

# Etudes des réponses immunitaires innées au cours des infections pulmonaires graves par le virus influenza A H1N1 (2009)

Priyadharshini Pajanirassa

► **To cite this version:**

Priyadharshini Pajanirassa. Etudes des réponses immunitaires innées au cours des infections pulmonaires graves par le virus influenza A H1N1 (2009). Immunologie. 2012. <hal-01465006>

**HAL Id: hal-01465006**

**<https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01465006>**

Submitted on 10 Feb 2017

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

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

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE  
ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES  
Sciences de la Vie et de la Terre**

**MÉMOIRE**  
Présenté par

**Pajanirassa Priyadharshini**

**Pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études**

**Etudes des réponses immunitaires innées au cours des  
infections pulmonaires graves par le virus influenza A H1N1  
(2009)**

**Soutenu le 18 décembre 2012**

Dr Sophie Thenet  
Dr Guislaine Carcelain  
Pr Bruno Canque  
Pr Christophe Terzian  
Dr Carole Elbim  
Pr Michelle Rozenswajg

**devant le jury suivant:**

– Président  
– Tuteur scientifique  
– Tuteur pédagogique  
– Rapporteur  
– Examineur  
– Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

**Dr Guislaine Carcelain**

Unité INSERM UMR S-945 – Département d'Immunologie.  
Hôpital Pitié Salpêtrière  
83, boulevard de l'hôpital  
75013 PARIS

**Pr Bruno Canque**

INSERM U945/ UMR Paris 7/ CNRS 7212  
Laboratoire Développement du Système Immunitaire  
Institut Universitaire d'Hématologie (IUH)  
Centre Hayem  
1, avenue Claude Vellefaux  
75475 Paris cedex 10

Une étude nommée Flubal de recherche biomédicale a été mise en place au cours de l'hiver 2009 pour décrire les altérations immunologiques au cours de la grippe A H1N1 (2009) pulmonaire grave chez des patients ventilés en réanimation. Cette étude permettra une meilleure compréhension de la maladie grippale pulmonaire grave et apporter des outils de réflexion quant aux nouvelles stratégies thérapeutiques utilisables. Mon projet a consisté à étudier les différents paramètres de l'immunité innée chez les patients inclus dans ce protocole Flubal. Il propose l'identification des différentes populations de l'immunité innée impliquée dans la réponse immunitaire au cours de la grippe grave pulmonaire, la caractérisation de l'état d'activation/différenciation de ces types cellulaires ainsi que l'évaluation du profil cytokinique chez ces patients. En phase aigue de l'infection, nous observons une mobilisation importante de cellules phagocytaires des PNN dans le sang et le poumon associée à diminution de deux populations innées importantes contre les virus : une diminution des pDC inversement corrélée à la gravité des patients et une diminution des lymphocytes NK dans le sang et le poumon de patients H1N1. Afin de mettre en évidence les paramètres immunologiques associés à la gravité de maladie, nous avons analysé les paramètres qui différencient les patients graves décédés de ceux qui ont survécus à l'infection grippale H1N1. Un orage cytokinique est constaté chez ces patients décédés avec un profil cytokinique pro-inflammatoire majeure représenté par l'IL-6. Cependant, dans les cas les plus sévères (score de gravité clinique élevé) des patients qui ont survécus à la grippe H1N1 (2009), nous avons le même profil cytokinique pro-inflammatoire que chez les patients décédés. L'environnement pro-inflammatoire est donc clairement associé à la sévérité des patients mais ne serait pas associé au décès.

**Mots clés :** *Virus H1N1 (2009), réponses immunes innées, facteurs de gravité SOFA, cytokines pro et anti-inflammatoires, SDRA, pandémie grippale.*

## TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b>	<b>5</b>
<b>A. REPONSES INNEES ANTIVIRALES</b>	<b>5</b>
1. Immunorecepteurs du système immunitaire innée	5
2. Les monocytes/macrophages	6
2. Les polynucléaires neutrophiles	8
3. Les cellules dendritiques	10
4. Les lymphocytes NK	11
5. Les molécules solubles	13
a) Les cytokines pro-inflammatoires	13
b) Les cytokines anti-inflammatoires	15
c) Les chimiokines	16
<b>B. LA GRIPPE A H1N1 (2009)</b>	<b>17</b>
1. Origine et structure du virus de la grippe A H1N1 (2009)	17
2. Epidémiologie	19
3. Transmission et symptômes	19
4. Les formes pulmonaires graves	20
<b>C. PHYSIOPATHOLOGIE DES FORMES PULMONAIRES GRAVES DE LA GRIPPE</b>	<b>20</b>
1. Le syndrome de détresse respiratoire aigue (SDRA)	20
2. Orage cytokinique au cours de la grippe pulmonaire grave	21

