

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n° 071

***CARACTERISATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES  
CELLULES DENDRITIQUES PLASMACYTOIDES CHEZ LE  
CHIEN***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 30 octobre 2018  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*IDEE Adrien*





**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n° 071

***CARACTERISATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES  
CELLULES DENDRITIQUES PLASMACYTOIDES CHEZ LE  
CHIEN***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 30 octobre 2018  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*IDEE Adrien*





### Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (1er mars 2018)

Nom	Prénom	Département	Grade
ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DEMONT	Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
JAUSSAUD	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
JEANNIN	Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Contractuel
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Stagiaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MATEOS	Stevana	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
RIVES	Germain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGEANTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélien	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur



## **Remerciements aux membres du jury**

**A monsieur le Professeur Jean-Yves BLAY,**  
Du Centre Léon Bérard de Lyon,

Merci de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse et de juger mon travail,  
Mes hommages respectueux.

**A madame le Professeur Sara BELLUCO,**  
De VetAgro Sup Campus Vétérinaire de Lyon,

Merci de m'avoir autant accompagné dans ce travail, tant pour les manipulations que  
pour la rédaction,  
Merci pour votre temps et votre disponibilité sans égal,  
Mes remerciements les plus sincères.

**A monsieur le Professeur Didier PIN,**  
De VetAgro Sup Campus Vétérinaire de Lyon,

Merci d'avoir accepté de corriger mon travail et de prendre part à ce jury de thèse,  
Sincères remerciements.







# Table des matières

<b>TABLE DES ANNEXES .....</b>	<b>13</b>
<b>TABLE DES FIGURES .....</b>	<b>15</b>
<b>TABLE DES TABLEAUX .....</b>	<b>17</b>
<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>19</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>23</b>
<b>PARTIE I - CARACTERISTIQUES DES CELLULES DENDRITIQUES PLASMACYTOÏDES DANS DES ESPECES NON CANINES.....</b>	<b>25</b>
I- SOUS-POPULATIONS DES CELLULES DENDRITIQUES .....	25
<i>Cellules dendritiques conventionnelles .....</i>	25
<i>Cellules dendritiques CD14<sup>+</sup>.....</i>	26
<i>Cellules de Langerhans et de la microglie .....</i>	26
<i>Cellules dendritiques inflammatoires.....</i>	27
<i>Cellules dendritiques SLAN<sup>+</sup> .....</i>	28
II- ORIGINE, LIGNAGE ET FILIATION DES CELLULES DENDRITIQUES PLASMACYTOÏDES.....	28
A) <i>Développement des cellules dendritiques plasmacytoïdes.....</i>	28
B) <i>Molécules majeures du développement des pDC .....</i>	30
E2-2.....	31
ID2 .....	32
FLT3 et FLT3L.....	32
Protéines STAT .....	33
PI3K, PKB et mTOR .....	33
Autres facteurs .....	34
Conclusion .....	34
II- CARACTERISATION IMMUNOHISTOCHEMIQUE.....	35
A) <i>Identification phénotypique des pDCs humaines.....</i>	35
CD123 .....	36
CD303 .....	36
ILT7/ CD85g/ LILRA4 .....	37
BDCA-4.....	38
Autres marqueurs.....	38
B) <i>Comparaison phénotypique aux espèces non-primates. ....</i>	39
Chez le chien.....	39
Chez le porc.....	39
Chez le cheval.....	39
Chez les bovins .....	40
Chez les ovins .....	40
Chez la souris.....	40
III- MORPHOLOGIE ET DISTRIBUTION DES pDCS .....	42
A) <i>Morphologie des pDCs .....</i>	42
B) <i>Distribution des pDCs dans l'organisme .....</i>	43
C) <i>Localisation des pDCs dans les nœuds lymphatiques et les tonsilles.....</i>	43
D) <i>Localisation des pDCs dans la rate .....</i>	44

E) Localisation des pDCs dans le thymus.....	44
F) Fréquence des pDCs dans la moelle osseuse et le sang .....	44
G) Modifications de la distribution des pDCs lors d'inflammation.....	45
IV- MIGRATION ET CHIMIOTAXIE .....	45
A) Voies de migration principales.....	45
B) Chimioquinas et molécules effectrices de la migration des pDCs en conditions homéostatiques.....	45
C) Molécules intervenant lors du chimiotactisme inflammatoire .....	46
D) Protéines intracellulaires .....	47
V- ROLES PHYSIOLOGIQUES .....	48
A) Généralités.....	48
B) Fonctions des pDCs liées à la production d'interférons .....	48
Les interférons.....	48
Production d'IFN-I par les pDCs .....	49
Rôles et mécanismes d'action des interférons .....	51
C) Fonctions liées à la présentation antigénique par les pDCs.....	53
D) Autres cytokines produites par les pDCs.....	54
E) Différenciation terminale des pDCs.....	55
VI- ROLE PRO-PATHOLOGIQUE DES PDCs .....	56
A) Maladies auto-immunes, inflammatoires et allergiques.....	57
Lupus Erythémateux Systémique .....	57
Psoriasis.....	59
Asthme humain .....	59
B) Tumeurs.....	60
Les pDCs dans les tumeurs .....	60
Tumeurs dérivées de pDCs.....	61
C) Processus infectieux .....	62
Virus de l'immunodéficience Humaine (VIH).....	62
Conclusion .....	64
VII / PRINCIPES ET LIMITES DE L'IMMUNOHISTOCHEMIE .....	65
A) PRINCIPES GENERAUX.....	65
B) Phase 1 : Phase pré-analytique .....	66
Récupération des échantillons .....	67
Fixation .....	67
Décalcification .....	68
Paraffinage ou congélation .....	69
Coupe des tissus.....	70
C) Phase 2 : Phase analytique .....	70
Déparaffinage.....	70
Recouvrement antigénique / Démasquage .....	70
Blocage des réactions non-spécifiques .....	71
Application de l'anticorps primaire.....	72
Application du système de détection .....	75
Application du système chromogène-enzyme-substrat .....	75
Contre-coloration.....	79
Déshydratation et fixation .....	79
D) Phase post-analytique .....	79
Contrôle des performances.....	79
Interprétation.....	80

<b>PARTIE II - CARACTERISATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES CELLULES DENDRITIQUES CHEZ LE CHIEN : MATERIEL ET METHODE.....</b>	<b>81</b>
OBJECTIF .....	81
I/ SELECTION DES PRELEVEMENTS .....	81
II/ ANALYSE EPIDEMIOLOGIQUE.....	82
III/ ANALYSE HISTOLOGIQUE .....	82
IV / ANALYSE IMMUNOHISTOCHIMIQUE .....	82
A) <i>Anticorps utilisés</i> .....	82
B- <i>Groupes d'échantillons</i> .....	83
<b>PARTIE III - CARACTERISATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES CELLULES DENDRITIQUES CHEZ LE CHIEN : RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>85</b>
I- RESULTATS .....	85
A) <i>Sélection des prélèvements</i> .....	85
B) <i>Analyse épidémiologique</i> .....	85
C) <i>Analyse histologique</i> .....	88
D) <i>Analyse immunohistologique</i> .....	93
Témoins négatifs .....	93
Témoins positifs .....	93
Contrôle isotype .....	93
Contrôle de la coloration.....	93
CD123 .....	94
CD303 .....	94
II- DISCUSSION.....	96
A) <i>Introduction</i> : .....	96
B) <i>Sélection des cas</i> : .....	96
C) <i>Immunomarquages et anticorps choisis</i> .....	98
D) <i>Témoins</i> .....	99
1) <i>Témoins négatifs</i> : .....	99
2) <i>Témoins d'isotype</i> : .....	99
3) <i>Témoins de réaction</i> .....	100
4) <i>Témoins positifs</i> .....	100
E) <i>Résultats concernant les nœuds lymphatiques</i> .....	101
F) <i>Résultats concernant les autres organes</i> .....	102
G) <i>Limites de cette étude</i> .....	103
H) <i>Perspectives</i> .....	103
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>105</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>107</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>137</b>



## **Table des annexes**

Annexe 1 : protocole de marquage des échantillons .....	137
---	-----



## Table des figures

Figure 1 : modèle de développement des pDCs murines .....	30
Figure 2 : Schéma simplifié des acteurs moléculaires du développement des pDCs .....	35
Figure 3 : réaction immunohistochimique avec la technique du complexe avidine- biotine .....	66
Figure 4 : structure d'un anticorps (IgG) .....	73
Figure 5 : Différentes techniques d'immunohistochimie.....	78
Figure 6 : témoin positif de la réaction .....	93
Figure 7 : marquages positifs CD123 cas n°4 .....	94
Figure 8 : marquages positifs CD303 cas n°4 .....	95



## Table des tableaux

Tableau I : comparaison phénotypique des pDCs des espèces humaine et vétérinaires.....	40
Tableau II : anticorps et protocoles utilisés.....	79
Tableau III : liste des sujets sélectionnés.....	81
Tableau IV : observations histologiques sur lames colorées à l'hémalun-éosine.....	84



## Liste des abréviations

ABC	Complexe avidine-biotine
Ac	Anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNdb	ADN double brin
ADNsb	ADN simple brin
Ag	Antigène
APRIL	Ligand induisant la prolifération A
ARN	Acide ribonucléique
ARNsb	ARN simple brin
ARNdb	ARN double brin
ATP	Adénosine tri-phosphate
BAFF	Facteur d'activation des lymphocytes B
BCL	Facteur de transcription des lymphocytes B et de la leucémie
BDCA	Antigène des cellules dendritiques sanguines
BST2	Antigène des cellules du stroma de la moelle osseuse 2
BTK	Tyrosine kinase de Bruton
CADM	Molécule d'adhésion cellulaire
CBL	D'après Casitas B-lineage Lymphoma
CCR	Récepteur aux chimiokines de type C-C
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CD2AP	Protéine associée à CD2
cDC	Cellule dendritique conventionnelle, myéloïde, ou classique
CDP	Précurseur dendritique commun
CIITA	Transactivateur du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II
CL	Chaîne constante
CLEC9A	<i>C-type lectin domain family 9 member A</i>
CLP	Précurseur commun lymphoïde
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CMP	Précurseur commun myéloïde
CXCL	Ligand chimiokine à motif C-X-C
DAP12	Protéine d'activation de DNAX de 12kDa
DC	Cellule dendritique
DOCK2	<i>Dedicator of cytokinesis 2</i>
DR	Récepteur de mort
EDTA	Acide éthylène diamine tétracétique
F2L	Ligand au récepteur formylpeptide-like 2
FcεRI	Récepteur à haute affinité pour les IgE
FLT	Tyrosine kinase Fms-like
GM-CSF	Facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages
GrB	Granzyme B
hBD	B-défensine
HIER	Démasquage par la chaleur ( <i>Heat Induced Antigen Retrieval</i> )
HLA-DR	<i>Human Leukocyte Antigen – antigen D Related</i>
HMGB1	<i>High mobility group box 1</i>

HRP	Peroxydase issue du raifort
HSC	Cellule souche hématopoïétique
ICOSL	Ligand du costimulateur inductible des lymphocytes T
ID	Inhibiteur de la différenciation
IDO	Indoléamine 2,3-dioxygénase
IFN	Interféron
IFNAR	Récepteur aux interférons $\alpha / \beta$
IFN-I	Interferon de type I
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
ilt	Transcrit <i>immunoglobulin-like</i>
IRAK	Kinase associée au récepteur à l'interleukine
IRF	Facteur de régulation des interférons
IRG	Gènes liés aux interférons
ISG	Gènes stimulés par les interférons
ITAM	Immunorécepteurs à motif d'activation basé sur la tyrosine
ITIM	Motif d'immunorécepteur basé sur la tyrosine
LAB	Avidine-biotine marquée
LAIR1	Récepteur immunoglobuline-like associé aux leucocytes
LB	Lymphocyte B
LC	Cellule de Langerhans
LE	Lupus érythémateux
LEC	Lupus érythémateux cutané
LES	Lupus érythémateux systémique
LL-37	Peptide antimicrobien de la famille des cathélicidines de 18kDa
LNK	Lymphocyte <i>Natural Killer</i>
LPMP	Précurseur multipotent engagé dans la lignée lymphoïde
LT	Lymphocyte T
LTreg	Lymphocyte T régulateur
Ly6C	Complexe de l'antigène des lymphocytes 6
Mac	Anticorps monoclonaux
MAdCAM-1	Adressine des muqueuses et vasculaire d'adhésion cellulaire 1
MAPK	Protéine kinase activée par les mitogènes
M-CSFR	Récepteur au facteur de stimulation des colonies de macrophages
MEB	Microscope électronique à balayage
MET	Microscope électronique à transmission
moDC	Cellule dendritique dérivée des monocytes ou inflammatoire
MTG16	Gène de la translocation myéloïde sur le chromosome 16
mTOR	Cible mécanique de la rapamycine
MyD88	Gène de réponse principale de la différenciation myéloïde 88
NF- $\kappa$ B	Facteur nucléaire- $\kappa$ B
NKp	Protéine associée aux <i>Natural Killers</i>
NL	Nœud lymphatique
ODN	Oligodesoxyribonucléotide
ORN	Oligoribonucléotide
Pac	Anticorps polyclonaux
PACSIN	Substrat de la protéine kinase C et de la caséine kinase des neurones

PBMC	Cellules mononucléées du sang périphérique
pDC	Cellule dendritique plasmacytoïde
PD-L1	Ligand de mort programmée 1
PI3K	Phosphoinositide-3 kinase
PKB	Protéine kinase B
pré-pDC	Précurseur des cellules dendritiques plasmacytoïde
PSGL1	Glycoprotéine ligand de la P-sélectine 1
RCA	Amplification circulaire
RER	Réticulum endoplasmique rugueux
RUNX2	Facteur de transcription relié à Runt 2
S1PR4	Sphingosine-1-phosphate associé à la protéine G 4
SCA	Antigène des cellules souches
SHIP1	Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 5-phosphatase 1
SIGLEC	Lectine Ig-like liant l'acide sialique
SLAN	Antigène 6-sulpho LacNAc
STAT	Transducteur de signal et activateur de la transcription
TGF	Facteur de croissance transformant
TLR	Récepteur <i>Toll-like</i>
TNF	Facteur de nécrose des tumeurs
TPO	Thrombopoïétine
TRAF6	Récepteur associé au facteur nécrosant les tumeurs 6
TRAIL	Ligand induisant l'apoptose apparenté au TNF
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VL	Chaîne variable
ZEB	Boîte homéotique à doigt de zinc se liant aux boîtes E



## Introduction

Le **système immunitaire** est un ensemble de cellules, tissus, et organes agissant de façon coordonnée et permettant la **défense de l'organisme**. Il est constitué de nombreux types cellulaires, dont les cellules dendritiques.

Parmi ces dernières, on distingue notamment les **cellules dendritiques conventionnelles**, présentant une morphologie particulière caractérisée par la présence de dendrites et une capacité exceptionnelle à la présentation d'antigène, et les **cellules dendritiques plasmacytoïdes**, qui présentent une filiation proche et souvent croisée avec les cellules dendritiques conventionnelles, mais une morphologie et des capacités radicalement différentes.

Les cellules dendritiques plasmacytoïdes ont été découvertes très récemment. Elles ont été mises en évidence dans les années 1950, au sein d'organes lymphoïdes comme le thymus et la rate, mais ce n'est qu'à partir de 1999 qu'on leur reconnaît un rôle de liaison entre immunité innée et immunité acquise. Leur fonction première est de produire rapidement et en quantité importante des interférons de type I (IFN-I), cytokines importantes dans l'immunité innée mais aussi dans l'immunité acquise.

Aujourd'hui, les cellules dendritiques plasmacytoïdes suscitent un intérêt particulier au sein de la communauté scientifique en raison de leur capacité à **protéger un organisme des infections virales** et de leur rôle dans l'**immunité anti-tumorale**. Elles sont également étudiées en tant qu'**actrices pathologiques** dans de nombreuses maladies, notamment auto-immunes, telles que le psoriasis, le lupus érythémateux systémique, ou l'arthrite rhumatoïde.

Cependant, ces cellules n'ont été décrites que dans un nombre restreint d'espèces et en particulier ont été peu étudiées dans l'espèce canine.

L'étude menée ici a pour but de faire avancer la caractérisation immunohistochimique de ces cellules chez le chien, notamment en termes de localisation, dans l'espoir que l'espèce canine puisse représenter un modèle spontané pour l'étude des cellules dendritiques plasmacytoïdes chez l'homme.



# Partie I - Caractéristiques des cellules dendritiques plasmacytoïdes dans des espèces non canines

## I- Sous-populations des cellules dendritiques

Les cellules dendritiques (DCs) sont responsables de l'organisation de la réponse immunitaire grâce à leur capacité à présenter des antigènes et à l'information chimique qu'elles peuvent donner. On en distingue plusieurs grands groupes, pouvant être divisés en de nombreuses populations. On remarque également la proximité des DCs avec les monocytes et les macrophages, avec lesquels elles forment le système des phagocytes mononucléés (*Collin et al., 2013; Veglia, Gabrilovich, 2017*).

Les DCs peuvent être divisées en six populations : les **cellules dendritiques conventionnelles** ou myéloïdes ou classiques (cDCs), les **cellules dendritiques dérivées des monocytes** (moDCs) aussi appelées DCs inflammatoires, les **DCs CD14<sup>+</sup>**, les **cellules de Langerhans** (LC), les **cellules de la microglie** et enfin les **cellules dendritiques plasmacytoïdes** (pDCs) (*Collin et al., 2013; Veglia, Gabrilovich, 2017; van de Ven et al., 2011*), auxquelles nous nous intéresserons dans la suite de cette étude.

### **Cellules dendritiques conventionnelles**

Les cDCs peuvent être divisées en deux sous-populations majeures, les **cDCs CD1c<sup>+</sup>** et les **cDCs CD141<sup>+</sup>** (*Collin et al., 2013*).

Les **cDCs CD1c<sup>+</sup>** constituent la population majeure des cDCs humaines du sang, des tissus, et des organes lymphoïdes. Elles représentent 1% des cellules mononucléées sanguines et peuvent migrer dans les tissus, dans lesquels elles présentent un état plus activé que dans le sang. Dans les nœuds lymphatiques (NL), elles forment avec les LC les cellules interdigitées des zones T. La rate et les amygdales contiennent aussi ces DCs. Elles expriment plusieurs lectines, plusieurs récepteurs Toll-Like (TLRs), et d'autres détecteurs de pathogènes qui leur permettent un **rôle dans la**

**reconnaissance de bactéries**, notamment les mycobactéries, des champignons, mais aussi d'autres pathogènes, des allergènes, ainsi que dans la tolérance. Elles **stimulent efficacement les LT** CD4<sup>+</sup> naïfs et les LT CD8<sup>+</sup> par la production d'IL-12 et du TNF-β. Elles sécrètent de nombreuses cytokines telles qu'IL-12, IL-8, TNFα, et IL-10. Toutes ces fonctions induisent donc une stimulation de la voie Th1 et de Th17, et dans une moindre mesure Th2, selon l'environnement cytokinique et activateur (*Collin et al., 2013; van de Ven et al., 2011*).

Les **cDCs CD141<sup>+</sup>** (CD141 = thrombomoduline) représentent 10% des cDCs humaines, soit 0.1% des cellules mononucléés sanguines. Elles sont présentes dans les NL, les tonsilles, la rate, et la moelle osseuse, ainsi que dans les tissus non lymphatiques, la peau, les poumons et le foie. Elles ont une fonction de présentation croisée d'antigènes cellulaires ou d'immuns-complexes (*Bachem et al., 2010*). Elles absorbent les cellules mortes ou nécrotiques à l'aide de CLEC9A, reconnaissent les acides nucléiques viraux via TLR3 et TLR8, et effectuent une présentation croisée aux LT CD8<sup>+</sup>, *in vitro*. Elles sécrètent TNFα, des interférons λ, CXCL10, mais peu d'IL-12p70. Elles sont capables d'induire une réponse Th1 ainsi qu'une réponse Th2 plus efficace que les cDCs CD1c<sup>+</sup> (*Collin et al., 2013*).

#### ***Cellules dendritiques CD14<sup>+</sup>***

Les **DCs CD14<sup>+</sup>** sont présentes en petite quantité dans de nombreux tissus non lymphoïdes. Elles présentent un phénotype CD14<sup>+</sup>, CD11c<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, mais n'ont pas les marqueurs des cDCs CD1c<sup>+</sup> ou CD141<sup>+</sup> et sont moins matures que les DC CD1c<sup>+</sup>. Elles peuvent se différencier en LC ou en cellules matures semblables aux DC. Elles ont des **fonctions tolérogènes** en état non stimulé mais ne stimulent pas les LT naïfs. Elles auraient un rôle dans l'orientation des Lymphocytes T *helper* (LTh) folliculaires, et d'assistance directe des LB (*Matthews et al., 2012; Klechevsky et al., 2008*).

#### ***Cellules de Langerhans et de la microglie***

Les **cellules de Langerhans** (LC) et la microglie sont deux populations spécialisées de DCs, qui s'auto-renouvellent. Elles sont retrouvées respectivement dans les épithéliums squameux et le parenchyme cérébral. Les LC sont capables de se

différencier en DC migratoires tandis que les cellules microgliales sont considérées comme un type de macrophage par de nombreux auteurs.

Les LC sont situées dans la couche supra basale de l'épiderme et dans d'autres épithéliums squameux stratifiés (bronches, muqueuses orales et génitales) où elles forment un réseau. Elles expriment la langérine, CD1a, une molécule du CMH I propre aux cellules présentatrices d'antigènes, ainsi que le CMH II. Elles présentent des molécules de capture et de présentation d'antigènes dans un compartiment endosomal spécialisé. Elles sont l'incarnation typique des DCs tissulaires migratoires et ont constitué un modèle d'étude inestimable (*Collin et al., 2013*). Elles sont identifiées dans les NL drainant la peau, et notamment en cas de dermatoses inflammatoires. En plus de la présentation d'antigènes (Ag), elles induisent des LT régulateurs et la production d'IL-22, et ainsi la tolérance aux antigènes commensaux (*Collin et al., 2013*).

### ***Cellules dendritiques inflammatoires***

Les DCs inflammatoires ou **moDCs** sont des DCs dérivées de monocytes CD14<sup>+</sup> classiques. Les moDC ont un large spectre de fonctions comme la **stimulation intense de LT CD4<sup>+</sup>**, la présentation croisée aux LT CD8<sup>+</sup>, la production d'IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , IL-12 et IL-23, et ainsi l'orientation dans les voies Th1 et Th17. Elles sont générées lors de différents contextes inflammatoires et présentent de multiples sous-populations aux fonctions distinctes. De nombreuses questions les concernant restent en suspens, notamment concernant leur origine précise et leur devenir post-inflammatoire (*Collin et al., 2013; Veglia, Gabrilovich, 2017*).

### ***Cellules dendritiques SLAN<sup>+</sup>***

Certains types de monocytes CD16<sup>+</sup> ont des caractéristiques les rapprochant des DCs, ce qui a amené certains auteurs à les classer ainsi. En outre, une sous-population de monocytes CD16<sup>+</sup> exprime l'antigène 6-sulpho LacNAc (**SLAN**), sécrète de grandes quantités de TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , et IL-12, et répond aux stimuli inflammatoires. Cependant, il n'existe à l'heure actuelle pas de consensus sur leur classification en DCs (*Collin et al.*, 2013).

Les pDCs sont les DCs sanguines les plus nombreuses (*Collin et al.*, 2013) et sont l'objet de l'étude qui va suivre.

## **II- Origine, lignage et filiation des cellules dendritiques plasmacytoïdes**

### ***A) Développement des cellules dendritiques plasmacytoïdes***

L'ontogénie des pDCs est peu connue, controversée et en évolution continue. De nombreuses études ont été publiées chez la souris, mais un consensus sur l'interprétation des résultats n'a pas été établi (*Villani et al.*, 2017; *Bryant et al.*, 2016; *Onai et al.*, 2013; *Naik et al.*, 2007; *Schlitzer et al.*, 2011; 2012; *Shigematsu et al.*, 2004; *Lin et al.*, 2018; *Lee et al.*, 2017). En outre, les résultats sont souvent issus de données expérimentales de cultures *in vitro* ou sur des animaux transgéniques ou manipulés ; leur transposition à l'homme reste dans nombreux cas encore à démontrer. En particulier, l'existence d'un précurseur dendritique commun (CDP) chez l'homme est questionnée ; les données les plus récentes semblent indiquer un déterminisme précoce du destin cellulaire des pDCs et cDCs (*Lin et al.*, 2018).

Nous détaillerons ici une version simplifiée de l'ontogénie des pDCs chez l'homme, cohérente avec les principales données actuelles. Elle ne sera donc pas exhaustive et est amenée à être rendue obsolète par les études en cours.

Tout d'abord les pDCs se développent dans la moelle osseuse à partir de **cellules souches hématopoïétiques** (*Hematopoietic Stem Cells*, HSC) (Blom et al., 2000). Les HSC se différencient, entre autres, en **Précurseur Multipotent engagé dans la lignée Lymphoïde** (*Lymphocyte Primed Multipotent Progenitor*, LPMP). Celui-ci engendre alors notamment deux types cellulaires : le **Précurseur Commun Myéloïde** (CMP) et le **Précurseur Commun Lymphoïde** (CLP) (D'Amico, Wu, 2003; Shigematsu et al., 2004; Wang, Liu, 2004; Onai et al., 2013), ainsi que, directement, un **précurseur aux pDCs** (pré-pDCs).

Les CMP engendrent une diversité de cellules de la lignée rouge et myéloïde, mais aussi les précurseurs dendritiques communs (CDP). Les CDP se différencient ensuite en pre-DCs, qui donnent naissance aux cDC, de type 1 et 2, et aux pDCs (Lee et al., 2017; Haniffa et al., 2013).

Les CLP sont à l'origine de la majorité des lymphocytes et peuvent également se différencier en **pDCs** (Sathe et al., 2013).

A l'heure actuelle, la voie prédominante dans le développement des pDCs n'est pas définitivement établie, bien que la voie liée aux CMP est plus étudiée et connue depuis plus longtemps, et que le potentiel de pDCs par cellule est plus élevé chez les CLP (Chen et al., 2015).

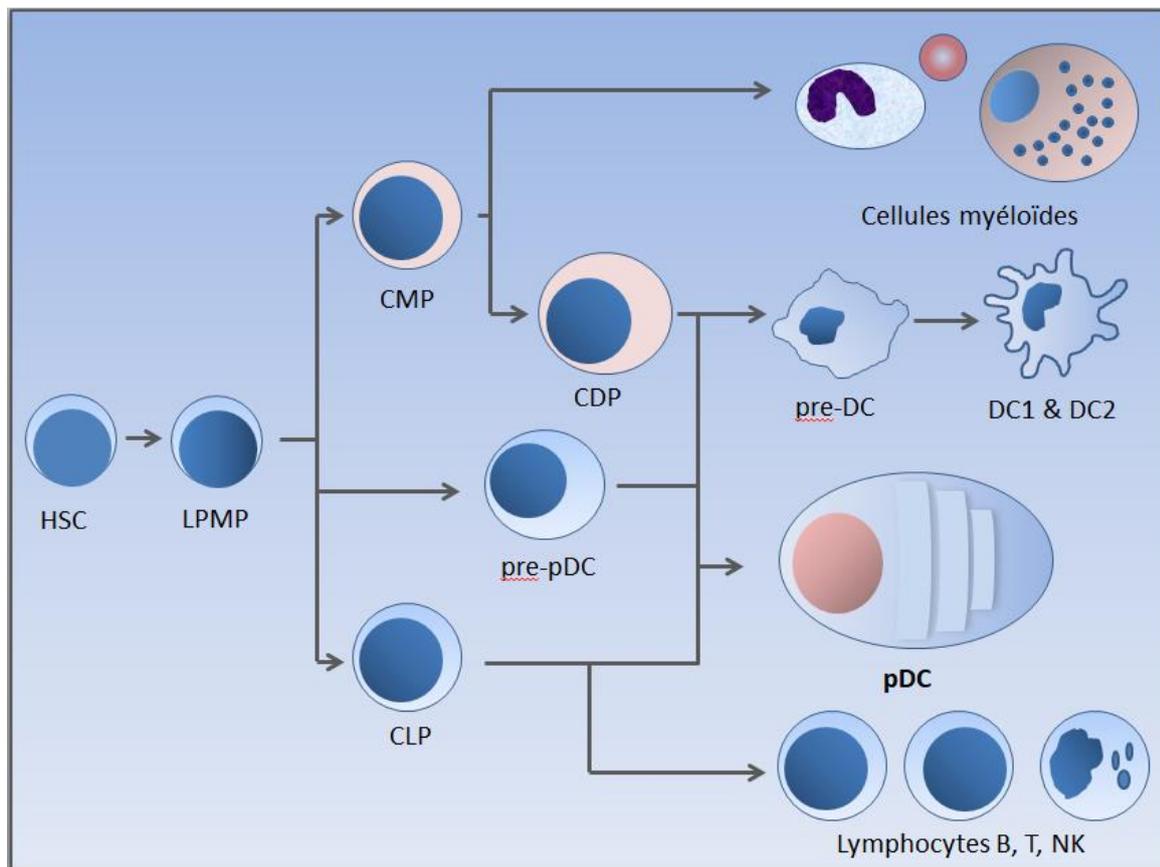


Figure 1 : modèle de développement des pDCs murines. Les cellules sources hématopoïétiques donnent naissance au précurseur multipotent engagé dans la lignée lymphoïde, qui se différencie en une lignée myéloïde, une lignée lymphoïde, et un précurseur direct des pDCs. L'ensemble de ces voies peuvent aboutir à la formation de pDCs.

### **B) Molécules majeures du développement des pDC**

Les facteurs les plus importants du contrôle du développement des DCs sont les facteurs de transcription, les cytokines présentes dans le milieu et la présence de leur récepteurs sur les cellules en développement (Swiecki, Colonna, 2015).

Nous allons dans cette partie décrire les principales molécules responsables du développement des pDCs.

## E2-2

Le facteur de transcription central de la différenciation en pDC est E2-2 (*Cisse et al.*, 2008). Il s'agit d'une molécule de la famille des protéines E (*Kee*, 2009), qui peut s'associer en homo ou en hétérodimères avec d'autres protéines E telles que E12, E47, ou HEB. E2-2 est exprimé abondamment dans les pDCs humaines et murines et faiblement dans les cDCs et les lymphocytes B (LB).

Sous forme de dimères, les protéines E s'associent aux gènes spécifiques aux pDC via des sites cibles désignés par le terme de « boîtes E » aux motifs CANNTG, notamment *bdca-2*, *ilt7*, et *irf7*, permettant ainsi la **différenciation**, **l'homéostasie** et les **capacités fonctionnelles** des pDCs. Les protéines dont l'expression est stimulée par E2-2 incluent le facteur de transcription SpiB, le facteur de transcription des lymphocytes B et de la leucémie 11A (BCL11A), le facteur de régulation des interférons 8 (IRF8), le facteur de transcription relié à Runt 2 (RUNX2), le transactivateur du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CIITA), les marqueurs de surface BDCA-2 (antigène sanguin associé aux cellules dendritiques 2), ILT7 (transcrit immunoglobuline-like 7), ainsi que les récepteurs à acides nucléiques TLR7 (récepteur Toll-like 7), TLR9 et PACSIN1 (substrat de la protéine kinase C et de la caséine kinase des neurones 1) (*Ghosh et al.*, 2010; *Cisse et al.*, 2008; *Robbins et al.*, 2008). De plus, E2-2 se lie aux promoteurs d'*irf8* et *spiB* ce qui augmente leurs niveaux d'expression (*Nagasawa et al.*, 2008; *Cisse et al.*, 2008). E2-2 est elle-même stimulée par SpiB mais aussi par le récepteur au facteur de stimulation des colonies de macrophages (**M-CSFR** = CD115), associé à la **thrombopoïétine** (TPO) (*Chen et al.*, 2004). Le maintien de l'état de différenciation en pDC se fait ainsi par l'expression importante d'E2-2, qui permet l'expression d'un large programme génétique définissant les pDCs.

Au contraire, en l'absence d'E2-2, on observe une perte des marqueurs spécifiques aux pDC, une différenciation en cDC, une augmentation de l'expression du CMH de type II, et l'acquisition de la capacité de recruter des lymphocytes T naïfs (*Ghosh et al.*, 2010). Les individus ne disposant que d'un allèle fonctionnel du gène codant pour E2-2 souffrent d'une **haploinsuffisance** (*Cisse et al.*, 2008) qui donne lieu au syndrome de Pitt-Hopkins chez l'homme (*Amiel et al.*, 2007; *Zweier et al.*, 2007),

caractérisé par des pDCs au phénotype de surface aberrant et une capacité de sécrétion d'interférons altérée. Au contraire, une surexpression d'E2-2 dans les précurseurs hématopoïétiques humains augmente la quantité de pDCs (*Nagasawa et al.*, 2008).

### ID2

ID2 fait partie des protéines de la famille des **inhibiteurs de différenciation** (ID), qui jouent un rôle majeur dans l'inhibition des protéines E et notamment E2-2 (*Spits et al.*, 2000; *Hacker et al.*, 2003). ID2 empêche la fixation des dimères de protéines E sur l'ADN. Cet inhibiteur de différenciation **est absent dans les pDCs** mais est **exprimé dans les cDCs** et permet leur développement et leur maintien en état de différenciation (*Hacker et al.*, 2003).

Un des stimulateurs d'ID2, le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (**GM-CSF**), utilise la voie de signalisation **STAT5** (transducteur de signal et activateur de la transcription 5) et inhibe l'expression des gènes liés aux pDC chez les cellules exprimant la tyrosine kinase Fms-like 3 (FLT3) et la production d'IRF-8, inhibant ainsi la différenciation en pDC et orientant vers la **différenciation en cDC**. Lors du développement des cellules dendritiques, l'équilibre entre les protéines ID et E est ainsi contrôlé par la balance entre STAT3 et STAT5 (*Li et al.*, 2012) et définit ainsi le devenir des précurseurs dendritiques.

ID2, lui, est inhibé principalement par un cofacteur de transcription de la famille et facteur ETO, MTG16 (gène de translocation myéloïde sur le chromosome 16) (*Ghosh et al.*, 2014, p. 2), ainsi que directement par ZEB2 (boîte homéotique à doigt de zinc se liant aux boîtes E 2) (*Scott et al.*, 2016).

### FLT3 et FLT3L

FLT3 est le récepteur au ligand FLT3L. La présence de ces deux molécules constitue une condition *sine qua non* au développement des cDCs et des pDCs (*Brawand et al.*, 2002; *Chen et al.*, 2015; 2013, p. 3). La fixation de FLT3L sur FLT3 active la voie de signalisation **STAT3**, stimulant la synthèse d'**E2-2** (*Li et al.*, 2012). FLT3 active

également la phosphoinositide-3 kinase (PI3K), qui, en synergie avec STAT3, active la cible mécanique de la rapamycine (mTOR) (Scheffler *et al.*, 2014). La synthèse de FLT3 est **stimulée par les IFN-I**, qui eux-mêmes sont produits par les pDCs (Chen *et al.*, 2013, p. 3). Par ces mécanismes, FLT3 et FLT3L incarnent des acteurs majeurs de la différenciation des cellules dendritiques.

