

**UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE
U.F.R DE MEDECINE**

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE REIMS
CHAMPAGNE-ARDENNE**

Discipline : Biologie Cellulaire

Présenté par

Gaëtan DESLEE

**ROLE DES CELLULES EPITHELIALES BRONCHIQUES
ET DES CELLULES DENDRITIQUES DANS
L'INFLAMMATION BRONCHIQUE CHRONIQUE**

Thèse dirigée par : Mr le Professeur **François LEBARGY**

Soutenue publiquement le 8 juin 2007

Composition du jury :

M. le Professeur Jean-François BERNAUDIN (PARIS)	Rapporteur - Président
M. le Professeur Thierry URBAN (ANGERS)	Rapporteur
Mme le Professeur Sophie GANGLOFF (REIMS)	Examineur
M. Le Docteur Joël PESTEL (VILLEUNEUVE D'ASCQ)	Examineur
M. le Professeur Abderrazzaq BELAAOUAJ (REIMS)	Examineur
M. le Professeur François LEBARGY (REIMS)	Directeur de Thèse

Remerciements

Je remercie les équipes INSERM U416 de LILLE et INSERM U514 de REIMS de m'avoir accueilli pour la réalisation des travaux présentés dans cette thèse.

Je remercie les services de pneumologie du CHU de LILLE et du CHU de REIMS pour leur implication dans la sélection des patients.

J'ai eu la chance de bénéficier de la compétence d'un grand nombre de personnes. Je tiens à exprimer mon profond respect pour leur disponibilité et la qualité de l'enseignement reçu au cours de cette thèse.

Je remercie Monsieur le Professeur LEBARGY pour la direction de cette thèse et pour la qualité de son enseignement.

Je remercie le Professeur BERNAUDIN d'avoir accepté la présidence de cette thèse.

Je remercie le Professeur URBAN d'avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse.

Je remercie le Docteur Joël PESTEL pour la qualité de son enseignement au cours de mon D.E.A.

Je remercie le Professeur Sophie GANGLOFF pour ses conseils et son implication au cours de ce travail de thèse.

Je remercie le Professeur BELAAOUAJ pour la qualité de son enseignement et son implication dans ce travail de thèse.

SOMMAIRE

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES	3
LISTE DES ABREVIATIONS	6
LISTE DES FIGURES	8
PRESENTATION GENERALE	9
CHAPITRE I : Les cellules dendritiques	11
A Généralités	
B Ontogénèse des cellules dendritiques	
1 Les précurseurs hématopoïétiques CD34+	
2 Les différentes populations de cellules dendritiques	
2-1 Les cellules de Langerhans	
2-2 Les cellules dendritiques intersititiales et dérivées de monocytes	
2-3 Les cellules dendritiques plasmacytoïdes	
C Principales fonctions des cellules dendritiques	
1 Capture et internalisation des antigènes par les DC immatures	
2 Maturation et migration des DC vers les ganglions drainants	
3 Présentation des antigènes par les cellules dendritiques matures aux lymphocytes T	
4 L'orientation de la réponse immunitaire	
D Caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des DC pulmonaires	
1 Répartition des cellules dendritiques pulmonaires	
2 Homéostasie et dynamique du pool de cellules dendritiques pulmonaires	
E Modèles d'étude des cellules dendritiques humaines	
F Synthèse	
CHAPITRE II : L'épithélium bronchique	25
A Description physiologique de l'épithélium des voies aériennes	
1 Anatomie générale de l'épithélium bronchique	
2 L'épithélium bronchique de surface	
B Epithélium bronchique et système de défense des voies aériennes	
1 Les défenses mécaniques	
1-1 La clairance mucociliaire	
1-2 L'intégrité de la barrière épithéliale	
2 La production de peptides antimicrobiens	
3 La production de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance	
C Modèles d'étude des cellules épithéliales bronchiques humaines	
D Synthèse	
CHAPITRE III : L'asthme à composante allergique	35
A Définition	
B Aspects cliniques et fonctionnels respiratoires	
C Epidémiologie	
D Eléments de physiopathologie	
E Arguments pour l'implication des cellules dendritiques dans l'asthme allergique	
F Les facteurs environnementaux allergéniques	
1 Généralités	
2 Rôle de l'allergène majeur d'acarien Der p 1 dans la réaction immuno-allergique	
G Synthèse	

CHAPITRE IV : La Broncho-pneumopathie chronique obstructive	43
A Définition	
B Eléments cliniques et fonctionnels respiratoires	
C Epidémiologie	
D Eléments de physiopathologie	
E Arguments pour l'implication des cellules épithéliales bronchiques dans la BPCO	
F Facteurs environnementaux	
1 Le lipopolysaccharide (LPS)	
2 Rôle potentiel du LPS dans la BPCO	
G Synthèse	
OBJECTIFS DE LA THESE	54
A Cellules dendritiques et allergies respiratoires	
B Cellules épithéliales bronchiques et BPCO	
RESULTATS	56
Article 1 : Implication du récepteur au mannose dans l'internalisation de l'allergène majeur d'acarien, Der p 1, par les cellules dendritiques	
Article 2 : Les sphéroïdes bronchiques : un modèle de culture pour l'étude de la broncho-pneumopathie obstructive	
ARTICLE DE SYNTHESE	103
Implication des cellules dendritiques en pathologie respiratoire allergique	
DISCUSSION ET PERSPECTIVES	111
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	115

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Publications

En anglais:

- 1- **Deslée G**, Dury S, Perotin JM, Al Alam D, Vitry F, Boxio R, Gangloff S, Puchelle E, Guenounou M, Lebargy F, Belaouaj A. Bronchial Epithelial Spheroids. A culture model to investigate chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007 (*soumis*)
- 2- Deschamps F, Barouh M, **Deslée G**, Prevost A, Munck JN. Estimates of work-related cancers in workers exposed to carcinogens. *Occup Med* 2006;56:204-209
- 3- Menivale F, **Deslée G**, Vallerand H, Toubas O, Delepine G, Guillou PJ, Lebargy F. Therapeutic management of broncholithiasis. *Ann Thor Surg* 2005;79:1774-1746
- 4- Menivale F, **Deslée G**, Guillou PJ, Cattaneo S, Pluot M, Lebargy F. Endobronchial lipoma : Abnormal Autofluorescence Bronchoscopy Pattern in a Bronchial Lipoma. *J Bronchology* 2004;11:32-33
- 5- **Deslée G**, Guillou PJ, Baehrel B, Lebargy F. Malignant mesenchymoma of the pleura. *Interactive Cardiovascular Thorac Surg* 2003;2:376-37
- 6- **Deslée G**, Charbonnier AS, Hammad H, Angyalosi G, Tillie-Leblond I, Mantovani A, Tonnel AB, Pestel J. Involvement of the Mannose Receptor in the Uptake of Der p 1, a Major Mite Allergen, by Human Dendritic Cells. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:763-770
- 7- Chouabe S, Perdu D, **Deslée G**, Milosevic D, Marque E, Lebargy F. Endobronchial actinomycosis associated with foreign body : four cases and a review of the literature. *Chest* 2002;121:2069-2072
- 8- Deschamps F, Strady C, **Deslée G**, Mencièrè-Faroy B, Deschamps S. Five years of follow-up after elemental mercury self-poisoning. *Am J Forensic Med Pathol* 2002;23:170-172
- 9- Deschamps F, Barouh-Larive M, Theobald S, Kochman S, **Deslée G**. Specific industries and cancer risk in an area of France. *Occup Med (Lond)* 2001;51:516-517
- 10- **Deslée G**, Briche A, Lebuffé G, Copin MC, Ramon P, Marquette CH. Obstructive Fibrinous Tracheal Pseudomembrane : A potentially fatal complication of tracheal intubation. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;62:1169-1171

En français:

- 1- Perotin JM, **Deslée G**, Dury S, Patey M, Toubas O, Lebargy F. Bronchiolite folliculaire. *Rev Mal Respir* 2007 (*sous presse*)
- 2- Dury S, Toubas O, Delepine G, **Deslée G**, Lebargy F. Thrombose *in situ* du moignon artériel pulmonaire après pneumonectomie. *Rev Mal Respir* 2007;24:367-70
- 3- **Deslée G**, Menivale F, Dury S, Perdu D, Quinquenel MC, Betbeze P, Mouchet B, Hirshi S, Lebargy F. Pneumopathie des cracheurs de feu. *Presse Med* 2005;34:1629-1633
- 4- Menivale F, **Deslée G**, Garcia V, Sartelet H, Wynckel A, Lebargy F. Syndrome néphrotique paranéoplasique et cancers bronchiques. *Rev Mal Respir* 2005;22:325-329
- 5- **Deslée G**, Hammad H, Ratacjak C, Just N, Tillie-Leblond I, Lebargy F, Pestel J, Tonnel AB. Implication des cellules dendritiques en pathologie allergique respiratoire. *Rev Mal Respir* 2004;21 :549-555
- 6- Lavaud F, Fontaine JF, **Deslée G**, Sabouraud D, Lebargy F. Peut-on arrêter une désensibilisation aux venins d'hyménoptères ? *Rev Fr Allerg Immunol Clin* 2004;44:276-280
- 7- Pestel J, Charbonnier AS, **Deslée G**, Pochard P, Duez C, Hammad, Tonnel AB. Cellules dendritiques et réponse allergique respiratoire. Book Series, John Libbey Eurotext; Paris, *European Journal of Dermatology* 2003;43-52
- 8- Fontaine JF, Lavaud F, **Deslée G**, Caillet MJ, Lebargy F. Toxidermie à la pseudoéphédrine. *Allergie et Immunologie* 2002;7:230-232.
- 9- **Deslée G**, Briche A, Ramon P, Marquette CH. Les biopsies transbronchiques. *Rev Mal Respir* 2001;18:447-449.
- 10- Milosevic D, **Deslée G**, Vallerand H, Bouquigny F, Lebargy F. Les fistules artério-veineuses au cours de la maladie de Rendu-Osler-Weber. *La lettre du pneumologue* 2000;3:47-56.
- 11- **Deslée G**, Lebargy F. Les infections pulmonaires au cours du SIDA. *Presse Med* 1998;27:927-933.
- 12- Tassan S, Chabert JP, Tassigny C, Jamet B, Ribère R, **Deslée G**, Metz D, Elaerts J. Accident artériel périphérique embolique par thrombose d'une veine pulmonaire révélant un carcinoma bronchique. *Ann Cardiol Angeiol* 1998;47:11-13.

Présentations orales

En anglais:

- 1- **Deslée G**, Fragaki K, Vitry F, Hinnrasky J, Dury S, Belaouaj A, Puchelle E, Lebargy F. Differential response of COPD bronchial epithelium to LPS in a three-dimensional culture model. *European Respiratory Society* 2006, Munich.
- 2- **Deslée G**, Charbonnier AS, Hammad H, Lebargy F, Mantovani A, Tillie-Leblond I, Pestel J, Tonnel AB. Involvement of the mannose receptor in the uptake of Der p 1, a major mite allergen, by human dendritic cells. Potential role in the pathogenesis of allergic airway disease. *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*. 2003, Paris.
- 3- Pestel J, Charbonnier AS, Hammad H, **Deslée G**, Pochard P, Tillie-Leblond I, Gosset P, Mantovani A, Duez C, Tonnel AB. Regulation of the Der p 1-dependent T cell response by different human dendritic cell populations. *15th European Immunology Congress* 2003, Rhodes.

En français:

- 1- **Deslée G**. Traitement palliatif de l'emphysème par réduction de volume par voie endobronchique dans l'emphysème. *Congrès de Pneumologie de Langue Française*. 2006, Nice.
- 2- **Deslée G**, Fragaki K, Vitry F, Hinnrasky J, Dury S, Garcia V, Puchelle E, Lebargy F. Corrélations entre la production d'IL-8 par les cellules épithéliales bronchiques et les paramètres cliniques et fonctionnels respiratoires des fumeurs BPCO et non BPCO. *Congrès de Pneumologie de langue Française* 2006, Nice.
- 3- **Deslée G**, Fragaki K, Vitry F, Hinnrasky J, Dury S, Garcia V, Puchelle E, Lebargy F. Evaluation de la réponse pro-inflammatoire épithéliale bronchique au LPS dans la BPCO au moyen d'une culture tridimensionnelle de sphéroïdes bronchiques. *Congrès de Pneumologie de langue Française* 2005, Lille
- 4- **Deslée G**, Fragaki K, Castillon N, Garcia V, Jonvel AC, Puchelle E, Lebargy F. Les sphéroïdes bronchiques : un modèle d'étude des cellules épithéliales et de leur rôle dans l'inflammation bronchique au cours des BPCO. *Journée de Recherche Clinique*. 2004, Reims.
- 5- Perrin F, Lavaud F, Fontaine JF, Rey JB, **Deslée G**, Gourdiér B, Lebargy F. Réintroduction médicamenteuse en hôpital de jour. Bilan retrospectif de trois ans. *Société Française d'Allergologie et Immunologie Clinique*. 2004, Marseille.
- 6- **Deslée G**, Ramon P, Bricchet A, Marquette CH. Intérêt des fibroscopes pédiatriques (3,5 et 2,8 mm) pour le diagnostic anatomo-pathologique des nodules pulmonaires périphériques chez l'adulte. *Congrès de Pneumologie de Langue Française*. 2001, Paris.
- 7- **Deslée G**, Bricchet A, Lebuffé G, Copin MC, Ramon P, Marquette CH. Pseudomembrane Trachéale Obstructive. Une complication potentiellement fatale de l'intubation trachéale. *Société de Pathologie Thoracique du Nord*. 2001, Lille.
- 8- **Deslée G**. Prise en charge de la tuberculose en zone de conflit. *Conférence Médecins Sans Frontières*. 2000, Reims.

Présentations affichées

En anglais :

- 1- Al Alam D, Baranek T, **Deslée G**, Abely M, Puchelle E, Le Naour R, Guenounou M, Gangloff SC. Staphylococcus aureus-infected CF epithelial cell chemokine secretions and T cell chemotaxis. *European Society of Immunology*. 2006, Paris.
- 2- **Deslée G**, Fragaki K, Hinnraski J, Puchelle E, Lebargy F. Assessment of LPS-induced airway epithelium responsiveness by human epithelial spheroids from COPD patients. *American Thoracic Society* 2005, San Diego, United States.
- 3- Fontaine JF, Didierlaurent A, Lavaud F, **Deslée G**, Lebargy F. Latex allergy and cross-reactivity with rosaceae fruits : study of one case by immunoblot. *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*. 2003, Paris.
- 4- Sabouraud D, Charles A, Fontaine JF, **Deslée G**, Lavaud, Motte J. Food allergy in early childhood : a study of 95 observations. *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*. 2003, Paris.
- 5- Lavaud F, Toure F, **Deslée G**, Lavaud S, Fontaine JF, Lebargy F, Rieu P. Icodextrin-induced peritonitis in dialysis patients. Evidence for an immunoallergic mechanism. *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*. 2003, Paris.
- 6- **Deslée G**, Charbonnier AS, Hammad H, Lebargy F, Tillie-Leblond I, Mantovani A, Tonnel AB, Pestel J. Involvement of the mannose receptor in the uptake of Der p 1, a major mite allergen, by human dendritic cells : Potential role in allergic airway diseases. *American Thoracic Society*. 2002, Atlanta, United States

En français:

- 1- **Deslée G**, Fragaki K, Vitry F, Hinnrasky J, Dury S, Perotin JM, Belaouaj A, Puchelle E, Lebargy F. Effets de la corticothérapie inhalée sur l'épithélium bronchique des BPCO. *Congrès de Pneumologie de Langue Française*, 2007, Lyon.
- 2- Al Alam D, Baranek T, **Deslée G**, Puchelle E, Abely M, Le Naour R, Guenounou M, Gangloff SC. Sécrétion de chimiokines par des cellules épithéliales CF stimulées par *Staphylococcus aureus* et chimiotactisme des lymphocytes T CF. *J2R, Journées de Recherche Respiratoire (J2R)*, 2006, Tours.
- 3- **Deslée G**, Fragaki K, Vitry F, Hinnrasky J, Dury S, Garcia V, Kileztky C, Puchelle E, Lebargy F. Les sphéroïdes bronchiques: un modèle d'étude des cellules épithéliales au cours des BPCO. *Journées de Recherche Respiratoire (J2R)*. 2005, Reims.
- 4- **Deslée G**, Fragaki K, Vitry F, Hinnrasky J, Dury S, Puchelle E, Lebargy F. Evaluation de la réponse pro-inflammatoire épithéliale bronchique au LPS dans la BPCO au moyen d'une culture tridimensionnelle de sphéroïdes bronchiques. *Congrès Français d'Allergologie*, 2006, Paris.
- 5- Dury S, **Deslée G**, Garcia V, Gagneux-lemoussu L, Lebargy F. Pleuro-pneumopathie lupique induite par la flécaïne. *Congrès de Pneumologie de Langue Française*, 2006, Nice.
- 6- Dury S, Toubas O, Garcia V, **Deslée G**, Delepine G, Lebargy F. Thrombose in situ du moignon artériel à la suite d'une pneumonectomie : à propos de 3 cas. *Congrès de Pneumologie de Langue Française*, 2006, Nice.
- 7- Al Alam D, Baranek T, **Deslée G**, Abely M, Puchelle E, Le naour R, Guenounou M, Gangloff SC. Sécrétion de chimiokines par des cellules épithéliales CF stimulées par staphylococcus aureus et chimiotactisme des lymphocytes T CF. *Congrès de pathologie thoracique*, 2006, Montpellier.
- 8- **Deslée G**, Fragaki K, Vitry F, Hinnrasky J, Dury S, Garcia V, Puchelle E, Lebargy F. Les sphéroïdes bronchiques. *Congrès de Pneumologie de langue Française*. 2005, Lille.
- 9- Jonvel AC, **Deslée G**, Toupance O, Garcia V, Perdu D, Lebargy F. Pneumonie organisée au sirolimus. *Congrès de Pneumologie de langue Française*. 2005, Lille.
- 10- Garcia V, Vallerand H, Toubas O, Liehn JC, **Deslée G**, Dartevelle P, Lebargy F. Sarcome de l'artère pulmonaire. *Congrès de Pneumologie de langue Française*. 2005, Lille.
- 11- Fontaine JF, Lavaud F, **Deslée G**, Deschamps F, Lebargy F. Eczema des mains et allergie à l'œuf chez une coiffeuse : une curieuse association. *Société Française d'Allergologie et Immunologie Clinique*. 2004, Marseille.
- 12- **Deslée G**, Castillon N, Hinnrasky J, Hologne C, Menivale F, Puchelle E, Lebargy F. Sphéroïdes bronchiques obtenus par brosse bronchique : Un modèle original pour l'étude de l'implication des cellules épithéliales bronchiques dans la bronchopneumopathie chronique obstructive. *Journée jeunes chercheurs*. 2003, Reims.
- 13- **Deslée G**, Lebargy F, Charbonnier AS, Hammad H, Tonnel AB, Pestel J. Implication du récepteur au mannose dans la capture de l'allergène Der p 1 par la cellule dendritique humaine : rôle potentiel dans l'allergie respiratoire aux acariens. *Congrès de Pneumologie de Langue Française*. 2002, Nice.
- 14- **Deslée G**, Charbonnier AS, Hammad H, Tillie-Leblond I, Mantovani A, Tonnel AB, Pestel J. Implication déterminante du récepteur au mannose dans la capture de l'allergène Der p 1, par la cellule dendritique humaine. *Congrès National de la Société Française d'Immunologie*. 2001, Paris.
- 15- Deschamps F, Barrough A, **Deslée G**. Facteurs professionnels du carcinome bronchique. *Congrès Méditerranéen de Pathologie Professionnelle*. 2001, Marrakech, Maroc.
- 16- **Deslée G**, Charbonnier AS, Hammad H, Tillie-Leblond I, Mantovani A, Tonnel AB, Pestel J. Implication du récepteur au mannose dans la capture de l'allergène Der p 1 par la cellule dendritique humaine. *Club Francophone des Cellules Dendritiques*. 2001, Paris.
- 17- **Deslée G**, Perdu D, Betbèze P, Milosevic D, Diebold MD, Baehrel B, Lebargy F. Mésenchymome malin pleural. *Congrès de Pneumologie de Langue Française*. 1998, Nice.
- 18- Perdu D, Puygrenier J, Lavaud F, Milosevic D, Betbeze P, **Deslée G**. Choc anaphylactique à la FRAXIPARINE®. *Journées Nationales de la Société Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 1997, Reims.

LISTE DES ABREVIATIONS

BPCO	Broncho-pneumopathie chronique obstructive
CDR	Région déterminant la complémentarité du récepteur T
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CVF	Capacité vitale forcée
DC	Cellules dendritiques
Df	<i>Dermatophagoïdes farinae</i>
Dpt	<i>Dermatophagoïdes pteronyssinus</i>
2-D	Bi-dimensionnel
3-D	Tri-dimensionnel
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
FcεRI	Récepteur de haute affinité pour l'IgE
HETE	Hydroxy-eicosatétranoic acid
LBA	Lavage broncho-alvéolaire
LC	Cellules de Langerhans
LPS	Lipopolysaccharide
LTB4	Leucotriène B4
MAP kinases	Mitogen-activated protein kinases
MCP-3	Monocyte chemotactic protein-3
MDC	Macrophage-derived chemokine
MDDC	Cellules dendritiques dérivées de monocytes
MMP	Metalloprotéase
MMRC	Modified medical research council
MR	Mannose récepteur
MyD	Myeloid differentiation
NF-κB	Nuclear factor-κB

PAF	Platelet activating factor
PAMP	Pathogen-associated molecular patterns
PGE2	Prostaglandine E2
RANTES	Regulated on activation of normal T-cell expressed and secreted
SCF	Stem cell factor
SCID	Severe combined immunodeficiency
SLPI	Secretory leukocyte proteinase inhibitor
TARC	Thymus and activation-regulated chemokine
TCR	Récepteur des lymphocytes T
TLR	Toll récepteur
TRAF6	TNF receptor-associated factor 6
VEMS	Volume expiré maximal par seconde
ZO-1	Zonula occludens 1

LISTE DES FIGURES

Figures

Figure 1 : Présentation schématique des précurseurs des DC et de leurs marqueurs phénotypiques principaux.

Figure 2 : Migration des cellules dendritiques.

Figure 3 : Interaction entre la cellule dendritique et le lymphocyte T.

Figure 4 : Représentation schématique des différents types de réponse en fonction des antigènes.

Figure 5 : Caractéristiques des DC générées à partir de monocytes circulants (MDDC).

Figure 6 : Les différents épithélia respiratoires de surface en fonction du site anatomique.

Figure 7 : Histologie de l'épithélium bronchique.

Figure 8 : Organisation des complexes jonctionnels des cellules épithéliales.

Figure 9 : Schéma général de la réaction allergène-dépendante.

Figure 10 : Schéma général des mécanismes engendrés par l'action du tabagisme sur les cellules épithéliales bronchiques et les macrophages au cours des BPCO.

Figure 11 : Implication du stress oxydatif dans la physiopathologie de la BPCO.

Figure 12 : Schéma physiopathologique de l'emphysème induit par le tabagisme.

Figure 13 : Mécanismes de transduction du signal induit par l'activation par le LPS du TLR4 et du CD14.

Figure 14 : Modèle proposé d'activation des cellules épithéliales bronchiques par le LPS.

Figure 15 : Modèle proposé de l'implication du récepteur au mannose dans l'orientation de la réponse immune vers un profil Th2 après contact entre l'allergène Der p 1 et les DC.

Figure 16 : Modèle proposé de réponse inflammatoire de l'épithélium bronchique au LPS.

Tableaux

Tableau 1 : Principaux récepteurs d'endocytose de type lectine C exprimés par les DC et leurs ligands.

Tableau 2 : Principaux peptides antimicrobiens et médiateurs sécrétés par l'épithélium bronchique.

Tableau 3 : Classification de la sévérité de l'asthme. D'après Global initiative for asthma (GINA), révision 2006.

Tableau 4 : Classification des BPCO selon le stade de sévérité (GOLD, 2006)

PRESENTATION GENERALE

Les voies aériennes sont continuellement exposées à des substances inhalées variées, telles que des micro-organismes pathogènes (virus, bactéries), des allergènes, des particules et des gaz potentiellement nocifs. Le système de défense des voies aériennes permet d'éliminer la très grande majorité de ces substances inhalées, protégeant ainsi le « milieu intérieur » de leurs effets potentiellement délétères. Ce système implique des facteurs « mécaniques » (toux, clairance muco-ciliaire, barrière épithéliale) et des facteurs immunitaires humoraux et cellulaires innés et/ou acquis.

Dans certaines conditions liées soit à la virulence d'un pathogène, soit à la déficience du système de défense, l'élimination du pathogène n'est pas obtenue et peut conduire au développement d'une infection respiratoire aiguë ou chronique. La réponse immune peut être parfois inadaptée et conduire au développement d'une réaction inflammatoire broncho-pulmonaire aiguë ou chronique pouvant induire des pathologies respiratoires inflammatoires. Le maintien d'un équilibre constant entre une défense efficace vis à vis d'agents potentiellement pathogènes et une inflammation broncho-pulmonaire potentiellement délétère, constitue le difficile challenge du système de défense des voies aériennes.

L'asthme et la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) sont caractérisés par une inflammation bronchique chronique, impliquant une infiltration cellulaire à prédominance d'éosinophiles et de lymphocytes T CD4+ dans l'asthme, et à prédominance de neutrophiles, de macrophages et de lymphocytes T CD8+ dans la BPCO. Les caractéristiques phénotypiques de l'inflammation bronchique sont assez bien déterminées dans la maladie asthmatique et la BPCO, mais les mécanismes d'initiation et de maintien de cette inflammation bronchique chronique ne sont pas complètement élucidés.

