) 'HIV-1 trafficking to the dendritic cell-T-cell infectious synapse uses a pathway of tetraspanin sorting to the immunological synapse', *Traffic*, 6(6), pp. 488–501. doi:10.1111/j.1600-0854.2005.00293.x.
- Gardner, M.B. and Luciw, P.A. (2008) 'Macaque models of human infectious disease', *ILAR Journal*, 49(2), pp. 220–255. doi:10.1093/ilar.49.2.220.

- Geijtenbeek, T.B.H. *et al.* (2000) 'DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells', *Cell*, 100(5), pp. 587–597. doi:10.1016/S0092-8674(00)80694-7.
- Geijtenbeek, T.B.H. and Gringhuis, S.I. (2009) 'Signalling through C-type lectin receptors: Shaping immune responses', *Nature Reviews Immunology*, pp. 465–479. doi:10.1038/nri2569.
- Gobeil, L.-A., Lodge, R. and Tremblay, M.J. (2012) 'Differential HIV-1 Endocytosis and Susceptibility to Virus Infection in Human Macrophages Correlate with Cell Activation Status', *Journal of Virology*, 86(19), pp. 10399–10407. doi:10.1128/jvi.01051-12.
- Goldstone, D.C. *et al.* (2011) 'HIV-1 restriction factor SAMHD1 is a deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase', *Nature*, 480(7377), pp. 379–382. doi:10.1038/nature10623.
- Granelli-Piperno, A. *et al.* (1998) 'Immature Dendritic Cells Selectively Replicate Macrophagetropic (M-Tropic) Human Immunodeficiency Virus Type 1, while Mature Cells Efficiently Transmit both M- and T-Tropic Virus to T Cells', *Journal of Virology*, 72(4), pp. 2733–2737. doi:10.1128/jvi.72.4.2733-2737.1998.
- Granelli-Piperno, A. *et al.* (2004) 'HIV-1-infected monocyte-derived dendritic cells do not undergo maturation but can elicit IL-10 production and T cell regulation', *PNAS*, 101(20), pp. 7669–74. doi:10.1073/pnas.0402431101.
- Granelli-Piperno, A. *et al.* (2006) 'HIV-1 Selectively Infects a Subset of Nonmaturing BDCA1-Positive Dendritic Cells in Human Blood', *The Journal of Immunology*, 176(2), pp. 991–998. doi:10.4049/jimmunol.176.2.991.
- Gregori, S. *et al.* (2010) 'Differentiation of type 1 T regulatory cells (Tr1) by tolerogenic DC-10 requires the IL-10 – dependent ILT4 / HLA-G pathway', *Blood*, 116(6), pp. 935–944. doi:10.1182/blood-2009-07-234872.The.

- Grouard, G. *et al.* (1997) 'The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand', *Journal of Experimental Medicine*, 185(6), pp. 1101–1111. doi:10.1084/jem.185.6.1101.
- Groux, H. *et al.* (1992) 'Activation-induced Death by Apoptosis in CD4 + T Cells from Human Immunodeficiency Virus-Infected Asymptomatic Individuals By Her % Groux ,* G6rard Torpier ,* Didier Mont6 ,* Yves Mouton , ~ Andr ~ Capron ,* and Jean Claude Ameisen *', *Journal of Experimental Medicine*, 175(February), pp. 331–340.
- Guilliams, M. *et al.* (2016) 'Unsupervised High-Dimensional Analysis Aligns Dendritic Cells across Tissues and Species', *Immunity*, 45(3), pp. 669–684. doi:10.1016/j.immuni.2016.08.015.
- Hahn, B.H. *et al.* (2000) 'AIDS as a Zoonosis: Scientific and Public Health Implications', *Science*, 287(5453), pp. 607–614. doi:10.1126/science.287.5453.607.
- Hammonds, J.E. *et al.* (2017) 'Siglec-1 initiates formation of the virus-containing compartment and enhances macrophage-to-T cell transmission of HIV-1', *PLoS Pathogens*, 13(1). doi:10.1371/journal.ppat.1006181.
- Han, J. *et al.* (2009) 'CD14^{high}CD16⁺ rather than CD14^{low}CD16⁺ monocytes correlate with disease progression in chronic HIV-infected patients', *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 52(5), pp. 553–559. doi:10.1097/QAI.0b013e3181c1d4fe.
- Haniffa, M. *et al.* (2012) 'Human Tissues Contain CD141^{hi} Cross-Presenting Dendritic Cells with Functional Homology to Mouse CD103 + Nonlymphoid Dendritic Cells', *Immunity*, 37(1), pp. 60–73. doi:10.1016/j.immuni.2012.04.012.
- Hatzioannou, T. and Evans, D.T. (2012) 'Animal models for HIV/AIDS research', *Nature Reviews Microbiology*, pp. 852–867. doi:10.1038/nrmicro2911.

- Heger, L. *et al.* (2018) 'CLEC10A Is a specific marker for human CD1c+ dendritic cells and enhances their toll-like receptor 7/8-Induced cytokine secretion', *Frontiers in Immunology*, 9(APR). doi:10.3389/fimmu.2018.00744.
- Heidkamp, G.F. *et al.* (2016) 'Human lymphoid organ dendritic cell identity is predominantly dictated by ontogeny, not tissue microenvironment', *Science Immunology*, 1(6). doi:10.1126/sciimmunol.aai7677.
- Hémont, C. *et al.* (2013) 'Human blood mDC subsets exhibit distinct TLR repertoire and responsiveness', *Journal of Leukocyte Biology*, 93(4), pp. 599–609. doi:10.1189/jlb.0912452.
- Hodges, A. *et al.* (2007) 'Activation of the lectin DC-SIGN induces an immature dendritic cell phenotype triggering Rho-GTPase activity required for HIV-1 replication', *Nature Immunology*, 8(6), pp. 569–577. doi:10.1038/ni1470.
- Hrecka, K. *et al.* (2011) 'Vpx relieves inhibition of HIV-1 infection of macrophages mediated by the SAMHD1 protein', *Nature*, 474(7353), pp. 658–661. doi:10.1038/nature10195.
- Hsu, Y.L. *et al.* (2016) 'Dengue virus infection induces interferon-lambda1 to facilitate cell migration', *Scientific Reports*, 6. doi:10.1038/srep24530.
- Huang, J. *et al.* (2012) 'Systemic inhibition of myeloid dendritic cells by circulating HLA class I molecules in HIV-1 infection', *Retrovirology*, 9, p. 11.
- Ito, T., Wang, Y.H. and Liu, Y.J. (2005) 'Plasmacytoid dendritic cell precursors/type I interferon-producing cells sense viral infection by Toll-like receptor (TLR) 7 and TLR9', *Springer Seminars in Immunopathology*, pp. 221–229. doi:10.1007/s00281-004-0180-4.
- Iwasaki, A. and Medzhitov, R. (2004) 'Toll-like receptor control of the adaptive immune responses', *Nature Immunology*, pp. 987–995. doi:10.1038/ni1112.

- Iyer, S.S. *et al.* (2017) 'The Role of CD4+ T Follicular Helper Cells in HIV Infection: From the Germinal Center to the Periphery', 8. doi:10.3389/fimmu.2017.00046.
- Izquierdo-Useros, N., Lorizate, M., Contreras, F.X., *et al.* (2012) 'Sialyllactose in viral membrane gangliosides is a novel molecular recognition pattern for mature dendritic cell capture of HIV-1', *PLoS Biology*, 10(4). doi:10.1371/journal.pbio.1001315.
- Izquierdo-Useros, N., Lorizate, M., Puertas, M.C., *et al.* (2012) 'Siglec-1 Is a Novel Dendritic Cell Receptor That Mediates HIV-1 Trans-Infection Through Recognition of Viral Membrane Gangliosides', *PLoS Biology*, 10(12). doi:10.1371/journal.pbio.1001448.
- Janas, A.M. *et al.* (2008) 'Productive infection of human immunodeficiency virus type 1 in dendritic cells requires fusion-mediated viral entry', *Virology*, 375(2), pp. 442–451. doi:10.1016/j.virol.2008.01.044.
- Janeway, C.A. and Medzhitov, R. (2002) 'Innate immune recognition', *Annual Review of Immunology*, pp. 197–216. doi:10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359.
- Jardine, L. *et al.* (2013) 'Rapid detection of dendritic cell and monocyte disorders using CD4 as a lineage marker of the human peripheral blood antigen-presenting cell compartment', *Frontiers in Immunology*, 4(DEC). doi:10.3389/fimmu.2013.00495.
- Jin, J.O. *et al.* (2014) 'BDCA1-positive dendritic cells (DCs) represent a unique human myeloid DC subset that induces innate and adaptive immune responses to *Staphylococcus aureus* infection', *Infection and Immunity*, 82(11), pp. 4466–4476. doi:10.1128/IAI.01851-14.
- Jobe, O., Kim, J. and Rao, M. (2016) 'The role of Siglec-1 in HIV-1/macrophage interaction Ousman', *MACROPHAGE*, 263(3), pp. 219–227. doi:10.1097/SLA.0000000000001177.Complications.

- Jongbloed, S.L. *et al.* (2010) 'Human CD141 (BDCA-3) dendritic cells (DCs) represent a unique myeloid DC subset that cross-presents necrotic cell antigens', *The Journal of Experimental Medicine*, 207(6), pp. 1247–1260. doi:10.1084/jem.20092140.
- Kader, M. *et al.* (2013) 'Blocking TLR7- and TLR9-mediated IFN- α Production by Plasmacytoid Dendritic Cells Does Not Diminish Immune Activation in Early SIV Infection', *PLoS Pathogens*, 9(7). doi:10.1371/journal.ppat.1003530.
- Kaplan, M.H. *et al.* (1996) 'Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4- deficient mice', *Nature*, pp. 174–177. doi:10.1038/382174a0.
- Karlsson, I. *et al.* (2007) 'Dynamics of T-Cell Responses and Memory T Cells during Primary Simian Immunodeficiency Virus Infection in Cynomolgus Macaques', *Journal of Virology*, 81(24), pp. 13456–13468. doi:10.1128/jvi.01619-07.
- Khatamzas, E. *et al.* (2017) 'Snapin promotes HIV -1 transmission from dendritic cells by dampening TLR 8 signaling', *The EMBO Journal*, 36(20), pp. 2998–3011. doi:10.15252/emboj.201695364.
- Kim, S. *et al.* (2020) 'High Amount of Transcription Factor IRF8 Engages AP1-IRF Composite Elements in Enhancers to Direct Type 1 Conventional Dendritic Cell Identity', *Immunity*, 53(4), pp. 759–774.e9. doi:10.1016/j.immuni.2020.07.018.
- Klatzmann, D. *et al.* (1984) 'T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV', *Nature*, 312(5996), pp. 767–768. doi:10.1038/312767a0.
- Klein, S. *et al.* (2020) 'SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography', *Nature Communications*, 11(1). doi:10.1038/s41467-020-19619-7.
- Koppensteiner, H., Brack-Werner, R. and Schindler, M. (2012) 'Macrophages and their relevance in Human Immunodeficiency Virus Type I infection', *Retrovirology*. doi:10.1186/1742-4690-9-82.

- Koup, R.A. *et al.* (1994) 'Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome', *Journal of Virology*, 68(7), pp. 4650–4655. doi:10.1128/jvi.68.7.4650-4655.1994.
- Kvedaraite, E. *et al.* (2021) 'Major alterations in the mononuclear phagocyte landscape associated with COVID-19 severity', *PNAS*, 118(6). doi:10.1073/pnas.2018587118/-/DCSupplemental.
- Lackner, A.A. and Veazey, R.S. (2007) 'Current concepts in AIDS pathogenesis: Insights from the SIV/Macaque model', *Annual Review of Medicine*, pp. 461–476. doi:10.1146/annurev.med.58.082405.094316.
- Laforge, M. *et al.* (2011) 'HIV/SIV infection primes monocytes and dendritic cells for apoptosis', *PLoS Pathogens*, 7(6). doi:10.1371/journal.ppat.1002087.
- Laguet, N. *et al.* (2011) 'SAMHD1 is the dendritic- and myeloid-cell-specific HIV-1 restriction factor counteracted by Vpx', *Nature*, 474(7353), pp. 654–657. doi:10.1038/nature10117.
- Lambert, A.A. *et al.* (2008) 'The C-type lectin surface receptor DCIR acts as a new attachment factor for HIV-1 in dendritic cells and contributes to trans- and cis-infection pathways', *Blood*, 112(4), pp. 1299–1307. doi:10.1182/blood-2008-01-136473.
- Lauterbach, H. *et al.* (2010) 'Mouse CD8 α ⁺ DCs and human BDCA3⁺ DCs are major producers of IFN- λ in response to poly IC', *Journal of Experimental Medicine*, 207(12), pp. 2703–2717. doi:10.1084/jem.20092720.
- Lavin, Y. *et al.* (2017) 'Innate Immune Landscape in Early Lung Adenocarcinoma by Paired Single-Cell Analyses', *Cell*, 169(4), pp. 750–765.e17. doi:10.1016/j.cell.2017.04.014.

- Lee, B. *et al.* (1999) 'Quantification of CD4, CCR5, and CXCR4 levels on lymphocyte subsets, dendritic cells, and differentially conditioned monocyte-derived macrophages.', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(9), pp. 5215–5220. doi:10.1073/pnas.96.9.5215.
- Lee, J., Breton, G., Aljoufi, A., *et al.* (2015) 'Clonal analysis of human dendritic cell progenitor using a stromal cell culture', *Journal of Immunological Methods*, 425, pp. 21–26. doi:10.1016/j.jim.2015.06.004.
- Lee, J., Breton, G., Oliveira, T.Y.K., *et al.* (2015) 'Restricted dendritic cell and monocyte progenitors in human cord blood and bone marrow', *The Journal of Experimental Medicine*, 212(3), pp. 385–399. doi:10.1084/jem.20141442.
- Lee, J. *et al.* (2017) 'Lineage specification of human dendritic cells is marked by IRF8 expression in hematopoietic stem cells and multipotent progenitors', *Nature Immunology*, 18(8), pp. 877–888. doi:10.1038/ni.3789.
- Lee, M.Y.-H. *et al.* (2021) 'Tissue-specific transcriptional profiling of plasmacytoid dendritic cells reveals a hyperactivated state in chronic SIV infection', *PLoS Pathogens*. Edited by D.C. Douek, 17(6), p. e1009674. doi:10.1371/journal.ppat.1009674.
- Lehmann, C. *et al.* (2008) 'Increased interferon alpha expression in circulating plasmacytoid dendritic cells of HIV-1-infected patients', *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 48(5), pp. 522–530. doi:10.1097/QAI.0b013e31817f97cf.
- Lehmann, C. *et al.* (2010) 'Plasmacytoid dendritic cells accumulate and secrete interferon alpha in lymph nodes of HIV-1 patients', *PLoS ONE*, 5(6), p. 11110. doi:10.1371/journal.pone.0011110.
- Lemaitre, B. *et al.* (1996) 'The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/Cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults', *Cell*, 86(6), pp. 973–983. doi:10.1016/S0092-8674(00)80172-5.

- León, B., López-Bravo, M. and Ardavín, C. (2007) 'Monocyte-Derived Dendritic Cells Formed at the Infection Site Control the Induction of Protective T Helper 1 Responses against Leishmania', *Immunity*, 26(4), pp. 519–531. doi:10.1016/j.immuni.2007.01.017.
- Lévy, Y. *et al.* (2021) 'CD177, a specific marker of neutrophil activation, is associated with coronavirus disease 2019 severity and death', *iScience*, 24(7). doi:10.1016/j.isci.2021.102711.
- Leylek, R. *et al.* (2019) 'Integrated Cross-Species Analysis Identifies a Conserved Transitional Dendritic Cell Population', *Cell Reports*, 29(11), pp. 3736–3750.e8. doi:10.1016/j.celrep.2019.11.042.
- Leylek, R. and Idoyaga, J. (2019) 'The versatile plasmacytoid dendritic cell: Function, heterogeneity, and plasticity', in *International Review of Cell and Molecular Biology*. Elsevier Inc., pp. 177–211. doi:10.1016/bs.ircmb.2019.10.002.
- Li, G., Cheng, L. and Su, L. (2021) 'Phenotypic and Functional Study of Human Plasmacytoid Dendritic Cells', *Current Protocols*, 1(4). doi:10.1002/cpz1.50.
- Lichterfeld, M. and Yu, X.G. (2012) 'The emerging role of leukocyte immunoglobulin-like receptors (LILRs) in HIV-1 infection.', *Journal of leukocyte biology*, 91(1), pp. 27–33. doi:10.1189/jlb.0811442.
- Lindstedt, M., Lundberg, K. and Borrebaeck, C.A.K. (2005) 'Gene Family Clustering Identifies Functionally Associated Subsets of Human In Vivo Blood and Tonsillar Dendritic Cells', *The Journal of Immunology*, 175(8), pp. 4839–4846. doi:10.4049/jimmunol.175.8.4839.
- Liu, K. *et al.* (2007) 'Origin of dendritic cells in peripheral lymphoid organs of mice', *Nature Immunology*, 8(6), pp. 578–583. doi:10.1038/ni1462.
- Liu, K. *et al.* (2009) 'In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis', *Science*, 324(April), pp. 392–397. doi:10.1126/science.1170540.In.

- Lo, C.C. *et al.* (2012) 'Hiv delays IFN- α production from human plasmacytoid dendritic cells and is associated with SYK phosphorylation', *PLoS ONE*, 7(5), p. 37052. doi:10.1371/journal.pone.0037052.
- Louis, S. *et al.* (2010) 'IL-23 and IL-12p70 production by monocytes and dendritic cells in primary HIV-1 infection', *Journal of Leukocyte Biology*, 87(4), pp. 645–653. doi:10.1189/jlb.1009684.
- Ma, W. *et al.* (2019) 'Single cell RNA-Seq reveals pre-cDCs fate determined by transcription factor combinatorial dose', *BMC MOLECULAR AND CELL BIOLOGY* [Preprint]. doi:10.1186/s12860-019-0199-y.
- Macatonia, S.E. *et al.* (1990) 'Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals.', *Immunology*, 71(1), pp. 38–45.
- Macdonald, K.P. a *et al.* (2002) 'Characterization of human blood dendritic cell subsets', *Cell*, 100(13), pp. 4512–4520. doi:10.1182/blood-2001-11-0097.Reprints.
- Majumder, B. *et al.* (2005) 'Human Immunodeficiency Virus Type 1 Vpr Impairs Dendritic Cell Maturation and T-Cell Activation: Implications for Viral Immune Escape', *Journal of Virology*, 79(13), pp. 7990–8003. doi:10.1128/JVI.79.13.7990-8003.2005.
- Malleret, B., Karlsson, I., *et al.* (2008) 'Effect of SIVmac infection on plasmacytoid and CD1c+myeloid dendritic cells in cynomolgus macaques', *Immunology*, 124(2), pp. 223–233. doi:10.1111/j.1365-2567.2007.02758.x.
- Malleret, B., Mané, B., *et al.* (2008) 'Primary infection with simian immunodeficiency virus: plasmacytoid dendritic cell homing to lymph nodes, type I interferon, and immune suppression', *Blood*, 112(12), p. 4598. doi:10.1182/blood-2008-06.
- Manches, O., Frleta, D. and Bhardwaj, N. (2014) 'Dendritic cells in progression and pathology of HIV infection', *Trends in Immunology*, 35(3), pp. 114–122. doi:10.1016/j.it.2013.10.003.