### Protéines STAT

**STAT3**, un effecteur transcriptionnel classique de plusieurs récepteurs à cytokines, a été démontré comme activé par les voies de signalisation FLT3 et comme médiateur du développement des pDCs murines et humaines *in vitro* via FLT3L (Onai *et al.*, 2006; Laouar *et al.*, 2003; Esashi, Liu, 2008). Un effet majeur sur les cDC a également été noté, ce qui suggère que le signal STAT3 n'est pas spécifique aux pDCs, et pourrait intervenir au stade du CDP. L'expression de STAT3 est régulée par le facteur de transcription à doigts de zinc Gfi, qui a ainsi un effet inhibiteur de la génération de pDCs (Rathinam *et al.*, 2005).

Au contraire, **STAT5** est activé par la cytokine myéloïde GM-CSF et intervient dans ses effets inhibiteurs sur le développement des pDCs faisant intervenir FLT3L, et notamment par son action inhibitrice directe du promoteur *Irf8* (Esashi, Liu, 2008).

**L'équilibre entre l'activation des voies de signalisation liées à STAT3 et STAT5** semble ainsi être un élément déterminant du devenir des précurseurs aux cellules dendritiques, STAT3 orientant ceux-ci vers les pDCs, et STAT5 vers les cDCs (Li *et al.*, 2012).

### PI3K, PKB et mTOR

La Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) agit de concert avec la protéine kinase B (PKB/Akt) et STAT3 pour permettre l'activation de la protéine mTOR (van de Laar *et al.*, 2012). Celle-ci stimule le développement des pDCs ainsi que leur capacité à sécréter des IFN lors de stimulation de TLR7 ou de TLR9. De plus, elle régule également des capacités de stimulation de certaines lignées de lymphocytes T (LT) (Sathaliyawala *et al.*, 2010; Boor *et al.*, 2013).

### Autres facteurs

De nombreux facteurs supplémentaires ont été décrits comme agissant dans le développement et l'acquisition de la fonction des pDCs et pourraient faire l'objet de cibles thérapeutiques :

-L'interleukine 7 (**IL-7**) possède un rôle majeur dans le développement des pDCs via les précurseurs lymphoïdes communs (CLP) (*Vogt et al., 2009*),

-Le facteur 8 de régulation des interférons (**IRF-8 / ICSBP**) conditionne l'expression par les pDCs des récepteurs Toll-like (TLR) et améliore leur développement (*Schiavoni et al., 2002; Tsujimura et al., 2003*),

-**SpiB** constitue l'un des facteurs centraux du développement des pDCs ; il est à la fois une cible de E2-2 et un inducteur de ce dernier (*Nagasawa et al., 2008; Cisse et al., 2008*),

-Le facteur de transcription **Bcl11a** est requis pour l'expression des gènes associés au récepteur à l'interleukine 7 (IL-7R) et de *flt3* dans les précurseurs précoces des pDCs (*Wu et al., 2013; Yu et al., 2012*),

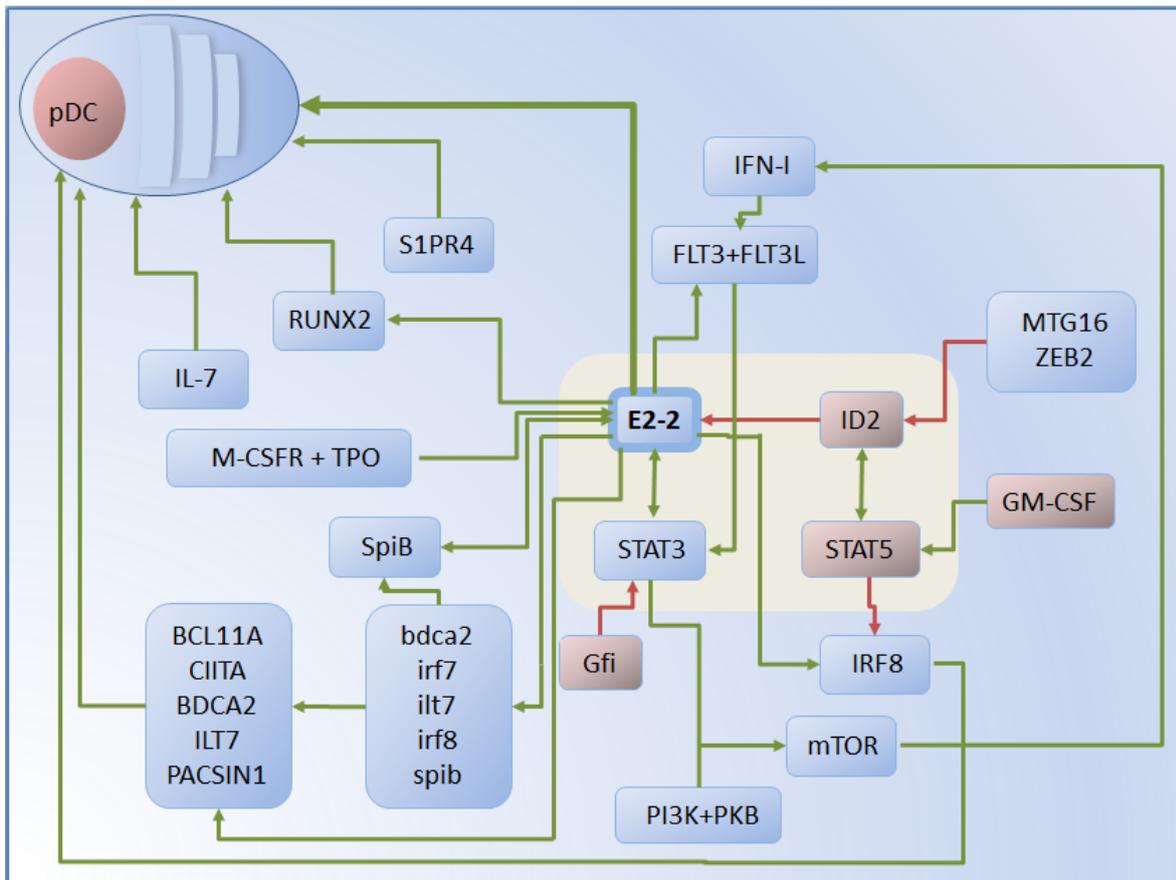
-**Runx2** est un facteur de transcription requis pour la mobilisation des pDCs hors de la moelle osseuse via les récepteurs aux chimiokines CCR2 et CCR5 (*Sawai et al., 2013*),

-La diminution de la quantité d'**Ikaros**, une famille de facteurs de transcription en doigt de zinc, a des effets majeurs sur le phénotype et la localisation des pDCs, tandis qu'elle n'a aucun effet sur les cDCs (*Allman et al., 2006; Wu et al., 1997; Galy et al., 2000*),

-La sphingosine-1-phosphate associé à la protéine G 4 (**S1PR4**) est un sphingolipide qui améliore le potentiel des précurseurs aux pDCs, et notamment le CDP, ainsi que celui des cellules souches hématopoïétiques CD34<sup>+</sup> (*Dillmann et al., 2015*).

### Conclusion

Le développement des pDCs fait donc intervenir de nombreux acteurs, dont les principaux activateurs sont E2-2, STAT3, SpiB, FLT3, FLT3L, et IRF8. Les principaux inhibiteurs du développement des pDCs, qui permettent alors une orientation vers les cDCs, sont ID2, STAT5, et GM-CSF.



**Figure 2 : Schéma simplifié des acteurs moléculaires du développement des pDCs. Les flèches vertes indiquent un effet positif (stimulation, activation, migration) tandis que les flèches rouges indiquent un effet inhibiteur. E2-2 et STAT3 constituent des carrefours des activateurs des pDCs, tandis qu’ID2 et STAT5 agissent comme inhibiteurs des pDCs et orientent la différenciation vers les cDCs.**

## II- Caractérisation immunohistochimique

### A) Identification phénotypique des pDCs humaines

Les pDCs chez l’homme ont été amplement caractérisées par la technique de cytométrie de flux (CD2<sup>variable</sup> CD3<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup> CD7<sup>+</sup> CD11b<sup>-</sup> CD11c<sup>-</sup> CD13<sup>-</sup> CD14<sup>-</sup> CD16<sup>-</sup> CD19<sup>-</sup> CD33<sup>-</sup> CD45RA<sup>+</sup> CD56<sup>-</sup> CD68<sup>+</sup> CD85<sup>+</sup> CD123<sup>+</sup> CD303<sup>+</sup> CD304<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> TCR<sup>-</sup> BST2<sup>-</sup> Ly6C<sup>-</sup>) (Cao, 2009; Arce et al., 2001; Gehrie et al., 2011; Alcántara-Hernández et al., 2017). Cependant, un nombre restreint d’anticorps utilisables en immunohistochimie est spécifique de cette population. Nous allons ici détailler ces marqueurs.

### CD123

Le marqueur CD123 correspond à la **chaîne  $\alpha$  du récepteur à l'interleukine 3 (IL-3R)**.

IL-3R est un hétérodimère composé de chaînes  $\alpha$  et  $\beta\text{c}$ . CD123 représente la chaîne  $\alpha$  associée à l'IL-3. CD123 est une glycoprotéine de 360 acides aminés. Elle est composée d'un domaine extracellulaire de 287 acides aminés présentant un domaine Ig-like et deux domaines Fibronectine de type III, un domaine transmembranaire de 30 acides aminés et un domaine intracellulaire de 53 acides aminés (*Woodcock et al., 1996; Barry et al., 1997; Carr et al., 2001; Woodcock et al., 1997*). La chaîne  $\beta\text{c}$  est utilisée comme récepteur à IL-3, IL-5, et GM-CSF, lorsqu'elle est associée à la chaîne  $\alpha$  spécifique de chacun de ces cytokines (*Guthridge et al., 1998*).

CD123 est exprimé sur la surface des pDCs, et est présent sur l'ensemble des pDCs tissulaires. Il est en outre exprimé dans la majorité des précurseurs hématopoïétiques CD34<sup>+</sup>, et son expression diminue au fur et à mesure de la différenciation, à l'exception des polynucléaires basophiles (*Sullivan, Locksley, 2009; Han et al., 2008; Testa et al., 2014; Taussig et al., 2005*). Il est ainsi exprimé par certains types de cellules tumorales, notamment dans le cadre de leucémies (revue par (*Testa et al., 2014*)).

IL-3R permet l'action de l'IL-3, qui promeut la prolifération, la survie, et la différenciation des lignées cellulaires ciblées (*Testa et al., 2014*).

### CD303

La protéine CD303, Antigène Sanguin des Cellules Dendritiques 2 (BDCA-2) est une lectine calcium dépendante (de type C), transmembranaire de type II, et composée de 213 acides aminés chez l'homme (*Dzionek et al., 2001*).

BDCA-2 présente un rôle dans la capture d'antigène (*Dzionek et al., 2001*) en formant un complexe avec la chaîne  $\gamma$  du récepteur inhibiteur au fragment constant des immunoglobulines E (Fc $\epsilon$ R1 $\gamma$ ) (*Cao et al., 2007*). L'activation de ce complexe entraîne une cascade *BCR-like* aboutissant à l'inhibition de la production d'IFN-I et de l'expression des gènes liés aux interférons (IRG) (*Röck et al., 2007*).

Son **expression** est **quasi-exclusive des pDCs** chez l'homme et la souris ; cependant, des traces d'ARN messager de BDCA-2 sont présents dans les cDCs immatures (*Arce et al.*, 2001; *Dzionek et al.*, 2002).

Il est ainsi hautement spécifique des pDCs, ce qui justifie son utilisation fréquente.

Cependant, en raison de son rôle dans l'inhibition de la sécrétion d'IFN, son expression membranaire est inhibée lors de stimulation des TLR7 et TLR9 et notamment dans un contexte d'infection virale (*Wu et al.*, 2008).

#### ILT7/CD85g/LILRA4

Les transcrits immunoglobulines-like (ILTs) sont une famille de récepteurs de surface des cellules immunitaires. Ces molécules sont divisées en deux catégories fonctionnelles selon leurs domaines cytoplasmiques et transmembranaires. Les ILTs inhibiteurs présentent un domaine cytoplasmique contenant un immunorécepteur à motif d'inhibition basé sur la tyrosine (ITIMs), tandis que les ILTs activateurs ne présentent pas de motifs de signaux intrinsèques, et reposent sur une association avec des protéines transmembranaires adaptatrices présentant des immunorécepteurs à motif d'activation basé sur la tyrosine (ITAM). ILT7 est une protéine de 447 acides aminés (*Cao, Bover, 2010*) qui présente 4 domaines extracellulaires Ig ainsi qu'un résidu chargé positivement dans la région transmembranaire, qui lui permet potentiellement de s'associer à des protéines adaptatrices membranaires.

ILT7 agit en formant un complexe avec FcεR1γ. Son activation via des ITAMs entraîne une cascade TCR-like aboutissant à **l'inhibition de la production d'IFN-I** passant par les TLR (*Cao et al. 2006*). L'activation de ce complexe peut être initiée par l'antigène des cellules du stroma de la moelle osseuse 2 (BST2/CD317) (*Cao et al.*, 2009).

Les ILT7 sont **spécifiquement exprimées par les pDCs humaines** (Cao *et al.*, 2007; Risoan *et al.*, 2002; Cho *et al.*, 2008), dans l'ensemble des populations tissulaires (Cao, Bover, 2010).

A l'instar de BDCA-2, l'expression d'ILT7 est diminuée lors d'une stimulation TLR (Cao *et al.*, 2007; Cao, Bover, 2010).

#### BDCA-4

BDCA-4, également appelé neuropiline 1 (NRP1, Npn1), est une protéine transmembranaire de type I d'environ 130kDa. Elle présente un domaine extracellulaire composé d'un domaine N-terminal liant le complément CUB, un domaine associé au facteur de coagulation V/VIII, et un domaine méprine ou MAM.

BDCA-4 agit comme co-récepteur à de nombreuses molécules, y compris des sémaphorines de classe III et IV, et de multiples facteurs de croissance. Ses fonctions varient ainsi selon le ligand et sont nombreuses ; on retiendra un rôle dans l'angiogénèse, la fonction des LT et LT régulateurs (LTreg), et la stimulation des cellules tumorales. Pour les pDCs, BDCA-4 favoriserait le contact avec les LT.

BDCA-4 est fortement exprimé par les pDCs du sang périphérique (Dzionek *et al.*, 2000; Romeo *et al.*, 2002; Tordjman *et al.*, 2002), du sang du cordon ombilical (De Wit *et al.*, 2004), et de la moelle osseuse (Dzionek *et al.*, 2002). Dans le sang périphérique, les pDCs sont les seules cellules à exprimer BDCA-4 dans des conditions homéostatiques (Chaudhary *et al.*, 2014). Cependant, BDCA-4 a été mis en évidence dans des LT activés et des LTreg isolés d'environnements inflammatoires (Battaglia *et al.*, 2008; 2009; Milpied *et al.*, 2009) chez l'humain.

#### Autres marqueurs

D'autres marqueurs peuvent être utilisés. Les pDCs expriment de nombreux récepteurs différents, comme les TLR7 et TLR9 et quelques ILT. Cependant, ces marqueurs semblent moins spécifiques des pDCs que les marqueurs sus-cités.

## ***B) Comparaison phénotypique aux espèces non-primates.***

La caractérisation phénotypique des espèces autres que murines et humaines est lacunaire. Nous décrivons ici les connaissances actuelles en termes de phénotype des pDCs en espèces vétérinaires.

### *Chez le chien*

Les pDCs ont été mises en évidence chez le chien dans un contexte de carcinome mammaire. Les pDCs étaient marquées CD123<sup>+</sup>, présentaient un marquage cytoplasmique, et étaient retrouvées dans les nodules cancéreux étudiés (*Rosolem et al.*, 2015).

### *Chez le porc*

Chez le porc, les pDCs sont identifiées comme Flt3<sup>+</sup> CD172a<sup>+</sup> CD4<sup>hi</sup> CD14<sup>-</sup> CD123<sup>hi</sup> CD1a<sup>-</sup> CD16<sup>low</sup> CD163<sup>-</sup> wCD11R1<sup>-</sup> CD3<sup>-</sup> CD5<sup>-</sup> CD6<sup>-</sup> CD21<sup>-</sup> CD1<sup>lo</sup> CD2<sup>med</sup> CD32<sup>+</sup> (*Guzylack-Piriou et al.*, 2010; *Summerfield, McCullough*, 2009; *Calzada-Nova et al.*, 2010). Un sous-ensemble Flt3<sup>+</sup>, au phénotype similaire aux pDCs, mais CMHII<sup>hi</sup> et CD4<sup>hi</sup> a également été mis en évidence (*Summerfield et al.*, 2015).

Les pDCs chez le porc ont également été identifiées dans les plaques de Peyer et les NL mésentériques lors de gastro-entérite virale porcine.

De plus, en pathologie porcine, le circovirus porcin 2 (PCV2) possède une capacité d'inhibition des pDCs et d'accumulation dans le cytoplasme de celles-ci. Cette inhibition semble déterminée par le rapport entre ADNs<sub>b</sub> sous forme libre et ADNs<sub>b</sub> enveloppé, et aboutit à une diminution de la sécrétion d'IFN- $\alpha$  (*Baumann et al.*, 2013).

### *Chez le cheval*

Les pDCs chez le cheval sont marquées Flt3<sup>+</sup> CD4<sup>low</sup> CD13<sup>-</sup> CD14<sup>-</sup> CD172a<sup>-</sup> CADM-1<sup>-</sup> CMHII<sup>low</sup> (*Ziegler et al.*, 2016; *Summerfield et al.*, 2015).

### Chez les bovins

Les pDCs chez les bovins sont marquées CD4<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup> CD45RB<sup>+</sup> CD172a<sup>low</sup> CMHII<sup>variable</sup> (Reid et al., 2011).

### Chez les ovins

Les pDCs ovines sont marquées CD4<sup>-/low</sup> CD11c<sup>-</sup> CD14<sup>-</sup> CD45RB<sup>+</sup> CMHII<sup>low</sup> CD86<sup>-</sup> CD205<sup>-</sup> (Pascale et al., 2008). Celles-ci ont la particularité d'être capables de circuler via la lymphe (Pascale et al., 2008).

### Chez la souris

Les pDCs murines sont marquées CD11c<sup>low</sup> CD8α<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> BST2<sup>+</sup> Ly6C<sup>+</sup> SIGLEC-H<sup>+</sup> CCR9<sup>+</sup> Ly49Q<sup>+</sup> SCA1<sup>+</sup> CD172a<sup>+</sup> CADM-1<sup>-</sup> CMHII<sup>?</sup> CD206<sup>-</sup> CD209<sup>-</sup> CD123<sup>+</sup> Flt3<sup>+</sup> BST2<sup>+</sup> BDCA-2<sup>+</sup>\* B220<sup>+</sup>.

Le marqueur BDCA-2 a été mis en évidence chez la souris dans les plaques de Peyer par Rochereau et al. en 2011.

Tableau I : comparaison phénotypique des pDCs des espèces humaine et vétérinaires.

nd = pas de données disponibles

Antigène	Hommes	Souris	Bovins	Ovins	Porcins	Chevaux	Chiens
CD1a	nd	nd	nd	nd	-	nd	nd
CD2	variable	nd	nd	nd	med	nd	nd
CD3	-	nd	nd	nd	-	nd	nd
CD4	+	variable	+	Low/-	+ (high)	Low	nd
CD5	nd	nd	nd	nd	-	nd	nd
CD6	nd	nd	nd	nd	-	nd	nd
CD13	nd	nd	nd	nd	nd	-	nd
CD14	-	nd	-	-	-	-	nd
CD16	-	nd	nd	nd	low	nd	nd
CD21	nd	nd	nd	nd	-	nd	nd
CD32	nd	nd	nd	nd	+	nd	nd
<b>CD172a</b>	+	+	Low	+	+	-	nd
CADM-1	-	-	nd	-	-	-	nd
CMH-II	+	+ ?	Variable	Low	+ (selon sous ensembles ?)	Low	nd
CD11b	nd	nd	+	nd	nd		nd
CD11c	-	low	nd	-	nd	nd	nd
CD45RB	nd	nd	+	-	nd	nd	nd
<b>CD45RA</b>	+	High	nd	nd	nd	nd	nd
CD86	nd	nd	nd	-	nd	nd	nd
CD205	nd	nd	nd	-	nd	nd	nd
CD206 (MMR)	-	-	-	-	-	nd	nd
CD209 (DC-Sign)	-	-	nd	nd	-	nd	nd
<b>CD123</b>	+	+	nd	nd	+ (hi)	nd	+
<b>CD135 = Flt3</b>	+	+	nd	nd	+	+	nd
CD163	nd	nd	nd	nd	-	nd	nd
wCD11R1	nd	nd	nd	nd	-	nd	nd
DC-LAMP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>BDCA-2 = CLEC4C</b>	+	+	nd	nd	nd	nd	nd
ILT1	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ILT3	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ILT7	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B220	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd
BST2	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd
SIGLEC-H	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd
Ly6C	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd

Bien qu'il n'existe pas de marqueur démontré comme exprimé par l'ensemble des pDCs de toutes espèces, on peut établir plusieurs marqueurs conservés entre plusieurs espèces. Les marqueurs **CD123**, **Flt3**, **BDCA-2**, **CD45RA**, et **CD172a** peuvent ainsi être utilisés pour tenter de mettre en évidence des pDCs dans les mammifères. Ces données soulignent également l'intense **variabilité inter-espèces** en ce qui concerne le phénotype des pDCs, et laissent supposer une variabilité fonctionnelle.

### III- Morphologie et distribution des pDCs

#### *A) Morphologie des pDCs*

Les pDCs présentent une morphologie semblable à celle d'un plasmocyte au microscope optique en coloration Giemsa ou hémalum-éosine. Elles sont légèrement plus petites que des monocytes CD14<sup>+</sup> mais plus grosses que des lymphocytes inactifs (*Tang et al.*, 2010).

Le noyau des pDCs est en forme de rein, rond, ovale ou indenté (*Colonna et al.*, 2004), et excentré. Leur cytoplasme est bleuté en coloration Giemsa et contient un archoplasme pâle (*Tang et al.*, 2010).

Au microscope électronique à transmission (MET), les pDCs présentent un noyau à hétérochromatine marginale et un cytoplasme contenant un réticulum endoplasmique rugueux (RER) bien développé à citernes non dilatées, parallèles à la membrane plasmique (*Tang et al.*, 2010; *Facchetti et al.*, 2003), un petit appareil de Golgi, et de nombreuses mitochondries (*Tang et al.*, 2010).

Au microscope électronique à balayage (MEB), les pDCs ont une morphologie semblable aux plasmocytes, ronde, lisse, et mesurent 8 à 10µm de diamètre. Elles ne présentent pas de dendrites au repos (*Tang et al.*, 2010).

Une étude récente indique que lors de stimulation, les pDCs peuvent acquérir des morphologies différentes. Les pDCs se différencient ainsi en trois populations dont la morphologie varie de celle d'une pDC classique (population P1) à celle d'une cellule

polarisée, dendritique, au RER moins développé qu'une pDC au repos (P3), en passant par une cellule au morphotype intermédiaire (population P2) (*Alculumbre et al.*, 2018).

### ***B) Distribution des pDCs dans l'organisme***

Les pDCs ont été décrites à l'état homéostatique dans l'ensemble des nœuds lymphatiques humains (*Segura et al.*, 2012), dans la moelle osseuse (*Dzionic et al.*, 2002; *Waller et al.*, 2001), dans le thymus (*Bendriss-Vermare et al.*, 2001), dans la rate (*Facchetti, de Wolf-Peeters*, 1991), les amygdales (*Lindstedt et al.*, 2005), l'interstitium péri-tubulaire rénal (*Woltman et al.*, 2007), et en faible quantité dans l'intestin grêle. Elles sont également très rarement observées dans la peau (*Sun et al.*, 2011) en conditions physiologiques et pourraient pénétrer dans n'importe quel organe à très faible fréquence lors de conditions homéostatiques (*Randolph et al.*, 2008).

Chez le fœtus, elles ont été rencontrées dans les nœuds lymphatiques (*Olweus et al.*, 1997), dans le foie, la moelle osseuse (*Blom et al.*, 2000) et dans le sang du cordon ombilical (*Sorg et al.*, 1999).

Nous allons détailler la distribution des pDCs dans les différents organes lymphoïdes et hématopoïétiques de l'homme.

### ***C) Localisation des pDCs dans les nœuds lymphatiques et les tonsilles***

Dans les nœuds lymphatiques, les pDCs sont préférentiellement localisées dans les zones qui entourent les follicules B dans le cortex et dans les zones T du paracortex (*van den Oord et al.*, 1986). Dans ces zones, les pDCs sont étroitement associées aux **veinules à endothélium épais (HEV)** (*Sozzani et al.*, 2010; *Colonna et al.*, 2004; *Facchetti et al.*, 2003) ce qui souligne leurs capacités migratoires par voie hématogène.

Les pDCs peuvent être regroupées en grappes ou dispersées (Sozzani, 2005; Facchetti et al., 2003). Lorsqu'elles sont regroupées, elles sont régulièrement agrégées autour de corps apoptotiques ou de macrophages à corps tangibles (Facchetti et al., 2003). Les pDCs sont parfois nombreuses dans les tonsilles palatines et pharyngiennes ainsi que dans les NL réactifs superficiels (Facchetti et al., 1988).

#### **D) Localisation des pDCs dans la rate**

Les pDCs dans la rate sont rares et principalement localisées dans les manchons lymphoïdes périartériolaires, à la bordure de la zone marginale, et dans la pulpe rouge (Facchetti et al., 1988; Colonna et al., 2004). Leur localisation est distincte de celle des cDCs (Colonna et al., 2004), qui sont situées dans le compartiment subcapsulaire, les zones riches en LT, ainsi qu'autour et à l'intérieur des follicules B jusque dans la zone centrale (Velásquez-Lopera et al., 2008).

#### **E) Localisation des pDCs dans le thymus**

Dans le thymus, les pDCs sont principalement dispersées dans la médulla, étroitement associées aux cellules dendritiques interdigitées matures (Bendriss-Vermare et al., 2001), et autour des corps de Hassal (Facchetti et al., 2003).

#### **F) Fréquence des pDCs dans la moelle osseuse et le sang**

Les pDCs constituent 0.15% (0.04–0.29%) des cellules totales de la moelle osseuse chez l'homme (Derolf et al., 2014).

Les pDCs ont été mises en évidence dans le sang (Dzionek et al., 2000). Il s'agit de leur voie de migration unique étant donné leur incapacité à utiliser les voies lymphatiques.

Les pDCs humaines représentent 0.1%-0.8% des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs) (*Tang et al., 2010; Gehrie et al., 2011*) ce qui en fait des cellules rares dans le sang et donc difficiles à étudier.

### ***G) Modifications de la distribution des pDCs lors d'inflammation***

En cas d'inflammation, de multiples signaux chimiokines permettent la migration des pDCs vers de nombreux organes, ce qui se traduit par une augmentation des quantités de pDCs retrouvées dans les organes inflammés (*Vermi et al., 2005; Farkas et al., 2001; Jahnsen et al., 2004; Wendland et al., 2007*), mais aussi dans les organes lymphoïdes tributaires des organes inflammés, (*Colonna et al., 2004; Blasius et al., 2004*).

## **IV- Migration et chimiotaxie**

### ***A) Voies de migration principales***

Durant la vie adulte, les pDCs sont produites de façon continue dans la moelle osseuse. Elles en sont initialement mobilisées par le facteur stimulant les colonies de granulocytes **G-CSF** (*Pulendran et al., 2000; Arpinati et al., 2000*). Après avoir quitté la moelle osseuse, les pDCs migrent via les zones riches en LT des organes lymphoïdes secondaires au travers des HEV dans les nœuds lymphatiques (*Cella et al., 1999*) et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, ainsi que par les zones marginales de la rate en conditions homéostatiques (*Penna et al., 2002; Yoneyama et al., 2004*). Ceci les distingue des cDCs, en ce qu'elles n'utilisent pas les vaisseaux lymphatiques afférents.

### ***B) Chimiokines et molécules effectrices de la migration des pDCs en conditions homéostatiques***

En conditions homéostatiques, les pDCs sont confinées aux organes lymphoïdes primaires et secondaires, notamment grâce à l'expression des récepteurs aux chimiokines **CXCR4** (récepteur à **CXCL12**, une chimiokine homéostatique exprimée par les HEV) et **ChemR23** (*Sozzani et al., 2010*).

En particulier, CXCR4 et CCR7 sont responsables de la migration des pDCs dans la pulpe blanche de la rate (*Umemoto et al., 2012*), alors que la **L-sélectine**, la glycoprotéine ligand de la P-sélectine 1 (**PSGL1**) et les contre-ligands des **sélectines P et E** entraînent un tropisme pour les NL (*Kohrgruber et al., 2004; Nakano et al., 2001*).

### ***C) Molécules intervenant lors du chimiotactisme inflammatoire***

Les pDCs migrent aussi dans les tissus présentant une inflammation. Ceci est possible grâce à l'action de nombreuses molécules, dont nous détaillerons ici les plus importantes.

De façon non tissu-spécifique, **l'adénosine** et **F2L**, deux agonistes relargués par les tissus endommagés aux sites d'inflammation, ont la capacité d'induire la migration des pDCs par l'engagement du récepteur à l'adénosine A1 et le récepteur au peptide formyl FPR3/FPRL2 respectivement (*Devosse et al., 2009; Schnurr et al., 2004*). De plus, tout comme les cDCs, les pDCs expriment des récepteurs fonctionnels aux **anaphylatoxines C3a** et **C5a** (*Gutzmer et al., 2006*). Enfin, **l'interleukine 18** (IL-18) induit la migration des pDCs et promeut la différenciation des lymphocytes Th1 (*Kaser et al., 2004*).

La **sélectine E** et les récepteurs aux chimiokines **CCR5** et **CXCR3** sont impliqués dans la migration vers les NL (*Diacovo et al., 2005; Yoneyama et al., 2004; 2005*).

Lors d'inflammation, **CXCR3** et **CCR5** conduisent également les pDCs jusqu'aux tissus inflammés (*Krug et al., 2002; Diacovo et al., 2005*). **CCR6** et **CCR10** sont exprimés par un sous-ensemble des pDCs dans les amygdales humaines, et facilitent la migration dans les épithéliums inflammés en réponse à CLL20 et CCL27 (*Sisirak et al., 2014*).

Les pDCs expriment également le récepteur aux chimiokines **CCR9** et migrent vers l'intestin grêle en réponse au ligand de CCR9, CCL25. La migration au thymus emprunte la même voie de chimiotaxis (*Hadeiba et al., 2012; Wendland et al., 2007; Wurbel et al., 2011*). Cependant, la migration vers le colon est CCR9-indépendante. **MAdCAM-1** (mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1) et **l'intégrine  $\beta 7$**  promeuvent la migration des pDCs dans les compartiments intra-épithéliaux intestinaux (*Clahsen et al., 2015*).

**ChemR23** apparaît comme une chimiokine majeure du tropisme des pDCs en conditions pathologiques et dans l'inflammation (*Sozzani et al., 2010*).

En conclusion, les signaux associés à l'inflammation et aux dommages tissulaires peuvent contribuer au recrutement des pDCs.

#### ***D) Protéines intracellulaires***

Plusieurs études ont identifié des protéines intracellulaires qui impactent le trafic des pDCs dans les conditions physiologiques et pathologiques. Les deux molécules principales impliquées sont la protéine associée à CD2 (CD2AP) et DOCK2 (Dedicator of cytokinesis 2). **CD2AP** (*Marafioti et al., 2008*) est une protéine intracellulaire exprimée par les pDCs régulant les mouvements d'actine et promouvant la migration des pDCs aux NL dans un contexte inflammatoire (*Srivatsan et al., 2013*). **DOCK2** est nécessaire pour la migration des pDCs aux NL et dans les manchons lymphoïdes périartériolaires de la rate ainsi que dans la mobilité et la polarité du chimiotactisme des pDCs. DOCK2 présente également un rôle dans le contrôle de la sécrétion des IFN-I (*Gotoh et al., 2008; 2010*).

## V- Rôles physiologiques

### A) Généralités

Les pDCs présentent de nombreux rôles fonctionnels qui aboutissent à la liaison des réponses immunitaires innées et acquises :

- leur production importante d'IFN-I permet l'induction d'un état antiviral,
- leur capacité à la présentation d'antigènes leur permet l'activation des lymphocytes,
- leur production de nombreuses cytokines et chimiokines permet une communication intercellulaire précise (*Swiecki, Colonna, 2015*).

### B) Fonctions des pDCs liées à la production d'interférons

Quand les pDCs sont stimulées par des virus via leurs récepteurs TLR, elles allouent environ 60% de leur activité transcriptionnelle à la production des IFN-I (*Ito et al., 2006*), et elles sont ainsi responsables de la production de **95% des IFN-I sériques** (*Siegal et al., 1999*).

#### Les interférons

Les IFN-I regroupent une grande quantité de molécules différentes. Chez les mammifères, on retrouve les IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\kappa$ , IFN- $\delta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\tau$ , IFN- $\omega$ , and IFN- $\zeta$  (*Delhaye et al., 2006*). Les IFN- $\alpha$  regroupent eux-mêmes 12 sous-types différents (*Lavoie et al., 2011*), et les IFN- $\omega$  regroupent une multitude de sous-types (*Yang et al., 2007*). Cependant, ces sous-types partagent le **même récepteur**. L'activation de ce dernier entraîne l'expression de plusieurs centaines de gènes associés aux interférons (IRG), qui promeuvent un état antiviral, antitumoral, et inflammatoire (*Delhaye et al., 2006*).

Les interférons de type II, également appelés IFN- $\gamma$ , sont produits par les LNK, les LT, et les CPA. Les pDCs ne produisent pas d'IFN-II, mais ils activent les LNK, qui sont une source de ceux-ci. Leur effet principal est d'activer les macrophages (*Inoue et al., 2013*).

Les interférons de type III, également appelés interférons de la famille **IFN- $\lambda$** , se lient eux à un récepteur utilisé par la famille de cytokines IL-10 (Uzé, Monneron, 2007). Ils induisent également une réponse antivirale mais ciblent principalement des **épithéliums** (Ank et al., 2006; 2008; Onoguchi et al., 2007).

#### Production d'IFN-I par les pDCs

Les pDCs produisent un large spectre d'IFN qui inclut notamment IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\kappa$ , IFN- $\omega$ , IL-28a,b, IL-29 (IFN  $\lambda$ 2,3/  $\lambda$ 1). La classe prédominante des IFN produits par les pDCs est celle des IFN- $\alpha$  (Ito et al., 2006).

Une des voies principales de stimulation à la sécrétion d'INF de type I par les pDCs est la stimulation des TLR 7 et 9 (Gilliet et al., 2008).

**TLR7** a été identifié comme un récepteur des pDCs reconnaissant les **ARN monobrans** (viraux ou endogènes) et les oligoribonucléotides (ORN) synthétiques, permettant ainsi la détection d'infection aux virus à ARNs (Hemmi et al., 2002; Stary et al., 2007; Fitzgerald-Bocarsly et al., 2008).

Le récepteur TLR9 reconnaît l'**ADN** contenant des séquences riches en CpG non-méthylées, qui sont principalement retrouvées dans les ADN viraux et bactériens et sont rares dans l'ADN des vertébrés. TLR9 reconnaît également l'ADN endogène et les oligodésoxyribonucléotides (ODN) CpG synthétiques (Fitzgerald-Bocarsly et al., 2008; Hochrein et al., 2004; Gilliet et al., 2008).