Au cours de cette thèse, nous avons étudié les interactions entre certaines substances inhalées et le système de défense des voies aériennes, au cours de l'asthme à composante allergique et de la BPCO. Notre première étude s'est focalisée sur les mécanismes d'internalisation de l'allergène majeur d'acarien de *Dermatophagoides pteronyssinus*, Der p1, par la cellule dendritique dans l'asthme à composante allergique. Les cellules dendritiques sont les cellules présentatrices d'antigènes les plus efficaces du système immunitaire. Au niveau pulmonaire, elles forment un réseau de surveillance « sentinelle » capable de capturer et d'internaliser les antigènes, pour ensuite migrer jusqu'aux ganglions lymphatiques où elles présentent les antigènes aux lymphocytes T. La compréhension des mécanismes d'internalisation de l'allergène constitue un élément potentiel de compréhension de la

physiopathologie de la réaction immunitaire allergène-dépendante induite par les cellules dendritiques dans la maladie asthmatique.

Notre deuxième étude s'est focalisée sur l'étude de la réponse inflammatoire de l'épithélium bronchique à une stimulation par le lipopolysaccharide (LPS) dans la BPCO. L'épithélium bronchique constitue l'interface majeure des voies aériennes, protégeant le milieu intérieur des substances inhalées par un rôle mécanique de barrière, mais également par une action inflammatoire et antibactérienne. Nous avons tout d'abord développé un modèle de culture tri-dimensionnel d'épithélium bronchique de surface sous la forme de sphéroïdes bronchiques obtenus à partir de brossages bronchiques. Cette technique de culture permet de maintenir *in vitro* les principales caractéristiques morphologiques et fonctionnelles de l'épithélium bronchique *in vivo*. En utilisant ce modèle de culture de sphéroïdes bronchiques, nous avons comparé la production de médiateurs inflammatoires à l'état basal et après stimulation par le LPS de sphéroïdes issus de patients BPCO et de sujets fumeurs non BPCO.

Avant de présenter les résultats de nos travaux, nous présenterons en introduction les principales données de la littérature concernant la physiologie des cellules dendritiques et des cellules épithéliales bronchiques, ainsi que les principales connaissances physiopathologiques concernant la maladie asthmatique et la BPCO.

CHAPITRE I. LES CELLULES DENDRITIQUES

A - Généralités

Les cellules dendritiques (DC) ont été identifiées pour la première fois en 1868 par Paul Langerhans dans les couches basales de l'épiderme, et décrites sous le nom de cellules de Langerhans (LC) (Langerhans, 1868). Compte tenu de leur morphologie d'aspect dendritique, ces cellules ont été initialement classées comme de type neuronal. Ce n'est que dans les années 1970-1980 que le rôle des DC dans les mécanismes de l'immunité a été identifié. Les DC ont été décrites au niveau des ganglions lymphatiques (Steinman, 1973), du sang (Van Voorhis, 1982), de la moelle osseuse (Egner, 1993), et de différents organes tels que le poumon (Sertl, 1986), le rein (Hart, 1981), le foie (Prickett, 1988), le cœur (Hart, 1981).

Les DC sont des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles qui interviennent dans les processus d'immunosurveillance au niveau des interfaces de l'organisme. Ces cellules sont caractérisées par leur haut pouvoir de migration depuis le sang périphérique jusqu'aux muqueuses où elles vont capter les antigènes, et ensuite de ces interfaces épithéliales jusqu'aux organes lymphoïdes secondaires où elles vont initier la réponse immunitaire en présentant les peptides antigéniques aux lymphocytes T (Steinman, 1991 ; Vermaelen, 2005). Au niveau des interfaces anatomiques telles que la peau et les muqueuses respiratoires ou intestinales, les DC sont exposées aux antigènes et sont à un stade « immature », caractérisé par une forte capacité de capture et d'internalisation des antigènes, mais par une faible capacité à présenter les antigènes aux lymphocytes T. Après capture de l'antigène associée à une stimulation par des signaux de « danger », les DC vont être activées et progressivement acquérir un profil de DC « mature » caractérisé par une perte des capacités de capture et d'internalisation des antigènes et par une forte capacité à présenter les antigènes aux lymphocytes T (Vermaelen, 2005).

B - Ontogénèse des cellules dendritiques

1 - Les précurseurs hématopoïétiques CD34⁺

Toutes les populations de DC dérivent de cellules souches hématopoïétiques pluripotentes CD34⁺ (De Fraissinette, 1988 ; Caux, 1992). Ces cellules souches sont présentes dans la moelle osseuse, mais également dans le sang de cordon et en faible quantité dans le sang périphérique. Sous l'influence de différents stimuli, ces précurseurs hématopoïétiques peuvent être à l'origine de deux types de cellules, les progéniteurs myéloïdes et les progéniteurs lymphoïdes. Selon les stimuli endogènes notamment cytokiniques, les précurseurs myéloïdes peuvent se différencier en DC épithéliales (cellules de Langerhans), DC interstitielles ou DC myéloïdes, alors que les précurseurs lymphoïdes sont à l'origine des DC plasmacytoïdes (Shortman, 2002).

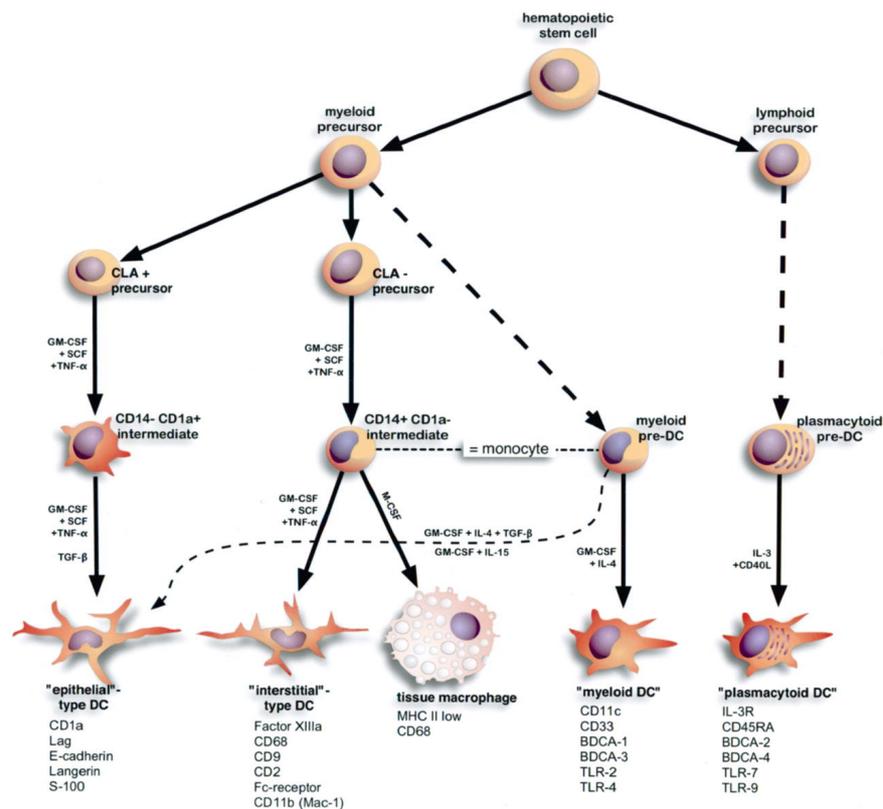


Figure 1. Présentation schématique des précurseurs des DC et de leurs marqueurs phénotypiques principaux. (Vermaelen, 2005)

2 - Les différentes populations de cellules dendritiques

2.1 - Les cellules de Langerhans

Les cellules de Langerhans, DC « épithéliales », sont principalement retrouvées dans les couches basales de l'épiderme (Romani, 1985). Au cours de leur différenciation, les cellules de Langerhans acquièrent progressivement l'antigène CD1a, marqueur des DC myéloïdes et expriment spécifiquement le CCR6, récepteur de la chimiokine CCL20. Elles présentent un marqueur ultrastructural cytoplasmique, les granules de Birbeck, et acquièrent également la E-Cadhérine, molécule d'adhérence intervenant dans les interactions avec les cellules de structure (Caux, 1996). Elles portent à leur surface les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I et II, ainsi que les molécules de co-stimulation CD40, CD80 et CD86 (Strunk, 1996). Les cellules de Langerhans matures n'expriment plus le CCR6, mais le CCR7, récepteur qui leur permet d'emprunter la circulation lymphatique pour gagner les ganglions drainants.

2.2 - Les cellules dendritiques interstitielles et dérivées des monocytes

Les DC interstitielles sont retrouvées dans la plupart des tissus comme la peau, l'intestin, le poumon (Gong, 1992; Xia, 1995), les reins ou le cœur (Austyn, 1994). Elles représentent un important réservoir de DC immatures facilement mobilisable lors d'une réaction inflammatoire. Les précurseurs de DC interstitielles présentent à leur surface différents récepteurs aux chimiokines, comme le CCR1, le CCR2 et le CCR5. Leur phénotype est modifié au cours de la maturation avec une disparition du CD14 et l'expression du CD1a et du CCR7. Elles expriment aussi les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classes I et II, ainsi que les molécules de co-stimulation CD80, CD86 et CD40. Ces cellules ne possèdent pas de granule de Birbeck et n'expriment pas la E-Cadhérine.

Les DC dérivées de monocytes ont un phénotype immature, exprimant faiblement les molécules co-stimulatrices CD80 et CD86, les molécules du CMH de classe II et les récepteurs aux chimiokines associées à l'inflammation (CCR1, CCR2 et CCR5). Ces cellules ont une grande capacité de capture de l'antigène, mais une faible capacité de présentation des peptides antigéniques aux lymphocytes T (Bell, 1999). La maturation peut être obtenue avec des antigènes bactériens, comme le LPS, ou avec des cytokines comme le TNF- α ou l'IL-1 β . L'interaction avec des lymphocytes T auxiliaires CD4+ entraîne la maturation et l'activation de ces DC (Albert, 2001). La différenciation des monocytes en DC peut se produire lors

d'interactions avec des cellules de structure, telles que les cellules endothéliales (Randolph, 1998).

2.3 - Les cellules dendritiques plasmacytoïdes

Les DC plasmacytoïdes sont d'origine lymphoïde. Les DC plasmacytoïdes sont des cellules qui ont une forte capacité à produire les IFN- α et β (Rissoan, 1999 ; Grouard, 1997). Elles répondent à des stimuli viraux ou microbiens en produisant des IFN de classe I et/ou de l'IL-12. Cultivées en présence d'IL-3 et de CD154, ou avec des stimuli microbiens tels que des oligonucléotides CpG bactériens, ces DC acquièrent un phénotype caractéristique des DC matures.

C - Principales fonctions des cellules dendritiques

1 - Capture et internalisation des antigènes par les DC immatures

Au niveau des muqueuses périphériques, les DC sont à un stade immature. La capture des antigènes par les cellules dendritiques s'effectue selon trois mécanismes : la phagocytose, la macropinocytose et l'endocytose médiée par récepteur. La phagocytose permet l'internalisation de virus, bactéries, parasites et de corps cellulaires apoptotiques par les DC (Banchereau, 1998). La macropinocytose est une voie d'internalisation non spécifique dépendante de l'actine, caractérisée par des replis membranaires permettant d'internaliser des antigènes solubles sous forme de vésicules appelées macropinosomes (Sallusto, 1995). L'endocytose médiée par récepteur implique les récepteurs lectiniques de type C, les récepteurs de type Fc et les Toll-Récepteurs.

Les récepteurs lectiniques de type C identifiés au niveau des DC sont le récepteur au mannose, le DEC 205, la langerine et DC-SIGN. Le récepteur au mannose (MR) est un récepteur calcium-dépendant comportant 8 domaines de reconnaissance des carbohydrates (Napper, 2001). Le MR est impliqué dans l'endocytose de glycoconjugués comportant des résidus terminaux de mannose, fucose ou N-acetylglucosamine, et de microorganismes comportant des résidus de mannose ou de N-acétylglucosamine à leur surface. Du fait de la faible présence de ces sucres à la surface des cellules de mammifères et à la partie terminale des résidus glycaniques des glycoprotéines du sérum, le MR est considéré comme un élément important de discrimination des antigènes du soi et du non soi (Stahl, 1998). L'internalisation des antigènes par le MR entraîne une présentation très efficace aux lymphocytes T via le

CMH de classe II, 100 à 10.000 fois plus efficace que la présentation suite à une internalisation via la macropinocytose (Tan, 1997 ; Engering, 1997). Le DEC 205 diffère du MR par le fait qu'il comporte 10 domaines de reconnaissance des carbohydrates au lieu de 8 (Napper, 2001). DEC 205 n'est exprimé que très faiblement par les DC immatures, mais paradoxalement plus fortement par les DC matures. Son rôle exact dans l'internalisation des antigènes reste à clarifier. DC-SIGN est exprimé sur les DC immatures, et impliqué notamment dans l'internalisation du VIH-1 par les DC et par la transmission de celui-ci aux lymphocytes T (Geijtenbeek, 2000). Le rôle exact de la langerine, exprimée par les cellules de Langerhans n'est pas clairement identifié (Valladeau, 2000). Les récepteurs Dectin 1 et 2 sont exprimés notamment sur les cellules de Langerhans. Le ligand de Dectin 1 est le β -glucane, alors que le ligand de Dectin 2 n'est pas connu.

Récepteurs	Ligands
MR (CD206)	mannose, fucose, résidus N-acétylglucosamine
DEC-205 (CD205)	?
DC-SIGN (CD209)	HIV (gp120), mannane, ICAM-2, ICAM-3
Langérine (CD207)	?
Dectin 1	β -glucane
Dectine 2	?

Tableau 1 : Principaux récepteurs d'endocytose de type lectine C exprimés par les DC et leurs ligands.

Le Fc ϵ RI (récepteur de forte affinité pour l'IgE) est impliqué dans l'endocytose médiée par récepteur par les DC du sang périphérique et les cellules de Langerhans (Maurer, 1998 ; Geiger, 2000). L'implication du Fc ϵ RI au niveau des DC dérivées de monocytes reste discutée (van den Heuvel, 1998 ; Buentke, 2000 ; Kraft, 2001). Les Fc γ RI et Fc γ RII sont impliqués dans l'internalisation de complexes immuns ou de particules opsonisées par les DC du sang périphérique (Fanger, 1996). Les Toll récepteurs (TLR) sont des récepteurs de

signalisation reconnaissant les PAMP (pathogen-associated molecular patterns) et activent des voies de transduction du signal qui induisent l'expression de nombreux gènes impliqués dans la réponse immunitaire. Le spectre de reconnaissance de ces TLR inclut le LPS pour le TLR4 (Poltorak, 1998) et un large spectre de produits microbiens tels que le peptidoglycane des bactéries gram positif (Takeuchi, 1999), les lipoprotéines bactériennes (Takeuchi, 2000) et la protéine membranaire de *Klebsiella pneumoniae*, kpOmpA (Jeannin, 2000) pour le TLR2.

2 - Maturation et migration des cellules dendritiques vers les ganglions drainants

Après la capture de l'antigène, les DC acquièrent progressivement un phénotype mature. Des signaux de « danger » sont nécessaires pour obtenir une maturation complète de la DC. Ces signaux peuvent être d'origine microbienne, cytokinique ou liés à des interactions cellulaires, tels que l'interaction avec le lymphocyte T via le CD40. Au cours de cette étape de maturation, la DC dégrade l'antigène en peptides antigéniques qu'elle va pouvoir présenter aux lymphocytes T via les molécules du CMH pour initier une réponse immunitaire spécifique.

La maturation des DC s'accompagne de différents changements phénotypiques :

- l'apparition du marqueur CCR7 qui permet aux DC de quitter l'interface épithéliale pour gagner les ganglions drainants via les vaisseaux lymphatiques qui expriment les ligands (CCL19, CCL21),
- l'augmentation de l'expression des molécules du CMH auxquelles vont être associées les peptides antigéniques,
- l'augmentation de l'expression des molécules co-stimulatrices comme CD40, CD80 et CD86 nécessaires à l'activation des lymphocytes T favorisant ainsi le contact entre la DC et le lymphocyte T et participant à l'orientation de la réponse immunitaire spécifique de l'antigène.

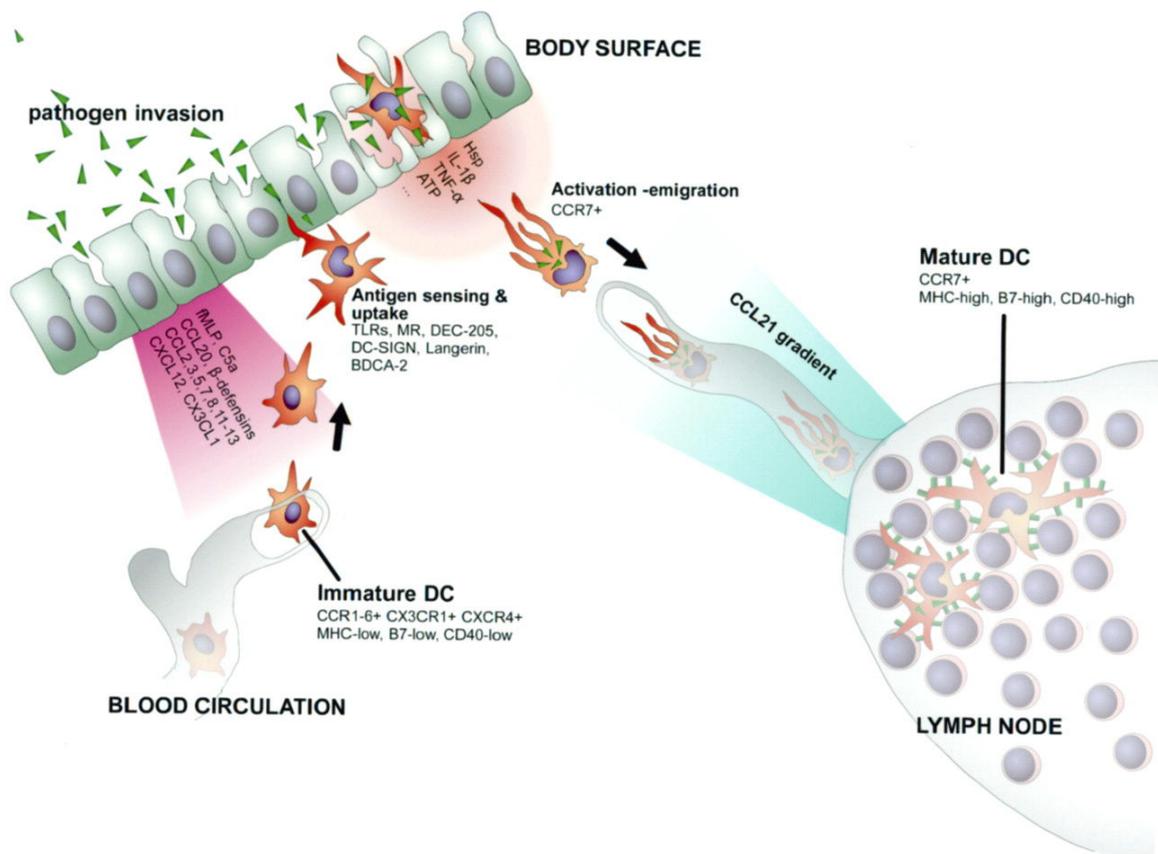


Figure 2 : Migration des cellules dendritiques (Vermaelen, 2005)

Les DC immatures sont recrutées vers le site inflammatoire. Après interaction avec les antigènes, et en présence d'un signal de « danger », les DC vont mûrir et migrer jusqu'aux ganglions drainants où elles vont interagir avec les lymphocytes T pour entraîner une stimulation lymphocytaire.

3 - Présentation des antigènes par les cellules dendritiques matures aux lymphocytes T

La DC mature interagit avec le lymphocyte T pour induire le développement d'une réponse immunitaire spécifique. Ces interactions étroites entre la DC et le lymphocyte T sont décrites comme une véritable synapse immunologique. Les lymphocytes T forment des rosettes autour des extensions cytoplasmiques de la DC (Steinman, 1973), impliquant la participation des molécules d'adhérence et des constituants du cytosquelette. D'importants mouvements de molécules de surface regroupées au sein de radeaux lipidiques sur les lymphocytes T et la DC vont faciliter l'interaction entre les molécules du CMH présentant le peptide antigénique et le récepteur T (TCR).

La présentation d'un peptide antigénique fait intervenir les molécules du CMH de classe I ou de classe II. Les molécules de classe I interviennent dans la présentation des antigènes d'environ 9 acides aminés, d'origine endogène ou virale aux lymphocytes T CD8+,

et jouent un rôle majeur dans le développement d'une réponse cytotoxique lors d'une infection virale ou d'une réponse anti-tumorale (Watts, 1997). Les molécules du CMH de classe II vont être mobilisées pour la présentation de peptides antigéniques de 13 à 34 acides aminés aux lymphocytes T CD4⁺. Ces molécules de classe II sont associées à des antigènes du milieu extracellulaire ou à des peptides cytosoliques dont la structure possède un signal de routage vers la voie endosomale.

Les TCR sont formés de deux chaînes peptidiques, $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$, qui possèdent des régions hypervariables. Trois d'entre elles, dites régions déterminant la complémentarité (CDR) s'associent pour former le paratope qui interagit avec le complexe CMH-peptide. Chaque TCR est spécifique d'un clone de lymphocytes T. Celui-ci est issu d'une recombinaison homologue de différents gènes déterminant la réactivité d'un lymphocyte T vis-à-vis d'un antigène. L'engagement d'un lymphocyte T est conditionné par la reconnaissance de la molécule du CMH et celle du peptide antigénique associé. Les co-sigaux, c'est-à-dire des molécules de co-stimulation et les cytokines présentes dans l'environnement, sont indispensables pour atteindre un seuil d'activation nécessaire à la différenciation et à la prolifération du lymphocyte T (Vieira, 2000).

L'engagement de quelques TCR induit un premier signal conduisant à des modifications du cytosquelette et à la redistribution des autres TCR vers la zone de contact. Ce premier signal provoque aussi l'expression et/ou la délocalisation de CD40 ligand qui par liaison au récepteur CD40 de la DC va induire l'expression des molécules de co-stimulation B7 qui jouent un rôle essentiel dans la génération du deuxième signal. Ainsi, les molécules de la famille B7, la molécule CD40, ou encore OX-40, participent à l'activation des cellules T et à l'orientation de la réponse immunitaire. Les molécules de co-stimulation appartenant à la famille B7 (B7-1/CD80 et B7-2/CD86) interagissent avec les molécules CD28 et CTLA-4 portées par les lymphocytes T.

Les lymphocytes T mémoires ou activés qui ont déjà eu un premier contact avec l'antigène présentent un seuil de sensibilité beaucoup plus bas que des lymphocytes T naïfs pour un même antigène (Bachmann, 1999; Cai, 1997). Les cellules mémoires répondent à une stimulation moins longue mais de manière beaucoup plus intense en terme de prolifération et de production de cytokines (Berard, 2002).

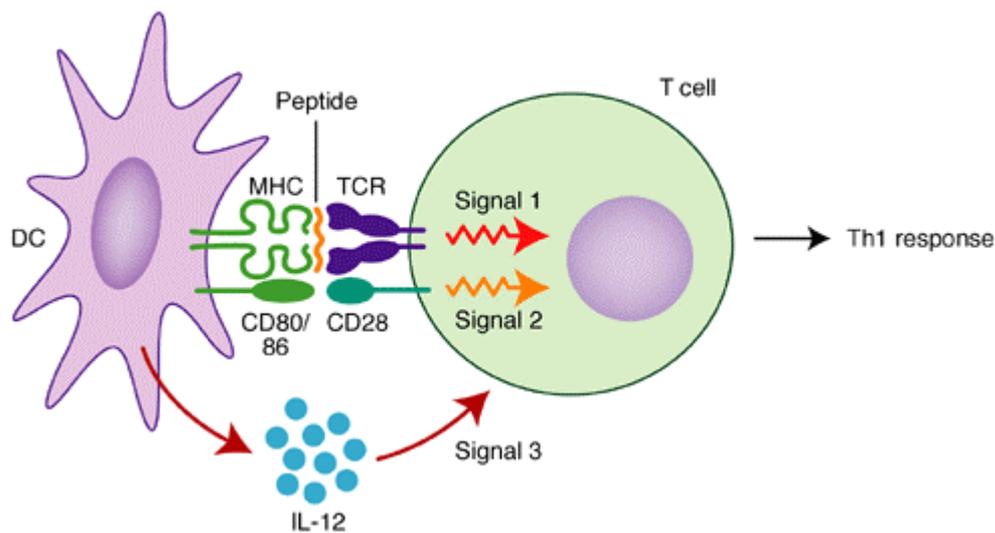


Figure 3 : Interaction entre la cellule dendritique et le lymphocyte T. (Coates, 2002)

Trois signaux sont nécessaires pour obtenir une réponse lymphocytaire T. Le premier signal implique la reconnaissance par le récepteur T du lymphocyte T (TCR) du peptide antigénique présenté par le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de la cellule dendritique. Le deuxième signal implique l'interaction des molécules de co-stimulation (CD80, CD86) de la cellule dendritique avec le CD28 du lymphocyte T. Le troisième signal implique la sécrétion de cytokines par la cellule dendritique qui participent à la polarisation de la réponse lymphocytaire. Ici, la sécrétion d'IL-12 induit un profil Th1. La sécrétion IL-6 par la cellule dendritique induirait un profil Th2.

4 - L'orientation de la réponse immunitaire

La DC a un rôle déterminant dans l'orientation de la réponse immune faisant intervenir son degré de maturité (expression des molécules de co-stimulation), son profil de sécrétion de cytokines ou encore le nombre de DC présentes au niveau des organes lymphoïdes secondaires. De plus, la nature de l'antigène, la quantité, le temps d'exposition et les facteurs environnementaux déterminent la sécrétion préférentielle de certaines cytokines qui peuvent également être impliquées dans la polarisation de la réponse immune.