- Mannioui, A. *et al.* (2009) 'Dynamics of viral replication in blood and lymphoid tissues during SIVmac251 infection of macaques', *Retrovirology*, 6. doi:10.1186/1742-4690-6-106.
- Marongiu, L. *et al.* (2021) 'Maturation signatures of conventional dendritic cell subtypes in COVID-19 suggest direct viral sensing', *European Journal of Immunology* [Preprint]. doi:10.1002/eji.202149298.
- Martín-Moreno, A. and Muñoz-Fernández, M.A. (2019) 'Dendritic cells, the double agent in the war against hiv-1', *Frontiers in Immunology*, p. 2485. doi:10.3389/fimmu.2019.02485.
- Martinson, J.A. *et al.* (2007) 'Dendritic cells from HIV-1 infected individuals are less responsive to toll-like receptor (TLR) ligands', *Cellular Immunology*, 250(1–2), pp. 75–84. doi:10.1016/j.cellimm.2008.01.007.
- Matsui, T. *et al.* (2009) 'CD2 Distinguishes Two Subsets of Human Plasmacytoid Dendritic Cells with Distinct Phenotype and Functions', *The Journal of Immunology*, 182(11), pp. 6815–6823. doi:10.4049/jimmunol.0802008.
- McCune, J.M. (2001) 'The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease', *Nature*, 410(6831), pp. 974–979. doi:10.1038/35073648.
- Mcdougal, J.S. *et al.* (1986) 'Binding of HTLV-III/LAV to T4+ T cells by a complex of the 110K viral protein and the T4 molecule', *Science*, 231(4736), pp. 382–385. doi:10.1126/science.3001934.
- McIlroy, D. *et al.* (1995) 'Infection frequency of dendritic cells and CD4+ T lymphocytes in spleens of human immunodeficiency virus-positive patients', *Journal of Virology*, 69(8), pp. 4737–4745. doi:10.1128/jvi.69.8.4737-4745.1995.

- Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P. and Janeway, C.A. (1997) 'A human homologue of the *Drosophila* toll protein signals activation of adaptive immunity', *Nature*, 388(6640), pp. 394–397. doi:10.1038/41131.
- Meera, S. *et al.* (2010) 'Irreversible loss of pDCs by apoptosis during early HIV infection may be a critical determinant of immune dysfunction', *Viral Immunology*, 23(3), pp. 241–249. doi:10.1089/vim.2009.0112.
- Mellman, I. (2013) 'Dendritic Cells: Master Regulators of the Immune Response', *Cancer Immunology Research* [Preprint]. doi:10.1158/2326-6066.CIR-13-0102.
- Mellors, J.W. *et al.* (1996) 'Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma', *Science*, 272(5265), pp. 1167–1170. doi:10.1126/science.272.5265.1167.
- Merad, M. *et al.* (2013) 'The Dendritic Cell Lineage: Ontogeny and Function of Dendritic Cells and Their Subsets in the Steady State and the Inflamed Setting', *Changes*, 41(9), pp. 15–25. doi:10.1146/annurev-immunol-020711-074950.The.
- Migueles, S.A. *et al.* (2002) 'HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors', *Nature Immunology*, 3(11), pp. 1061–1068. doi:10.1038/ni845.
- Mittag, D. *et al.* (2011) 'Human Dendritic Cell Subsets from Spleen and Blood Are Similar in Phenotype and Function but Modified by Donor Health Status', *The Journal of Immunology*, 186(11), pp. 6207–6217. doi:10.4049/jimmunol.1002632.
- Moris, A. *et al.* (2004) 'DC-SIGN promotes exogenous MHC-I-restricted HIV-1 antigen presentation', *Blood*, 103(7), pp. 2648–2654. doi:10.1182/blood-2003-07-2532.
- Muñoz-Fontela, C. *et al.* (2020) 'Animal models for COVID-19', *Nature*, pp. 509–515. doi:10.1038/s41586-020-2787-6.

- Muro-Cacho, C.A., Pantaleo, G. and Fauci, A.S. (1995) 'Analysis of apoptosis in lymph nodes of HIV-infected persons. Intensity of apoptosis correlates with the general state of activation of the lymphoid tissue and not with stage of disease or viral burden.', *Journal of immunology*, 154(10), pp. 5555–66.
- Naik, S.H. *et al.* (2006) 'Intrasplenic steady-state dendritic cell precursors that are distinct from monocytes', *Nature Immunology*, 7(6), pp. 663–671. doi:10.1038/ni1340.
- Nascimbeni, M. *et al.* (2009) 'Plasmacytoid dendritic cells accumulate in spleens from chronically HIV-infected patients but barely participate in interferon- α expression', *Blood*, 113(24), pp. 6112–6119. doi:10.1182/blood-2008-07-170803.
- Nizzoli, G. *et al.* (2013) 'Human CD1c+ dendritic cells secrete high levels of IL-12 and potently prime cytotoxic T-cell responses', *Blood*, 122(6), pp. 932–942. doi:10.1182/blood-2013-04-495424.
- O'Keeffe, M., Mok, W.H. and Radford, K.J. (2015) 'Human dendritic cell subsets and function in health and disease', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(22), pp. 4309–4325. doi:10.1007/s00018-015-2005-0.
- O Lambotte, Y Taoufik, MG de Goer, C. Wallon, C. Goujard, J.D. (2000) 'Detection of Infectious HIV in Circulating Monocytes from patients on prolonged Highly active antiretroviral therapy', *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 23, p. 114.
- Onai, N. *et al.* (2013) 'A Clonogenic Progenitor with Prominent Plasmacytoid Dendritic Cell Developmental Potential', *Immunity*, 38(5), pp. 943–957. doi:10.1016/j.immuni.2013.04.006.
- Onodi, F. *et al.* (2021) 'SARS-CoV-2 induces human plasmacytoid predendritic cell diversification via UNC93B and IRAK4', *Journal of Experimental Medicine*, 218(4). doi:10.1084/JEM.20201387.

- Ouaguia, L. *et al.* (2019) 'Circulating and hepatic BDCA1+, BDCA2+, and BDCA3+ dendritic cells are differentially subverted in patients with chronic HBV infection', *Frontiers in Immunology*, 10(FEB). doi:10.3389/fimmu.2019.00112.
- Patel, A.A., Ginhoux, F. and Yona, S. (2021) 'Monocytes, Macrophages, Dendritic Cells and Neutrophils: an update on lifespan kinetics in health and disease', *Immunology*, 163(3), p. imm.13320. doi:10.1111/imm.13320.
- Pauls, E. *et al.* (2014) 'Cell Cycle Control and HIV-1 Susceptibility Are Linked by CDK6-Dependent CDK2 Phosphorylation of SAMHD1 in Myeloid and Lymphoid Cells', *The Journal of Immunology*, 193(4), pp. 1988–1997. doi:10.4049/jimmunol.1400873.
- Pérez-Gómez, A. *et al.* (2021) 'Dendritic cell deficiencies persist seven months after SARS-CoV-2 infection', *Cellular and Molecular Immunology*, 18(9), pp. 2128–2139. doi:10.1038/s41423-021-00728-2.
- Perez-Zsolt, D. *et al.* (2022) 'HIV-1 Trans-Infection Mediated by DCs: The Tip of the Iceberg of Cell-to-Cell Viral Transmission', *Pathogens*, pp. 1–14. doi:10.3390/pathogens11010039.
- Pino, M. *et al.* (2015) 'HIV-1 immune activation induces Siglec-1 expression and enhances viral trans-infection in blood and tissue myeloid cells', *Retrovirology*, 12(1). doi:10.1186/s12977-015-0160-x.
- Poltorak, A. *et al.* (1998) 'Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tlr4 gene', *Science*, 282(5396), pp. 2085–2088. doi:10.1126/science.282.5396.2085.
- Poulin, L.F. *et al.* (2010) 'Characterization of human DNGR-1+ BDCA3+ leukocytes as putative equivalents of mouse CD8 α + dendritic cells', *Journal of Experimental Medicine*, 207(6), pp. 1261–1271. doi:10.1084/jem.20092618.

- Poulin, L.F. *et al.* (2012) 'DNDR-1 is a specific and universal marker of mouse and human Batf3-dependent dendritic cells in lymphoid and nonlymphoid tissues', *Blood*, 119(25), pp. 6052–6062. doi:10.1182/blood-2012-01-406967.
- Di Pucchio, T. *et al.* (2008) 'Direct proteasome-independent cross-presentation of viral antigen by plasmacytoid dendritic cells on major histocompatibility complex class I', *Nature Immunology*, 9(5), pp. 551–557. doi:10.1038/ni.1602.
- Reeves, R.K. *et al.* (2012) 'SIV infection induces accumulation of plasmacytoid dendritic cells in the gut mucosa', *Journal of Infectious Diseases*, 206(9), pp. 1462–1468. doi:10.1093/infdis/jis408.
- Rhodes, J.W. *et al.* (2021) 'Human anogenital monocyte-derived dendritic cells and langerin+cDC2 are major HIV target cells', *Nature Communications*, 12(1). doi:10.1038/s41467-021-22375-x.
- Rivera, C.A. *et al.* (2022) 'Epithelial colonization by gut dendritic cells promotes their functional diversification', *Immunity*, 55(1), pp. 129–144.e8. doi:10.1016/j.immuni.2021.11.008.
- Robbins, S.H. *et al.* (2008) 'Novel insights into the relationships between dendritic cell subsets in human and mouse revealed by genome-wide expression profiling', *Genome Biology*, 9(1), p. R17. doi:10.1186/gb-2008-9-1-r17.
- Rocha-perugini, V. *et al.* (2017) 'CD81 association with SAMHD1 enhances HIV-1 reverse transcription by increasing dNTP levels', *Nature Microbiology* [Preprint]. doi:10.1038/s41564-017-0019-0.
- Ruffin, N. *et al.* (2019) 'Constitutive Siglec-1 expression confers susceptibility to HIV-1 infection of human dendritic cell precursors', *PNAS*, 116(43), pp. 21685–21693. doi:10.1073/pnas.1911007116.

- Runhong Zhou, A. *et al.* (2020) 'Acute SARS-CoV-2 Infection Impairs Dendritic Cell and T Cell Responses', *Immunity*, 53, pp. 864–877. doi:10.1016/j.immuni.2020.07.026.
- Sabado, R.L. *et al.* (2010) 'Evidence of dysregulation of dendritic cells in primary HIV infection', *Blood*, 116(19), pp. 3839–3852. doi:10.1182/blood-2010-03-273763.An.
- Sacchi, A. *et al.* (2014) 'HIV infection of monocytes-derived dendritic cells inhibits Vc9Vd2 T cells functions', *PLoS ONE*, 9(10). doi:10.1371/journal.pone.0111095.
- Saharia, K.K. and Koup, R.A. (2013) 'T Cell Susceptibility to HIV Influences Outcome of Opportunistic Infections', *Cell*, 155(3), p. 505. doi:10.1016/j.cell.2013.09.045.
- Saichi, M. *et al.* (2021) 'Single-cell RNA sequencing of blood antigen-presenting cells in severe COVID-19 reveals multi-process defects in antiviral immunity', *Nature Cell Biology*, 23(5), pp. 538–551. doi:10.1038/s41556-021-00681-2.
- Sancho, D. and Reis e Sousa, C. (2012) 'Signaling by myeloid C-Type lectin receptors in immunity and homeostasis', *Annual Review of Immunology*, pp. 491–529. doi:10.1146/annurev-immunol-031210-101352.
- Schlitzer, A. *et al.* (2015) 'Identification of cDC1- and cDC2-committed DC progenitors reveals early lineage priming at the common DC progenitor stage in the bone marrow', *Nature Immunology*, 16(7), pp. 718–728. doi:10.1038/ni.3200.
- Schlitzer, A., McGovern, N. and Ginhoux, F. (2015) 'Dendritic cells and monocyte-derived cells: Two complementary and integrated functional systems', *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 41, pp. 9–22. doi:10.1016/j.semcdb.2015.03.011.
- Schütz, F. and Hackstein, H. (2014) 'Identification of novel dendritic cell subset markers in human blood', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 443(2), pp. 453–457. doi:10.1016/j.bbrc.2013.11.112.

- Scott, C.L. *et al.* (2016) 'The transcription factor Zeb2 regulates development of conventional and plasmacytoid DCs by repressing Id2', *Journal of Experimental Medicine*, 213(6), pp. 897–911. doi:10.1084/jem.20151715.
- See, P. *et al.* (2017) 'Mapping the human DC lineage through the integration of high-dimensional techniques', *Science*, 356(6342). doi:10.1126/science.aag3009.
- Segura, E. *et al.* (2012) 'Characterization of resident and migratory dendritic cells in human lymph nodes', *The Journal of Experimental Medicine*, 209(4), pp. 653–660. doi:10.1084/jem.20111457.
- Segura, E. *et al.* (2013) 'Human Inflammatory Dendritic Cells Induce Th17 Cell Differentiation', *Immunity*, 38(2), pp. 336–348. doi:10.1016/j.immuni.2012.10.018.
- Segura, E. and Amigorena, S. (2014) 'Cross-presentation by human dendritic cell subsets', *Immunology Letters*, 158(1–2), pp. 73–78. doi:10.1016/j.imlet.2013.12.001.
- Segura, E., Durand, M. and Amigorena, S. (2013) 'Similar antigen cross-presentation capacity and phagocytic functions in all freshly isolated human lymphoid organ-resident dendritic cells', *Journal of Experimental Medicine*, 210(5), pp. 1035–1047. doi:10.1084/jem.20121103.
- Severa, M. *et al.* (2021) 'Differential plasmacytoid dendritic cell phenotype and type I Interferon response in asymptomatic and severe COVID-19 infection', *PLoS Pathogens*, 17(9). doi:10.1371/journal.ppat.1009878.
- Shankar, P. *et al.* (2000) 'Impaired function of circulating HIV-specific CD8(+) T cells in chronic human immunodeficiency virus infection.', *Blood*, 96(9), pp. 3094–3101.
- Sheppard, P. *et al.* (2003) 'IL-28 , IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R', 4(1), pp. 63–68. doi:10.1038/ni873.

- Shigematsu, H. *et al.* (2004) 'Plasmacytoid dendritic cells activate lymphoid-specific genetic programs irrespective of their cellular origin', *Immunity*, 21(1), pp. 43–53. doi:10.1016/j.immuni.2004.06.011.
- Siegal, F.P. *et al.* (1999) 'The nature of the principal Type 1 interferon-producing cells in human blood', *Science*, 284(5421), pp. 1835–1837. doi:10.1126/science.284.5421.1835.
- Silvin Aymeric *et al.* (2017) 'Constitutive resistance to viral infection in human CD141 + dendritic cells', *Science Immunology*, 2(13), p. eaai8071. doi:10.1126/sciimmunol.aai8071.
- Singh, D.K. *et al.* (2022) 'Myeloid cell interferon responses correlate with clearance of SARS-CoV-2', *Nature Communications*, 13(1). doi:10.1038/s41467-022-28315-7.
- Sittig, S.P. *et al.* (2016) 'A Comparative Study of the T Cell Stimulatory and Polarizing Capacity of Human Primary Blood Dendritic Cell Subsets', *Mediators of Inflammation*, 2016. doi:10.1155/2016/3605643.
- Smed-Sörensen, A. *et al.* (2005) 'Differential Susceptibility to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection of Myeloid and Plasmacytoid Dendritic Cells', *Journal of Virology*, 79(14), pp. 8861–8869. doi:10.1128/jvi.79.14.8861-8869.2005.
- Soumelis, V. *et al.* (2001) 'Depletion of circulating natural type 1 interferon-producing cells in HIV-infected AIDS patients', *Blood*, 98(4), pp. 906–912. doi:10.1182/BLOOD.V98.4.906.
- Sozzani, S. *et al.* (2010) 'Trafficking properties of plasmacytoid dendritic cells in health and disease', *Trends in Immunology*, pp. 270–277. doi:10.1016/j.it.2010.05.004.
- Spina, C.A., Prince, H.E. and Richman, D.D. (1997) 'Preferential replication of HIV-1 in the CD45RO memory cell subset of primary CD4 lymphocytes in vitro', *Journal of Clinical Investigation*, 99(7), pp. 1774–1785. doi:10.1172/JCI119342.

- Steinman, R.M. (1998) 'Dendritic cells and the control of immunity', *Experimental Hematology*, 26(8), p. 681.
- Steinman, R.M. and Cohn, Z.A. (1973) 'Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution.', *The Journal of experimental medicine*, 137(5), pp. 1142–62. doi:10.1084/jem.137.5.1142.
- Stremlau, M., Owens, C.M. and Perron, M.J. (2004) 'The cytoplasmic body component TRIM5 restricts HIV-1 infection in Old World monkeys', *Nature*, 427(February).
- Sugimoto, C. *et al.* (2015) 'Differentiation kinetics of blood monocytes and dendritic cells in macaques: insights to understanding human myeloid cell development', *Journal of Immunology*, 195(4), pp. 1774–1781. doi:10.4049/jimmunol.1500522.Differentiation.
- Tang-Huau, T.L. and Segura, E. (2019) 'Human in vivo-differentiated monocyte-derived dendritic cells', *Seminars in Cell and Developmental Biology*, pp. 44–49. doi:10.1016/j.semcd.2018.02.018.
- Tel, J. *et al.* (2013) 'Human plasmacytoid dendritic cells efficiently cross-present exogenous Ags to CD8+ T cells despite lower Ag uptake than myeloid dendritic cell subsets', *Blood*, 121(3), pp. 459–467. doi:10.1182/blood-2012-06-435644.
- Teleshova, N. *et al.* (2004) 'Short-term Flt3L treatment effectively mobilizes functional macaque dendritic cells', *Journal of Leukocyte Biology*, 75(6), pp. 1102–1110. doi:10.1189/jlb.1103588.
- Tian, X. *et al.* (2015) 'The Upregulation of LAG-3 on T Cells Defines a Subpopulation with Functional Exhaustion and Correlates with Disease Progression in HIV-Infected Subjects', *The Journal of Immunology*, 194(8), pp. 3873–3882. doi:10.4049/jimmunol.1402176.