Les TLR7 et TLR9 étant situés dans des compartiments endosomaux, la reconnaissance d'acides nucléiques nécessite leur **internalisation**. Or, les pDCs étant naturellement résistantes aux infections virales, celle-ci peut avoir lieu via de multiples mécanismes indépendants de l'infection virale, notamment par la formation d'immun-complexes, ou l'association à une vésicule d'endocytose (Gilliet et al., 2008).

La voie de signalisation de TLR7 et TLR9 implique un complexe de transduction de signal multi-protéine, incluant le gène de réponse principale de la différenciation myéloïde 88 (**MyD88**) (*Hemmi et al., 2002*), le récepteur associé au facteur nécrosant des tumeurs 6 (TRAF6) (*Saitoh et al., 2011*), la kinase associée au récepteur à l'interleukine 1 (IRAK1/IRAK4) (*Ku et al., 2007*), et la tyrosine kinase de Bruton (BTK) (*Wang et al., 2014*).

Les TLRs se lient à MyD88 par des interactions de domaine de mort, recrutant et s'associant à TRAF6, BTK, et IRAK1/IRAK4 dans le cytoplasme, menant à l'activation du facteur régulateur d'interféron 7 (**IRF7**), le facteur nucléaire- $\kappa$ B (**NF- $\kappa$ B**), et les protéines kinases activées par les mitogènes (**MAPKs**). Ces trois molécules seront transloquées au noyau où elles stimuleront l'expression de gènes spécifiques (*Swiecki, Colonna, 2015*).

IRF-7 stimule de façon intense la production d'IFN-I et constitue un élément nécessaire à la réponse antivirale des pDCs (*Honda et al., 2005*). Elles expriment constitutivement un niveau élevé d'IRF7, contribuant partiellement à la production intense d'IFN-I en réponse aux virus (*Izaguirre et al., 2003*). D'autres IRFs ont également été rapportés comme étant exprimés par les pDCs et participeraient à la production d'IFN de type I, tels qu'IRF4, IRF5, et IRF8 (*Tamura et al., 2005; Izaguirre et al., 2003*).

Les MPAKs activent la transcription des gènes associés aux molécules co-stimulatrices, notamment CD80 et CD86 (*Janovec et al., 2018, p. 1; Bao, Liu, 2013*). Enfin, le facteur **NF- $\kappa$ B** stimule la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que le facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) et IL-6 (*Bao, Liu, 2013*).

De nombreux récepteurs membranaires régulent les voies de signalisation TLR7/9 dépendantes. Ceux-ci présentent souvent des domaines ITIM, ou utilisent des adaptateurs associés comme DAP12 ou Fc $\gamma$ R (*Blasius et al., 2006; Swiecki, Colonna, 2015*).

Les récepteurs régulant la synthèse d'IFN par TLR7 et TLR9 dans les pDCs humaines incluent BDCA2 (*Dzionek et al., 2001*), ILT7 (*Cao et al., 2006*), NKp44 (*Fuchs et al., 2005*), CD300A/C (*Ju et al., 2008*), DCIR/CLEC4A (*Meyer-Wentrup et al., 2008*), CD32 (*Båve et al., 2003; Barrat et al., 2005; Means et al., 2005*), BST2 (*Cao et al., 2009, p. 9*) et le récepteur immunoglobuline-like associé aux leucocytes (LAIR1) (*Bonaccorsi et al., 2010*).

En outre, ces régulateurs sont eux-mêmes régulés, notamment par CD2AP, qui stimule les voies de signalisation BDCA2/FcR $\gamma$ , par association avec SHIP1, ce qui inhibe CBL (*Bao et al., 2012*).

De plus, les voies de signalisation dépendantes de TLR7/9 sont régulées par des hormones et des microARNs, comme mir-146a (*Karrich et al., 2013*), mir155 et mir155\* (*Zhou et al., 2010*), mir-126 (*Agudo et al., 2014*), et les œstrogènes (*Seillet et al., 2012*), ce qui pourrait expliquer la production plus importante d'IFN-I par les femmes lors d'infection au VIH (*Meier et al., 2009*).

### Rôles et mécanismes d'action des interférons

Les IFN-I ont nombreux effets sur les cellules saines et infectées, mais aussi sur les cellules de l'immunité.

1. **Etat cellulaire antiviral.** Les IFN-I induisent un état dit antiviral des cellules infectées par des pathogènes, bactériens et viraux, et des cellules saines alentours. Cet état est causé par le lien des IFN-I au récepteur membranaire hétérodimérique **IFNAR** (récepteur aux IFN- $\alpha$ /  $\beta$ ), qui engage alors une cascade de protéines kinases et active les voies STAT1 et STAT2 (*Levy, Darnell, 2002; Stark, Darnell, 2012*). Les protéines STAT1 et STAT2 activées s'associent et sont acheminées au noyau, où elles s'associent au facteur de régulation des interférons 9 (IRF-9). Ces complexes se lient alors à des séquences spécifiques sur l'ADN, associées aux Gènes Stimulés par les Interférons (ISGs) ce qui stimule leur transcription. Les séquences activées sont au nombre de plusieurs centaines, dont une partie importante active un **état cellulaire**

**antiviral** (*MacMicking, 2012; Schoggins et al., 2011; Rusinova et al., 2013*). Cet état antiviral est atteint par l'expression de protéines agissant via de multiples mécanismes, comme l'inhibition de la transcription, de la réplication, et de la mobilité virale, la dégradation des acides nucléiques viraux, et l'altération du métabolisme lipidique (*MacMicking, 2012; Schoggins et al., 2011; Rusinova et al., 2013; Saka, Valdivia, 2012*). Cet état antiviral rend l'infection virale difficile, empêche la propagation de l'infection, et permet ainsi la contention précoce de l'infection le temps de la mise en place de l'immunité cellulaire ou humorale (*Bowie, Unterholzner, 2008*). Enfin, les pDCs sont naturellement résistantes aux infections virales grâce à leur expression constante d'IRF7 à haut niveau, et des IFN-I. Elles n'y sont ainsi vulnérables que lorsque la signalisation d'IFN-I est altérée (*Kumagai et al., 2009*).

2. **Stimulation de l'immunité innée.** Les IFN- $\alpha$  agissent sur les DCs notamment en modifiant les proportions des sous-populations de DCs au profit des cDCs CD11c<sup>+</sup>, ainsi qu'en activant la différenciation de certaines sous-populations, comme des DCs sécrétrices d'IL-10 (*Ito et al., 2001; Mohty et al., 2003*). Les IFN-I jouent aussi un rôle sur les LNK, en stimulant leur activité cytotoxique ainsi que la production d'IFN- $\gamma$ , qui potentialisent notamment la réponse aux IFN-I (*Megjugorac et al., 2004; Gerosa et al., 2002*). De plus, les IFN-I améliorent la résistance des cellules de l'immunité aux infections virales, permettant l'action de ces dernières de façon plus durable (*Dalod et al., 2003*).
3. **Stimulation de l'immunité acquise.** Les IFN-I ont un rôle dans l'immunité acquise, notamment via leur action conjointe avec l'IL-6. Ils induisent ainsi la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'IgG, et ce sans intervention de LT (*Jego et al., 2003; Poeck et al., 2004*).

**Autres rôles :** Les IFN ont également des effets sur le déclenchement de l'apoptose, sur l'autophagie, sur la différenciation et la migration cellulaire, et sur l'angiogenèse, qui peuvent aider à combattre l'infection virale (*Bekisz et al., 2010; Mattei et al., 2010*) Les IFN-I ont par ailleurs de nombreux rôle dans le chimiotropisme par la production notamment des chimiokines CCL2, CCL7, CXCL1, CXCL2 et CXCL10 (*Trinchieri, 2010*).

Les IFN sont également produits lors d'infections **bactériennes**, mais leurs effets y sont complexes et ne sont pas obligatoirement bénéfiques pour l'organisme. Ils peuvent avoir un effet sur les cycles de réplifications bactériens (*Ishihara et al., 2005; Plumlee et al., 2009*) ou sur la stimulation de l'immunité (*Decker et al., 2005*), mais ont souvent un effet délétère sur la réponse innée (*Carrero et al., 2004; Auerbuch et al., 2004*).

L'action des IFN est étroitement régulée par de nombreuses modifications post-transcriptionnelles, ce qui permet un ajustement précis et flexible de la stabilité et de l'efficacité de chaque sous-type d'IFN selon l'infection virale (*Khabar, Young, 2007*).

### **C) Fonctions liées à la présentation antigénique par les pDCs**

Les pDCs peuvent présenter les antigènes via le MHCI ou le MCHII.

Les pDCs peuvent, par activation croisée, présenter des antigènes extracellulaires aux LT CD8<sup>+</sup> cytotoxiques via le CMH-I (*Hoeffel et al., 2007*). La présentation croisée correspond à la capacité de certaines cellules dendritiques non infectées de capter un antigène, de le transformer par une voie cytosolique ou une voie endosomale, puis de le charger sur des molécules du CMH I pour ainsi activer un LT CD8<sup>+</sup> qui acquiert alors une cytotoxicité spécifique de l'antigène (*Joffre et al., 2012*). Notamment, les pDCs humaines ont des endosomes de recyclage dans lesquels des peptides sont chargés sur le CMH-I ce qui permet la présentation efficace d'antigènes viraux aux LT CD8<sup>+</sup> (*Hoeffel et al., 2007; Di Pucchio et al., 2008; Mouriès et al., 2008*). Les pDCs pourraient ainsi contribuer à la réponse immunitaire cellulaire lors d'infection virale.

Les pDCs sont moins efficaces en tant que cellules présentatrices d'antigènes que les cDC, mais elles expriment les molécules co-stimulatrices CD40, CD80, CD86, et le CMH de classe II, donc peuvent présenter des antigènes aux LT CD4<sup>+</sup> (Villadangos, Young, 2008). Cette présentation d'antigènes mène à l'activation des LT CD4<sup>+</sup> ou à l'induction de la tolérance, selon le contexte (Villadangos, Young, 2008; Reis e Sousa, 2006; Steinman et al., 2003; Morelli, Thomson, 2007) :

-quand les pDCs sont activées via les TLR, elles sont immunogènes. Elles permettent alors l'activation via un antigène chargé sur les molécules du CMH II et les molécules costimulatrices des LT CD4<sup>+</sup> antigène-spécifiques,

-quand les pDCs sont non-stimulées ou activées dans des conditions tolérogènes, elles expriment l'indoléamine 2,3-dioxygénase (IDO), ICOSL, OX40L, le ligand de mort programmée 1 (PD-L1), et/ou le Granzyme B (GrB) : elles expriment ainsi un phénotype promouvant la tolérance. Elles migrent alors via CCR9 dans le thymus et induisent la délétion des thymocytes antigène-spécifiques.

#### ***D) Autres cytokines produites par les pDCs***

Les pDCs ont la capacité de produire de nombreuses cytokines différentes selon leur environnement et leur état d'activation, ce qui permet la modulation de la réponse immunitaire. Ces cytokines agissent parfois de concert avec les IFN-I (Swiecki, Colonna, 2015).

Les pDCs peuvent produire plusieurs interleukines, telles que l'IL-18 et l'IL-12, qui participent à l'activation des LNK et des réponses Th1 et LT CD8<sup>+</sup>. L'IL-6 qu'elles produisent peut à la fois participer aux réponses LTreg et Th17 en conjonction avec IDO, ICOSL, et le TGFβ, et à la réponse humorale via les plasmocytes lorsqu'associées à BAFF, APRIL, et les IFN-I (Ito et al., 2006; Sharma et al., 2007; Manches et al., 2008; Joo et al., 2012).

Certaines molécules comme OX40L et PD-L1 sont responsables d'une communication des pDCs avec les LTNKi et promeuvent ainsi la tolérance immunitaire (Aspord et al., 2013; Faget et al., 2012; 2013).

Les capacités cytotoxiques directes des pDCs, via TRAIL et le granzyme B, promeuvent l'induction de la tolérance immunitaire par l'apoptose de LT autoréactifs (*Tel et al., 2014; Stry et al., 2007; Tel et al., 2013; Bratke et al., 2010*).

Enfin, les nombreuses chimiokines produites par les pDCs attirent les cellules immunitaires. On pourra citer CCL3, CCL4, CXCL8, et CXCL10, toutes produites par les pDCs (*Megjugorac et al., 2004; Penna et al., 2002; Arimura et al., 2017; Finotti et al., 2016*).

### ***E) Différenciation terminale des pDCs***

L'étude récente réalisée par Alculumbre et al. (*Alculumbre et al., 2018*) a mis en évidence les modalités de différenciation terminale des pDCs.

Contrairement au consensus en place pour l'ensemble des cellules du système immunitaire, qui est celui qu'un type de stimulus, microbien ou cytokinique, oriente la différenciation terminale vers un phénotype donné, les pDCs se différencient en trois phénotypes différents pour un seul et même stimulus. Chaque phénotype présente un transcriptome distinct. La classification de ces trois phénotypes est facilitée par l'expression de deux protéines de surface : la molécule co-stimulatrice CD80, et la molécule co-inhibitrice PD-L1.

La première population, nommée P1, est PD-L1<sup>+</sup> mais CD80<sup>-</sup> et présente une morphologie de pDC classique. La population P1 produit une quantité d'IFN-I élevée en réponse à une stimulation TLR7 ou TLR9, et représente un tiers des pDCs totales lors d'incubation avec le virus de la grippe, mais 80% des pDCs productrices d'interférons. Elle induit l'expression intense d'IL-10 par les LT, et oriente les lymphocytes vers un phénotype Th I. Elle est la population majoritaire retrouvée dans les organes atteints de maladie auto-immune.

Une autre population, nommée P3, est CD80<sup>+</sup> et PD-L1<sup>-</sup>, présente une morphologie proche des cDCs matures : dendrites, forme ovale, et RER moins développé que les autres populations de pDCs. Cette population est minoritaire dans le cadre d'une

stimulation au virus de la grippe (10% des pDCs totales) et apparait de façon tardive. Elle se caractérise par des capacités d'activation des LT CD4+ et une orientation vers la voie Th2 (via IL-4, IL-5, et IL-13), ainsi que de plus grandes capacités de migration que les autres populations de pDCs.

La dernière population, nommée P2, exprime à la fois CD80 et PD-L1. Elle représente une population intermédiaire entre P1 et P3, en termes de morphologie et de profil d'expression génétique. Cette population est capable d'orienter une réponse immunitaire Th2 ainsi que de produire des IFN-I, ces deux capacités étant d'intensité inférieures aux populations P1 et P3, dans leur spécialité respective.

Ces trois phénotypes sont stables (les transitions entre populations et leur apoptose sont rares) et la différenciation des pDCs en ces phénotypes activés n'implique pas de division cellulaire. Ces phénotypes sont exprimés dans des proportions variables en fonction du stimulus ; par exemple, la culture de pDCs avec un virus de la grippe donne une majorité de P1 et P2 et une minorité de P3, tandis qu'une culture avec de l'ADN du soi associé au peptide LL37 entraîne une écrasante majorité de P1. Le mécanisme de la différenciation de ces populations n'est pas établi, mais la différenciation en P3 implique la sécrétion auto ou paracrine de TNF, tandis que P1 est indépendant à TNF. Les IFN-I seuls n'influencent pas cette différenciation.

On peut donc ainsi parler de différenciation terminale des pDCs en trois phénotypes différents, chacun ayant une fonction distincte.

## **VI- Rôle pro-pathologique des pDCs**

Comme nous venons de le voir, les pDCs jouent un rôle important dans la protection de l'organisme et le maintien de l'homéostasie. Cependant, par une stimulation aberrante de l'immunité, elles peuvent être co-responsables du développement de multiples maladies, comme les maladies auto-immunes, les tumeurs, et les infections (*Swiecki, Colonna, 2015; Veglia, Gabrilovich, 2017*).

## ***A) Maladies auto-immunes, inflammatoires et allergiques***

Les maladies auto-immunes sont des désordres immunitaires dans lesquels le système immunitaire présente une réaction aberrante envers les antigènes du soi. De multiples mécanismes préviennent l'autoréactivité des pDCs, notamment par la compartimentation cellulaire des TLR7 et TLR9, la nécessité d'une concentration des acides nucléiques exogènes dans des vésicules, et les modifications post-transcriptionnelles des acides nucléiques endogènes. Cependant, ces mécanismes ne sont pas sans faille et l'autoréactivité des pDCs intervient dans de multiples maladies.

Le rôle des pDCs a ainsi été démontré dans de nombreuses maladies auto-immunes, et notamment le lupus érythémateux systémique (LES), l'asthme, et le psoriasis (*Tang et al., 2010*). Ainsi, lors de ce type de maladies, les quantités de pDCs périphériques diminuent, et leurs quantités aux sites d'inflammation sont augmentées (*Saadeh et al., 2016*). Les pDCs, par leurs capacités immunostimulatrices, peuvent entraîner ces désordres par plusieurs mécanismes.

Nous allons détailler le rôle des pDCs dans ces 3 maladies auto-immunes.

### *Lupus Erythémateux Systémique*

Le lupus érythémateux (LE) est une maladie auto-immune complexe au large spectre de manifestations cliniques, de la lésion cutanée localisée (Lupus Erythémateux Cutané - LEC) à l'implication multi-organique systémique (néphrite, péricardite, pleurite, arthrite) (Lupus Erythémateux Systémique - LES) (*Tunnicliffe et al., 2015; Kuhn, Landmann, 2014*).

Les IFN-I ont un rôle majeur dans la pathogénèse du LES (*Rönnblom et al., 2003; Jørgensen et al., 2010; Kim et al., 2015*) et leur production y est aberrante (*Kim et al., 2015*). On observe une corrélation entre les concentrations sériques en IFN- $\alpha$ , l'activité des anticorps anti-acide-nucléiques (*Rönnblom et al., 2009*).

L'activation de la sécrétion d'IFN-I par les pDCs dans le LES peut avoir lieu *via* des produits de cellules lésées et inflammatoires, comme HMGB1 (« High Mobility Group Box 1 ») (Tian *et al.*, 2007) ou des immuns complexes formés à partir d'ADN relargué par les cellules lésées. La cause de lésion initiale peut être diverse, comme un traumatisme, une infection, les ultraviolets, ou un traitement médicamenteux (Kuhn *et al.*, 2014; Lövgren *et al.*, 2004; Zahn *et al.*, 2014).

Les IFN-I produits par les pDCs, en conjonction avec IL-6, stimulent la différenciation des LB autoréactifs en plasmocytes sécréteurs d'auto-anticorps, et l'expression de facteurs de survie des LB tels que BAFF (B cell activating factor of the TNF family). Cela mène à une boucle d'autostimulation dans laquelle les anticorps produits par les LB autoréactifs activent les IFN- $\alpha$  des pDCs ce qui promeut survie, activation, et différenciation des LB (Panda *et al.*, 2017).

Dans des conditions normales, la production d'IFN- $\alpha$  entraîne un rétrocontrôle négatif *via* l'induction de LBreg. Cependant, dans le LES, l'interaction entre LBreg et pDCs est altérée, ce qui contribue à la production aberrante d'IFN-I et à la pathogénèse du LES (Menon *et al.*, 2016). En outre, les IFN-I peuvent stimuler la sécrétion d'auto-antigènes impliqués dans le lupus, comme Ro52 et la laminine 1b, qui peuvent influencer la progression du LES (Bennett *et al.*, 2003; Ching *et al.*, 2012).

De plus, les chimiokines induites par les IFN stimulent la migration de cellules immunitaires aux lésions, et notamment d'autres pDCs et des lymphocytes cytotoxiques CXCR3<sup>+</sup> renforçant la réponse auto-immune (Wenzel *et al.*, 2005; Asselin-Paturel *et al.*, 2005; Guillot *et al.*, 2005; Smit *et al.*, 2003).

La production d'IFN-I par les pDCs est inhibée par l'utilisation d'antimalariens tels que la chloroquine (Wozniacka, McCauliffe, 2005). De même, les anti-interférons tel que le sifalimumab, un anticorps monoclonal IgG1 dirigé contre les IFN- $\alpha$ , montrent des résultats intéressants (Merrill *et al.*, 2011; Petri *et al.*, 2013).

### Psoriasis

Le psoriasis est une maladie inflammatoire systémique chronique à médiation immunitaire commune impliquant les LT.

Les pDCs sont un acteur majeur voire nécessaire de la cascade immunitaire qui est le moteur de l'inflammation psoriasique (*Nestle et al., 2005; Albanesi et al., 2009*).

Les pDCs n'apparaissent pas dans la peau lésée, cependant, elles sont impliquées dans les phases précoces de la pathogénèse du psoriasis (*Nestle et al., 2005; Albanesi et al., 2009*).

Les pDCs sont recrutées dans la peau psoriasique *via* l'axe chémérine/ChemR23, activé temporairement lors des phases précoces du psoriasis (*Albanesi et al., 2009*).

Dans le psoriasis, les pDCs sont activées par des fragments d'ADN du soi, extracellulaire, couplés à des peptides endogènes antimicrobiens, cationiques, tels que LL-37, la  $\beta$ -défensine 2 (hBD2), hBD3, et le lysozyme (*Lande et al., 2007; 2015*), qui sont alors internalisés et reconnus par le TLR9, déclenchant la sécrétion d'IFN-I.

Ce mécanisme est également à l'origine, dans le psoriasis, du phénomène de Koebner, qui consiste en l'apparition de lésions psoriasiques localisées autour de traumatismes cutanés chez les patients psoriasiques (*Lande et al., 2007*).

### Asthme humain

L'asthme humain est souvent associé à des infections virales de l'appareil respiratoire inférieur. Une théorie émergente en suppose l'origine, qui serait un défaut de l'immunité antivirale des patients. Ces infections entraîneraient ainsi des dommages tissulaires dans les poumons, causant l'activation aberrante du système immunitaire.

En accord avec cette théorie, les quantités de pDCs circulantes des individus asthmatiques adultes sont augmentées (*Spears et al., 2011*), tandis que celles des enfants asthmatiques sont diminuées (*Hagendorens et al., 2003*). Par ailleurs, la quantité de pDCs sanguines est inversement proportionnelle au nombre d'infections de l'appareil respiratoire inférieur et au nombre de diagnostic d'asthme à 5 ans (*Upham et al., 2009*). De plus, la quantités d'IFN sécrétés en réponse à une infection virale est inférieure aux témoins chez les individus asthmatiques, adultes comme

enfants (*Bufe et al., 2002; Gehlhar et al., 2006*). Ce défaut provient des pDCs (*Lynch et al., 2014*) et potentiellement d'un polymorphisme simple-base sur TLR7 (*Møller-Larsen et al., 2008; Zhang et al., 2009*).

Ainsi, un défaut de quantité ou de fonction des pDCs semble être une cause déterminante de la pathogénèse de l'asthme.

## **B) Tumeurs**

### Les pDCs dans les tumeurs

Les pDCs ont été détectées dans nombreuses tumeurs, comme les cancers du sein, les tumeurs ovariennes, mélanomes, tumeurs cervicales et de la tête (*Salio et al., 2003; Hartmann et al., 2003; Zou et al., 2001; Treilleux et al., 2004; Palamara et al., 2004; Vermi et al., 2003; Lombardi et al., 2015*).

Leur rôle semble être double, à cheval entre la promotion et la destruction des tumeurs.

Leur activité anti-tumorale s'explique *via* leur production d'IFN et de cytokines pro-inflammatoires, et leur capacité de présentation d'antigènes. Elles possèdent aussi une activité cytotoxique directe *via* les actions pro-apoptotiques du **granzyme B** (GRZB) et du ligand induisant l'apoptose lié au facteur de nécrose des tumeurs (**TRAIL**). En outre, la présence de pDCs dont l'expression de CD56 est induite est corrélée à une augmentation d'expression du ligand de mort programmée 1 (PD-L1), qui facilite l'apoptose des cellules porteuses. Ces capacités de cytotoxicité exprimées par les pDCs sont indépendantes de toute cellule de l'immunité acquise (*Lombardi et al., 2015*).

Cependant, l'infiltration des tumeurs par les pDCs est généralement corrélée à la persistance tumorale ainsi qu'à leur progression (*Faget et al., 2012; Le Mercier et al., 2013*). Ainsi, l'infiltration des pDCs dans les tumeurs est souvent corrélée à un mauvais pronostic (*Labidi-Galy et al., 2012; Faget et al., 2013*).

Les pDCs retrouvées dans les microenvironnements tumoraux présentent généralement des capacités de production d'IFN-I diminuées, ainsi qu'une plus faible expression des molécules co-stimulatrices. Elles sont souvent bloquées dans un état immature (*Vermi et al., 2003; Perrot et al., 2007; Beckebaum et al., 2004*) ainsi qu'incapables de produire les quantités d'IFN-I habituelles (*Vermi et al., 2003; Saulep-Easton et al., 2014*). Le mécanisme de cette incompétence pourrait se trouver dans la diminution d'expression de Flt3, TLR9, ou IRF7 (*Saulep-Easton et al., 2014; Jensen et al., 2012; O'Donnell et al., 2007; Sisirak et al., 2013*) et notamment par l'expression par les cellules cancéreuses de ligands associés à ILT7 (*Tsukamoto et al., 2009*).

En outre, les pDCs immatures expriment régulièrement un phénotype inhibiteur et promeuvent la tolérance et l'activation de LTregs *via* ICOS-L (*Faget et al., 2012*), ou leur propre capacité d'inhibition des LT (*Lombardi 2015*). Ces capacités tolérogènes sont ainsi utilisées par les cellules tumorales, ce qui limite leur destruction.

Les pDCs associées aux cancers sont tolérogènes (*Hartmann et al., 2003*), et notamment par l'activation de LTreg *via* le ICOS-L et IDO (*Sharma et al., 2007; Ito et al., 2007; Munn et al., 2004; Munn, Mellor, 2007*)

### Tumeurs dérivées de pDCs

Les tumeurs dérivées de pDCs peuvent prendre 2 formes.

La première forme est représentée par des agrégats nodulaires d'une prolifération clonale de pDCs matures CD56<sup>-low</sup>, situées dans les NL, la peau, et la moelle osseuse (*Mature pDCs proliferation associated with myeloid neoplasms*). Cette forme est rare, bien que son incidence soit probablement sous-estimée, et touche principalement les hommes mâles. Elle est presque toujours associée à une tumeur myéloïde telle que la leucémie myélo-monocytaire chronique ou d'autres proliférations à différenciation monocytique. Cette tumeur myéloïde associée domine bien souvent le tableau clinique et oriente le traitement. Le pronostic est alors très sombre, mais reflète l'évolution de la leucémie associée plutôt que du nodule plasmacytoïde (*Facchetti et al., 2016*).

La seconde forme de tumeur impliquant les pDCs est une leucémie à pDCs blastiques. Cette tumeur présente un tropisme cutané et pour la moelle osseuse. Elle est constituée de cellules prolifératives provenant des précurseurs CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> aux pDCs. Son diagnostic est aisé par immunohistochimie, *via* les marqueurs associés aux pDCs. Cette tumeur présente une dissémination hématogène rapide entraînant une progression systémique. L'analyse génomique de cette tumeur a mis en évidence plusieurs mutations somatiques récurrentes qui peuvent ouvrir la voie vers des perspectives thérapeutique dans cette leucémie rare mais hautement agressive (Facchetti et al., 2016).

### ***C) Processus infectieux***

Nous avons exposé le rôle des pDCs dans la défense de l'organisme contre les infections virales aiguës. Cependant, leur rôle dans certaines infections chroniques comme celle par le VIH est plus complexe et parfois pro-viral.

#### *Virus de l'immunodéficience Humaine (VIH)*

Bien que les pDCs soient importantes dans la défense contre les infections virales, lors d'infection chronique au VIH, elles agissent à la fois comme cellules inflammatoires et immunosuppressives plutôt qu'antivirales. Elles contribuent ainsi plus à la progression de la maladie qu'à son combat.

L'infection cellulaire du VIH se fait rarement dans les pDCs (Fong et al., 2002). L'entrée du VIH dans les pDCs et leur activation requiert la glycoprotéine de l'enveloppe du VIH gp120 (Beignon et al., 2005), et serait facilitée par le récepteur CD4 (Haupt et al., 2008; Schmidt et al., 2005).

Les pDCs sont fortement activées par le VIH vivant ou inactivé (*Beignon et al., 2005; Fonteneau et al., 2004*). L'activation des pDCs par le VIH se traduit par une forte production d'IFN- $\alpha$  ainsi qu'une production plus faible de TNF $\alpha$ , et plus faiblement encore, de molécules co-stimulatrices. L'activation n'a pas lieu en cas de fusion avec le VIH, mais en cas d'endocytose (*Beignon et al., 2005*). Le mécanisme de l'activation implique TLR7 et l'ARNsb du VIH, *via* sa région non transcrite 5' (*Heil et al., 2004*).

Lors de la contamination initiale de l'organisme, les pDCs font partie des premières cellules recrutées. Elles sécrètent alors des chimiokines qui aboutissent au recrutement de LT CD4<sup>+</sup>, cibles préférentielles du VIH (*O'Brien et al., 2013*). Lors d'infection chronique au VIH, les pDCs sécrètent de grandes quantités d'IFN- $\alpha$ . Bien qu'ayant des effets antiviraux, les IFN- $\alpha$  induisent également TRAIL et son récepteur de mort DR5 sur les LT CD4<sup>+</sup>, ce qui contribue à l'apoptose des LT CD4<sup>+</sup> non infectés (*Herbeuval et al., 2005*). Les IFN-I augmentent l'expression de p53, qui participe à l'apoptose des cellules infectées (*Takaoka et al., 2003*). Les IFN- $\alpha$  stimulent également les LT CD8<sup>+</sup> lors d'infection chronique au VIH (*Manion et al., 2012*). La stimulation aberrante du système immunitaire par les IFN-I pourrait conduire à l'épuisement du système immunitaire (*Sedaghat et al., 2008*). Une preuve supplémentaire du rôle délétère des IFN-I dans l'infection au VIH est que le traitement aux anti-IFN-I ralentit la progression de la maladie (*Piconi et al., 2011*).

Lors de l'infection chronique au VIH, les pDCs, cDCs, et LT CD4<sup>+</sup> disparaissent du sang, et la charge virale sanguine augmente (*Barron et al., 2003; Donaghy et al., 2001*). En outre, les pDCs semblent subir une altération de leur capacité à stimuler les LT lors d'infection chronique au HIV (*Sabado et al., 2010*). L'infection précoce semble également avoir un impact sur la fonction des pDCs, mais celui-ci reste flou (*O'Brien et al., 2013*). L'infection chronique au VIH entraîne une déplétion sanguine en pDCs, mais une accumulation de pDCs dans les NL, corrélée à la charge virale (*Lehmann et al., 2010*). En outre, ces pDCs semblent immatures, mais davantage capables de sécréter spontanément des IFN- $\alpha$ . Par ailleurs, les pDCs infectées présentent de meilleures capacités migratoires vers les NL. La déplétion sanguine en pDCs est donc accentuée par une migration des pDCs aux NL, où elles sont détruites par le VIH (*O'Brien et al., 2013*).

Enfin, les pDCs ont plusieurs rôles immunosuppresseurs qui contribuent également à leur rôle pro-viral dans l'infection au VIH. Les IFN-I limitent le développement des lymphocytes immunostimulateurs Th17 (*Guo et al.*, 2008). Les pDCs activées par le VIH expriment IDO, et par celui-ci, induisent la génération de LTreg immunosuppresseurs à partir de LT CD4<sup>+</sup> naïfs (*Manches et al.*, 2008; *Moseman et al.*, 2004). En outre, IDO inhibe la conversion de LTreg en LTh17 (*Baban et al.*, 2009; *Sharma et al.*, 2009). L'ensemble de ces mécanismes aboutit à une diminution du ratio LTh17/LTreg, et ainsi, une diminution de la réponse immunitaire.

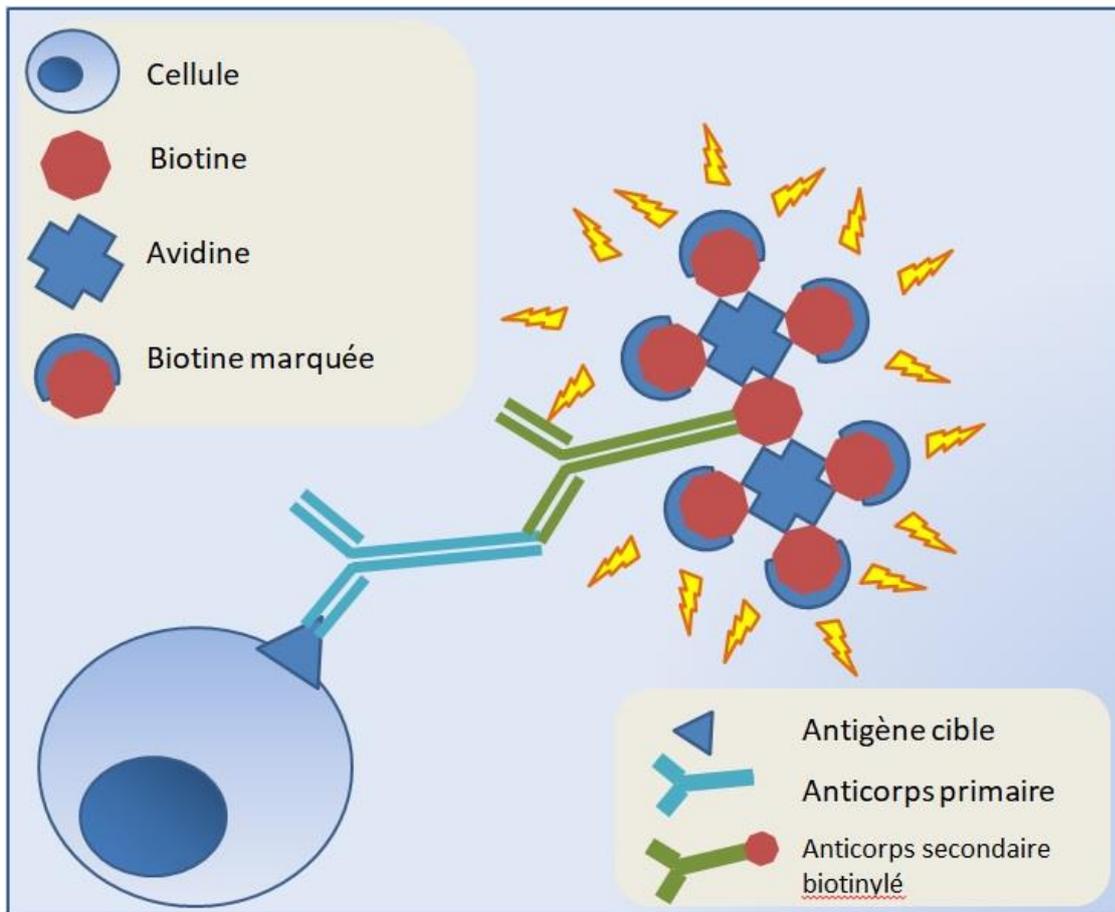
### **Conclusion**

Nous avons donc exposé de nombreuses caractéristiques des pDCs. Il s'agit de cellules rares, marquées CD303<sup>+</sup> CD123<sup>+</sup> CD304<sup>+</sup> ILT7<sup>+</sup> chez l'humain, présentant une filiation proche des cDCs, à la morphologie proche des plasmocytes, retrouvées dans plusieurs espèces dans le sang, les organes lymphoïdes, tels que les NL, la rate, le thymus, et en petite quantité dans les organes inflammés. Il s'agit de cellules dont le rôle est primordial lors d'infection virale, où elles peuvent produire une exceptionnelle quantité d'interférons de type I. Elles présentent également de nombreux rôles secondaires, comme la production de multiples autres cytokines, la présentation antigénique, le rôle anti-tumoral, et le rôle immuno-modulateur. Cependant, elles présentent un rôle néfaste pour l'hôte dans de nombreuses maladies, tumeurs, et quelques infections chroniques.