La sécrétion d'IL-12 par les DC a un rôle majeur dans l'orientation de la réponse immunitaire vers un profil Th1 (Marshall, 1995). L'IL-12 induit la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ en cellules Th1 caractérisées par une forte production d'IFN- γ (DeKruyff, 1995). L'IL-18 agit conjointement avec l'IL-12 pour favoriser la maturation et la production d'IFN- γ par les lymphocytes Th1 (Dao, 1998). L'IL-23 et l'IL-27 participent également au développement d'un profil Th1 (Smits, 2004).

D'autres cytokines produites par les DC favorisent le développement d'une réponse Th2. L'IL-6 est une cytokine qui régule négativement la production d'IL-12, favorisant une réponse Th2 (Dodge, 2003). L'IL-25 favorise une réponse de type Th2 en induisant la production de cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 (Fort, 2001).

Enfin, les DC sécrètent des cytokines immunorégulatrices telles que l'IL-10 impliquée dans les processus de tolérance. Cette cytokine peut réduire la production d'IL-2, de TNF- α et d'IL-5 par les lymphocytes T (Schandene, 1994 ; Taga, 1993). Les DC localisées au sein de la muqueuse bronchique pourraient être à l'origine de la génération de lymphocytes T régulateurs par leur synthèse d'IL-10 (Akbari, 2001). Par ailleurs, une stimulation répétée de lymphocytes T naïfs par des DC immatures conduit à la génération de lymphocytes à activité régulatrice (Roncarolo, 2001 ; Sato, 2003), démontrant ainsi le rôle important des cellules présentatrices d'antigène dans la génération de la tolérance vis-à-vis d'un antigène.

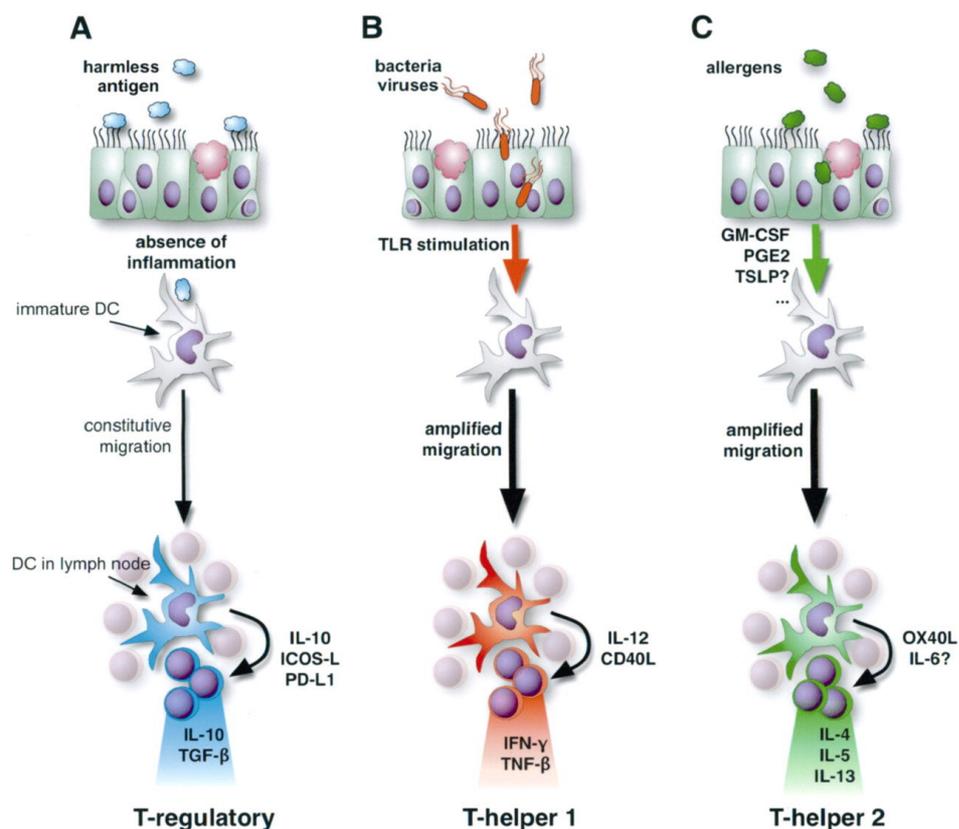


Figure 4 : Représentation schématique des différents types de réponse en fonction des antigènes. (A) En l'absence d'inflammation bronchique, les antigènes inertes sont présentés aux lymphocytes T après un processus normal de migration, et induisent une réponse de type T-régulatrice, favorisée par la sécrétion d'IL-10, d'ICOS (inducible costimulator ligand) et du signal d'apoptose PD-L1 (programmed death ligand-1). (B) Les pathogènes bactériens et viraux activent les DC via les TLRs, induisant une majoration de la migration vers les

lymphocytes T, et induisent une réponse de type Th1 favorisée par la sécrétion d'IL-12 et de CD40L. Cette réponse Th1 est cruciale pour une réponse anti-infectieuse efficace. (C) Les allergènes à activité protéolytique, telles que les allergènes d'acarien, entraînent une rupture de la barrière épithéliale et entrent en contact avec les DC de la sous-muqueuse. La production de GM-CSF et PGE2 favorise l'activation des DC, qui migrent vers les lymphocytes T, et induisent une réponse de type Th2.

D - Caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des DC pulmonaires

1 - Répartition des cellules dendritiques pulmonaires

Les DC ont été identifiées pour la première fois en 1986 au niveau de l'épithélium respiratoire, du parenchyme pulmonaire et de la plèvre viscérale (Sertl, 1986). L'étude des DC pulmonaires est difficile compte-tenu de leur relatif faible nombre et de la difficulté à analyser *in vivo* les marqueurs spécifiques de surface nécessaires à leur caractérisation. Dans les lavages broncho-alvéolaires (LBA) humains et en condition non inflammatoire, un très faible nombre de DC peut-être détecté, exprimant principalement les marqueurs des cellules de Langerhans (CD1a et S100) (Van Haarst, 1994). Une étude analysant les différents types de DC présents au niveau des LBA humains a retrouvé 0,06% de DC myéloïdes et 0,02% de DC plasmacytoïdes parmi les cellules du LBA (Donnenberg, 2003). Au niveau de l'épithélium bronchique, les DC ont les caractéristiques typiques des cellules de Langerhans, caractérisées par la présence de granules de Birbeck et l'expression de CD1a et forment un réseau d'immuno-surveillance comparable à celui des LC dans l'épiderme. En l'absence d'inflammation, le nombre de DC au niveau des voies aériennes est de l'ordre de 500 à 800 DC par mm² de surface épithéliale au niveau des bronches souches et diminue au niveau des petites voies aériennes (Schon-Hegrad, 1991). Au niveau du parenchyme pulmonaire, les DC sont principalement présentes au niveau des septa intralvéolaires et sont à un stade immature caractérisé par une forte capacité d'internalisation des antigènes (forte expression du récepteur au mannose) et une faible capacité de stimulation des lymphocytes T (Cochand, 1999). Plus récemment, il a été montré qu'il existait d'autres types de DC au niveau du parenchyme pulmonaire de type myéloïde et plasmacytoïde (Desmedts, 2005), soulignant le caractère hétérogène des populations de DC pulmonaires.

2 - Homéostasie et dynamique du pool de cellules dendritiques pulmonaires

En condition physiologique, les populations de DC intraépithéliales se renouvellent toutes les 36 à 48 heures, alors que celles du parenchyme pulmonaire ont une demi-vie d'environ 7 jours. Seules les DC du tractus intestinal ont un renouvellement aussi rapide, tandis que les cellules de Langerhans de l'épiderme sont renouvelées en 21 jours.

En condition inflammatoire, le renouvellement des DC pulmonaires est accéléré. L'inhalation de stimuli microbiens comme le LPS bactérien, des bactéries ou des virus provoque un large afflux de DC vers les tissus pulmonaires (Schon-Hegrad, 1991 ; McWilliam, 1994 ; McWilliam, 1996 ; McWilliam, 1997 ; Lagranderie, 2003). Après exposition à un allergène, le nombre de DC est significativement plus élevé dans la muqueuse bronchique et dans la muqueuse nasale de patients allergiques (Jahnsen, 2000 ; Jahnsen, 2001). Les DC sont plus nombreuses au niveau de l'arbre bronchique chez des patients asthmatiques que chez des sujets non asthmatiques à l'état basal (Bertorelli, 2000).

Dans un modèle d'asthme chez le rat, le nombre de DC dans le LBA est multiplié par 60 après sensibilisation et exposition à l'ovalbumine. L'exposition à l'allergène induit une augmentation du nombre de précurseurs de DC au niveau de la moelle osseuse, donnant un pool plus grand de DC circulantes (Lambrecht, 1999). Des souris sensibilisées à l'ovalbumine et exposées au virus de la grippe ont davantage de DC dans les voies aériennes et l'interstitium pulmonaire (Yamamoto, 2000).

Ces données suggèrent que le recrutement rapide de DC dans la muqueuse respiratoire sous l'influence de divers stimuli, joue un rôle majeur dans l'initiation de la réponse immune. Cette migration est en partie contrôlée par les chimiokines, qui peuvent être produites par les autres cellules de l'inflammation recrutées sur le site-même, mais aussi par les cellules de structure comme les cellules épithéliales bronchiques (Reibman, 2003; Holgate, 2000). La réaction inflammatoire au niveau des voies aériennes chez le patient asthmatique est accompagnée par la production locale de chimiokines et de médiateurs, tels que le CCL2, le CCL5, le CCL7 et le PAF (Platelet Activating Factor), qui sont capables d'attirer des cellules inflammatoires et les DC *in vitro* et *in vivo* (Sozzani, 1995, McWilliam, 1996).

E - Modèles d'étude des cellules dendritiques humaines

Du fait du faible nombre de DC au niveau des voies aériennes et de la difficulté de caractériser leur phénotype *in vivo*, l'étude des DC a longtemps été limitée. Différentes approches *in vitro* permettent actuellement de générer des DC humaines en culture.

Les cellules CD34⁺ de moelle osseuse ou de sang de cordon représentent les précurseurs les plus primitifs des DC. En présence de GM-CSF et de TNF- α , ces précurseurs se différencient simultanément en cellules de Langerhans et en DC interstitielles (Caux, 1996). Après 6 jours de culture, deux sous-populations sont mises en évidence, les précurseurs de cellules de Langerhans (CD1a⁺ CD14⁻) et les précurseurs de DC interstitielles (CD1a⁻ CD14⁺) qui deviendront matures à J14. Le Flt-3 ligand est ajouté en début de culture pour permettre l'expansion des cellules CD34⁺. Le TGF- β ajouté au milieu de culture favorise la génération de DC type Langerhans (Bartz, 2003). Pour améliorer la rentabilité de la culture CD34⁺, Ju et al. ont développé une culture en deux temps où les cellules CD34⁺ sont d'abord cultivées en présence de SCF (Stem Cell Factor), de Flt-3-ligand, de thrombopoïétine et d'hyper-IL-6 (protéine de fusion du récepteur de l'IL-6 soluble) dans un milieu sans sérum permettant d'obtenir un grand nombre de progéniteurs (Ju, 2003). Ensuite, les cellules sont différenciées avec du GM-CSF, de l'IL-4 et du TNF- α afin de générer un grand nombre de DC myéloïdes (Ju, 2003). Des précurseurs plasmacytoïdes peuvent être générées en présence de thrombopoïétine et de Flt-3-ligand (Chen, 2004).

La seconde approche repose sur la différenciation des monocytes sanguins qui représentent les cellules précurseurs les plus utilisées pour obtenir des MDDC (DC dérivées des monocytes) humaines en culture. Ces monocytes, cultivés en présence de GM-CSF et d'IL-4 pendant 6 jours se différencient en DC myéloïdes immatures (Romani, 1996; Sallusto, 1994; Bender, 1996). Les MD-DC ont des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles proches des DC pulmonaires (Cochand, 1999). Ces MDDC expriment le CD1a et sont caractérisées par une forte capacité d'internalisation des antigènes (forte expression du récepteur au mannose). Elles ont une faible capacité de présentation des antigènes aux lymphocytes T, exprimant faiblement les molécules du CMH et les molécules de co-stimulation. Après une stimulation par des facteurs pro-inflammatoires ou par un antigène, les MDDC subissent une maturation caractérisée par une diminution des capacités d'internalisation et une forte capacité à stimuler les lymphocytes T (forte expression des molécules de co-stimulation et des molécules du CMH).

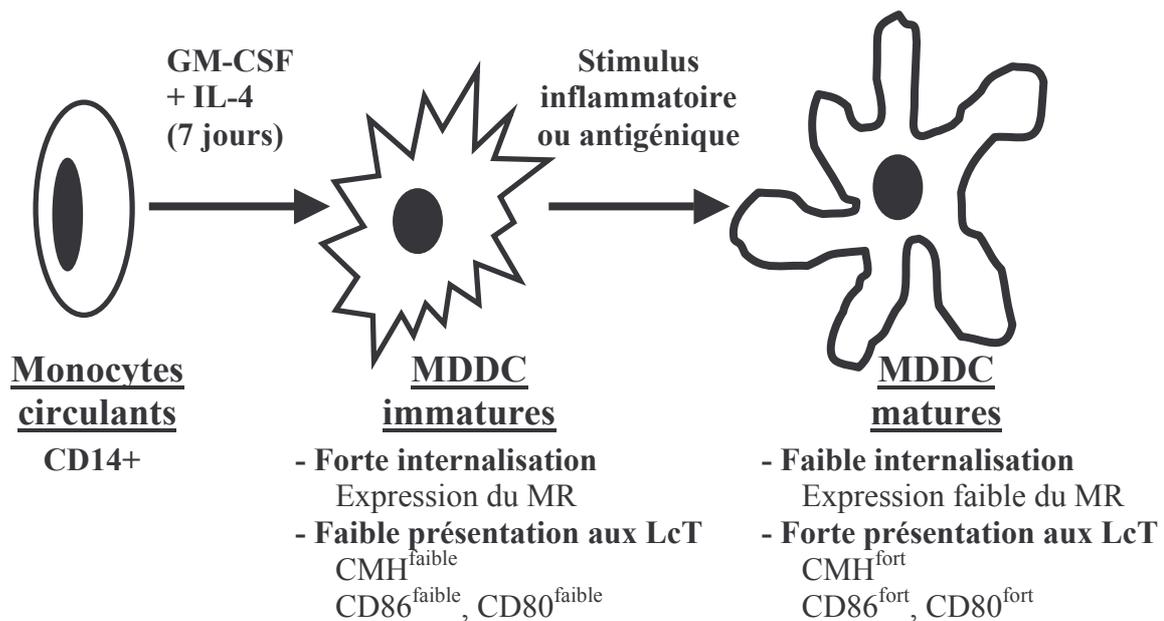


Figure 5 : Caractéristiques des DC générées à partir de monocytes circulants (MDDC)

Concernant l'analyse de la physiologie des DC dans les pathologies respiratoires, les MDDC sont les plus utilisées, notamment compte-tenu de leur homologie phénotypique et fonctionnelle avec les DC pulmonaires (Cochand, 1999). Cependant, les études utilisant les DC générées en culture doivent tenir compte des modifications fonctionnelles engendrées par les méthodes de culture utilisées. La transposition des résultats obtenus avec ces modèles de culture à la physiologie des DC *in vivo* doit tenir compte des altérations phénotypiques et fonctionnelles potentielles des méthodes de culture.

F - Synthèse

Les DC sont les cellules présentatrices d'antigènes professionnelles les plus efficaces du système immunitaire, et sont impliquées dans l'initiation, l'orientation et le maintien de la réponse immune. L'analyse fonctionnelles des DC, notamment au niveau pulmonaire, constitue donc un élément majeur de la compréhension des mécanismes immunologiques impliqués dans la réponse inflammatoire suite au contact avec différents antigènes.

Chapitre II : L'ÉPITHELIUM BRONCHIQUE

A - Description physiologique de l'épithélium des voies aériennes

1 - Anatomie générale de l'épithélium respiratoire

Il existe deux types d'épithélium : les épithéliums de revêtement et les épithéliums glandulaires. L'épithélium des voies aériennes est un tissu de revêtement pseudo-stratifié prismatique cilié comportant des cellules à mucus. L'épithélium est formé de cellules jointives, juxtaposées, solidaires les unes aux autres grâce aux jonctions serrées et adhérentes, et séparées du tissu conjonctif sous-jacent par une membrane basale.

Au moins huit types de cellules épithéliales, distincts d'un point de vue morphologique, sont présents dans l'épithélium respiratoire humain. En se basant sur des propriétés ultrastructurales, fonctionnelles et biochimiques, celles-ci peuvent être classées en trois catégories : les cellules basales, les cellules ciliées et les cellules sécrétoires (Spina, 1998). Au fur et à mesure que les bronches diminuent en taille, il existe une transition vers un épithélium cilié cylindrique simple, puis cubique simple et une diminution du nombre des cellules caliciformes.

L'épithélium respiratoire se divise en trois types différents en fonction du site anatomique, l'épithélium trachéo-bronchique, bronchiolaire et alvéolaire. Au niveau trachéo-bronchique, l'épithélium de surface est pseudostratifié et composé de quatre types cellulaires (cellules ciliées, caliciformes, intermédiaires et basales). L'épithélium glandulaire est constitué de trois types cellulaires (les cellules à mucus, séreuses et myoépithéliales). L'épithélium respiratoire des bronchioles est de type monostratifié et composé de trois types cellulaires (cellules ciliées, neuroépithéliales et de Clara). L'épithélium respiratoire des alvéoles est de type monostratifié et composé de deux types cellulaires (pneumocytes de type I et II).

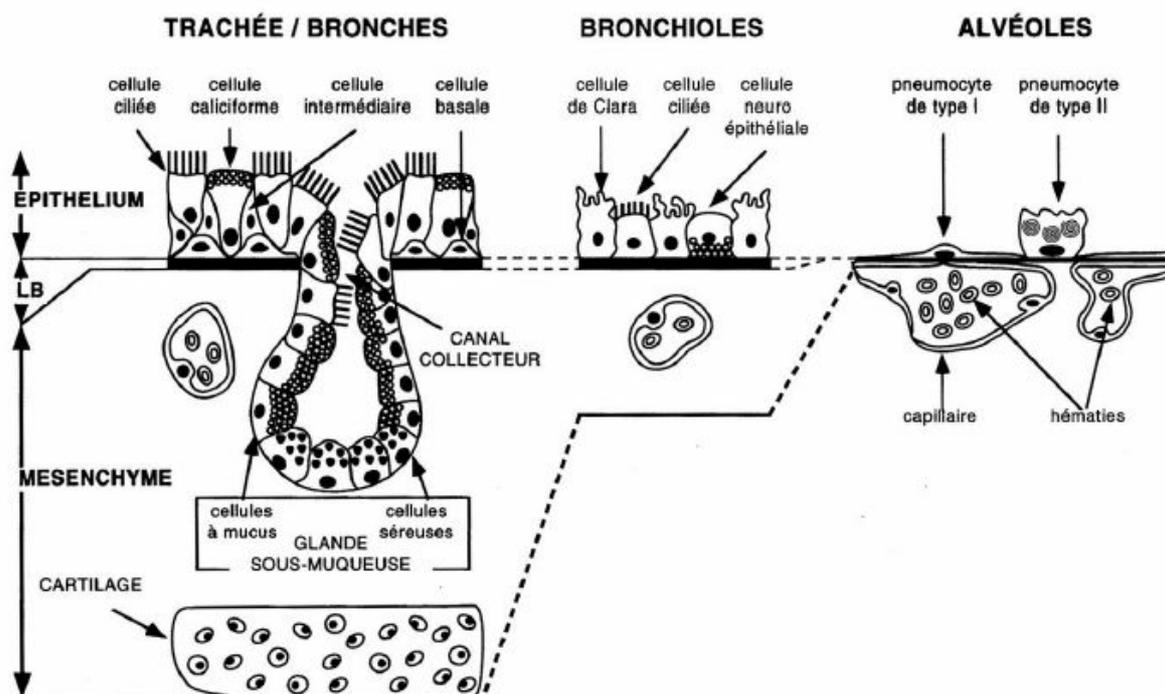


Figure 6 : Les différents épithéliums respiratoires de surface en fonction du site anatomique.

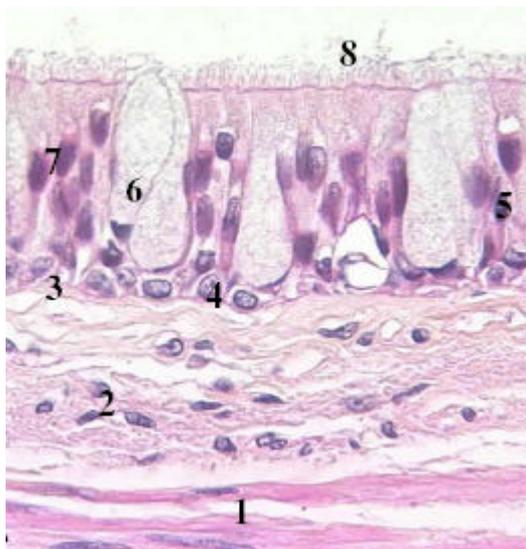
2 - L'épithélium bronchique de surface

Les cellules épithéliales ciliées représentent le principal type cellulaire retrouvé dans l'épithélium bronchique de surface, soit plus de 50% de l'ensemble des cellules épithéliales (Spina, 1998). Les cellules ciliées constituent un stade de différenciation terminale qui ont pour origine les cellules basales ou sécrétoires (Ayers, 1988). Les cellules ciliées sont ancrées à la lame basale et s'étendent jusqu'à la lumière bronchique. Leur rôle est d'assurer la clairance mucociliaire qui permet d'éliminer les aérocontaminants et les micro-organismes. Cette fonction est assurée par les cils situés au pôle apical des cellules (200 à 300 par cellule).

Les cellules sécrétoires ou caliciformes sont caractérisées par la présence de granules peu denses aux électrons en microscopie électronique. Ces granules contiennent des mucines acides sécrétées pour piéger les contaminants dans la lumière bronchique (Jeffery, 1983). La régulation de la production et de la sécrétion de mucus est primordiale pour le bon fonctionnement de l'appareil muco-ciliaire. Au niveau des bronchioles respiratoires et terminales, les cellules caliciformes sont remplacées par des cellules sécrétoires contenant des granules denses aux électrons appelés cellules de Clara. Les cellules caliciformes sont capables de se différencier en cellules épithéliales ciliées (Evans, 1988).

Les cellules intermédiaires sont également ancrées à la lame basale, mais n'atteignent pas la lumière des voies respiratoires. Ces cellules seraient des cellules issues de la division des cellules caliciformes au cours du processus de stratification (Jeffery, 1997).

Les cellules basales sont petites et aplaties. Elles sont attachées à la membrane basale et n'atteignent pas la lumière trachéo-bronchique. Le rapport cytoplasme/noyau est faible. Leur nombre diminue avec le calibre des voies respiratoires (Evans, 1988; Evans, 1990). Ce sont les seules cellules de l'épithélium qui adhèrent fermement à la membrane basale via des héli-desmosomes. Ces cellules basales sont des cellules progénitrices capables de se différencier en cellules caliciformes ou en cellules ciliées (Boers, 1998).



1. cellules musculaires lisses
2. tissu conjonctif
3. lame basale
4. cellules basales
5. cellules intermédiaires
6. cellules caliciformes
7. cellules ciliées
8. cils

Figure 7 : Histologie de l'épithélium bronchique

B - Epithélium bronchique et système de défense des voies aériennes

1 - Les défenses mécaniques

1-1 - La clairance mucociliaire

Un film de mucus dont l'épaisseur varie entre 0,5 et 2 μm recouvre l'épithélium respiratoire de surface depuis les voies aériennes supérieures jusqu'aux bronchioles terminales. Les mouvements ciliaires entraînent la mobilisation des particules piégées au niveau du film de mucus, des petites bronchioles jusqu'à la trachée et le pharynx où elles seront dégluties. Le mucus est constitué de deux phases : une phase aqueuse, dite périciliaire ou phase « sol » de faible viscosité proche de l'eau, et une phase « gel » superficielle caractérisée par une viscosité élevée (Sleigh, 1988).

Les mucines sont les constituants macromoléculaires majoritaires du mucus. Elles se divisent en deux classes, les mucines sécrétées et les mucines membranaires. Les mucines

membranaires sont ancrées à la membrane cytoplasmique. Les mucines secrétées par les cellules caliciformes de l'épithélium bronchique et les cellules muqueuses des glandes sous-muqueuses sont des macromolécules hautement glycosylées ayant une forte viscoélasticité (Rose, 1989). Parmi les mucines sécrétoires, MUC5AC est la mucine prédominante, exprimée au niveau des cellules caliciformes. La sécrétion de mucines peut être augmentée en présence de pathogènes, allergènes ou sous l'effet de médiateurs inflammatoires (Rubin, 1990).

Les mouvements des cils, la sécrétion de fluide et la sécrétion de mucines sont trois facteurs qui conditionnent l'efficacité de la clairance mucociliaire. La dysrégulation de l'un ou l'autre de ces éléments entraîne une altération majeure des capacités de défense mécanique des voies aériennes.

1-2 - L'intégrité de la barrière épithéliale

L'architecture pseudostratifiée ancrée à la lame basale et les différents types de jonctions intercellulaires confèrent à l'épithélium respiratoire un rôle de barrière très efficace.

Les jonctions serrées forment un réseau à la partie la plus apicale de la membrane baso-latérale des cellules ciliées. Elles sont associées à différentes protéines, telles que *zonula occludens 1* (ZO-1) et occludine. ZO-1 est une protéine cytoplasmique de 225 kDa située aux points de fusion des filaments du cytosquelette d'actine. L'occludine est une protéine cytoplasmique de 65 kDa située aux points de contact entre les membranes. Le rôle des jonctions serrées est d'assurer l'imperméabilité de l'épithélium évitant la pénétration de bactéries dans la muqueuse respiratoire (Godfrey, 1992), tout en permettant la diffusion des petites molécules chargées et hydrophiles telles que les ions. Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* induisent une dégradation de la protéine ZO-1, diminuant ainsi l'intégrité de la barrière épithéliale (Coraux, 2004).