- Tilton, J.C. *et al.* (2008) 'Human Immunodeficiency Virus Viremia Induces Plasmacytoid Dendritic Cell Activation In Vivo and Diminished Alpha Interferon Production In Vitro', *Journal of Virology*, 82(8), pp. 3997–4006. doi:10.1128/jvi.01545-07.
- Tincati, C., Douek, D.C. and Marchetti, G. (2016) 'Gut barrier structure, mucosal immunity and intestinal microbiota in the pathogenesis and treatment of HIV infection', *AIDS Research and Therapy*, 13(1), pp. 1–11. doi:10.1186/s12981-016-0103-1.
- Tsunetsugu-Yokota, Y. *et al.* (1997) 'Efficient virus transmission from dendritic cells to CD4+ T cells in response to antigen depends on close contact through adhesion molecules', *Virology*, 239(2), pp. 259–268. doi:10.1006/viro.1997.8895.
- Turner, B.G. and Summers, M.F. (1999) 'Structural biology of HIV', *Journal of Molecular Biology*, 285(1), pp. 1–32. doi:10.1006/jmbi.1998.2354.
- Turville, S.G. *et al.* (2002) 'Diversity of receptors binding HIV on dendritic cell subsets', *Nature Immunology*, 3(10), pp. 975–983. doi:10.1038/ni841.
- Ueno, H. *et al.* (2007) *Dendritic cell subsets in health and disease*, *Immunological Reviews*. doi:10.1111/j.1600-065X.2007.00551.x.
- Vansant, G. *et al.* (2020) 'Block-and-lock strategies to cure HIV infection', *Viruses*, 12(1), pp. 1–17. doi:10.3390/v12010084.
- Varanasi, V., Khan, A.A. and Chervonsky, A. V (2014) 'Loss of the death receptor CD95 (Fas) expression by dendritic cells protects from a chronic viral infection', *PNAS*, 111(23), pp. 8559–8564. doi:10.1073/pnas.1401750111.
- Villadangos, J.A. and Young, L. (2008) 'Antigen-Presentation Properties of Plasmacytoid Dendritic Cells', *Immunity*, pp. 352–361. doi:10.1016/j.immuni.2008.09.002.

- Villani, A.C. *et al.* (2017) 'Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors', *Science*, 356(6335). doi:10.1126/science.aah4573.
- Villar, J. and Segura, E. (2020) 'The More, the Merrier: DC3s Join the Human Dendritic Cell Family', *Immunity*, 53(2), pp. 233–235. doi:10.1016/j.immuni.2020.07.014.
- Walker-Sperling, V.E. *et al.* (2017) 'Factors Associated With the Control of Viral Replication and Virologic Breakthrough in a Recently Infected HIV-1 Controller', *EBioMedicine*, 16, pp. 141–149. doi:10.1016/j.ebiom.2017.01.034.
- Waskow, C. *et al.* (2008) 'The receptor tyrosine kinase Flt3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues', *Nature Immunology*, 9(6), pp. 676–683. doi:10.1038/ni.1615.
- Wijewardana, V. *et al.* (2010) 'Early myeloid dendritic cell dysregulation is predictive of disease progression in simian immunodeficiency virus infection', *PLoS Pathogens*, 6(12). doi:10.1371/journal.ppat.1001235.
- Wijewardana, V. *et al.* (2014) 'Accumulation of functionally immature myeloid dendritic cells in lymph nodes of rhesus macaques with acute pathogenic simian immunodeficiency virus infection', *Immunology*, 143(2), pp. 146–154. doi:10.1111/imm.12295.
- Wilen, C.B., Tilton, J.C. and Doms, R.W. (2012) 'HIV: Cell binding and entry', *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(8). doi:10.1101/cshperspect.a006866.
- Wiley, R.D. and Gummuluru, S. (2006) 'Immature dendritic cell-derived exosomes can mediate HIV-1 trans infection', *PNAS*, 103(3), pp. 738–743. doi:10.1073/pnas.0507995103.

- Winheim, E. *et al.* (2021) 'Impaired function and delayed regeneration of dendritic cells in COVID-19', *PLoS Pathogens*. Edited by M. Suthar, 17(10), p. e1009742. doi:10.1371/journal.ppat.1009742.
- De Witte, L. *et al.* (2007) 'Syndecan-3 is a dendritic cell-specific attachment receptor for HIV-1', *PNAS*, 104(49), pp. 19464–19469. doi:10.1073/pnas.0703747104.
- Wong, P. and Iwasaki, A. (2017) 'RAB15 empowers dendritic cells to drive antiviral immunity', *Science Immunology*, 2(13). doi:10.1126/sciimmunol.aan6448.
- Wu, X. *et al.* (2006) 'Proteasome inhibitors uncouple rhesus TRIM5 α restriction of HIV-1 reverse transcription and infection', *PNAS*, 103(19), pp. 7465–7470. doi:10.1073/pnas.0510483103.
- Yonkers, N.L. *et al.* (2011) 'Systemic immune activation in HIV infection is associated with decreased MDC responsiveness to TLR ligand and inability to activate naive CD4 T-cells', *PLoS ONE*, 6(9). doi:10.1371/journal.pone.0023884.
- Yu, H. *et al.* (2015) 'Human BDCA2+CD123+CD56+ dendritic cells (DCs) related to blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm represent a unique myeloid DC subset', *Protein and Cell*, 6(4), pp. 297–306. doi:10.1007/s13238-015-0140-x.
- Zagury, D. *et al.* (1986) 'Long-term cultures of HTLV-III-infected T cells: A model of cytopathology of T-cell depletion in AIDS', *Science*, 231(4740), pp. 850–853. doi:10.1126/science.2418502.
- Zhang, D. *et al.* (2003) 'Most antiviral CD8 T cells during chronic viral infection do not express high levels of perforin and are not directly cytotoxic', *Blood*, 101(1), pp. 226–235. doi:10.1182/blood-2002-03-0791.
- Zhang, H. *et al.* (2017) 'A distinct subset of plasmacytoid dendritic cells induces activation and differentiation of B and T lymphocytes', *PNAS*, 114(8), pp. 1988–1993. doi:10.1073/pnas.1610630114.

- Zheng, Y.-H. *et al.* (2004) 'Human APOBEC3F Is Another Host Factor That Blocks Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication', *Journal of Virology*, 78(11), pp. 6073–6076. doi:10.1128/jvi.78.11.6073-6076.2004.
- Zhu, N. *et al.* (2020) 'A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019', *New England Journal of Medicine*, 382(8), pp. 727–733. doi:10.1056/nejmoa2001017.
- Ziegler-heitbrock, L. *et al.* (2022) 'Reclassifying plasmacytoid dendritic cells as innate lymphocytes', *Nature Reviews Immunology* [Preprint]. doi:10.1038/s41577-022-00806-0.
- Ziegler-Heitbrock, L. *et al.* (2010) 'Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood', *Blood*. doi:10.1182/blood-2010-02-258558.
- Zunt, S.L. *et al.* (2009) 'Soluble forms of Toll-like receptor 4 are present in human saliva and modulate tumour necrosis factor- α secretion by macrophage-like cells', *Clinical and Experimental Immunology*, 156(2), pp. 285–293. doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03854.x.

Annexes

Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors in Regulating the Immune Response in Infectious Diseases: A Window of Opportunity to Pathogen Persistence and a Sound Target in Therapeutics



REVIEW

published: 14 September 2021
doi: 10.3389/fimmu.2021.717998

Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors in Regulating the Immune Response in Infectious Diseases: A Window of Opportunity to Pathogen Persistence and a Sound Target in Therapeutics

OPEN ACCESS

Edited by:

Maria Guadalupe Vizoso Pinto,
CONICET Higher Institute of Biological
Research (INSIBIO), Argentina

Reviewed by:

Rachel Louise Allen,
St George's, University of London,
United Kingdom
Suprabhat Mukherjee,
Kazi Nazrul University, India

*Correspondence:

Florence Abdallah
abdallah.florence@gmail.com
Benoit Favier
benoit.favier@cea.fr

Specialty section:

This article was submitted to
Viral Immunology,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 02 June 2021

Accepted: 25 August 2021

Published: 14 September 2021

Citation:

Abdallah F, Coindre S, Gardet M,
Meurisse F, Naji A, Suganuma N,
Abi-Rached L, Lambotte O and
Favier B (2021) Leukocyte
Immunoglobulin-Like Receptors in
Regulating the Immune Response in
Infectious Diseases: A Window of
Opportunity to Pathogen Persistence
and a Sound Target in Therapeutics.
Front. Immunol. 12:717998.
doi: 10.3389/fimmu.2021.717998

Florence Abdallah^{1*}, Sixtine Coindre¹, Margaux Gardet¹, Florian Meurisse¹,
Abderrahim Naji², Narufumi Suganuma², Laurent Abi-Rached^{3,4},
Olivier Lambotte^{1,5} and Benoit Favier^{1*}

¹ Center for Immunology of Viral, Auto-Immune, Hematological and Bacterial Diseases (IMVA-HB/IDMIT), Université Paris-Saclay, Inserm, CEA, Fontenay-aux-Roses, France, ² Department of Environmental Medicine, Cooperative Medicine Unit, Research and Education Faculty, Medicine Science Cluster, Kochi Medical School, Kochi University, Nankoku-City, Japan, ³ Aix-Marseille University, IRD, APHM, MEPHI, IHU Mediterranean Infection, SNC5039 CNRS, Marseille, France, ⁴ SNC5039 CNRS, Marseille, France, ⁵ Public-Hospital Assistance of Paris, Department of Internal Medicine and Clinical Immunology, Paris-Saclay University Hospital Group, Bicêtre Hospital, Le Kremlin-Bicêtre, France

Immunoregulatory receptors are essential for orchestrating an immune response as well as appropriate inflammation in infectious and non-communicable diseases. Among them, leukocyte immunoglobulin-like receptors (LILRs) consist of activating and inhibitory receptors that play an important role in regulating immune responses modulating the course of disease progression. On the one hand, inhibitory LILRs constitute a safe-guard system that mitigates the inflammatory response, allowing a prompt return to immune homeostasis. On the other hand, because of their unique capacity to attenuate immune responses, pathogens use inhibitory LILRs to evade immune recognition, thus facilitating their persistence within the host. Conversely, the engagement of activating LILRs triggers immune responses and the production of inflammatory mediators to fight microbes. However, their heightened activation could lead to an exacerbated immune response and persistent inflammation with major consequences on disease outcome and autoimmune disorders. Here, we review the genetic organisation, structure and ligands of LILRs as well as their role in regulating the immune response and inflammation. We also discuss the LILR-based strategies that pathogens use to evade immune responses. A better understanding of the contribution of LILRs to host-pathogen interactions is essential to define appropriate treatments to counteract the severity and/or persistence of pathogens in acute and chronic infectious diseases lacking efficient treatments.

Keywords: Leukocyte immunoglobulin-like receptors, immune evasion, immune checkpoint, infectious diseases, auto-immune diseases, virus, parasite, bacteria

INTRODUCTION

The first line of defence against invading pathogen and host injury is the onset of an adequate inflammatory response. Its purpose is to mobilize effector cells and mediators of the immune system to prevent infection while promoting the repair of damaged tissues and reinstatement of immune homeostasis. Although a balanced inflammatory response is required to establish homeostasis, in some instances, infectious pathogens can induce a dysregulation of the immune response, thus resulting in an inappropriate inflammatory response and disease progression (1, 2).

The evolution from a beneficial to a harmful inflammatory response mostly depends on immunoregulatory receptors (3). In this regard, the family of leukocyte immunoglobulin (Ig)-like receptors (LILRs) include inhibitory (LILRB) and activation (LILRA) receptors that play a major role in regulating immune responses and inflammatory processes associated with the control or progression of infectious diseases (4). Indeed, LILRs coordinate the process of inflammation by stimulating or inhibiting immune-cell effector functions that include 1) cell migration, 2) cell proliferation, 3) phagocytosis, 4) cytokine production and secretion, 5) chemical mediator production and secretion and 6) cell death (5).

However, various infectious pathogens including human immunodeficiency virus (HIV), dengue virus, human cytomegalovirus (HCMV), *Mycobacterium tuberculosis*, or *Plasmodium falciparum* have evolved to subvert immunity by targeting LILR functions. In this regard, pathogens can directly produce molecules that bind to specific LILRs or indirectly modulate LILR expression. Herein, we provide a concise overview of the current knowledge of the 1) LILR multigene family members, 2) their cellular distribution from ligand binding to downstream signaling and 3) their immune functions in infectious diseases and beyond. Finally, we emphasize a cutting-edge understanding of how pathogens may take advantage of inhibitory LILRs to evade the immune response, thus leading to disease emergence.

LILR GENE ORGANIZATION AND PLASTICITY

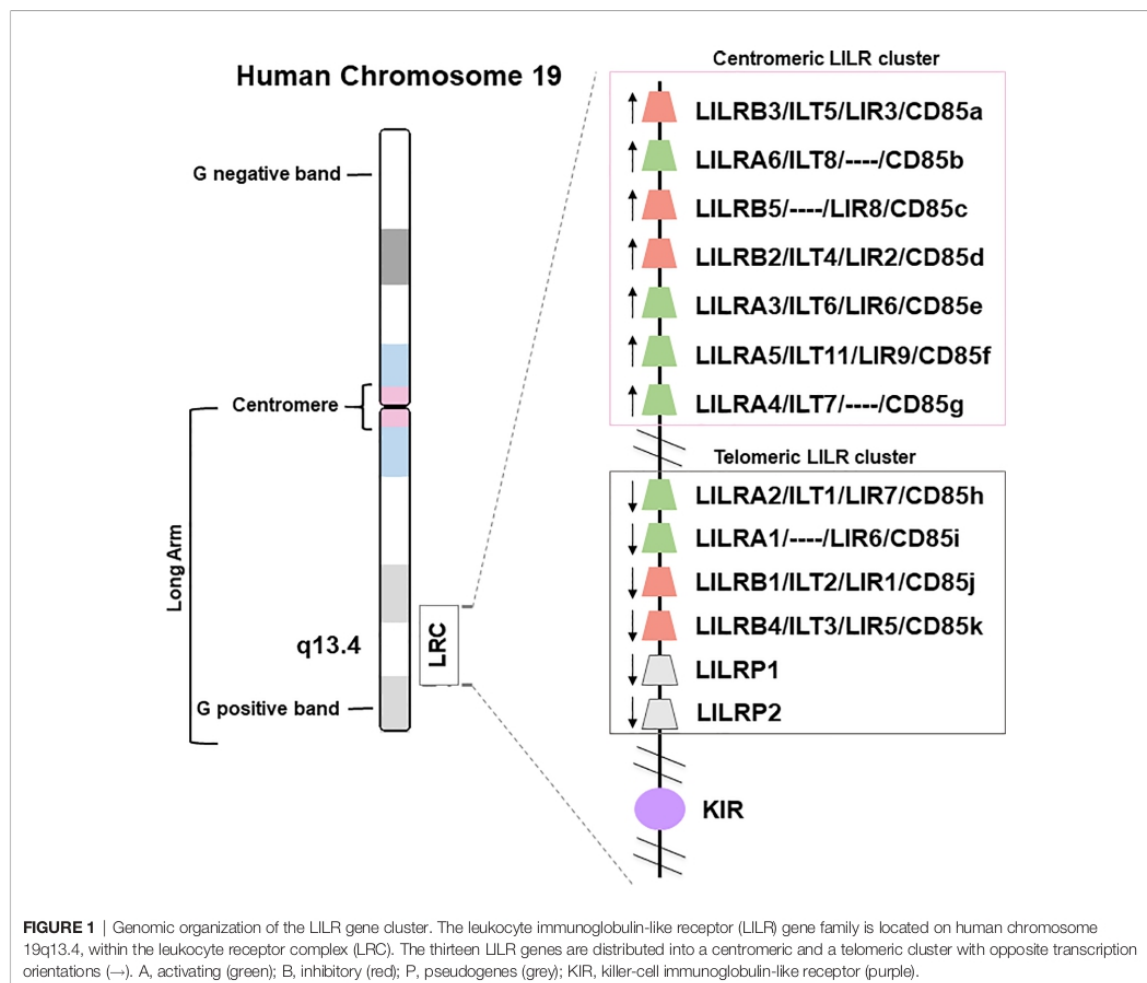
The *LILR* genes are all located on chromosome 19q13.4 in the Leukocyte Receptor Complex (LRC), a genomic region containing several other multigenic families of the innate immune system that belong to the Ig superfamily, such as the killer Ig-like receptors (KIR), the leukocyte-associated Ig-like receptors (LAIRs), and the sialic acid-binding Ig-type lectins (SIGLECs) (Figure 1). LILRs can encode inhibitory or activating receptors (5), and five LILR of each type are characterized: inhibitory receptors use the “B” letter in their names and include LILRB1-B5, while activating receptors use the “A” letter and include LILRA1-A2 and LILRA4-A6. LILRA3 is an exception as it is constitutively soluble due to a lack of exons

encoding the transmembrane and cytoplasmic domains (6). Finally, *LILR* pseudogenes are assigned a “P” letter and include two genes: *LIRP1-P2* (7). These thirteen *LILR* genes are distributed into a centromeric (*LILRA3-A6*, *LILRB2-B3*, *-B5*) and a telomeric (*LILRA1-A2*, *LILRB1*, *-B4*, *LILRP1-P2*) cluster that have opposite transcription orientation and are separated by a cluster of *non-LILR* genes (Figure 1) (8, 9).

While activating and inhibitory LILRs are both highly related at the sequence level (10, 11) and structurally on their extracellular part, with two to four C2-type Ig-like domains, they notably differ in the structure and sequence of the linker domains, transmembrane domain, cytoplasmic tail, and 3'UTR region (12). Indeed, LILRBs possess a long cytoplasmic tail with immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs (ITIM- I/V/L/S-X-Y-X-X-L/V; X = any amino acid) (13, 14). In contrast, LILRAs have a shorter cytoplasmic tail with a positively charged residue (arginine) in the transmembrane domain: the charged residue enables association with an adaptor molecule, the FcRγ chain, which contains immunoreceptor tyrosine-based activation motifs (ITAMs) (10, 15, 16). This combination of structural similarity in the extracellular part and opposite signalling functions for the inhibitory and activating LILR is compatible with an evolution in response to pathogen pressure (17), as was proposed for activating and inhibitory KIR (18).

Consistent with a pathogen-driven evolution, gene families of the LRC such as KIR display a tremendous plasticity between closely related species such as human and chimpanzees (19). Although the same comparison showed a conserved genomic organization for the LILRs, it also revealed evidence of *LILR* gene polymorphism (20). Consistent with this, an increasing number of *LILR* alleles are being described in human populations: 11 for *LILRA3*, 14 for *LILRB3*, and 11 for *LILRA6* (21, 22). This sequence variation can also combine with alternative splicing to create more functional plasticity. Indeed, *LILRs* are highly susceptible to alternative splicing that can create variants that are either membrane-associated or putative soluble LILR (6, 21, 23). This phenomenon is increased in the context of tumors such as melanoma and colorectal and pancreatic adenocarcinoma, which are characterized by soluble LILR overproduction (6, 24).

Another form of plasticity of the LILRs is copy number variation (CNV), a phenomenon described for *LILRA3*, *LILRB3*, and *LILRA6* (22, 25). *LILRB3* and *LILRA6* exhibit CNVs that can be due to sequence deletion, non-allelic homologous recombination or crossing-over between non-allelic sequences. These CNVs positively correlate with mRNA and protein levels and lead to signaling modulation. Of note, despite the high degree of sequence identity between *LILRA6* and *LILRB3*, only the former exhibits CNVs that are positively correlated with the relative *LILRA6/LILRB3* mRNA ratio. Hence *LILRA6* CNVs can alter the expression of *LILRB3* on the myelomonocytic cell surface (25). In this manner, the biological outcome of *LILRB3* engagement is compromised because of an *LILRA6* CNV that disturbs the activating versus inhibitory signaling ratio (25). While genetic analysis of *LILRB3* highlighted high levels of non-synonymous variation and non-allelic homologous recombination, plasticity of *LILRA6* is even



more marked and, in 20 of 48 human cell lines from the International Histocompatibility Working Group, *LILRA6* showed deletion or duplication at exons coding for the extracellular domains (exons 3 to 6) (22).