## **VII / Principes et limites de l'immunohistochimie**

### **A) Principes généraux**

L'immunohistochimie est une technique puissante permettant la détection d'une protéine à l'échelle histologique, de façon localisée et semi-quantitative. Elle réunit des principes immunologiques, histologiques, et chimiques. En effet, elle repose sur la fixation sur une molécule donnée, présente dans des tissus fixés, de complexes impliquant des anticorps ainsi que des molécules chromogènes. Elle présente d'excellentes sensibilité et spécificité et constitue le gold standard de certains diagnostics (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).



**Figure 3 : réaction immunohistochimique avec la technique du complexe avidine-biotine. L'antigène cible, présent à la surface d'une cellule fixée, est reconnu par l'anticorps primaire. Un anticorps secondaire biotinylé se fixe sur le fragment constant de l'anticorps primaire, et permet la fixation d'avidine. L'avidine permet la fixation de trois autres molécules de biotine, marquées et pouvant permettre une réaction visible.**

L'immunohistochimie est utilisée dans le diagnostic, le pronostic, la décision thérapeutique, et l'établissement des pathogénèses (Ramos-Vara, Miller, 2014).

Elle peut être divisée en trois grandes phases, dont nous allons ici décrire les principes et limites.

### **B) Phase 1 : Phase pré-analytique**

La phase pré-analytique est constituée de 3 à 5 étapes selon que les échantillons sont congelés ou paraffinés. Pour les échantillons qui seront paraffinés, ces étapes sont constituées de la récupération des échantillons, la fixation, la décalcification

éventuelle, le paraffinage, et la coupe des tissus. Pour les échantillons qui seront congelés, ces étapes sont la récupération des échantillons, la décalcification éventuelle, la congélation et la coupe des tissus (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).

### Récupération des échantillons

La première étape de l'immunohistochimie est la récupération des échantillons. Ceux-ci doivent être le plus frais possible afin de limiter toute autolyse et dégradation de la conformation des antigènes cibles. En effet, de nombreux procédés ont lieu lors de la séparation d'un tissu de son organisme, ou lors de la mort d'un organisme. On observe en effet une déplétion tissulaire en adénosine tri-phosphate (ATP), une homogénéisation des gradients de sodium, potassium, et calcium, un œdème tissulaire secondaire à l'hypoxie, la formation de radicaux libres, et l'activation et activité de nombreuses enzymes. L'ensemble de ces mécanismes amène à une altération de la structure des protéines et donc des antigènes cibles et ces effets sont ainsi plus importants dans les organes à activités enzymatiques intenses (pancréas, intestins). La phase de récupération doit ainsi être la plus courte possible et être promptement suivie de la fixation des tissus (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).

### Fixation

La fixation consiste à figer les tissus dans un état statique et stable, compatible avec la conservation au long terme. L'objectif en immunohistochimie est de conserver la structure tissulaire, limiter l'autolyse, et préserver l'immunoréactivité des antigènes (*Webster et al., 2010*).

La technique communément utilisée est la fixation par des solutions contenant des dérivés du formaldéhyde, telles que le formol. Il induit la liaison entre les protéines, entre les acides nucléiques, et entre protéines et acides nucléiques, par des liaisons faibles et covalentes. Ces liaisons apparaissent par l'ajout sur les chaînes latérales des acides aminés de groupements hydroxyméthyl. Ceux-ci forment ensuite des ponts méthylène. De plus, des liaisons covalentes entre ions calciums peuvent avoir lieu (*Werner et al., 2000*). Cette fixation induit ainsi généralement la couverture des antigènes cibles par des protéines ou acides nucléiques non étudiés ainsi que des

changements de structures tertiaires et quaternaires et diminue leur immunoréactivité (*Webster et al., 2010*). La pénétration des tissus par le formaldéhyde est lente, il est ainsi nécessaire de respecter des ratios entre le volume de fixateur et le volume de tissus lors de la fixation. Il a été observé qu'une fixation correcte est présente avec un ratio de 2 (volume de fixateur deux fois supérieur au volume de l'organe) pendant 48h pour un organe de 5mm d'épaisseur, mais la fixation est généralement réalisée avec un ratio de 10 pour 1 (*Buesa, Peshkov, 2012; Ramos-Vara, Miller, 2014*). Plus l'épaisseur du tissu est importante, plus le temps de fixation augmente. En outre, le temps de fixation dépend du tissu et de la solution de fixation utilisée (*Webster et al., 2010*).

La fixation est une étape cruciale de l'immunohistochimie, puisqu'une sur-fixation (plusieurs semaines) entraîne la formation de liaisons irréversibles entre protéines et antigènes cibles et ainsi l'apparition de faux-négatifs (*Webster et al., 2010*).

Au contraire, la sous-fixation entraîne l'apparition de résultats hétérogènes entre les zones correctement fixées, généralement en périphérie, et les zones sous-fixées. De plus, l'autolyse des tissus sous-fixés peut avoir lieu (*James, Hauer-Jensen, 1999; Werner et al., 2000*). De nombreuses conditions influencent la fixation, comme le pH de la solution fixante, ou le type d'organe fixé (*Otali et al., 2009; Ramos-Vara, Miller, 2014, p. ).* Ainsi, il peut être judicieux d'adapter le protocole de fixation à l'organe utilisé.

### Décalcification

La décalcification est une étape nécessaire pour la coupe de tissus comportant de l'os ou des minéralisations calciques importantes. Elle consiste en un passage de l'organe fixé dans une solution décalcifiante. Celles-ci sont généralement constituées de l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA), connu pour ses propriétés chélatrices de calcium, ou de polyacides (*Velot et al., 2011*).

La décalcification a très peu d'effet sur l'immunoréactivité des antigènes lorsqu'elle est réalisée par des acides faibles. Cependant, une décalcification agressive par des acides forts diminue fortement l'immunoréactivité des antigènes (*Ramos-Vara, 2005*).

### Paraffinage ou congélation

La déshydratation des tissus par l'alcool ou le xylène entraîne le changement de structure tridimensionnelle des protéines. Les pôles hydrophobes, initialement internes aux protéines, sont externalisés, et les pôles hydrophiles sont internalisés. Ces effets sont d'autant plus présents que le tissu est peu fixé (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).

La conservation des tissus fixés passe par une étape de paraffinage, qui permet non seulement une conservation au très long terme, mais autorise également la coupe des tissus.

Certains auteurs supposent que les blocs paraffinés peuvent être conservés sans perte d'antigénicité pendant plusieurs années, mais peu d'études ont été réalisées sur le sujet (*Guerrero et al., 1997; Ramos-Vara, Miller, 2014*).

Le stockage de lames paraffinées, pour les témoins non colorés par exemple, peut être affecté par les conditions physiques du lieu de stockage. La lumière et la chaleur sont des facteurs qui peuvent affecter l'antigénicité des lames ainsi stockées. Le mécanisme en œuvre n'est pas élucidé et pourrait faire intervenir l'oxydation, bien que l'ajout d'antioxydants aux blocs n'ait aucun effet. Cette dégradation est antigène-dépendante (*Blind et al., 2008; van den Broek, van de Vijver, 2000; Wester et al., 2000*).

La congélation présente l'avantage d'un temps d'incubation plus court (*Ramos-Vara et al., 2008*) et de la possibilité de se passer de démasquage dans certains cas (*Ramos-Vara, Miller, 2014*). Cependant, l'antigénicité peut différer des blocs paraffinés (*Ramos-Vara, 2005*) et on peut ainsi avoir des résultats peu comparables aux échantillons stockés précédemment. Par ailleurs, le bruit de fond des échantillons congelés est régulièrement plus important (*Ramos-Vara, 2005*).

### Coupe des tissus

Les blocs paraffinés ou congelés peuvent ensuite être coupés par un microtome. On obtient alors des sections, généralement de 2 à 4µm d'épaisseur, qui peuvent être appliquées sur une lame pour utilisation. Celles-ci peuvent ensuite être séchées à l'aide, par exemple, d'une étuve.

Le séchage des lames paraffinées à plus de 60°C peut réduire l'immunoréactivité des certains antigènes (*Engel, Moore, 2011; Henwood, 2005; Williams et al., 1997*). Ce phénomène n'est pas observé lors d'un séchage de 24h à 58°C (*Jones et al., 2001*).

### **C) Phase 2 : Phase analytique**

La phase analytique correspond à l'étape de l'immunohistochimie aboutissant à la coloration spécifique des tissus.

#### Déparaffinage

Le déparaffinage consiste en l'élimination de la couche de paraffine interférant avec les réactions immunohistochimiques. Cette étape est par exemple effectuée par de multiples bains dans une solution de substituts de toluène et de xylène. La réhydratation des tissus se fait par le passage des lames dans des solutions d'alcool.

#### Recouvrement anti-génique / Démasquage

Le démasquage est l'étape principale dans le recouvrement de l'antigénicité. De nombreuses techniques existent, mais la plus répandue et celle que nous avons utilisée est celle du recouvrement d'épitopes par traitement calorique (Heat Induced Epitope Retrieval – HIER). Elle consiste en un passage dans une solution tampon chauffée pendant plusieurs minutes. Cette technique dénature les tissus fixés au formol, mais restaure leur immunoréactivité, en brisant les liaisons faibles entre les antigènes et les protéines sans intérêt, et en hydrolysant les ponts méthylène induits par le formaldéhyde. Ceci permet ainsi une réinitialisation du statut électrostatique et hydrophobe des protéines cibles (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).

L'efficacité de cette technique dépend de nombreux facteurs, tel que le pH du tampon utilisé, la présence de chélateurs de calcium tels que l'EDTA, la température, les tissus utilisés, et l'antigène cible (*Morgan et al., 1997*). Le protocole le plus répandu et acceptable pour de nombreux antigènes est un passage de 20 minutes dans un tampon citraté à pH 6 chauffé entre 90 et 95°C (*Ramos-Vara, Miller, 2014*). Cependant, les antigènes nucléaires sont mieux révélés dans des pH adaptés à leur point isoélectrique (*Kajiya et al., 2009*). On peut par ailleurs noter que les méthodes utilisant des pH basiques et de l'EDTA sont plus rapides (*Krenacs et al., 2010*).

Les protéines non fixées sont dénaturées entre 70 et 90°C, mais pas les protéines fixées par du formaldéhyde, ce qui explique en partie l'immunoréactivité hétérogène des tissus sous-fixés (*Mason, O'Leary, 1991*).

Dans l'immunohistochimie, les anticorps ne reconnaissent généralement qu'une structure protéique primaire intacte et non pas une structure tridimensionnelle. Cependant, la dénaturation induite par l'HIER entraîne, sur certains antigènes, une perte d'immunogénicité (*Bogen et al., 2009*).

#### Blocaje des réactions non-spécifiques

L'activité enzymatique des tissus déparaffinés n'est pas totalement nulle. Ainsi, l'activité endogène des tissus peut interférer avec les réactions chimiques de l'immunohistochimie, et notamment dans l'étape du chromogène. Il est alors nécessaire d'abolir les réactions endogènes, telles que l'activité des peroxydases. Pour cela, l'utilisation d'eau oxygénée peut être envisagée (*Ramos-Vara, 2005*).

En outre, la présence d'immunoglobulines endogènes dans les tissus doit être considérée, puisqu'elle peut être reconnue par les anticorps secondaires de la réaction immunohistochimique, et ainsi aboutir à de faux positifs ou un bruit de fond. Pour cela, on peut utiliser un anticorps dit « bloquant », issu d'une espèce dont le fragment constant n'est pas reconnu par l'anticorps secondaire, dirigé vers les fragments constants de l'espèce étudiée. Ainsi, les domaines reconnus par les anticorps secondaires sont alors indisponibles pour leur fixation (*Ramos-Vara et al., 2008*).

### Application de l'anticorps primaire

Les anticorps primaires utilisés en immunohistochimie reconnaissent généralement des **épitopes linéaires**, contrairement aux réactions immunologiques classiques (Bogen *et al.*, 2009; Sompuram *et al.*, 2006). L'anticorps utilisé doit être le plus sensible et le plus spécifique possible.

Deux types d'anticorps peuvent être utilisés en immunohistochimie : les anticorps polyclonaux et les anticorps monoclonaux.

Les **anticorps monoclonaux** (Mac) sont obtenus en immunisant dans la plupart des cas une souris à l'aide de l'antigène cible purifié (Köhler, Milstein, 1976). Les clones de lymphocytes B spécifique de l'antigène sont alors extraits de la rate des souris immunisées, puis fusionnés à des cellules de myélome murin, produisant ainsi des lignées cellulaires hybrides immortelles produisant de grandes quantités d'anticorps spécifiques d'un seul épitope. Ceux-ci sont ainsi particulièrement spécifiques (Ramos-Vara, Miller, 2014).

Les **anticorps polyclonaux** (Pac) sont obtenus en immunisant généralement un lapin, ou plus rarement un âne, un cheval, une chèvre, un cobaye, un hamster, un mouton, une poule, un rat, ou une souris, contre un antigène purifié. Le sang des mammifères ou le jaune d'œuf des poules sont alors récupérés et les anticorps en sont extraits. On obtient de multiples anticorps reconnaissant plusieurs épitopes différents, appartenant majoritairement à l'antigène purifié (Lipman *et al.*, 2005). Les anticorps ainsi isolés sont donc plus sensibles puisqu'ils peuvent reconnaître plusieurs épitopes de l'antigène cible. Le risque que l'ensemble des épitopes cibles soient masqués ou de conformations altérées est ainsi réduit. Cependant, les épitopes n'étant pas toujours spécifiques d'un antigène, la spécificité des Pac est inférieure à celle des Mac (Mighell *et al.*, 1998).

Les anticorps sont des protéines multimériques en formes de Y, constituées de **deux chaînes légères** identiques et de **deux chaînes lourdes** identiques. Les chaînes lourdes déterminent la classe d'immunoglobulines (IgG, IgM, IgA, ...) tandis que les chaînes légères, constituées d'une chaîne constante (CL) C-terminale et d'une chaîne

hypervariable (VL) N-terminale, participent à la reconnaissance des épitopes antigéniques. La région Fab est la portion liant l'anticorps, constituées des chaînes légères et lourdes, formant un paratope. La région Fc constitue la queue du Y et participe à la liaison entre anticorps, la fixation du complément, et l'interaction avec les cellules. Cette partie de l'anticorps peut être responsable d'un bruit de fond. Les isotypes des immunoglobulines sont décrits par une classe (IgG, IgM, IgA, ...) et une sous-classe (IgG1, IgG2, IgG3, ...). En immunohistochimie, les anticorps les plus fréquemment utilisés sont les IgG. (Ramos-Vara, Miller, 2014).

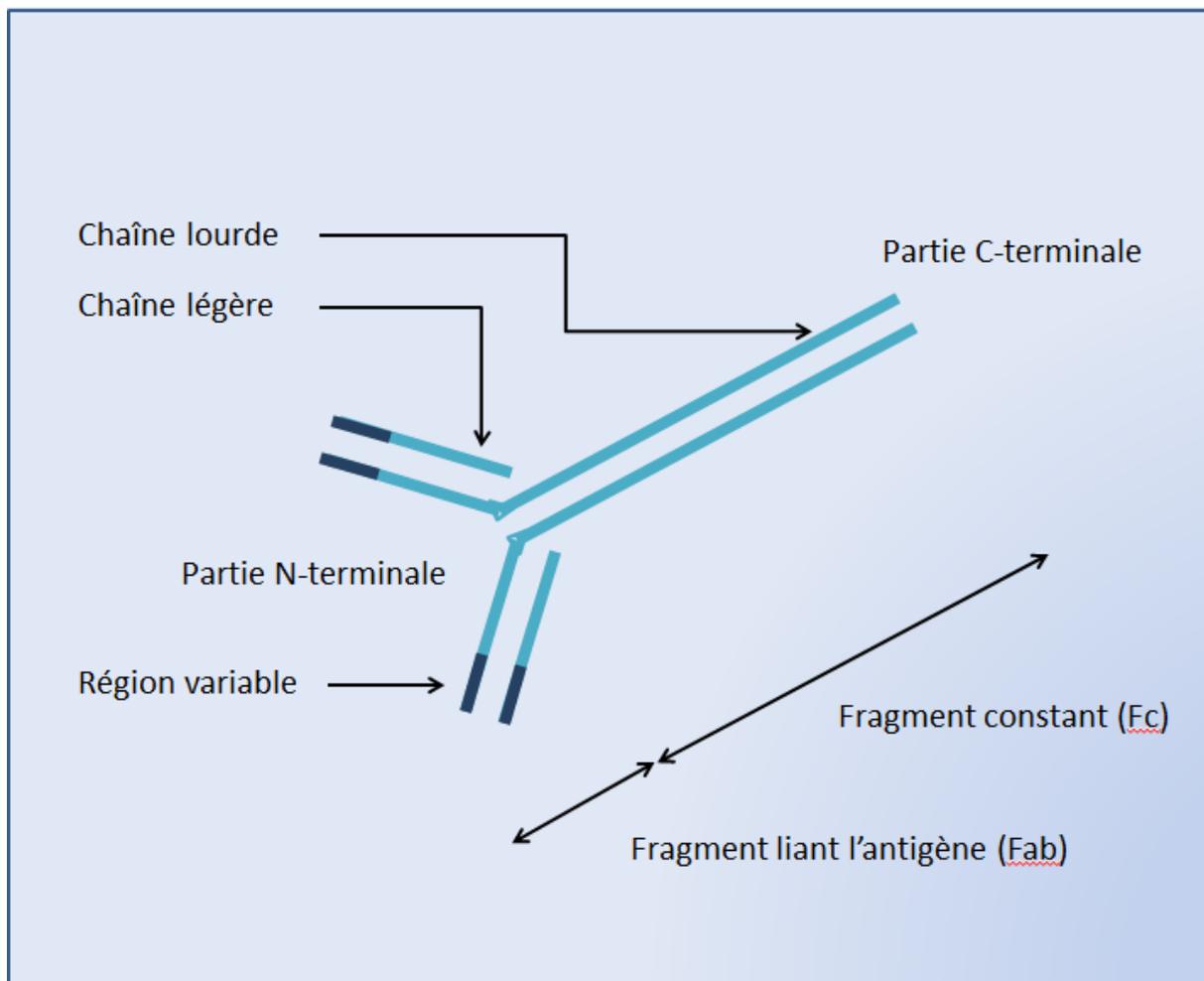


Figure 4 : structure d'un anticorps (IgG). Il est constitué de 2 chaînes lourdes identiques et deux chaînes légères. Les sites de fixation de l'antigène, font intervenir les chaînes lourdes et légères, et notamment leur région variable. En immunohistochimie, le fragment constant permet notamment la reconnaissance des anticorps primaires par les anticorps secondaires.

Les paratopes des anticorps reconnaissent les épitopes des antigènes. Ces épitopes sont généralement formés de 5 à 21 acides aminés. Un antigène peut contenir de multiples épitopes reconnaissables, parfois identiques (homopolymériques) ou non (hétéropolymériques). Par ailleurs, un gène unique peut coder pour plusieurs isoformes d'une protéine, grâce à l'épissage transcriptionnel et aux modifications post-traductionnelles des protéines. Ce répertoire d'isoformes exprimé par un type cellulaire ou un tissu peut évoluer avec le temps (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).

Les épitopes peuvent être linéaires ou conformationnels. Contrairement aux anticorps naturels, les anticorps utilisés en immunohistochimie reconnaissent majoritairement des épitopes linéaires. Un épitope linéaire est constitué de 5 à 7 acides aminés contigus et ne nécessitent généralement pas de structure tridimensionnelle pour être reconnus. Les épitopes conformationnels ou discontinus sont constitués de plusieurs groupes d'acides aminés rapprochés par la structure tridimensionnelle de la protéine, par la structure tertiaire ou quaternaire (*Sompuram et al., 2006*).

La liaison anticorps-antigène est uniquement composée de liaisons faibles, notamment de forces de Van der Waals et électrostatiques. Elle est donc dépendante du pH, de l'état d'ionisation des molécules, et de la conformation des protéines (*Absolom, van Oss, 1986*).

Les anticorps sont caractérisés par leur affinité avec l'antigène, qui décrit le nombre de complexes anticorps-antigène formés à l'équilibre, et l'avidité, qui correspond à l'intensité de la liaison entre anticorps et un antigène multivalent. L'affinité n'est pas définissable pour les anticorps polyclonaux (*Lipman et al., 2005*).

L'anticorps choisi doit avoir une spécificité importante, présenter une absence de réaction croisée d'espèce et d'antigène, et une bonne affinité pour l'antigène cible.

Le temps d'incubation de l'anticorps primaire avec la lame doit être inversement proportionnel à l'affinité de l'anticorps (*Ramos-Vara et al., 2008*).

### Application du système de détection

Les systèmes de détections en immunohistochimie peuvent être multiples. Les plus simples n'impliquent que l'anticorps primaire, couplé à un système chromogène. Cependant, ces méthodes manquent de sensibilité car les anticorps perdent en avidité et l'amplification du signal est inexistante. Les systèmes les plus répandus impliquent un anticorps secondaire ou tertiaire associé à une molécule rapporteuse. L'intensité de la réaction est alors amplifiée et la sensibilité de la technique augmentée. De plus, les anticorps primaires conservent ainsi leur avidité (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).

### Application du système chromogène-enzyme-substrat

#### - Méthodes avidine-biotine

La méthode avidine-biotine est l'une des méthodes les plus utilisées en immunohistochimie. L'avidine est une grande glycoprotéine extraite du blanc d'œuf, comportant 4 sites de liaison par molécule et une forte affinité pour la biotine. La biotine a 1 site de liaison pour l'avidine et peut être attachée par d'autres sites à un anticorps (anticorps biotinisé) ou une autre macromolécule (enzyme, fluorochrome, autre molécule rapporteuse). La sensibilité augmentée des méthodes avidine-biotine reflète le grand nombre de molécules de biotines pouvant être attachées à un anticorps primaire (*Guesdon et al., 1979*).

La méthode avidine-biotine la plus répandue est la méthode des complexes avidine-biotine (ABC), dans laquelle l'anticorps secondaire est biotinisé et le 3<sup>e</sup> composant est un complexe d'avidine mélangée à la biotine, liée à une enzyme. L'avidine et la biotine ainsi marquées sont incubées environ 30mn avant application, ce qui permet la formation de larges complexes de molécules marquées. Une autre méthode répandue est celle de la « labeled avidine biotine » (LAB), qui utilise un anticorps secondaire biotinisé et un réactif d'avidine associée à une peroxydase. Cependant, les méthodes avidine-biotine peuvent produire un bruit de fond en se liant aux lectines et aux éléments chargés négativement, ce qui peut être atténué en utilisant la streptavidine, issue de *Streptomyces avidinii*. L'enzyme liée à la biotine dans le troisième réactif peut par exemple être une peroxydase. Lors de l'ajout du substrat chromogène, la réaction peroxydase-substrat induit une coloration observable (*Ramos-Vara, Miller, 2014*).

D'autres méthodes parfois indépendantes des complexes avidine-biotine existent.

- Méthode peroxydase-antiperoxydase

La méthode peroxydase-antiperoxydase est composée de trois couches. L'anticorps secondaire, ici appelé anticorps de lien ou de pont, se lie aux Fc de l'anticorps primaire mais aussi de l'anticorps tertiaire. L'anticorps tertiaire est un anticorps anti-peroxydase. Les complexes peroxydase-antiperoxydase sont ainsi composés de deux anticorps tertiaires et de trois molécules de peroxydases, dont l'une des molécules est partagée par les deux anticorps. Cette technique présente une moins bonne sensibilité que les méthodes avidine-biotine (*Sternberger et al., 1970*).

- Méthode de détection par polymères en deux étapes

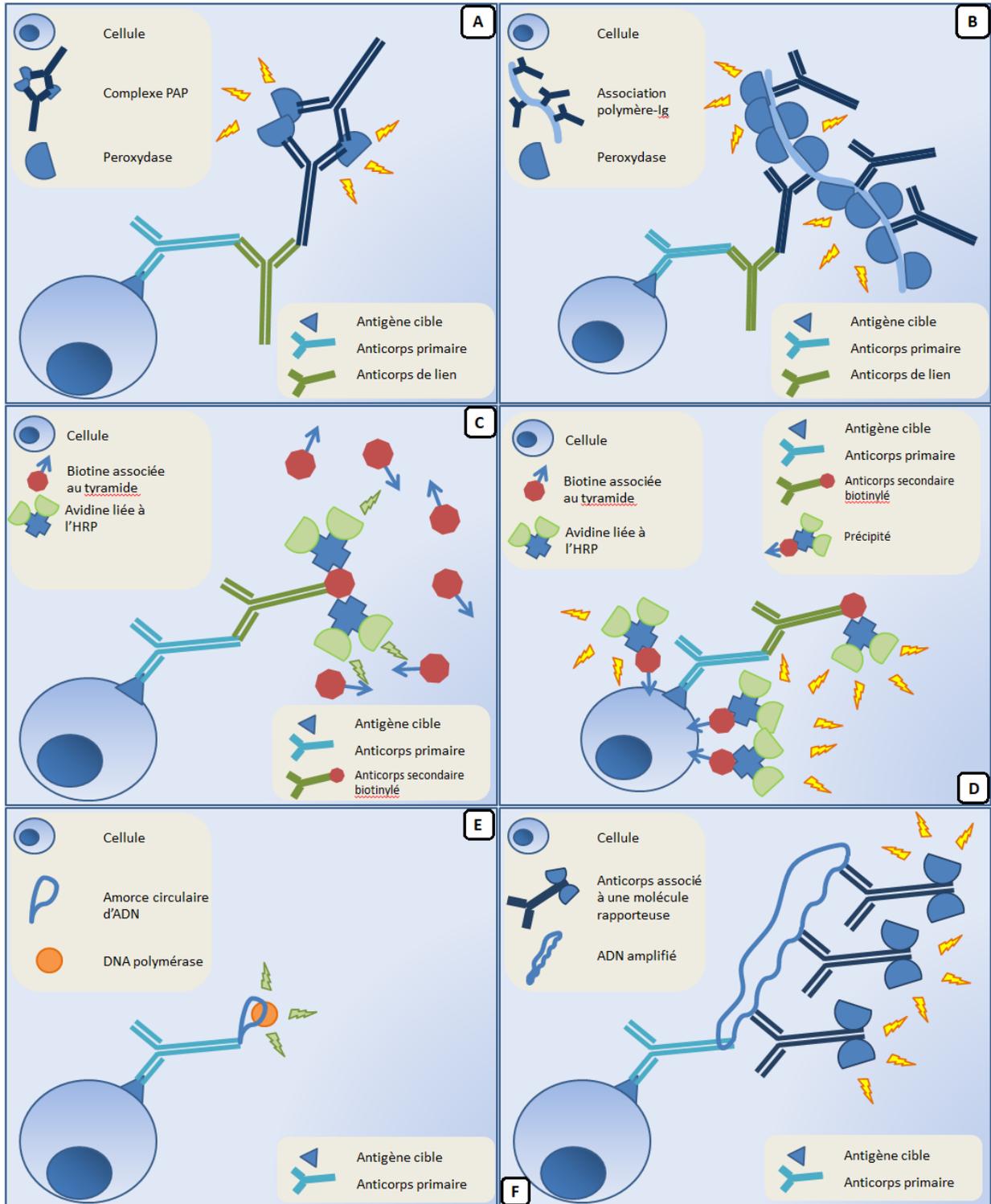
Cette méthode utilise un polymère auquel s'attachent de 4 à 70 molécules d'enzymes et de 1 à 10 anticorps secondaires. Cette méthode a une sensibilité supérieure ou égale à la méthode ABC ou LAB, et pas de bruit de fond, mais elle est plus onéreuse. Sa sensibilité peut être augmentée par l'ajout d'une étape intermédiaire, qui ajoute un anticorps de lien entre l'anticorps primaire et les complexes de polymères (*Wiedorn et al., 2001; Ramos-Vara, Miller, 2014*).

- Amplification de signal catalysée

Cette méthode se base sur la capacité du tyramide à adhérer à un substrat solide après oxydation/radicalisation par une peroxydase issue du raifort (HRP). Le tyramide est associé à de l'isothiocyanate de fluorescéine ou à de la biotine précipite ainsi au lieu de la réaction ou sur de l'avidine combinée à la HRP. Cette méthode est complexe et laborieuse, mais sa sensibilité est 5 à 10 fois supérieure à celle de l'ABC, ce qui en fait une méthode de choix lorsque l'antigène recherché est présent en très faible quantité. Cependant, la présence importante de bruit de fond doit être suspectée (*Adams, 1992; Gross, Sizer, 1959*).

- Immuno-amplification circulaire (immuno-rolling circle amplification= immuno-RCA)

L'immuno-amplification circulaire est une technique qui augmente le signal de la réaction immunologique sans augmenter le bruit de fond. Il s'agit d'une technique en 2 parties, à ADN ancré en surface, utilisée pour visualiser les Ag de surface. La première partie est une réaction Ac-Ag, la deuxième est une réaction isotherme d'amplification d'acide nucléique par une amorce oligonucléotide circularisée. L'amorce est couplée à l'Ac, donc en présence d'ADN circulaire, de DNA polymérase, et de nucléotide, la réaction résulte en une molécule d'ADN constituée de plusieurs copies de la séquence d'ADN utilisée, restant attachée à l'anticorps. Celui-ci peut être détecté par hybridation avec des sondes complémentaires d'oligonucléotides associées à une molécule rapporteuse. Cette méthode permet de détecter un seul complexe Ac-Ag (*Lizardi et al., 1998; Schweitzer et al., 2000; Zhong et al., 2001; Ramos-Vara, Miller, 2014*).



**Figure 5 : Différentes techniques d'immunohistochimie. A : technique PAP ; B : technique des polymères ; C, D : amplification de signal catalysée ; E, F : amplification immuno-circulaire. L'ensemble de ces techniques sont initiées par la fixation d'un anticorps primaire, et aboutissent à une réaction physico-chimique observable.**

### Contre-coloration

La coloration permet la visualisation des structures et ainsi la localisation histologique des marquages. Les colorations histologiques classiques, notamment la coloration à l'hémalun-éosine, peuvent être utilisées. Il faut prendre garde à moduler l'intensité de la coloration de façon à ne pas cacher les marquages. De plus, la couleur du marquage doit être prise en compte dans le choix de la coloration, afin de ne pas perdre en sensibilité lors de la lecture (*Ramos-Vara et al.*, 2008).

### Déshydratation et fixation

La coupe peut ensuite être déshydratée et fixée sur lame afin de procéder à la lecture.

### **D) Phase post-analytique**

La phase post-analytique correspond à toutes les étapes permettant d'aboutir à une conclusion quant aux résultats exprimés par les lames marquées.

### Contrôle des performances

Le contrôle des performances inclut l'examen des lames témoins. Les témoins à utiliser doivent comprendre :

- un **témoin positif de marquage**, constitué d'une lame dont le tissu fixé contient de façon certaine l'antigène recherché. On pourra utiliser une technique secondaire, comme la PCR, pour en assurer le contenu. Il permet de mettre en évidence que la réaction a eu correctement lieu, et plus particulièrement, il assure que l'anticorps primaire est fonctionnel.

- un **témoin positif de la réaction** doit également être présent, constitué d'une lame dont on est certain de la présence d'un autre antigène fortement exprimé et reconnu par un anticorps primaire autre que l'anticorps utilisé dans la réaction. Il permet de mettre en évidence que la manipulation a été correctement réalisée.

- un **témoin de contrôle isotype** doit également être utilisé, afin d'assurer la spécificité du marquage. Celui-ci doit être constitué d'une lame utilisée dans la

manipulation, et l'anticorps primaire sera remplacé par un anticorps dont aucune cible spécifique n'est présente sur la lame. Il permet de confirmer que l'anticorps secondaire ne se lie pas à un Fc endogène ou exogène ne correspondant pas à l'anticorps primaire.

-le **témoin négatif de marquage** doit être constitué d'une lame dont aucune cible de l'anticorps primaire n'est présente, qui pourra être recherchée préalablement par une autre méthode telle que la PCR. Il permet la confirmation de l'absence de marquage parasite.

-Enfin, le **témoin négatif de la réaction** peut être constitué par le même protocole que les marquages cibles, en remplaçant l'anticorps primaire par du tampon, du diluant, ou un anticorps pour un antigène spécifique d'une autre espèce. Il permet d'assurer l'absence de marquage non-spécifique par l'anticorps secondaire (*Hewitt et al., 2014*).

### Interprétation

L'interprétation des résultats doit prendre en compte la localisation cellulaire du marquage (cytosolique, membranaire, nucléaire, extracellulaire), son intensité, la morphologie des cellules cibles, et leur localisation histologique (*Ramos-Vara et al., 2008*).

## **Partie II - Caractérisation immunohistochimique des cellules dendritiques chez le chien : matériel et méthode**

### **Objectif**

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence des cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs) chez le chien, par marquages immunohistochimiques à l'aide de deux anticorps (anti-CD123 et anti-CD303). De façon à évaluer la présence de pDCs, nous avons cherché à les observer dans les tissus lymphoïdes, puisqu'il s'agit de leur lieu préférentiel de concentration dans les autres espèces décrites (*Summerfield et al., 2015; Swiecki, Colonna, 2015*).

### **I/ Sélection des prélèvements**

Des nœuds lymphatiques, rates, intestins grêles et plaques de Peyer, amygdales et thymus de chien ont été recherchés *via* le logiciel HML dans l'archive histologique du Laboratoire d'Histopathologie de Vetagro Sup, Lyon. Sont exclus de l'étude les prélèvements trop vieux (datés de plus de 6 ans), décrits comme incomplets, endommagés, ou d'architecture normale non préservée.

Les lames correspondant aux échantillons sélectionnés, préalablement réalisées et colorées à l'hémalun-éosine, ont été ensuite récupérées dans l'histothèque du laboratoire et observées au microscope optique.

Les échantillons ont été inclus dans l'étude lorsque l'aspect histologique était correct, l'organe était reconnaissable, et l'échantillon bien préservé.

Les échantillons ont été exclus de l'étude lorsque l'aspect histologique était excessivement modifié, la congestion, l'autolyse ou la nécrose étaient importantes, ou lorsque l'échantillon était peu représentatif de l'organe normal.

## **II/ Analyse épidémiologique**

Pour les prélèvements sélectionnés, l'espèce, la race, le sexe, l'âge, le contexte clinique de l'animal, ont été récoltées à partir de la fiche d'accompagnement du prélèvement, ou du dossier médical des animaux suivis au Centre Hospitalier Vétérinaire des Animaux de Compagnie de VetAgro Sup, Lyon.

## **III/ Analyse histologique**

Sur les lames histologiques des échantillons retenus, les éléments suivants ont été évalués :

- présence d'hyperplasie lymphoïde,
- présence d'inflammation,
- présence de tumeur ou de métastases,
- présence de nécrose.

## **IV / Analyse immunohistochimique**

### ***A) Anticorps utilisés***

Pour la mise en évidence des pDCs, nous avons utilisé un anticorps anti-CD123 et un anticorps anti-CD303 (Tableau II).