Les jonctions intermédiaires sont situées sous les jonctions serrées et forment des complexes jonctionnels le long de la membrane baso-latérale des cellules ciliées. Ces jonctions sont composées notamment d'actine α , de tropomyosine et de myosine, et sont liées aux complexes intercellulaires de caténines, elles-mêmes liées aux cadhérines (Yamada, 1997 ; Franke, 1989). Les cadhérines, et notamment la E-cadhérine, sont des glycoprotéines transmembranaires qui permettent l'adhérence des cellules épithéliales adjacentes.

Les desmosomes sont des complexes jonctionnels liant les cellules ciliées aux cellules basales et aux cellules ciliées adjacentes (Leube, 1991). Les desmosomes sont constitués de desmoplakines et de glycoprotéines transmembranaires formant une plaque cytoplasmique

dense. Les plaques intracellulaires de ces complexes jonctionnels sont liées aux protéines des filaments intermédiaires de type cytokératine.

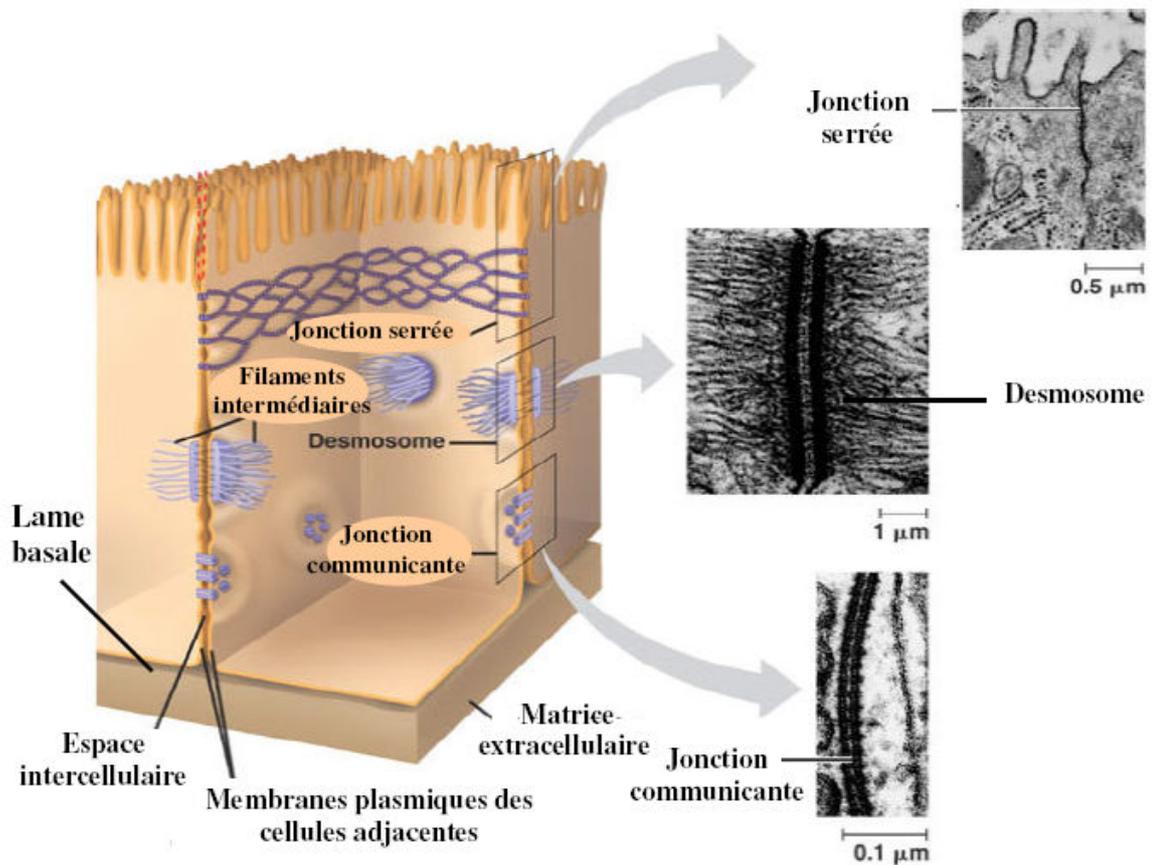


Figure 8: Organisation des complexes jonctionnels des cellules épithéliales

Les cellules épithéliales forment une barrière jonctionnelle grâce aux jonctions serrées situées à la partie la plus apicale de la membrane baso-latérale, et grâce aux desmosomes. Les cellules épithéliales communiquent entre elles grâce aux jonctions communicantes qui permettent le passage de petites molécules intervenant dans la communication intercellulaire.

2 - La production de peptides antimicrobiens

Outre le rôle de barrière mécanique, l'épithélium bronchique sécrète des peptides antimicrobiens impliqués dans les mécanismes de protection immédiate contre les invasions bactériennes. Leur production peut être constitutive ou être induite après contact avec des produits microbiens ou des médiateurs pro-inflammatoires (Bals, 1998 ; Harder, 2000).

Les défensines sont des peptides de 3 à 5 kDa, dont les deux familles principales sont les α - et les β -défensines (Schutte, 2002). Ces peptides exercent leurs propriétés antimicrobiennes vis-à-vis des bactéries à gram positif et à gram négatif, des champignons ou des

virus (Kaiser, 2000). En plus de leur activité anti-microbienne, les α -défensines possèdent des propriétés chimioattractantes pour les cellules T CD4⁺ et CD8⁺ (Chertov, 1996 ; Yang, 2000), les DC immatures (Yang, 2000) et les monocytes (Territo, 1989), alors que les β -défensines attirent les lymphocytes T mémoires et les DC immatures, via le récepteur aux chimiokines CCR6 (Yang, 1999).

Le SLPI (secretory leukocyte proteinase inhibitor) est une protéine de 12 kD qui possède des propriétés anti-oxydantes et qui se lie aux sérines protéases pour former des complexes inhibant l'activité des enzymes protéolytiques, telles que l'élastase des neutrophiles, la cathepsine G, la trypsine, la chymotrypsine et la chymase (Vogelmeier, 1991). Le SLPI possède une activité antibactérienne dirigée contre les bactéries à Gram positif et négatif. L'activité antibactérienne est localisée dans le domaine terminal NH₂ alors que l'activité d'inhibition de l'élastase est localisée dans le domaine COOH (Hiemstra, 1996). Les cytokines pro-inflammatoires, IL-1 β et TNF- α , ainsi que l'élastase des neutrophiles augmentent les taux d'ARNm de SLPI dans les cellules épithéliales bronchiques (Maruyama, 1994).

Le lysozyme est une protéine de 15 kDa, ayant une activité enzymatique antibactérienne capable de dégrader les peptidoglycannes des parois bactériennes. Le lysozyme est sécrété principalement par les glandes de la sous-muqueuse trachéale, l'épithélium bronchique de surface et les macrophages alvéolaires (Konstan, 1982).

Les protéines SP-A et SP-D du surfactant pulmonaire sont des collectines produites par les cellules épithéliales caliciformes et les pneumocytes de type II. Elles sont impliquées dans la résistance aux inhibiteurs sériques, mais aussi dans l'agglutination et l'opsonisation des micro-organismes (McCormack, 2002). Ces protéines sont impliquées également dans la modulation de la réponse inflammatoire en interagissant avec les complexes CD14/TLR pour influencer les réponses cellulaires aux pathogènes via le NF- κ B (Sano, 2000 ; Yoshida, 2001).

D'autres peptides anti-microbiens sont sécrétés par l'épithélium bronchique, comme le peptide LL-37/CAP-18, l'élafine, la lactoferrine, la calprotectine, la phospholipase A2 (Bals, 1998 ; Bals, 2004 ; Jeffery, 1987; Emery, 1995).

<p>Peptides anti-microbiens</p>	<p>β-défensines LL-37/CAP-18 Lysozyme Lactoferrine SLPI</p> <p>Elafine Calprotectine Phospholipase A2 SP-A, SP-D</p>
<p>Médiateurs de l'inflammation</p>	<p>Cytokines <i>IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-11, IL-10, IL-16, TNF-α</i></p> <p>Chimiokines <i>CXCL1, 5, 8 (IL-8), 10, CCL2, 3, 5, 7, 8, 11, 13, CCL17, 20, 22</i></p> <p>Médiateurs lipidiques <i>LTB/C/D, PGE2, 15-HETE, PAF</i></p> <p>Facteurs de croissance : <i>GM-CSF, G-CSF, TGF-β, EGF, FGF, PDGF</i></p>

Tableau 2 : Principaux peptides antimicrobiens et médiateurs sécrétés par l'épithélium bronchique.

3 - La production de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance

Les cellules épithéliales bronchiques produisent à l'état basal et/ou sous l'effet de stimuli inflammatoires un grand nombre de cytokines, chimiokines et facteurs de croissances (Tableau 2), conférant à l'épithélium bronchique un rôle dans l'initiation et le maintien de la réponse inflammatoire bronchique.

In vitro, des cellules épithéliales bronchiques mises en présence d'IL-1, TNF-α, TGF-β ou de LPS produisent de façon dose-dépendante de l'IL-6, de l'IL-8 et du GM-CSF. L'exposition à *H. influenzae* induit une production accrue d'IL-6, IL-8 et de TNF-α (Khair, 1996). Les cellules épithéliales bronchiques produisent également des médiateurs lipidiques, tels que le 15-HETE (hydroxy-eicosatétranoic acid), impliqués dans la réponse inflammatoire en stimulant le chimiotactisme des cellules inflammatoires, ainsi que dans les mécanismes de bronchoconstriction (Campbell, 1993). Les cellules épithéliales produisent notamment de la prostaglandine E2 (PGE2) à activité plutôt anti-inflammatoire et bronchodilatatrice, et du leucotriène B4 (LTB4) à activité chimiotactique pour les polynucléaires neutrophiles

De par leurs capacités de production de chimiokines et cytokines, les cellules épithéliales bronchiques sont impliquées dans le recrutement et l'activation des cellules du

système immunitaire, telles que les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, les mastocytes, les lymphocytes T et les DC (Whitsett, 2002).

D'autre part, les cellules épithéliales expriment des molécules du CMH de classe I et II, ainsi que les molécules de co-stimulation CD80 et CD86 dont l'expression est augmentée par des micro-organismes (Papi, 2000). Ainsi, les cellules épithéliales sont capables de présenter des antigènes aux lymphocytes T, de les activer et d'induire une réponse immune locale (Rossi, 1990).

C - Modèles d'étude des cellules épithéliales bronchiques humaines

L'épithélium bronchique humain peut être étudié sur des biopsies pulmonaires chirurgicales ou des biopsies bronchiques réalisées au cours d'une fibroscopie bronchique. Ces approches permettent d'analyser les caractéristiques phénotypiques, telles que la nature de l'infiltration cellulaire inflammatoire et les éventuelles modifications morphologiques des cellules épithéliales bronchiques de façon quantitative et qualitative. Ces approches ont permis de définir des profils phénotypiques de l'épithélium bronchique au cours des pathologies respiratoires, mais ne permettent pas d'étudier la réponse de l'épithélium bronchique à différents stimuli (Maestrelli, 2001).

La réalisation de biopsies bronchiques avant et après une stimulation inflammatoire dans le cadre de protocoles expérimentaux permet d'analyser la contribution de l'épithélium dans la réponse inflammatoire vis à vis de ces stimuli. Ces approches ont permis de montrer qu'une stimulation inflammatoire telle que le LPS, entraînait une augmentation de la production de médiateurs inflammatoires par l'épithélium bronchique (Roos-Engstrand, 2005).

Cependant, ces approches expérimentales d'exposition inflammatoire *in vivo* avec réalisation de prélèvements répétés pose des problèmes éthiques, notamment dans le cadre de pathologies inflammatoires chroniques. De nombreux systèmes de culture ont ainsi été proposés pour analyser la réponse des cellules épithéliales bronchiques à différents stimuli. Parmi ces systèmes, la culture cellulaire bi-dimensionnelle (2-D) en monocouche sur support a été la plus utilisée. D'autres systèmes de culture ont été plus récemment développés, permettant de maintenir l'épithélium bronchique dans des conditions les plus proches possibles de la situation *in vivo* : culture en interface air-liquide (Booth, 2001), culture de type xénogreffe consistant en la régénération d'un épithélium humain à partir de cellules épithéliales bronchiques dissociées implantées au niveau d'une trachée de rat dénudée

(Dupuit, 2000), et culture tri-dimensionnelle (3-D) sous forme de sphéroïdes (Jorissen, 1989 ; Pedersen, 1999 ; Laoukili, 2001).

La culture cellulaire bi-dimensionnelle (2-D) en monocouche sur supports de type plastique ou collagène, permet de maintenir en culture les cellules épithéliales bronchiques. L'utilisation de lignées cellulaires bronchiques permet d'obtenir un grand nombre de cellules épithéliales, mais les résultats obtenus avec ce type de cellules transformées ne sont pas toujours représentatifs des cellules épithéliales *in vivo*. L'utilisation de cellules épithéliales primaires à partir de biopsies ou de brossages bronchiques permet de maintenir en culture 2-D des cellules épithéliales non transformées et permet de réaliser des analyses comparatives des réponses inflammatoires épithéliales à une stimulation *in vitro* (Cromwell, 1992, Schulz, 2004, Profita, 2003). Cependant, ces système de culture 2-D nécessitent des étapes de dissociation et de prolifération, qui entraînent une dédifférentiation et la perte de certaines caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des cellules épithéliales *in vivo*. Par exemple, la culture 2-D de cellules épithéliales à partir de polype nasal entraîne une rapide dédifférentiation avec une perte des cils et des protéines jonctionnelles (Castillon, 2002).

La culture cellulaire 3-D sous la forme de sphéroïdes a été décrite essentiellement à partir de cellules épithéliales nasales et de lignées cellulaires (Jorissen, 1989 ; Pedersen, 1999, Carterson, 2005). Les sphéroïdes sont obtenus le plus souvent à partir de cellules épithéliales dissociées issues de polype nasal ou de brossage nasal, et forment ensuite des agrégats cellulaires cohésifs permettant de maintenir l'épithélium en structure 3-D. En comparaison avec le système 2-D, la culture 3-D permet d'obtenir un épithélium polarisé et différencié comportant des protéines jonctionnelles. Ces sphéroïdes ont une plus grande capacité de production de médiateurs inflammatoires après stimulation par rapport au système 2-D (Carterson, 2005). Cependant, les étapes de dissociation, prolifération et agrégation secondaire décrites dans la plupart des systèmes 3-D pourraient profondément modifier les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des cellules épithéliales bronchiques.

Bridges et al. ont décrit une culture 3-D obtenue à partir de lambeaux d'épithélium nasal prélevé par brossage nasal. Ce système permet de maintenir l'épithélium de surface en culture 3-D sans les altérations morphologiques et fonctionnelles induites par la dissociation et la prolifération cellulaire des autres modèles 3-D (Bridges, 1991). Cependant, une des limites de cette technique est la faible quantité de cellules obtenues à partir des brossages nasaux, limitant ainsi les capacités de genèse de sphéroïdes.

D - Synthèse

L'ensemble des propriétés physico-chimiques et inflammatoires de l'épithélium bronchique lui confèrent un rôle clé dans le système de défense des voies aériennes. Outre le rôle de barrière, la réponse inflammatoire de l'épithélium bronchique aux différentes substances inhalées et stimuli inflammatoires constitue un élément majeur de l'immunité bronchique. Une dysrégulation au niveau de l'un ou l'autre des ces mécanismes pourrait être impliquée dans le développement d'une inflammation bronchique chronique.

En conséquence, la compréhension des mécanismes de régulation et éventuellement de dysrégulation de la réponse inflammatoire des cellules épithéliales bronchiques constitue un élément majeur pour la compréhension de la physiopathologie des pathologies pulmonaires inflammatoires bronchiques.

CHAPITRE III : L'ASTHME A COMPOSANTE ALLERGIQUE

A - Définition

L'asthme est une maladie chronique inflammatoire des voies respiratoires entraînant une hyperréactivité vis à vis de différents stimuli tels que les allergènes, les irritants bronchiques, l'air froid, l'exercice et certains pathogènes bactériens ou viraux. Cette hyperréactivité bronchique se traduit par une obstruction bronchique aiguë lors des exacerbations et fait intervenir trois mécanismes impliqués à des degrés divers :

- 1) une bronchoconstriction liée à la contraction des muscles lisses bronchiques de survenue rapide en quelques minutes et de durée habituellement brève ;
- 2) un œdème inflammatoire de la muqueuse bronchique de survenue plus lente de l'ordre de plusieurs heures et de durée plus longue ;
- 3) une hypersécrétion bronchique séro-muqueuse.

L'infiltrat inflammatoire de la muqueuse bronchique est polymorphe comprenant des éosinophiles, mais également des lymphocytes T à prédominance CD4+, des mastocytes et des neutrophiles. Cette inflammation est présente à un stade précoce de la maladie et peut être associée à un remodelage, caractérisé par une abrasion de l'épithélium de surface, un épaississement de la membrane basale, des altérations du muscle lisse bronchique et une altération des capillaires vasculaires.

B - Aspects cliniques et fonctionnels respiratoires

Les symptômes cliniques principaux de la maladie asthmatique sont une dyspnée avec sifflements évoluant par crises paroxystiques et une toux parfois associée à une expectoration séro-muqueuse. La recherche d'épisodes d'exacerbations caractérisés par une dyspnée paroxystique avec sifflements, à recrudescence nocturne ou en rapport avec un facteur déclenchant (effort, exposition allergénique...) cédant spontanément ou après prise de bronchodilatateur constitue un élément important du diagnostic. Entre les exacerbations, il n'existe habituellement pas de symptomatologie et la fonction respiratoire est normale. Quand l'asthme n'est pas contrôlé, les symptômes d'asthme persistent entre les crises. Une forme particulière d'asthme, assez rare, est l'asthme à dyspnée continue au cours duquel la fonction respiratoire est anormale, y compris en dehors des périodes d'exacerbation. Cette dernière entité est parfois difficile à différencier d'une authentique BPCO.

Sur le plan fonctionnel respiratoire, le diagnostic repose sur la mise en évidence d'un trouble ventilatoire obstructif, défini par un rapport volume expiré maximal par seconde (VEMS) sur capacité vitale forcée (CVF) inférieur à 70%, réversible sous bronchodilatateur et/ou test aux corticoïdes. En l'absence de trouble ventilatoire obstructif, un test de provocation à la méthacholine ou à l'histamine permet de rechercher une hyperréactivité bronchique objective, définie par une chute du VEMS de plus de 20%.

Dans un souci de simplification et d'aide à la décision thérapeutique, les asthmes sont classés en fonction de leur gravité selon des critères cliniques et spirométriques.

Stade	Caractéristiques cliniques et fonctionnelles
Intermittent	Symptômes moins d'une fois par semaine Exacerbations brèves VEMS ou débit expiratoire de pointe \geq 80% Variabilité du VEMS ou débit expiratoire de pointe de moins de 20%
Persistant Léger	Symptômes plus d'une fois par semaine, mais moins d'une fois par jour Exacerbations pouvant affecter l'activité et le sommeil Symptômes nocturnes plus de deux fois par mois VEMS ou débit expiratoire de pointe \geq 80% Variabilité du VEMS ou débit expiratoire de pointe de moins de 20-30 %
Persistant modéré	Symptômes quotidiens Exacerbations affectant l'activité et le sommeil Symptômes nocturnes plus d'une fois par semaine VEMS ou débit expiratoire de pointe de 60 à 80% Variabilité du VEMS ou débit expiratoire de pointe de plus de 30 %
Persistant sévère	Symptômes quotidiens Exacerbations fréquentes Symptômes d'asthme nocturne fréquents Limitation de l'activité physique VEMS ou débit expiratoire inférieur à 60 Variabilité du VEMS ou débit expiratoire de pointe de plus de 30 %

Tableau 3: Classification de la sévérité de l'asthme. D'après Global initiative for asthma (GINA), révision 2006.

C - Epidémiologie

La prévalence de l'asthme est décrite comme en augmentation dans les pays industrialisés sur ces 20 dernières années. Dans le monde, on estime que 300 millions de personnes sont touchés par cette maladie (Masoli, 2004). La prévalence varie selon les pays de 1 à 18%. En France, la prévalence de l'asthme est estimée entre 6 et 12% chez l'adulte, et la prévalence d'un asthme symptomatique dans l'année est estimée entre 2 et 5% (Charpin, 2000). Habituellement, l'asthme apparaît chez l'enfant ou chez l'adulte de moins de 30 ans, mais d'authentiques asthmes peuvent se développer plus tardivement. L'association de l'asthme à une rhinite chronique est très fréquente, présente dans 70-80% des asthmes.

Classiquement, le chiffre de 1500 à 2000 décès par an liés à l'asthme est rapporté. Cependant, la plupart de ces décès sont rapportés pour une population de plus de 65 ans, pour lesquels un diagnostic de BPCO est plus probable. D'autre part, les facteurs de co-morbidités notamment cardio-vasculaires sont également probablement impliqués dans cette mortalité rapportée. Cependant, l'asthme aiguë grave constitue effectivement une urgence pouvant menacer le pronostic vital, et justifie d'un traitement urgent adapté reposant sur les bronchodilatateurs et la corticothérapie systémique.

D - Eléments de physiopathologie

Le développement de la maladie asthmatique à composante allergique résulte d'une combinaison de facteurs génétiques, de facteurs environnementaux spécifiques (allergène) et de facteurs endogènes ou exogènes non spécifiques pouvant agir comme facteur aggravant ou prédisposant. Les facteurs allergéniques sont impliqués principalement dans l'asthme de l'enfant et de l'adulte jeune. Les principaux allergènes sont les pneumallergènes, notamment les acariens, les pollens, les moisissures, les poils d'animaux. Les facteurs endogènes ou exogènes non spécifiques sont les pathogènes bactériens ou viraux des voies aériennes, le reflux gastro-oesophagien, certains médicaments, des agents professionnels, des facteurs hormonaux, l'obésité, des facteurs psychologiques, certains polluants atmosphériques et le tabagisme.

La réaction immuno-allergique implique au préalable une sensibilisation à l'allergène caractérisée par la synthèse d'IgE spécifiques de l'allergène après un premier contact. Cette première phase est asymptomatique. La réaction allergique symptomatique survient suite à la réintroduction de l'allergène et à sa fixation aux IgE spécifiques, déclenchant les manifestations d'hypersensibilité immédiate.

Schématiquement, la réaction immuno-allergique se déroule en deux phases. La réaction immédiate survient quelques minutes après le contact avec l'allergène. Elle est caractérisée par l'activation des mastocytes et des basophiles par l'allergène via dimérisation des récepteurs de forte affinité à l'IgE (FcεRI), entraînant la libération de médiateurs inflammatoires induisant un spasme du muscle lisse bronchique, une sécrétion de mucus et un oedème du chorion. La réaction inflammatoire retardée survient après 4 à 6 heures. Elle est caractérisée par une infiltration de la muqueuse par différentes cellules (lymphocytes, éosinophiles, basophiles, macrophages) responsables de l'inflammation de la sous-muqueuse et diminuant le calibre des voies aériennes. Les sous-populations lymphocytaires T CD4+ activées lors de cette phase présentent un profil particulier de production de cytokines de type Th2 (IL-4, IL-5 et IL-13). L'IL-4 et l'IL-13 favorisent la production d'IgE par les lymphocytes B. L'IL-5 est impliquée dans le recrutement et l'activation des éosinophiles qui produisent des médiateurs inflammatoires tels que MCP-3 (monocyte chemotactic protein-3), RANTES (regulated on activation of normal t-cell expressed and secreted) et l'éotaxine (Holgate, 1999 ; Holt, 1999).

La réaction immunitaire allergène-dépendante est basée sur une coopération cellulaire entre les cellules présentatrices d'antigènes, les lymphocytes T CD4+ et les lymphocytes B, et implique de nombreux médiateurs inflammatoires. L'orientation de la réponse immune vers un profil de type Th2 impliquant les IgE après contact avec un allergène constitue un élément fondamental de la susceptibilité individuelle à développer cette réaction. Cependant, les mécanismes d'induction et de maintien de cette réaction immuno-allergique sont incomplètement élucidés.

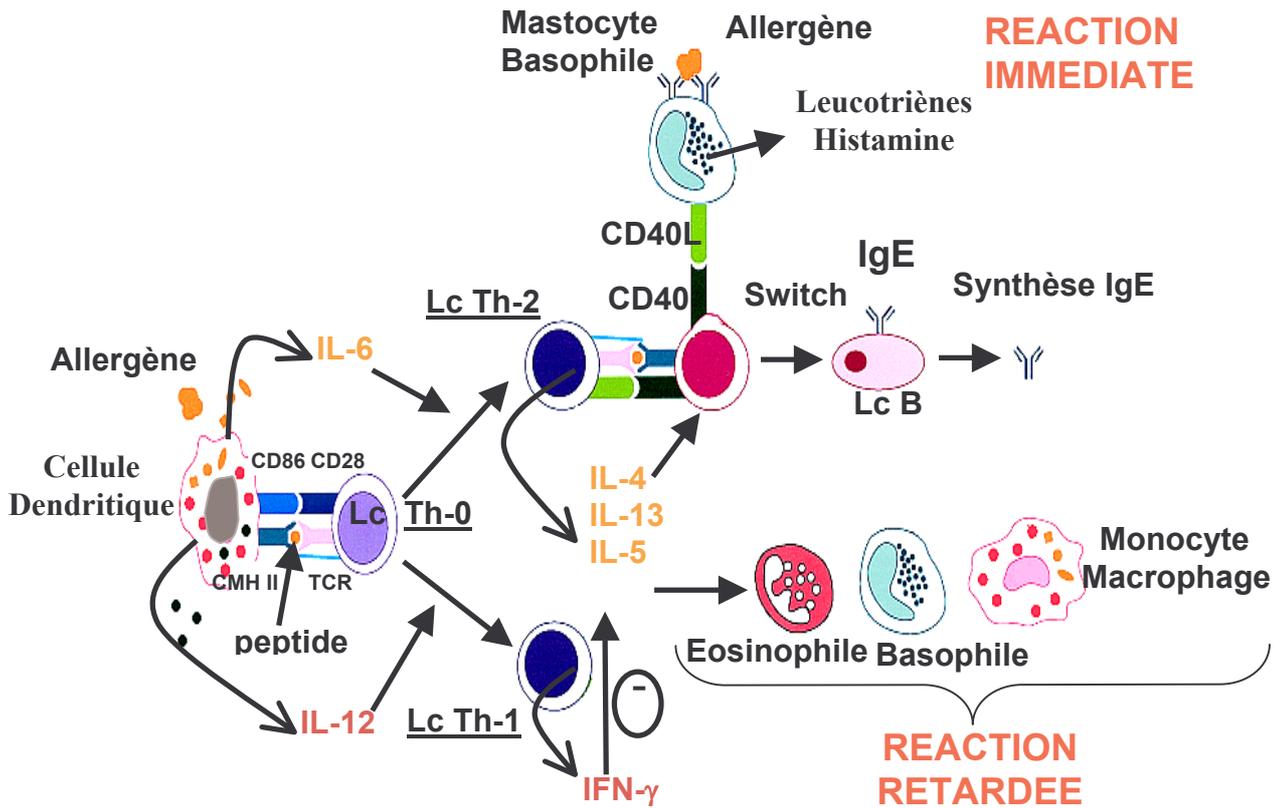


Figure 9 : Schéma général de la réaction allergène-dépendante.