In addition to *LILRB3* and *LILRA6*, *LILRA3* also displays CNV and gene frequency of functional *LILRA3* differs across populations. Indeed, some individuals have a deficient *LILRA3* because of a large deletion that encompasses the exons coding for the leader peptide and Ig domains (26). This deletion can reach an allele frequency of more than 80% in North-East Asia (maximum of 84% in Korea) but is less common in Europe (~17%) and Africa (~7%) (27). Additionally, a *LILRA3* allele that is non-functional due to a premature stop codon is also prevalent in the same regions of the world, suggesting that *LILRA3* is a target of natural selection in these populations (27, 28).

Ongoing efforts from the scientific community are thus starting to address the extent and functional impact of the diversity of the LILRs, in particular in regard to their

involvement in regulating inflammation and susceptibility to disease. Investigations of the impact of this *LILR* diversity on ligand-binding properties are also ongoing and promise to offer a better understanding of the contribution of natural selection, driven by host-pathogen interactions, to *LILR* plasticity. Hereafter, we give an overview of the growing list of LILR ligands.

LILR ENDOGENOUS AND PATHOGEN-DERIVED LIGANDS

More than 2 decades after the LILR discovery, the identification of their ligands was relatively slow. Some LILRs can recognize several heterogeneous ligands, but others remain as orphan receptors. The multimeric aspects of LILRs can result in several conformational rearrangements, hinge effects, and domain configurations, promoting large-scale binding to

multiple ligands with diverse molecular composition. Moreover, in some pathological conditions, LILR structural properties are modified owing to polymorphism and alternative splicing. These modifications can change the receptor topology by inducing conformational fluctuations at the binding site that alter the nature and stability of the receptor–ligand interaction.

Some LILRs mainly recognize HLA-I ligands with various affinity according to HLA-I alleles but also to the amino acid sequence of the presented peptide (4, 29). Moreover, some LILRs are able to bind to HLA-I molecules that are dissociated from beta-2-microglobulin (B2M) (30). Because of the unique capacity of LILRs to regulate immune responses, some pathogens also produce ligands specifically targeting each LILR. This finding underlines the evolutionary plasticity of the LILR family and highlights the importance of selective pressure along with direct interaction with HLA-I ligands and evasion strategies of pathogens. In this section, we provide a global vision of the expanding spectrum of endogenous and exogenous ligands for LILR receptors (Figure 2).

Native or Self-Ligands

Investigations identified LILRB1 and LILRB2 as receptors for a broad range of classical (HLA-A, HLA-B, HLA-C) and non-classical (HLA-F, HLA-G) HLA-I molecules (Figure 2) (29, 31).

The ability of LILRs to bind this broad range of HLA-I ligands is supported by the conserved regions among HLA-I subtypes and alleles. In addition, this finding evokes the possibility of a parallel evolution of LILRs and their HLA-I ligands. However, the strength of the binding is influenced by several factors including the engaged HLA-I haplotype, the amino acid sequence of the presented antigenic peptide and LILR polymorphism (4, 26, 32, 33). Crystallography studies provided structural evidence for the binding domain of LILRB1 and LILRB2 to HLA-I, and LILR family members were then classified into 2 groups based on their sequence similarity, structural and biophysical characteristics of binding features with HLA-I molecules (11, 30, 34). Group 1 (LILRB1, LILRB2, LILRA1, LILRA2, and LILRA3) has highly conserved binding residues (amino acids) with an HLA-I contact region. In contrast, group 2 (LILRB3, LILRB4, LILRB5, LILRA4, LILRA5, and LILRA6) has poor conservation and was proposed to engage different set of ligands with a different binding mode (34).

The crystal structure of HLA-A2 bound to LILRB1 revealed the conservation of specific residues within the LILRB1 and LILRB2 first 2 Ig-like domains, D1-D2, at the interaction sites with HLA-I- B2M and α 3 domains (34, 35). The crystal structure of LILRB2/HLA-G highlighted significant differences at the binding interface as compared with LILRB1/HLA-A2. LILRB2

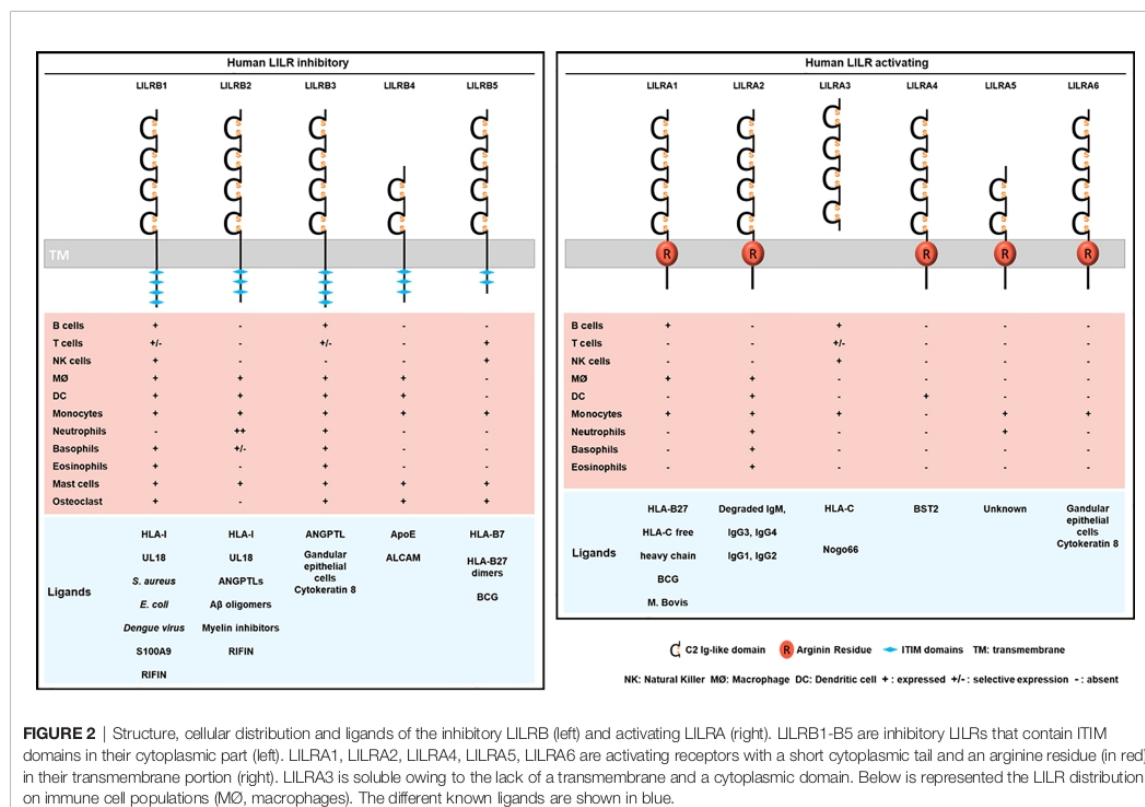


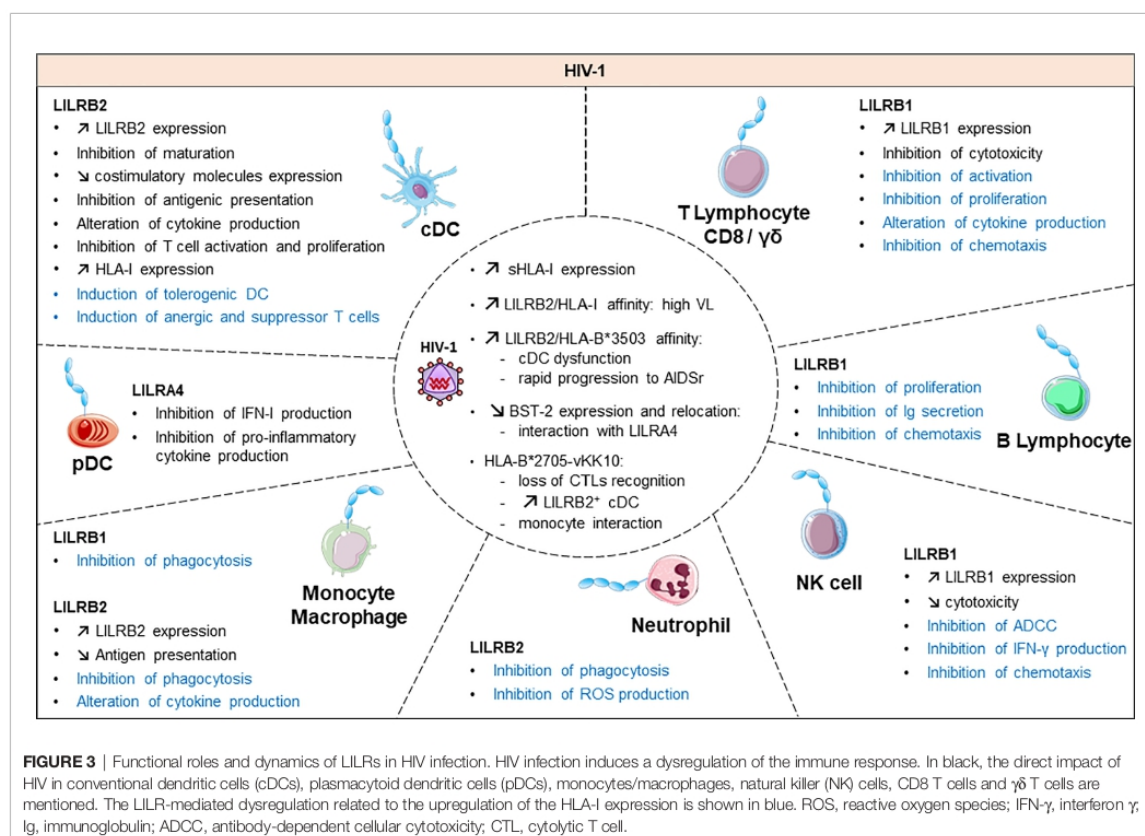
FIGURE 2 | Structure, cellular distribution and ligands of the inhibitory LILRB (left) and activating LILRA (right). LILRB1-B5 are inhibitory LILRs that contain ITIM domains in their cytoplasmic part (left). LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA5, LILRA6 are activating receptors with a short cytoplasmic tail and an arginine residue (in red) in their transmembrane portion (right). LILRA3 is soluble owing to the lack of a transmembrane and a cytoplasmic domain. Below is represented the LILR distribution on immune cell populations (MD, macrophages). The different known ligands are shown in blue.

recognizes HLA-I molecules by relying on a predominant interaction with the $\alpha 3$ domain independent of B2M. Similar observations were reported for LILRA1 and LILRA3 (29, 36). LILRB1 can only recognize HLA-I molecules associated with B2M, which indicates distinct recognition patterns between LILRB1 and LILRB2 (29, 37, 38). More recently, 2 alternative models have been proposed, including the 4 Immunoglobulin-like domains (D1-D2-D3-D4), and taking into consideration the impact of HLA-I polymorphisms as well as the sequence variations in the presented antigenic peptides. The models differ in the orientation and distance of $\alpha 1$ and $\alpha 2$ domains of HLA-I toward D1-D2-D3-D4 domains of LILRB1 and LILRB2, respectively (39). Studies demonstrated a direct interaction between D1-D2 and HLA-I. Surface plasmon resonance approach failed to show a substantial interaction between D3-D4 and HLA-I (31). Yet, recent evidence suggests a potential scaffold role of D3-D4: it ensures conformational changes by bending to allow the binding of D1-D2 with HLA-I via a *trans* interaction (34, 40, 41). In addition to this *trans* coupling, LILRB1 and LILRB2 can associate with HLA-I via *cis* interactions (37–39). This *cis* binding reduces receptor accessibility to a *trans* ligand interaction and thereby modulates the cellular activation threshold (40, 42). LILRA1

and LILRA3 also bind to HLA-I, but their interactions are weaker than their inhibitory counterpart. For instance, LILRA3 presents 1 or 2 amino acid changes in the binding region that results in reduced affinity toward HLA-I as compared with LILRB1 and LILRB2 (29, 36, 37). Like these two inhibitory receptors, LILRA1 was also reported to bind HLA-C and HLA-B27 (29, 37). As mentioned above, *in silico* analysis suggested that LILR group 2 members lack the required amino acid residues for interacting with HLA-I ligands (34). However, LILRB5 was reported to bind HLA-B7 and HLA-B27 free chains (43).

Pathogen-Derived or -Induced Ligands

Besides recognizing HLA-I ligands, the LILR family can also recognize ligands derived directly from pathogens or *via* proteins from stressed cells (Figure 3). In 1997, Cosman and colleagues discovered that UL18, an HLA class I-related protein produced by human CMV, was a new ligand for LILRB1 (44). Then, LILRB2, but not other LILRs, was found to bind UL18 (23). Moreover, LILRB1 is reported to bind to dengue virus, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (45, 46). However, molecules produced by these pathogens that bind to LILRB1 have not been characterized. Recently, LILRB1, was described to



bind to repetitive interspersed families of polypeptides (RIFINs), which are produced by *P. falciparum* in infected erythrocytes (47). In addition, Sakoguchi and colleagues showed that a specific RIFIN could bind to LILRB2 with potential implications in immune evasion mechanisms of *P. falciparum* (48). Besides recognizing HLA-I or pathogen ligands, LILRB2 was found to bind with low affinity to oligomeric and monomeric synthetic amyloid- β (A β) (49) but strongly to A β 42 oligomers via D1-D2 (50).

LILRB3 and LILRA6 can bind to a ligand from necrotic glandular epithelial cells associated with cytokeratin 8 (51). Nevertheless, further investigations are needed to clearly determine the identity of this ligand and the functional consequences of its interaction with LILRB3 or LILRA6. Cancer studies recently revealed 2 ligands of LILRB4: apolipoprotein E and CD166-activated leukocyte cell adhesion molecule (52, 53). LILRB5 could interact with *Bacillus Calmette-Guérin*, an attenuated pathogen of tuberculosis. This finding needs confirmation because it was achieved with a panel of 2B4 reporter cell lines for NFAT-GFP (54). Likewise, LILRA1 could preferentially bind *Bacillus Calmette-Guérin* over a weak interaction with *Mycobacterium bovis* (54). LILRA2 remained an orphan receptor until 2016 when Hirayasu and colleagues discovered accidentally, by *Mycoplasma hyorhinis* contamination of Daudi cells, that degraded IgM strongly associates with LILRA2 (55). This finding shed light on the LILRA2 recognition of distinct cleaved Ig by microbial proteases with stronger binding affinity to IgM, IgG3 and IgG4 than IgG1 and IgG2 (55). Several strategies including signal recognition particle, co-immunoprecipitation and biochemical assays were used to confirm a high-affinity specific and saturable binding of LILRA3 to Nogo 66 (potent inhibitor of axonal regeneration and neurite outgrowth after central nervous system injury) (56). LILRA4 recognizes the restriction factor human bone marrow stromal cell antigen 2 (BST2, also known as tetherin and CD317), which is upregulated in cancer and HIV-infected cells (57). To date, LILRA5 remains an orphan receptor (58).

Even though the discovery of LILR ligands is in constant progress, their characterization is challenging because these ligands present variable expression according to the tissue and physiological state. Moreover, some are produced only during infection by specific pathogens. The ability of certain microbial ligands to directly interact with LILRs provides opportunities for pathogens to orient the immune response in their favour. In response to the ligand association with LILRs, a cascade of conformational changes and downstream signalling is triggered. This situation results in a positive or negative signal depending on the type of engaged LILR. To date, the complete downstream signaling molecules remain poorly characterized. Nevertheless, biochemical studies indicate that ligand binding to LILRB induces a cascade of tyrosine phosphorylation, which provides a docking site for recruiting cytoplasmic phosphatases with Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase 1 (SHP-1) and/or SHP-2 (14, 59). In contrast, LILRA molecules have a short cytoplasmic tail and deliver an activating signal by ITAMs within the Fc γ chain, which are associated with them. The phosphorylation of the ITAM

domain, resulting from LILRA engagement, induces the recruitment and activation of tyrosine kinases such as Syk kinase in myeloid cells and B cells or ZAP-70 in lymphoid T cells (60, 61).

LILR DISTRIBUTION AND FUNCTION

LILR members are mainly found on myeloid lineages such as monocytes, macrophages, neutrophils and dendritic cells (DCs). However, some LILRs are also found on B cells and subsets of natural killer (NK) and T cells. Because of their wide distribution on immune effector cells, LILRs are potent regulators of both the innate and adaptive immune response. Consequently, LILRs modulate an immune response by inducing or controlling inflammation. This section focuses on the current knowledge of LILR distribution and expression on immune cells and how these receptors shape the immune response under the physiological state. The LILR cellular distribution is summarized in **Figure 2**.

In the healthy condition, LILRB1 is expressed on various immune cell subsets including myeloid cells (monocytes, macrophages and DCs), basophils, eosinophils, osteoclast precursors and mast cell progenitors. LILRB1 is also expressed on B cells and subpopulations of CD8, $\gamma\delta$ T cells and NK cells (21, 42, 62, 63). Moreover, LILRB1 is specifically expressed on subsets of memory CD8 T cells and memory NK cells, which suggests a major role in regulating memory immune cytolytic cells (64–66). Functionally, the engagement of LILRB1 on CD8 T cells inhibits super-antigen-dependent cell cytotoxicity upon interaction with HLA-I in antigen-presenting cells (APCs) (21). LILRB1 engagement also impairs B-cell functions including proliferation and antibody production (21, 64, 67). In monocytes, LILRB1 specifically inhibits Fc γ RI-mediated phosphorylation as well as intracellular calcium mobilization (21, 65). In addition, LILRB1 has a central role in immune tolerance for self- vs non-self-signals. For instance, NK cells can distinguish normal healthy cells from abnormal cells via LILRB1 sensing HLA-I molecules. The binding of LILRB1 to HLA-I promotes inhibitory downstream signaling to prevent normal cells lysis by NK cells. The interaction of LILRB1 expressed on NK cells with HLA-G on target cells blocks lytic granule delivery and interferon γ (IFN- γ) production by impairing F-actin polymerization and microtubule-organization center polarization at the immunological synapse (66, 68). Of note, this inhibition of NK cell functions mediated by the LILRB1–HLA-G interaction is independent of lipid raft integrity on tumor cells (69). Furthermore, continuous stimulation of LILRB1 on DCs alters their differentiation programs and their capacity to produce cytokines even after exposure to lipopolysaccharide (70). Similarly, osteoclast differentiation inhibition was mediated by LILRB1 engagement and subsequent SHP-1 recruitment (71). Overall, LILRB1 fine-tunes major cellular and immunological processes by modulating the immune cell activation threshold.

