m/s SYNTHÈSE

médecine/sciences 2001 ; 17 : 465-74

Les cellules dendritiques cutanées humaines

Anne Bouloc

Les cellules dendritiques de la peau, qu'il s'agisse des cellules de Langerhans ou des dendrocytes du derme, cellules plus récemment caractérisées, ont une fonction essentielle de sentinelles du système immunitaire. Ces cellules, « présentatrices d'antigènes » professionnelles, jouent un rôle-clé dans le déclenchement des réponses immunitaires. Elles sont capables de stimuler des lymphocytes T naïfs CD4$^+$ ou CD8$^+$. Elles peuvent aussi entraîner des réponses immunitaires secondaires et la prolifération de lymphocytes T mémoires. Situées à l'interface avec le milieu extérieur, les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques du derme sont aptes à réagir aux perturbations de l'homéostasie de divers agents, qu'ils soient physiques, chimiques, biologiques ou immunologiques. Il est très important de caractériser des sous-populations de cellules dendritiques, afin de pouvoir déboucher sur la délimitation de sous-populations fonctionnelles.

Les cellules dendritiques constituent un groupe hétérogène de cellules ayant pour origine des précurseurs médullaires CD34$^+$. Elles sont présentes dans les tissus lymphoïdes et non lymphoïdes ainsi que dans la circulation sanguine et lymphatique, et les cellules des différents tissus sont en connexion grâce à leurs propriétés migratrices. Leur phénotype varie selon leur localisation anatomique.

Les cellules de Langerhans

En raison de leur accessibilité, ce sont les cellules des tissus non lymphoïdes les mieux étudiées. Ces cellules, décrites initialement par Paul Langerhans en 1868, sont localisées au niveau des cellules basales et suprabasales de l'épiderme. Elles représentent 2 à 4 % des cellules épidermiques, et couvrent la totalité de la surface épidermique en formant un réseau par l'intermédiaire de leurs dendrites. Leur densité varie entre 300 et 900 / mm^2.

Origine

L'origine médullaire de la cellule de Langerhans a été démontrée chez la souris puis chez l'homme. Des femmes ayant reçu une greffe de moelle osseuse issue de donneurs masculins possèdent des cellules de Langerhans avec un chromosome Y.

ADRESSE

A. Bouloc : Inserm U. 448, Service de dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, 51, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil Cedex, France.

Les cellules de Langerhans dérivent d'un précurseur myéloïde commun aux cellules monocytaires et aux cellules dendritiques. Les travaux rapportant la possibilité de différencier *in vitro* des précurseurs $CD34^+$ de la moelle osseuse ou du sang de cordon en cellules dendritiques ont permis de mieux préciser l'origine et le développement des cellules de Langerhans. Les cellules de Langerhans dérivent de précurseurs médullaires $CD34^+$, qui passent dans la circulation sanguine et traversent la matrice extracellulaire jusqu'à l'épiderme. Au cours de cette migration, les précurseurs se différencient et acquièrent les caractéristiques des cellules de Langerhans. Certaines étapes ne sont pas complètement caractérisées et les mécanismes responsables du tropisme cutané de ces précurseurs sont encore inconnus.

Phénotype *in situ* et en cytométrie de flux

Les cellules de Langerhans ont un noyau plurilobé entouré d'un cytoplasme clair dépourvu de tonofilaments, de mélanosomes et de desmosomes. Elles sont caractérisées par la présence des granules de Birbeck, visibles uniquement en microscopie électronique, constitués de l'accolement de deux membranes entre lesquelles se trouvent des particules opaques aux électrons, ce qui leur confère l'aspect d'un bâtonnet strié, ou d'une raquette de tennis *(figure 1)*. Les granules de Birbeck, qui n'ont été détectés que dans les cellules de Langerhans, permettent d'identifier formellement ces cellules. Ils pourraient correspondre à des structures d'origine membranaire impliquées dans le transport intracellulaire [1] et jouer un rôle dans l'apprêtement des molécules immunogéniques internalisées [2]. Cependant, l'implication des granules de Birbeck dans la fonction des cellules de Langerhans n'est pas certaine. En effet, le cas d'un patient ayant des cellules de Langerhans dépourvues de granules de Birbeck, aux fonctions normales, a été rapporté [3].

L'expression constitutive des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II) permet de différencier les cellules de Langerhans des autres cellules épidermiques. Ce sont, en effet, les seules cellules de la peau normale à exprimer les molécules du CMH de classe II. Toutefois, les kératinocytes d'un épiderme dans lequel se développe un processus inflammatoire chronique (par exemple, dermite de contact allergique, maladie du greffon contre l'hôte, lymphome cutané) peuvent aussi exprimer les molécules de classe II.

Les cellules de Langerhans humaines expriment le marqueur CD1a, molécule qui présente une analogie avec les molécules du CMH de classe I et qui est associée de manière non covalente à la β2-microglobuline *(figure 2)*. La présence de granules de Birbeck dans les cellules de Langerhans humaines peut être détectée grâce à l'anticorps Lag *(Langerhans associated granules)* qui reconnaît des protéines associées à ces granules [4] ou avec des anticorps anti-langérine, molécule récemment caractérisée, présente dans les granules de Birbeck