E - Arguments pour l'implication des cellules dendritiques dans l'asthme allergique

Les DC sont impliquées dans l'initiation, le maintien et l'orientation de la réponse immunitaire. Différents arguments expérimentaux plaident en faveur de leur implication dans la physiopathologie de l'allergie respiratoire : 1) le nombre des DC augmente dans les poumons de patients asthmatiques (Bellini, 1993) et au niveau de la muqueuse nasale de sujets présentant une rhinite allergique (Jahnsen, 2000), 2) une stimulation allergénique chez des patients asthmatiques allergiques entraîne un recrutement des DC au niveau bronchique après quelques heures (Jahnsen, 2001), 3) l'administration de DC stimulées par l'ovalbumine dans la trachée de souris naïves induit une sensibilisation de type Th2 menant à une inflammation bronchique avec infiltrat à éosinophiles (Lambrecht, 2000); 4) les DC issues de monocytes de sujets allergiques aux acariens stimulent la production d'IgE humaines dans un modèle animal de souris SCID (souris présentant un déficit immunitaire combiné sévère : severe combined immunodeficiency [SCID]) humanisée (Hammad, 2002) ; 5) la déplétion sélective en DC chez la souris sensibilisée à l'ovalbumine entraîne une abolition de la réponse Th2, une diminution de la production d'IgE et une diminution du recrutement des

éosinophiles, trois éléments spécifiques de la réponse immuno-allergique respiratoire (Lambrecht, 1998).

F - Les facteurs environnementaux allergéniques

1 - Généralités

Les allergènes se définissent comme des antigènes ayant la capacité d'induire la synthèse d'immunoglobulines de type E (IgE) chez des individus prédisposés et de se lier spécifiquement à ces molécules d'IgE fixées sur les cellules effectrices pour déclencher la réaction allergique. Les pneumallergènes, allergènes véhiculés par l'air, sont impliqués dans des manifestations respiratoires, oculaires ou conjonctivales allergiques. Ces allergènes inhalés peuvent être soit saisonniers comme les pollens, soit perannuels comme les acariens de la poussière de maison. Par définition, un allergène majeur d'une substance est celui vis-à-vis duquel au moins 50 % des individus sensibles réagissent en fabriquant des IgE sériques spécifiques.

Les acariens de la famille *Pyroglyphidae* et du genre *Dermatophagoïdes* sont les principaux déterminants des réactions allergiques en rapport avec l'exposition à la poussière de maison. Les acariens appartiennent à l'ordre des arachnides. Les espèces d'acariens les plus représentées sont *Dermatophagoïdes farinae* (Df) en Amérique du nord et *Dermatophagoïdes pteronyssinus* (Dpt) en Europe. Les déjections d'acariens sont la principale source d'allergènes (Krilis, 1984 ; Arlian, 1987). 14 protéines, dont la moitié ont une activité enzymatique, ont été identifiées comme allergènes de Dpt. Les allergènes majeurs de Dpt sont Der p1 et Der p2, vis à vis desquels 70-80 % des sérums de patients sensibilisés aux acariens réagissent à ces allergènes (Meyer, 1994).

Der p1 est principalement retrouvé dans les déjections des acariens (Thompson, 1988). Il s'agit d'une glycoprotéine dont le poids moléculaire est de 25 kDa. Cet allergène présente une activité cystéine protéase proche de celle de la papaïne (homologie à 30 %) et des cathepsines humaines H et B (homologies de 26 et 21 % respectivement). Der p1 est sécrété sous forme d'un précurseur, le proDer p1 dépourvu d'activité enzymatique. Der p1 est retrouvé en forte concentration dans les poussières de maison, de l'ordre de 0.1 à 10 µg/g de poussières (Platts-Mills, 1987).

2 - Rôle de l'allergène majeur d'acarien Der p1 dans la réaction immuno-allergique

De par son activité cystéine protéase, Der p1 peut provoquer le clivage des molécules des jonctions serrées comme l'occludine et la Zonula Occludens-1, favorisant ainsi sa pénétration au niveau de la sous-muqueuse au contact des cellules inflammatoires effectrices (Herbert, 1995 ; Wan, 1999). De plus, l'exposition des cellules épithéliales à Der p1 induit la libération de médiateurs inflammatoires, tels que L'IL-8 et le GM-CSF, qui interviennent dans le recrutement des cellules inflammatoires.

Les MDDC de sujets allergiques aux acariens stimulés par Der p1 ont un profil de réponse spécifique caractérisé par l'expression de la molécule de co-stimulation CD86, la sécrétion d'IL-6 et la production des chimiokines TARC (Thymus and activation-regulated chemokine) et MDC (macrophage-derived chemokine) qui favorisent le développement d'une réponse immunitaire de type Th2 (Hammad, 2001, Hammad, 2002 ; Hammad, 2003). Cette orientation Th2 induite par la DC est spécifique aux patients allergiques, et non retrouvée en utilisant des MDDC issues de sujets non allergiques. L'activité enzymatique de Der p1 est primordiale puisque l'utilisation de son précurseur non-enzymatique proDer p1 ne provoque pas de maturation des DC (Hammad, 2001). Der p1 peut aussi réguler l'activité lymphocytaire par une action directe sur les lymphocytes T, induisant la prolifération des clones CD4⁺ spécifiques de l'allergène, la production d'IL-2, et de cytokines Th2 comme l'IL-4 et l'IL-5 (Yssel, 1992).

Le modèle de la souris SCID (severe combined immunodeficiency) humanisée a permis de mieux comprendre les spécificités des DC *in vivo*. La souris SCID est caractérisée par des anomalies immunologiques affectant la différenciation des cellules T et des cellules B à l'étape de la recombinaison des récepteurs à l'antigène. Ainsi, la souris SCID ne possède pas de lymphocytes B et T matures et fonctionnels. Cette mutation sévère rend la souris SCID tolérante aux greffes de cellules allo- ou xénogéniques. Les souris SCID peuvent ainsi être « humanisées » en les reconstituant avec des cellules mononucléées humaines. Les souris SCID reconstituées avec des cellules mononucléées de sujets allergiques aux acariens et restimulées avec l'allergène *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dpt) par voie intrapéritonéale développent une production d'IgE, une réaction inflammatoire bronchique et une hyperréactivité bronchique non spécifique, trois éléments caractéristiques de la réaction allergique humaine (Pestel, 1994; Duez, 1996 ; Duez, 2000). Ces mêmes souris reconstituées avec des cellules mononucléées de sujets non-allergiques ne présentent pas cette réponse immuno-allergique respiratoire. Après injection intrapéritonéale des DC humaines à des souris SCID, les DC migrent sans stimulation vers les poumons et les organes lymphoïdes

(thymus, rate). Après exposition à des aérosols d'allergène, ces DC présentes au niveau pulmonaire migrent vers les organes lymphoïdes (Hammad, 2000). L'injection intratrachéale de DC issues de patients allergiques et stimulées *in vitro* avec Der p 1, à des souris SCID aboutit : 1) à la migration des DC vers les ganglions médiastinaux, 2) à l'activation de cellules T productrices d'IL-4 et 3) à l'établissement d'une réponse inflammatoire bronchique de type Th2 allergène-spécifique (Hammad, 2002). A l'inverse, l'injection de DC issues de sujets sains non allergiques aux acariens aboutit à une stimulation de cellules T productrices d'IFN- γ orientant la réponse immune vers un profil de type Th-1.

F - Synthèse

Les DC sont impliquées dans l'initiation et le maintien d'une réponse de type immuno-allergique de type Th2 chez les sujets sensibilisés, induisant ainsi une inflammation bronchique chronique. L'interaction des DC avec les allergènes et notamment l'allergène majeur d'acarien Der p 1, semble constituer une étape fondamentale de l'établissement de la réponse immuno-allergique. Cependant, les déterminants de cette réponse différentielle entre les DC de sujets allergiques et non allergiques ne sont pas clairement identifiés.

L'analyse des interactions entre l'allergène Der p 1 et la cellule dendritique constitue donc une étape fondamentale pour la compréhension des spécificités de la réponse immuno-allergique dans le cadre de la maladie asthmatique.

CHAPITRE IV

LA BRONCHO-PNEUMOPATHIE CHRONIQUE OBSTRUCTIVE

A - Définition

La BPCO est définie par une limitation obstructive non réversible des débits aériens d'apparition progressive, associée à une réponse inflammatoire anormale pulmonaire à des particules ou gaz nocifs (GOLD, 2006). Le tabagisme constitue le facteur de risque majeur, impliqué dans plus de 80% des BPCO.

La limitation des débits aériens est caractérisée par un trouble ventilatoire obstructif défini par un rapport Volume Expiré Maximal par Seconde (VEMS) sur Capacité Vitale Forcée (CVF) inférieur à 70% et sans réversibilité significative (amélioration du VEMS < 200ml et < 12%) après test de bronchodilatation et/ou test aux corticostéroïdes. La limitation des débits ventilatoires résulte de deux mécanismes distincts, mais souvent associés : l'obstruction des petites voies aériennes (bronchite chronique obstructive) et la destruction du parenchyme pulmonaire (emphysème).

La bronchite chronique est définie par une toux et une expectoration chronique (au moins 3 mois par an, deux années consécutives). Elle est caractérisée par une inflammation de la muqueuse bronchique, une hyperplasie des glandes muqueuses, une hypersécrétion bronchique et une augmentation de la perméabilité épithéliale. La bronchite chronique n'est pas obligatoirement associée à un trouble ventilatoire obstructif, mais en constitue un facteur de risque. 30% des patients atteints de bronchite chronique développent ultérieurement un trouble ventilatoire obstructif.

La bronchite chronique obstructive ou maladie des petites voies aériennes est caractérisée par une réduction du calibre des bronchioles (bronches < 2 mm de diamètre) en rapport avec des lésions inflammatoires impliquant essentiellement une infiltration cellulaire inflammatoire (lymphocytes T CD8+, macrophages) associée à un remodelage bronchique impliquant notamment une fibrose péribronchique.

L'emphysème est défini par une distension des espaces aériens et une destruction de leur paroi au-delà de la bronchiole terminale. La destruction élective de la bronchiole respiratoire caractérise l'emphysème centro-lobulaire tandis que la destruction de l'ensemble de l'acinus à l'intérieur du lobule secondaire caractérise l'emphysème pan acinaire ou pan lobulaire. La perte des forces de rétraction élastique explique en partie le trouble ventilatoire obstructif par fermeture précoce des petites voies aériennes lors de l'expiration, limitant ainsi

le VEMS. D'autre part, la distension des espaces aériens associée à la fermeture précoce des petites voies aériennes en fin d'expiration, entraîne une augmentation des volumes pulmonaires non mobilisables en fin d'expiration, caractérisée par une augmentation du Volume résiduel (VR) et de la Capacité Pulmonaire Totale (CPT) mesurée par pléthysmographie. Cette hyperinflation pulmonaire se majore à l'effort et constitue un des déterminants majeurs de la dyspnée d'effort.

Les BPCO constituent donc un groupe hétérogène de maladies ayant en commun une obstruction irréversible des débits aériens. On exclut de cette définition d'autres pathologies respiratoires ayant également un trouble ventilatoire obstructif irréversible, telles que les bronchectasies, la mucoviscidose et les bronchiolites.

B - Eléments cliniques et fonctionnels respiratoires

La dyspnée d'effort est le symptôme principal des BPCO. Celle-ci est classiquement d'apparition et de majoration progressive. L'association à une toux et une expectoration chronique traduit l'existence d'une bronchite chronique associée. La BPCO est marquée par des épisodes d'exacerbations, impliquant des pathogènes bactériens et/ou viraux dans 80% des cas. La fréquence des exacerbations est corrélée avec l'aggravation de la BPCO (Donaldson, 2002). L'évolution naturelle de la maladie est celle d'une majoration progressive de l'obstruction bronchique, notamment en cas de poursuite du tabagisme, et peut conduire à une insuffisance respiratoire chronique et au développement d'une hypertension artérielle pulmonaire. Les BPCO sont classées selon leur degré de sévérité, en prenant comme élément d'appréciation principal la valeur du VEMS.

Stade	Caractéristiques fonctionnelles
I : Léger	VEMS/CVF < 70% VEMS ≥ 80% de la valeur prédite
II : Modéré	VEMS/CVF < 70% 50% ≤ VEMS < 80% de la valeur prédite
III : Sévère	VEMS/CVF < 70% 30% ≤ VEMS < 50% de la valeur prédite
IV : Très sévère	VEMS/CVF < 70% VEMS < 30% de la valeur prédite ou VEMS < 50% de la valeur prédite associé à une insuffisance respiratoire chronique (PaO ₂ < 60 mm Hg)

Tableau 4: Classification des BPCO selon le stade de sévérité (Global Initiative for chronic obstructive lung disease, GOLD, 2006)

Cette classification de sévérité en fonction du VEMS a l'avantage d'une grande simplicité, mais ne prend pas en compte l'ensemble des déterminants de la sévérité des BPCO. Plus récemment, il a été proposé un score multifactoriel, le score de BODE, prenant en compte la valeur du VEMS, les performances de marche mesurées par le test de marche de 6 minutes, l'index de masse corporelle (rapport poids/taille²) et le score de dyspnée évalué sur l'échelle MMRC (Modified Medical Research Council). Ce score, côté de 0 à 10, a une valeur pronostique meilleure que le VEMS seul et rend mieux compte de la sévérité de la maladie (Celli, 2004). D'autres éléments tels que la perception de la dyspnée, la dysfonction muco-ciliaire, l'hyperinflation et l'atteinte systémique associée sont impliqués dans la sévérité de la maladie. D'autre part, les co-morbidités notamment cardiovasculaires, musculaires, psychologiques sont très fréquentes, et influent également sur la sévérité de la maladie en terme de symptômes et d'altération de la qualité de vie.

C - Epidémiologie

La prévalence de la BPCO augmente avec l'âge et apparaît dans la grande majorité des cas après 40 ans. Le risque pour un fumeur de développer une BPCO est classiquement estimé à 15-25%, mais pourrait être supérieur. Récemment, une étude réalisée dans 5 grandes villes d'Amérique du sud a retrouvé une prévalence de la BPCO chez les patients de plus de 60 ans de 18,4% au Mexique à 32,1% en Uruguay (Menezes, 2005). Cette étude confirmait l'augmentation de la BPCO avec l'âge, puisque pour la tranche d'âge 40-49 ans, la prévalence était estimée entre 2 et 8%. En France, la prévalence de la BPCO est estimée à 15,5 % chez les hommes et 14,8% chez les femmes. Cependant, la prévalence des BPCO sévères (VEMS < 50%) est relativement faible, estimée à 1,4%, alors que la prévalence des BPCO modérées (VEMS entre 50 et 70% dans cette étude) est estimée à 5,4% (Molinie, 2003). L'Organisation Mondiale de la Santé prévoit qu'en 2020, la BPCO sera la 3^{ème} cause mondiale de mortalité et la 5^{ème} cause mondiale de morbidité.

Le tabagisme constitue le facteur de risque principal des BPCO, impliqué dans plus de 80% des cas. Le tabagisme joue donc un rôle majeur dans le développement de la maladie, mais les facteurs de susceptibilité individuelle au tabagisme ne sont pas clairement élucidés. Une susceptibilité d'origine génétique est probablement impliquée dans certaines BPCO et a été clairement démontrée pour le déficit en α 1-antitrypsine induisant un emphysème de type panlobulaire. D'autre part, d'autres facteurs environnementaux peuvent agir comme facteur d'initiation ou comme co-facteur associé au tabagisme. Les polluants professionnels minéraux, chimiques ou organiques sont responsables de 20% des BPCO. Un excès de risque

est reconnu dans divers secteurs d'activité : secteur minier et industrie extractive (en particulier les mines de charbon), industrie du textile, milieu céréalier, élevage de porcs et production laitière, mais aussi les secteurs de la cimenterie, métallurgie, soudure à l'arc, travail du bois. Des facteurs infectieux bactériens ou viraux sont également probablement impliqués dans la genèse et l'aggravation des BPCO.

D - Eléments de physiopathologie

La fumée de tabac comporte de multiples composés chimiques incluant des radicaux libres et oxydants, à activité pro-inflammatoire et lésionnelle au niveau broncho-pulmonaire. Dans la BPCO, il semble exister une réponse anormale à la fumée de tabac et à éventuellement d'autres facteurs, induisant le développement d'une inflammation broncho-pulmonaire chronique et la destruction du parenchyme pulmonaire.

L'inflammation broncho-pulmonaire est caractérisée dans les BPCO par une infiltration cellulaire associant les neutrophiles, macrophages et lymphocytes T CD8+. Par comparaison avec des sujets fumeurs non BPCO, on note dans la BPCO une augmentation du nombre de lymphocytes TCD8+ et macrophages au niveau de l'épithélium bronchique (Fournier, 1989), une augmentation des neutrophiles des glandes sous-muqueuses, et une augmentation des neutrophiles, macrophages et lymphocytes TCD8+ dans les lavages broncho-alvéolaires. Le site principal de l'infiltration inflammatoire est localisé au niveau des petites voies aériennes (Hogg, 2004). L'activation des lymphocytes T CD8+ à activité cytotoxique favorise la sécrétion de TNF- α impliqué dans la destruction du parenchyme pulmonaire. Il s'associe à cette infiltration inflammatoire, une fibrose péri-bronchiolaire et une hypertrophie des muscles lisses (Saetta, 2001, Maestrelli, 2001). L'hyperplasie des glandes muqueuses est présente à la fois chez les fumeurs BPCO et non BPCO.

Les cellules épithéliales bronchiques et les macrophages alvéolaires sont en contact direct avec les constituants de la fumée de tabac et leur activation peut entraîner la production de médiateurs inflammatoires, tels que l'IL-8 et le LTB4 impliqués dans le chimiotactisme des neutrophiles. Le recrutement et l'activation des neutrophiles induit la production de protéases (élastase neutrophile, protéinase-3, cathepsine G) impliquées dans la destruction du parenchyme pulmonaire en induisant un déséquilibre de la balance protéase-anti protéase.

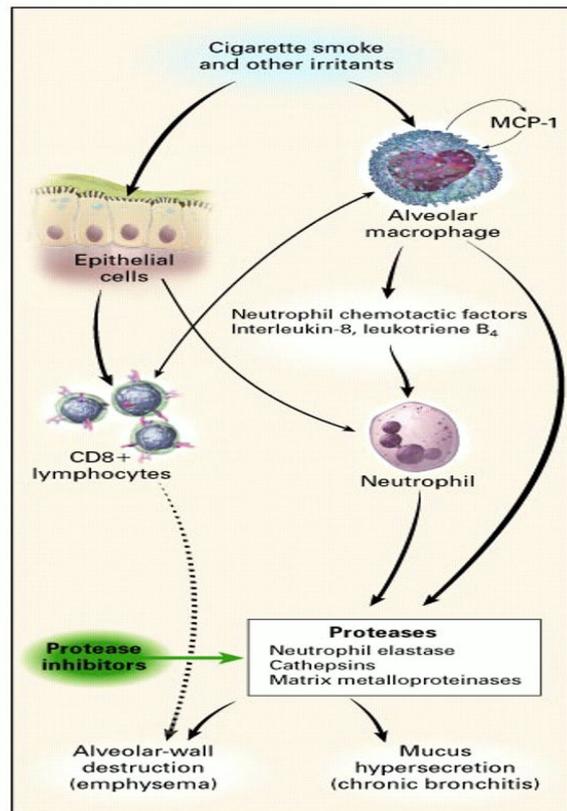


Figure 10: Schéma général des mécanismes engendrés par l'action du tabagisme sur les cellules épithéliales bronchiques et les macrophages au cours des BPCO (Barnes, 2000)

Les arguments pour considérer que la balance protéase-antiprotéase est impliquée dans la physiopathologie de l'emphysème pulmonaire sont les suivants : 1) le risque d'emphysème est augmenté chez les individus ayant un déficit en α -1 antitrypsine qui est le principal inhibiteur de l'élastase neutrophile (Stoller, 2003) ; 2) des facteurs protéasiques tels que l'élastase neutrophile (Lucey, 1985) et la protéinase 3 (Kao, 1988), deux sérines protéases produites par les neutrophiles, et les cathepsines B et G (Lesser, 1992), peuvent induire un emphysème dans des modèles animaux ; 3) les métalloprotéases (MMP) produites par les neutrophiles et macrophages, telles que MMP-1 (Imai, 2001), MMP-2 (Segura-Valdez, 2000) et MMP-14 (Ohnishi, 1998) sont surexprimés dans les tissus pulmonaires emphysémateux ; 4) des inhibiteurs spécifiques de ces protéases permettent de protéger d'un emphysème des souris soumises à un tabagisme expérimental (Wright, 2002 ; Selman, 2003) ; 5) des manipulations génétiques de ces facteurs protéasiques, telles que la délétion du gène MMP-12 (souris MMP-12 KO) permettent de protéger les souris exposées à un tabagisme expérimental de l'emphysème (Hautamaki, 1997).

Au niveau pulmonaire, un déséquilibre de la balance entre les facteurs protéasiques, tels que la neutrophile elastase, la protéinase 3, les cathepsines, les métalloprotéases (MMP-1, 2, 9 et

12), et les facteurs anti-protéasiques, tels que l' α 1-antitrypsine, les inhibiteurs des MMP, mais aussi l'elafine et le SLPI (secretory leukoprotease inhibitor), pourrait être impliqué dans la genèse de l'emphysème.

Le stress oxydatif, impliquant les radicaux libres de l'oxygène, est un autre élément potentiellement impliqué dans la physiopathologie des BPCO. Le stress oxydatif est augmenté dans les BPCO, notamment en cas d'exacerbation (Dekhuijzen, 1996). Le stress oxydatif est lié à la fumée de cigarette, mais aussi aux cellules inflammatoires (neutrophiles, macrophages). Le stress oxydatif induit : 1) des lésions directes sur l'épithélium, 2) un recrutement des cellules inflammatoires par activation du facteur NF- κ B (nuclear factor- κ B) régulant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-8, 3) une diminution de l'activité des facteurs anti-protéasiques tels que l' α 1-antitrypsine et le SLPI, 4) une augmentation de la production de mucus, 5) une bronchoconstriction et un œdème en rapport avec la production d'isoprostanes (Barnes, 2000).

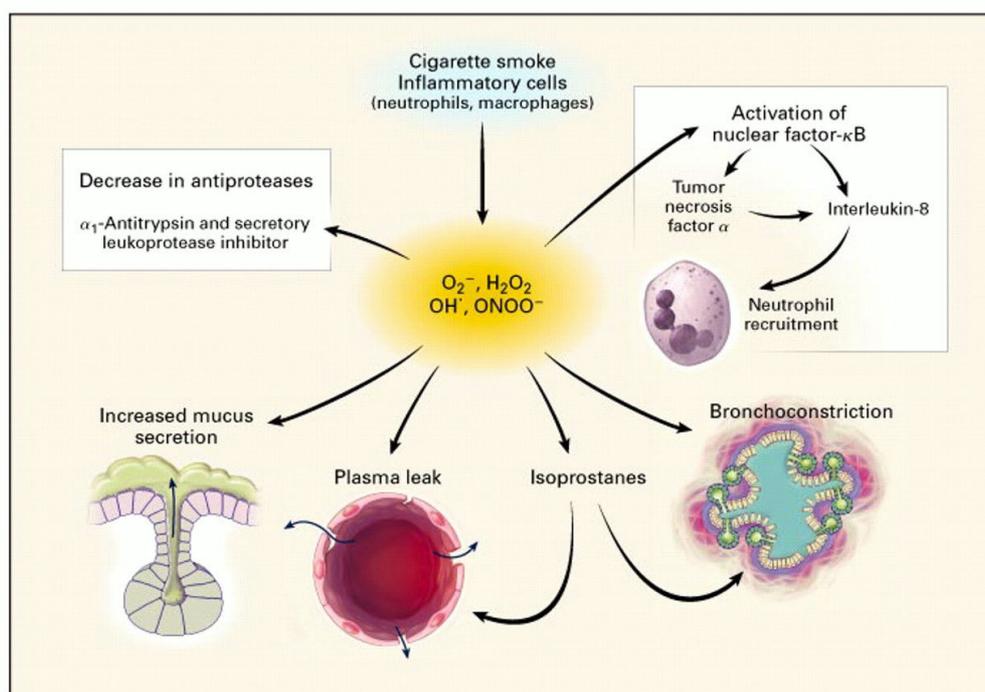


Figure 11: Implication du stress oxydatif dans la physiopathologie de la BPCO (Barnes, 2000)

Enfin, des facteurs infectieux bactériens et/ou viraux sont probablement impliqués au moins comme co-facteurs dans la genèse et l'aggravation des BPCO (Wedzicha, 2004). Les colonisation bactériennes et virales sont fréquentes dans les BPCO. Dans les exacerbations, les facteurs infectieux représentent 80% des causes et sont associés à une accélération du déclin du VEMS et donc à une majoration de la sévérité de la maladie (Donaldson, 2002).