LILRB2 is one of the most well-characterized receptors in the LILR family, with an important physiological role in various

tissues because it interacts with ligands from different origins. Unlike LILRB1, LILRB2 is almost exclusively expressed on myeloid cells (42, 66, 68–70). It is well known for its tolerogenic effect in DCs that impairs CD4⁺ T cell activation (72, 73). Moreover, LILRB2-induced tolerogenic DCs can promote the induction of T regulatory cells (Tregs) (72, 73). A hallmark of LILRB2 is its ability to inhibit signaling pathways induced by different FcRs. In neutrophils, cross-linking FcγRIIa with LILRB2 abolishes the production of reactive oxygen species (ROS), whereas in DCs, it inhibits intracellular calcium mobilization (74–76). In addition, the co-aggregation of LILRB2 with FcγR *in vitro* inhibits monocyte-signaling events *via* SHP-1 recruitment (65). Similarly, LILRB2 transfection of RBL cells (basophilic-derived cell line) blocks serotonin secretion triggered by FcεRI (76). These data highlight the modulatory role of LILRB2 in immune responses induced by FcγR. The constitutive *cis* association between LILRB2 and HLA-I on basophilic cell lines (KU812) ensures self-recognition, so it prevents IgE-mediated allergic responses (42). In addition, LILRB2 engagement with angiopoietin like 2 (ANGPTL2) inhibits the differentiation but not proliferation of hematopoietic stem cells (HSCs) *ex vivo* resulting in their tumoral expansion (77, 78). Moreover, LILRB2 interferes with neural function by binding Nogo66 and inhibiting axonal regeneration (79). Similar to LILRB1, LILRB2 regulates osteoclastogenesis by inhibiting osteoclast differentiation *via* a *cis* interaction with HLA-I (71).

From cell-surface staining and RNA microarray analysis, LILRB3 expression was reported on monocytes and neutrophils, some T cells, osteoclasts and progenitor mast cells. However, the use of antibodies to detect LILRB3 remains challenging because of the high level of sequence homology of the extracellular fragments with LILRA6 (22, 25, 71, 76, 80, 81). LILRB3 function needs to be further characterized. Nevertheless, LILRB3 was demonstrated to antagonize FcεRI or LILRA2-mediated allergy in both IgE-dependent and -independent activation (82). In addition, LILRB3 triggering inhibits osteoclast differentiation, as do LILRB1 and LILRB2 (71). More recently, LILRB3 was reported to act on neutrophils as a potent inhibitor of Fc receptor-mediated effector functions, including ROS production, phagocytosis, and killing of microbes (83). Moreover, LILRB3 was found an important myeloid checkpoint receptor because of its immunosuppressive functions, which inhibit *in vitro* immune responses such as myeloid-induced T cell proliferation (84).

LILRB4 has only 2 extracellular Ig-like domains. Various cell types including myeloid cells, progenitor mast cells, and osteoclasts express LILRB4 (71, 80) (23, 81, 85). LILRB4 blocks intracellular calcium mobilization in monocytes and macrophages upon co-ligation with CD11b, HLA-DR or FcγRIII (86). Similar to LILRB2, LILRB4 can induce immunosuppressive APCs (72, 73, 87).

LILRB4 dephosphorylates TRIM21, which results in Fc receptor-mediated cytokine production and inhibition of clathrin-dependent endocytosis in THP-1 cells (88). More recently, LILRB4 was found to exert dual regulation (positive

or negative) of TNF-α production by THP-1 cells (89). LILRB4 was implicated in immune tolerance to allergens. An increased level of LILRB4 in CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Tregs was associated with their failure to efficiently suppress allergen-specific T helper 2 (Th2) cell responses (90).

LILRB5 is expressed by a variety of immune cells including T cells, monocytes, NK cells, mast cells and osteoclasts (6, 23, 54, 80, 91). Yet, current knowledge about its function is limited. LILRB5 was first described as a membrane-associated molecule, but more recently a soluble form was detected (80). More precisely, LILRB5 is found in mast cell granules and is released to the extracellular milieu when these cells are activated (80). In addition, Hogan and colleagues proposed a role for LILRB5 in modulating a cytotoxic T-cell activation threshold (54). Thus, the identification of a LILRB5 natural ligand would motivate further investigations for better functional characterization and understanding of immune responses and inflammation.

Both LILRA1 and LILRA6 functions remain not well characterized. LILRA1 is found on monocytes, macrophages, and B cells (23, 25, 29, 80). The specific detection of LILRA6 is challenging because of its structural similarity with LILRB3 at the extracellular fragments. LILRA6 expression was demonstrated by RNA microarray analysis in monocytes, cultured macrophages, and osteoclasts (71). Nevertheless, the specificity of RNA microarray detection in this case remains questionable.

LILRA2 is preferentially expressed in the myeloid lineage (monocytes, DCs and macrophages), neutrophils, eosinophils and basophils, which suggests an important role in regulating the innate immune response (10, 11, 23, 82). LILRA2 can detect microbial immune evasion *via* its capacity to sense cleaved Igs by bacterial proteases (55). Yamazaki et al. provided recent insights into the molecular mechanism of LILRA2 recognizing the cleaved Ig that would occur *via* hydrophobic interaction of the LILRA2 D2 domain and exposed hydrophobic surface of N-truncated Ig (92). These findings highlight the molecular mechanisms of LILRA2-mediated inflammation to counteract the altered immune response induced by pathogens. Other studies show that in monocytes, LILRA2 engagement triggers calcium influx as well serotonin release, whereas in basophils, stimulation of LILRA2 results in increased allergic mediators such as histamine, leukotriene and interleukin 4 (IL-4) independent of IgE (82). These functional studies have unraveled the emerging role of LILRA2 as an important mediator of innate immune responses and inflammation involved in host defenses.

LILRA3 is a soluble receptor produced by monocytes, NK, B cells and some T-cell subsets (23, 26, 93). Although the immune functions of LILRA3 remain poorly characterized, it is involved in nervous system plasticity. In this context, LILRA3 acts as a decoy to Nogo66, a negative regulator of axonal regeneration. As well, LILRA3 might be a competitive antagonist with LILRB2 *via* high-affinity interaction with Nogo66 resulting in neurite outgrowth and synapse formation (56).

LILRA4 has a restricted cellular distribution as compared with the other LILR members. So far, it is uniquely found on plasmacytoid dendritic cells (pDCs) (94, 95). LILRA4 expression

is variable depending on the state of pDC activation induced by viral or bacterial stimulation (96). Several pDC-like cell lines derived from CD4⁺CD56⁺ leukemia cells lack LILRA4 expression (96). Although it belongs to the activating family, LILRA4 was mainly reported to have inhibitory functions. In this regard, LILRA4 interacting with BST2 suppresses pDC activation, thus compromising the pDC production of type-I IFNs (57). This negative regulation is induced by the signal adaptor protein FcεRIγ, which forms a complex with LILRA4. The transduced ITAM-mediated signals negatively modulate Toll-like receptor (TLR)-induced type-I IFN production by human pDCs (95).

LILRA5 transcripts are found in several tissues of the hematopoietic system including bone marrow, spleen, lymph node, and peripheral leukocytes, although the protein form of LILRA5 is mostly expressed in monocytes and neutrophils (58, 97). More recently, proteomic studies identified LILRA5-specific peptides in neutrophils of patients with monogenic diseases (98). A soluble form was detected in transfected COS cells (97). In monocytes, LILRA5 stimulation results in intracellular calcium mobilization. Moreover, triggering LILRA5 in monocytes stimulates cytokine production implicated in early stages of inflammatory responses including IL-1β, tumor necrosis factor α (TNF-α) and IL-6, which suggests a modulatory function in inflammatory settings (97). The identification of LILRA5 ligands will be helpful to further delineate its function.

THE INTERPLAY OF LILRS WITH INFECTIOUS PATHOGENS AND INFLAMMATION

Given the major role of LILRs in regulating the immune response, several pathogens target their immunomodulatory functions to escape immunosurveillance. Modulation of LILR activity is directly linked to the inflammatory response induced after viral, bacterial or parasitic infection. In this context, LILRs behave as pathogenic mediators by compromising the immune response and associated inflammation.

LILRs in Viral Infection

Emerging data have revealed the involvement of LILRs in different aspects of HIV-1 disease pathogenesis and progression. **Figure 3** summarizes the implication of LILR in HIV-1 pathogenesis. The LILR expression profile on immune cells varies between individuals who are HIV-positive in the acute phase, the chronic phase, under combination antiretroviral therapy (HIV cART⁺) or in elite controllers who naturally control HIV-1 infection, which suggests an interplay of these receptors in immune responses against HIV (99–102). Long considered a T-cell disease, HIV disease progression is considered to originate from a complex cross-talk between various immune cells, implicating both innate and adaptive immunities. HIV-induced immune activation has double-edged consequences on disease evolution. It first fights the virus by

increasing immune-cell mobilization and modulating immunoregulatory receptors such as LILRs or their ligands, including HLA-I molecules or BST2 (4). However, these defence strategies induce concomitant inflammatory and immunosuppressive responses that can participate in viral persistence. Several studies have provided insights into the functional role of LILR repertoires and HLA-I polymorphisms in HIV disease progression. The framework orientation toward LILR function in HIV-induced pathology started with growing evidence that pointed to a correlation between HLA-I genotype variants and the rate of acquired Immunodeficiency syndrome (AIDS) development (103, 104). In particular, HLA-B27 and B57 were found associated with slow progression and HLA-B35 with rapid progression (103). These results were reinforced by targeted genotyping and whole genome analysis of different clinical cohorts that revealed an important role of the HLA-C locus in HIV disease control (105–110). These HLA-I polymorphisms have a great impact on the binding affinity toward LILRs. Indeed, besides their impact on antigen presentation to cytotoxic T lymphocytes, our understanding of how these HLA-I genetic variants modulate immune responses and HIV progression emerged only a few years ago. Investigations into the role of LILRs in HIV have foreshadowed a functional significance of the binding between HLA-I and LILR molecules during HIV pathogenesis, which is associated with viral replication and immune dysregulation. Hence, this immunomodulatory function of HLA-I mediated by LILR balances the immune response and influences the clinical HIV-1 infection outcome. Ten years ago, Huang and colleagues demonstrated a compromised *ex vivo* DC function in HIV-1-infected carriers as a result of a selective interaction between LILRB2 and the HLA-B*35-Px allele over HLA-B*35-PY (111). Then, they showed that allostimulatory functions of DCs were inhibited by LILRB2 interacting with soluble HLA class I found predominantly in HIV-1-positive plasma (105). The binding affinity to LILRB2 seems to depend on the epitope specificity as sensitive as a single amino acid mutation, as with the HLA-B2705-restricted HIV-1 Gag KK10 epitope (KRWII^LGLNK) with an L-to-M amino acid substitution at position 6 (L6M) (106). Moreover, soluble HLA-G significantly upregulated during HIV infection interacts with LILRB2 on conventional DCs (cDCs), thus resulting in their functional impairment (107, 108).

In line with these observations, our team demonstrated enhanced LILRB2 and HLA-I expression on cDCs in the early stages of HIV and simian immunodeficiency virus infection that could be responsible for early cDC dysfunction and failure of the subsequent adaptive immune response to control viral infection (101). By contrast, the LILRB2/HLA-I axis was decreased in cDCs in a chikungunya model of infection characterized by efficient immune responses and rapid control of viral replication (101, 109). This accumulating evidence indicates that the enhanced expression of LILRB2 and its HLA-I ligands in early HIV-1 infection could be a potent way to inhibit cDC functions leading to improper adaptive immune responses and ultimately to disease progression. In agreement with this hypothesis, the

strength of the LILRB2–HLA-I interaction, modulated by HLA-I haplotypes or HIV-derived peptide, was directly correlated with the level of cDC dysregulation and disease progression in HIV-infected patients (106, 108).

Besides being involved in cDCs, elevated levels of serological IL-10 in HIV-1-positive patients promoted LILRB2 upregulation in CD14⁺ monocytes via the signal transducer and activator of transcription 3 pathway (110).

In contrast to LILRB2, the expression of LILRB1 and LILRB3 was increased in cDCs from elite controllers as compared with HIV-1 progressors or healthy individuals (102). The examination of HIV-1 infected patients revealed an upregulation of LILRB1 on subsets of NK cell subsets (112). Further investigations with an *in vitro* model of NK cells co-cultured with HIV-infected autologous monocyte-derived DCs showed an enhanced capacity of NK cells expressing LILRB1 to control viral replication (113).

Activating LILR members are also emerging relevant actors in HIV infection. LILRA1 and LILRA3 may affect the HIV outcome by binding to HLA-C, known to play a major role in disease control (29, 114). Nevertheless, a recent report linked a 6.7-kb deletion in LILRA3 with increased transmission risk for HIV (115). Moreover, the interaction of LILRA4 with BST2 drives pDC dysregulation in HIV-1 infection characterized by inhibition of type-I IFN production (116). All the progress in the study of LILR function in HIV progression highlights the importance of an equilibrium balance between activating and inhibitory signals to ensure efficient immune responses for preventing HIV viral replication, dissemination and pathogenesis. Yet, further investigations are needed to elucidate the convenient mechanisms at the origin of this LILR dysregulation in HIV infection.

Other viruses, including dengue virus and HCMV, were shown to attenuate inflammation and associated immune responses by targeting LILRB1 inhibitory functions (Figure 4). In this regard, dengue virus manages to shut down the monocyte antiviral defence program by inhibiting IFN-stimulated gene transcription. This inhibition is mediated by dengue virus ligating to LILRB1 and leading to FcγR-mediated early IFN-blocked gene expression, which results in antibody-dependent enhancement and viral replication (45, 117). The ligand interacting with LILRB1 leading to immune response attenuation during dengue virus infection remains to be characterized. By contrast, HCMV modulates the host immune response by expressing UL18 protein, which binds to LILRB1, thus inhibiting immune effector cells. As described above, UL18 has 1000-fold higher affinity to LILRB1 than host HLA-I ligands (31). This finding highlights the strength of a viral protein such as UL18 to compete with host proteins to evade the host immune response.

LILRs in Parasite Infection

Intracellular parasites have evolved mechanisms to inhibit and escape the immune response to ensure their survival in the host. *P. falciparum*, the causative pathogen agent of malaria, uses a family of proteins called RIFINs to dampen immune cell

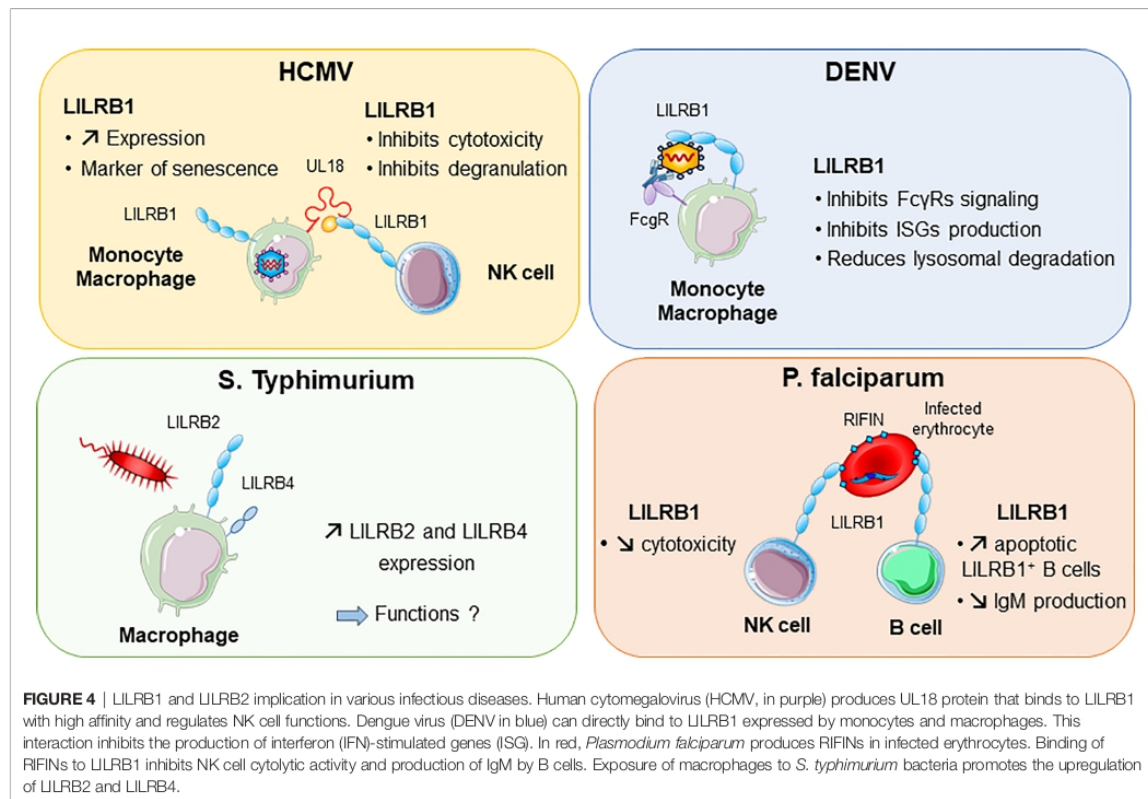
functions and impair anti-malarial immunity (Figure 4). In the blood, *P. falciparum*-infected erythrocytes express RIFINs; a portion of these molecules can bind LILRB1 expressed on a wide range of immune cells including NK and B cells (118). The engagement of LILRB1 by these RIFINs transduces an inhibitory signal that impairs the cytolytic functions of NK cells and inhibits IgM production by primary B cells (47). Hence, *P. falciparum* escapes the host defence by impairing anti-malarial immunity via RIFINs, which mimic the binding mode of the HLA-I host ligands of LILRB1 (47). Similarly, LILRB2 is targeted by RIFIN for immune evasion of *P. falciparum* (48). These findings highlight the importance of further studies on LILRB2 functions in malaria, which could be a potential hit to block disease progression. The parasite *Trypanosoma cruzi* causes Chagas disease. The expression of LILRB1 increases during the differentiation of *T. cruzi*-specific CD4⁺T cells, compromising T-cell functions (119). Moreover, the expression of the LILRB1 ligand HLA-G is increased by *T. brucei gambiense* infection (120). These data suggest a common inhibitory pathway induced by an LILRB1–HLA-G interaction after *Trypanosoma* infection.

LILRs in Bacterial Infection

A modification of the LILRB expression profile was found in several bacterial infections. Moreover, some bacteria were shown to directly bind some LILRs, which underlies their potential implication in the shaping of inflammation and regulation of immune responses in bacterial infection. LILRB2 and LILRB4 were upregulated in response to *Salmonella* infection, which highlights a potential role of these inhibitory receptors in balancing the inflammatory response after invasion by this pathogen (Figure 4) (121). Mycobacteria challenge induces LILRB5 expression in T cells. The purpose of LILRB5 induction could be to initiate an inflammation resolution program by dampening T-cell activation. However, it could also constitute a mechanism induced by *M. tuberculosis* to escape immune recognition (54). Another important emerging role of LILRs is their ability to mediate control of TLR activity in certain bacterial infections. Investigations *in vitro* and in a mouse model provided clues about the ability of LILR and murine PIR-B (a human LILRB distant homolog) to bind in conjunction *S. aureus* and TLR2, thus promoting release of inhibitory cytokines such as IL-10 (46). This LILR-mediated TLR2 inhibition is associated with the Th2 response and impaired DC maturation (122). Moreover, *in vitro* studies indicated that LILRB1 and LILRB3 bind to *S. aureus*, but the consequences of these interactions remain to be characterized (46).

Studies of *Mycobacterium leprae* infection identified the overexpression of LILRA2 in skin lesions of leprosy patients (123). This LILRA2 overexpression exerts innate host defence modifications by driving monocytes to produce IL-10 instead of IL-12 and by inhibiting antimicrobial activity in response to mycobacterial TLR2/1 ligands (123, 124).