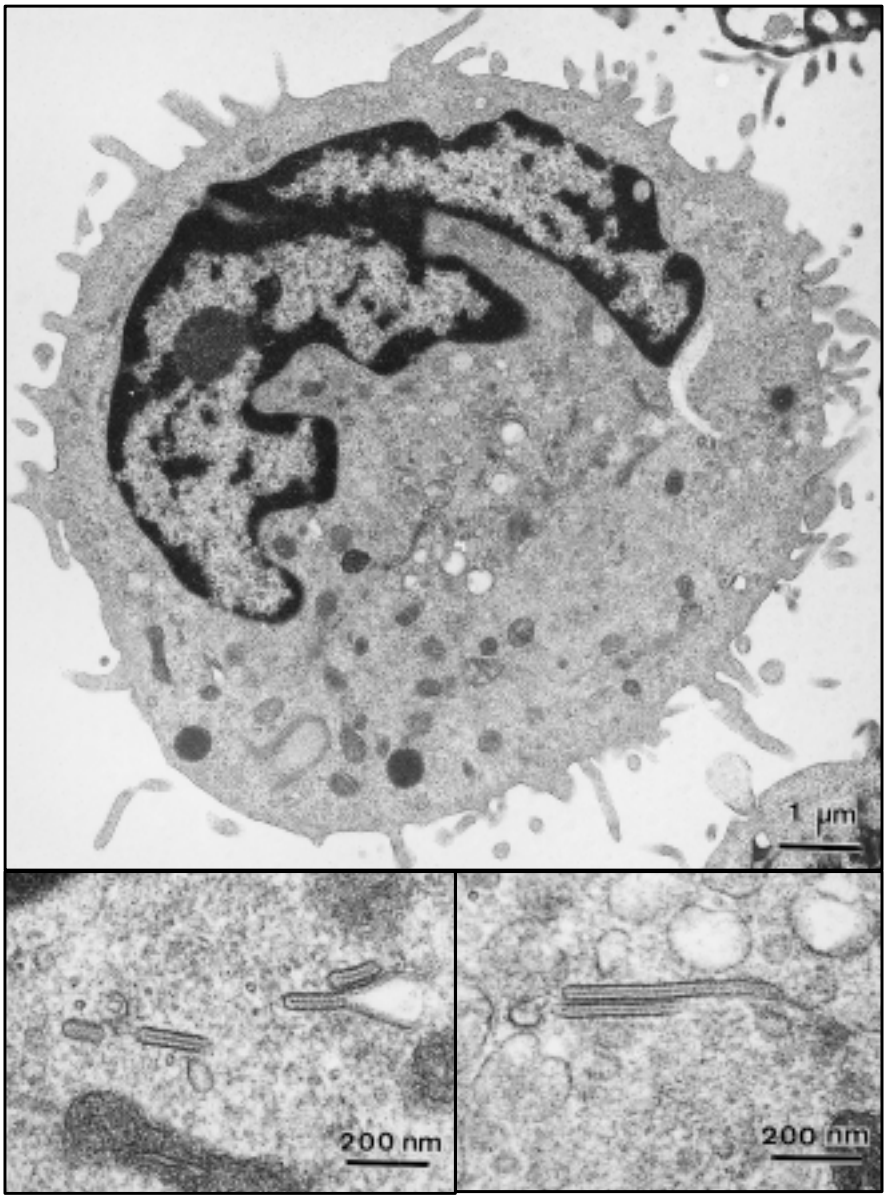

Figure 1. ***Microscopie électronique d'une cellule de Langerhans avec visualisation des granules de Birbeck*** *(illustration gracieusement fournie par le Dr Colette Dezutter-Dambuyant et le Dr Schmitt, Inserm U. 346).*

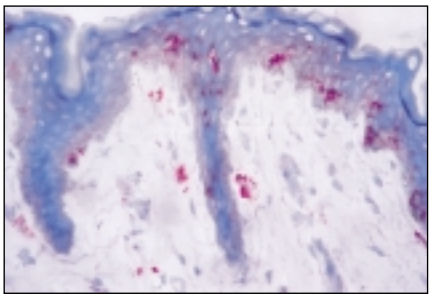

Figure 2. ***Immunomarquage avec un anticorps anti-CD1a d'une coupe de peau normale.*** *On note la présence de cellules CD1a⁺ (coloration rouge) en position suprabasale dans l'épiderme et dans le derme.*

[5]. Les cellules de Langerhans sont marquées par un anticorps dirigé contre la protéine S100 [6]. La forte expression des molécules CD1a et des molécules de classe II, associée à la présence de granules de Birbeck et de protéine S100, a permis jusqu'à récemment l'identification formelle des cellules de Langerhans. La disponibilité des anticorps anti-langérine est précieuse car leur utilisation devrait éviter d'avoir recours aux techniques de microscopie électronique.

D'autres molécules sont présentes à la surface des cellules de Langerhans *(Tableau I)*. Elles expriment des molécules d'adhérence, impliquées dans les phénomènes de mobilité, comme des molécules d'E-cadhérine qui assurent la cohésion avec les kératinocytes au niveau de l'épiderme, grâce à des liaisons homophiliques avec les molécules d'E-cadhérine kératinocytaires [7]. L'expression de l'E-cadhérine diminue en culture, et l'E-cadhérine paraît jouer un rôle dans la migration des cellules de Langerhans. Les cellules de Langerhans expriment également les molécules de la superfamille des intégrines telles que CD11b/CD18, CD11c/CD18 ainsi que d'autres membres de cette superfamille [8]. Les récepteurs de la laminine (intégrines $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$) et les récepteurs de la fibronectine (intégrine $\alpha 6\beta 1$) sont également présents. D'autres molécules d'adhérence distinctes de la famille des intégrines ou des cadhérines, qui sont impliquées dans la fonction de présentation antigénique, sont présentes à la surface des cellules de Langerhans. Il s'agit de CD54 (ICAM-1), CD50 (ICAM-3), CD58 (LFA-3), CD102 (ICAM-3) [9]. Ces molécules ont un rôle essentiel dans les interactions des cellules de Langerhans avec les lymphocytes T du fait de la présence de leurs ligands respectifs CD11a/CD18 (pour CD50, CD54, CD102), CD2 (pour CD58), sur les lymphocytes T. De même, les molécules CD80 (B7-1) et CD86 (B7-2), molécules indispensables à la stimulation de la prolifération lymphocytaire T dont les ligands CD28 et CTLA4 sont présents sur les lymphocytes T, ont été mises en évidence sur les cellules de Langerhans. L'expression de CD80 est induite en culture, alors que celle de CD86 est constitutive et réglée de façon positive en culture [10].

Les cellules de Langerhans expriment des récepteurs pour différentes cytokines [11]. Fraîchement isolées, elles expriment les récepteurs de l'IL-1 (CD121a, et CD121b), de l'IL-6, du TNF *(tumor necrosis factor)* de type 2 (CD120b), de l'IFN-γ (CD119) ainsi que la chaîne α (dans 80 % des cas) et la chaîne β (dans 15 % des cas) du récepteur du GM-CSF *(granulocyte-macrophage colony stimulating factor)* (CD116 et CD131). En culture, elles

Tableau I. Caractéristiques phénotypiques des cellules de Langerhans humaines fraîchement isolées et activées, après 2 à 3 jours en culture.

	CL fraîches	CL activées
granules de Birbeck (Lag)	+++	+/–
CMH classe I	+	++
CMH classe II	++	+++
CD1a	+++	+
CD1c	+	–
CD3	–	–
CD4	+	+
CD8	–	–
CD14	–	–
CD15	–	–
CD19	–	–
CD20	–	–
CD45	+	+
FcεRI	+	–
FcγRI (CD64)	–	–
FcγRII (CD32)	+	–
FcγRIII (CD16)	–	–
β1 intégrines	+ /++	+ /++
CD44	+	++
E-cadhérine	++	+/–
CLA	+	+/++
CD24	–	++
CD40	+/–	+
CD54	+/–	++
CD58	+	++
CD69	+	–
CD80	–	+
CD86	+	++
M-CSF R (CD115)	–	–
GM-CSF Rα (CD116)	+	++
GM-CSF Rβ (CD131)	+/–	++
TNF-RII (CD120b)	+	+/–
IL-1 RI (CD121a)	+	+/–
IL-1 RII (CD121b)	+	++
IL-2 Rα (CD25)	–	++
IL-2 Rβ (CD122)	–	+
IFN-γ R (CD119)	+	+
CXCR4	+/–	+
CCR5	+	+/–
CCR6	+	–
CCR7	–	+

expriment en outre les chaînes α et β du récepteur de l'IL-2 (CD25 et CD122). Les cellules de Langerhans expriment aussi des récepteurs des chimiokines CXCR4 et CCR5 [12].

Maturation phénotypique et fonctionnelle

Les cellules de Langerhans passent par deux étapes de maturation. La première correspond à la différenciation du précurseur médullaire en une cellule de Langerhans immature très efficace dans le captage et l'apprêtement antigénique. La seconde correspond à la différenciation d'une cellule dendritique immature en une cellule dendritique mûre, efficace dans la fonction de présentation antigénique. Cette notion de maturation a été mise en évidence dans les cultures *in vitro* de cellules de Langerhans et *in vivo* après application cutanée d'un haptène.