Cependant, la contribution exacte des pathogènes bactériens et viraux dans la BPCO reste à déterminer.

Il a été récemment émis l'hypothèse que des mécanismes d'auto-immunité pourraient également être impliqués dans la genèse des BPCO. Le nombre de follicules lymphoïdes comportant des lymphocytes B et T est augmenté au niveau des petites voies aériennes des BPCO sévères (Hogg, 2004). Le nombre de follicules lymphoïdes comportant des lymphocytes B est également augmenté dans un modèle animal d'emphysème induit par la fumée de tabac (van der Strate, 2006). Les produits de dégradation de la matrice extracellulaire, mais également des cellules épithéliales et endothéliales pourraient constituer des cibles potentielles d'auto-anticorps (Taraseviciene-Stewart, 2006). Ce concept d'auto-immunité reste cependant à démontrer de façon formelle.

E - Arguments pour l'implication des cellules épithéliales bronchiques dans la BPCO

L'épithélium bronchique constitue l'interface majeure des voies aériennes avec le milieu environnant inhalé. Outre le rôle majeur de barrière physico-chimique, l'épithélium bronchique est une source potentielle de médiateurs inflammatoires produits à l'état basal et après stimulation par la fumée de cigarette (Ruznak, 2000) et de pathogènes bactériens (Denning, 1998 ; Khair, 1994 ; Palmberg, 1998). Ces médiateurs inflammatoires, tels que l'IL-8, sont impliqués dans le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires au site de la stimulation.

Plusieurs études ont analysé de façon comparative la réponse inflammatoire à différents stimuli de cellules épithéliales bronchiques issues de patients BPCO et de sujets sains. Ces analyses ont utilisé des cultures cellulaires 2-D obtenues à partir de biopsies bronchiques ou de brossages bronchiques. A l'état basal avant stimulation, le niveau de production de médiateurs inflammatoires par les cellules épithéliales, tels que l'IL-8, était différent selon les études retrouvant des taux inférieurs, égaux ou supérieurs entre BPCO et non BPCO (Profita, 2003 ; Patel, 2003 ; Schulz, 2004). L'activation des cellules épithéliales par la fumée de cigarette induit une production d'IL-1 β supérieure chez les patients BPCO par rapport aux fumeurs non BPCO (Rusznak, 2000). Après stimulation par le TNF- α , les cellules épithéliales des patients BPCO produisent plus d'IL-8 et d'IL-6 (Patel, 2003 ; Schulz, 2004). Ces résultats suggèrent un état d'hyperréactivité inflammatoire de l'épithélium bronchique au cours des BPCO, qui pourrait être impliqué dans la physiopathologie de la BPCO.

D'autre part, l'épithélium bronchique produit le SLPI, facteur anti-protéasique inhibant l'activité de l'élastase neutrophile. La production quantitative et qualitative de SLPI par l'épithélium bronchique n'a jamais été étudié dans la BPCO.

F - Les facteurs environnementaux

Le tabagisme constitue le facteur de risque majeur de la BPCO. La fumée de tabac contient de multiples composants chimiques et oxydatifs qui peuvent être impliqués dans la genèse de l'inflammation bronchique. Ces composants peuvent agir sur plusieurs aspects de la physiopathologie de la BPCO : stimulation de la sécrétion de médiateurs inflammatoires, effet toxique direct sur l'épithélium et la matrice extracellulaire, déséquilibre de la balance protéase-anti protéase par différents mécanismes et induction d'un stress oxydatif.

Parmi de nombreux composés chimiques, il a été démontré que la fumée de cigarette contient de 0,12 à 20 µg de LPS par cigarette, et que le LPS constitue un élément majeur de l'inflammation induite par la fumée de tabac (Hasday, 1999).

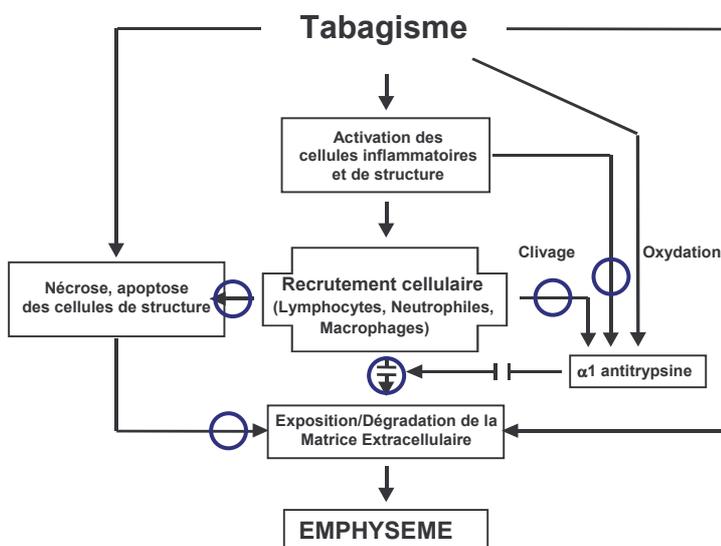


Figure 12: Schéma physiopathologique de l'emphysème induit par le tabagisme.

Trois voies sont indiquées. Les cercles bleus indiquent les étapes où les protéases sont potentiellement impliquées.

1) Les composants de la fumée de tabac recrutent des cellules inflammatoires au niveau des voies aériennes via des médiateurs sécrétés par les cellules inflammatoires résidentes et les cellules de structure pulmonaire. Les cellules de structure et les cellules inflammatoires recrutées et activées sécrètent des protéases et des oxydants qui dégradent la matrice extracellulaire pulmonaire.

2) La fumée de tabac diminue la viabilité des cellules pulmonaires de structure, accélérant les phénomènes de nécrose et d'apoptose, ce qui induit la libération de protéases qui dégradent la matrice pulmonaire.

3) La fumée de tabac diminue la fonction des inhibiteurs des protéases tels que l'α1-antitrypsine, favorisant l'activité protéasique.

Nous envisagerons plus spécifiquement ici l'implication potentiel du LPS dans la genèse de l'inflammation bronchique.

1 - Le Lipopolysaccharide (LPS)

Le lipopolysaccharide (LPS) est le constituant principal de la membrane externe des bacilles à Gram négatif et un contaminant ubiquitaire de l'environnement. Le LPS agit comme un puissant agent pro-inflammatoire de type PAMP (pathogen-associated molecular patterns) capable d'induire une réponse immune de type innée par de nombreuses cellules du système immunitaire, telles que les monocytes, macrophages, lymphocytes T et DC (Beutler, 2002). La réponse au LPS implique le TLR4 associé aux molécules CD14 et MD-2. L'interaction du LPS avec le complexe TLR4/CD14 entraîne une cascade d'activation intracellulaire via le complexe de signalisation du récepteur à l'IL-1, impliquant les protéines adaptatrices MyD88 (myeloid differentiation) et TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6), ainsi que la sérine-thréonine-kinase IRAK. De nombreuses kinases sont impliquées dans les différentes voies de transduction du signal, notamment des MAP kinases (mitogen-activated protein kinases) telles que ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase) et la p38 kinase (Takeuchi, 2000). Cette transduction du signal aboutit à l'induction du codage de multiples gènes des médiateurs inflammatoires.

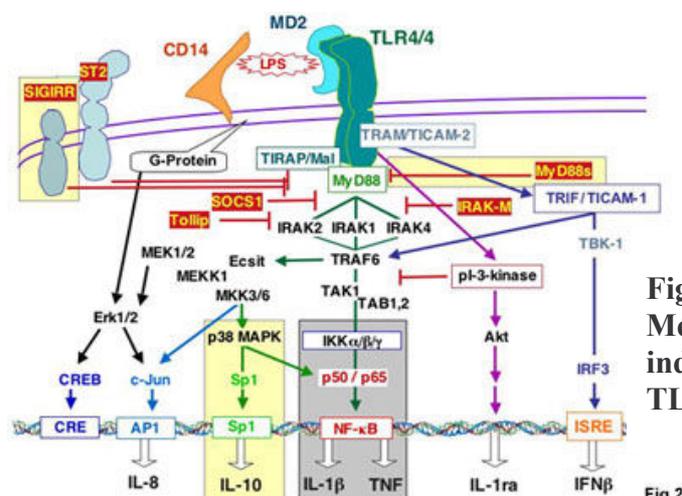


Figure 13 : Mécanismes de transduction du signal induit par l'activation par le LPS du TLR4 et du CD14

Au niveau des cellules immunes monocytes/macrophages, une stimulation par 1 ng/ml de LPS induit une réponse inflammatoire caractérisée par une augmentation significative de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-8. Au niveau des cellules épithéliales bronchiques, une stimulation par 1-10 µg/ml de LPS est nécessaire pour obtenir une réponse équivalente en terme de production d'IL-8. Alors que les

monocytes/macrophages expriment fortement le TLR4 à la membrane, les cellules épithéliales bronchiques n'expriment pas le TLR4 à la membrane à l'état basal. Cependant, le TLR4 est présent au niveau intracellulaire et détecté par RT-PCR. Il a été récemment démontré que l'interaction entre le LPS et le TLR4 est réalisée au niveau intracellulaire, et active les molécules de transduction du signal ERK1/2, MyD88, IRAK et TRAF6, ainsi que le facteur de transcription NF- κ B, aboutissant à la production de médiateurs inflammatoires (Guillot, 2004).

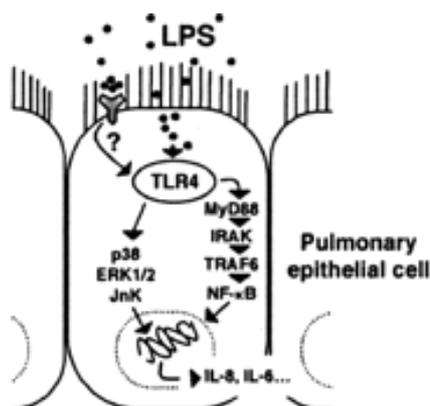


Figure 14 : Modèle proposé d'activation des cellules épithéliales bronchiques par le LPS.

Après un passage transmembranaire passif ou médié par récepteur dont la nature n'est pas déterminée, le LPS est internalisé et transporté jusqu'au TLR4 intracellulaire. L'interaction TLR4/LPS entraîne une transduction du signal aboutissant à l'activation des gènes des cytokines inflammatoires telles que l'IL-6 et l'IL-8. (D'après Guillot, 2004)

D'autre part, il a été montré que le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) entraînait une expression de TLR4 à la membrane des cellules épithéliales bronchiques, induisant ainsi une plus grande réactivité des cellules épithéliales au LPS (Monick, 2003). Il est à noter que ces résultats ont été obtenus avec des lignées cellulaires bronchiques (BEAS-2B) ou alvéolaires (A549) et n'ont pas été clairement identifiés sur des cellules primaires. Ces résultats suggèrent cependant que le LPS active les cellules épithéliales. L'interaction avec le TLR4 est fondamentale et régulée par des facteurs viraux.

2 - Rôle potentiel du LPS dans la BPCO

Compte tenu de ces capacités à induire une réponse inflammatoire, le LPS constitue un élément potentiel d'initiation et/ou de maintien de l'inflammation bronchique chronique.

Chez des sujets sains, l'inhalation expérimentale de LPS entraîne un afflux de cellules inflammatoires et une augmentation de la production de médiateurs inflammatoires au niveau bronchique (Michel, 1997 ; Sandstrom, 1992). De plus, des études épidémiologiques suggèrent que le niveau d'exposition au LPS dans certaines professions constitue un facteur de risque à développer une BPCO (Schwartz, 1995). Chez la souris, l'exposition intratrachéale chronique au LPS entraîne le développement d'une inflammation broncho-

pulmonaire de type BPCO (Vernooy, 2002). Ces résultats suggèrent que la régulation de la réponse inflammatoire au LPS pourrait constituer un élément impliqué dans la physiopathologie de la BPCO. Cependant, l'existence de spécificités fonctionnelles de réponse de l'épithélium bronchique au LPS dans la BPCO n'a jamais été démontrée.

G - Synthèse

L'analyse comparative de la réponse de l'épithélium bronchique de patients BPCO et non BPCO à des stimuli environnementaux tels que le LPS, constitue un élément probablement fondamental de compréhension de la physiopathologie des BPCO. Cependant, l'analyse fonctionnelle de l'épithélium bronchique humain *in vivo* est limitée et le recours à des cultures cellulaires est nécessaire. Le maintien des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles de l'épithélium bronchique n'est pas obtenu par les cultures classiques en 2-D. La mise au point de modèle de cultures cellulaires le plus proche possible des conditions *in vivo* constitue un préalable nécessaire pour aborder la contribution d'une éventuelle dysrégulation de la réponse inflammatoire de l'épithélium bronchique dans la BPCO.

OBJECTIFS DE LA THESE

Les travaux réalisés au cours de cette thèse se sont déroulés en deux phases. La première étude a été centrée sur l'étude des cellules dendritiques dans les allergies respiratoires et réalisée au sein de l'Unité INSERM 416 de l'Institut Pasteur de Lille. La deuxième étude a été centrée sur l'étude des cellules épithéliales bronchiques dans la BPCO et réalisée au sein de l'Unité INSERM 514 du CHU de Reims.

A - Cellules dendritiques et allergies respiratoires

L'hypothèse de travail était qu'il existe dès la capture et l'internalisation de l'allergène Der p 1 par les cellules dendritiques des spécificités fonctionnelles potentiellement impliquées dans le développement d'une réaction immuno-allergique inflammatoire bronchique chez les sujets sensibilisés.

L'objectif était, dans un premier temps, de déterminer les mécanismes de capture et d'internalisation de l'allergène majeur d'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus*, Der p 1, par les cellules dendritiques. Nous avons ensuite comparé ces mécanismes d'internalisation entre les cellules dendritiques issues de patients présentant une allergie respiratoire aux acariens et de sujets non allergiques.

Nous avons utilisé des cellules dendritiques dérivées de monocytes du sang périphérique (MDDC), en vérifiant que les MDDC issues de patients allergiques et non allergiques avaient des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles proches des cellules dendritiques pulmonaires immatures (Cochand, 1999). Ces MD-DC ont ensuite été exposées à du Der p 1 couplé à un marqueur fluorescent, la rhodamine. La capture et l'internalisation de Der p 1 par les MD-DC a été étudiée par cytométrie en flux et microscopie confocale. De manière à déterminer les voies d'internalisation de Der p 1, des inhibiteurs des différentes voies d'endocytose ont été utilisés (mannane et anticorps bloquant anti-récepteur au mannose inhibant l'endocytose médiée par récepteur au mannose, et cytochalasine D inhibant les replis membranaires cellulaires dépendant de l'actine). Nous avons également étudié la capture de molécules de référence, le FITC-Dextran internalisé par endocytose médiée par le récepteur au mannose, et le Lucifer Yellow internalisé par micropinocytose.

Cette étude a permis de déterminer les principales voies de capture et d'internalisation de Der p 1 par les cellules dendritiques et d'analyser les différences d'internalisation de Der p 1 entre DC issues de patients allergiques et non allergiques.

B - Cellules épithéliales bronchiques et BPCO

L'hypothèse de travail était qu'il existe une différence de réponse inflammatoire au LPS de l'épithélium bronchique au cours de la BPCO.

L'objectif était, dans un premier temps, de développer un modèle de culture tridimensionnelle de sphéroïdes bronchiques, se rapprochant le plus possible des caractéristiques de l'épithélium bronchique de surface *in vivo*. Ces sphéroïdes bronchiques ont été obtenus à partir de brossages bronchiques réalisés au cours d'une fibroscopie bronchique chez des patients BPCO et non BPCO fumeurs. Les sphéroïdes ont été analysés en microscopie optique, immunofluorescence, microscopie électronique et vidéomicroscopie. Les sphéroïdes bronchiques ont été ensuite stimulés par du LPS de *Pseudomonas aeruginosa*, et nous avons comparé la production de médiateurs inflammatoires (IL-8, LTB4 et PGE2) par les sphéroïdes issus de BPCO et non BPCO fumeurs.

Cette étude nous a permis de démontrer que le modèle de culture de sphéroïdes bronchiques permet de maintenir les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles de l'épithélium bronchique de surface *in vivo* à la fois en contexte de BPCO et non BPCO, permettant ainsi de valider l'utilisation de ce modèle pour analyser la contribution de l'épithélium bronchique dans la physiopathologie des BPCO. En utilisant ce modèle de culture, nous avons pu déterminer des réponses inflammatoires différentes au LPS entre l'épithélium bronchique des patients BPCO et non BPCO fumeurs, suggérant qu'une réponse différentielle de l'épithélium bronchique à une stimulation inflammatoire est probablement impliquée dans la physiopathologie des BPCO.

ARTICLE 1

**Implication du récepteur au mannose dans
l'internalisation de l'allergène majeur d'acarien, Der p 1,
par les cellules dendritiques.**

ARTICLE 2

Les sphéroïdes bronchiques.

**Un modèle de culture pour l'étude de
la broncho-pneumopathie chronique obstructive**

ARTICLE DE SYNTHÈSE

Implication des cellules dendritiques en pathologie respiratoire allergique

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Nous avons démontré que le récepteur au mannose est impliqué dans la capture et l'internalisation de l'allergène majeur d'acarien Der p 1 par les DC. L'analyse comparative de l'internalisation de Der p 1 entre DC de sujets allergiques et de sujets non allergiques a permis de démontrer une plus grande internalisation de Der p 1 par les DC de sujets allergiques, associée à une plus grande expression du récepteur au mannose. Ces résultats suggèrent qu'il existe dès le stade très précoce d'interaction entre l'allergène Der p1 et les DC des différences fonctionnelles d'internalisation qui pourraient être impliquées dans les différences de réactivité des DC vis à vis de Der p 1. L'internalisation de Der p 1 par le récepteur au mannose pourrait être impliqué dans l'orientation de la réponse immune vers un profil de type Th2 chez des sujets sensibilisés aux acariens (Hammad, 2001), aboutissant à une inflammation bronchique chronique dans le cadre de la maladie asthmatique à composante allergique.

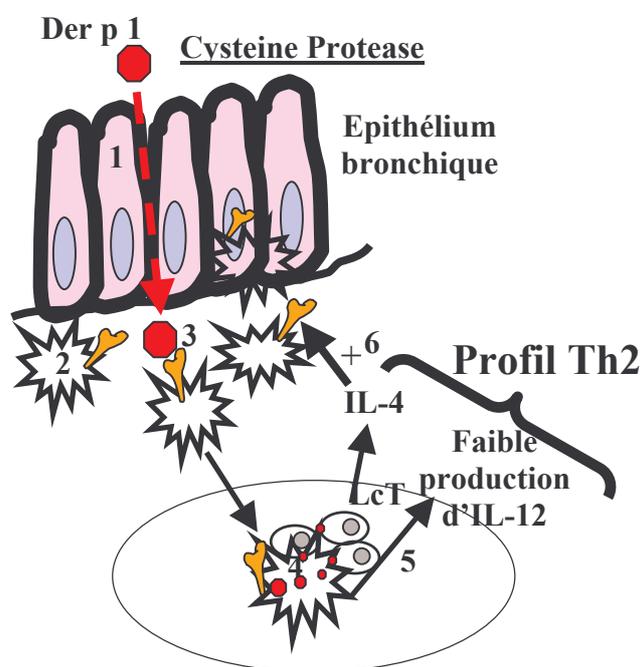


Figure 15: Modèle proposé de l'implication du récepteur au mannose dans l'orientation de la réponse immune vers un profil Th2 après contact entre l'allergène Der p 1 et les DC.

1 *Der p 1 a une activité cystéine protéase qui altère les jonctions serrées des cellules épithéliales bronchiques, permettant ainsi sa pénétration vers la sous-muqueuse où sont localisées les DC (Wan, 1999)*

2 *Les DC pulmonaires expriment le récepteur au mannose comme les MDDC utilisées dans notre étude (Cochand, 1999)*

3 *Nous avons montré l'implication du récepteur au mannose dans l'intenalisation de Der p 1 par les DC*

4 *L'internalisation par le récepteur au mannose entraîne une présentation très efficace aux lymphocytes T par les molécules du CMH II (Tan, 1997)*

5 *L'internalisation par le mannose récepteur oriente la réponse immune vers un profil Th2, en diminuant la sécrétion d'IL-12 (cytokine Th1)(Nigou, 2001)*

6 *La production d'IL-4 par les lymphocytes T induite par la réponse Th2 augmente l'expression du récepteur au mannose par les DC (Raveh, 1998)*

Notre étude souligne le rôle majeur de la reconnaissance des composés glycaniques dans la reconnaissance des allergènes. Le site de N-glycosylation de Der p 1 pourrait ainsi constituer un élément majeur de l'induction d'une réponse Th2 via son interaction avec le récepteur au mannose. Par homologie, il a été montré que certains parasites avaient des sites de glycosylation impliqués dans l'orientation de la réponse immune vers un profil Th2 (Faveeuw, 2003). L'analyse des interactions entre les sites de glycosylation et les récepteurs des cellules présentatrices d'antigènes telles que les DC constitue un axe de recherche intéressant pour comprendre les mécanismes d'orientation de la réponse immune, et la contribution de la glycosylation dans cette réponse immune.

Enfin, les DC ont essentiellement été étudiées en pathologie respiratoire dans le cadre de l'asthme et de la rhinite allergique. Concernant la BPCO, le rôle des DC dans la physiopathologie de la bronchite chronique obstructive et de l'emphysème reste à déterminer. Dans les modèles animaux d'exposition au tabagisme, des résultats contradictoires ont été rapportés concernant le nombre de DC pulmonaires, avec une augmentation dans deux études (Dhulst, 2005 ; Zeid, 1995) et une diminution dans une étude (Robbins, 2004). Chez l'homme, le nombre de DC au niveau de la muqueuse bronchique est augmenté chez les patients BPCO (Hoogsteden, 1999). Cependant, cette augmentation du nombre de DC pulmonaires est observée également chez des fumeurs sans BPCO (Casolaro, 1988, Soler, 1989). Les éventuelles spécificités phénotypiques et fonctionnelles des DC au cours des BPCO ne sont pas actuellement connues.

L'histiocytose langerhansienne pulmonaire de l'adulte est une maladie rare caractérisée par une infiltration pulmonaire par des cellules de Langerhans, organisées en granulomes de topographie péri-bronchiolaire. Le tabagisme constitue le facteur de risque majeur, retrouvé dans 90 à 100% des cas selon les études. Le tabagisme quotidien est souvent important de plus d'un paquet par jour. Initialement, les granulomes forment des nodules pulmonaires, qui vont s'excaver pour former des kystes. Dans certains cas, l'évolution est marquée par une destruction parenchymateuse kystique diffuse, pouvant à un stade avancé mimer des lésions de type emphysémateuse pulmonaire (Tazi, 2006). Par analogie avec la physiopathologie de l'histiocytose X, l'implication des DC dans la genèse de certains emphysèmes peut être suspectée, mais reste à démontrer.

L'analyse précise phénotypique et fonctionnelle des DC au cours des BPCO constitue probablement une voie de recherche intéressante qui pourrait permettre de mieux comprendre la physiopathologie des BPCO.

Le modèle des sphéroïdes bronchiques décrit au cours de cette thèse permet de maintenir en culture un épithélium bronchique de surface non transformé, non dissocié, polarisé, obtenu à partir de brossages bronchiques chez des fumeurs BPCO et non BPCO. Nous avons pu démontrer que ces sphéroïdes étaient très proches de l'épithélium bronchique *in vivo* à la fois sur le plan morphologique et fonctionnel. En effet, nous avons montré la persistance des trois types cellulaires principaux, les cellules basales, les cellules sécrétoires et les cellules ciliées avec maintien du battement ciliaire et des protéines jonctionnelles au cours de la culture. De plus, nous avons montré le maintien des propriétés fonctionnelles pro-inflammatoires à l'état basal et après stimulation par le LPS, caractérisées par la sécrétion d'IL-8, PGE2 et LTB4. En utilisant ce modèle des sphéroïdes, nous avons montré une réponse au LPS différente entre les sphéroïdes issus de fumeurs BPCO et non BPCO, caractérisée par une sécrétion d'IL-8 augmentée après stimulation par le LPS chez les fumeurs BPCO. Compte-tenu des propriétés chimiotactiques et activatrices pour les neutrophiles de l'IL-8, cette réponse inflammatoire différentielle de l'épithélium bronchique au LPS pourrait être impliquée dans l'initiation et/ou le maintien de l'inflammation bronchique chronique dans la BPCO.