Pour chacun des deux anticorps, deux lots ont été utilisés. Les premiers lots étaient composés des anticorps anti-CD123 et anti-CD303 présents dans le laboratoire et utilisés lors des précédentes manipulations, notamment pour la mise au point des protocoles. Les seconds lots d'anticorps anti-CD123 et anti-CD303 ont été récupérés directement chez le producteur et fournisseur lors du début de cette étude et amenés au laboratoire sous couvert de froid dans les plus courts délais. Des aliquotes stériles ont été réalisées et congelées à -20°C, de façon à ce que, pour chaque manipulation, une nouvelle aliquote soit utilisée. Le but de ces deuxièmes lots était d'avoir des anticorps dont nous étions sûrs de la qualité pour ce qui est de leur préservation.

Pour le témoin d'isotype et le témoin de la technique, nous avons utilisé un anticorps antiAE1/AE3 (Tableau II).

### ***B- Groupes d'échantillons***

Nos échantillons ont été divisés en deux groupes.

Le premier groupe, composé par les lames n°1 à 22, correspondant aux nœuds lymphatiques, rates, et intestins, a été marqué avec les deux lots différents d'anticorps.

Le deuxième groupe d'échantillons, composé des lames numéro 23 à 29 correspondant aux amygdales, thymus, rates et intestins supplémentaires, a été coloré uniquement avec les seconds lots d'anticorps anti-CD123 et anti-CD303.

Pour le contrôle d'isotype et le contrôle positif, nous avons utilisé trois nœuds lymphatiques de l'étude, dont deux avaient déjà servi à la mise au point du protocole anti-CD123 et anti-CD303 et présentaient des cellules positives (control positif).

Pour le control de la technique, nous avons sélectionné un échantillon correspondant à de la peau d'un chat présentant un carcinome épidermoïde.

### ***C- Réalisation des marquages***

Pour chaque échantillon sélectionné après lecture des lames correspondantes colorées en HE, des coupes de 4µm ont été réalisées et placées sur lame, puis séchées à l'étuve la veille de la manipulation. La première coupe a été utilisée pour le marquage de CD123, la seconde pour CD303, et la troisième pour le témoin négatif. Des lames supplémentaires ont été ajoutées et utilisées en tant que contrôle isotype et témoin positif de la coloration.

La technique utilisée était celle du complexe avidine-biotine peroxydase avec le Vector NovaRED comme substrat chromogène. Le démasquage a été réalisé à pH 6 pendant 20 minutes à 95°C, et les anticorps primaires ont été appliqués pendant 30 minutes à des concentrations définies selon les protocoles de test (Tableau II). Le protocole complet est disponible en annexe (Annexe 1).

Pour chaque échantillon, le témoin négatif était constitué d'une lame colorée selon le protocole immunohistochimique du CD303 et CD123, mais en utilisant la solution bloquante en lieu et place de l'anticorps primaire.

Tableau II : anticorps et protocoles utilisés

Anticorps	Espèce source	Dilution	Fournisseur	Temps d'exposition	Démasquage
Anti-CD123 clone 107D2.08	Souris	1:50	Dendritics DDX0300	30 minutes	Tampon citraté pH = 6, 20 minutes
Anti-CD303/43, clone 124B3.13	Souris	1:200	Dendritics DDX0043	30 minutes	Tampon citraté pH = 6, 20 minutes
AE1/AE3	Souris	1:50	Dako Cytomation, Carpentry, USA	30 minutes	Tampon citraté pH = 6, 20 minutes
Témoin négatif (solution bloquante)	N/A	1:1	N/A	30 minutes	Tampon citraté pH = 6, 20 minutes

La lecture des lames a ensuite été effectuée indépendamment par 2 personnes, au microscope optique.

## **Partie III - Caractérisation immunohistochimique des cellules dendritiques chez le chien : résultats et discussion**

### **I- Résultats**

#### ***A) Sélection des prélèvements***

Une sélection composée de 10 nœuds lymphatiques, 8 rates, 7 intestins grêles dont deux avec plaques de Peyer, 2 amygdales, et 1 thymus, est réalisée.

#### ***B) Analyse épidémiologique***

Notre sélection comporte un total de 25 chiens, dont l'âge est compris entre 1 jour et 13 ans, dont les races sont variées, comportant 11 mâles, 11 femelles et 3 individus de sexe non communiqué (N/D).

Le thymus sélectionné est issu d'un chiot mort-né.

Les nœuds lymphatiques sélectionnés sont issus de 10 chiens de races différentes, d'âges compris entre 4 et 12 ans, comportant 5 mâles et 5 femelles. Six des 10 nœuds lymphatiques sont prélevés d'un animal dans un contexte tumoral.

Les rates sont issues de 8 chiens de races différentes, d'âges compris entre 0 et 13 ans, comportant 7 mâles et un chiot dont le sexe n'est pas communiqué. Trois des 8 rates sont prélevées dans un contexte tumoral.

Les intestins grêles sont issus de 5 femelles, 1 mâle, et un chien d'expérimentation de sexe non communiqué, d'âges allant d'un chiot d'âge indéterminé à 10 ans. Les animaux dont ces échantillons sont issus présentaient des pathologies variées, septiques, tumorales, traumatiques, infectieuses ou indéterminées.

Les amygdales sont issues de deux chiens beagle sains issus d'expérimentation.

Les sujets sont regroupés dans le tableau ci-dessous (Tableau III).

Tableau III : liste des sujets sélectionnés

Cas	Race	Sexe	Âge	Pathologie décelée chez l'animal	Organe utilisé
1	Berger Blanc Suisse	Mâle	4 ans	Sarcome des tissus mous	NL mandibulaire gauche
2	Berger d'Anatolie	Femelle	7 ans	Ostéosarcome ostéoblastique moyennement à peu différencié	NL pécapsulaire gauche
3	Berger Australien	Mâle castré	6 ans	Synovite lymphoplasmocytaire chronique modérée et fibrose diffuse de la membrane synoviale	NL axillaire
4	Springer Spaniel	Mâle	5 ans	Carcinome des glandes eccrines du doigt II du membre antérieur	NL pré-scapsulaire
5	Shih Tzu	Femelle	8 ans	Hyperplasie et dysplasie mammaire avec lactation diffuse sévère	Section de NL inguinal gauche
6	Croisé Labrador	Femelle	9 ans	Hyperplasie dysplasie mammaire	NL
7	Golden Retriever	Femelle	7 ans	Adénome mammaire tubulaire complexe	NL inguinal
8	Setter anglais	Femelle	8 ans	Adénome complexe de M5 et fibroadénome mammaire de M3	NL
9	Beagle	Femelle	12 ans	Adénome complexe de M5	NL inguinal droit
10	Berger Allemand	Mâle	5 ans	Hyperplasie ganglionnaire modérée	NL
11	Rottweiler	Mâle	13 ans	Séminome, congestion sévère de la rate,	Rate
12	Bouledogue français	Mâle castré	8 ans	Rate accessoire ou splénose	Rate

Cas	Race	Sexe	Âge	Pathologie décelée chez l'animal	Organe utilisé
13	Basset Hound	Mâle	9 ans	Choc hypovolémique secondaire à une hémobdomen consécutif à une masse splénique	Rate
14	Boxer	Mâle castré	10 ans	Carcinome pancréatique avec métastase ganglionnaire	Rate
15	Boxer	Mâle	12 ans	Hémobdomen secondaire à une masse splénique, associé à une cardiomégalie	Rate
16	Epagneul français	Mâle	13 ans	Hémobdomen secondaire à une masse splénique	Rate
17	N/D	N/D	Chiot	N/D	Rate
18	Shih Tzu	Femelle	Jeune (n/d)	Décès de chiots de cause indéterminée	Intestin
19	American Staffordshire Terrier	Femelle	3 ans	Entérite suppurée macrophagique associée à une bronchopneumonie fibrineuse suppurée, secondaire à un corps étranger gastrique traumatique	Intestin
20	Rottweiler	Femelle	10 ans	Léiomyome ou tumeur stromale gastro-intestinale	Intestin
21	Rottweiler	Femelle	7 ans	Ulcère duodéal focalement extensif, chronique, sévère, associé à une péritonite	Intestin
22	Berger Blanc Suisse	Femelle	6 mois	Leptospirose	Intestin
23	Golden Retriever	N/D	Nouveau-né	Mort-né	Thymus
24-25	Beagle	N/D	N/D	Néant	Intestins et amygdale
26-28	Beagle	Mâle	5 ans	Néant	Amygdale, rate, intestins

### ***C) Analyse histologique***

Les échantillons sont majoritairement d'aspect histologique peu modifié. Un faible nombre d'échantillon présentait un faible degré d'autolyse.

On observe ainsi 13 lames présentant de l'inflammation, 17 lames présentant une hyperplasie lymphoïde, 2 lames présentant de la nécrose, et aucune ne contenant de tumeur discernable :

- parmi les NL, on observe de l'inflammation sur 6 lames, de l'hyperplasie lymphoïde sur 5 lames, et une absence de processus tumoral visible et de nécrose sur l'ensemble des lames,

- parmi les rates, on observe de l'inflammation sur 4 lames, de l'hyperplasie lymphoïde sur 4 lames, et une absence de processus tumoral visible et de nécrose sur l'ensemble des lames,

- parmi les intestins, on observe de l'inflammation sur 3 lames, de l'hyperplasie lymphoïde sur 6 lames, de la nécrose sur 2 lames, et une absence de processus tumoral visible sur l'ensemble des lames,

- sur la lame de thymus, on observe une absence d'inflammation, d'hyperplasie lymphoïde, de tumeur, et de nécrose,

- parmi les amygdales, les 2 lames présentent une hyperplasie lymphoïde. Ni inflammation, ni processus tumoral, ni nécrose ne sont observés.

Tableau IV : observations histologiques sur lames colorées à l'hémalun-éosine.

Cas	Organe	Observations	Inflammation	Hyperplasie lymphoïde	Tumeur ou métastase visible	Nécrose
1	NL mandibulaire gauche	Présence importante de polynucléaires neutrophiles	+	+	-	-
2	NL péscapulaire gauche	Hyperplasie macrophagique - Bon état de conservation	+	+	-	-
3	NL axillaire	Forte hyperplasie folliculaire	+	+	-	-
4	NL pré-scapulaire	Histiocytose marquée, présence de sidérophages	+	+	-	-
5	Section de NL inguinal gauche	Hyperplasie lymphoïde marquée	-	+	-	-
6	NL	Plasmocytose médullaire modérée, histiocytose sinusale avec macrophages bruns	+	-	-	-
7	NL inguinal	Histiocytose alvéolaire	+	-	-	-
8	NL	Présence de sang drainé	-	-	-	-
9	NL inguinal droit	Dilatation modérée des sinus, présence de macrophages parfois pigmentés	-	-	-	-
10	NL	Aspect normal	-	-	-	-
11	Rate	Congestion sévère, hématopoïèse extramédullaire minime. Hémorragies capsulaire minimales.	+	-	-	-
12	Rate	Aspect normal	-	+	-	-

Cas	Organe	Observations	Inflammation	Hyperplasie lymphoïde	Tumeur ou métastase visible	Nécrose
13	Rate	Congestion sévère, hémorragies, thrombi, hyperplasie multifocale de la trame réticulaire, hyperplasie multifocale des cellules de la zone marginale	+	+	-	-
14	Rate	Épaississement de la paroi des vaisseaux par hyalinose	+	-	-	-
15	Rate	Dilatation marquée des sinus veineux. Cordons de Billroth de la pulpe rouge remplis d'hématies, sidérophages, fibrine.	+	+	-	-
16	Rate	Présence d'hémorragies	-	-	-	-
17	Rate	Présence d'une plage d'hémorragie	-	-	-	-
26	Rate	Hyperplasie lymphoïde discrète	-	+	-	-
18	Intestin	Stéatose discrète, autolyse partielle	-	-	-	-

Cas	Organe	Observations	Inflammation	Hyperplasie lymphoïde	Tumeur ou métastase visible	Nécrose
19	Intestin	Lésion inflammatoire centrée sur la séreuse, le tissu méésentérique adjacent, la musculature, avec extension focale à la muqueuse. Exsudat fibrineux, contingent de lymphocytes et de macrophages. PNN nombreux (pus)	+	+	-	-
20	Intestin	Aplatissement sévère des villosités, surface multifocalement nécrotique, chorion infiltré faiblement par PNN, grande quantité de mucus	-	+	-	+
21	Intestin	Lésion inflammatoire sévère focale centrée sur la muqueuse avec abrasion totale des villosités et nécrose des entérocytes, remplacés par des PNN dégénérés + lymphocytes, plasmocytes, macrophages. Flammèches de fibrine. Hémorragies. Tissu de granulation	+	+	-	+

Cas	Organe	Observations	Inflammation	Hyperplasie lymphoïde	Tumeur ou métastase visible	Nécrose
22	Intestin	Présence abondante de fibrine. Erosions et ulcérations des entérocytes en surface des villosités par endroit. Epaissement de la <i>lamina propria</i> à l'apex des villosités par des lymphocytes à petits granules.	+	+	-	-
25	Intestins	Plaque de Peyer hyperplasique	-	+	-	-
27	Intestins	Plusieurs plaques de Peyer hyperplasiques	-	+	-	-
23	Thymus	Aspect normal	-	-	-	-
24	Amygdale	Aspect normal	-	+	-	-
28	Amygdale	Aspect normal	-	+	-	-

## ***D) Analyse immunohistologique***

### **Témoins négatifs**

L'ensemble des lames de témoins négatifs ne présentait pas de marquage. Le bruit de fond était absent.

### **Témoins positifs**

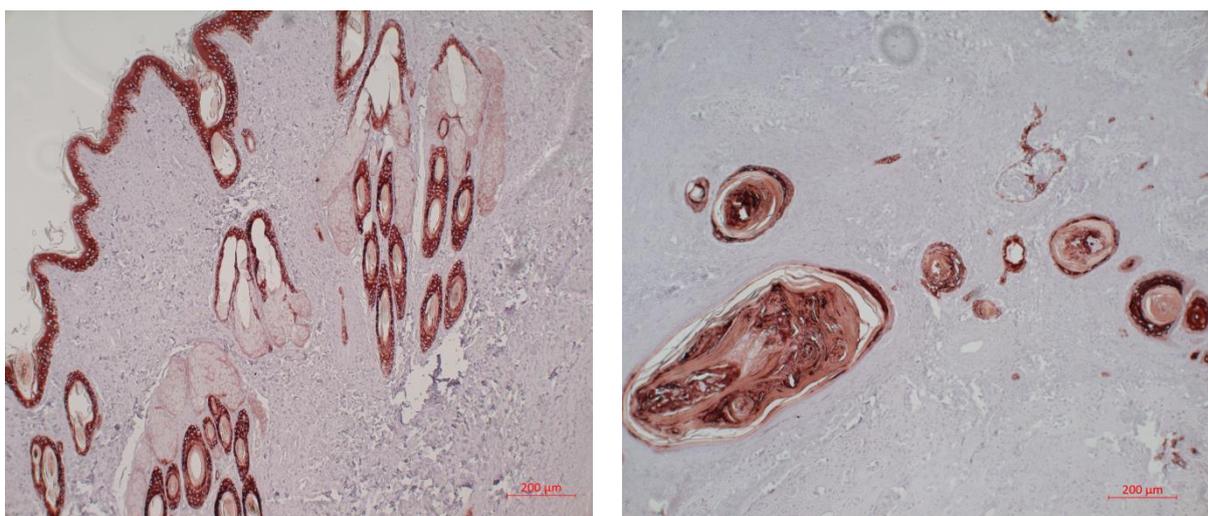
Les lames de témoins positifs issus de la première série de manipulations ne présentait pas de marquage. La seconde série de manipulation s'est également révélée négative.

### **Contrôle isotype**

Aucune cellule positive pour AE1/AE3 n'était présente dans le nœud lymphatique utilisé.

### **Contrôle de la coloration**

Le contrôle de la coloration présentait un marquage spécifique cytoplasmique, intense, de l'ensemble des cellules de l'épiderme de la couche cornée jusqu'à la couche germinative, et de la gaine épithéliale externe des follicules pileux, compatible avec la localisation des cytokératines recherchées. De plus, les cellules tumorales étaient positives. Le bruit de fond était absent.



**Figure 6 : témoin positif de la réaction. L'ensemble des cellules épithéliales (à gauche) et du carcinome épidermoïde (à droite) sont marquées, sans bruit de fond.**

### CD123

On observe la présence d'un marquage spécifique pour CD123 sur un nœud lymphatique préscapulaire hyperplasique dans un contexte de carcinome des glandes eccrines chez un Springer Spaniel mâle de 5 ans. Le marquage était présent au niveau cytoplasmique, de forte intensité, sur des cellules de morphologie ronde et compatible avec des pDCs, isolées (Fig.6). Cependant les marquages ultérieurs sur cet échantillon se sont révélés négatifs.

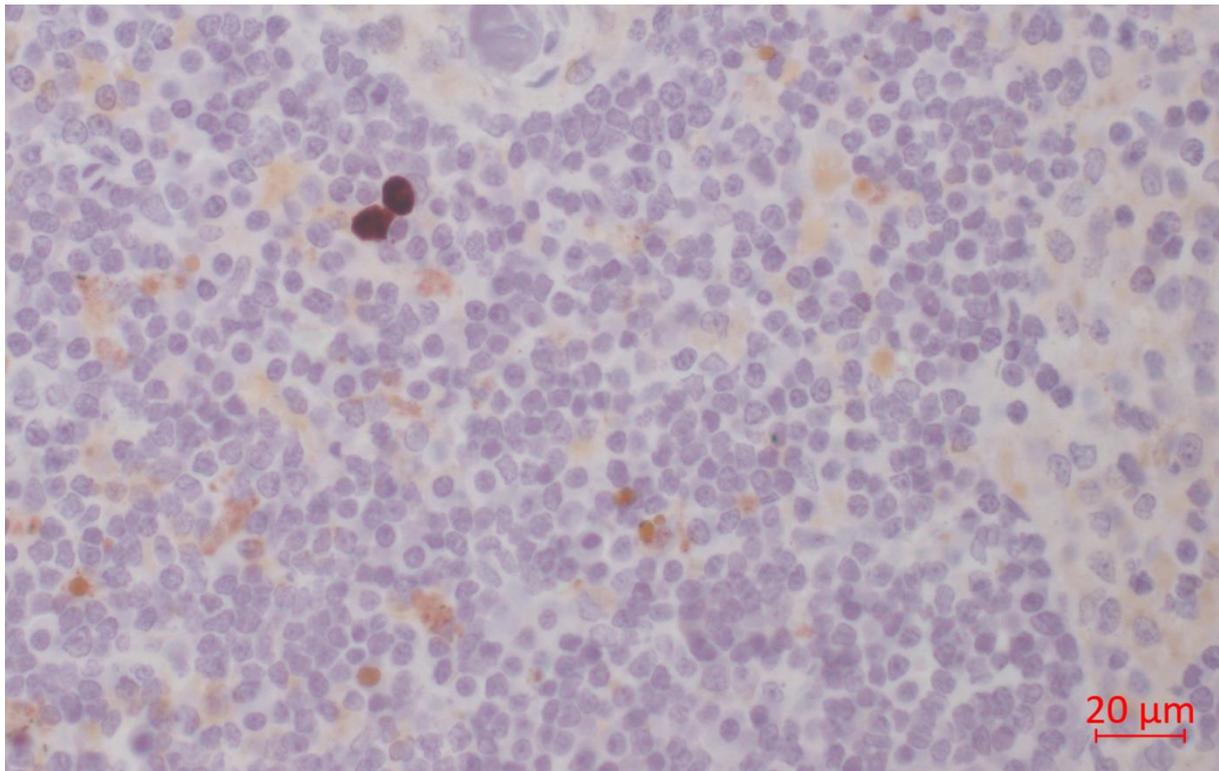


Figure 7 : marquages positifs pour CD123, sur le cas n°4. On observe le marquage cytoplasmique intense de deux cellules rondes à ovales, de tailles et de morphologies compatibles avec des pDCs.

### CD303

On observe la présence d'un marquage spécifique pour CD303 sur un nœud lymphatique préscapulaire hyperplasique dans un contexte de carcinome des glandes eccrines chez un Springer Spaniel mâle de 5 ans. Le marquage était présent au niveau cytoplasmique, de forte intensité, sur des cellules de morphologie ronde et compatible avec des pDCs, isolées (Fig.7). Cependant, les marquages réalisés ultérieurement sur ces échantillons se sont révélés négatifs.

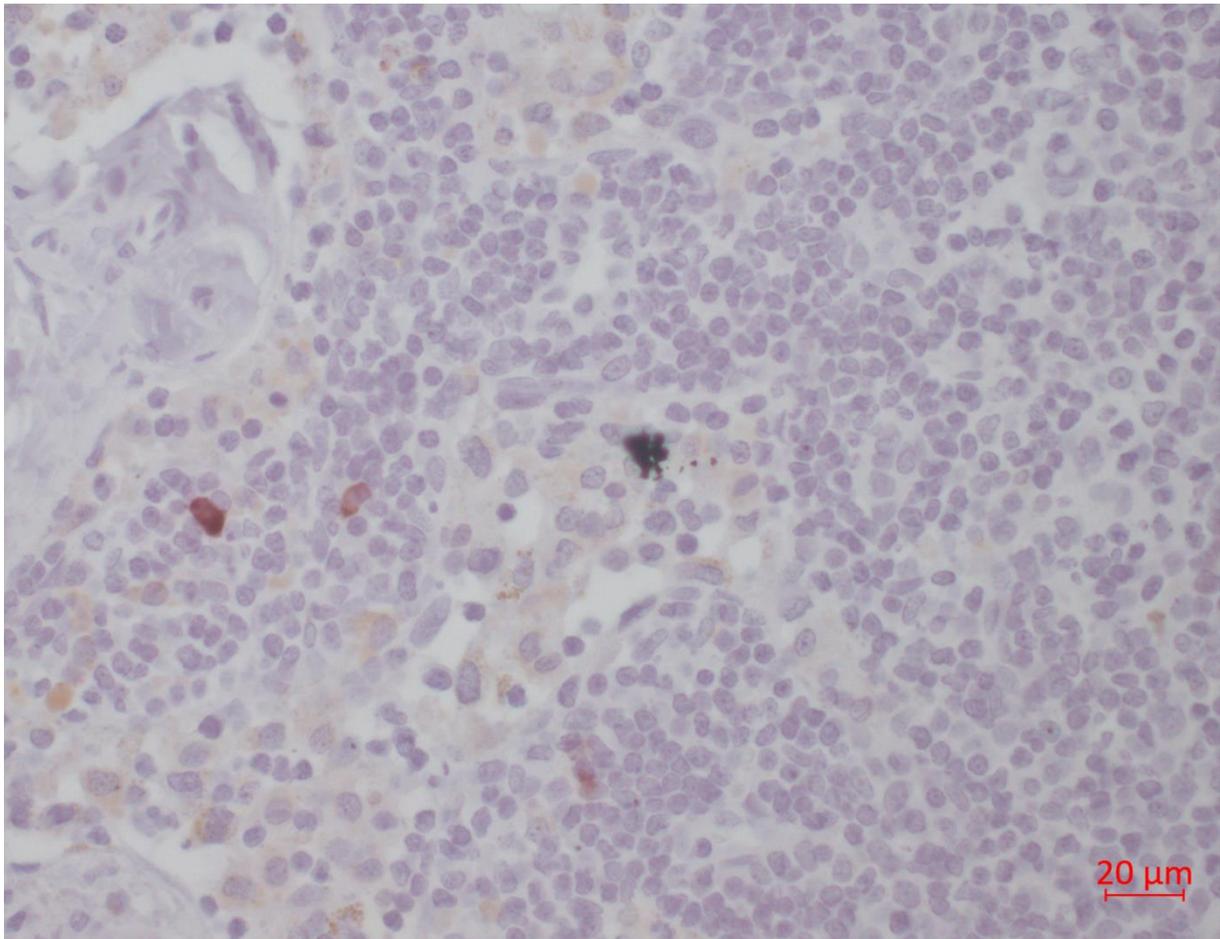


Figure 8 : marquages positifs pour CD303 sur le cas n°4. On observe le marquage cytoplasmique intense de deux cellules ovales, isolées, de morphologies compatibles avec des pDCs.

## II- Discussion

### **A) Introduction :**

Les pDCs sont des cellules du système immunitaire retrouvées en faible quantité dans les organes lymphoïdes secondaires et le sang. Elles sont responsables de la production de la majorité des IFN-I plasmatiques et ont un rôle majeur dans les infections virales, la présentation antigénique, la communication intercellulaire, et certains processus pathologiques, notamment des maladies auto-immunes (*Swiecki, Colonna, 2015*). Ces cellules sont le sujet de nombreuses études récentes en raison de leur implication dans la pathogénèse de nombreuses maladies auto-immunes, et de leur intervention dans de nombreux processus infectieux et tumoraux, à la fois en tant qu'actrices physiologiques et pathologiques.

En raison de leur faible fréquence dans l'organisme, les pDCs sont difficiles à étudier. Ainsi, elles ont été peu étudiées dans les espèces vétérinaires et notamment chez le chien. Notre étude vise ainsi à mettre en évidence la présence de pDCs dans des organes lymphoïdes de chien, par une méthode immunohistochimique utilisant les anticorps anti-CD123 et anti-CD303. L'objectif de l'étude est d'obtenir un aperçu de la répartition, de la fréquence, et de l'épidémiologie des pDCs dans l'espèce canine.

### **B) Sélection des cas :**

Afin d'obtenir une diversité satisfaisante d'échantillons, nous avons recueilli des organes de chiens de l'histothèque de VetAgro Sup Lyon selon de multiples critères. Nous avons ainsi sélectionné 28 échantillons issus de 25 chiens différents. Cette sélection comportait 10 nœuds lymphatiques, 8 rates, 7 intestins grêles dont deux avec plaques de Peyer, 2 amygdales, et 1 thymus. Ces organes sont tous décrits comme ayant présenté des pDCs dans d'autres espèces (*Colonna et al., 2004; Cella et al., 1999; Facchetti et al., 1988; 2003; Jamin et al., 2006; Contractor et al., 2007*). Sur ces organes, des lames sont étudiées pour observer la présence d'inflammation, d'hyperplasie lymphoïde, de tumeurs, et de nécrose. On observe ainsi 13 lames présentant de l'inflammation, 17 lames présentant une hyperplasie lymphoïde, 2 lames présentant de la nécrose, et aucune ne contenant de tumeur discernable. Nous pouvons en déduire que les organes présentent un état de conservation et de représentativité correct. L'inflammation représente un critère de chimiotaxie positif des pDCs (*Gutzmer et al., 2006; Yoneyama et al., 2004; Schnurr et al., 2004*) ; on peut ainsi

présupposer une quantité de pDCs augmentée dans les organes inflammés. De même, la présence de tumeur aurait été un élément de chimiotaxie positif (*Vermi et al., 2003; Zou et al., 2001; Hartmann et al., 2003*).

Parmi les nœuds lymphatiques, 5 étaient hyperplasiques et 5 non hyperplasiques. La littérature décrit un afflux de pDCs aux NL hyperplasiques, augmentant de façon conséquente la concentration de pDCs dans ces organes. Ce nombre d'échantillons semble suffisant pour la mise en évidence de pDCs puisque dans l'étude de Facchetti et ses collègues en 1988, 87% des nœuds lymphatiques hyperplasiques chez l'homme présentaient des pDCs (*Facchetti et al., 1988*). Cependant, cette étude définissait les pDCs comme des cellules fortement marquées par les anticorps anti-MT1 (anti-CD43) et anti-LN2 (anti-CD74), qui ne sont pas spécifiques des pDCs ; elle allait également à l'encontre des résultats précédents indiquant 4 (*Horny et al., 1987*) à 14% (*Vollenweider, Lennert, 1983*) de nœuds lymphatiques contenant des pDCs dans des contextes de lymphadénites. De plus, l'étude de Rollins-Laval et ses collègues, en 2013, met en évidence 100% de nœuds lymphatiques présentant des pDCs dans des contextes d'infections virales, bactériennes, ou de lymphadénites d'origines diverses (*Rollins-Raval et al., 2013*). Cette étude montre également des quantités de pDCs dans les nœuds lymphatiques hyperplasiques variables, augmentées pour les lymphadénites, et moins augmentées pour les contextes d'infections virales.

On recense parmi les chiens étudiés un total de 11 mâles, 11 femelles et 3 individus de sexes non communiqués. Des chiens mâles entiers et castrés ont été étudiés. L'influence des œstrogènes et de la progestérone sur les pDCs (*Yang et al., 2015*) peut ainsi être minimisée dans l'interprétation des résultats.

Ces chiens sont âgés de 1 jour à 13 ans, et appartiennent à des races variées. Deux chiens sont issus de lignées de Beagle d'expérimentation. On peut donc écarter l'influence de prédispositions raciales et de l'âge dans l'interprétation de nos résultats.

Les troubles associés aux patients sont divers. Une proportion importante de sujets fait l'objet d'un diagnostic de tumeur. Les autres diagnostics comportent des maladies inflammatoires, septiques, et endocrines. L'inflammation, de manière non tissu-spécifique ou maladie-spécifique, entraîne un afflux de pDCs aux tissus concernés (*Gutzmer et al., 2006*;

*Schnurr et al., 2004*), mais ce recrutement peut être d'intensité variable, comme mis en évidence par l'étude de Rollins-Raval et al. concernant différents types de lymphadénites (*Rollins-Raval et al., 2013*). Il est ainsi difficile de prévoir les résultats en termes de quantité de pDCs selon le diagnostic sous-jacent, mais on peut supposer que les maladies peu inflammatoires, notamment endocrines, induisent un plus faible recrutement des pDCs aux tissus examinés.

On peut déduire de l'ensemble de ces données que la diversité des échantillons permet une représentativité correcte des résultats, en raison de la large diversité d'échantillons, de sujets, et de descriptions histologiques.

### **C) Immunomarquages et anticorps choisis**

Pour la réalisation d'immunomarquages des pDCs, nous avons utilisé les anticorps anti-CD123 et anti-CD303, qui sont décrits comme respectivement sensibles et spécifiques des pDCs humaines et murines (*Dzionic et al., 2000; 2001; Boiocchi et al., 2013; Testa et al., 2014, p. 123*). De plus, des cellules pouvant correspondre aux pDCs ont été précédemment décrites dans la littérature comme marquées CD123<sup>+</sup> chez le chien (*Rosolem et al., 2015*).

La molécule correspondant au CD123 est la chaîne  $\alpha$  du récepteur à l'IL-3. CD123 est exprimé sur la surface des pDCs, et est présent sur l'ensemble des pDCs tissulaires. CD123 est en outre exprimé dans la majorité des précurseurs hématopoïétiques CD34<sup>+</sup> (*Sullivan, Locksley, 2009; Han et al., 2008; Testa et al., 2014; Taussig et al., 2005*). Il est en outre exprimé par certains types de cellules tumorales, notamment dans le cadre de leucémies (revue par (*Testa et al., 2014*)).

La molécule correspondant au CD303 est une lectine transmembranaire de type II calcium-dépendante, nommée BDCA-2. Son expression est quasi-exclusive des pDCs ; cependant, des traces d'ARN messager de BDCA-2 sont présents dans les cDCs immatures (*Arce et al., 2001; Dzionic et al., 2002*).

La combinaison des marqueurs CD123 et CD303 permet ainsi une bonne sensibilité et une bonne spécificité dans la détection des pDCs dans de multiples espèces dont le chien pour CD123, et chez l'homme et la souris pour CD303.

#### ***D) Témoins***

De multiples témoins ont été utilisés dans notre étude.

##### *1) Témoins négatifs :*

Les témoins négatifs permettent d'assurer l'absence de marquage non spécifique et de faux positif. Le témoin négatif utilisé est constitué en remplaçant l'anticorps primaire des protocoles de marquages à anti-CD123 ou anti-CD303 par la solution bloquante. On cherche ainsi à obtenir une absence totale de marquage sur l'ensemble des lames. Les résultats obtenus concordent avec les résultats attendus. On en déduit une absence de marquage non spécifique et de faux positif.

##### *2) Témoins d'isotype :*

On utilise un témoin d'isotype afin d'assurer l'absence de marquage aspécifique par les anticorps utilisés. Pour cela, on utilise un anticorps de même isotype que l'anticorps d'intérêt. En outre, cet anticorps doit être « irrelevante », c'est-à-dire sans intérêt sur les lames testées. Chaque marquage présent sur les contrôles isotypes doit exclure les cellules marquées de l'interprétation. Nous avons donc choisi d'utiliser un anticorps AE1/AE3 marquant de multiples cytokératines présentes principalement dans les cellules épithéliales et de nombreux carcinomes. Cet anticorps est d'isotype IgG1, tout comme les anticorps d'intérêt. L'organe utilisé pour ce contrôle isotype est un nœud lymphatique de chat, dans lequel les cytokines marquées par AE1/AE3 sont théoriquement absentes. Les résultats attendus et obtenus sont une absence de marquage, confirmant l'absence de marquage aspécifique lié à l'isotype.

### 3) Témoins de réaction

Les témoins de réaction permettent de confirmer le bon déroulement du protocole et des réactions immunohistochimiques. Ils sont constitués en remplaçant l'anticorps primaire par un anticorps dont le marquage est connu, abondant, et intense. Nous avons utilisé un échantillon de peau de chat contenant un carcinome épidermoïde, marqué par l'anticorps AE1/AE3. Le marquage attendu est abondant, intense, de l'ensemble des cellules épithéliales ainsi que des cellules cancéreuses. Les résultats obtenus concordent avec les résultats attendus. On en déduit un bon déroulement de la réaction.

### 4) Témoins positifs

Le témoin positif est constitué de l'anticorps primaire usuel appliqué sur un organe dont la présence d'un marquage a été démontrée. Nous avons utilisé plusieurs nœuds lymphatiques sur lesquels des pDCs ont été marquées précédemment par les anticorps anti-CD123 et anti-CD303. Les marquages attendus sont ceux associés aux anticorps primaires testés, c'est-à-dire un marquage cytosolique intense, spécifique de cellules à morphologie compatibles avec les pDCs. Les résultats obtenus sont une absence de marquage. Les hypothèses associées à ces résultats sont multiples :

- absence d'antigène cible sur les lames étudiées,
- absence de marquage par les anticorps utilisés,
- mauvais déroulement de la réaction,
- défaut d'antigénicité des organes.

Le témoin de la réaction nous assure un bon déroulement de la réaction, nous pouvons ainsi éliminer l'hypothèse d'un mauvais déroulement de la réaction.

L'utilisation de deux lots d'anticorps différents, dont un neuf, aliquoté de façon stérile et conservé en conditions optimales, nous permet de réduire la probabilité d'anticorps défectueux. De plus, la réalisation de marquages ultérieurs positifs sur d'autres organes avec ces anticorps écarte cette hypothèse.

Un défaut d'antigénicité des organes utilisés est peu probable en raison de la réalisation de marquages réalisés précédemment dans les mêmes conditions de stockage.

L'hypothèse de l'absence d'antigènes cibles sur les lames étudiées est donc la plus probable, et peut s'expliquer notamment par la faible quantité de pDCs présentes par organe.