Les cellules de Langerhans épidermiques acquièrent les caractéristiques phénotypiques des cellules dendritiques lymphoïdes après une culture de 2-3 jours *in vitro (Tableau I)*. Les cellules de Langerhans cultivées augmentent de taille, et ont une morphologie dendritique plus marquée que les cellules fraîchement isolées de l'épiderme [9]. Une augmentation de l'expression des molécules du CMH de classe I et II a été constatée. Les cellules humaines cultivées présentent une diminution du nombre de granules de Birbeck et de l'expression de CD1a [9]. On observe aussi la perte des récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines. L'expression de l'E-cadhérine, molécule d'adhérence qui intervient dans la cohésion avec les kératinocytes, est diminuée [7]. Le processus de maturation est associé à une augmentation d'expression des molécules de co-stimulation : CD80, CD86, CD54, CD58, CD40 [9, 10].

Outre les modifications phénotypiques, il existe des modifications fonctionnelles avec une fonction présentatrice d'antigène accrue. L'ensemble de ces données suggère que les cellules de Langerhans après 3 jours de culture représentent un équivalent *in vitro* de cellules de Langerhans ayant migré jusqu'aux ganglions lymphatiques.

Des cytokines pro-inflammatoires et des produits bactériens comme le TNF-α, l'IL-1, les lipopolysaccharides, peuvent également stimuler la maturation fonctionnelle des cellules dendritiques, y compris celle des cellules de Langerhans, en induisant une réorganisation du cytosquelette qui a pour conséquence l'élongation des dendrites et l'acquisition de la migration. Les molécules du CMH de classe II sont redistribuées à la surface ; il y a perte progressive de l'activité d'endocytose et acquisition de la capacité d'entraîner une réponse allogénique.

Cellules dendritiques du derme

Les cellules dendritiques dans le derme ont plus récemment été caractérisées. Une population de cellules de morphologie dendritique, exprimant des molécules du CMH de classe II, distincte des cellules endothéliales, a été décrite principalement au voisinage des capillaires dermiques. Différentes techniques d'isolement ont été développées afin de permettre l'étude des cellules dendritiques du derme [13-15]. Ces cellules ne forment pas un groupe homogène et semblent comprendre des cellules résidentes et des cellules en transit. Elles pourraient être des précurseurs de cellules de Langerhans en route vers l'épiderme ou encore des cellules de Langerhans ayant quitté l'épiderme en route vers les ganglions lymphatiques drainants.

Caractéristiques ultrastructurales

Les cellules dendritiques du derme possèdent des prolongements cytoplasmiques fins et nombreux. En microscopie électronique, elles ont les caractéristiques de cellules métaboliquement actives avec des mitochondries abondantes, un appareil de Golgi bien visible, des lysosomes, des phagolysosomes et un réticulum endoplasmique développé. Elles ont un noyau plurilobé et ne possèdent pas *in vivo* de granules de Birbeck. Cependant, la présence de granules de Birbeck a été rapportée dans des cellules dendritiques du derme en culture. Il a donc été suggéré que les cellules dendritiques dermiques peuvent acquérir certaines des caractéristiques des cellules de Langerhans épidermiques sous l'action de certains stimulus.

Phénotype en cytométrie de flux

Le phénotype des cellules dendritiques du derme a été étudié sur des cellules migrant hors d'explants dermiques, en culture pendant 2 à 5 jours et correspondant donc à des cellules mûres [13, 15], ou sur des suspensions de cellules dermiques [14]. Certains marqueurs de surface semblent spécifiques du micro-environnement dermique. D'autres sont en revanche communs à toutes les cellules du système dendritique.

Les cellules dendritiques du derme expriment fortement les molécules du CMH de classe II. Cette expression constitutive des molécules du CMH de classe II ne permet pas de les différencier des autres cellules dermiques. En effet, les macrophages et certaines cellules endothéliales peuvent exprimer les molécules du CMH de classe II dans la peau normale.

Les cellules dendritiques du derme expriment le marqueur CD1a plus faiblement que les cellules de Langerhans *(figure 2)*. Trois sous-populations de cellules dendritiques ont été mises en évidence dans les proportions suivantes : 65-70 % des cellules n'expriment ni le CD1a ni le CD14, 15-23 % des cellules expriment le CD1a mais pas le CD14, 10-15 % des cellules expriment le CD14 mais pas le CD1a [15].

Les cellules dendritiques du derme ne possèdent pas de granules de Birbeck *in vivo* et ne sont donc pas marquées par l'anticorps Lag. Elles sont en revanche fortement marquées par un anticorps anti-CD36, alors que les cellules de Langerhans ne le sont pas. Elles expriment aussi spécifiquement le facteur de coagulation XIIIa [15].

Les cellules dendritiques cutanées expriment, comme toutes les cellules nucléées, les molécules du CMH de classe I. Comme toutes les cellules dendritiques, elles expriment la molécule CD45 et la molécule CD33 traduisant leur origine myéloïde. Elles n'expriment pas les marqueurs de lignées CD3, CD8, CD14, CD68, CD19, CD20. Elles expriment des molécules impliquées dans la fonc-

tion de présentation antigénique telles que CD11b/CD18, CD11c/CD18, CD54 (ICAM-1), CD58 (LFA-3), CD40, CD80 et CD86. Une petite partie des cellules dendritiques du derme possède un phénotype activé $CD83^+$-$CMRF\text{-}44^+$, correspondant à un stade plus différencié. Ces cellules semblent être en contact étroit avec les lymphocytes T, ce qui suggère l'existence de communications intercellulaires précoces en réponse à un antigène cutané [16].

Propriétés de présentation et de migration des cellules dendritiques cutanées

Les cellules de Langerhans humaines, fraîches ou cultivées, présentent des fonctions d'apprêtement similaires [17]. Les cellules dendritiques du derme sont aussi capables d'apprêter et de présenter des protéines antigéniques solubles [18].

Les cellules dendritiques cutanées peuvent internaliser les antigènes par phagocytose, macropinocytose et endocytose. Les cellules de Langerhans expriment des récepteurs d'endocytose incluant les récepteurs des fragments Fc des immunoglobulines G et E, les récepteurs du complément comme le CD11b/CD18. Plusieurs travaux utilisant des anticorps monoclonaux mimant des ligands ont montré que ces cellules sont capables d'utiliser les voies d'endocytose [1, 19]. Cependant, les cellules de Langerhans ne paraissent pas utiliser les voies d'endocytose relayées par les récepteurs du mannose [20]. Les antigènes exogènes internalisés dans les cellules dendritiques sont dirigés sur les voies de présentation des molécules du système d'histocompatibilité de classe II. Ils sont dégradés dans les endosomes et assemblés avec les molécules du CMH de classe II. Les antigènes endogènes synthétisés par les cellules présentatrices d'antigènes, comme les protéines virales, les antigènes tumoraux ou les protéines endogènes, sont dégradés dans le cytosol et dirigés sur les voies de présentation des molécules du système d'histocompatibilité de classe I.