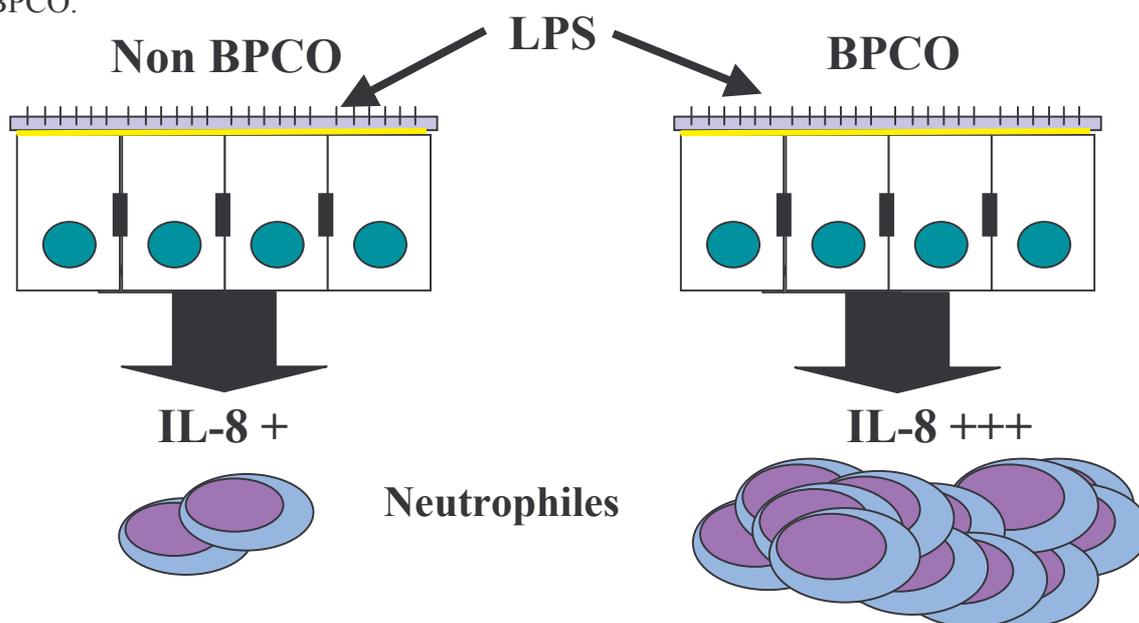


Figure 16: Modèle proposé de réponse inflammatoire de l'épithélium bronchique au LPS.

En l'absence de BPCO, la sécrétion d'IL-8 après stimulation par le LPS est modérée, se traduisant par un chimiotactisme et une activation modérée des neutrophiles. Dans les BPCO, la stimulation par le LPS entraîne une production d'IL-8 multipliée par 3, se traduisant par un chimiotactisme et une activation majeure des neutrophiles, impliqués dans l'inflammation bronchique chronique des BPCO.

Cependant, le mécanisme impliqué dans cette réponse différentielle au LPS entre fumeurs BPCO et non BPCO n'est pas élucidé. Des études sont en cours pour déterminer le niveau d'expression de TLR4, récepteur du LPS, au niveau des sphéroïdes bronchiques des fumeurs BPCO et non BPCO. Les résultats préliminaires ont permis de démontrer qu'il existait une expression de TLR4 au niveau des sphéroïdes bronchiques. L'analyse comparative d'expression de TLR4 entre sphéroïdes issus de fumeurs BPCO et non BPCO est en cours.

Outre l'étude de la réponse au LPS, le modèle des sphéroïdes bronchiques pourrait être utilisé pour analyser la réponse inflammatoire de l'épithélium vis à vis d'autres stimuli tels que des agents infectieux bactériens ou viraux (virus respiratoire syncytial, rhinovirus), des agents protéasiques (élastase neutrophile) ou des cytokines. La sécrétion d'autres médiateurs inflammatoires, facteurs de croissance, cytokines, chimokines, peptides anti-microbiens tels que le SLPI, pourrait également être analysée en utilisant ce modèle. L'analyse comparative entre les sphéroïdes issus de fumeurs BPCO et non BPCO pourrait permettre de mieux comprendre la contribution de l'épithélium bronchique dans l'inflammation bronchique des BPCO. La modulation éventuelle de l'inflammation par des agents thérapeutiques au niveau de l'épithélium pourrait également être abordée en utilisant ce modèle de sphéroïdes bronchiques.

L'analyse morphologique des sphéroïdes (composition cellulaire, niveau d'expression des protéines jonctionnelles) et leur modulation éventuelle par des stimuli inflammatoires pourrait également apporter des éléments de compréhension importants dans la physiopathologie des BPCO.

Enfin, le modèle des sphéroïdes bronchiques pourrait être utilisé dans d'autres pathologies inflammatoires chroniques, telles que la maladie asthmatique, les broncheectasies.

Au cours de cette thèse, nous avons donc pu mettre en évidence des spécificités d'interaction entre les DC et Der p 1 dans l'asthme à composant allergique, et de la réponse épithéliale au LPS dans la BPCO. Ces spécificités d'interaction entre ces interfaces et des substances inhalées pourraient être impliquées dans l'initiation et/ou le maintien de l'inflammation bronchique chronique dans ces deux pathologies inflammatoires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABKARI O, DEKRUYFF RH, UMETSU DT.

Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen.

Nat Immunol 2001 ; 2 : 725-731.

ALBERT ML, JEGATHESAN M, DARNELL RB.

Dendritic cell maturation is required for the cross-tolerization of CD8+ T cells.

Nat Immunol 2001 ; 2 : 1010-1017.

ARLIAN LG, BERSTEIN IL, GEIS DP, VYSZENSKI-MOHER DL, GALLAGHER JS, MARTIN B.

Investigations of culture medium-free house dust mites. Antigens and allergens of body and fecal extract of *Dermatophagoides farinae*.

J Allergy Clin Immunol 1987 ; 79 : 457-466.

AUSTYN JM, HANKINS DF, LARSEN CP, MORRIS PJ, RAO AS, ROAKE JA.

Isolation and characterization of dendritic cells from mouse heart and kidney.

J Immunol 1994 ; 152 : 2401-2410.

AYERS MM, JEFFERY PK.

Proliferation and differentiation in mammalian airway epithelium.

Eur Respir J 1988 ; 1 : 58-80.

BACHMANN MF, GALLIMORE A, LINKERT S, CERUNDOLO V, LANZAVECCHIA A, KOPF M, VIOLA A.

Developmental regulation of Lck targeting to the CD8 coreceptor controls signaling in naïve and memory T cells.

J Exp Med 1999 ; 189 : 1521-1530.

BALS R, WANG X, ZASLOFF M, WILSON JM.

The peptide antibiotic LL-37/hCAP-18 is expressed in epithelia of the human lung where it has broad antimicrobial activity at the airway surface.

Proc Natl Acad Sci U S A 1998 ; 95 : 9541-9546.

BALS R, HIEMSTRA PS.

Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens.

Eur Respir J 2004 ; 173 : 1219-1223.

BANCHEREAU J, STEINMAN RM.

Dendritic cells and the control of immunity.

Nature 1998 ; 392 : 245-252.

BARNES PJ.

Chronic obstructive pulmonary disease.

Lancet 2000 ; 343 : 269-280.

BARTZ H, ROTHOEFT T, ANHENN O, BUNSE D, SCHAUER U.

Large-scale isolation of immature dendritic cells with features of Langerhans cells by sorting CD34+ cord blood stem cells cultured in the presence of TGF-beta1 for cutaneous leukocyte antigen (CLA).

J Immunol Methods 2003 ; 275 : 137-148.

BELL D, CHOMARAT P, BROYLES D, NETTO G, HARB GM, LEBECQUE S et al.

In breast carcinoma tissue, immature dendritic cells reside within the tumor, whereas mature dendritic cells are located in peritumoral areas.

J Exp Med 1999 ; 190 : 1417-1426.

BELLINI A, VITTORI E, MARINI M, ACKERMAN V, MATTOLI S.

Intraepithelial dendritic cells and selective activation of Th2-like lymphocytes in patients with atopic asthma.

Chest 1993 ; 103 : 997-1005.

BENDER A, SAPP M, SCHULER G, STEINMAN RM, BHARDWAJ N.

Improved methods for the generation of dendritic cells from nonproliferating progenitors in human blood.

J Immunol Methods 1996 ; 196 : 121-135.

BERARD M, TOUGH DF.

Qualitative differences between naive and memory T cells.

Immunology 2002 ; 106 : 127-138.

BERTORELLI G, BOCCHINO V, ZHOU X, ZANINI A, BERNINI MV, DAMIA R et al.

Dendritic cell number is related to IL-4 expression in the airways of atopic asthmatic subjects.

Allergy 2000 ; 55 : 449-454.

BOERS JE, AMBERGEN AW, THUNNISSEN FB.

Number and proliferation of basal and parabasal cells in normal human airway epithelium.

Am J Respir Crit Care Med 1998 ; 157 : 2000-2006.

BOOTH BW, ADLER KB, BONNER JC, TOURNIER F, MARTIN LD.

Interleukin-13 induces proliferation of human airway epithelial cells in vitro via a mechanism mediated by transforming growth factor- α .

Am J Respir Crit Care Med 2001 ; 25 : 739-743.

BRIDGES MA, WALKER DC, HARRIS RA, WILSON BR, DAVIDSON AG.

Cultured human nasal epithelial multicellular spheroids: polar cyst-like model tissues.

Biochem Cell Biol 1991 ; 69 : 102-108.

BUENTKE E, ZARGARI A, HEFFLER LC, AVILA-CARINO J, SAVOLAINEN J, SCHEYNIUS A.

Uptake of the yeast *Malassezia furfur* and its allergenic components by human immature CD1a+ dendritic cells.

Clin Exp Allergy 2000 ; 30 : 1759-1770.

CAI Z, KISHIMOTO H, BRUNMARK A, JACKSON MR, PETRESON PA, SPRENT J.

Requirements for peptide-induced T cell receptor downregulation on naive CD8+ T cells.
J Exp Med 1997 ; 185 : 641-651.

CAMPBELL AM, CHANEZ P, VIGNOLA AM, BOUSQUET J, COURET I, MICHEL FB et al.

Functional characteristics of bronchial epithelium obtained by brushing from asthmatic and normal subjects.

Am Rev Respir Dis 1993 ; 147 : 529-534.

CASOLARO MA, BERNAUDIN JF, SALTINI C, FERRANS VJ, CRYSTAL RG.

Accumulation of Langerhans' cells on the epithelial surface of the lower respiratory tract in normal subjects in association with cigarette smoking.

Am Rev Respir Dis 1988 ; 137 : 404-41.

CASTILLON N, HINNRASKY J, ZAHM JM, KAPLAN H, BONNET N, CORLIEU P et al.

Polarized expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and associated epithelial proteins during the regeneration of human airway surface epithelium in three-dimensional culture.

Lab Invest 2002 ; 82 : 989-98.

CARTERSON AJ, HONER ZU BENTRUP K, OTT CM, CLARKE MS, PIERSON DL, VANDERBURG CR et al.

A549 lung epithelial cells grown as three-dimensional aggregates: alternative tissue culture model for *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis.

Inf Immun 2005 ; 73 : 1129-1140.

CAUX C, DEZUTTER-DAMBUYAT C, SCHMITT D, BANCHEREAU J.

GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells.

Nature 1992 ; 360 : 258-261.

CAUX C, VANBERVLIET B, MASSACRIER C, DEZUTTER-DAMBUYAT C, DE SAINT-VIS B, JACQUET C et al.

CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF alpha.

J Exp Med 1996 ; 87 : 2376-2385.

CELLI BR, COTE CG, MARIN JM, CASANOVA C, MONTES DE OCA M, MENDEZ RA et al.

The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease.

N Eng J Med 2004 ; 350 : 1005-1012.

CHARPIN D, RAHERISON C, DUTAU H, TAYTARD A.

Epidémiologie des maladies allergiques respiratoires: données actuelles.

Rev Mal Respir 2000 ; 17 : 139-158.

CHEN W, ANTONENKO S, SEDERSTROM JM, LIANG X, CHAN AS, KANZLER H et al.

Thrombopoietin cooperates with FLT3-ligand in the generation of plasmacytoid dendritic cell precursors from human hematopoietic progenitors.

Blood 2004 ; 103 : 2547-2553.

CHERTOV O, MICHEL DF, XU L, WANG JM, TANI K, MURPHY WJ et al.

Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils.

J Biol Chem 1996 ; 271 : 2935-2940.

COATES PTH, BL COLVIN, H HACKTSTEIN, AW THOMSON

Manipulation of dendritic cells as an approach to improved outcomes in transplantation.

Exp Rev Mol Med 2002; <http://www.expertreviews.org/02004283h.htm>

COCHAND L, ISLER P, SONGEON F, NICOD LP.

Human lung dendritic cells have an immature phenotype with efficient mannose receptors.

Am J Respir Cell Mol Biol 1999 ; 21 : 547-54.

CORAUX C, KILETZKY C, POLETTE M, HINNRASKY J, ZAHM JM, DEVILLIER P et al.

Airway epithelial integrity is protected by a long-acting beta2-adrenergic receptor agonist.

Am J Respir Cell Mol Biol 2004 ; 30 : 605-612.

CROMWELL O, HAMID Q, CORRIGAN CJ, BARKANS J, MENG Q, COLLINS PD et al.

Expression and generation of interleukin-8, IL-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by bronchial epithelial cells and enhancement by IL-1 beta and tumour necrosis factor-alpha.

Immunology 1992 ; 77 : 330-337.

DAO T, MEHAL WZ, CRISPE IN.

IL-18 augments perforin-dependent cytotoxicity of liver NK-T cells.

J Immunol 1998 ; 161 : 2217-2222.

DE FRAISSINETTE A, SCHMITT D, DEZUTTER-DAMBUYANT C, GUYOTAT D, ZABOT MT, THIVOLET J.

Culture of putative Langerhans cell bone marrow precursors : characterization of their phenotype.

Exp Hematol 1988 ; 16 : 764-768.

DEKHUIJZEN PNR, ABEN KK, DEKKER I,

Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease.

Am J Respir Crit Care Med 1996 ; 154 : 813-816.

DEKRUYFF RH, FANG Y, WOLF SF, UMETSU DT.

IL-12 inhibits IL-4 synthesis in keyhole limpet hemocyanin-primed CD4+ T cells through an effect on antigen-presenting cells.

J Immunol 1995 ; 154 : 2578-2587.

DENNING GM, WOLLENWEBER LA, RAILSBACK MA, COX CD, STOLL LL, BRITIGAN BE.

Pseudomonas pyocyanin increases interleukin-8 expression by human airway epithelial cells.
Infect Immun 1998 ; 66 : 5777-5784.

DESMEDTS IK, BRUSSELLE GG, VERMAELEN KY.

Identification and characterization of human pulmonary dendritic cells.
Am J Respir Cell Mol Biol 2005 ; 32 : 177-184.

DHULST AI, VERMAELEN KY, BRUSSELLE GG, JOOS GF, PAUWELS RA.

Time course of cigarette smoke-induced pulmonary inflammation in mice.
Eur Respir J 2005 ; 26 : 204-213.

DODGE IL, CARR MW, CERNADAS M, BRENNER MB.

IL-6 production by pulmonary dendritic cells impedes Th1 immune responses.
J Immunol 2003 ; 170 : 4457-4464.

DONALDSON GC, SEEMUNGAL TA, BHOWMIK A, WEDZICHA JA.

Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease.
Thorax 2002 ; 57 : 847-852.

DONNENBERG VS, DONNENBERG AD.

Identification, rare-event detection and analysis of dendritic cell subsets in broncho-alveolar lavage fluid and peripheral blood by flow cytometry.
Front Biosci 2003 ; 8 : s1175-s1180.

DUEZ C, TSICOPOULOS A, JANIN A, TILLIE-LEBLOND I, THYPHRONITIS G, MARQUILLIES P, HAMID Q et al.

An in vivo model of allergic inflammation: pulmonary human cell infiltrate in allergen-challenged allergic Hu-SCID mice.
Eur J Immunol 1996 ; 26 : 1088-1093.

DUEZ C, KIPS J, PESTEL J, TOURNOY K, TONNEL AB, PAUWELS R.

House dust mite-induced airway changes in hu-SCID mice.
Am J Respir Crit Care Med 2000 ; 161 : 200-206.

DUPUIT F, GAILLARD D, HINNRASKY J, MONGODIN E, DE BENTZMANN S, COPRENI E et al.

Differentiated and functional human airway epithelium regeneration in tracheal xenografts.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000 ; 278 : L165-L176.

EGNER W, MC KENZIE JL, SMITH SM, BEARD ME, HART DN.

Identification of potent mixed leukocyte reaction-stimulatory cells in human bone marrow: putative differentiation stage of human blood dendritic cells.
J Immunol 1993 ; 150 : 3043-3053.

EMERY N, PLACE GA, DODD S, LHERMITTE M, DAVID G, LAMBLIN G et al.

Mucous and serous secretions of human bronchial epithelial cells in secondary culture.
Am J Respir Cell Mol Biol 1995 ; 12 : 130-141.

ENGERING AJ, CELLA M, FLUITSMA D, BROCKAUS M, HOEFSMIT EC, LANZAVECCHIA A et al.

The mannose receptor functions as a high capacity and broad specificity antigen receptor in human dendritic cells.

Eur J Immunol 1997 ; 27 : 2417-2425.

EVANS MJ, PLOPPER CG.

The role of basal cells in adhesion of columnar epithelium to airway basement membrane.

Am Rev Respir Dis 1988 ; 138 : 481-483.

EVANS MJ, COX RA, SHAMI SG, PLOPPER CG.

Junctional adhesion mechanisms in airway basal cells.

Am J Respir Cell Mol Biol 1990 ; 3 : 341-347.

FANGER NA, WARDWELL K, SHEN L, TEDDER TF, GUYRE PM.

Type I (CD64) and type II (CD32) Fc gamma receptor-mediated phagocytosis by human blood dendritic cells.

J Immunol 1996 ; 157 : 541-548.

FAVEEUW C, MALLEVAEY T, PASCHINGER K, WILSON IB, FONTAINE J, MOLLICONE R et al.

Schistosome N-glycans containing core alpha-3 fucose and core beta 2-xylose epitopes are strong inducers of Th2 responses in mice.

Eur J Immunol 2003 ; 33 : 1271-1281.

FORT MM, CHEUNG J, YEN D, LI J, ZURAWSKI SM, LO S et al.

IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo.

Immunity 2001 ; 15 : 985-995.

FOURNIER M, LEBARGY F, LE ROY LADURIE F, LENORMAND E, PARIENTE R.

Intraepithelial T-lymphocyte subsets in the airways of normal subjects and of patients with chronic bronchitis.

Am Rev Respir Dis 1989 ; 140 : 737-742.

FRANKE WW, GOLDSCHMIDT MD, ZIMBELMANN R, MUELLER HM, SCHILLER DL, COWIN P.

Molecular cloning and amino acid sequence of human plakoglobin, the common junctional plaque protein.

Proc Natl Acad Sci U S A 1989 ; 86 : 4027-4031.

GEIGER J, MAGERSTAEDT R, WESSENDORF JH, KRAFT S, HANAU D, BIEBER T.

IL-4 induces the intracellular expression of the alpha chain of the high-affinity receptor for IgE in in vitro-generated dendritic cells.

J Allergy Clin Immunol 2000 ; 105 : 150-156.

GEIJTENBEEK TB, KWON DS, TORENSMA R, VAN VLIET SJ, VAN DUIJNHOFEN GC, MIDDEL J et al.

DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells.

Cell 2000 ; 100 : 587-597.

GODFREY RW, SEVERS NJ, JEFFERY PK.

Freeze-fracture morphology and quantification of human bronchial epithelial tight junctions.
Am J Respir Cell Mol Biol 1992 ; 6 : 453-458.

GONG JL, MCCARTHY KM, TELFORD J, TAMATANI T, MIYASAKA M, SCHNEEBERGER E.

Intraepithelial airway dendritic cells : a distinct subset of pulmonary dendritic cells obtained by microdissection.
J Exp Med 1992 ; 175 : 797-807.

GROUARD G, RISSOAN MC, FILGUEIRA L, DURAND I, BANCHEREAU J, LIU YJ.

The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand.
J Exp Med 1997 ; 185 : 1101-1111.

GUILLOT L, MEDJANE S, LE-BARILLEC K, BALLOY V, DANIEL C, CHIGNARD M et al.

Response of human pulmonary epithelial cells to lipopolysaccharide involves Toll-like receptor 4 (TLR4)-dependent signaling pathways: evidence for an intracellular compartmentalization of TLR4.
J Biol Chem 2004 ; 279 : 2712-2718.

HAMMAD H, DUEZ C, FAHY O, TSICOPOULOS A, ANDRE C, WALLAERT B et al.

Human dendritic cells in the severe combined immunodeficiency mouse model : their potentiating role in the allergic reaction.
Lab Invest 2000 ; 80 : 605-614.

HAMMAD H, CHARBONNIER AS, DUEZ C, JACQUET A, STEWART GA, TONNEL AB et al.

Th2 polarization by Der p 1-pulsed monocyte-derived dendritic cells is due to the allergic status of the donors.
Blood 2001;98:1135-1141.

HAMMAD H, LAMBRECHT BN, POCHARD P, GOSSET P, MARQUILLIES P, TONNEL AB et al.

Monocyte-derived dendritic cells induce a house dust mite-specific Th2 allergic inflammation in the lung of humanized SCID mice: involvement of CCR7.
J Immunol 2002 ; 169 : 1524-1534.

HAMMAD H, SMITS HH, RATAJCSAK C, NITHIANANTHAN A, WIERENGA EA, STEWART GA et al.

Monocyte-derived dendritic cells exposed to Der p 1 allergen enhance the recruitment of Th2 cells: major involvement of th chemokines TARC/CCL17 and MDC/CCL22.
Eur Cytokine Netw 2003 ; 14 : 219-228.

HARDER J, MEYER-HOFFERT U, TERAN LM, SCHWICHTENBERG L, BARTES J, MAUNE S et al.

Mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, TNF-alpha, and IL-1beta, but not IL-6, induce human beta-defensin-2 in respiratory epithelia.
Am J Respir Cell Mol Biol 2000 ; 22 : 714-721.

HART DN, FUGGLE SV, WILLIAMS KA, FABRE JW, TING A, MORRIS PJ.

Localization of HLA-ABC and DR antigens in human kidneys.
Tranplantation 1981 ; 31 : 428-433.

HART DN, FABRE JW.

Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissues of rat heart and other tissues, but not brain.
J Exp Med 1981 ; 154 : 347-361.

HASDAY JD, BASCOM R, COSTA JJ, FITZGERALD T, DUBIN W.

Bacterial endotoxin is an active component of cigarette smoke.
Chest 1999;115:829-835.

HAUTAMAKI RD, KOBAYASHI DK, SENIOR RM, SHAPIRO SD.

Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice.
Science 1997 ; 277:2002-2004.

HERBERT CA, KING CM, RING PC, HOLGATE ST, STEWART GA, THOMPSON PJ et al.

Augmentation of permeability in the bronchial epithelium by the house dust mite allergen Der p1.
Am J Respir Cell Mol Biol 1995 ; 12 : 369-378.

HIEMSTRA PS, MAASSEN RJ, STOLK J, HEINZEL-WIELAND R, STEFFENS GJ, DIJKMAN JH.

Antibacterial activity of antileukoprotease.
Infect Immun 1996 ; 64 : 4520-4524.

HOGG JC.

Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease.
Lancet 2004 ; 364 : 709-721.

HOLGATE ST

The epidemic of allergy and asthma.
Nature 1999 ; 402 : B2-B4.

HOLGATE ST.

The bronchial epithelial origins of asthma.
Chem Immunol 2000 ; 78 : 62-71.

HOLT PG, MACAUBAS C, STRUMBLES PA, SLY PD.

The role of allergy in the development of asthma.
Nature 1999 ; 402 : B12-B17.

HOOGSTEDEN HC, VERHOEVEN GT, LAMBRECHT BN, PRINS JB.

Airway inflammation in asthma and chronic obstructive pulmonary disease with special emphasis on the antigen-presenting dendritic cell: influence of treatment with fluticasone propionate.
Eur J Immunol 1999 ; 29 : 3815-3825.

IMAI K, DALAL SS, CHEN ES, DOWNEY R, SCHULMAN LL, GINBURG M et al.
Human collagenase (matrix-metalloproteinase-1) expression in the lungs of patients with emphysema.
Am J Respir Crit Care Med 2001 ; 163 : 786-791.

JAHNSEN FL, LUND-JOHANSEN F, DUNNE JF, FARKAS L, HAYE R, BRANDTSAEG P.
Experimentally induced recruitment of plasmacytoid (CD123high) dendritic cells in human nasal allergy.
J Immunol 2000 ; 1: 502-509.

JAHNSEN FL, MOLONEY ED, HOGAN T, UPHAM JW, BURKE CM, HOLT PG.
Rapid dendritic cell recruitment to the bronchial mucosa of patients with atopic asthma in response to local allergen challenge.
Thorax 2001 ; 56 : 823-826.

JEANNIN P, RENNO T, GOETSCH L, MICONNET I, AUBRY JP, DELNESTE Y et al.
OmpA targets dendritic cells, induces their maturation and delivers antigen into the MHC class I presentation pathway.
Nat Immunol 2000 ; 1 : 502-509.

JEFFERY PK.
Morphologic features of airway surface epithelial cells and glands.
Am Rev Respir Dis 1983 ; 128 : S14-20.

JEFFERY PK.
The origins of secretions in the lower respiratory tract.
Eur J Respir Dis Suppl 1987 ; 153 : 34-42.

JEFFERY PK, LI Y.
Airway mucosa : secretory cells, mucus and mucin gens.
Eur Respir J 1997 ; 10 : 1655-1662.

JORISSEN M, VAN DER SCHUEREN B, VAN DEN BERGHE H, CASSIMAN JJ.
The preservation and regeneration of cilia on human nasal epithelial cells cultured in vitro.
Arch Otorhinolaryngol 1989 ; 246 : 308-314.

JU XS, ZENKE M.
Differentiation of human antigen-presenting dendritic cells from CD34+ hematopoietic stem cells in vitro.
Methods Mol Biol 2003 ; 215 : 399-407.

KAISER V, DIAMOND G.
Expression of mammalian genes.
J Leukoc Biol 2000 ; 68 : 779-784.

KAO RC, WEHNER NG, SKUBITZ KM, GRAY BH, HOIDAL JR.
Proteinase 3-a distinct human polymorphonuclear leukocyte proteinase that produces emphysema in hamsters.
J Clin Invest 1988 ; 82 : 1963-1973.

KHAIR OA, DEVALIA JL, ABDELAZIZ MM, SAPSFORD RJ, TARRAF H, DAVIES RJ.