However, LILRA2 can promote neutrophil and monocyte activation to inhibit bacterial growth. Indeed, LILRA2 can recognize degraded antibodies generated by bacterial and



fungal proteases including *Mycoplasma hyorhinis*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumonia* and *Candida albicans* (55, 92). The engagement of LILRA2 by cleaved Igs stimulates ROS production by neutrophils and inhibits bacterial multiplication in monocytes (55). Hence, in this case, LILRA2 serves as a microbial sensor that promotes the early onset of innate immunity.

LILRs in Sepsis

Increasing evidence has indicated an interplay between LILRB2 modulation and the host response to sepsis initiated by exacerbated inflammation and followed by immunosuppressive responses. In this regard, transcriptomic analysis showed a significant downregulation of LILRB2 in the very early phase of sepsis that is associated with increased risk of death (125). Another study demonstrated an increased expression of LILRB2 in monocytes during severe sepsis. These LILRB2^{high} monocytes showed low IL-12 but high IL-10 production in response to endotoxin stimulation (126). Moreover, neutrophils from septic patients were unable to upregulate LILRB2 as compared with neutrophils from healthy donors (75). This failure of LILRB2 upregulation on neutrophils may correspond to the immunoparalysis state observed in sepsis patients. LILRB3, LILRB4, LILRA3 and LILRA5 were found highly upregulated in neonatal sepsis (127). This dysregulated profile of LILRs was

proposed to interfere with APC activity and convert effective T cells into suppressive T cells. A recent study showed increased LILRB3 expression on macrophages associated with an immunosuppressive role in septic patients. Accordingly, the silencing of LILRB3 was accompanied by bacterial killing by macrophages along with enhanced ROS and cathelicidin production (128). All these data point to the contribution of LILRs to the dysregulation of immune and inflammatory responses induced during septic shock.

BEYOND INFECTIONS: LILRs IN INFLAMMATION AND AUTOIMMUNITY

Although LILRs have in certain circumstances a beneficial outcome during infections, they may also disrupt the immunologic balance, resulting in persistent inflammation and autoimmunity. In this regard, the key role of LILRs in immune homeostasis places them at the crossroads of tolerance and autoimmune disorders. Quite a few autoimmune diseases are associated with an aberrant expression of LILRs. LILRB2, LILRB3 and LILRA2 were highly upregulated in synovial tissues from rheumatoid arthritis (RA) patients. The engagement of LILRA2 induced an exacerbated production of

TNF- α by macrophages illustrating the potential role of LILRs in the induction of inflammatory processes associated with RA (129). In addition, Kollnberger et al. provided evidence for the contribution of LILRB2 to joint inflammation and disease pathogenesis by HLA-B27 binding in spondylarthritides (130). LILRA3 is also associated with RA severity in early disease (131). Systemic lupus erythematosus (SLE) is another autoimmune condition with modified expression of different LILR members. A recent study reported that LILRA3 amount in both serum and CD14⁺ monocytes were significantly elevated and positively correlated with disease severity in SLE patients (132). Data from humanized mice suggest LILRA3 as a promoter of excessive expression of T follicular helper cells and B cells, which primes the induction and maintenance of plasma cell differentiation and autoantibody production (133). Of note, enhanced expression of LILRB1 was achieved after *ex vivo* IL-10 stimulation of DCs isolated from SLE patients (134). In addition, plasmablasts and plasma cells from SLE patients showed increased expression of LILRB4. Intriguingly, these LILRB4^{high} cells contained abundant anti-double-stranded DNA Ig V_H transcripts, which suggests a contradictory role of this inhibitory receptor as a pathogenic marker. Hence, further studies are needed to elucidate the impact of LILRB4 on SLE pathogenesis (135). Moreover, multiple sclerosis (MS) is considered an autoimmune disease characterized by demyelinating the central nervous system caused in a part by deregulated T-cell response (136). MS patients showed aberrant expression of LILRA3 and LILRB1 that was concomitant with disease severity. Serum levels of LILRA3 were associated with clinical subtype of MS: patients with primary progressive disease had the highest amounts of LILRA3 as compared with those with intermediate progressing disease. In line with this, LILRA3 might play a role in the pathogenesis by promoting chronic inflammation and could be considered a biomarker and indicator of MS severity. Nevertheless, the exact functions of LILRA3 in MS require further exploration (137).

TARGETING LILRS FOR NEXT-GENERATION THERAPEUTICS IN INFECTIOUS DISEASES

The use of immune checkpoint agonists or antagonists for treating certain debilitating human inflammatory diseases has drawn a lot of interest. Particularly, monoclonal antibodies (mAbs) have valuable advantages as pharmacological immune modulators and have been used successfully as immune checkpoint inhibitors both in preclinical and clinical settings, including notably mAbs targeting the CTLA-4, PD-1–PD-L1 axis in chronic infectious diseases (138). Notably, mAbs show high stability and high affinity to their molecules and can be used to activate (agonists) or block (antagonists) the function of the intended target (139). Agonists to LILRA and/or anti-LILRB antagonists that compete with ligand binding without activating LILRB signaling could promote immune responses against

infectious agents. Nonetheless, until now, most preclinical and clinical research has focused on evaluating such therapeutic approaches in the treatment of solid tumors (140, 141). For instance, JTX-8064-101 (Jounce Therapeutics Inc.) is currently in an open-label, dose escalation phase-1 clinical trial (NCT04669899). The trial is designed to evaluate the safety, tolerability, and recommended phase-2 dose of JTX-8064 (anti-LILRB2) alone and in combination with JTX-4014 (anti-PD-1) or pembrolizumab (anti-PD-1) in adults with advanced refractory solid tumors. At the same time, another clinical trial including an anti-LILRB4 antibody (IO-202, Immune-Onc Therapeutics Inc.) is in a clinical phase-1 trial (NCT04372433) to assess its safety and primary effects in regression of solid tumors. Yet, in infectious diseases, although preclinical and clinical research investigated various immune checkpoint targets such as the CTLA-4 and PD-1–PD-L1 axis (138, 142) LILRs as therapeutic targets remain to be properly appraised but represent a strong research premise in intractable infectious diseases. LILR family members provide various possible therapeutic strategies to reverse or enhance the immunity failure for the benefit of patients. As in cancer therapy, next-generation therapeutics in infectious diseases will probably combine an immune checkpoint blockade with a strategy targeting agonists to LILRA and/or antagonists to LILRB receptors. Therefore, clarification and exposition of the fundamental function and mechanism of action of LILRs in infectious diseases is vital for accelerating the development of innovative therapeutics involving LILR agonists and/or antagonists, especially in severe acute or persistent infectious diseases lacking appropriate treatment.

In this regard, plasmodium falciparum, Dengue virus and HCMV in human host are often persistent pathogens taking an advantage in targeting LILRB1 to attenuate immune effector cells and evade immune recognition. The evolution of these pathogens toward the production of their own ligands (e.g. RIFINS or UL18) to trigger LILRB1 inhibitory functions illustrate the important role of this receptor in the control of immune responses. In this context, there is a need to counteract weakened immune responses through LILRB1 inadequate activation that can be otherwise used by pathogens as an efficient mechanism of immune evasion and persistence in the host. Henceforth, therapeutic blockade of LILRB1 with mAbs could exhibit a high potential therapeutically for number of severe infections by thwarting pathogen-derived ligands and thus allowing the host immune responses to resolve the disease and clear the infectious pathogens. Likewise, HIV infection induces dendritic cell dysregulation by exacerbating the LILRB2 inhibitory activity, subsequently leading to inefficient adaptive immune responses and virus replication (105–108, 111). Therefore, the development of preclinical studies using therapeutic anti-LILRB2 mAbs in the setting of HIV infection could provide important information for the design of novel clinical protocols aimed at improving immune responses and blocking disease progression in infected patients.

Up to now, pre-clinical evaluation of LILR-based therapies has been hampered by the lack of clear LILR orthologues in

rodents. Given the high expression of LILRs on various myeloid cell subsets including resident tissue macrophages and granulocytes, existing humanized mice models are as well poorly appropriate to characterize either the toxicity or the efficiency of drugs targeting LILRs. Nonetheless, LILR orthologues have been identified in non-human primates and dynamics of LILRB2 and MHC-I expression have been characterized on dendritic cells, monocytes and macrophages in cynomolgus macaque during SIV or Chikungunya infections (101). Given the close phylogeny and similarities of immune responses between human and macaque during infectious diseases, this pre-clinical model could therefore represent a unique opportunity to study LILR-based therapeutic strategies and accelerate their translational in medicine toward humans suffering severe acute and/or persistent infections.

CONCLUSION

LILRs are essential in maintaining immune homeostasis and in the shaping of immune responses against pathogens. Certain inhibitory LILRs directly interact with endogenous or microbial ligands, and these interactions provide a large window of opportunities to pathogens to evade the immune response. Conversely, some activating LILRs have evolved to detect and avoid immune evasion mechanisms developed by pathogens. A better understanding of the LILR contribution to host–pathogen interactions using adequate *in vivo* models to study the early phase of the immune response to infection, is essential to develop next-generation therapeutics targeting LILRs and intended to counteract virulence and/or persistence of pathogens in severe acute and chronic infectious diseases lacking appropriate treatments.

REFERENCES

- Schulte-Schrepping J, Reusch N, Padlik D, Baffler K, Schlickeiser S, Zhang B, et al. Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell* (2020) 182:1419–40.e23. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.001
- Lowery SA, Sariol A, Perlman S. Innate Immune and Inflammatory Responses to SARS-CoV-2: Implications for COVID-19. *Cell Host Microbe* (2021) 21:1931–3128. doi: 10.1016/j.chom.2021.05.004
- Zhu Y, Yao S, Chen L. Cell Surface Signaling Molecules in the Control of Immune Responses: A Tide Model. *Immunity* (2011) 34:466–78. doi: 10.1016/j.immuni.2011.04.008
- Lichterfeld M, Yu XG. The Emerging Role of Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors (LILRs) in HIV-1 Infection. *J Leukoc Biol* (2012) 91:27–33. doi: 10.1189/jlb.0811442
- Brown D, Trowsdale J, Allen R. The LILR Family: Modulators of Innate and Adaptive Immune Pathways in Health and Disease. *Tissue Antigens* (2004) 64:215–25. doi: 10.1111/j.0001-2815.2004.00290.x
- Jones DC, Roghanian A, Brown DP, Chang C, Allen RL, Trowsdale J, et al. Alternative mRNA Splicing Creates Transcripts Encoding Soluble Proteins From Most LILR Genes. *Eur J Immunol* (2009) 39:3195–206. doi: 10.1002/eji.200839080
- Torkar M, Norgate Z, Colonna M, Trowsdale J, Wilson MJ. Isotypic Variation of Novel Immunoglobulin-Like Transcript/Killer Cell Inhibitory Receptor Loci in the Leukocyte Receptor Complex. *Eur J Immunol* (1998) 28:3959–67. doi: 10.1002/(SICI)1521-4141(199812)28:12<3959::AID-IMMU3959>3.0.CO;2-2
- Wende H, Volz A, Ziegler A. Extensive Gene Duplications and a Large Inversion Characterize the Human Leukocyte Receptor Cluster. *Immunogenetics* (2000) 51:703–13. doi: 10.1007/s002510000187
- Trowsdale J, Jones DC, Barrow AD, Traherne JA. Surveillance of Cell and Tissue Perturbation by Receptors in the LRC. *Immunol Rev* (2015) 267:117–36. doi: 10.1111/imr.12314
- Nakajima H, Samaridis J, Angman L, Colonna M. Human Myeloid Cells Express an Activating ILT Receptor (ILT1) That Associates With Fc Receptor Gamma-Chain. *J Immunol* (1999) 162:5–8.
- Chen Y, Gao F, Chu F, Peng H, Zong L, Liu Y, et al. Crystal Structure of Myeloid Cell Activating Receptor Leukocyte Ig-Like Receptor A2 (LILRA2/ILT1/LIR-7) Domain Swapped Dimer: Molecular Basis for Its Non-Binding to MHC Complexes. *J Mol Biol* (2009) 386:841–53. doi: 10.1016/j.jmb.2009.01.006
- Liu WR, Kim J, Nwankwo C, Ashworth LK, Arm JP. Genomic Organization of the Human Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors Within the Leukocyte Receptor Complex on Chromosome 19q13.4. *Immunogenetics* (2000) 51(8–9):659–69. doi: 10.1007/s002510000183
- Daëron M, Latour S, Malbec O, Espinosa E, Pina P, Pasmans S, et al. The Same Tyrosine-Based Inhibition Motif, In the Intracytoplasmic Domain of Fc Gamma RIIb, Regulates Negatively BCR-, TCR-, and FcR-Dependent Cell Activation. *Immunity* (1995) 3(5):635–46. doi: 10.1016/1074-7613(95)90134-5
- Ravetch JV, Lanier LL. Immune Inhibitory Receptors. *Science* (2000) 290(5489):84–90. doi: 10.1126/science.290.5489.84

AUTHOR CONTRIBUTIONS

FA was in charge of the manuscript conception, writing and drafting. BF supervised, corrected and revised the manuscript. SC designed most of the figures and contributed to revise the manuscript. MG contributed in figure legend writing and manuscript editing. AN contributed in manuscript writing and editing. LA-R, NS, FM, and OL contributed in manuscript editing. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

SC received a Ph.D scholarship from the University Paris Saclay and Sidaction. FM received a Ph.D scholarship from the University Paris Saclay. MG received a Ph.D scholarship from the University Paris Saclay and from ANRS. This manuscript was supported by ANRS, the French government's Investissements d'Avenir program ANR-11-INBS-0008, which funded the Infectious Disease Models and Innovative Therapies infrastructure (IDMIT, Fontenay-aux-Roses, France), and ANR-10-EQPX-02-01, which funded the FlowCyTech facility (IDMIT, Fontenay-aux-Roses, France).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Oscar Haigh for critical reading of the manuscript and tender our apologies to those authors whose deserving research was not cited in this manuscript.