Pour induire une réponse immunitaire, les cellules dendritiques doivent quitter la peau afin de gagner les ganglions lymphatiques où s'effectue la présentation de l'antigène aux lymphocytes T naïfs. Les mécanismes mis en jeu pour permettre la migration des cellules dendritiques restent à élucider. La motilité des cellules dépend de leur capacité de s'attacher et de changer de forme, en réponse aux composants de la matrice extracellulaire et aux cellules environnantes. La migration implique des contacts successifs avec différents types cellulaires (cellules épidermiques, cellules endothéliales, cellules lymphoïdes) et avec les protéines de la matrice extracellulaire.

Le contact entre un haptène et la cellule de Langerhans paraît constituer le stimulus initial entraînant la migration des cellules [21]. Toutes les cellules de Langerhans ne quittent pas l'épiderme même après un stimulus antigénique puissant. Le TNF-α semble être un co-facteur important dans l'induction de leur migration [22].

La migration met aussi en jeu des modifications des molécules de surface telles que les intégrines, des cadhérines comme l'E-cadhérine et des récepteurs des chimiokines. Les intégrines $\alpha5\beta1$ et $\alpha6\beta1$ sont impliquées dans la migration des cellules de Langerhans, car des anticorps dirigés contre ces molécules inhibent la migration cellulaire [21]. L'antigène CLA, exprimé par les cellules de Langerhans de l'épiderme, pourrait également constituer un récepteur de *homing* cutané [23]. Les travaux portant sur la production de cellules dendritiques *in vitro* ont montré que la sous-population de précurseurs $CD34^+$ CLA^+ engendre des cellules de type Langerhans [24].

Des expériences de double adhérence réalisées *in vitro* ont permis de démontrer que le contact des cellules de Langerhans avec les composants de la membrane basale (laminine, collagène IV) était suivi d'une adhérence aux protéines de la matrice extracellulaire dermique, alors que l'adhérence à la laminine était réduite après un premier contact avec les composants du derme (collagène I, fibronectine). Ces résultats suggèrent que les capacités d'adhérence des cellules de Langerhans ayant migré dans le derme sont modifiées afin que les cellules ne puissent pas regagner l'épiderme [25]. L'interaction des cellules de Langerhans avec les composants de la matrice extracellulaire induit rapidement des changements phénotypiques – augmentation de l'expression des molécules du CMH de classe II, diminution du nombre de granules de Birbeck et de l'expression de CD1a – témoignant de la maturation des cellules.

Ces propriétés de migration ont été utilisées pour isoler des cellules dendritiques de la peau à partir d'explants cutanés [26]. Cette technique permet d'obtenir une population très enrichie en cellules dendritiques cutanées, ce qui constitue un avantage par rapport à la technique d'isolement des cellules de Langerhans à partir de l'épiderme. Après un minimum de 18 heures d'incubation, les cellules dendritiques migrent spontanément à partir d'explants cutanés mis à flotter dans du milieu de culture. Les cellules obtenues ont une morphologie dendritique marquée et un phénotype de cellules mûres.

Production des cellules dendritiques in vitro

En 1992, ont été publiés les premiers travaux rapportant la possibilité de différencier *in vitro* des précurseurs $CD34^+$ de la moelle osseuse ou du sang de cordon en cellules dendritiques. Du fait de la difficulté d'isolement des cellules dendritiques cutanées et du faible nombre habituellement obtenu, la possibilité d'obtenir *in vitro* en grande quantité des cellules dendritiques a ouvert la voie à de nouvelles recherches.

Des cellules dendritiques peuvent être produites à partir de précurseurs $CD34^+$ médullaires ou du sang périphérique en présence de GM-CSF et de TNF-α au bout de 14 jours [27]. Les cellules obtenues expriment le CD1a, le CD4, un taux élevé de molécules du CMH de classe II, mais, contrairement aux cellules de Langerhans, n'ont pas de granules de Birbeck.

Deux voies de différenciation des cellules dendritiques engendrées à partir de précurseurs $CD34^+$ du sang périphérique ont été démontrées [24]. Les cellules $CD34^+$ CLA^+ se différencient en cellules $CD1a^+$, ayant des granules de Birbeck, alors que les

cellules CD34$^+$ CLA$^-$ se différencient en cellules CD1a$^+$ qui n'en ont pas.
Le sang de cordon contient un plus grand nombre de précurseurs CD34$^+$. Il existe deux voies de différenciation des cellules dendritiques produites à partir de précurseurs CD34$^+$ du sang de cordon en présence de GM-CSF et de TNF-α [28]. Deux sous-populations sont distinguées vers le 5^e jour de culture, une CD1a$^+$ CD14$^-$, une CD1a$^-$ CD14$^+$. Ces deux sous-populations triées au 6^e jour de différenciation n'ont plus de capacité proliférative. Elles se différencient et donnent vers le 12^e jour des cellules à la morphologie, au phénotype et ayant une fonction immunostimulatrice de type cellules dendritiques. Les précurseurs CD1a$^+$ majoritaires donnent des cellules CD1a$^+$, ayant les caractéristiques de cellules de Langerhans. Les précurseurs CD14$^+$ donnent des cellules CD1a$^+$ proches des cellules dendritiques du derme, dépourvues de granules de Birbeck, exprimant CD36, CD68 et le facteur XIIIa, n'exprimant pas l'E-cadhérine *(figure 3)*. Les précurseurs CD14$^+$ peuvent aussi se différencier en cellules macrophagiques sous l'action du M-CSF.
Il existe une relation étroite entre le système monocyte-macrophage et les cellules dendritiques. Il est actuellement établi que des cellules dendritiques CD1a$^+$ peuvent être produites à partir de monocytes cultivés en présence de GM-CSF et d'IL-4 [29, 30]. Cette différenciation ne s'accompagne d'aucune multiplication cellulaire. Les cellules mononucléées adhérentes produisent des cellules dendritiques ayant un phénotype de cellules immatures avec faible expression des molécules de co-stimulation et des molécules du CMH de classe II, et expression de marqueurs monocytaires (CD11b, CD68). Sous l'action de stimulus inflammatoires comme les lipopolysaccharides (LPS), elles deviennent mûres avec perte des marqueurs monocytaires, perte de la capacité de captage de l'antigène et surexpression des molécules accessoires.
Il a également été démontré qu'en présence de GM-CSF, d'IL-4 et de TGF-β1, les monocytes peuvent se différencier en cellules dendritiques, ayant les marqueurs des cellules de Langerhans : E-cadhérine$^+$, CLA$^+$, Lag$^+$, granules de Birbeck en microscopie électronique [31].
Ainsi, des cellules dendritiques ayant les caractéristiques des cellules dendritiques cutanées peuvent être engendrées *in vitro* à partir de précurseurs CD34$^+$ médullaires, de précurseurs CD34$^+$ du sang périphérique, de précurseurs CD34$^+$ du sang de cordon ou de monocytes.