L'année 2009 a été marquée par la survenue d'une pandémie grippale liée au virus H1N1 qui provoque une maladie respiratoire contagieuse. En France, la pandémie grippale a causé plusieurs centaines de décès par détresse respiratoire aiguë liée à une pneumopathie bilatérale grave avec un âge moyen beaucoup plus jeune que lors des épidémies de grippe des saisons précédentes [1, 2]. De même, au cours de l'hiver 2010/2011, une deuxième vague occasionnait de nombreux cas similaires.

## **A. REPONSES INNEES ANTIVIRALES**

L'immunité innée est la première ligne de défense mise en jeu contre les pathogènes. Elle est déclenchée immédiatement et est fonctionnelle majoritairement pendant les premiers jours. Elle permet d'éliminer dans les 96 premières heures de l'infection l'agent infectieux à 99,9%. Les acteurs principaux de l'immunité innée sont les PRR (pattern recognition receptor) impliqués dans la reconnaissance du pathogène, les cytokines, des molécules solubles (complément, médiateurs lipidiques...) et les cellules de l'immunité innées qui sont les lymphocytes NK, les cellules dendritiques, les monocytes/macrophages et les polynucléaires neutrophiles.

### **1. Immunorécepteurs du système immunitaire inné**

La réponse immunitaire se déclenche parce que le système immunitaire reçoit des signaux de danger et que certaines cellules sont capables de reconnaître des motifs moléculaires associés aux pathogènes. En effet, de nombreux pathogènes sont porteurs à leur surface de macromolécules biologiques particulières appelé PAMPS (Pathogen Associated Molecular Patterns) qui peuvent être reconnus par les récepteurs de cellules de l'immunité innée appelé PRRs (Pathogen Recognition Receptors). Les PRRs peuvent également reconnaître des signaux de dangers PAMPS (Danger Associated Molecular Patterns) exprimés lors de l'agression. Cette reconnaissance est relativement grossière pour les cellules de l'immunité innée sans grande spécificité puisque les motifs reconnus peuvent être partagés entre plusieurs pathogènes. Nous avons des PRR membranaires, notamment les TLR (Toll Like Receptors), présents sur les monocytes, les cellules dendritiques et les polynucléaires neutrophiles. Les lymphocytes NK reconnaissent les pathogènes différemment grâce à leurs récepteurs activateurs et inhibiteurs que nous détaillerons dans le paragraphe sur les cellules NK. Les TLR en interagissant avec leurs ligands sont impliqués dans l'initiation de la réponse inflammatoire innée antivirale et antibactérienne. Leur activation va entraîner la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF-alpha, l'IL-6, l'IL-8 et l'IL-12, la réponse antivirale par la production d'IFN de type I (IFN alpha et beta). L'expression de TLR sur les cellules dendritiques va les activer et permettre leur maturation notamment par l'expression des molécules de co-stimulation CD80 et CD86 et vont permettre donc également d'initier la réponse immunitaire adaptative [3]. Même si les TLR représentent une partie importante des récepteurs de l'immunité innée, il en existe d'autres comme les CLR (C-type Lectin Receptors) ou aussi des PRR cytoplasmiques de signalisations, les NLR (leucine rich repeat containing protein) et les RLRs (retionic acide inducible gene 1 protein like helicase). Les NLR reconnaissent exclusivement les composants bactériens [4] alors que les récepteurs RLRs reconnaissent les composants viraux [5].