15. Chiesa S, Tomasello E, Vivier E. Coordination of Activating and Inhibitory Signals in Natural Killer Cells. *Mol Immunol* (2005) 42:477–84. doi: 10.1016/j.molimm.2004.07.030
16. Humphrey MB, Lanier LL, Nakamura MC. Role of ITAM-Containing Adapter Proteins and Their Receptors in the Immune System and Bone. *Immunol Rev* (2005) 208:50–65. doi: 10.1111/j.0105-2896.2005.00325.x
17. Barclay AN, Hatherley D. The Counterbalance Theory for Evolution and Function of Paired Receptors. *Immunity* (2008) 29:675–8. doi: 10.1016/j.immuni.2008.10.004
18. Abi-Rached L, Parham P. Natural Selection Drives Recurrent Formation of Activating Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor and Ly49 From Inhibitory Homologues. *J Exp Med* (2005) 201:1319–32. doi: 10.1084/jem.20042558
19. Abi-Rached L, Moesta AK, Rajalingam R, Guethlein LA, Parham P. Human-Specific Evolution and Adaptation Led to Major Qualitative Differences in the Variable Receptors of Human and Chimpanzee Natural Killer Cells. *PLoS Genet* (2010) 6:1–17. doi: 10.1371/journal.pgen.1001192
20. Young NT, Canavez F, Uhrberg M, Shum BP, Parham P. Conserved Organization of the ILT/LIR Gene Family Within the Polymorphic Human Leukocyte Receptor Complex. *Immunogenetics* (2001) 53:270–8. doi: 10.1007/s002510100332
21. Colonna M, Navarro F, Bellón T, Llano M, García P, Samaridis J, et al. López-Botet M. A Common Inhibitory Receptor for Major Histocompatibility Complex Class I Molecules on Human Lymphoid and Myelomonocytic Cells. *J Exp Med* (1997) 186:1809–18. doi: 10.1084/jem.186.11.1809
22. López-Álvarez MR, Jones DC, Jiang W, Traherne JA, Trowsdale J. Copy Number and Nucleotide Variation of the LILR Family of Myelomonocytic Cell Activating and Inhibitory Receptors. *Immunogenetics* (2014) 66:73–83. doi: 10.1007/s00251-013-0742-5
23. Borges L, Hsu ML, Fanger N, Kubin M, Cosman D. A Family of Human Lymphoid and Myeloid Ig-Like Receptors, Some of Which Bind to MHC Class I Molecules. *J Immunol* (1997) 159(11):5192–6.
24. Suciu-Foca N, Feirt N, Zhang Q-Y, Vlad G, Liu Z, Lin H, et al. Soluble Ig-Like Transcript 3 Inhibits Tumor Allograft Rejection in Humanized SCID Mice and T Cell Responses in Cancer Patients. *J Immunol* (2007) 178:7432–41. doi: 10.4049/jimmunol.178.11.7432
25. Bashirova AA, Apps R, Vince N, Mochalova Y, Yu XG, Carrington M. Diversity of the Human LILRB3/A6 Locus Encoding a Myeloid Inhibitory and Activating Receptor Pair. *Immunogenetics* (2014) 66:1–8. doi: 10.1007/s00251-013-0730-9
26. Torkar M, Haude A, Milne S, Beck S, Trowsdale J, Wilson MJ. Arrangement of the ILT Gene Cluster: A Common Null Allele of the ILT6 Gene Results From a 6.7-Kbp Deletion. *Eur J Immunol* (2000) 30:3655–62. doi: 10.1002/1521-4141(200012)30:12<3655::AID-IMMU3655>3.0.CO;2-Y
27. Hirayasu K, Ohashi J, Tanaka H, Kashiwase K, Ogawa A, Takanashi M, et al. Evidence for Natural Selection on Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors for HLA Class I in Northeast Asians. *Am J Hum Genet* (2008) 82:1075–83. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.03.012
28. Hirayasu K, Ohashi J, Kashiwase K, Takanashi M, Satake M, Tokunaga K, et al. Long-Term Persistence of Both Functional and non-Functional Alleles at the Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor A3 (LILRA3) Locus Suggests Balancing Selection. *Hum Genet* (2006) 119:436–43. doi: 10.1007/s00439-006-0152-y
29. Jones DC, Kosmoliaptis V, Apps R, Smith I, Kono A, Chang C, et al. HLA Class I Allelic Sequence and Conformation Regulate Leukocyte Ig-Like Receptor Binding. *J Immunol* (2011) 186:2990–7. doi: 10.4049/jimmunol.1003078
30. Burshtyn DN, Morcos C. The Expanding Spectrum of Ligands for Leukocyte Ig-Like Receptors. *J Immunol* (2016) 196:947–55. doi: 10.4049/jimmunol.1501937
31. Chapman TL, Heikema AP, Bjorkman PJ. The Inhibitory Receptor LIR-1 Uses a Common Binding Interaction to Recognize Class I MHC Molecules and the Viral Homolog U18. *Immunity* (1999) 11:603–13. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80135-1
32. Shiroishi M, Tsumoto K, Amano K, Shirakihara Y, Colonna M, Braud VM, et al. Human Inhibitory Receptors Ig-Like Transcript 2 (ILT2) and ILT4 Compete With CD8 for MHC Class I Binding and Bind Preferentially to HLA-G. *Proc Natl Acad Sci* (2003) 2:8856–61. doi: 10.1073/pnas.1431057100
33. Yu K, Davidson CL, Wójciewicz A, Lisboa L, Wang T, Airo AM, et al. LILRB1 Polymorphisms Influence Posttransplant HCMV Susceptibility and Ligand Interactions. *J Clin Invest* (2018) 128:1523–37. doi: 10.1172/JCI96174
34. Willcox BE, Thomas LM, Bjorkman PJ. Crystal Structure of HLA-A2 Bound to LIR-1, a Host and Viral Major Histocompatibility Complex Receptor. *Nat Immunol* (2003) 4:913–9. doi: 10.1038/ni961
35. Mohammed F, Stones DH, Willcox BE. Application of the Immunoregulatory Receptor LILRB1 as a Crystallisation Chaperone for Human Class I MHC Complexes. *J Immunol Methods* (2019) 464:47–56. doi: 10.1016/j.jim.2018.10.011
36. Ryu M, Chen Y, Qi J, Liu J, Fan Z, Nam G, et al. LILRA3 Binds Both Classical and non-Classical HLA Class I Molecules But With Reduced Affinities Compared to LILRB1/LILRB2: Structural Evidence. *PLoS One* (2011) 6:1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0019245
37. Allen RL, Raine T, Haude A, Trowsdale J, Wilson MJ, Wilson MJ. Cutting Edge: Leukocyte Receptor Complex-Encoded Immunomodulatory Receptors Show Differing Specificity for Alternative HLA-B27 Structures. *J Immunol* (2001) 167:5543–7. doi: 10.4049/jimmunol.167.10.5543
38. Shiroishi M, Kuroki K, Rasubala L, Tsumoto K, Kumagai I, Kurimoto E, et al. Structural Basis for Recognition of the Nonclassical MHC Molecule HLA-G by the Leukocyte Ig-Like Receptor B2 (LILRB2 Lir2-Tlt4-CD85d). *Proc Natl Acad Sci* (2006) 2:16412–7. doi: 10.1073/pnas.0605228103
39. Nam G, Shi Y, Ryu M, Wang Q, Song H, Liu J, et al. Crystal Structures of the Two Membrane-Proximal Ig-Like Domains (D3D4) of LILRB1/B2: Alternative Models for Their Involvement in Peptide-HLA Binding. *Protein Cell* (2013) 4:761–70. doi: 10.1007/s13238-013-3908-x
40. Li NL, Fu L, Uchtenhagen H, Achour A, Burshtyn DN. Cis Association of Leukocyte Ig-Like Receptor 1 With MHC Class I Modulates Accessibility to Antibodies and HCMV U18. *Eur J Immunol* (2013) 43:1042–52. doi: 10.1002/eji.201242607
41. Wang Q, Song H, Cheng H, Qi J, Nam G, Tan S, et al. Structures of the Four Ig-Like Domain LILRB2 and the Four-Domain LILRB1 and HLA-G1 Complex. *Cell Mol Immunol* (2020) 17(9):966–75. doi: 10.1038/s41423-019-0258-5
42. Masuda A, Nakamura A, Maeda T, Sakamoto Y, Takai T. Cis Binding Between Inhibitory Receptors and MHC Class I can Regulate Mast Cell Activation. *J Exp Med* (2007) 204:907–20. doi: 10.1084/jem.20060631
43. Zhang Z, Hatano H, Shaw J, Nordkamp MO, Jiang G, Li D, et al. The Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor Family Member LILRB5 Binds to HLA-Class I Heavy Chains. *PLoS One* (2015) 10:1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0129063
44. Cosman D, Fanger N, Borges L, Kubin M, Chin W, Peterson L, et al. A Novel Immunoglobulin Superfamily Receptor for Cellular and Viral MHC Class I Molecules. (1997) 7(2):273–82. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80529-4
45. Chan KR, Ong EZ, Tan HC, Zhang SL-X, Zhang Q, Tang KF, et al. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor B1 Is Critical for Antibody-Dependent Evasion. *Proc Natl Acad Sci* (2014) 111:2722–7. doi: 10.1073/pnas.1317454111
46. Nakayama M, Underhill DM, Petersen TW, Li B, Kitamura T, Takai T, et al. Paired Ig-Like Receptors Bind to Bacteria and Shape TLR-Mediated Cytokine Production. *J Immunol* (2007) 178:4250–9. doi: 10.4049/jimmunol.178.7.4250
47. Saito F, Hirayasu K, Satoh T, Wang CW, Lusingu J, Arimori T, et al. Immune Evasion of Plasmodium Falciparum by RIFIN via Inhibitory Receptors. *Nature* (2017) 552:101–5. doi: 10.1038/nature24994
48. Sakoguchi A, Saito F, Hirayasu K, Shida K. Biochemical and Biophysical Research Communications Plasmodium Falciparum RIFIN is a Novel Ligand for Inhibitory Immune Receptor LILRB2. *Biochem Biophys Res Commun* (2021) 548:167–73. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.02.033
49. Smith LM, Kostylev MA, Lee S, Strittmatter SM. Systematic and Standardized Comparison of Reported Amyloid- Receptors for Sufficiency, Affinity, and Alzheimer's Disease Relevance. *J Biol Chem* (2019) 294:6042–53. doi: 10.1074/jbc.RA118.006252
50. Kim T, Vidal GS, Djurisic M, William CM, Birnbaum ME, Garcia C, et al. HumanLILRB2Isa B-Amyloid Receptor and Its Murine Homolog PirB

- Regulates Synaptic Plasticity in an Alzheimer's Model. *Science* (2013) 341 (6152):1399–404. doi: 10.1126/science.1242077
51. Jones DC, Hewitt CRA, López-Álvarez MR, Jahnke M, Russell AI, Radjabova V, et al. Allele-Specific Recognition by LILRB3 and LILRA6 of a Cytokeratin 8 - Associated Ligand on Necrotic Glandular Epithelial Cells. *Oncotarget* (2016) 7:15618–31. doi: 10.18632/oncotarget.6905
 52. Deng M, Gui X, Kim J, Xie L, Chen W, Li Z, et al. LILRB4 Signalling in Leukaemia Cells Mediates T Cell Suppression and Tumour Infiltration. *Nature* (2018) 562:605–9. doi: 10.1038/s41586-018-0615-z
 53. Xu Z, Chang C-C, Li M, Zhang Q-Y, Vasilescu E-RM, D'Agati V, et al. ILT3.Fc-CD166 Interaction Induces Inactivation of P70 S6 Kinase and Inhibits Tumor Cell Growth. *J Immunol* (2018) 200:1207–19. doi: 10.4049/jimmunol.1700553
 54. Hogan LE, Jones DC, Allen RL. Expression of the Innate Immune Receptor LILRB5 on Monocytes Is Associated With Mycobacteria Exposure. *Sci Rep* (2016) 6:1–14. doi: 10.1038/srep21780
 55. Hirayasu K, Saito F, Suenaga T, Shida K, Arase N, Oikawa K, et al. Microbially Cleaved Immunoglobulins are Sensed by the Innate Immune Receptor LILRA2. *Nat Microbiol* (2016) 1(6):16054. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.54
 56. An H, Brettell M, Lee T, Heng B, Lim CK, Guillemain GJ, et al. Soluble LILRA3 Promotes Neurite Outgrowth and Synapses Formation Through a High-Affinity Interaction With Nogo 66. *J Cell Sci* (2016) 129:1198–209. doi: 10.1242/jcs.182006
 57. Cao W, Bover L, Cho M, Wen X, Hanabuchi S, Bao M, et al. Regulation of TLR7/9 Responses in Plasmacytoid Dendritic Cells by BST2 and ILT7 Receptor Interaction. *J Exp Med* (2009) 206:1603–14. doi: 10.1084/jem.20090547
 58. Shiroishi M, Kajikawa M, Kuroki K, Ose T, Kohda D, Maenaka K. Crystal Structure of the Human Monocyte-Activating Receptor, "Group 2" Leukocyte Ig-Like Receptor A5 (Lilra5/Lir9/Ilt11). *J Biol Chem* (2006) 281:19536–44. doi: 10.1074/jbc.M603076200
 59. Burshtyn DN, Long EO. Regulation Through Inhibitory Receptors: Lessons From Natural Killer Cells. *Trends Cell Biol* (1997) 7:473–9. doi: 10.1016/S0962-8924(97)0167-7
 60. Martin AM, Kulski JK, Witt C, Pontarotti P, Christiansen FT. Leukocyte Ig-Like Receptor Complex (LRC) in Mice and Men. *Trends Immunol* (2002) 23:81–8. doi: 10.1016/S1471-4906(01)02155-X
 61. Ivashkiv LB. Cross-Regulation of Signaling by ITAM-Associated Receptors. *Nat Immunol* (2009) 10:340–7. doi: 10.1038/ni.1706
 62. Wagtmann N, Rojo S, Eichler E, Mohrenweiser H, Long EO. A New Human Gene Complex Encoding the Killer Cell Inhibitory Receptors and Related Monocyte/Macrophage Receptors. *Curr Biol* (2004) 14:7615–8. doi: 10.1016/S0960-9822(04)00263-6
 63. Lesport E, Baudhuin J, Sousa S, LeMaout J, Zamborini A, Rouas-Freiss N, et al. Inhibition of Human Vγ9vδ2 T-Cell Antitumoral Activity Through HLA-G: Implications for Immunotherapy of Cancer. *Cell Mol Life Sci* (2011) 68:3385–99. doi: 10.1007/s00018-011-0632-7
 64. Naji A, Menier C, Maki G, Carosella ED, Rouas-Freiss N. Neoplastic B-Cell Growth is Impaired by HLA-G/ILT2 Interaction. *Leukemia* (2012) 26:1889–92. doi: 10.1038/leu.2012.62
 65. Fanger NA, Cosman D, Peterson L, Braddy SC, Maliszewski CR, Borges L. The MHC Class I Binding Proteins LIR-1 and LIR-2 Inhibit Fc Receptor-Mediated Signaling in Monocytes. *Eur J Immunol* (1998) 28:3423–34. doi: 10.1002/(SICI)1521-4141(199811)28:11<3423::AID-IMMU3423>3.0.CO;2-2
 66. Lesporta E, Baudhuina J, Le Maout J, Sousa S, Doliger C, Carosellaa ED, et al. Human Melanoma Cell Sequestering Human Leukocyte Antigen-G5 Inhibit Natural Killer Cell Cytotoxicity by Impairing Lytic Granules Polarization Toward Target Cell. *Hum Immunol* (2009) 70:1000–5. doi: 10.1016/j.humimm.2009.07.019
 67. Naji A, Menier C, Morandi F, Agaugué S, Maki G, Ferretti E, et al. Binding of HLA-G to ITIM-Bearing Ig-Like Transcript 2 Receptor Suppresses B Cell Responses. *J Immunol* (2014) 192:1536–46. doi: 10.4049/jimmunol.1300438
 68. Favier B, LeMaout J, Lesport E, Carosella ED. ILT2/HLA-G Interaction Impairs NK-Cell Functions Through the Inhibition of the Late But Not the Early Events of the NK-Cell Activating Synapse. *FASEB J* (2009) 24:689–99. doi: 10.1096/fj.09-135194
 69. Baudhuin J, Lesport E, Sousa S, Migraine J, Vigneron J, Lemaout J, et al. HLA-G Inhibition of NK-Cell Cytolytic Function Is Uncoupled From Tumor Cell Lipid Raft Reorganization. *Eur J Immunol* (2012) 42:700–9. doi: 10.1002/eji.201141930
 70. Young NT, Waller ECP, Patel R, Roghanian A, Austyn JM, Trowsdale J. The Inhibitory Receptor LILRB1 Modulates the Differentiation and Regulatory Potential of Human Dendritic Cells. *Blood* (2008) 111:3090–6. doi: 10.1182/blood-2007-05-089771
 71. Mori Y, Tsuji S, Inui M, Sakamoto Y, Endo S, Ito Y, et al. Inhibitory Immunoglobulin-Like Receptors LILRB and PIR-B Negatively Regulate Osteoclast Development. *J Immunol* (2008) 181:4742–51. doi: 10.4049/jimmunol.181.7.4742
 72. Chang CC, Ciubotariu R, Manavalan JS, Yuan J, Colovai AI, Piazza F, et al. Tolerization of Dendritic Cells by Ts Cells: The Crucial Role of Inhibitory Receptors ILT3 and ILT4. *Nat Immunol* (2002) 3:237–43. doi: 10.1038/ni760
 73. Manavalan JS, Rossi PC, Vlad G, Piazza F, Yarlina A, Cortesini R, et al. High Expression of ILT3 and ILT4 is a General Feature of Tolerogenic Dendritic Cells. *Transpl Immunol* (2003) 11:245–58. doi: 10.1016/S0966-3274(03)00058-3
 74. Favier B. Regulation of Neutrophil Functions Through Inhibitory Receptors: An Emerging Paradigm in Health and Disease. *Immunol Rev* (2016) 273:140–55. doi: 10.1111/imr.12457
 75. Baudhuin J, Migraine J, Faivre V, Loumagne L, Lukaszewicz A-C, Payen D, et al. Exocytosis Acts as a Modulator of the ILT4-Mediated Inhibition of Neutrophil Functions. *Proc Natl Acad Sci USA* (2013) 110:17957–62. doi: 10.1073/pnas.1221535110
 76. Colonna M, Samaridis J, Cella M, Angman L, Allen RL, O'Callaghan CA, et al. Human Myelomonocytic Cells Express an Inhibitory Receptor for Classical and Nonclassical MHC Class I Molecules. *J Immunol* (1998) 160 (7):3096–100.
 77. Zheng J, Umikawa M, Cui C, Li J, Chen X, Zhang C, et al. Inhibitory Receptors Bind ANGPTLs and Support Blood Stem Cells and Leukaemia Development. *Nature* (2012) 485:656–60. doi: 10.1038/nature11095
 78. Deng M, Lu Z, Zheng J, Wan X, Chen X, Hirayasu K, et al. A Motif in LILRB2 Critical for Angptl2 Binding and Activation. *Blood* (2014) 124:924–35. doi: 10.1182/blood-2014-01-549162
 79. Takeda K, Nakamura A. Regulation of Immune and Neural Function via Leukocyte Ig-Like Receptors. *J Biochem* (2017) 162:73–80. doi: 10.1093/jb/mvx036
 80. Tedla N, Lee C-W, Borges L, Geczy CL, Arm JP. Differential Expression of Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors on Cord Blood-Derived Human Mast Cell Progenitors and Mature Mast Cells. *J Leukoc Biol* (2008) 83:334–43. doi: 10.1189/jlb.0507314
 81. Colonna M, Nakajima H, Navarro F, López-Botet M. A Novel Family of Ig-Like Receptors for HLA Class I Molecules That Modulate Function of Lymphoid and Myeloid Cells. *J Leukoc Biol* (1999) 66:375–81. doi: 10.1002/jlb.66.3.375
 82. Arm JP, Sloane DE, Tedla N, Awoniyi M, MacGlashan DW, Borges L, et al. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors: Novel Innate Receptors for Human Basophil Activation and Inhibition. *Blood* (2004) 104:2832–9. doi: 10.1182/blood-2004-01-0268
 83. Zhao Y, van Woudenberg E, Zhu J, Heck AJR, van Kessel KPM, de Haas CJC, et al. The Orphan Immune Receptor LILRB3 Modulates Fc Receptor-Mediated Functions of Neutrophils. *J Immunol* (2020) 204:954–66. doi: 10.4049/jimmunol.1900852
 84. Yeboah M, Papageorgiou C, Des CJ, Claude Chan HT, Hu G, McPartlan JS, et al. LILRB3 (ILT5) is a Myeloid Cell Checkpoint That Elicits Profound Immunomodulation. *JCI Insight* (2020) 5(18):e141593. doi: 10.1172/JCI.INSIGHT.141593
 85. Manavalan JS, Kim-Schulze S, Scotto L, Naiyer AJ, Vlad G, Colombo PC, et al. Alloantigen Specific CD8+CD28– FOXP3+ T Suppressor Cells Induce ILT3+ ILT4+ Tolerogenic Endothelial Cells, Inhibiting Alloreactivity. *Int Immunol* (2004) 16:1055–68. doi: 10.1093/intimm/dxh107
 86. Cella M, Döhning C, Samaridis J, Dessing M, Brockhaus M, Lanzavecchia A, et al. A Novel Inhibitory Receptor (ILT3) Expressed on Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells Involved in Antigen Processing. *J Exp Med* (1997) 185:1743–51. doi: 10.1084/jem.185.10.1743