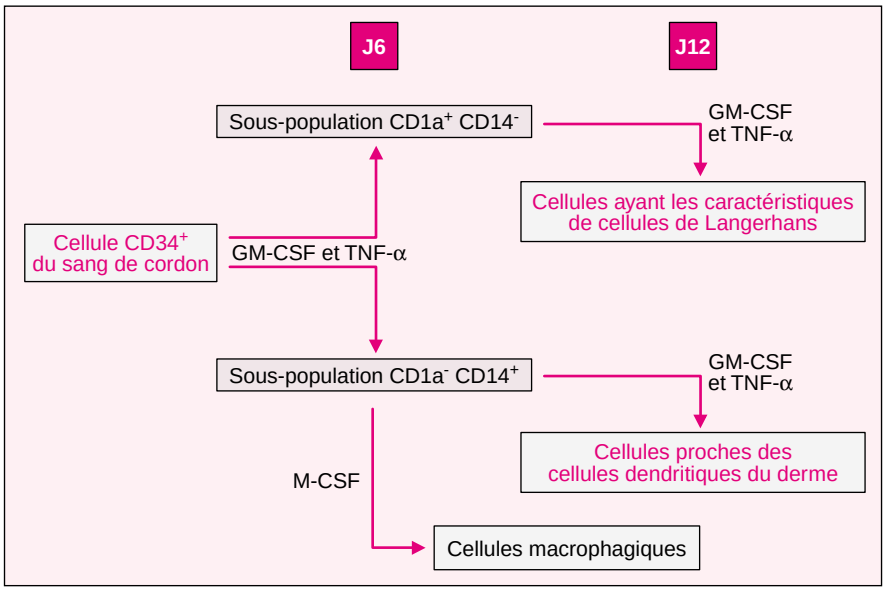

Figure 3. ***Des cellules ayant les caractéristiques des cellules dendritiques cutanées peuvent être produites* in vitro *à partir de précurseurs CD34$^+$ du sang de cordon.*** *Cellules ayant les caractéristiques des cellules de Langerhans : CD1a$^+$, Lag$^+$, granules de Birbeck, E-cadhérine$^+$. Cellules proches des cellules dendritiques du derme : CD1a$^+$, CD36$^+$, CD68$^+$, facteur XIIIa, E-cadhérine (d'après [28]).*

Les cellules dendritiques cutanées et l'immunosurveillance de la peau

Situées à l'interface avec le milieu extérieur, les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques du derme sont aptes à réagir aux perturbations de l'homéostasie de divers agents, qu'ils soient physiques, chimiques, biologiques ou immunologiques.

Cellules dendritiques cutanées et rayons ultraviolets

Les rayons UVA (subdivisés en UVA_2-320-340 nm et UVA_1-340-400 nm) et les rayons UVB (290-320 nm, arrêtés par le verre à vitre) sont les seuls à avoir des effets biologiques puisque les UVC sont absorbés par l'ozone. Les rayons UVB pénètrent dans l'épiderme et sont presque totalement absorbés dans le derme superficiel alors que les UVA atteignent le derme profond. Les études ont été surtout consacrées aux UVB et aux cellules de Langerhans. Ainsi, les cellules de Langerhans humaines sont diminuées en nombre et leur morphologie est altérée après irradiation par les UVB. Il a été démontré que les cellules de Langerhans entraient en apoptose après irradiation UVB *in vitro* [32]. L'expression de Fas induite par les UVB pourrait faciliter l'élimination de cellules altérées par les UV. Ce phénomène d'apoptose survient également *in vivo* et pourrait jouer un rôle dans les modifications de présentation antigénique. L'irradiation UVB inhibe, en effet, la capacité de présentation antigénique aux lymphocytes T CD4$^+$ et CD8$^+$ *in vitro*. Les UVB transforment les cellules de Langerhans en cellules tolérogènes et bloquent la régulation positive des molécules de co-stimulation CD86 par inhibition de leur synthèse. En

revanche, l'irradiation UVA_1 n'entraîne pas de modification d'expression des molécules CD86 ni de modification des propriétés de stimulation des lymphocytes T [33]. L'immunosuppression induite par les UV est un facteur additionnel du risque carcinogène des UV.
Enfin, le follicule pileux pourrait constituer un réservoir de cellules pour l'épiderme. Après irradiation UVB et coup de soleil intense, des cellules dendritiques $CD40^+$ $CD86^-$ ne possédant donc pas certaines molécules de co-stimulation indispensables à leur fonction, migrent à partir des follicules pileux vers l'épiderme et remplacent les cellules de Langerhans apoptotiques [34].

Cellules dendritiques cutanées et micro-organismes délivrés directement ou indirectement au niveau cutané

La peau est un site où se développent des processus infectieux d'origine virale, bactérienne ou parasitaire. Les cellules de Langerhans peuvent être infectées par le virus VIH [35] et peuvent servir de réservoir ou de moyen de dissémination du virus. Dans l'épiderme normal de sujets séropositifs pour le VIH aux stades avancés de la maladie, on constate une réduction du nombre de cellules de Langerhans. Des particules virales ont été décelées en microscopie électronique au sein de l'épiderme de sujets infectés par le VIH. L'ADN proviral a pu être mis en évidence par RT-PCR dans des cellules de Langerhans [36]. Plusieurs molécules sont impliquées dans la pénétration du VIH dans les cellules dendritiques. Outre le CD4, les co-récepteurs membranaires du VIH, les récepteurs des chimiokines CXCR4 et CCR5 ont été identifiés à la surface des cellules de Langerhans [12]. La fonction des cellules de Langerhans paraît normale chez les patients infectés par le VIH [37]. La réplication du virus dans les cellules dendritiques dépend de l'association des cellules dendritiques avec des lymphocytes T mémoires [26].
Plus généralement, les cellules de Langerhans sont impliquées dans la défense immunitaire contre les micro-organismes et les parasites. Les interactions entre cellules dendritiques et les micro-organismes sont complexes, du fait de l'existence de plusieurs épitopes distincts et de stratégies développées pour échapper au système de défense immunitaire de l'hôte comme des capsules anti-phagocytiques ou la synthèse de substances anti-chimiotactiques. Les cellules dendritiques peuvent internaliser les micro-oraganismes par phagocytose, macropinocytose et endocytose. Cette internalisation peut se produire directement par interactions entre les adhésines et les récepteurs de surface des cellules dendritiques comme le récepteur du mannose, ou indirectement *via* des anticorps ou le complément qui se fixent, respectivement, sur le récepteur pour le Fc des immunoglobulines (CD32) ou sur la molécule CD11b/CD18 [38]. L'infection des cellules dendritiques entraîne la synthèse de cytokines inflammatoires et leur maturation fonctionnelle notamment sous l'action du LPS. Les antigènes des micro-organismes paraissent être présentés par les cellules dendritiques dans le contexte des molécules du CMH de classe I et de classe II.