### **2. Les monocytes/macrophages**

Les monocytes sont libérés de la moelle osseuse et circulent dans le sang. Ce sont essentiellement des cellules phagocytaires qui constituent une première ligne de défense importante de l'immunité innée en éliminant les pathogènes mais également les cellules infectées qui ont servi de cible dans la réponse immunitaire adaptative. Les mécanismes de

reconnaissance font intervenir des PRRs, les récepteurs pour les dérivés du complément et pour les fragments Fc des Immunoglobulines. Les capacités microbicides des monocytes/macrophages sont moins puissantes que celles des polynucléaires neutrophiles mais ils ont une demi-vie beaucoup plus longue. Ce sont aussi des cellules qui sécrètent des quantités importantes de cytokines et jouent ainsi un rôle majeur dans la régulation des réponses immunitaires. Leur faculté à sécréter des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-8, l'IL-6 et le facteur nécrotique des tumeurs (TNF- $\alpha$ ) leur confère un rôle essentiel dans la réaction inflammatoire. Leur capacité à apprêter l'antigène et à synthétiser les cytokines essentielles à l'initiation de la réponse immune cellulaire T, les monocytes jouent un rôle dans la présentation de l'antigène indispensable à l'activation des cellules T bien que moindre que les cellules dendritiques. Les monocytes sont divisés en trois sous populations dans le sang exprimant tous le CD14. Les monocytes pro inflammatoires (CD16 $^{++}$  et CD14 $^{+}$ ) et les monocytes intermédiaires (CD16 $^{+}$  et CD14 $^{++}$ ) qui représentent 10% des monocytes. Les monocytes inflammatoires (CD16 $^{-}$  et CD14 $^{++}$ ) sont dits monocytes classiques et représentent plus de 90% de monocytes dans le sang. Ces trois sous populations ont des fonctions différentes. Les monocytes intermédiaires produisent peu de cytokines et expriment fortement la molécule de CMH de classe II par rapport aux monocytes inflammatoires et seraient donc plus apte à la stimulation des réponses T [6]. Les monocytes inflammatoires produiraient des cytokines pro inflammatoires [7] et auraient une fonction de phagocytose élevée [8][9]. Enfin, les monocytes pro inflammatoires produiraient essentiellement de très grandes quantités de cytokines pro inflammatoires avec en particulier l'IL-12 et le TNF $\alpha$  [10].

Au cours d'une réponse inflammatoire les monocytes du sang migrent en quelques heures par diapédèse dans les tissus pour devenir des cellules dendritiques myéloïdes, des ostéoclastes ou des macrophages. Les populations monocytaires auraient des propriétés chimiotactiques différentes [11]. Les monocytes inflammatoires classiques expriment plus fortement CCR2 et migreraient dans les endothéliums sous l'effet de MCP-1 alors que les monocytes pro inflammatoires expriment plus fortement CCR5 et seraient recrutés très rapidement dans les tissus inflammatoires sous l'effet de MIP-1 $\alpha$ , b et Rantes [12]. Une fois dans les tissus elles deviennent des macrophages qui jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance et la destruction des pathogènes ainsi que dans l'élimination des cellules sénescents ou apoptotiques. Ils sont les premiers à être impliqués dans l'inflammation. Ils constituent la première source de sécrétion d'interleukines et sont donc impliqués dans l'initiation de la réponse immune [13]. Ces macrophages peuvent être activés et désactivés lors de l'inflammation [14]. En effet, les cytokines façonnent le phénotypage des macrophages. Sous l'influence d'un environnement Th1 qui augmente la production d'IFN- $\gamma$ , les macrophages produisent principalement des cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et IL-12 et détruisent les pathogènes qu'ils hébergent. Sous l'influence d'un environnement Th2 avec les cytokines de type IL-4 et l'IL-13, les macrophages produisent des cytokines anti-inflammatoires et favorisent le processus de réparation [15]. D'autres cytokines de type Th2 telles que l'IL-10 et le TGF- $\beta$  contrecarrent efficacement les activités pro-inflammatoires des macrophages en les désactivant [16, 17]. Par ailleurs, l'expression des molécules de co-stimulation CD80/CD86 nécessaires comme nous l'avons vu ci-dessus à l'interaction avec les lymphocytes T n'est pas régulée de la même manière par les cytokines favorisant soit la réponse Th1 soit la réponse Th2. L'IL-4 et l'IL-10 induisant la réponse Th2 diminuent l'expression de CD86 et augmentent l'expression de CD80. Par contre, l'IFN- $\gamma$  qui induit la réponse Th1 augmente l'expression des deux molécules CD80 et CD86. Le TNF- $\alpha$  qui induit la réponse Th1 ou Th2 en fonction des facteurs environnementaux diminuerait l'expression de CD86 mais n'altérerait pas l'expression de CD80 [18]. Enfin, par leur sécrétion d'IFN gamma, les cellules NK activent les macrophages qui à son tour secrète de l'IL-12 qui va augmenter l'activité cytotoxique des cellules NK .