### **E) Résultats concernant les nœuds lymphatiques**

Les résultats sont positifs uniquement pour un nœud lymphatique pré-scapulaire hyperplasique dans un contexte de carcinome des glandes eccrines du doigt II chez un chien Springer Spaniel mâle de 5 ans. Ce contexte est favorable à la présence de pDCs puisque d'une part le nœud lymphatique décrit est hyperplasique, et d'autre part correspond au nœud lymphatique drainant un territoire où une tumeur maligne est présente. Les nœuds lymphatiques drainant des tumeurs, et notamment malignes (*Munn et al., 2004*), sont décrits comme plus riches en pDCs. Il est donc cohérent d'avoir un résultat positif dans ce contexte. Le faible nombre de résultats positifs ne nous permet pas la réalisation d'étude statistique, notamment concernant la répartition des pDCs.

Le marquage présent concerne les anticorps anti-CD123 et anti-CD303. Il est intense et cytosolique. Ces marquages sont compatibles avec les marquages attendus sur les pDCs (marquage cytoplasmique intense (*Boiocchi et al., 2013*)). Les cellules marquées sont rares et isolées. Elles sont de morphologie plasmacytoïdes (Fig. 7, 8).

L'ensemble de ces résultats concorde avec un marquage spécifique de pDCs.

L'ensemble des autres nœuds lymphatiques testés, y compris les témoins positifs, ne présentaient pas de marquage. Tout comme pour les témoins positifs, l'hypothèse la plus probable est l'absence d'antigènes cibles sur les lames étudiées en raison du faible nombre de pDCs dans l'organisme (*Collin et al., 2013*).

D'autres hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer l'absence de cellules CD303<sup>+</sup> et CD123<sup>+</sup> sur les organes testés. On peut notamment se référer à la diversité importante des phénotypes dans les espèces vétérinaires (*Summerfield et al., 2015*) qui appuie l'hypothèse

d'une variation phénotypique des pDCs matures chez le chien. Cependant, l'absence de marquage aux anticorps anti-CD123, précédemment décrits comme positifs pour les pDCs chez le chien (*Rosolem et al.*, 2015), diminue la probabilité de cette hypothèse. Une autre hypothèse serait l'inhibition de CD123 et CD303 dans les conditions testées. En effet, l'expression de CD303 est diminuée par les IFN-I notamment produits lors de stimulation TLR7 et TLR9 des pDCs (*Wu et al.*, 2008). L'expression de CD123 diminue quant à elle au cours de la différenciation des cellules l'exprimant (*Sullivan, Locksley*, 2009; *Han et al.*, 2008; *Testa et al.*, 2014; *Taussig et al.*, 2005). On peut ainsi en déduire la labilité des marqueurs utilisés ; un état d'activation différent, par exemple, pourrait modifier l'expression de ces marqueurs. En outre, la différenciation terminale des pDCs exposée récemment démontre une diversité phénotypique entre les différentes populations de pDCs activées (*Alculumbre et al.*, 2018). On peut dès lors supposer la présence de pDCs non marquées par les anticorps anti-CD123 et anti-CD303 sur les organes étudiés.

#### ***F) Résultats concernant les autres organes***

Les organes testés sont des organes lymphoïdes secondaires qui sont décrits comme contenant des pDCs en conditions homéostatiques et inflammatoires dans d'autres espèces, notamment murines et humaines (*Wendland et al.*, 2007, p. 9; *Gotoh et al.*, 2008; *Velásquez-Lopera et al.*, 2008; *Bendriss-Vermare et al.*, 2001; *Wu, Shortman*, 2005; *Grouard et al.*, 1997). Cependant, à notre connaissance, la quantité de pDCs présentes dans ces organes n'a pu être déterminée. Par ailleurs, n'importe quel tissu peut présenter un afflux de pDCs lors d'inflammation (*Gutzmer et al.*, 2006; *Schnurr et al.*, 2004; *Vermi et al.*, 2005). De même, certains processus tumoraux induisent un afflux de pDCs dans les tissus environnants (*Hartmann et al.*, 2003; *Perrot et al.*, 2007; *Labidi-Galy et al.*, 2012; *Faget et al.*, 2012).

L'ensemble des marquages concernant les organes autres que les nœuds lymphatiques est absent. Ceci peut s'expliquer par le faible nombre de pDCs présentes dans l'organisme (*Gehrie et al.*, 2011; *Tang et al.*, 2010) ainsi que dans les organes étudiés, ainsi que par le faible nombre de coupes étudiées pour chaque organe, et enfin par le faible nombre d'organes étudiés, notamment pour les amygdales ou plaques de Peyer. Les pDCs représentent en effet entre moins de 10% des cellules Lin<sup>-</sup> de la rate (*Waskow et al.*, 2008) et

moins de 7% des DCs de la rate (*Eidenschenk et al., 2010*) ; 35% des DCs du thymus, ce qui représente environ 0.15% des cellules du thymus (*Wu, Shortman, 2005*) ; et 1% des cellules de l'intestin grêle (*Wendland et al., 2007, p. 9*).

### **G) Limites de cette étude**

Cette étude présente plusieurs limites.

-Peu d'informations sont présentes concernant les pDCs dans l'espèce canine ; ainsi, il est possible que les pDCs canines présentent des caractéristiques différentes des autres espèces, que ce soit en termes de phénotype, de localisation, ou de quantité. En effet, la variation phénotypique interspécifique des pDCs apparaît comme importante (*Summerfield et al., 2015*),

-Le nombre d'échantillons testés et le nombre de coupes réalisées sur chaque organe ont été limités pour des raisons de temps et de moyens, ce qui diminue la sensibilité de l'étude,

-Les échantillons sélectionnés sont les plus récents possibles, cependant les protocoles de paraffinage n'ont pas été communiqués pour les échantillons peu récents. Ainsi, une fixation excessive ou insuffisante pourrait avoir réduit l'antigénicité de certains échantillons,

-La présence de pDCs dans les témoins positifs n'a pas été vérifiée par méthode alternative comme la PCR et réduit ainsi la précision de leur interprétation.

### **H) Perspectives**

Les pDCs apparaissent comme des acteurs majeurs des maladies auto-immunes, des tumeurs, et des infections virales chez l'homme et la souris (*Swiecki, Colonna, 2015*). Elles pourraient ainsi agir en tant que cibles thérapeutiques chez le chien, *via* l'intermédiaire d'anti-IFN-I par exemple (*Hornung, Wenzel, 2014; Merrill et al., 2011; Rönnblom, Pascual, 2008*). Pour ce faire, leur rôle dans les maladies auto-immunes du chien doit être démontré. Au contraire, l'utilisation d'agonistes des TLR7 et 9 se montre prometteuse dans la lutte contre les tumeurs *via* l'activation des pDCs rendues tolérogènes par les micro-environnements tumoraux (*Drobets et al., 2012; van Egmond et al., 2007; Beutner et al., 1999*).

Le développement, les fonctions, la répartition, et le phénotype des pDCs restent largement à étudier et notamment dans l'espèce canine qui pourrait constituer un modèle supérieur au modèle murin.



## **CONCLUSION**

**Les cellules dendritiques plasmacytoïdes sont des cellules de morphologie ronde, retrouvées en petite quantité dans le sang, la moelle osseuse, les organes lymphoïdes primaires et secondaires, et les tissus inflammés ou tumoraux.**

**Elles incarnent des actrices majeures de l'immunité, notamment antivirale, par leur capacité inégalée à produire des interférons de type I. Elles interviennent également dans l'autoimmunité, la prévention et la progression tumorale, et la progression de certaines infections.**

**Notre étude porte sur le marquage immunohistochimique de ces cellules par l'intermédiaire des marqueurs IL-3R $\alpha$  (CD123) et BDCA-2 (CD303) sur des organes lymphoïdes paraffinés de chiens. Nous avons mis en évidence un marquage spécifique par les deux marqueurs, compatible avec des cellules dendritiques plasmacytoïdes, sur un échantillon de nœud lymphatique axillaire dans un contexte de carcinome des glandes eccrines du doigt.**

**Ces résultats appuient la rareté des cellules dendritiques plasmacytoïdes et confirment le phénotype CD303<sup>+</sup> de ces cellules chez le chien.**



## Bibliographie

ABSOLOM D.R. et VAN OSS C.J. 1986. The nature of the antigen-antibody bond and the factors affecting its association and dissociation. *CRC Critical reviews in immunology*. Vol. 6, n° 1, pp. 1-46.

ADAMS J.C. 1992. Biotin amplification of biotin and horseradish peroxidase signals in histochemical stains. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*. Vol. 40, n° 10, pp. 1457-1463.

AGUDO J., RUZO A., TUNG N., SALMON H., LEBOEUF M., HASHIMOTO D. et al. 2014. The miR-126-VEGFR2 axis controls the innate response to pathogen-associated nucleic acids. *Nature Immunology*. Vol. 15, n° 1, pp. 54-62.

ALBANESI C., SCARPONI C., PALLOTTA S., DANIELE R., BOSISIO D., MADONNA S. et al. 2009. Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 206, n° 1, pp. 249-258.

ALCÁNTARA-HERNÁNDEZ M., LEYLEK R., WAGAR L.E., ENGLEMAN E.G., KELER T., MARINKOVICH M.P. et al. 2017. High-Dimensional Phenotypic Mapping of Human Dendritic Cells Reveals Interindividual Variation and Tissue Specialization. *Immunity*. Vol. 47, n° 6, pp. 1037- 1050.e6.

ALCULUMBRE S.G., SAINT-ANDRÉ V., DI DOMIZIO J., VARGAS P., SIRVEN P., BOST P. et al. 2018. Diversification of human plasmacytoid predendritic cells in response to a single stimulus. *Nature Immunology*. Vol. 19, n° 1, pp. 63-75.

ALLMAN D., DALOD M., ASSELIN-PATUREL C., DELALE T., ROBBINS S.H., TRINCHIERI G. et al. 2006. Ikaros is required for plasmacytoid dendritic cell differentiation. *Blood*. Vol. 108, n° 13, pp. 4025-4034.

AMIEL J., RIO M., PONTUAL L. de, REDON R., MALAN V., BODDAERT N. et al. 2007. Mutations in TCF4, Encoding a Class I Basic Helix-Loop-Helix Transcription Factor, Are Responsible for Pitt-Hopkins Syndrome, a Severe Epileptic Encephalopathy Associated with Autonomic Dysfunction. *The American Journal of Human Genetics*. Vol. 80, n° 5, pp. 988-993.

ANK N., IVERSEN M.B., BARTHOLDY C., STAEHELI P., HARTMANN R., JENSEN U.B. et al. 2008. An Important Role for Type III Interferon (IFN- $\lambda$ ) in TLR-Induced Antiviral Activity. *The Journal of Immunology*. Vol. 180, n° 4, pp. 2474-2485.

ANK N., WEST H., BARTHOLDY C., ERIKSSON K., THOMSEN A.R. et PALUDAN S.R. 2006. Lambda Interferon (IFN- $\lambda$ ), a Type III IFN, Is Induced by Viruses and IFNs and Displays Potent Antiviral Activity against Select Virus Infections In Vivo. *Journal of Virology*. Vol. 80, n° 9, pp. 4501-4509.

ARCE I., RODA-NAVARRO P., MONTOYA M.C., HERNANZ-FALCÓN P., PUIG-KRÖGER A. et FERNÁNDEZ-RUIZ E. 2001. Molecular and genomic characterization of human DLEC, a novel member of the C-type lectin receptor gene family preferentially expressed on monocyte-derived dendritic cells. *European Journal of Immunology*. Vol. 31, n° 9, pp. 2733-2740.

- ARIMURA K., TAKAGI H., UTO T., FUKAYA T., NAKAMURA T., CHOIJOOKHUU N. et al. 2017. Crucial role of plasmacytoid dendritic cells in the development of acute colitis through the regulation of intestinal inflammation. *Mucosal Immunology*. Vol. 10, n° 4, pp. 957-970.
- ARPINATI M., GREEN C.L., HEIMFELD S., HEUSER J.E. et ANASETTI C. 2000. Granulocyte-colony stimulating factor mobilizes T helper 2-inducing dendritic cells. *Blood*. Vol. 95, n° 8, pp. 2484-2490.
- ASPORD C., LECCIA M.-T., CHARLES J. et PLUMAS J. 2013. Plasmacytoid dendritic cells support melanoma progression by promoting Th2 and regulatory immunity through OX40L and ICOSL. *Cancer Immunology Research*. Vol. 1, n° 6, pp. 402-415.
- ASSELIN-PATUREL C., BRIZARD G., CHEMIN K., BOONSTRA A., O'GARRA A., VICARI A. et al. 2005. Type I interferon dependence of plasmacytoid dendritic cell activation and migration. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 201, n° 7, pp. 1157-1167.
- AUERBUCH V., BROCKSTEDT D.G., MEYER-MORSE N., O'RIORDAN M. et PORTNOY D.A. 2004. Mice lacking the type I interferon receptor are resistant to *Listeria monocytogenes*. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 200, n° 4, pp. 527-533.
- BABAN B., CHANDLER P.R., SHARMA M.D., PIHKALA J., KONI P.A., MUNN D.H. et al. 2009. IDO activates regulatory T cells and blocks their conversion into Th17-like T cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 183, n° 4, pp. 2475-2483.
- BACHEM A., GÜTTLER S., HARTUNG E., EBSTEIN F., SCHAEFER M., TANNERT A. et al. 2010. Superior antigen cross-presentation and XCR1 expression define human CD11c+CD141+ cells as homologues of mouse CD8+ dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 207, n° 6, pp. 1273-1281.
- BAO M., HANABUCHI S., FACCHINETTI V., DU Q., BOVER L., PLUMAS J. et al. 2012. CD2AP/SHIP1 complex positively regulates plasmacytoid dendritic cell receptor signaling by inhibiting the E3 ubiquitin ligase Cbl. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 189, n° 2, pp. 786-792.
- BAO M. et LIU Y.-J. 2013. Regulation of TLR7/9 signaling in plasmacytoid dendritic cells. *Protein & Cell*. Vol. 4, n° 1, pp. 40-52.
- BARRAT F.J., MEEKER T., GREGORIO J., CHAN J.H., UEMATSU S., AKIRA S. et al. 2005. Nucleic acids of mammalian origin can act as endogenous ligands for Toll-like receptors and may promote systemic lupus erythematosus. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 202, n° 8, pp. 1131-1139.
- BARRON M.A., BLYVEIS N., PALMER B.E., MAWHINNEY S. et WILSON C.C. 2003. Influence of plasma viremia on defects in number and immunophenotype of blood dendritic cell subsets in human immunodeficiency virus 1-infected individuals. *The Journal of Infectious Diseases*. Vol. 187, n° 1, pp. 26-37.
- BARRY S.C., KORPELAINEN E., SUN Q., STOMSKI F.C., MORETTI P.A., WAKAO H. et al. 1997. Roles of the N and C terminal domains of the interleukin-3 receptor alpha chain in receptor function. *Blood*. Vol. 89, n° 3, pp. 842-852.

BATTAGLIA A., BUZZONETTI A., BARANELLO C., FERRANDINA G., MARTINELLI E., FANFANI F. et al. 2009. Metastatic tumour cells favour the generation of a tolerogenic milieu in tumour draining lymph node in patients with early cervical cancer. *Cancer immunology, immunotherapy: CII*. Vol. 58, n° 9, pp. 1363-1373.

BATTAGLIA A., BUZZONETTI A., MONEGO G., PERI L., FERRANDINA G., FANFANI F. et al. 2008. Neuropilin-1 expression identifies a subset of regulatory T cells in human lymph nodes that is modulated by preoperative chemoradiation therapy in cervical cancer. *Immunology*. Vol. 123, n° 1, pp. 129-138.

BAUMANN A., MCCULLOUGH K.C. et SUMMERFIELD A. 2013. Porcine circovirus type 2 stimulates plasmacytoid dendritic cells in the presence of IFN-gamma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 156, n° 3-4, pp. 223-228.

BÅVE U., MAGNUSSON M., ELORANTA M.-L., PERERS A., ALM G.V. et RÖNNBLOM L. 2003. Fc gamma RIIa is expressed on natural IFN-alpha-producing cells (plasmacytoid dendritic cells) and is required for the IFN-alpha production induced by apoptotic cells combined with lupus IgG. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 171, n° 6, pp. 3296-3302.

BECKEBAUM S., ZHANG X., CHEN X., YU Z., FRILLING A., DWORACKI G. et al. 2004. Increased levels of interleukin-10 in serum from patients with hepatocellular carcinoma correlate with profound numerical deficiencies and immature phenotype of circulating dendritic cell subsets. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*. Vol. 10, n° 21, pp. 7260-7269.

BEIGNON A.-S., MCKENNA K., SKOBERNE M., MANCHES O., DASILVA I., KAVANAGH D.G. et al. 2005. Endocytosis of HIV-1 activates plasmacytoid dendritic cells via Toll-like receptor-viral RNA interactions. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 115, n° 11, pp. 3265-3275.

BEKISZ J., BARON S., BALINSKY C., MORROW A. et ZOON K.C. 2010. Antiproliferative Properties of Type I and Type II Interferon. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*. Vol. 3, n° 4, pp. 994-1015.

BENDRISS-VERMARE N., BARTHÉLÉMY C., DURAND I., BRUAND C., DEZUTTER-DAMBUYANT C., MOULIAN N. et al. 2001. Human thymus contains IFN- $\alpha$ -producing CD11c-, myeloid CD11c+, and mature interdigitating dendritic cells. *Journal of Clinical Investigation*. Vol. 107, n° 7, pp. 835-844.

BENNETT L., PALUCKA A.K., ARCE E., CANTRELL V., BORVAK J., BANCHEREAU J. et al. 2003. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 197, n° 6, pp. 711-723.

BEUTNER K.R., GEISSE J.K., HELMAN D., FOX T.L., GINKEL A. et OWENS M.L. 1999. Therapeutic response of basal cell carcinoma to the immune response modifier imiquimod 5% cream. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Vol. 41, n° 6, pp. 1002-1007.

BLASIUS A., VERMI W., KRUG A., FACCHETTI F., CELLA M. et COLONNA M. 2004. A cell-surface molecule selectively expressed on murine natural interferon-producing cells that blocks secretion of interferon-alpha. *Blood*. Vol. 103, n° 11, pp. 4201-4206.

BLASIUŠ A.L., CELLA M., MALDONADO J., TAKAI T. et COLONNA M. 2006. Siglec-H is an IPC-specific receptor that modulates type I IFN secretion through DAP12. *Blood*. Vol. 107, n° 6, pp. 2474-2476.

BLIND C., KOEPENIK A., PACYNA-GENGELBACH M., FERNAHL G., DEUTSCHMANN N., DIETEL M. et al. 2008. Antigenicity testing by immunohistochemistry after tissue oxidation. *Journal of Clinical Pathology*. Vol. 61, n° 1, pp. 79-83.

BLOM B., HO S., ANTONENKO S. et LIU Y.-J. 2000. Generation of Interferon  $\alpha$ -Producing Predendritic Cell (Pre-Dc)2 from Human Cd34+ Hematopoietic Stem Cells. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 192, n° 12, pp. 1785-1796.

BOGEN S.A., VANI K. et SOMPURAM S.R. 2009. Molecular mechanisms of antigen retrieval: antigen retrieval reverses steric interference caused by formalin-induced cross-links. *Biotechnic & Histochemistry: Official Publication of the Biological Stain Commission*. Vol. 84, n° 5, pp. 207-215.

BOIOCCHI L., LONARDI S., VERMI W., FISOGNI S. et FACCHETTI F. 2013. BDCA-2 (CD303): a highly specific marker for normal and neoplastic plasmacytoid dendritic cells. *Blood*. Vol. 122, n° 2, pp. 296-297.

BONACCORSI I., CANTONI C., CARREGA P., OLIVERI D., LUI G., CONTE R. et al. 2010. The Immune Inhibitory Receptor LAIR-1 Is Highly Expressed by Plasmacytoid Dendritic Cells and Acts Complementary with NKp44 to Control IFN $\alpha$  Production. *PLoS ONE* [en ligne]. Vol. 5, n° 11. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2994815/> [Consulté le 14 juin 2018].

BOOR P.P.C., METSELAAR H.J., MANCHAM S., VAN DER LAAN L.J.W. et KWEKKEBOOM J. 2013. Rapamycin has suppressive and stimulatory effects on human plasmacytoid dendritic cell functions. *Clinical and Experimental Immunology*. Vol. 174, n° 3, pp. 389-401.

BOWIE A.G. et UNTERHOLZNER L. 2008. Viral evasion and subversion of pattern-recognition receptor signalling. *Nature Reviews. Immunology*. Vol. 8, n° 12, pp. 911-922.

BRATKE K., NIELSEN J., MANIG F., KLEIN C., KUEPPER M., GEYER S. et al. 2010. Functional expression of granzyme B in human plasmacytoid dendritic cells: a role in allergic inflammation. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. Vol. 40, n° 7, pp. 1015-1024.

BRAWAND P., FITZPATRICK D.R., GREENFIELD B.W., BRASEL K., MALISZEWSKI C.R. et DE SMEDT T. 2002. Murine plasmacytoid pre-dendritic cells generated from Flt3 ligand-supplemented bone marrow cultures are immature APCs. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 169, n° 12, pp. 6711-6719.

BRYANT C., FROMM P.D., KUPRESANIN F., CLARK G., LEE K., CLARKE C. et al. 2016. A CD2 high-expressing stress-resistant human plasmacytoid dendritic-cell subset. *Immunology and Cell Biology*. Vol. 94, n° 5, pp. 447-457.

BUESA R.J. et PESHKOV M.V. 2012. How much formalin is enough to fix tissues? *Annals of Diagnostic Pathology*. Vol. 16, n° 3, pp. 202-209.

- BUFE A., GEHLHAR K., GRAGE-GRIEBENOW E. et ERNST M. 2002. Atopic phenotype in children is associated with decreased virus-induced interferon-alpha release. *International Archives of Allergy and Immunology*. Vol. 127, n° 1, pp. 82-88.
- CALZADA-NOVA G., SCHNITZLEIN W., HUSMANN R. et ZUCKERMANN F.A. 2010. Characterization of the cytokine and maturation responses of pure populations of porcine plasmacytoid dendritic cells to porcine viruses and toll-like receptor agonists. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 135, n° 1-2, pp. 20-33.
- CAO W. 2009. Molecular Characterization of Human Plasmacytoid Dendritic Cells. *Journal of Clinical Immunology*. Vol. 29, n° 3, pp. 257-264.
- CAO W. et BOVER L. 2010. Signaling and Ligand Interaction of ILT7. *Immunological reviews*. Vol. 234, n° 1, pp. 163-176.
- CAO W., BOVER L., CHO M., WEN X., HANABUCHI S., BAO M. et al. 2009. Regulation of TLR7/9 responses in plasmacytoid dendritic cells by BST2 and ILT7 receptor interaction. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 206, n° 7, pp. 1603-1614.
- CAO W., ROSEN D.B., ITO T., BOVER L., BAO M., WATANABE G. et al. 2006. Plasmacytoid dendritic cell-specific receptor ILT7-FcεR1γ inhibits Toll-like receptor-induced interferon production. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 203, n° 6, pp. 1399-1405.
- CAO W., ZHANG L., ROSEN D.B., BOVER L., WATANABE G., BAO M. et al. 2007. BDCA2/FcεR1γ Complex Signals through a Novel BCR-Like Pathway in Human Plasmacytoid Dendritic Cells. *PLOS Biology*. Vol. 5, n° 10, pp. e248.
- CARR P.D., GUSTIN S.E., CHURCH A.P., MURPHY J.M., FORD S.C., MANN D.A. et al. 2001. Structure of the complete extracellular domain of the common beta subunit of the human GM-CSF, IL-3, and IL-5 receptors reveals a novel dimer configuration. *Cell*. Vol. 104, n° 2, pp. 291-300.
- CARRERO J.A., CALDERON B. et UNANUE E.R. 2004. Type I interferon sensitizes lymphocytes to apoptosis and reduces resistance to Listeria infection. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 200, n° 4, pp. 535-540.
- CELLA M., JARROSSAY D., FACCHETTI F., ALEBARDI O., NAKAJIMA H., LANZAVECCHIA A. et al. 1999. Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon. *Nature Medicine*. Vol. 5, n° 8, pp. 919-923.
- CHAUDHARY B., KHALED Y.S., AMMORI B.J. et ELKORD E. 2014. Neuropilin 1: function and therapeutic potential in cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. Vol. 63, n° 2, pp. 81-99.
- CHEN W., ANTONENKO S., SEDERSTROM J.M., LIANG X., CHAN A.S.H., KANZLER H. et al. 2004. Thrombopoietin cooperates with FLT3-ligand in the generation of plasmacytoid dendritic cell precursors from human hematopoietic progenitors. *Blood*. Vol. 103, n° 7, pp. 2547-2553.

- CHEN Y.-L., CHANG S., CHEN T.-T. et LEE C.-K. 2015. Efficient Generation of Plasmacytoid Dendritic Cell from Common Lymphoid Progenitors by Flt3 Ligand. *PLOS ONE*. Vol. 10, n° 8, pp. e0135217.
- CHEN Y.-L., CHEN T.-T., PAI L.-M., WESOLY J., BLUYSSSEN H.A.R. et LEE C.-K. 2013. A type I IFN-Flt3 ligand axis augments plasmacytoid dendritic cell development from common lymphoid progenitors. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 210, n° 12, pp. 2515-2522.
- CHING K.H., BURBELO P.D., TIPTON C., WEI C., PETRI M., SANZ I. et al. 2012. Two major autoantibody clusters in systemic lupus erythematosus. *PloS One*. Vol. 7, n° 2, pp. e32001.
- CHO M., ISHIDA K., CHEN J., OHKAWA J., CHEN W., NAMIKI S. et al. 2008. SAGE library screening reveals ILT7 as a specific plasmacytoid dendritic cell marker that regulates type I IFN production. *International Immunology*. Vol. 20, n° 1, pp. 155-164.
- CISSE B., CATON M.L., LEHNER M., MAEDA T., SCHEU S., LOCKSLEY R. et al. 2008. Transcription factor E2-2 is an essential and specific regulator of plasmacytoid dendritic cell development. *Cell*. Vol. 135, n° 1, pp. 37-48.
- CLAHSEN T., PABST O., TENBROCK K., SCHIPPERS A. et WAGNER N. 2015. Localization of dendritic cells in the gut epithelium requires MAdCAM-1. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*. Vol. 156, n° 1, pp. 74-84.
- COLLIN M., MCGOVERN N. et HANIFFA M. 2013. Human dendritic cell subsets. *Immunology*. Vol. 140, n° 1, pp. 22-30.
- COLONNA M., TRINCHIERI G. et LIU Y.-J. 2004. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nature Immunology*. Vol. 5, n° 12, pp. 1219-1226.
- CONTRACTOR N., LOUTEN J., KIM L., BIRON C.A. et KELSALL B.L. 2007. Cutting edge: Peyer's patch plasmacytoid dendritic cells (pDCs) produce low levels of type I interferons: possible role for IL-10, TGFbeta, and prostaglandin E2 in conditioning a unique mucosal pDC phenotype. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 179, n° 5, pp. 2690-2694.
- DALOD M., HAMILTON T., SALOMON R., SALAZAR-MATHER T.P., HENRY S.C., HAMILTON J.D. et al. 2003. Dendritic Cell Responses to Early Murine Cytomegalovirus Infection. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 197, n° 7, pp. 885-898.
- D'AMICO A. et WU L. 2003. The Early Progenitors of Mouse Dendritic Cells and Plasmacytoid Predendritic Cells Are within the Bone Marrow Hemopoietic Precursors Expressing Flt3. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 198, n° 2, pp. 293-303.
- DE WIT D., OLISLAGERS V., GORIELY S., VERMEULEN F., WAGNER H., GOLDMAN M. et al. 2004. Blood plasmacytoid dendritic cell responses to CpG oligodeoxynucleotides are impaired in human newborns. *Blood*. Vol. 103, n° 3, pp. 1030-1032.
- DECKER T., MÜLLER M. et STOCKINGER S. 2005. The yin and yang of type I interferon activity in bacterial infection. *Nature Reviews. Immunology*. Vol. 5, n° 9, pp. 675-687.
- DELHAYE S., PAUL S., SOMMEREYNS C., PESCH V.V. et MICHIELS T. 2006. Les interférons de type I. . Vol. 10, pp. 12.

- DEROLF Å.R., LAANE E., BJÖRKLUND E., SAFT L., BJÖRKHOLM M. et PORWIT A. 2014. Dendritic Cells in Bone Marrow at Diagnosis and after Chemotherapy in Adult Patients with Acute Myeloid Leukaemia. *Scandinavian Journal of Immunology*. Vol. 80, n° 6, pp. 424-431.
- DEVOSSE T., GUILLABERT A., D'HAENE N., BERTON A., NADAI P.D., NOEL S. et al. 2009. Formyl Peptide Receptor-Like 2 Is Expressed and Functional in Plasmacytoid Dendritic Cells, Tissue-Specific Macrophage Subpopulations, and Eosinophils. *The Journal of Immunology*. Vol. 182, n° 8, pp. 4974-4984.
- DI PUCCHIO T., CHATTERJEE B., SMED-SÖRENSEN A., CLAYTON S., PALAZZO A., MONTES M. et al. 2008. Direct proteasome-independent cross-presentation of viral antigen by plasmacytoid dendritic cells on major histocompatibility complex class I. *Nature Immunology*. Vol. 9, n° 5, pp. 551-557.
- DIACOVO T.G., BLASIUS A.L., MAK T.W., CELLA M. et COLONNA M. 2005. Adhesive mechanisms governing interferon-producing cell recruitment into lymph nodes. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 202, n° 5, pp. 687-696.
- DILLMANN C., MORA J., OLESCH C., BRÜNE B. et WEIGERT A. 2015. S1PR4 is required for plasmacytoid dendritic cell differentiation. *Biological Chemistry*. Vol. 396, n° 6-7, pp. 775-782.
- DONAGHY H., POZNIAK A., GAZZARD B., QAZI N., GILMOUR J., GOTCH F. et al. 2001. Loss of blood CD11c(+) myeloid and CD11c(-) plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load. *Blood*. Vol. 98, n° 8, pp. 2574-2576.
- DROBITS B., HOLCMANN M., AMBERG N., SWIECKI M., GRUNDTNER R., HAMMER M. et al. 2012. Imiquimod clears tumors in mice independent of adaptive immunity by converting pDCs into tumor-killing effector cells. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 122, n° 2, pp. 575-585.
- DZIOŃEK A., FUCHS A., SCHMIDT P., CREMER S., ZYSK M., MILTENYI S. et al. 2000. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 165, n° 11, pp. 6037-6046.
- DZIOŃEK A., INAGAKI Y., OKAWA K., NAGAFUNE J., RÖCK J., SOHMA Y. et al. 2002. Plasmacytoid dendritic cells: from specific surface markers to specific cellular functions. *Human Immunology*. Vol. 63, n° 12, pp. 1133-1148.
- DZIOŃEK A., SOHMA Y., NAGAFUNE J., CELLA M., COLONNA M., FACCHETTI F. et al. 2001. BDCA-2, a Novel Plasmacytoid Dendritic Cell-specific Type II C-type Lectin, Mediates Antigen Capture and Is a Potent Inhibitor of Interferon  $\alpha/\beta$  Induction. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 194, n° 12, pp. 1823-1834.
- EIDENSCHENK C., CROZAT K., KREBS P., ARENS R., POPKIN D., ARNOLD C.N. et al. 2010. Flt3 permits survival during infection by rendering dendritic cells competent to activate NK cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 107, n° 21, pp. 9759-9764.

ENGEL K.B. et MOORE H.M. 2011. Effects of preanalytical variables on the detection of proteins by immunohistochemistry in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. Vol. 135, n° 5, pp. 537-543.

ESASHI E. et LIU Y.-J. 2008. E-box protein E2-2 is a crucial regulator of plasmacytoid DC development. *European journal of immunology*. Vol. 38, n° 9, pp. 2386-2388.

FACCHETTI F., CIGOGNETTI M., FISOGNI S., ROSSI G., LONARDI S. et VERMI W. 2016. Neoplasms derived from plasmacytoid dendritic cells. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* Vol. 29, n° 2, pp. 98-111.

FACCHETTI F. et DE WOLF-PEETERS C. 1991. The plasmacytoid monocyte (the so called plasmacytoid T-cell). An enigmatic cell of the human lymphoid tissue. *Biotest Bulletin*. Vol. 4, pp. 225-240.

FACCHETTI F., DE WOLF-PEETERS C., VAN DEN OORD J.J., DE VOS R. et DESMET V.J. 1988. Plasmacytoid T cells: a cell population normally present in the reactive lymph node. An immunohistochemical and electronmicroscopic study. *Human Pathology*. Vol. 19, n° 9, pp. 1085-1092.

FACCHETTI F., VERMI W., MASON D. et COLONNA M. 2003. The plasmacytoid monocyte/interferon producing cells. *Virchows Archiv*. Vol. 443, n° 6, pp. 703-717.

FAGET J., BENDRISS-VERMARE N., GOBERT M., DURAND I., OLIVE D., BIOTA C. et al. 2012. ICOS-ligand expression on plasmacytoid dendritic cells supports breast cancer progression by promoting the accumulation of immunosuppressive CD4+ T cells. *Cancer Research*. Vol. 72, n° 23, pp. 6130-6141.

FAGET J., SISIRAK V., BLAY J.-Y., CAUX C., BENDRISS-VERMARE N. et MÉNÉTRIER-CAUX C. 2013. ICOS is associated with poor prognosis in breast cancer as it promotes the amplification of immunosuppressive CD4+ T cells by plasmacytoid dendritic cells. *Oncoimmunology*. Vol. 2, n° 3, pp. e23185.

FARKAS L., BEISKE K., LUND-JOHANSEN F., BRANDTZAEG P. et JAHNSEN F.L. 2001. Plasmacytoid Dendritic Cells (Natural Interferon-  $\alpha/\beta$ -Producing Cells) Accumulate in Cutaneous Lupus Erythematosus Lesions. *The American Journal of Pathology*. Vol. 159, n° 1, pp. 237-243.

FINOTTI G., TAMASSIA N., CALZETTI F., FATTOVICH G. et CASSATELLA M.A. 2016. Endogenously produced TNF- $\alpha$  contributes to the expression of CXCL10/IP-10 in IFN- $\lambda$ 3-activated plasmacytoid dendritic cells. *Journal of Leukocyte Biology*. Vol. 99, n° 1, pp. 107-119.

FITZGERALD-BOCARSLY P., DAI J. et SINGH S. 2008. Plasmacytoid dendritic cells and type I IFN: 50 years of convergent history. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. Vol. 19, n° 1, pp. 3-19.

FONG L., MENGOZZI M., ABBEY N.W., HERNDIER B.G. et ENGLEMAN E.G. 2002. Productive infection of plasmacytoid dendritic cells with human immunodeficiency virus type 1 is triggered by CD40 ligation. *Journal of Virology*. Vol. 76, n° 21, pp. 11033-11041.