Cellules dendritiques cutanées et processus oncogènes

Les cellules dendritiques ont aussi un rôle dans l'immunosurveillance des tumeurs cutanées. La régression spontanée partielle ou complète de tumeurs primaires ou de métastases cutanées est un phénomène rare mais qui a été observé. Il est supposé que les cellules dendritiques interviennent dans le rejet de ces tumeurs. La majorité des études ont eu lieu chez la souris, mais on peut supposer qu'il en est de même chez l'homme. Les cellules dendritiques cutanées sont capables d'apprêter les antigènes tumoraux et elles peuvent induire une réponse prolifératives des lymphocytes T spécifiques *in vitro*. Il a aussi été démontré que les cellules dendritiques cutanées peuvent induire une immunité protectrice contre des tumeurs *in vivo* [39]. Des cellules de Langerhans murines incubées avec des fragments tumoraux de fibrosarcome, confèrent une immunité protectrice à des animaux naïfs, lorsqu'elles sont inoculées par voie sous-cutanée. De même, des cellules dendritiques cutanées pulsées avec les peptides synthétiques dérivés d'antigènes tumoraux peuvent induire des lymphocytes cytotoxiques $CD8^+$ spécifiques. Les cellules dendritiques cutanées sont tout aussi efficaces que les cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse pour induire une immunité anti-tumorale [40]. De nombreux auteurs ont observé la présence de cellules dendritiques au sein des tumeurs. Cependant, cette présence n'est pas obligatoirement liée à une réponse immunitaire anti-tumorale. En effet, de nombreuses cellules infiltrant les tumeurs n'expriment pas les molécules de co-stimulation et sont donc déficientes dans leur capacité de présentation des antigènes tumoraux. L'interaction entre la cellule dendritique et le lymphocyte T conduit alors à une anergie spécifique. Le micro-environnement tumoral et les cytokines produites localement peuvent aussi influencer la capacité des cellules dendritiques à déclencher une réponse immunitaire anti-tumorale [41]. Il a été montré que les cellules de Langerhans murines provenant de peau péritumorale ont des fonctions de capture de l'antigène et de migration partiellement inhibées [42].
De nouvelles molécules appliquées en topique sur la peau pourraient constituer une voie de recherche prometteuse pour lutter contre l'immunosuppression locale dans les cancers cutanés. Ainsi l'imiquimod, un immunostimulant pour lequel une action anti-tumorale a été démontrée dans des modèles animaux, entraîne la migration des cellules de Langerhans de la peau vers les ganglions drainants [43].

Cellules dendritiques cutanées et hypersensibilité de contact

L'hypersensibilité de contact est une réaction à médiation cellulaire, secondaire à la pénétration d'un haptène dans l'épiderme et les cellules dendritiques cutanées jouent un rôle-clé. La majorité des études ont eu lieu chez la souris. Les haptènes ayant traversé la barrière cutanée sont captés par les cellules de Langerhans qui migrent jusqu'aux ganglions et y entraînent la sensibilisation de lymphocytes T naïfs *(figure 4)*. Plusieurs études chez la souris ont montré que l'hypersensibilité de contact est relayée par les lympho-

cytes T $CD8^+$ activés par les cellules dendritiques [44, 45]. Les lymphocytes $CD4^+$ spécifiques d'haptène ont un rôle régulateur. Les lymphocytes T activés prolifèrent puis rejoignent la circulation lymphatique et sanguine, et certains lymphocytes vont se localiser dans le derme. Cette première phase de la réaction, ou phase de sensibilisation, est muette cliniquement. Lors d'une deuxième rencontre avec la substance sensibilisante, les cellules dendritiques réactivent des lymphocytes T spécifiques de l'haptène. Ils produisent des cytokines caractéristiques de profil Th1 entraînant l'activation d'autres cellules et la production de cytokines pro-inflammatoires. Des cellules inflammatoires mono- et polynucléées sont alors recrutées dans l'épiderme et le derme. Cette phase de révélation se produit 24 heures ou 48 heures après le second contact avec l'allergène et se traduit par une réaction inflammatoire eczématiforme. La majorité des travaux a porté sur les cellules de Langerhans de l'épiderme, mais il a été également montré que les cellules dendritiques du derme pouvaient être responsables de manifestations d'hypersensibilité de contact [46]. L'Il-10 joue un rôle inhibiteur important, par une action indirecte sur la fonction allostimulante des cellules de Langerhans et par inhibition de la synthèse ou des effets des cytokines pro-inflammatoires [47].

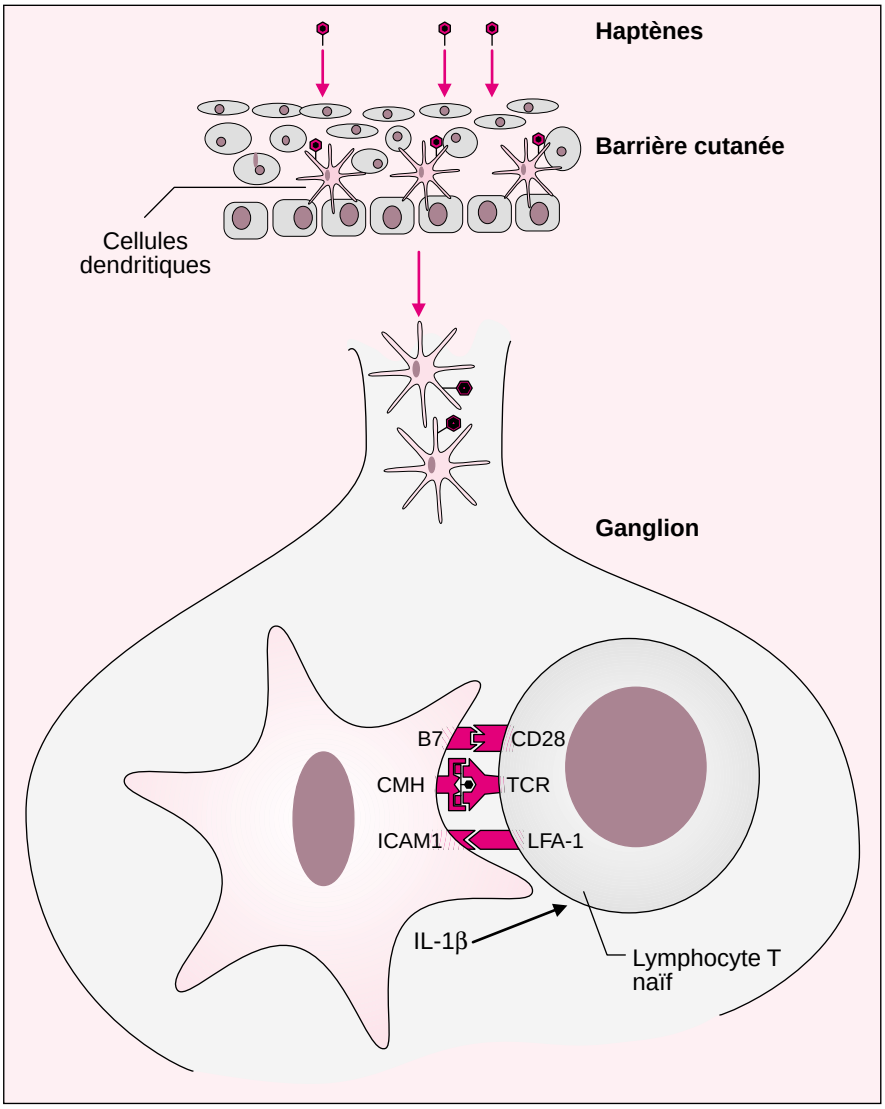

Figure 4. ***L'hypersensibilité de contact est secondaire à la pénétration d'un haptène dans l'épiderme.*** *Les haptènes ayant traversé la barrière cutanée, sont captés par les cellules dendritiques cutanées qui migrent jusqu'aux ganglions et y entraînent la sensibilisation de lymphocytes T naïfs.*