87. Cheng H, Mohammed F, Nam G, Chen Y, Qi J, Garner LI, et al. Crystal Structure of Leukocyte Ig-Like Receptor LILRB4 (ILT3/LIR-5/CD85k): A Myeloid Inhibitory Receptor Involved in Immune Tolerance. *J Biol Chem* (2011) 286:18013–25. doi: 10.1074/jbc.M111.221028
88. Park M, Raftery MJ, Thomas PS, Geczy CL, Bryant K, Tedla N. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor B4 Regulates Key Signalling Molecules Involved in FcγRI-Mediated Clathrin-Dependent Endocytosis and Phagocytosis. *Sci Rep* (2016) 6:35085. doi: 10.1038/srep35085
89. Park M, Liu RW, An H, Geczy CL, Thomas PS, Tedla N. A Dual Positive and Negative Regulation of Monocyte Activation by Leukocyte Ig-Like Receptor B4 Depends on the Position of the Tyrosine Residues in its ITIMs. *Innate Immun* (2017) 23:381–91. doi: 10.1177/1753425917699465
90. Boonpiyathad T, Sokolowska M, Morita H, Rückert B, Kast JI, Wawrzyniak M, et al. Der P 1-Specific Regulatory T-Cell Response During House Dust Mite Allergen Immunotherapy. *Allergy* (2019) 74:976–85. doi: 10.1111/all.13684
91. Zhang J, Mai S, Chen H-M, Kang K, Li XC, Chen S-H, et al. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors in Human Diseases: An Overview of Their Distribution, Function, and Potential Application for Immunotherapies. *J Leukoc Biol* (2017) 102:351–60. doi: 10.1189/jlb.5mr1216-534r
92. Yamazaki R, Furukawa A, Hirayasu K, Yumoto K, Fukuhara H, Arase H, et al. Molecular Mechanism of the Recognition of Bacterially Cleaved Immunoglobulin by the Immune Regulatory Receptor LILRA2. *J Biol Chem* (2020) 295:9531–41. doi: 10.1074/jbc.RA120.013354
93. Borges L, Cosman D. LIRs/ILTs/MIRs, Inhibitory and Stimulatory Ig-Superfamily Receptors Expressed in Myeloid and Lymphoid Cells. *Cytokine Growth Factor Rev* (2000) 11:209–17. doi: 10.1016/S1359-6101(00)00007-1
94. Rissoan MC, Duhen T, Bridon JM, Bendriss-Vermare N, Péronne C, De Saint Vis B, et al. Subtractive Hybridization Reveals the Expression of Immunoglobulinlike Transcript 7, Eph-B1, Granzyme B, and 3 Novel Transcripts in Human Plasmacytoid Dendritic Cells. *Blood* (2002) 100:3295–303. doi: 10.1182/blood-2002-02-0638
95. Cao W, Rosen DB, Ito T, Bover L, Bao M, Watanabe G, et al. Plasmacytoid Dendritic Cell-Specific Receptor ILT7-FcγRI Inhibits Toll-Like Receptor-Induced Interferon Production. *J Exp Med* (2006) 203:1399–405. doi: 10.1084/jem.20052454
96. Cho M, Ishida K, Chen J, Ohkawa J, Chen W, Namiki S, et al. SAGE Library Screening Reveals ILT7 as a Specific Plasmacytoid Dendritic Cell Marker That Regulates Type I IFN Production. *Int Immunol* (2008) 20:155–64. doi: 10.1093/intimm/dxm127
97. Borges L, Kubin M, Kuhlman T. LIR9, an Immunoglobulin-Superfamily-Activating Receptor, Is Expressed as a Transmembrane and as a Secreted Molecule. *Blood* (2003) 101:1484–6. doi: 10.1182/blood-2002-05-1432
98. Grabowski P, Hesse S, Hollizeck S, Rohlf M, Behrends U, Sherkat R, et al. Proteome Analysis of Human Neutrophil Granulocytes From Patients With Monogenic Disease Using Data-Independent Acquisition. *Mol Cell Proteomics* (2019) 18:760–72. doi: 10.1074/mcp.RA118.001141
99. Coindre S, Tchitchek N, Alaoui L, Vaslin B, Bourgeois C, Goujard C, et al. Mass Cytometry Analysis Reveals the Landscape and Dynamics of CD32a+ CD4+ T Cells From Early HIV Infection to Effective cART. *Front Immunol* (2018) 9:1217. doi: 10.3389/fimmu.2018.01217
100. Coindre S, Tchitchek N, Alaoui L, Vaslin B, Bourgeois C, Goujard C, et al. Mass Cytometry Analysis Reveals Complex Cell-State Modifications of Blood Myeloid Cells During HIV Infection. *Front Immunol* (2019) 10:2677. doi: 10.3389/fimmu.2019.02677
101. Alaoui L, Palomino G, Zurawski S, Zurawski G, Coindre S, Dereuddre-Bosquet N, et al. Early SIV and HIV Infection Promotes the LILRB2/MHC-I Inhibitory Axis in cDCs. *Cell Mol Life Sci* (2018) 75:1871–87. doi: 10.1007/s00018-017-2712-9
102. Huang J, Burke PS, Cung TDH, Pereyra F, Toth I, Walker BD, et al. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors Maintain Unique Antigen-Presenting Properties of Circulating Myeloid Dendritic Cells in HIV-1-Infected Elite Controllers. *J Virol* (2010) 84:9463–71. doi: 10.1128/jvi.01009-10
103. Kaslow RA, Carrington M, Apple R, Park L, Muñoz A, Saah AJ, et al. Influence of Combinations of Human Major Histocompatibility Complex Genes on the Course of HIV-1 Infection. *Nat Med* (1996) 2:405–11. doi: 10.1038/nm0496-405
104. Carrington M, O'Brien SJ. The Influence of HLA Genotype on AIDS. *Annu Rev Med* (2003) 54:535–51. doi: 10.1146/annurev.med.54.101601.152346
105. Huang J, Al-Mozaini M, Rogich J, Carrington MF, Seiss K, Pereyra F, et al. Systemic Inhibition of Myeloid Dendritic Cells by Circulating HLA Class I Molecules in HIV-1 Infection. *Retrovirology* (2012) 9:1–8. doi: 10.1186/1742-4690-9-11
106. Lichterfeld M, Kavanagh DG, Williams KL, Moza B, Mui SK, Miura T, et al. A Viral CTL Escape Mutation Leading to Immunoglobulin-Like Transcript 4 - Mediated Functional Inhibition of Myelomonocytic Cells. *J Exp Med* (2007) 204:2813–24. doi: 10.1084/jem.20061865
107. Huang J, Burke P, Yang Y, Seiss K, Beamon J, Cung T, et al. Soluble HLA-G Inhibits Myeloid Dendritic Cell Function in HIV-1 Infection by Interacting With Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor B2. *J Virol* (2010) 84:10784–91. doi: 10.1128/jvi.01292-10
108. Bashirova AA, Martin-Gayo E, Jones DC, Qi Y, Apps R, Gao X, et al. LILRB2 Interaction With HLA Class I Correlates With Control of HIV-1 Infection. *PLoS Genet* (2014) 10:e1004196. doi: 10.1371/journal.pgen.1004196
109. Labadie K, Larcher T, Joubert C, Mannioui A, Delache B, Brochard P, et al. Chikungunya Disease in Nonhuman Primates Involves Long-Term Viral Persistence in Macrophages. *J Clin Invest* (2010) 120:894–906. doi: 10.1172/JCI40104
110. Vlad G, Piazza F, Colovai A, Cortesini R, Della Pietra F, Suciu-Foca N, et al. Interleukin-10 Induces the Upregulation of the Inhibitory Receptor ILT4 in Monocytes From HIV Positive Individuals. *Hum Immunol* (2003) 64:483–9. doi: 10.1016/S0198-8859(03)00040-5
111. Huang J, Goedert JJ, Sundberg EJ, Cung TDH, Burke PS, Martin MP, et al. HLA-B*35-Px-Mediated Acceleration of HIV-1 Infection by Increased Inhibitory Immunoregulatory Impulses. *J Exp Med* (2009) 206:2959–66. doi: 10.1084/jem.20091386
112. O'Connor GM, Holmes A, Mulcahy F, Gardiner CM. Natural Killer Cells From Long-Term non-Progressor HIV Patients are Characterized by Altered Phenotype and Function. *Clin Immunol* (2007) 124:277–83. doi: 10.1016/j.clim.2007.05.016
113. Scott-Algara D, Arnold V, Didier C, Kattan T, Pirozzi G, Barré-Sinoussi F, et al. The CD85j+ NK Cell Subset Potently Controls HIV-1 Replication in Autologous Dendritic Cells. *PLoS One* (2008) 3(4):e1975. doi: 10.1371/journal.pone.0001975
114. Pezzulo AA, Tang XX, Hoegger MJ, Alaiwa MHA, Ramachandran S, Moninger TO, et al. HLA-C Cell Surface Expression and Control of HIV/AIDS Correlate With a Variant Upstream of HLA-C. *Nat Genet* (2013) 45:109–13. doi: 10.1038/nature11130
115. Ahrenstorff G, Low HZ, Kniesch K, Ordóñez D, Meyer-Olson D, Ahmad F, et al. LILRA3 Deletion Is a Genetic Risk Factor of HIV Infection. *Aids* (2017) 31:25–34. doi: 10.1097/QAD.0000000000001304
116. Benlahrech A, Yasmin A, Westrop SJ, Coleman A, Herasimtschuk A, Page E, et al. Dysregulated Immunophenotypic Attributes of Plasmacytoid But Not Myeloid Dendritic Cells in HIV-1 Infected Individuals in the Absence of Highly Active Anti-Retroviral Therapy. *Clin Exp Immunol* (2012) 170:212–21. doi: 10.1111/j.1365-2249.2012.04647.x
117. Nimmerjahn F, Lux A. LILR-B1 Blocks Activating FcγR Signaling to Allow Antibody Dependent Enhancement of Dengue Virus Infection. *Proc Natl Acad Sci USA* (2014) 111:2404–5. doi: 10.1073/pnas.1324286111
118. Harrison TE, Morch AM, Felce JH, Sakoguchi A, Reid AJ, Arase H, et al. Structural Basis for RIFIN-Mediated Activation of LILRB1 in Malaria. *Nature* (2020) 587:309–12. doi: 10.1038/s41586-020-2530-3
119. Argüello RJ, Albareda MC, Alvarez MG, Bertocchi G, Armentia AH, Vigliano C, et al. Inhibitory Receptors are Expressed by Trypanosoma Cruzi-Specific Effector T Cells and in Hearts of Subjects With Chronic Chagas Disease. *PLoS One* (2012) 7(5):e35966. doi: 10.1371/journal.pone.0035966
120. Gineau L, Courtin D, Camara M, Ilboudo H, Jamonneau V, Dias FC, et al. Human Leukocyte Antigen-G: A Promising Prognostic Marker of Disease Progression to Improve the Control of Human African Trypanosomiasis. *Clin Infect Dis* (2016) 63:1189–97. doi: 10.1093/cid/ciw505
121. Brown DP, Jones DC, Anderson KJ, Lapaque N, Buerki RA, Trowsdale J, et al. The Inhibitory Receptor LILRB4 (ILT3) Modulates Antigen Presenting

- Cell Phenotype and, Along With LILRB2 (ILT4), is Upregulated in Response to Salmonella Infection. *BMC Immunol* (2009) 10:56. doi: 10.1186/1471-2172-10-56
122. Ujike A, Takeda K, Nakamura A, Ebihara S, Akiyama K, Takai T. Impaired Dendritic Cell Maturation and Increased TH2 Responses in PIR-B^{-/-} Mice. *Nat Immunol* (2002) 3:542–8. doi: 10.1038/ni801
 123. Bleharski JR, Li H, Meinken C, Graeber TG, Ochoa M-T, Yamamura M, et al. Use of Genetic Profiling in Leprosy to Discriminate Clinical Forms of the Disease. *Sci (80-)* (2003) 301:1527–30. doi: 10.1126/science.1087785
 124. Lee DJ, Siding PA, Ochoa MT, Krutzik SR, Guo B, Hernandez M, et al. LILRA2 Activation Inhibits Dendritic Cell Differentiation and Antigen Presentation to T Cells. *J Immunol* (2007) 179:8128–36. doi: 10.4049/jimmunol.179.12.8128
 125. Venet F, Schilling J, Cazalis MA, Demaret J, Poujol F, Girardot T, et al. Modulation of LILRB2 Protein and mRNA Expressions in Septic Shock Patients and After Ex Vivo Lipopolysaccharide Stimulation. *Hum Immunol* (2017) 78:441–50. doi: 10.1016/j.humimm.2017.03.010
 126. Baffari E, Fiume D, Caiazzo G, Sinistro A, Natoli S, Almerighi C, et al. Upregulation of the Inhibitory Receptor ILT4 in Monocytes From Septic Patients. *Hum Immunol* (2013) 74:1244–50. doi: 10.1016/j.humimm.2013.07.012
 127. Smith CL, Dickinson P, Forster T, Craigon M, Ross A, Khondoker MR, et al. Identification of a Human Neonatal Immune-Metabolic Network Associated With Bacterial Infection. *Nat Commun* (2014) 5:1–15. doi: 10.1038/ncomms5649
 128. Ming S, Li M, Wu M, Zhang J, Bai J, Huang L, et al. Immunoglobulin Like Transcript 5 Inhibits Macrophage-Mediated Bacterial Killing and Antigen Presentation During Sepsis. *J Infect Dis* (2019) 220:1688–99. doi: 10.1093/asj/sjy152/5040459
 129. Huynh OA, Hampartzoumian T, Arm JP, Hunt J, Borges L, Ahern M, et al. Down-Regulation of Leucocyte Immunoglobulin-Like Receptor Expression in the Synovium of Rheumatoid Arthritis Patients After Treatment With Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs. *Rheumatology* (2007) 46:742–51. doi: 10.1093/rheumatology/kei405
 130. Kollnberger S, Bird L, Sun MY, Retiere C, Braud VM, McMichael A, et al. Cell-Surface Expression and Immune Receptor Recognition of HLA-B27 Homodimers. *Arthritis Rheum* (2002) 46:2972–82. doi: 10.1002/art.10605
 131. Du Y, Cui Y, Liu X, Hu F, Yang Y, Wu X, et al. Contribution of Functional LILRA3, But Not Nonfunctional LILRA3, to Sex Bias in Susceptibility and Severity of Anti-Citrullinated Protein Antibody-Positive Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol* (2014) 66:822–30. doi: 10.1002/art.38308
 132. Du Y, Sun F, Zhou M, Wu X, Sun W, Jiang Y, et al. The Expression and Clinical Significance of Different Forms of LILRA3 in Systemic Lupus Erythematosus. *Clin Rheumatol* (2019) 38(11):3099–3107. doi: 10.1007/s10067-019-04624-z
 133. Tang Y, Wang Y, Zou Y, Liu M, Du Y, Guo J. LILRA3 Promotes Lupus-Like Chronic Graft-Versus-Host Disease by Expansion of Follicular Helper T Cells and Anti- dsDNA Autoantibodies. *Am Coll rhumatol Annu Meet* (2019), 3–6. doi: 10.1136/lupus-2019-lsm.238
 134. Figueroa-Vega N, Galindo-Rodriguez G, Bajaña S, Portales-Pérez D, Abud-Mendoza C, Sánchez-Torres C, et al. Phenotypic Analysis of IL-10-Treated, Monocyte-Derived Dendritic Cells in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Scand J Immunol* (2006) 64:668–76. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.01849.x
 135. Inui M, Sugahara-Tobinai A, Fujii H, Itoh-Nakadai A, Fukuyama H, Kurosaki T, et al. Tolerogenic Immunoreceptor ILT3/LILRB4 Paradoxically Marks Pathogenic Auto-Antibodyproducing Plasmablasts and Plasma Cells in non-Treated SLE. *Int Immunol* (2016) 28:597–604. doi: 10.1093/intimm/dxw044
 136. Wootla B, Eriguchi M, Rodriguez M. Is Multiple Sclerosis an Autoimmune Disease? *Autoimmune Dis* (2012) 2012:969657. doi: 10.1155/2012/969657
 137. An H, Lim C, Guillemin GJ, Vollmer-Conna U, Rawlinson W, Bryant K, et al. Serum Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor A3 (LILRA3) is Increased in Patients With Multiple Sclerosis and Is a Strong Independent Indicator of Disease Severity; 6.7kbp LILRA3 Gene Deletion is Not Associated With Diseases Susceptibility. *PLoS One* (2016) 11:1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0149200
 138. Wykes MN, Lewin SR. Immune Checkpoint Blockade in Infectious Diseases. *Nat Rev Immunol* (2018) 18:91–104. doi: 10.1038/nri.2017.112
 139. Glassman PM, Balthasar JP. Physiologically-Based Modeling of Monoclonal Antibody Pharmacokinetics in Drug Discovery and Development. *Drug Metab Pharmacokinet* (2019) 34:3–13. doi: 10.1016/j.dmpk.2018.11.002
 140. Liu X, Yu X, Xie J, Zhan M, Yu Z, Xie L, et al. ANGPTL2/LILRB2 Signaling Promotes the Propagation of Lung Cancer Cells. *Oncotarget* (2015) 6:21004–15. doi: 10.18632/oncotarget.4217
 141. Kang X, Kim J, Deng M, John S, Chen H, Wu G, et al. Inhibitory Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors: Immune Checkpoint Proteins and Tumor Sustaining Factors. *Cell Cycle* (2016) 15:25–40. doi: 10.1080/15384101.2015.1121324
 142. Harper J, Gordon S, Chan CN, Wang H, Lindemuth E, Galardi C, et al. CTLA-4 and PD-1 Dual Blockade Induces SIV Reactivation Without Control of Rebound After Antiretroviral Therapy Interruption. *Nat Med* (2020) 26:519–28. doi: 10.1038/s41591-020-0782-y

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2021 Abdallah, Coindre, Gardet, Meurisse, Naji, Suganuma, Abi-Rached, Lambotte and Favier. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Titre : Etude in vivo des pré-DCs au cours de l'infection au VIH/SIV

Mots clés : VIH, SIV, pré-DCs, cDCs, dérégulation, macaque cynomolgus.

Résumé : L'infection au VIH induit une dérégulation précoce des réponses immunitaires conduisant à des réponses adaptatives inefficaces associées à une progression de la maladie. À ce titre, les cellules dendritiques (cDCs) jouent un rôle majeur dans la détection des virus et la régulation des réponses immunitaires innées et adaptatives. Des analyses de haute dimension en cellule unique ont récemment mis en évidence une nouvelle sous-population de précurseurs circulants de cDCs appelées « pré-DCs ». Les pré-DCs peuvent produire des cytokines après stimulation in-vitro, mais également activer les lymphocytes T CD4+ par la présentation d'antigènes. Des études in vitro montrent également que les pré-DCs présentent une susceptibilité accrue à l'infection par le VIH. L'objectif de mes travaux de thèse vise à caractériser l'impact de l'infection au VIH sur la dynamique et les fonctions des pré-DCs in vivo. Pour cela, nous avons utilisé un modèle pré-clinique d'infection par le SIV. Dans un premier temps, j'ai réussi à caractériser l'équivalent humain des pré-DCs dans les différents tissus de ce modèle.

Grâce à cette caractérisation j'ai, ensuite, pu analyser la dynamique et la fonction des pré-DCs au cours des différentes phases de l'infection par le SIV. Les résultats montrent que la quantité de pré-DCs diminue fortement dans le sang dès les premiers jours de l'infection. Cette diminution s'accompagne d'un recrutement des pré-DCs au sein des organes lymphoïdes secondaires qui persiste pendant la phase chronique. En outre, l'infection par le SIV inhibe l'expression de molécules de costimulation et du CMH-II par les pré-DCs ainsi que leur capacité à produire de l'IL-12 suite à une stimulation ex vivo. Au contraire, dans un modèle d'infection résolue par le SARS-Cov2, les pré-DCs expriment les molécules de costimulation nécessaire à l'induction des réponses immunitaires adaptatives en phase aiguë de l'infection. Au final, mes travaux apportent une meilleure compréhension des mécanismes de dérégulation des cellules dendritiques qui sont induits lors de la mise en place des réponses immunitaires dirigées contre le SIV/VIH.

Title : In vivo study of pre-DCs during HIV/SIV infection

Keywords : HIV, SIV, pre-DCs, cDCs, dysregulation, cynomolgus macaque

Abstract: HIV infection leads to an early deregulation of immune responses causing ineffective adaptive responses associated with disease progression. In this regard, dendritic cells (DCs) play a major role in virus detection and regulation of innate and adaptive immune responses. High-dimensional single-cell analyses have recently revealed a new subpopulation of circulating cDC precursors called "**pre-DCs**". pre-DCs can produce cytokines after in vitro stimulation but also activate CD4+ T cells by antigen presentation. In vitro studies also show that pre-DCs have an increased susceptibility to HIV infection. The aim of my PhD work was to characterize the impact of HIV infection on the dynamics and functions of pre-DCs in vivo. For this purpose, we used a pre-clinical model of SIV infection. In a first step, I succeeded in characterizing the human counterpart of pre-DCs in the different tissues of this model. Thanks to this characterization, I was able to analyze the dynamics

and function of pre-DCs during the different phases of SIV infection. Our results show that the amount of pre-DCs strongly decreases in the blood from the first days of the infection. This decrease is accompanied by a recruitment of pre-DCs in secondary lymphoid organs that persists during the chronic phase. Furthermore, SIV infection inhibits the expression of costimulatory molecules and MHC-II by pre-DCs as well as their ability to produce IL-12 following ex vivo stimulation. On the contrary, in a model of infection resolving by SARS-Cov2, pre-DCs express the costimulatory molecules necessary for the induction of adaptive immune responses in the acute phase of the infection. In the end, these studies provide a better understanding of the mechanisms of dendritic cell deregulation that are induced during the establishment of immune responses directed against SIV/HIV.