### 3. Les polynucléaires neutrophiles

Les polynucléaires neutrophiles (PNN) représentent la plus grande population des granulocytes circulants, les autres étant les éosinophiles et les basophiles. Ils sont constitués d'un noyau multilobé (2 à 5 lobes) avec des granulations et sont déformables permettant la diapédèse. Ils ont un rôle principal dans la phagocytose et sont attirés très massivement sur le lieu de l'infection par les chimiokines libérées par les macrophages et les autres cellules présentes au site initial de l'inflammation. Ils ont aussi un rôle de sécrétion de cytokines, bien que moindre que les monocytes/macrophages.

La première étape de migration fait intervenir une adhérence aux cellules endothéliales réversible par l'intermédiaire de molécules de la famille des sélectines, la L-sélectine (CD62L) à la surface des polynucléaires neutrophiles, les E et P-sélectine (CD62-E et CD62-P) à la surface des cellules endothéliales activées par les médiateurs du foyer inflammatoire. Ceci induit un ralentissement du flux des polynucléaires et initie la phase dite de roulement à la surface de l'endothélium activé. Les cellules endothéliales activées favorisent alors sur les polynucléaires la perte des L-sélectines et les activent ce qui se traduit par l'augmentation de l'expression membranaire de  $\alpha_2$  intégrines activées, en particulier le CD11b et le CD18.

Les PNN sont les premières cellules infiltrant massivement le foyer inflammatoire. Les PNN contiennent des granules permettant la phagocytose de pathogènes. Deux types de mécanismes coopératifs interviennent pour la destruction du pathogène. Premièrement, un déversement de substances bactéricides dans le phagosome contenant le pathogène. En effet les PNN contiennent une centaine d'enzymes différentes permettant la destruction de pratiquement toutes les structures biologiques. Deuxièmement, la production de formes réactives de l'oxygène (appelée explosion oxydative) dans le milieu extracellulaire qui altèrent la structure des protéines, des lipides et des acides nucléiques. Cette production de formes réactives de l'oxygène est également importante dans la régulation de la réponse immunitaire, elle régule les fonctions des cellules présentes au site inflammatoire comme par exemple la production de cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires dès leur arrivé au site inflammatoire mais aussi leur prolifération et l'apoptose. Les PNN produisent aussi des chimiokines notamment l'IL-8 qui avec d'autres chimiokines permettent une importante amplification et migration des PNN au site inflammatoire. D'autres cytokines pro-inflammatoires et chimiokines produites par les PNN, stimulent les autres cellules immunitaires comme les macrophages, les cellules NK et les cellules T [19]. Les défensines contenu dans les granules des neutrophiles recrutent les monocytes au site de l'infection. [20].

Les PNN peuvent aussi adhérer directement sur les cellules dendritiques immatures permettant de les activer et la production du TNF-alpha par les PNN est aussi essentiel à la maturation des cellules dendritiques [21]. Il est ainsi maintenant clair que leur rôle est plus complexe que la seule phagocytose et que ces cellules participent à la mise en place et la régulation des réponses innées et spécifiques.

Contrairement aux autres cellules phagocytaires, les polynucléaires neutrophiles meurent rapidement suite à la phagocytose. Un retard de la mort du neutrophile est associé à divers facteurs présents en excès au cours du processus inflammatoire (G-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-8) [22] et leur activation prolongée qui en découle peut conduire à des lésions tissulaires importantes et à différentes maladies inflammatoires chroniques.

#### **4. Les cellules dendritiques**

Les cellules dendritiques (DC) sont des populations de cellules très rares (0.3% dans le sang et 1-2% dans les organes lymphoïdes). Dans la moelle osseuse, le progéniteur de cellules dendritiques appelé DCP (Common dendritic cell progenitor) génère des cellules dendritiques myéloïdes ou classiques et des cellules dendritiques plasmacytoïdes.