Cellules dendritiques cutanées et dermatite atopique

La dermatite atopique est la manifestation cutanée d'un processus inflammatoire génétiquement contrôlé, l'atopie, qui peut aussi se traduire par de l'asthme, une rhinite allergique, une conjonctivite allergique. Une étape majeure dans la compréhension des réponses immunologiques qui se développent au niveau cutané, a été la démonstration que l'application épicutanée de protéines peut aboutir à la production d'IgE spécifiques. La dermatite atopique est considérée comme une hypersensibilité retardée aux allergènes de l'environnement. L'application épicutanée d'aéro-allergènes peut induire le développement de lésions d'eczéma. Les fonctions des cellules dendritiques cutanées dans la dermatite atopique sont activement étudiées. Les atopènes (pneumallergènes, pollens, poussières) sont des protéines de haut poids moléculaire qui pénètrent difficilement dans l'épiderme. Ils sont pris en charge par les cellules de Langerhans de l'épiderme. Ces cellules expriment des récepteurs pour les IgE, notamment le récepteur de haute affinité (FcεRI) et peuvent donc fixer les IgE. L'internalisation des atopènes dans les cellules de Langerhans serait facilitée par la présence d'IgE spécifiques fixées à leurs récepteurs sur la surface des cellules de Langerhans [48]. Le pontage de molécules d'IgE entraîné par l'atopène induit l'internalisation de l'atopène, l'activation de protéine-tyrosine kinases aboutissant à l'activation des cellules dendritiques et à la production de cytokines inflammatoires. Les lymphocytes T spécifiques d'atopènes, activés par les cellules dendritiques au niveau des ganglions drainants, sont majoritairement de type Th2 et sécrètent des cytokines comme l'IL-4 et l'IL-13, pouvant être responsables de l'hyper-

IgE, et l'IL-5, qui joue un rôle dans l'hyperéosinophilie.
De nouveaux topiques immunomodulateurs comme le FK506, qui inhibe l'expression de CD40 et de CD80 sur les cellules de Langerhans cutanées, paraissent constituer un nouveau traitement intéressant et une alternative aux corticoïdes locaux. [49].

Conclusions

La peau est à la fois une cible et un organe initiateur des mécanismes de défense immunitaire. Les cellules dendritiques cutanées jouent un rôle-clé dans l'induction des réponses immunitaires primaires et secondaires et dans l'immunosurveillance. Depuis 20 ans, d'énormes progrès ont été réalisés dans leur connaissance. Il est très important de caractériser des sous-populations de cellules dendritiques, afin de pouvoir déboucher sur la délimitation de sous-populations fonctionnelles. Cela pourrait avoir des implications cliniques majeures et conduire à des développements importants en dermatologie. Ainsi, l'injection de sous-populations de cellules dendritiques fortement immunostimulantes pourrait être intéressante dans les affections tumorales. Inversement, l'injection de sous-populations de cellules dendritiques tolérogènes pourrait constituer une nouvelle approche thérapeutique dans des maladies inflammatoires ou auto-immunes.
L'immunomodulation des cellules dendritiques cutanées par utilisation d'agents topiques, soit immunostimulants, soit immunosuppresseurs, est une voie d'investigation de pharmacologie dont les développements semblent très prometteurs ■

RÉFÉRENCES

1. Hanau D, Fabre M, Schmitt DA, *et al.* Human epidermal Langerhans cells internalize by receptor-mediated endocytosis T6 surface antigen. Birbeck granules are involved in the intercellular traffic of the T6 antigen. *J Invest Dermatol* 1987; 89: 172-7.

2. Stössel H, Koch F, Kämpgen E, *et al.* Disappearance of certain acidic organelles (endosomes and Langerhans cell granules) accompanies loss of antigen processing capacity upon culture of epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 1990; 172: 1471-82.

3. Mommas AM, Mulder AA, Vermeer BJ, Koning F. Functional human epidermal Langerhans cells that lack Birbeck granules. *J Invest Dermatol* 1994; 103: 807-10.

4. Kashihara M, Ueda M, Horiguchi Y, Furukawa F, Hanaoka M, Imamura S. A monoclonal antibody specifically reactive to human Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1986; 87: 602-7.

5. Valladeau J, Duvert-Frances V, Pin JJ, *et al.* The monoclonal antibody DCGM4 recognizes Langerin, a protein specific of Langerhans cells, and is rapidly internalized from the cell surface. *Eur J Immunol* 1999; 29: 2695-704.

6. Cocchia D, Michetti F, Donato R. Immunochemical and immunocytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin. *Nature* 1981; 294: 85-7.

7. Blauvelt A, Katz SI, Udey MC. Human Langerhans cells express E-cadherin. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 293-6.

8. Le Varlet B, Dezutter-Dambuyant C, Staquet MJ, Delorme P, Schmitt D. Human epidermal Langerhans cells express integrins of the β1 subfamily. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 518-22.

9. Teunissen MB, Wormmeester J, Krieg SR, *et al.* Human epidermal Langerhans cells undergo profound morphologic and phenotypical changes during *in vitro* culture. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 166-73.

10. Rattis FM, Péguet-Navarro J, Staquet MJ, *et al.* Expression and function of B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) on human epidermal Langerhans cells. *Eur J Immunol* 1996; 26: 449-53.

11. Larregina A, Morelli A, Kolkowski E, Fainboim L. Flow cytometric analysis of cytokine receptors on human Langerhans'cells. Changes observed after short-term culture. *Immunology* 1996; 87: 317-25.

12. Zaitseva M, Blauvelt A, Lee S, *et al.* Expression and function of CCR5 and CXCR4 on human Langerhans cells and macrophages: implications for HIV primary infection. *Nat Med* 1997; 3: 1369-75.

13. Lenz A, Heine M, Schuler G, Romani N. Human and murine dermis contain dendritic cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 2587-96.

14. Meunier L, Gonzalez-Ramos A, Cooper KD. Heterogeneous populations of Class II MHC^+ cells in human dermal suspensions. Identification of a small subset responsible for potent dermal antigen-presenting cell activity with features analogous to Langerhans cells. *J Immunol* 1993; 151: 4067-80.

15. Nestle FO, Zheng XG, Thompson CB, Turka LA, Nickoloff BJ. Characterization of dermal dendritic cells obtained from normal human skin reveals phenotypic and functionnally distinctive subsets. *J Immunol* 1993; 151: 6535-45.

16. McLellan AD, Heiser A, Sorg RV, Fearnley DB, Hart DN. Dermal dendritic cells associated with T lymphocytes in normal human skin display an activated phenotype. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 841-9.

17. Cohen PJ, Katz SI. Cultured human Langerhans cells process and present intact protein antigens. *J Invest Dermatol* 1992; 99: 331-6.

18. Nestle FO, Filgueira L, Nickoloff BJ, Burg G. Human dermal dendritic cells process and present soluble protein antigens. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 762-6.