- FONTENEAU J.-F., LARSSON M., BEIGNON A.-S., MCKENNA K., DASILVA I., AMARA A. et al. 2004. Human immunodeficiency virus type 1 activates plasmacytoid dendritic cells and concomitantly induces the bystander maturation of myeloid dendritic cells. *Journal of Virology*. Vol. 78, n° 10, pp. 5223-5232.
- FUCHS A., CELLA M., KONDO T. et COLONNA M. 2005. Paradoxical inhibition of human natural interferon-producing cells by the activating receptor NKp44. *Blood*. Vol. 106, n° 6, pp. 2076-2082.
- GALY A., CHRISTOPHERSON I., FERLAZZO G., LIU G., SPITS H. et GEORGOPOULOS K. 2000. Distinct signals control the hematopoiesis of lymphoid-related dendritic cells. *Blood*. Vol. 95, n° 1, pp. 128-137.
- GEHLHAR K., BILITEWSKI C., REINITZ-RADEMACHER K., ROHDE G. et BUFE A. 2006. Impaired virus-induced interferon- $\alpha$ 2 release in adult asthmatic patients. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. Vol. 36, n° 3, pp. 331-337.
- GEHRIE E., VAN DER TOUW W., BROMBERG J.S. et OCHANDO J.C. 2011. Plasmacytoid Dendritic Cells in Tolerance. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*. Vol. 677, pp. 127-147.
- GEROSA F., BALDANI-GUERRA B., NISII C., MARCHESINI V., CARRA G. et TRINCHIERI G. 2002. Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 195, n° 3, pp. 327-333.
- GHOSH H.S., CERIBELLI M., MATOS I., LAZAROVICI A., BUSSEMAKER H.J., LASORELLA A. et al. 2014. ETO family protein Mtg16 regulates the balance of dendritic cell subsets by repressing Id2. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 211, n° 8, pp. 1623-1635.
- GHOSH H.S., CISSE B., BUNIN A., LEWIS K.L. et REIZIS B. 2010. Continuous expression of the transcription factor e2-2 maintains the cell fate of mature plasmacytoid dendritic cells. *Immunity*. Vol. 33, n° 6, pp. 905-916.
- GILLIET M., CAO W. et LIU Y.-J. 2008. Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nature Reviews Immunology*. Vol. 8, n° 8, pp. 594-606.
- GOTOH K., TANAKA Y., NISHIKIMI A., INAYOSHI A., ENJOJI M., TAKAYANAGI R. et al. 2008. Differential requirement for DOCK2 in migration of plasmacytoid dendritic cells versus myeloid dendritic cells. *Blood*. Vol. 111, n° 6, pp. 2973-2976.
- GOTOH K., TANAKA Y., NISHIKIMI A., NAKAMURA R., YAMADA H., MAEDA N. et al. 2010. Selective control of type I IFN induction by the Rac activator DOCK2 during TLR-mediated plasmacytoid dendritic cell activation. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 207, n° 4, pp. 721-730.
- GROSS A.J. et SIZER I.W. 1959. The oxidation of tyramine, tyrosine, and related compounds by peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 234, n° 6, pp. 1611-1614.

GROUARD G., RISSOAN M.-C., FILGUEIRA L., DURAND I., BANCHEREAU J. et LIU Y.-J. 1997. The Enigmatic Plasmacytoid T Cells Develop into Dendritic Cells with Interleukin (IL)-3 and CD40-Ligand. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 185, n° 6, pp. 1101-1112.

GUERRERO R.B., BATTS K.P., BRANDHAGEN D.J., GERMER J.J., PEREZ R.G. et PERSING D.H. 1997. Effects of formalin fixation and prolonged block storage on detection of hepatitis C virus RNA in liver tissue. *Diagnostic Molecular Pathology: The American Journal of Surgical Pathology, Part B*. Vol. 6, n° 5, pp. 277-281.

GUESDON J.L., TERNYNCK T. et AVRAMEAS S. 1979. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*. Vol. 27, n° 8, pp. 1131-1139.

GUILLOT B., PORTALÈS P., THANH A.D., MERLET S., DEREURE O., CLOT J. et al. 2005. The expression of cytotoxic mediators is altered in mononuclear cells of patients with melanoma and increased by interferon-alpha treatment. *The British Journal of Dermatology*. Vol. 152, n° 4, pp. 690-696.

GUO B., CHANG E.Y. et CHENG G. 2008. The type I IFN induction pathway constrains Th17-mediated autoimmune inflammation in mice. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 118, n° 5, pp. 1680-1690.

GUTHRIDGE M.A., STOMSKI F.C., THOMAS D., WOODCOCK J.M., BAGLEY C.J., BERNDT M.C. et al. Mechanism of Activation of the GM-CSF, IL-3, and IL-5 Family of Receptors. *STEM CELLS*. Vol. 16, n° 5, pp. 301-313.

GUTZMER R., KÖTHER B., ZWIRNER J., DIJKSTRA D., PURWAR R., WITTMANN M. et al. 2006. Human Plasmacytoid Dendritic Cells Express Receptors for Anaphylatoxins C3a and C5a and Are Chemoattracted to C3a and C5a. *Journal of Investigative Dermatology*. Vol. 126, n° 11, pp. 2422-2429.

GUZYLACK-PIRIOU L., ALVES M.P., MCCULLOUGH K.C. et SUMMERFIELD A. 2010. Porcine Flt3 ligand and its receptor: Generation of dendritic cells and identification of a new marker for porcine dendritic cells. *Developmental & Comparative Immunology*. Vol. 34, n° 4, pp. 455-464.

HACKER C., KIRSCH R.D., JU X.-S., HIERONYMUS T., GUST T.C., KUHL C. et al. 2003. Transcriptional profiling identifies Id2 function in dendritic cell development. *Nature Immunology*. Vol. 4, n° 4, pp. 380-386.

HADEIBA H., LAHL K., EDALATI A., ODERUP C., HABTEZION A., PACHYNSKI R. et al. 2012. Plasmacytoid dendritic cells transport peripheral antigens to the thymus to promote central tolerance. *Immunity*. Vol. 36, n° 3, pp. 438-450.

HAGENDORENS M.M., EBO D.G., SCHUERWEGH A.J., HUYBRECHS A., VAN BEVER H.P., BRIDTS C.H. et al. 2003. Differences in circulating dendritic cell subtypes in cord blood and peripheral blood of healthy and allergic children. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. Vol. 33, n° 5, pp. 633-639.

- HAN X., JORGENSEN J.L., BRAHMANDAM A., SCHLETTE E., HUH Y.O., SHI Y. et al. 2008. Immunophenotypic study of basophils by multiparameter flow cytometry. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. Vol. 132, n° 5, pp. 813-819.
- HANIFFA M., COLLIN M. et GINHOUX F. 2013. Ontogeny and Functional Specialization of Dendritic Cells in Human and Mouse. *Advances in Immunology*. Vol. 120, pp. 1-49.
- HARTMANN E., WOLLENBERG B., ROTHENFUSSER S., WAGNER M., WELLISCH D., MACK B. et al. 2003. Identification and functional analysis of tumor-infiltrating plasmacytoid dendritic cells in head and neck cancer. *Cancer Research*. Vol. 63, n° 19, pp. 6478-6487.
- HAUPT S., DONHAUSER N., CHAIPAN C., SCHUSTER P., PUFFER B., DANIELS R.S. et al. 2008. CD4 binding affinity determines human immunodeficiency virus type 1-induced alpha interferon production in plasmacytoid dendritic cells. *Journal of Virology*. Vol. 82, n° 17, pp. 8900-8905.
- HEIL F., HEMMI H., HOCHREIN H., AMPENBERGER F., KIRSCHNING C., AKIRA S. et al. 2004. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science (New York, N.Y.)*. Vol. 303, n° 5663, pp. 1526-1529.
- HEMMI H., KAISHO T., TAKEUCHI O., SATO S., SANJO H., HOSHINO K. et al. 2002. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nature Immunology*. Vol. 3, n° 2, pp. 196-200.
- HENWOOD A.F. 2005. Effect of Slide Drying at 80°C on Immunohistochemistry. *Journal of Histotechnology*. Vol. 28, n° 1, pp. 45-46.
- HERBEUVAL J.-P., GRIVEL J.-C., BOASSO A., HARDY A.W., CHOUGNET C., DOLAN M.J. et al. 2005. CD4+ T-cell death induced by infectious and noninfectious HIV-1: role of type 1 interferon-dependent, TRAIL/DR5-mediated apoptosis. *Blood*. Vol. 106, n° 10, pp. 3524-3531.
- HEWITT S.M., BASKIN D.G., FREVERT C.W., STAHL W.L. et ROSA-MOLINAR E. 2014. Controls for immunohistochemistry: the Histochemical Society's standards of practice for validation of immunohistochemical assays. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*. Vol. 62, n° 10, pp. 693-697.
- HOCHREIN H., SCHLATTER B., O'KEEFFE M., WAGNER C., SCHMITZ F., SCHIEMANN M. et al. 2004. Herpes simplex virus type-1 induces IFN-alpha production via Toll-like receptor 9-dependent and -independent pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 101, n° 31, pp. 11416-11421.
- HOEFFEL G., RIPOCHE A.-C., MATHEOUD D., NASCIMBENI M., ESCRIOU N., LEBON P. et al. 2007. Antigen crosspresentation by human plasmacytoid dendritic cells. *Immunity*. Vol. 27, n° 3, pp. 481-492.
- HONDA K., YANAI H., NEGISHI H., ASAGIRI M., SATO M., MIZUTANI T. et al. 2005. IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses. *Nature*. Vol. 434, n° 7034, pp. 772-777.

- HORNUNG T. et WENZEL J. 2014. Innate immune-response mechanisms in dermatomyositis: an update on pathogenesis, diagnosis and treatment. *Drugs*. Vol. 74, n° 9, pp. 981-998.
- HORNY H.-P., FELLER A.C., HORST H.-A. et LENNERT K. 1987. Immunocytology of plasmacytoid T cells: Marker analysis indicates a unique phenotype of this enigmatic cell. *Human Pathology*. Vol. 18, n° 1, pp. 28-32.
- INOUE S.-I., NIIKURA M., MINEO S. et KOBAYASHI F. 2013. Roles of IFN- $\gamma$  and  $\gamma\delta$  T Cells in Protective Immunity Against Blood-Stage Malaria. *Frontiers in Immunology* [en ligne]. Vol. 4. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3756480/> [Consulté le 30 août 2018].
- ISHIHARA T., AGA M., HINO K., USHIO C., TANIGUCHI M., IWAKI K. et al. 2005. Inhibition of chlamydia trachomatis growth by human interferon-alpha: mechanisms and synergistic effect with interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha. *Biomedical Research (Tokyo, Japan)*. Vol. 26, n° 4, pp. 179-185.
- ITO T., AMAKAWA R., INABA M., IKEHARA S., INABA K. et FUKUHARA S. 2001. Differential regulation of human blood dendritic cell subsets by IFNs. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 166, n° 5, pp. 2961-2969.
- ITO T., KANZLER H., DURAMAD O., CAO W. et LIU Y.-J. 2006. Specialization, kinetics, and repertoire of type 1 interferon responses by human plasmacytoid predendritic cells. *Blood*. Vol. 107, n° 6, pp. 2423-2431.
- ITO T., YANG M., WANG Y.-H., LANDE R., GREGORIO J., PERNG O.A. et al. 2007. Plasmacytoid dendritic cells prime IL-10-producing T regulatory cells by inducible costimulator ligand. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 204, n° 1, pp. 105-115.
- IZAGUIRRE A., BARNES B.J., AMRUTE S., YEOW W.-S., MEGJUGORAC N., DAI J. et al. 2003. Comparative analysis of IRF and IFN-alpha expression in human plasmacytoid and monocyte-derived dendritic cells. *Journal of Leukocyte Biology*. Vol. 74, n° 6, pp. 1125-1138.
- JAHNSEN F.L., GRAN E., HAYE R. et BRANDTZAEG P. 2004. Human nasal mucosa contains antigen-presenting cells of strikingly different functional phenotypes. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. Vol. 30, n° 1, pp. 31-37.
- JAMES J.D. et HAUER-JENSEN M. 1999. Effects of Fixative and Fixation Time for Quantitative Computerized Image Analysis of Immunohistochemical Staining. *Journal of Histotechnology*. Vol. 22, n° 2, pp. 109-111.
- JAMIN A., GORIN S., LE POTIER M.-F. et KUNTZ-SIMON G. 2006. Characterization of conventional and plasmacytoid dendritic cells in swine secondary lymphoid organs and blood. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 114, n° 3, pp. 224-237.
- JANOVEC V., AOUAR B., FONT-HARO A., HOFMAN T., TREJBALOVA K., WEBER J. et al. 2018. The MEK1/2-ERK Pathway Inhibits Type I IFN Production in Plasmacytoid Dendritic Cells. *Frontiers in Immunology*. Vol. 9, pp. 364.

JEGO G., PALUCKA A.K., BLANCK J.-P., CHALOUNI C., PASCUAL V. et BANCHEREAU J. 2003. Plasmacytoid Dendritic Cells Induce Plasma Cell Differentiation through Type I Interferon and Interleukin 6. *Immunity*. Vol. 19, n° 2, pp. 225-234.

JENSEN T.O., SCHMIDT H., MØLLER H.J., DONSKOV F., HØYER M., SJOEGREN P. et al. 2012. Intratumoral neutrophils and plasmacytoid dendritic cells indicate poor prognosis and are associated with pSTAT3 expression in AJCC stage I/II melanoma. *Cancer*. Vol. 118, n° 9, pp. 2476-2485.

JOFFRE O.P., SEGURA E., SAVINA A. et AMIGORENA S. 2012. Cross-presentation by dendritic cells. *Nature Reviews Immunology*. Vol. 12, n° 8, pp. 557-569.

JONES W.T., STOCKARD C.R. et GRIZZLE W.E. 2001. Effects of time and temperature during attachment of sections to microscope slides on immunohistochemical detection of antigens. *Biotechnic & Histochemistry: Official Publication of the Biological Stain Commission*. Vol. 76, n° 2, pp. 55-58.

JOO H., COQUERY C., XUE Y., GAYET I., DILLON S.R., PUNARO M. et al. 2012. Serum from patients with SLE instructs monocytes to promote IgG and IgA plasmablast differentiation. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 209, n° 7, pp. 1335-1348.

JØRGENSEN T.N., ALFARO J., ENRIQUEZ H.L., JIANG C., LOO W.M., ATENCIO S. et al. 2010. Development of murine lupus involves the combined genetic contribution of the SLAM and FcgammaR intervals within the Nba2 autoimmune susceptibility locus. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 184, n° 2, pp. 775-786.

JU X., ZENKE M., HART D.N.J. et CLARK G.J. 2008. CD300a/c regulate type I interferon and TNF-alpha secretion by human plasmacytoid dendritic cells stimulated with TLR7 and TLR9 ligands. *Blood*. Vol. 112, n° 4, pp. 1184-1194.

KAJIYA H., TAKEKOSHI S., TAKEI M., EGASHIRA N., MIYAKOSHI T., SERIZAWA A. et al. 2009. Selection of buffer pH by the isoelectric point of the antigen for the efficient heat-induced epitope retrieval: re-appraisal for nuclear protein pathobiology. *Histochemistry and Cell Biology*. Vol. 132, n° 6, pp. 659.

KARRICH J.J., JACHIMOWSKI L.C.M., LIBOUBAN M., IYER A., BRANDWIJK K., TAANMAN-KUETER E.W. et al. 2013. MicroRNA-146a regulates survival and maturation of human plasmacytoid dendritic cells. *Blood*. Vol. 122, n° 17, pp. 3001-3009.

KASER A., KASER S., KANEIDER N.C., ENRICH B., WIEDERMANN C.J. et TILG H. 2004. Interleukin-18 attracts plasmacytoid dendritic cells (DC2s) and promotes Th1 induction by DC2s through IL-18 receptor expression. *Blood*. Vol. 103, n° 2, pp. 648-655.

KEE B.L. 2009. E and ID proteins branch out. *Nature Reviews Immunology*. Vol. 9, n° 3, pp. 175-184.

KHABAR K.S.A. et YOUNG H.A. 2007. Post-Transcriptional Control of the Interferon System. *Biochimie*. Vol. 89, n° 6-7, pp. 761-769.

- KIM J.-M., PARK S.-H., KIM H.-Y. et KWOK S.-K. 2015. A Plasmacytoid Dendritic Cells-Type I Interferon Axis Is Critically Implicated in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 16, n° 6, pp. 14158-14170.
- KLECHEVSKY E., MORITA R., LIU M., CAO Y., COQUERY S., THOMPSON-SNIPES L. et al. 2008. Functional specializations of human epidermal Langerhans cells and CD14+ dermal dendritic cells. *Immunity*. Vol. 29, n° 3, pp. 497-510.
- KÖHLER G. et MILSTEIN C. 1976. Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion. *European Journal of Immunology*. Vol. 6, n° 7, pp. 511-519.
- KOHRGRUBER N., GRÖGER M., MERANER P., KRIEHLER E., PETZELBAUER P., BRANDT S. et al. 2004. Plasmacytoid Dendritic Cell Recruitment by Immobilized CXCR3 Ligands. *The Journal of Immunology*. Vol. 173, n° 11, pp. 6592-6602.
- KRENACS L., KRENACS T., STELKOVIČS E. et RAFFELD M. 2010. Heat-induced antigen retrieval for immunohistochemical reactions in routinely processed paraffin sections. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*. Vol. 588, pp. 103-119.
- KRUG A., UPPALURI R., FACCHETTI F., DORNER B.G., SHEEHAN K.C.F., SCHREIBER R.D. et al. 2002. Cutting Edge: IFN-Producing Cells Respond to CXCR3 Ligands in the Presence of CXCL12 and Secrete Inflammatory Chemokines upon Activation. *The Journal of Immunology*. Vol. 169, n° 11, pp. 6079-6083.
- KU C.-L., VON BERNUTH H., PICARD C., ZHANG S.-Y., CHANG H.-H., YANG K. et al. 2007. Selective predisposition to bacterial infections in IRAK-4-deficient children: IRAK-4-dependent TLRs are otherwise redundant in protective immunity. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 204, n° 10, pp. 2407-2422.
- KUHN A. et LANDMANN A. 2014. The classification and diagnosis of cutaneous lupus erythematosus. *Journal of Autoimmunity*. Vol. 48-49, pp. 14-19.
- KUHN A., WENZEL J. et WEYD H. 2014. Photosensitivity, apoptosis, and cytokines in the pathogenesis of lupus erythematosus: a critical review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. Vol. 47, n° 2, pp. 148-162.
- KUMAGAI Y., KUMAR H., KOYAMA S., KAWAI T., TAKEUCHI O. et AKIRA S. 2009. Cutting Edge: TLR-Dependent viral recognition along with type I IFN positive feedback signaling masks the requirement of viral replication for IFN- $\alpha$  production in plasmacytoid dendritic cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 182, n° 7, pp. 3960-3964.
- LABIDI-GALY S.I., TREILLEUX I., GODDARD-LEON S., COMBES J.-D., BLAY J.-Y., RAY-COQUARD I. et al. 2012. Plasmacytoid dendritic cells infiltrating ovarian cancer are associated with poor prognosis. *Oncoimmunology*. Vol. 1, n° 3, pp. 380-382.
- LANDE R., CHAMILOS G., GANGULY D., DEMARIA O., FRASCA L., DURR S. et al. 2015. Cationic antimicrobial peptides in psoriatic skin cooperate to break innate tolerance to self-DNA. *European Journal of Immunology*. Vol. 45, n° 1, pp. 203-213.

LANDE R., GREGORIO J., FACCHINETTI V., CHATTERJEE B., WANG Yi-Hong, HOMEY B. et al. 2007. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature*. Vol. 449, n° 7162, pp. 564-569.

LAOUAR Y., WELTE T., FU X.-Y. et FLAVELL R.A. 2003. STAT3 is required for Flt3L-dependent dendritic cell differentiation. *Immunity*. Vol. 19, n° 6, pp. 903-912.

LAVOIE T.B., KALIE E., CRISAFULLI-CABATU S., ABRAMOVICH R., DIGIOIA G., MOOLCHAN K. et al. 2011. Binding and activity of all human alpha interferon subtypes. *Cytokine*. Vol. 56, n° 2, pp. 282-289.

LE MERCIER I., POUJOL D., SANLAVILLE A., SISIRAK V., GOBERT M., DURAND I. et al. 2013. Tumor promotion by intratumoral plasmacytoid dendritic cells is reversed by TLR7 ligand treatment. *Cancer Research*. Vol. 73, n° 15, pp. 4629-4640.

LEE J., ZHOU Y.J., MA W., ZHANG W., ALJOUFI A., LUH T. et al. 2017. Lineage specification of human dendritic cell is marked by expression of the transcriptional factor IRF8 in HSCs and MPPs. *Nature immunology*. Vol. 18, n° 8, pp. 877-888.

LEHMANN C., LAFFERTY M., GARZINO-DEMO A., JUNG N., HARTMANN P., FÄTKENHEUER G. et al. 2010. Plasmacytoid dendritic cells accumulate and secrete interferon alpha in lymph nodes of HIV-1 patients. *PLoS One*. Vol. 5, n° 6, pp. e11110.

LEVY D.E. et DARNELL J.E. 2002. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. Vol. 3, n° 9, pp. 651-662.

LI H.S., YANG C.Y., NALLAPARAJU K.C., ZHANG H., LIU Y.-J., GOLDRATH A.W. et al. 2012. The signal transducers STAT5 and STAT3 control expression of Id2 and E2-2 during dendritic cell development. *Blood*. Vol. 120, n° 22, pp. 4363-4373.

LIN D.S., KAN A., GAO J., CRAMPIN E.J., HODGKIN P.D. et NAIK S.H. 2018. DiSNE Movie Visualization and Assessment of Clonal Kinetics Reveal Multiple Trajectories of Dendritic Cell Development. *Cell Reports*. Vol. 22, n° 10, pp. 2557-2566.

LINDSTEDT M., LUNDBERG K. et BORREBAECK C.A.K. 2005. Gene family clustering identifies functionally associated subsets of human in vivo blood and tonsillar dendritic cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 175, n° 8, pp. 4839-4846.

LIPMAN N.S., JACKSON L.R., TRUDEL L.J. et WEIS-GARCIA F. 2005. Monoclonal versus polyclonal antibodies: distinguishing characteristics, applications, and information resources. *ILAR journal*. Vol. 46, n° 3, pp. 258-268.

LIZARDI P.M., HUANG X., ZHU Z., BRAY-WARD P., THOMAS D.C. et WARD D.C. 1998. Mutation detection and single-molecule counting using isothermal rolling-circle amplification. *Nature Genetics*. Vol. 19, n° 3, pp. 225-232.

LOMBARDI V.C., KHAIBOULLINA S.F. et RIZVANOV A.A. 2015. Plasmacytoid dendritic cells, a role in neoplastic prevention and progression. *European Journal of Clinical Investigation*. Vol. 45, n° s1, pp. 1-8.

- LÖVGREN T., ELORANTA M.-L., BÅVE U., ALM G.V. et RÖNNBLUM L. 2004. Induction of interferon-alpha production in plasmacytoid dendritic cells by immune complexes containing nucleic acid released by necrotic or late apoptotic cells and lupus IgG. *Arthritis and Rheumatism*. Vol. 50, n° 6, pp. 1861-1872.
- LYNCH J.P., MAZZONE S.B., ROGERS M.J., ARIKATT J.J., LOH Z., PRITCHARD A.L. et al. 2014. The plasmacytoid dendritic cell: at the cross-roads in asthma. *The European Respiratory Journal*. Vol. 43, n° 1, pp. 264-275.
- MACMICKING J.D. 2012. Interferon-inducible effector mechanisms in cell-autonomous immunity. *Nature reviews. Immunology*. Vol. 12, n° 5, pp. 367-382.
- MANCHES O., MUNN D., FALLAHI A., LIFSON J., CHAPEROT L., PLUMAS J. et al. 2008. HIV-activated human plasmacytoid DCs induce Tregs through an indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent mechanism. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 118, n° 10, pp. 3431-3439.
- MANION M., RODRIGUEZ B., MEDVIK K., HARDY G., HARDING C.V., SCHOOLEY R.T. et al. 2012. Interferon-alpha administration enhances CD8+ T cell activation in HIV infection. *PLoS One*. Vol. 7, n° 1, pp. e30306.
- MARAFIOTI T., PATERSON J.C., BALLABIO E., REICHARD K.K., TEDOLDI S., HOLLOWOOD K. et al. 2008. Novel markers of normal and neoplastic human plasmacytoid dendritic cells. *Blood*. Vol. 111, n° 7, pp. 3778-3792.
- MASON J.T. et O'LEARY T.J. 1991. Effects of formaldehyde fixation on protein secondary structure: a calorimetric and infrared spectroscopic investigation. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*. Vol. 39, n° 2, pp. 225-229.
- MATTEI F., SCHIAVONI G. et TOUGH D.F. 2010. Regulation of immune cell homeostasis by type I interferons. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. Vol. 21, n° 4, pp. 227-236.
- MATTHEWS K., CHUNG N.P.Y., KLASSE P.J., MOORE J.P. et SANDERS R.W. 2012. Potent induction of antibody-secreting B-cells by human dermal-derived CD14+ dendritic cells triggered by dual Toll-like receptor ligation. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. Vol. 189, n° 12, pp. 5729-5744.
- MEANS T.K., LATZ E., HAYASHI F., MURALI M.R., GOLENBOCK D.T. et LUSTER A.D. 2005. Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 115, n° 2, pp. 407-417.
- MEGJUGORAC N.J., YOUNG H.A., AMRUTE S.B., OLSHALSKY S.L. et FITZGERALD-BOCARSLY P. 2004. Virally stimulated plasmacytoid dendritic cells produce chemokines and induce migration of T and NK cells. *Journal of Leukocyte Biology*. Vol. 75, n° 3, pp. 504-514.
- MEIER A., CHANG J.J., CHAN E.S., POLLARD R.B., SIDHU H.K., KULKARNI S. et al. 2009. Sex differences in the Toll-like receptor-mediated response of plasmacytoid dendritic cells to HIV-1. *Nature Medicine*. Vol. 15, n° 8, pp. 955-959.

- MENON M., BLAIR P.A., ISENBERG D.A. et MAURI C. 2016. A Regulatory Feedback between Plasmacytoid Dendritic Cells and Regulatory B Cells Is Aberrant in Systemic Lupus Erythematosus. *Immunity*. Vol. 44, n° 3, pp. 683-697.
- MERRILL J.T., WALLACE D.J., PETRI M., KIROU K.A., YAO Y., WHITE W.I. et al. 2011. Safety profile and clinical activity of sifalimumab, a fully human anti-interferon  $\alpha$  monoclonal antibody, in systemic lupus erythematosus: a phase I, multicentre, double-blind randomised study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. Vol. 70, n° 11, pp. 1905-1913.
- MEYER-WENTRUP F., BENITEZ-RIBAS D., TACKEN P.J., PUNT C.J.A., FIGDOR C.G., DE VRIES I.J.M. et al. 2008. Targeting DCIR on human plasmacytoid dendritic cells results in antigen presentation and inhibits IFN- $\alpha$  production. *Blood*. Vol. 111, n° 8, pp. 4245-4253.
- MIGHELL A.J., HUME W.J. et ROBINSON P.A. 1998. An overview of the complexities and subtleties of immunohistochemistry. *Oral Diseases*. Vol. 4, n° 3, pp. 217-223.
- MILPIED P., RENAND A., BRUNEAU J., MENDES-DA-CRUZ D.A., JACQUELIN S., ASNAFI V. et al. 2009. Neuropilin-1 is not a marker of human Foxp3<sup>+</sup> Treg. *European Journal of Immunology*. Vol. 39, n° 6, pp. 1466-1471.
- MOHTY M., VIALLE-CASTELLANO A., NUNES J.A., ISNARDON D., OLIVE D. et GAUGLER B. 2003. IFN- $\alpha$  skews monocyte differentiation into Toll-like receptor 7-expressing dendritic cells with potent functional activities. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 171, n° 7, pp. 3385-3393.
- MØLLER-LARSEN S., NYEGAARD M., HAAGERUP A., VESTBO J., KRUSE T.A. et BØRGLUM A.D. 2008. Association analysis identifies TLR7 and TLR8 as novel risk genes in asthma and related disorders. *Thorax*. Vol. 63, n° 12, pp. 1064-1069.
- MORELLI A.E. et THOMSON A.W. 2007. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance. *Nature Reviews Immunology*. Vol. 7, n° 8, pp. 610-621.
- MORGAN J.M., NAVABI H. et JASANI B. 1997. Role of calcium chelation in high-temperature antigen retrieval at different pH values. *The Journal of Pathology*. Vol. 182, n° 2, pp. 233-237.
- MOSEMAN E.A., LIANG X., DAWSON A.J., PANOSKALTSIS-MORTARI A., KRIEG A.M., LIU Y.-J. et al. 2004. Human plasmacytoid dendritic cells activated by CpG oligodeoxynucleotides induce the generation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 173, n° 7, pp. 4433-4442.
- MOURIÈS J., MORON G., SCHLECHT G., ESCRIOU N., DADAGLIO G. et LECLERC C. 2008. Plasmacytoid dendritic cells efficiently cross-prime naive T cells in vivo after TLR activation. *Blood*. Vol. 112, n° 9, pp. 3713-3722.
- MUNN D.H. et MELLOR A.L. 2007. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor-induced tolerance. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 117, n° 5, pp. 1147-1154.
- MUNN D.H., SHARMA M.D., HOU D., BABAN B., LEE J.R., ANTONIA S.J. et al. 2004. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase by plasmacytoid dendritic cells in tumor-draining lymph nodes. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 114, n° 2, pp. 280-290.

- NAGASAWA M., SCHMIDLIN H., HAZEKAMP M.G., SCHOTTE R. et BLOM B. 2008. Development of human plasmacytoid dendritic cells depends on the combined action of the basic helix-loop-helix factor E2-2 and the Ets factor Spi-B. *European Journal of Immunology*. Vol. 38, n° 9, pp. 2389-2400.
- NAIK S.H., SATHE P., PARK H.-Y., METCALF D., PROIETTO A.I., DAKIC A. et al. 2007. Development of plasmacytoid and conventional dendritic cell subtypes from single precursor cells derived in vitro and in vivo. *Nature Immunology*. Vol. 8, n° 11, pp. 1217-1226.
- NAKANO H., YANAGITA M. et GUNN M.D. 2001. Cd11c+B220+Gr-1+ Cells in Mouse Lymph Nodes and Spleen Display Characteristics of Plasmacytoid Dendritic Cells. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 194, n° 8, pp. 1171-1178.
- NESTLE F.O., CONRAD C., TUN-KYI A., HOMEY B., GOMBERT M., BOYMAN O. et al. 2005. Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 202, n° 1, pp. 135-143.
- O'BRIEN M., MANCHES O. et BHARDWAJ N. 2013. Plasmacytoid dendritic cells in HIV infection. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 762, pp. 71-107.
- O'DONNELL R.K., MICK R., FELDMAN M., HINO S., WANG Y., BROSE M.S. et al. 2007. Distribution of dendritic cell subtypes in primary oral squamous cell carcinoma is inconsistent with a functional response. *Cancer Letters*. Vol. 255, n° 1, pp. 145-152.
- OLWEUS J., BITMANSOUR A., WARNKE R., THOMPSON P.A., CARBALLIDO J., PICKER L.J. et al. 1997. Dendritic cell ontogeny: a human dendritic cell lineage of myeloid origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 94, n° 23, pp. 12551-12556.
- ONAI N., KURABAYASHI K., HOSOI-AMAIKE M., TOYAMA-SORIMACHI N., MATSUSHIMA K., INABA K. et al. 2013. A clonogenic progenitor with prominent plasmacytoid dendritic cell developmental potential. *Immunity*. Vol. 38, n° 5, pp. 943-957.
- ONAI N., OBATA-ONAI A., TUSSIWAND R., LANZAVECCHIA A. et MANZ M.G. 2006. Activation of the Flt3 signal transduction cascade rescues and enhances type I interferon-producing and dendritic cell development. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 203, n° 1, pp. 227-238.
- ONOGUCHI K., YONEYAMA M., TAKEMURA A., AKIRA S., TANIGUCHI T., NAMIKI H. et al. 2007. Viral Infections Activate Types I and III Interferon Genes through a Common Mechanism. *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 282, n° 10, pp. 7576-7581.
- OTALI D., STOCKARD C.R., OELSCHLAGER D.K., WAN W., MANNE U., WATTS S.A. et al. 2009. Combined effects of formalin fixation and tissue processing on immunorecognition. *Biotechnic & Histochemistry: Official Publication of the Biological Stain Commission*. Vol. 84, n° 5, pp. 223-247.
- PALAMARA F., MEINDL S., HOLCMANN M., LÜHRS P., STINGL G. et SIBILIA M. 2004. Identification and characterization of pDC-like cells in normal mouse skin and melanomas treated with imiquimod. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 173, n° 5, pp. 3051-3061.

- PANDA S.K., KOLBECK R. et SANJUAN M.A. 2017. Plasmacytoid dendritic cells in autoimmunity. *Current Opinion in Immunology*. Vol. 44, pp. 20-25.
- PASCALE Florentina, PASCALE Florentia, CONTRERAS V., BONNEAU M., COURBET A., CHILMONCZYK S. et al. 2008. Plasmacytoid dendritic cells migrate in afferent skin lymph. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 180, n° 9, pp. 5963-5972.
- PENNA G., VULCANO M., SOZZANI S. et ADORINI L. 2002. Differential migration behavior and chemokine production by myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *Human Immunology*. Vol. 63, n° 12, pp. 1164-1171.
- PERROT I., BLANCHARD D., FREYMOND N., ISAAC S., GUIBERT B., PACHÉCO Y. et al. 2007. Dendritic cells infiltrating human non-small cell lung cancer are blocked at immature stage. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 178, n° 5, pp. 2763-2769.
- PETRI M., WALLACE D.J., SPINDLER A., CHINDALORE V., KALUNIAN K., MYSLER E. et al. 2013. Sifalimumab, a human anti-interferon- $\alpha$  monoclonal antibody, in systemic lupus erythematosus: a phase I randomized, controlled, dose-escalation study. *Arthritis and Rheumatism*. Vol. 65, n° 4, pp. 1011-1021.
- PICONI S., PARISOTTO S., RIZZARDINI G., PASSERINI S., TERZI R., ARGENTERI B. et al. 2011. Hydroxychloroquine drastically reduces immune activation in HIV-infected, antiretroviral therapy-treated immunologic nonresponders. *Blood*. Vol. 118, n° 12, pp. 3263-3272.
- PLUMLEE C.R., LEE C., BEG A.A., DECKER T., SHUMAN H.A. et SCHINDLER C. 2009. Interferons direct an effective innate response to Legionella pneumophila infection. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 284, n° 44, pp. 30058-30066.
- POECK H., WAGNER M., BATTIANY J., ROTHENFUSSER S., WELLISCH D., HORNING V. et al. 2004. Plasmacytoid dendritic cells, antigen, and CpG-C license human B cells for plasma cell differentiation and immunoglobulin production in the absence of T-cell help. *Blood*. Vol. 103, n° 8, pp. 3058-3064.
- PULENDRAN B., BANCHEREAU J., BURKEHOLDER S., KRAUS E., GUINET E., CHALOUNI C. et al. 2000. Flt3-ligand and granulocyte colony-stimulating factor mobilize distinct human dendritic cell subsets in vivo. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 165, n° 1, pp. 566-572.
- RAMOS-VARA J.A. 2005. Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*. Vol. 42, n° 4, pp. 405-426.
- RAMOS-VARA J.A., KIUPEL M., BASZLER T., BLIVEN L., BRODERSEN B., CHELACK B. et al. 2008. Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* Vol. 20, n° 4, pp. 393-413.
- RAMOS-VARA J.A. et MILLER M.A. 2014. When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry--the red, brown, and blue technique. *Veterinary Pathology*. Vol. 51, n° 1, pp. 42-87.