Dans le sang périphérique, sont présentes deux populations distinctes de DC qui diffèrent sur le plan phénotypique et fonctionnel :

- les DC myéloïde (mDC) ou inflammatoires sont majoritaires (environ 70%). Elles expriment CD11c fortement mais CD123 faiblement et expriment également des molécules de co-stimulation. Elles sont considérées comme des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles et sécrètent en grande quantité l'interleukine 12 (IL-12). Elles disposent de toutes les caractéristiques à l'activation des lymphocytes T CD4 et CD8.

- les DC plasmacytoïdes (pDC) doivent leur nom à leur ressemblance avec les plasmocytes. Elles sont minoritaires dans le sang circulant (environ 30%), n'exprimant pas le CD11c mais fortement le marqueur CD123 et produisent en abondance les interférons de type II après activation [23]. Les pDC contiennent des précurseurs qui sont des cellules dendritiques qui activent plus particulièrement les lymphocytes CD4 Th2, impliqués dans la production d'anticorps [24].

Les DC sont également présentes dans tous les tissus et en grande quantité dans les zones T des organes lymphoïdes. Selon leur localisation anatomique, plusieurs sous types peuvent être identifiés qui ont des récepteurs et des fonctions différents les mieux adaptés à leur localisation et aux antigènes rencontrés. Les DC, au niveau de l'épiderme correspondent aux cellules de Langerhans. Les DC activées présentes dans les tissus sont recrutées au niveau du site inflammatoire par les chimiokines produites par les macrophages et les cellules résidentes. Ce recrutement se fait rapidement grâce au répertoire de récepteur de chimiokines exprimés par les DC immatures qui leur permet de répondre aux cytokines inflammatoires (GM-CSF, MIP-3a/CCL20). Dans ce contexte, elles capturent les antigènes par leurs récepteurs d'endocytose et les détruisent par phagocytose. Mais sous l'effet de cette capture et de l'environnement cytokinique, les DC peuvent aussi jouer un rôle essentiel dans la présentation antigénique. L'activation des cellules NK en présence de TNF, d'IFN-gamma et d'IL-12 induit également la maturation des DC. Les DC transportent alors les antigènes depuis les sites d'entrée des agents pathogènes (barrières épithéliales) vers les sites d'initiation des réponses immunitaires spécifiques (ganglion, rate). C'est durant cette migration que les DC deviennent matures. Elles expriment alors les molécules de CMH de classe II à leur surface et de fortes quantités de molécules de co-stimulation de la famille B7 (CD80 et CD86) qui interagissent avec les molécules présentes à la surface des cellules T pour induire des réponses humorales ou cellulaires. Cette maturité des DC ne s'achèvera que dans les organes lymphoïdes au contact des cellules T. Les mDC ont une capacité plus élevée de présentation antigénique notamment par leur forte expression de CD80 et 86 par rapport aux pDC [25]. En revanche les pDC sont des effecteurs majeurs dans l'immunité innée par leur production en abondance des interférons de type I (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ) [23] aux propriétés antivirales (inhibition de la réplication du virus dans la cellule).

#### **5. Les lymphocytes NK**

Les cellules Natural Killer (NK) sont de grands lymphocytes granuleux qui se développent dans la moelle osseuse à partir d'un progéniteur lymphoïde commun. Ils sont présents dans le sang



(environ 5-10 %), le foie, les tissus inflammatoires et en grande quantité dans la rate. Ces cellules sont une composante importante de l'immunité contre les virus en détruisant les cellules infectées.

Les NK sont activées en réponse aux interférons de type I ou aux cytokines produites par les macrophages et ils tuent principalement en déchargeant sur la cellule cible des granules cytotoxiques contenant des perforines et des granzymes. Celles-ci traversent la membrane de la cellule cible et induisent la mort cellulaire. Les NK sont spontanément lytiques envers toutes les cellules sans nécessiter une immunisation ou une activation préalable. Cette cytotoxicité est déclenchée dans les cellules NK par des récepteurs invariants activateurs ou inhibiteurs qui reconnaissent des composants de la surface des cellules infectées. La lyse NK est une conclusion d'une balance entre les récepteurs activateurs et inhibiteurs. Dans une situation normale, les cellules nucléées expriment beaucoup de CMH classe I qui sont les ligands des récepteurs inhibiteurs et il y a donc protection des cellules de la lyse spontanée par les cellules. Dans une situation d'infection il y a augmentation de molécules de stress comme les protéines de choc thermique (Heat Shock Protein) [26] ou les carbohydrates qui sont des ligands des récepteurs activateurs et diminution de l'expression de CMH classe I par certains virus c'est alors que la lyse NK peut être déclenchée.