19. Hanau D, Fabre M, Schmitt DA, *et al.* Human epidermal Langerhans cells cointernalize by receptor-mediated endocytosis « non-classical » major histocompatibility complex class I molecules (T6 antigens) and class II molecules (HLA-DR antigens). *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 2901-5.

20. Mommas AM, Mulder AA, Jordens R, *et al.* Human epidermal Langerhans cells lack functional mannose receptors and a fully developed endosomal/lysosomal compartment for loading of HLA class II molecules. *Eur J Immunol* 1999; 29: 571-80.

21. Kobayashi Y, Staquet MJ, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D. Development of motility of Langerhans cell through extracellular matrix by *in vitro* hapten contact. *Eur J Immunol* 1994; 24: 2254-7.

22. Cumberbatch M, Griffiths CE, Tucker SC, Dearman RJ, Kimber I. Tumour necrosis factor-α induces Langerhans cell migration in humans. *Br J Dermatol* 1999; 141: 192-200.

23. Koszick F, Strunk D, Simonitschl I, Picker LJ, Stingl G, Payer E. Expression of monoclonal antibody HECA-452-defined E-selectin ligands on Langerhans cells in normal and diseased skin. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 773-83.

24. Strunk D, Egger C, Leitner G, Hanau D, Stingl G. A skin homing molecule defines the Langerhans cell progenitor in human peripheral blood. *J Exp Med* 1997; 185: 1131-6.

25. Staquet MJ, Kobayashi Y, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D. Specific combination of successive contacts of epidermal Langerhans cells with extracellular matrix proteins controls their directional migration. *Eur J Cell Biol* 1995; 66: 342-8.

26. Pope M, Gezelter S, Gallo N, Hoffman LH, Steinman RM. Low levels of HIV-1 infection in cutaneous dendritic cells promote extensive viral replication upon binding to memory $CD4^+$ T cells. *J Exp Med* 1995; 182: 158-71.

27. Reid CDL, Stackpoole A, Meager A, Tikerpae J. Interactions of tumor necrosis factor with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and other cytokines in the regulation of dendritic cell growth *in vitro* from early bipotent $CD34^+$ progenitors in human bone marrow. *J Immunol* 1992; 149: 2681-8.

28. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, *et al.* $CD34^+$ haemopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two dendritic cell pathways in response to GM-CSF and TNF-α. *J Exp Med* 1996; 184: 695-706.

RÉFÉRENCES

29. Romani N, Gruner S, Brang D, *et al*. Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. *J Exp Med* 1994; 180: 83-93.

30. Pickl WF, Majdic O, Kohl P, *et al*. Molecular and functional characteristics of dendritic cells generated from highly purified CD14$^+$ peripheral blood monocytes. *J Immunol* 1996; 157: 3850-9.

31. Geissmann F, Prost C, Monnet JP, Dy M, Brousse N, Hermine O. Transforming growth factor β1 in the presence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and interleukin-4 induces the differenciation of human peripheral blood monocytes into dendritic Langerhans cells. *J Exp Med* 1998; 187: 961-6.

32. Rattis FM, Concha M, Dalbiez-Gauthier C, *et al*. Effects of ultraviolet B radiation on human Langerhans cells: functional alteration of CD86 upregulation and induction of apoptotic cell death. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 373-9.

33. Dittmar HC, Weiss JM, Termeer CC, *et al*. *In vivo* UVA-1 and UVB irradiation differentially perturbs the antigen-presenting function of human epidermal Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 322-5.

34. Gillian AC, Kremer IB, Yoshida Y, *et al*. The human hair follicle: a reservoir of CD40$^+$ B7-deficient Langerhans cells that repopulate epidermis after UVB exposure. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 422-7.

35. Dezutter-Dambuyant C, Charbonnier AS, Fiers MM, *et al*. Langerhans cells and HIV infection. In: Moll H, ed. *The immune functions of epidermal Langerhans cells*. New York: RG Landes Company, 1995: 177-90.

36. Zambruno G, Mori L, Marconi A, *et al*. Detection of HIV-1 in epidermal Langerhans cells of HIV-infected patients using the polymerase chain reaction. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 979-82.

37. Blauvelt A, Chougnet C, Shearer GM, Katz SI. Modulation of T cell responses to recall antigens presented by Langerhans cells in HIV-discordant identical twins by anti-interleukin (IL) 10 antibodies and IL-12. *J Clin Invest* 1996; 97: 1550-5.

38. Rescigno M, Granucci F, Citterio S, Foti M, Ricciardi-Castagnoli P. Coordinated events during bacteria-induced DC maturation. *Immunol Today* 1999; 20: 200-3

39. Grabbe S, Bruvers S, Gallo RL, Knisely TL, Nazareno R, Granstein RD. Tumor antigen presentation by murine epidermal cells. *J Immunol* 1991; 146: 3656-61.

40. Celluzzi CM, Falo LD. Epidermal dendritic cells induce potent antigen-specific CTL-mediated immunity. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 716-20.

41. Grabbe S, Beissert S, Schwarz T, Granstein RD. Dendritic cells as initiators of tumor immune responses: a possible strategy for tumor immunotherapy. *Immunol Today* 1995; 16: 117-21.

42. Ishida T, Oyama T, Carbone DP, Gabrilovich DI. Defective function of Langerhans cells in tumor-bearing animals is the result of defective maturation from hemopoietic progenitors. *J Immunol* 1998; 161: 4842-51.

43. Suzuki H, Wang B, Shivji GM, *et al*. Imiquimod, a topical immune response modifier, induces migration of langerhans cells. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 135-41.

44. Bour H, Peyron E, Gaucherand M, *et al*. Major histocompatibility complex class I-restricted CD8$^+$ T cells and class II-restricted CD4$^+$ T cells, respectively mediate and regulate contact sensitivity to dinitrofluorobenzene. *Eur J Immunol* 1995; 25: 3006-10.

45. Bouloc A, Cavani A, Katz SI. Contact hypersensitivity in MHC class II-deficient mice depends on CD8 T lymphocytes primed by immunostimulating Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 44-9.

46. Tse Y, Cooper KD. Cutaneous dermal Ia$^+$ cells are capable of initiating delayed type hypersensitivity responses. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 267-72.

47. Péguet-Navarro J, Moulon C, Caux C, Dalbiez-Gauthier C, Banchereau J, Schmitt D. Interleukin-10 inhibits the primary allogeneic T cell response to human epidermal Langerhans cells. *Eur J Immunol* 1994; 24: 884-91.

48. Maurer D, Ebner C, Reininger B, *et al*. The high affinity receptor (FceRI) mediates IgE-dependant allergen presentation. *J Immunol* 1995; 154: 6285-90.

49. Salgado CG, Nakamura K, Sugaya M, *et al*. Differential effects of cytokines and immunosuppressive drugs on CD40, B7-1 and B7-2 expression on purified epidermal Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 1021-7.

Summary

Human cutaneous dendritic cells

Cutaneous dendritic cells, either Langerhans cells of the epidermis or dermal dendrocytes, have a critical function in the immune system. They are professional antigen presenting cells and play a key role in initiating immune responses. They are able to stimulate naive CD4$^+$ and CD8$^+$ T cells. They are also able to stimulate secondary responses and the proliferation of memory T cells.

TIRÉS À PART

A. Bouloc.