- RANDOLPH G.J., OCHANDO J. et PARTIDA-SÁNCHEZ S. 2008. Migration of dendritic cell subsets and their precursors. *Annual Review of Immunology*. Vol. 26, pp. 293-316.
- RATHINAM C., GEFTERS R., YÜCEL R., BUER J., WELTE K., MÖRÖY T. et al. 2005. The Transcriptional Repressor Gfi1 Controls STAT3-Dependent Dendritic Cell Development and Function. *Immunity*. Vol. 22, n° 6, pp. 717-728.
- REID E., JULEFF N., GUBBINS S., PRENTICE H., SEAGO J. et CHARLESTON B. 2011. Bovine Plasmacytoid Dendritic Cells Are the Major Source of Type I Interferon in Response to Foot-and-Mouth Disease Virus In Vitro and In Vivo<sup>▼</sup>. *Journal of Virology*. Vol. 85, n° 9, pp. 4297-4308.
- REIS E SOUSA C. 2006. Dendritic cells in a mature age. *Nature Reviews. Immunology*. Vol. 6, n° 6, pp. 476-483.
- RISSOAN M.-C., DUHEN T., BRIDON J.-M., BENDRISS-VERMARE N., PÉRONNE C., DE SAINT VIS B. et al. 2002. Subtractive hybridization reveals the expression of immunoglobulin-like transcript 7, Eph-B1, granzyme B, and 3 novel transcripts in human plasmacytoid dendritic cells. *Blood*. Vol. 100, n° 9, pp. 3295-3303.
- ROBBINS S.H., WALZER T., DEMBÉLÉ D., THIBAUT C., DEFAYS A., BESSOU G. et al. 2008. Novel insights into the relationships between dendritic cell subsets in human and mouse revealed by genome-wide expression profiling. *Genome Biology*. Vol. 9, n° 1, pp. R17.
- RÖCK J., SCHNEIDER E., GRÜN J.R., GRÜTZKAU A., KÜPPERS R., SCHMITZ J. et al. 2007. CD303 (BDCA-2) signals in plasmacytoid dendritic cells via a BCR-like signalosome involving Syk, Slp65 and PLCgamma2. *European Journal of Immunology*. Vol. 37, n° 12, pp. 3564-3575.
- ROLLINS-RAVAL M.A., MARAFIOTI T., SWERDLOW S.H. et ROTH C.G. 2013. The number and growth pattern of plasmacytoid dendritic cells vary in different types of reactive lymph nodes: an immunohistochemical study. *Human Pathology*. Vol. 44, n° 6, pp. 1003-1010.
- ROMEO P.-H., LEMARCHANDEL V. et TORDJMAN R. 2002. Neuropilin-1 in the immune system. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 515, pp. 49-54.
- RÖNNBLÖM L., ALM G.V. et ELORANTA M.-L. 2009. Type I interferon and lupus. *Current Opinion in Rheumatology*. Vol. 21, n° 5, pp. 471-477.
- RÖNNBLÖM L., ELORANTA M.-L. et ALM G.V. 2003. Role of natural interferon-alpha producing cells (plasmacytoid dendritic cells) in autoimmunity. *Autoimmunity*. Vol. 36, n° 8, pp. 463-472.
- RÖNNBLÖM L. et PASCUAL V. 2008. The innate immune system in SLE: type I interferons and dendritic cells. *Lupus*. Vol. 17, n° 5, pp. 394-399.
- ROSOLEM M., O. VASCONCELOS R., GARRIDO E., CASTANHEIRA T., MOREIRA P., MAGALHÃES G. et al. 2015. Immunodetection of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in mammary carcinomas of female dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Vol. 35, pp. 906-912.

- RUSINOVA I., FORSTER S., YU S., KANNAN A., MASSE M., CUMMING H. et al. 2013. INTERFEROME v2.0: an updated database of annotated interferon-regulated genes. *Nucleic Acids Research*. Vol. 41, n° Database issue, pp. D1040-D1046.
- SAADEH D., KURBAN M. et ABBAS O. 2016. Update on the role of plasmacytoid dendritic cells in inflammatory/autoimmune skin diseases. *Experimental Dermatology*. Vol. 25, n° 6, pp. 415-421.
- SABADO R.L., O'BRIEN M., SUBEDI A., QIN L., HU N., TAYLOR E. et al. 2010. Evidence of dysregulation of dendritic cells in primary HIV infection. *Blood*. Vol. 116, n° 19, pp. 3839-3852.
- SAITOH T., SATOH T., YAMAMOTO N., UEMATSU S., TAKEUCHI O., KAWAI T. et al. 2011. Antiviral protein Viperin promotes Toll-like receptor 7- and Toll-like receptor 9-mediated type I interferon production in plasmacytoid dendritic cells. *Immunity*. Vol. 34, n° 3, pp. 352-363.
- SAKA H.A. et VALDIVIA R. 2012. Emerging roles for lipid droplets in immunity and host-pathogen interactions. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. Vol. 28, pp. 411-437.
- SALIO M., CELLA M., VERMI W., FACCHETTI F., PALMOWSKI M.J., SMITH C.L. et al. 2003. Plasmacytoid dendritic cells prime IFN-gamma-secreting melanoma-specific CD8 lymphocytes and are found in primary melanoma lesions. *European Journal of Immunology*. Vol. 33, n° 4, pp. 1052-1062.
- SATHALIYAWALA T., O'GORMAN W.E., GRETER M., BOGUNOVIC M., KONJUFCA V., HOU Z.E. et al. 2010. Mammalian target of rapamycin controls dendritic cell development downstream of Flt3 ligand signaling. *Immunity*. Vol. 33, n° 4, pp. 597-606.
- SATHE P., VREMEC D., WU L., CORCORAN L. et SHORTMAN K. 2013. Convergent differentiation: myeloid and lymphoid pathways to murine plasmacytoid dendritic cells. *Blood*. Vol. 121, n° 1, pp. 11-19.
- SAULEP-EASTON D., VINCENT F.B., LE PAGE M., WEI A., TING S.B., CROCE C.M. et al. 2014. Cytokine-driven loss of plasmacytoid dendritic cell function in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. Vol. 28, n° 10, pp. 2005-2015.
- SAWAI C.M., SISIRAK V., GHOSH H.S., HOU E.Z., CERIBELLI M., STAUDT L.M. et al. 2013. Transcription factor Runx2 controls the development and migration of plasmacytoid dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 210, n° 11, pp. 2151-2159.
- SCHEFFLER J.M., SPARBER F., TRIPP C.H., HERRMANN C., HUMENBERGER A., BLITZ J. et al. 2014. LAMTOR2 regulates dendritic cell homeostasis through FLT3-dependent mTOR signalling. *Nature Communications*. Vol. 5, pp. 5138.
- SCHIAVONI G., MATTEI F., SESTILI P., BORGHI P., VENDITTI M., MORSE H.C. et al. 2002. ICSBP is essential for the development of mouse type I interferon-producing cells and for the generation and activation of CD8alpha(+) dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 196, n° 11, pp. 1415-1425.

- SCHLITZER A., HEISEKE A.F., EINWÄCHTER H., REINDL W., SCHIEMANN M., MANTA C.-P. et al. 2012. Tissue-specific differentiation of a circulating CCR9- pDC-like common dendritic cell precursor. *Blood*. Vol. 119, n° 25, pp. 6063-6071.
- SCHLITZER A., LOSCHKO J., MAIR K., VOGELMANN R., HENKEL L., EINWÄCHTER H. et al. 2011. Identification of CCR9- murine plasmacytoid DC precursors with plasticity to differentiate into conventional DCs. *Blood*. Vol. 117, n° 24, pp. 6562-6570.
- SCHMIDT B., ASHLOCK B.M., FOSTER H., FUJIMURA S.H. et LEVY J.A. 2005. HIV-infected cells are major inducers of plasmacytoid dendritic cell interferon production, maturation, and migration. *Virology*. Vol. 343, n° 2, pp. 256-266.
- SCHNURR M., TOY T., SHIN A., HARTMANN G., ROTHENFUSSER S., SOELLNER J. et al. 2004. Role of adenosine receptors in regulating chemotaxis and cytokine production of plasmacytoid dendritic cells. *Blood*. Vol. 103, n° 4, pp. 1391-1397.
- SCHOGGINS J.W., WILSON S.J., PANIS M., MURPHY M.Y., JONES C.T., BIENIASZ P. et al. 2011. A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature*. Vol. 472, n° 7344, pp. 481-485.
- SCHWEITZER B., WILTSHIRE S., LAMBERT J., O'MALLEY S., KUKANSKIS K., ZHU Z. et al. 2000. Immunoassays with rolling circle DNA amplification: a versatile platform for ultrasensitive antigen detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 97, n° 18, pp. 10113-10119.
- SCOTT C.L., SOEN B., MARTENS L., SKRYPEK N., SAELENS W., TAMINAU J. et al. 2016. The transcription factor Zeb2 regulates development of conventional and plasmacytoid DCs by repressing Id2. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 213, n° 6, pp. 897-911.
- SEDAGHAT A.R., GERMAN J., TESLOVICH T.M., COFRANCESCO J., JIE C.C., TALBOT C.C. et al. 2008. Chronic CD4+ T-cell activation and depletion in human immunodeficiency virus type 1 infection: type I interferon-mediated disruption of T-cell dynamics. *Journal of Virology*. Vol. 82, n° 4, pp. 1870-1883.
- SEGURA E., VALLADEAU-GUILEMOND J., DONNADIEU M.-H., SASTRE-GARAU X., SOUMELIS V. et AMIGORENA S. 2012. Characterization of resident and migratory dendritic cells in human lymph nodes. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 209, n° 4, pp. 653-660.
- SEILLET C., LAFFONT S., TRÉMOLLIÈRES F., ROUQUIÉ N., RIBOT C., ARNAL J.-F. et al. 2012. The TLR-mediated response of plasmacytoid dendritic cells is positively regulated by estradiol in vivo through cell-intrinsic estrogen receptor  $\alpha$  signaling. *Blood*. Vol. 119, n° 2, pp. 454-464.
- SHARMA M.D., BABAN B., CHANDLER P., HOU D.-Y., SINGH N., YAGITA H. et al. 2007. Plasmacytoid dendritic cells from mouse tumor-draining lymph nodes directly activate mature Tregs via indoleamine 2,3-dioxygenase. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 117, n° 9, pp. 2570-2582.
- SHARMA M.D., HOU D.-Y., LIU Y., KONI P.A., METZ R., CHANDLER P. et al. 2009. Indoleamine 2,3-dioxygenase controls conversion of Foxp3+ Tregs to TH17-like cells in tumor-draining lymph nodes. *Blood*. Vol. 113, n° 24, pp. 6102-6111.

SHIGEMATSU H., REIZIS B., IWASAKI H., MIZUNO S., HU D., TRAVER D. et al. 2004. Plasmacytoid dendritic cells activate lymphoid-specific genetic programs irrespective of their cellular origin. *Immunity*. Vol. 21, n° 1, pp. 43-53.

SIEGAL F.P., KADOWAKI N., SHODELL M., FITZGERALD-BOCARSLY P.A., SHAH K., HO S. et al. 1999. The Nature of the Principal Type 1 Interferon-Producing Cells in Human Blood. *Science*. Vol. 284, n° 5421, pp. 1835-1837.

SISIRAK V., GANGULY D., LEWIS K.L., COUILLAULT C., TANAKA L., BOLLAND S. et al. 2014. Genetic evidence for the role of plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 211, n° 10, pp. 1969-1976.

SISIRAK V., VEY N., GOUTAGNY N., RENAUDINEAU S., MALFROY M., THYS S. et al. 2013. Breast cancer-derived transforming growth factor- $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  compromise interferon- $\alpha$  production by tumor-associated plasmacytoid dendritic cells. *International Journal of Cancer*. Vol. 133, n° 3, pp. 771-778.

SMIT M.J., VERDIJK P., VAN DER RAAIJ-HELMER E.M.H., NAVIS M., HENSBERGEN P.J., LEURS R. et al. 2003. CXCR3-mediated chemotaxis of human T cells is regulated by a Gi- and phospholipase C-dependent pathway and not via activation of MEK/p44/p42 MAPK nor Akt/PI-3 kinase. *Blood*. Vol. 102, n° 6, pp. 1959-1965.

SOMPURAM S.R., VANI K. et BOGEN S.A. 2006. A molecular model of antigen retrieval using a peptide array. *American Journal of Clinical Pathology*. Vol. 125, n° 1, pp. 91-98.

SORG R.V., KÖGLER G. et WERNET P. 1999. Identification of cord blood dendritic cells as an immature CD11c- population. *Blood*. Vol. 93, n° 7, pp. 2302-2307.

SOZZANI S. 2005. Dendritic cell trafficking: More than just chemokines. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. Vol. 16, n° 6, pp. 581-592.

SOZZANI S., VERMI W., DEL PRETE A. et FACCHETTI F. 2010. Trafficking properties of plasmacytoid dendritic cells in health and disease. *Trends in Immunology*. Vol. 31, n° 7, pp. 270-277.

SPEARS M., MCSHARRY C., DONNELLY I., JOLLY L., BRANNIGAN M., THOMSON J. et al. 2011. Peripheral blood dendritic cell subtypes are significantly elevated in subjects with asthma. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. Vol. 41, n° 5, pp. 665-672.

SPITS H., COUWENBERG F., BAKKER A.Q., WEIJER K. et UITTENBOGAART C.H. 2000. Id2 and Id3 inhibit development of CD34(+) stem cells into predendritic cell (pre-DC)2 but not into pre-DC1. Evidence for a lymphoid origin of pre-DC2. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 192, n° 12, pp. 1775-1784.

SRIVATSAN S., SWIECKI M., OTERO K., CELLA M. et SHAW A.S. 2013. CD2-associated protein regulates plasmacytoid dendritic cell migration, but is dispensable for their development and cytokine production. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 191, n° 12, pp. 5933-5940.

- STARK G.R. et DARNELL J.E. 2012. The JAK-STAT Pathway at Twenty. *Immunity*. Vol. 36, n° 4, pp. 503-514.
- STARY G., BANGERT C., TAUBER M., STROHAL R., KOPP T. et STINGL G. 2007. Tumoricidal activity of TLR7/8-activated inflammatory dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 204, n° 6, pp. 1441-1451.
- STEINMAN R.M., HAWIGER D. et NUSSENZWEIG M.C. 2003. Tolerogenic dendritic cells. *Annual Review of Immunology*. Vol. 21, pp. 685-711.
- STERNBERGER L.A., HARDY P.H., CUCULIS J.J. et MEYER H.G. 1970. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*. Vol. 18, n° 5, pp. 315-333.
- SULLIVAN B.M. et LOCKSLEY R.M. 2009. Basophils: A Nonredundant Contributor to Host Immunity. *Immunity*. Vol. 30, n° 1, pp. 12-20.
- SUMMERFIELD A., AURAY G. et RICKLIN M. 2015. Comparative Dendritic Cell Biology of Veterinary Mammals. *Annual Review of Animal Biosciences*. Vol. 3, n° 1, pp. 533-557.
- SUMMERFIELD A. et MCCULLOUGH K.C. 2009. The porcine dendritic cell family. *Developmental & Comparative Immunology*. Vol. 33, n° 3, pp. 299-309.
- SUN C.-L., ZHANG F.-Z., LI P. et BI L.-Q. 2011. LL-37 expression in the skin in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. Vol. 20, n° 9, pp. 904-911.
- SWIECKI M. et COLONNA M. 2015. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nature Reviews. Immunology*. Vol. 15, n° 8, pp. 471-485.
- TAKAOKA A., HAYAKAWA S., YANAI H., STOIBER D., NEGISHI H., KIKUCHI H. et al. 2003. Integration of interferon-alpha/beta signalling to p53 responses in tumour suppression and antiviral defence. *Nature*. Vol. 424, n° 6948, pp. 516-523.
- TAMURA T., TAILOR P., YAMAOKA K., KONG H.J., TSUJIMURA H., O'SHEA J.J. et al. 2005. IFN regulatory factor-4 and -8 govern dendritic cell subset development and their functional diversity. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 174, n° 5, pp. 2573-2581.
- TANG F., DU Q. et LIU Y.-J. 2010. Plasmacytoid dendritic cells in antiviral immunity and autoimmunity. *Science China. Life Sciences*. Vol. 53, n° 2, pp. 172-182.
- TAUSSIG D.C., PEARCE D.J., SIMPSON C., ROHATINER A.Z., LISTER T.A., KELLY G. et al. 2005. Hematopoietic stem cells express multiple myeloid markers: implications for the origin and targeted therapy of acute myeloid leukemia. *Blood*. Vol. 106, n° 13, pp. 4086-4092.
- TEL J., ANGUILE S., WATERBORG C.E.J., SMITS E.L., FIGDOR C.G. et DE VRIES I.J.M. 2014. Tumoricidal activity of human dendritic cells. *Trends in Immunology*. Vol. 35, n° 1, pp. 38-46.
- TEL J., SCHREIBELT G., SITTIG S.P., MATHAN T.S.M., BUSCHOW S.I., CRUZ L.J. et al. 2013. Human plasmacytoid dendritic cells efficiently cross-present exogenous Ags to CD8+ T cells

despite lower Ag uptake than myeloid dendritic cell subsets. *Blood*. Vol. 121, n° 3, pp. 459-467.

TESTA U., PELOSI E. et FRANKEL A. 2014. CD 123 is a membrane biomarker and a therapeutic target in hematologic malignancies. *Biomarker Research*. Vol. 2, pp. 4.

TIAN J., AVALOS A.M., MAO S.-Y., CHEN B., SENTHIL K., WU H. et al. 2007. Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nature Immunology*. Vol. 8, n° 5, pp. 487-496.

TORDJMAN R., LEPELLETIER Y., LEMARCHANDEL V., CAMBOT M., GAULARD P., HERMINE O. et al. 2002. A neuronal receptor, neuropilin-1, is essential for the initiation of the primary immune response. *Nature Immunology*. Vol. 3, n° 5, pp. 477-482.

TREILLEUX I., BLAY J.-Y., BENDRISS-VERMARE N., RAY-COQUARD I., BACHELOT T., GUASTALLA J.-P. et al. 2004. Dendritic cell infiltration and prognosis of early stage breast cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*. Vol. 10, n° 22, pp. 7466-7474.

TRINCHIERI G. 2010. Type I interferon: friend or foe? *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 207, n° 10, pp. 2053-2063.

TSUJIMURA H., TAMURA T. et OZATO K. 2003. Cutting edge: IFN consensus sequence binding protein/IFN regulatory factor 8 drives the development of type I IFN-producing plasmacytoid dendritic cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 170, n° 3, pp. 1131-1135.

TSUKAMOTO N., OKADA S., ONAMI Y., SASAKI Y., UMEZAWA K. et KAWAKAMI Y. 2009. Impairment of plasmacytoid dendritic cells for IFN production by the ligand for immunoglobulin-like transcript 7 expressed on human cancer cells. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*. Vol. 15, n° 18, pp. 5733-5743.

TUNNICLIFFE D.J., SINGH-GREWAL D., KIM S., CRAIG J.C. et TONG A. 2015. Diagnosis, Monitoring, and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus: A Systematic Review of Clinical Practice Guidelines. *Arthritis Care & Research*. Vol. 67, n° 10, pp. 1440-1452.

UMEMOTO E., OTANI K., IKENO T., VERJAN GARCIA N., HAYASAKA H., BAI Z. et al. 2012. Constitutive plasmacytoid dendritic cell migration to the splenic white pulp is cooperatively regulated by CCR7- and CXCR4-mediated signaling. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. Vol. 189, n° 1, pp. 191-199.

UPHAM J.W., ZHANG G., RATE A., YERKOVICH S.T., KUSEL M., SLY P.D. et al. 2009. Plasmacytoid dendritic cells during infancy are inversely associated with childhood respiratory tract infections and wheezing. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Vol. 124, n° 4, pp. 707- 713.e2.

UZÉ G. et MONNERON D. 2007. IL-28 and IL-29: newcomers to the interferon family. *Biochimie*. Vol. 89, n° 6-7, pp. 729-734.

- VAN DE LAAR L., VAN DEN BOSCH A., BOONSTRA A., BINDA R.S., BUITENHUIS M., JANSSEN H.L.A. et al. 2012. PI3K-PKB hyperactivation augments human plasmacytoid dendritic cell development and function. *Blood*. Vol. 120, n° 25, pp. 4982-4991.
- VAN DE VEN R., VAN DEN HOUT M.F.C.M., LINDENBERG J.J., SLUIJTER B.J.R., VAN LEEUWEN P.A.M., LOUGHEED S.M. et al. 2011. Characterization of four conventional dendritic cell subsets in human skin-draining lymph nodes in relation to T-cell activation. *Blood*. Vol. 118, n° 9, pp. 2502-2510.
- VAN DEN BROEK L.J. et VAN DE VIJVER M.J. 2000. Assessment of problems in diagnostic and research immunohistochemistry associated with epitope instability in stored paraffin sections. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology: AIMM*. Vol. 8, n° 4, pp. 316-321.
- VAN DEN OORD J.J., DE WOLF-PEETERS C. et DESMET V.J. 1986. The composite nodule. A structural and functional unit of the reactive human lymph node. *The American Journal of Pathology*. Vol. 122, n° 1, pp. 83-91.
- VAN EGMOND S., HOEDEMAEKER C. et SINCLAIR R. 2007. Successful treatment of perianal Bowen's disease with imiquimod. *International Journal of Dermatology*. Vol. 46, n° 3, pp. 318-319.
- VEGLIA F. et GABRILOVICH D.I. 2017. Dendritic cells in cancer: the role revisited. *Current Opinion in Immunology*. Vol. 45, pp. 43-51.
- VELÁSQUEZ-LOPERA M.M., CORREA L.A. et GARCÍA L.F. 2008. Human spleen contains different subsets of dendritic cells and regulatory T lymphocytes. *Clinical and Experimental Immunology*. Vol. 154, n° 1, pp. 107-114.
- VELOT E., MESSADDECQ N., WEICKERT J.-L., BIANCHI A. et VENTÉO L. 2011. Évaluation de différentes solutions de décalcification Pour l'étude du cartilage : compatibilité avec les techniques d'histologie, d'immunohistochimie et d'hybridation in situ. *Rev Fr Histotechnol*. Vol. 24, pp. 115-127.
- VERMI W., BONECCHI R., FACCHETTI F., BIANCHI D., SOZZANI S., FESTA S. et al. 2003. Recruitment of immature plasmacytoid dendritic cells (plasmacytoid monocytes) and myeloid dendritic cells in primary cutaneous melanomas. *The Journal of Pathology*. Vol. 200, n° 2, pp. 255-268.
- VERMI W., RIBOLDI E., WITTAMER V., GENTILI F., LUINI W., MARRELLI S. et al. 2005. Role of ChemR23 in directing the migration of myeloid and plasmacytoid dendritic cells to lymphoid organs and inflamed skin. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 201, n° 4, pp. 509-515.
- VILLADANGOS J.A. et YOUNG L. 2008. Antigen-presentation properties of plasmacytoid dendritic cells. *Immunity*. Vol. 29, n° 3, pp. 352-361.
- VILLANI A.-C., SATIJA R., REYNOLDS G., SARKIZOVA S., SHEKHAR K., FLETCHER J. et al. 2017. Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors. *Science (New York, N.Y.)*. Vol. 356, n° 6335.

- VOGT T.K., LINK A., PERRIN J., FINKE D. et LUTHER S.A. 2009. Novel function for interleukin-7 in dendritic cell development. *Blood*. Vol. 113, n° 17, pp. 3961-3968.
- VOLLENWEIDER R. et LENNERT K. 1983. Plasmacytoid T-cell clusters in non-specific lymphadenitis. *Virchows Archiv B*. Vol. 44, n° 1, pp. 1.
- WALLER E.K., ROSENTHAL H., JONES T.W., PEEL J., LONIAL S., LANGSTON A. et al. 2001. Larger numbers of CD4(bright) dendritic cells in donor bone marrow are associated with increased relapse after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. Vol. 97, n° 10, pp. 2948-2956.
- WANG J., LAU K.-Y., JUNG J., RAVINDRAN P. et BARRAT F.J. 2014. Bruton's tyrosine kinase regulates TLR9 but not TLR7 signaling in human plasmacytoid dendritic cells. *European Journal of Immunology*. Vol. 44, n° 4, pp. 1130-1136.
- WANG Y.-H. et LIU Y.-J. 2004. Mysterious origin of plasmacytoid dendritic cell precursors. *Immunity*. Vol. 21, n° 1, pp. 1-2.
- WASKOW C., LIU K., DARRASSE-JÈZE G., GUERMONPREZ P., GINHOUX F., MERAD M. et al. 2008. FMS-like tyrosine kinase 3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues. *Nature immunology*. Vol. 9, n° 6, pp. 676-683.
- WEBSTER J.D., MILLER M.A., DUSOLD D. et RAMOS-VARA J. 2010. Effects of prolonged formalin fixation on the immunohistochemical detection of infectious agents in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Veterinary Pathology*. Vol. 47, n° 3, pp. 529-535.
- WENDLAND M., CZELOTH N., MACH N., MALISSEN B., KREMMER E., PABST O. et al. 2007. CCR9 is a homing receptor for plasmacytoid dendritic cells to the small intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 104, n° 15, pp. 6347-6352.
- WENZEL J., WÖRENKÄMPER E., FREUTEL S., HENZE S., HALLER O., BIEBER T. et al. 2005. Enhanced type I interferon signalling promotes Th1-biased inflammation in cutaneous lupus erythematosus. *The Journal of Pathology*. Vol. 205, n° 4, pp. 435-442.
- WERNER M., CHOTT A., FABIANO A. et BATTIFORA H. 2000. Effect of Formalin Tissue Fixation and Processing on Immunohistochemistry. *The American Journal of Surgical Pathology*. Vol. 24, n° 7, pp. 1016.
- WESTER K., WAHLUND E., SUNDSTRÖM C., RANEFALL P., BENGTSSON E., RUSSELL P.J. et al. 2000. Paraffin section storage and immunohistochemistry. Effects of time, temperature, fixation, and retrieval protocol with emphasis on p53 protein and MIB1 antigen. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology: AIMM*. Vol. 8, n° 1, pp. 61-70.
- WIEDORN K.H., GOLDMANN T., HENNE C., KÜHL H. et VOLLMER E. 2001. EnVision+, a New Dextran Polymer-based Signal Enhancement Technique for In Situ Hybridization (ISH). *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. Vol. 49, n° 9, pp. 1067-1071.
- WILLIAMS J.H., MEPHAM B.L. et WRIGHT D.H. 1997. Tissue preparation for immunocytochemistry. *Journal of Clinical Pathology*. Vol. 50, n° 5, pp. 422-428.

- WOLTMAN A.M., DE FIJTER J.W., ZUIDWIJK K., VLUG A.G., BAJEMA I.M., VAN DER KOOIJ S.W. et al. 2007. Quantification of dendritic cell subsets in human renal tissue under normal and pathological conditions. *Kidney International*. Vol. 71, n° 10, pp. 1001-1008.
- WOODCOCK J.M., BAGLEY C.J., ZACHARAKIS B. et LOPEZ A.F. 1996. A single tyrosine residue in the membrane-proximal domain of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin (IL)-3, and IL-5 receptor common beta-chain is necessary and sufficient for high affinity binding and signaling by all three ligands. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 271, n° 42, pp. 25999-26006.
- WOODCOCK J.M., MCCLURE B.J., STOMSKI F.C., ELLIOTT M.J., BAGLEY C.J. et LOPEZ A.F. 1997. The human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) receptor exists as a preformed receptor complex that can be activated by GM-CSF, interleukin-3, or interleukin-5. *Blood*. Vol. 90, n° 8, pp. 3005-3017.
- WOZNIACKA A. et MCCAULIFFE D.P. 2005. Optimal use of antimalarials in treating cutaneous lupus erythematosus. *American Journal of Clinical Dermatology*. Vol. 6, n° 1, pp. 1-11.
- WU L., NICHOGIANNPOULOU A., SHORTMAN K. et GEORGOPOULOS K. 1997. Cell-autonomous defects in dendritic cell populations of Ikaros mutant mice point to a developmental relationship with the lymphoid lineage. *Immunity*. Vol. 7, n° 4, pp. 483-492.
- WU L. et SHORTMAN K. 2005. Heterogeneity of thymic dendritic cells. *Seminars in Immunology*. Vol. 17, n° 4, pp. 304-312.
- WU P., WU J., LIU S., HAN X., LU J., SHI Y. et al. 2008. TLR9/TLR7-triggered downregulation of BDCA2 expression on human plasmacytoid dendritic cells from healthy individuals and lupus patients. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*. Vol. 129, n° 1, pp. 40-48.
- WU X., SATPATHY A.T., KC W., LIU P., MURPHY T.L. et MURPHY K.M. 2013. Bcl11a controls Flt3 expression in early hematopoietic progenitors and is required for pDC development in vivo. *PloS One*. Vol. 8, n° 5, pp. e64800.
- WURBEL M.-A., MCINTIRE M.G., DWYER P. et FIEBIGER E. 2011. CCL25/CCR9 interactions regulate large intestinal inflammation in a murine model of acute colitis. *PloS One*. Vol. 6, n° 1, pp. e16442.
- YANG L.-M., XUE Q.-H., SUN L., ZHU Y.-P. et LIU W.-J. 2007. Cloning and characterization of a novel feline IFN-omega. *Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. Vol. 27, n° 2, pp. 119-127.
- YANG M., YANG L., WANG X., WANG Y., WEI Y. et ZHAO Y. 2015. Decline of Plasmacytoid Dendritic Cells and Their Subsets in Normal Pregnancy Are Related with Hormones. *The Journal of Reproductive Medicine*. Vol. 60, n° 9-10, pp. 423-429.
- YONEYAMA H., MATSUNO K., TODA E., NISHIWAKI T., MATSUO N., NAKANO A. et al. 2005. Plasmacytoid DCs help lymph node DCs to induce anti-HSV CTLs. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 202, n° 3, pp. 425-435.

- YONEYAMA H., MATSUNO K., ZHANG Y., NISHIWAKI T., KITABATAKE M., UEHA S. et al. 2004. Evidence for recruitment of plasmacytoid dendritic cell precursors to inflamed lymph nodes through high endothelial venules. *International Immunology*. Vol. 16, n° 7, pp. 915-928.
- YU Y., WANG J., KHALED W., BURKE S., LI P., CHEN X. et al. 2012. Bcl11a is essential for lymphoid development and negatively regulates p53. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 209, n° 13, pp. 2467-2483.
- ZAHN S., GRAEF M., PATSINAKIDIS N., LANDMANN A., SURBER C., WENZEL J. et al. 2014. Ultraviolet light protection by a sunscreen prevents interferon-driven skin inflammation in cutaneous lupus erythematosus. *Experimental Dermatology*. Vol. 23, n° 7, pp. 516-518.
- ZHANG Q., QIAN F., ZHOU L., WEI G., WANG Y., HU Z. et al. 2009. Polymorphisms of TLR7 and TLR8 associated with risk of asthma and asthma-related phenotypes in a southeastern Chinese Han population. *Journal of Nanjing Medical University*. Vol. 23, n° 1, pp. 25-32.
- ZHONG X.B., LIZARDI P.M., HUANG X.H., BRAY-WARD P.L. et WARD D.C. 2001. Visualization of oligonucleotide probes and point mutations in interphase nuclei and DNA fibers using rolling circle DNA amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 98, n° 7, pp. 3940-3945.
- ZHOU H., HUANG X., CUI H., LUO X., TANG Y., CHEN S. et al. 2010. miR-155 and its star-form partner miR-155\* cooperatively regulate type I interferon production by human plasmacytoid dendritic cells. *Blood*. Vol. 116, n° 26, pp. 5885-5894.
- ZIEGLER A., MARTI E., SUMMERFIELD A. et BAUMANN A. 2016. Identification and characterization of equine blood plasmacytoid dendritic cells. *Developmental and Comparative Immunology*. Vol. 65, pp. 352-357.
- ZOU W., MACHELON V., COULOMB-L'HERMIN A., BORVAK J., NOME F., ISAEVA T. et al. 2001. Stromal-derived factor-1 in human tumors recruits and alters the function of plasmacytoid precursor dendritic cells. *Nature Medicine*. Vol. 7, n° 12, pp. 1339-1346.
- ZWEIER C., PEIPPO M.M., HOYER J., SOUSA S., BOTTANI A., CLAYTON-SMITH J. et al. 2007. Haploinsufficiency of TCF4 Causes Syndromal Mental Retardation with Intermittent Hyperventilation (Pitt-Hopkins Syndrome). *The American Journal of Human Genetics*. Vol. 80, n° 5, pp. 994-1001.



## Annexes

### Annexe 1 : protocole de marquage des échantillons

Etape	Durée
Solution OTTIX PLUS ND	Trois passages de 10'
Solution OTTIX SHAPER ND	3'
Alcool	2'
Tampon phosphaté salin (PBS)	Deux passages de 5'
Tampon citraté pH 6 placé dans un bain-marie à 95°C	20'
Tampon citraté pH 6 placé dans un bain-marie à 15°C	20'
PBS	10'
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30%	10'
PBS	10'
Solution d'anticorps bloquant	30'
Retrait de l'excès de solution	N/A
Application de l'anticorps primaire (selon Table X)	60'
PBS	10'
Anticorps secondaire	30'
PBS	10'
Solution avidine-biotine « ABC »	30'
PBS	10'
Solution Peroxydase Vector NovaRED (HRP)	5'
Solution d'hématoxyline éosine (Ematox ND) 50%	10''
Alcool 70°	1'
OTTIX SHAPER ND	1'
OTTIX PLUS ND	Trois passages de 5'
Séchage à l'étuve – T = 50°C	180'





**IDEE Adrien**

**CARACTERISATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES CELLULES DENDRITIQUES PLASMACYTOIDES CHEZ LE CHIEN**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 30 octobre 2018

**RESUME :**

Les cellules dendritiques plasmacytoïdes sont des cellules de morphologie ronde, retrouvées en petite quantité dans le sang, la moelle osseuse, les organes lymphoïdes primaires et secondaires, et les tissus inflammés ou tumoraux.

Elles incarnent des actrices majeures de l'immunité, notamment antivirale, par leur capacité inégalée à produire des interférons de type I. Elles interviennent également dans l'autoimmunité, la prévention et la progression tumorale, et la progression de certaines infections.

Notre étude porte sur le marquage immunohistochimique de ces cellules par l'intermédiaire des marqueurs IL-3R $\alpha$  (CD123) et BDCA-2 (CD303) sur des organes lymphoïdes paraffinés de chiens. Nous avons mis en évidence un marquage spécifique par les deux marqueurs, compatible avec des cellules dendritiques plasmacytoïdes, sur un échantillon de nœud lymphatique axillaire dans un contexte de carcinome des glandes eccrines du doigt.

Ces résultats appuient la rareté des cellules dendritiques plasmacytoïdes et confirment le phénotype CD303<sup>+</sup> de ces cellules chez le chien.

**MOTS CLES :**

- Chien
- Cellules dendritiques
- Immunocytochimie

**JURY :**

Président : Monsieur le Professeur Jean-Yves BLAY  
1er Assesseur : Madame le Professeur Sara BELLUCO  
2ème Assesseur : Monsieur le Professeur Didier PIN

**DATE DE SOUTENANCE :** 30 octobre 2018