Effect of Haemophilus influenzae endotoxin on the synthesis of IL-6, IL-8, TNF-alpha and expression of ICAM-1 in cultured human bronchial epithelial cells.

Eur Respir J 1994 ; 7 : 2109-2116.

KHAIR OA, DAVIES RJ, DEVALIA JL.

Bacterial-induced release of inflammatory mediators by bronchial epithelial cells.

Eur Respir J 1996 ; 9 : 1913-1922.

KONSTAN MW, CHENG PW, BOAT TF.

A comparative study of lysozyme and its secretion by tracheal epithelium.

Exp Lung Res 1982 ; 3 : 175-181.

KRAFT S, BIEBER T.

Fc epsilon ri-mediated activation of transcription factors in antigen-presenting cells.

Int Arch Allergy Immunol 2001 ; 125:9-15.

KRILIS S, BALDO BA, SUTTON R, BASTEN A.

Antigens and allergens from the common house dust mite Dermatophagoides pteronyssinus.

Demonstration of multiple allergens by immunochemical and biologic analyses.

J Allergy Clin Immunol 1984 ; 74 : 132-141.

LAGRANDERIE M, NAHORI MA, BALAZUC AM, KIEFER-BIASIZZO H, LAPA E SILVA JR et al.

Dendritic cells recruited to the lung shortly after intranasal delivery of Mycobacterium bovis BCG drive the primary immune response towards a type 1 cytokine production.

Immunology 2003 ; 108 : 352-364.

LAOUKILI J, PERRET E, WILLEMS T, MINTY A, PARTHOENS E, HOUCINE O et al.

IL-13 alters mucociliary differentiation and ciliary beating of human respiratory cells.

J Clin Invest 2001 ; 108 : 1817-1824.

LAMBRECHT BN, SALOMON B, KLATZMANN D, PAUWELS RA.

Dendritic cells are required for the development of chronic eosinophilic airways inflammation in response to inhaled antigen in sensitized mice.

J Immunol 1998 ; 160 : 4090-4097.

LAMBRECHT BN, CARRO-MUINO I, VERMAELEN K, PAUWELS RA.

Allergen-induced changes in bone-marrow progenitor and airway dendritic cells in sensitized rats.

Am J Respir Cell Mol Biol 1999 ; 20 : 1165-1174.

LAMBRECHT BN, DE VEERMAN M, COYLE AJ, GUTTIERREZ-RAMOS JC, THIELMANS K, PAUWELS RA.

Myeloid dendritic cells induce Th2 responses to inhaled antigen leading to eosinophilic airway inflammation.

J Clin Invest 2000 ; 106 : 551-559.

LANGERHANS P.

Über die nerven der menschlichen haut.

Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, und für klinische Medicin
1868 ; 44 : 325-337.

LESSER M, PADILLA ML, CORDOZO C.

Induction of emphysema in hamsters by intratracheal instillation of cathepsin B.

Am Rev Respir Dis 1992 ; 145 : 661-668.

LEUBE RE, RUSTAD TJ.

Squamous cell metaplasia in the human lung: molecular characteristics of epithelial stratification.

Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol pathol 1991 ; 61 : 227-253.

LUCEY EC, STONE PJ, BREUER R, CHRISTENSEN G, CALORE JD, CATANESE A et al.

Effect of combined human neutrophil cathepsin G and elastase on induction of secretary cell metaplasia and emphysema in hamsters with in vitro observations on elastolysis by these enzymes.

Am Rev Respir Dis 1985 ; 132 : 362-366.

MAESTRELLI P, SAETTA M, MAPP CE, FABBRI LM.

Remodelling in response to infection and injury. Airway inflammation and hypersecretion of mucus in smoking subjects with chronic obstructive pulmonary disease.

Am J Respir Crit Care Med 2001 ; 164 : S76-S80.

MARSHALL JD, SECRIST H, DEKRUYFF RH, WOLF SF, UMETSU DT.

IL-12 inhibits the production of IL-4 and IL-10 in allergen-specific human CD4+ T lymphocytes.

J Immunol 1995 ; 155 : 111-1117.

MARUYAMA M, HAY JG, YOSHIMURA K, CHU CS, CRYSTAL RG.

Modulation of secretory leukoprotease inhibitor gene expression in human bronchial epithelial cells by phorbol ester.

J Clin Invest 1994 ; 94 : 368-375.

MASOLI M, FABIAN D, HOLT S, BEASLEY R

The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination committee report.

Allergy 2004 ; 59 : 469-78.

MAURER D, FIEBIGER E, REININGER B, EBNER C, PETZELBAUER P, SHI GP et al.

Fc epsilon receptor I on dendritic cells delivers IgE-bound multivalent antigens into cathepsin S-dependent pathway of MHC class II presentation.

J Immunol 1998 ; 161 : 2731-2739.

MCCORMACK FX, WHITSETT JA;

The pulmonary collectins, SP-A and SP-D, orchestrate innate immunity in the lung.

J Clin Invest 2002 ; 109 : 707-712.

MCWILLIAM AS, NELSON D, THOMAS JA, HOLT PG.

Rapid dendritic cell recruitment is a hallmark of the acute inflammatory response at mucosal surfaces.

J Exp Med 1994 ; 179 : 1331-1336.

MCWILLIAM AS, NAPOLI S, MARSH AM, PEMPER FL, NELSON DJ, PIMM CL et al.

Dendritic cells are recruited into the airway epithelium during the inflammatory response to a broad spectrum of stimuli.

J Exp Med 1996 ; 184 : 2429-2432.

MCWILLIAM AS, MARSH AM, HOLT PG.

Inflammatory infiltration of the upper airway epithelium during Sendai virus infection: involvement of epithelial dendritic cells.

J Virol 1997 ; 71 : 226-236.

MENEZES AM, PEREZ-PADILLA R, JARDIM JR, MUINO A, LOPEZ MV, VALDIVIA G et al.

Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PALATINO study): a prevalence study.

Lancet 2005 ; 366 : 1875-81.

MEYER CH, BOND JF, CHEN MS, KASAIAN MT.

Comparison of the levels of the major allergens Der p 1 and Der p 2 in standardized extracts of the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Clin Exp Allergy 1994 ; 24 : 1041-1048.

MICHEL O, NAGY AM, SCHROEVEN M, DUCHATEAU J, NEVE J, FONDU P et al.

Dose-response relationship to inhaled endotoxin in normal subjects.

Am J Respir Crit Care Med 1997 ; 156 : 1157-1164.

MOLINIE F, KAUFFMAN F.

Epidémiologie et conséquence socio-économiques. Epidémiologie descriptive.

In : Margaux ; Paris : Broncho-pneumopathies chroniques obstructives 2003 ; 15-34.

MONICK MM, YAROVINSKY TO, POWERS LS, BUTLER NS, CARTER AB, GUDMUNDSSON G et al.

Respiratory syncytial virus up-regulates TLR4 and sensitizes airway epithelial cells to endotoxin.

J Biol Chem 2003 ; 278 : 53035-53044.

NAPPER CE, DYSON MH, TAYLOR ME.

An extended conformation of the macrophage mannose receptor.

J Biol Chem 2001 ; 276 : 14759-14766.

NIGOU J, ZELLE-RIESER C, GILLERON M, THURNHER M, PUZO G.

Mannosylated lipoarabinomannans inhibit IL-12 production by human dendritic cells : evidence for a negative signal delivered through the mannose receptor.

J Immunol 2001 ; 166 : 7477-7785.

OHNISHI K, TAKAGI M, KUROKAWA Y, SATOMI S, KONTTINEN YT.
Matrix metalloproteinase-mediated extracellular matrix protein degradation in human pulmonary emphysema.
Lab Invest 1998 ; 78 : 1077-1087.

PALMBERG L, LARSSON BM, MALMBERG P, LARSSON K.
Induction of IL-8 production in human alveolar macrophages and human bronchial epithelial cells in vitro by swine dust.
Thorax 1998 ; 53 : 260-264.

PAPI A, STANCIU LA, PAPADOPOULOS NG, TERAN LM, HOLGATE ST, JOHNSTON SL.
Rhinovirus infection induces major histocompatibility complex class I and costimulatory molecule upregulation on respiratory epithelial cells.
J Infect Dis 2000 ; 181 : 1780-1784.

PATEL S, ROBERTS NJ, LLOYD-OWEN SJ, SAPSFORD RJ, WEDZICHA JA.
Airway epithelial inflammatory responses and clinical parameters in COPD.
Eur Respir J 2003 ; 22 : 94-99.

PEDERSEN PS, FREDERIKSEN O, HOLSTEIN-RATHLOU NH, LARSEN PL, QVORTRUP K.
Ion transport in epithelial spheroids derived from human airway cells.
Am J Physiol 1999 ; 276 : L75-80.

PESTEL J, JEANNIN P, DELNESTE Y, DESSAINT JP, CESBRON JY, CAPRON A et al.
Human IgE in SCID mice reconstituted with peripheral blood mononuclear cells from Dermatophagoides pteronyssinus-sensitive patients.
J Immunol 1994;153 : 3804-3810.

PICHAVANT M, TARONT S, JEANNIN P, BREUILH L, CHARBONNIER AS, SPRIET C et al.
Impact of bronchial epithelium on dendritic cell migration and function : modulation by the bacterial motif KpOmpA.
J Immunol 2006 ; 177 : 5912-5919.

PLATTS-MILLS TA, HAYDEN ML, CHAPMAN MD, WILKINS SR.
Seasonal variation in dust mite and grass-pollen allergens in dust from the houses of patients with asthma.
J Allergy Clin Immunol 1987 ; 79 : 781-791.

POLTORAK A, SMIRNOVA I, HE X, LIU Y, VAN HUFFEL C, MCNALLY O et al.
Genetic and physical mapping of the LPS locus: identification of the toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region.
Blood Cells Mol Dis 1998 ; 24 : 340-355.

PRICKETT TC, MC KENZIE JL, HART DN.
Characterization of interstitial dendritic cells in human liver.
Transplantation 1988 ; 46 : 754-761.

PROFITA M, CHIAPPARA G, MIRABELLA F, DI GIORGI R, CHIMENTI L, COSTANZO G et al.

Effect of cilomilast (Ariflo) on TNF-alpha, IL-8 and GM-CSF release by airway cells of patients with COPD.

Thorax 2003 ; 58 : 573-579.

RONCAROLO MG, LEVINGS MK, TRAVERSARI C.

Differentiation of T regulatory cells by immature dendritic cells.

J Exp Med 2001 ; 193 : F5-F9.

RANDOLPH GJ, BEAULIEU S, POPE M, SUGAWARA I, HOFFMAN L, STEINMAN RM et al.

A physiologic function for p-glycoprotein (MDR-1) during the migration of dendritic cells from skin via afferent lymphatic vessels.

Proc Natl Acad Sci USA 1998 ; 95 : 6924-6929.

RAVEH D, KRUSKAL BA, FARLAND J, EZEKOWITZ RA.

Th1 and Th2 cytokines cooperate to stimulate mannose-receptor mediated phagocytosis.

J Leuk Biol 1998 ; 64 : 108-113.

REIBMAN J, HSU Y, CHEN LC, BLECK B, GORDON T.

Airway epithelial cells release MIP-3alpha/CCL20 in response to cytokines and ambient particulate matter.

Am J Respir Cell Mol Biol 2003 ; 28 : 648-654.

RISSOAN MC, SOUMELIS V, KADOWAKI N, GROUARD G, BRIERE F, DE WAAL MALEFYT R et al.

Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation.

Science 1999 ; 283 : 1183-1186.

ROBBINS CS, DAWE DE, GONCHAROVA SI, POULADI MA, DRANNIK AG, SWIRSKI FK et al.

Cigarette smoke decreases pulmonary dendritic cells and impacts antiviral immune responsiveness.

Am J Respir Cell Mol Biol 2004 ; 30 : 202-211.

ROMANI N, STINGL G, TSCHACHLER E, WITMER MD, STEINMAN RM, SHEVACH EM et al.

The Thy-1-bearing cell of murine epidermidis. A distinctive leukocyte perhaps related to natural killer cells.

J Exp Med 1985 ; 161 : 1368-1383.

ROMANI N, REIDER D, HEUER M, EBNER S, KAMPGEN E, EIBL B et al.

Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability.

J Immunol Methods 1996 ; 196 : 137-151.

ROOS-ENGSTRAND E, WALLIN A, BUCHT A, POURAZAR J, SANDSTROM T, BLOMBERG A.

Increased expression of p38 MAPK in human bronchial epithelium after lipopolysaccharide exposure.

Eur Respir J 2005 ; 25 : 797-803.

ROSE MC.

Characterization of human tracheobronchial mucin glycoproteins.

Methods Enzymol 1989; 179 : 3-17.

ROSSI GA, SACCO O, BALBI B, ODDERA S, MATTIONI T, CORTE G et al.

Human ciliated bronchial epithelial cells: expression of the HLA-DR antigens and of the HLA-DR alpha gene, modulation of the HLA-DR antigens by gamma-interferon and antigen-presenting function in the mixed leukocyte reaction.

Am J Respir Cell Mol Biol 1990 ; 3 : 431-439.

RUBIN BK, RAMIREZ O, ZAYAS JG, FINEGAN B, KING M.

Collection and analysis of respiratory mucus from subjects without lung disease.

Am Rev Respir Dis 1990 ; 141 : 1040-1043.

RUSZNAK C, MILLS PR, DEVALIA JL, SAPSFORD RJ, DAVIES RJ, LOZEWICZ S.

Effect of cigarette smoke on the permeability and IL-1 beta and sICAM-1 release from cultured human bronchial epithelial cells of never-smokers, smokers, and patients with chronic obstructive pulmonary disease.

Am J Respir Cell Mol Biol 2000 ; 23 : 530-536.

SAETTA M, TURATO G, MAESTRELLI P, MAPP CE, FABBRI LM.

Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease.

Am J Respir Crit Care Med 2001 ; 163 : 1304-1309.

SALLUSTO F, LANZAVECCHIA A.

Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha.

J Exp Med 1994 ; 179 : 1109-1118.

SALLUSTO F, CELLA M, DANIELLA C, LANZAVECCHIA A.

Dendritic cells use macropinocytose and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment : downregulation by cytokines and bacterial products.

J Exp Med 1995 ; 182 : 389-400.

SANDSTROM T, BJERMER L, RYLANDER R.

Lipopolysaccharide (LPS) inhalation in healthy subjects increases neutrophils, lymphocytes and fibronectin levels in bronchoalveolar lavage fluid.

Eur Respir J 1992 ; 5 : 992-996.

SANO H, CHIBA H, IWAKI D, SOHMA H, VOELKER DR, KUROKI Y.

Surfactant proteins A and D bind CD14 by different mechanisms.

J Biol Chem 2000 ; 275 : 22442-22451.

SATO K, YAMASHITA N, BABA M, MATSUYAMA T.

Modified myeloid dendritic cells act as regulatory dendritic cells to induce anergic and regulatory T cells.

Blood 2003 ; 101 : 3581-3589.

SCHANDENE L, ALONSO-VEGA C, WILLEMS F, GERARD C, DELVAUX A, VELU T et al.

B7/CD28-dependent IL-5 production by human resting T cells is inhibited by IL-10.
J Immunol 1994 ; 152 : 4368-4374.

SCHON-HEGRAD MA, OLIVIER J, MCMENAMIN PG, HOLT PG.

Studies on the density, distribution, and surface phenotype of intraepithelial class II major histocompatibility complex antigen (Ia)-bearing dendritic cells (DC) in the conducting airways.

J Exp Med 1991 ; 173 : 1345-1356.

SCHULZ C, KRATZEL K, WOLF K, SSHROLL S, KOHLER M, PFEIFER M.

Activation of bronchial epithelial cells in smokers without airway obstruction and patients with COPD.

Chest 2004 ; 125 : 1706-1713.

SCHUTTE BC, MCCRAY PB.

Beta-defensins in lung host defense.

Annu Rev Physiol 2002 ; 64 : 709-748.

SCHWARTZ DA, DONHAN KJ, OLENCHOCK SA, POPENDORF WJ, VAN FOSSEN DS, BURMEISTER LF et al.

Determinants of longitudinal changes in spirometric function among swine confinement operators and farmers.

Am J Respir Crit Care Med 1995 ; 151 : 47-53.

SEGURA-VALDEZ L, PARDO A, GAXIOLA M, UHAL BD, BECERRIL C, SELMAN M.

Upregulation of gelatinases A and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD.

Chest 2000 ; 117 : 684-694.

SELMAN M, CISNEROS-LIRA J, GAXIOLA M, RAMIREZ R, KUDLACZ EM, MITCHELL PG et al.

Matrix metalloproteinases inhibition attenuates tobacco smoke-induced emphysema in guinea pigs.

Chest 2003 ; 123 : 1633-1641.

SERTL K, TAKEMURA T, TSCHACHLER E, FERRANS VJ, KALINER MA, SHEVACH EM.

Dendritic cells with antigen-presenting capability reside in airway epithelium, lung parenchyma, and visceral pleura.

J Exp Med 1986 ; 163 : 436-451.

SHORTMAN K, YIU YJ.

Mouse and human dendritic cells subtypes.

Nat Rev Immunol 2002 ; 2 : 151-161.

SLEIGH MA, BLAKE JR, LIRON N.

The propulsion of mucus by cilia.

Am Rev Respir Dis 1988 ; 137 : 726-741.

SMITS HH, VAN BEELEN AJ, HESSLE C, WESTLAND R, DE JONG E, SOETEMAN E et al.

Commensal Gram-negative bacteria prime human dendritic cells for enhanced IL-23 and IL-27 expression and enhanced Th1 development.

Eur J Immunol 2004 ; 34 : 1371-1380.

SOLER P, MOREAU A, BASSET F, HANCE AJ.

Cigarette smoking-induced changes in the number and differentiated state of pulmonary dendritic cells/Langerhans cells.

Am Rev Respir Dis 1989 ; 139 : 1112-1117.

SOZZANI S, SALLUSTO F, LUINI W, ZHOU D, PIEMONTI L, ALLAVENA P et al.

Migration of dendritic cells in response to formyl peptides, C5a, and a distinct set of chemokines.

J Immunol 1995 ; 155 : 3292-3295.

SPINA D.

Epithelium smooth muscle regulation and interactions.

Am J Respir Crit Care Med 1998 ; 158 : S141-145.

STEINMAN RM, COHN ZA.

Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice: I. Morphology, quantification, tissue distribution.

J Exp Med 1973 ; 137 : 1142-1162.

STEINMAN RM.

The dendritic cell system and its role in immunogenicity.

Ann Rev Immunol 1991 ; 9 : 271-296.

STOLLER JK, FALLAT R, SCHLUCHTER MD, O'BRIEN RG, CONNOR JT, GROSS N, O'NEIL K, SANDHAUS R, CRYSTAL RG.

Augmentation therapy with alpha1-antitrypsin: patterns of use and adverse events.

Chest 2003 ; 123 : 1425-1434.

STRUNK D, RAPPERSBERGER K, EGGER C, STROBL H, KROMER E, ELBE A, MAURER D, STINGL G.

Generation of dendritic cells/Langerhans cells from circulating CD34+ hematopoietic progenitor cells.

Blood 1996 ; 87 : 1292-1302.

TAGA K, MOSTOWSKI H, TOSATO G.

Human interleukin-10 can directly inhibit T-cell growth.

Blood 1993 ; 81 : 2964-2971.

TAKEUCHI O, HOSHINO K, KAWAI T, SANJO H, TAKADA H, OGAWA T et al.

Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components.

Immunity 1999 ; 11 : 443-451.

- TAKEUCHI O, TAKEDA K, HOSHINO K, ADACHI O, OGAWA T, AKIRA S.**
Cellular responses to bacterial cell wall components are mediated through MyD88-dependent signaling cascades.
Int Immunol 2000 ; 12 : 113-117.
- TAN MC, MOMMAAS AM, DRIJHOUT JW, JORDENS R, ONDERWATER JJ, VERWOERD D et al.**
Mannose receptor-mediated uptake of antigens strongly enhances HLA-restricted antigen presentation by cultured dendritic cells.
Eur J Immunol 1997 ; 27 : 2426-2435.
- TARASEVICIENE-STEWART L, DOUGLAS IS, NANA-SINKAM PS, LEE JD, TUDER RM, NICOLLS MR et al.**
Is alveolar destruction and emphysema in chronic obstructive pulmonary disease an immune disease ?
Proc Am Thorac Soc 2006 ; 3 : 687-690.
- TAZI A.**
Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis.
Eur Respir J 2006 ; 27 : 1272-1285.
- TERRITO MC, GANZ T, SELSTED ME, LEHRER R.**
Monocyte-chemotactic activity of defensins from human neutrophils.
J Clin Invest 1989 ; 84 : 2017-2020.
- THOMPSON SJ, CARSWELL F.**
The major allergen of the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*, is synthesized and secreted into its alimentary canal.
Int Arch Allergy Appl Immunol 1988 ; 85 : 312-315.
- VALLADEAU J, RAVEL O, DEZUTTER-DAMBUYANT C, MOORE K, KLEIJMEER M, LIU Y et al.**
Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules.
Immunity 2000 ; 12 : 71-81.
- VAN DEN HEUVEL MM, VANHEE DD, POSTMUS PE, HOEFSMIT EC, BEELEN RH.**
Functional and phenotypic differences of monocyte-derived dendritic cells from allergic and non allergic patients.
J Allergy Clin Immunol 1998 ; 101 : 90-95.
- VAN DER STRATE BW, POSTMA DS, BRANDSMA CA, MELGERT BN, LUINGE MA, GEERLINGS M et al.**
Cigarette smoke-induced emphysema: a role for the B cell ?
Am J Respir Crit Care Med 2006 ; 173 : 751-758.
- VAN HAARST JM, HOOGSTEDEN HC, DE WIT HJ, VERHOEVEN GT, HAVENITH CE, DREXHAGE HA.**
Dendritic cells and their precursors isolated from human bronchoalveolar lavage: immunocytologic and functional properties.
Am J Respir Cell Mol Biol 1994 ; 11 : 344-350.

VAN VOORHIS WC, HAIR LS, STEINMAN RM, KAPLAN G.

Human dendritic cells: enrichment and characterization from peripheral blood.
J Exp Med 1982 ; 155 : 1172-1187.

VERMAELEN K, PAUWELS R.

Pulmonary dendritic cells.
Am J Respir Crit Care Med 2005 ; 172 : 530-551.

VERNOOY JH, DENTENER MA, VAN SUYLEN RJ, BUURMAN WA, WOUTERS EF.

Long-term intratracheal lipopolysaccharide exposure in mice results in chronic lung inflammation and persistent pathology.
Am J Respir Cell Mol Biol 2002 ; 26 : 152-159.

VIEIRA PL, DE JONG EC, WIERENGA EA, KAPSENBERG ML, KALINSKI P.

Development of Th1-inducing capacity in myeloid dendritic cells requires environmental instruction.
J Immunol 2000 ; 164 : 4507-4512.

VOGELMEIER C, HUBBARD RC, FELS GA, SCHNEBLI HP, THOMPSON RC, FRITZ H, CRYSTAL RG.

Anti-neutrophil elastase defense of the normal human respiratory epithelial surface provided by the secretory leukoprotease inhibitor.
J Clin Invest 1991 ; 87 : 482-488.

WAN H, WINTON HL, SOELLER C, TOVEY ER, GRUENERT DC, THOMPSON PJ, STEWART GA, TAYLOR GW, GARROD DR, CANNEL MB, ROBINSON C.

Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions.
J Clin Invest 1999 ; 104 : 123-133.

WATTS C.

Capture and processing of exogenous antigens for presentation on MHC molecules.
Annu Rev Immunol 1997 ; 27 : 280-288.

WEDZICHA JA.

Role of viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease.
Proc Am Thorac Soc 2004 ; 1 ; 115-120.

WHITSETT JA.

Intrinsic and innate defenses in the lung: intersection of pathways regulating lung morphogenesis, host defense, and repair.
J Clin Invest 2002 ; 109 : 565-569.

WRIGHT JL, FARMER SG, CHURG A.

Synthetic serine elastase inhibitor reduces cigarette smoke-induced emphysema in guinea pigs.
Am J Respir Crit Care Med 2002 ; 166 : 954-960.

XIA W, PINTO CE, KRADIN RL.

The antigen-presenting activities of Ia⁺ dendritic cells shift dynamically from lung to lymph node after an airway challenge with soluble antigen.
J Exp Med 1995 ; 181 : 1275-1283.

YAMADA KM, GEIGER B.

Molecular interactions in cell adhesion complexes.
Curr Opin Cell Biol 1997 ; 9 : 76-85.

YAMAMOTO N, SUZUKI S, SHIRAI A, SUZUKI M, NAKAZAWA M, NAGASHIMA Y et al.

Dendritic cells are associated with augmentation of antigen sensitization by influenza A virus infection in mice.
Eur J Immunol 2000 ; 30 : 316-326.

YANG D, CHERTOV O, BYKOSVSKAIA SN, CHEN Q, BUFFO MJ, SHOGAN J et al.

Beta-defensins : linking innate and adaptative immunity through dendritic and T cell CCR6.
Science 1999 ; 286 : 525-528.

YANG D, CHEN Q, CHERTOV O, OPPENHEIM JJ.

Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells.
J Leukoc Biol 2000 ; 68 : 9-14.

YOSHIDA M, IKEGAMI M, REED JA, CHRONEOS ZC, WHITSETT JA.

GM-CSF regulates protein and lipid catabolism by alveolar macrophages.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2001 ; 280 : L379-386.

YSSEL H, JOHNSON KE, SCHNEIDER PV, WIDERMAN J, TERR A, KASTELEIN R et al.

T cell activation-inducing epitopes of the house dust mite allergen Der p 1. Proliferation and lymphokine production patterns by Der p 1-specific CD4+ T cell clones.
J Immunol 1992 ; 148 : 738-745.

ZEID NA, MULLER HK.

Tabacco smoke induced lung granulomas and tumors : association with pulmonary Langerhans cells.
Pathology 1995 ; 27 : 247-254.