Ainsi les récepteurs inhibiteurs KIR (killer cell Ig like receptors), de type immunoglobuline qui sont spécifiques des molécules de classe I transduisent des signaux inhibiteurs de la cytolyse des NK. D'autres récepteurs de type NCR (Natural Cytotoxicity Receptor) tels que NKp30, NKp44 et NKp46 transduisent des signaux activateurs de la cytolyse.

La molécule CD94 est un récepteur de type lectine et marqueur caractéristique des cellules NK humaines. Cette molécule est associée à des molécules de la famille des NKG2 donnant ainsi des récepteurs pouvant être inhibiteurs (NKG2A, NKG2F) ou activateurs de la lyse NK comme le NKG2C qui interagit avec les molécules de CMH de classe I ou encore NKG2D.

L'activation des cellules NK ne se traduit pas seulement par sa capacité cytotoxique vis à vis de cibles cellulaires mais aussi par sa capacité à produire des cytokines dont l'interféron gamma. Le CD56 qui est exprimé par ces cellules NK et permet de différencier des sous populations fonctionnellement différentes : les NK exprimant CD56 fortement (CD56 bright), productrices de cytokines (environ 10%) et les NK exprimant CD56 faiblement (CD56 Dim), cytotoxiques (environ 90%). De plus, les lymphocytes NK peuvent reconnaître la cellule cible recouverte de certains types d'anticorps et la tuer, c'est le phénomène d'activité cytotoxique dépendante des anticorps (ADCC). En effet, les lymphocytes NK expriment la molécule CD16 qui est un récepteur spécifique du fragment Fc des anticorps d'isotypes IgG et qui est impliqué dans une des voies de signalisation des lymphocytes NK.

Comme nous l'avons dit plus haut, les fonctions des cellules NK sont régulées par des cytokines synthétisées dans le foyer inflammatoire. La capacité cytotoxique des cellules NK est ainsi très significativement augmentée par l'effet de cytokines telles que l'interféron alpha et l'interféron beta dont la production est augmentée dans les cellules infectées par un virus. D'autres cytokines comme l'IL-12 régulent la fonction cytotoxique des cellules des NK, leur prolifération et leur production d'IFN-g permettant ainsi de limiter l'infection virale [27].

## 6. Les molécules solubles

### a) Les cytokines pro-inflammatoires

Lors d'une inflammation, les cellules de l'immunité ou d'autres cellules produisent des cytokines qui interagissent à distance avec d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction afin de créer le foyer inflammatoire.

Les cytokines pro-inflammatoires sont remarquables de par la grande variété des sources cellulaires possibles, et d'autre part, par leurs effets pléiotropiques sur de nombreuses cibles cellulaires impliquées dans le développement de la réponse inflammatoire et immunitaire. Cependant, les phagocytes mononucléés, et principalement les monocytes-macrophages constituent une source majeure de cytokines pro-inflammatoires. Nous avons trois cytokines majeures qui sont sécrétées en cascade lors de la phase aiguë de l'inflammation, l'IL-1, l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  dont les effets sont souvent redondants.

L'IL-1 existe sous deux formes moléculaires, IL-1 $\alpha$  et IL-1 $\beta$  différant par leur séquence d'acides aminés mais ayant les mêmes propriétés biologiques. Elle est sécrétée par les macrophages et les monocytes mais aussi par les lymphocytes, cellules endothéliales, épithéliales, fibroblastes. Ses activités biologiques sont nombreuses, locales et systémiques. Elle joue un rôle essentiel dans la réponse inflammatoire en activant les lymphocytes et les macrophages et en augmentant l'expression de facteurs d'adhésion sur les cellules endothéliales facilitant la transmigration des leucocytes sur le site de l'infection. Elle stimule la production par les hépatocytes des protéines de la phase aiguë de l'inflammation (CRP, fibrinogène) qui vont activer le système du complément, elle a des effets sur l'hématopoïèse (granulocytes, plaquettes) et favorise la prolifération de nombreuses cellules. C'est également elle qui est responsable de l'élévation corporelle de la température en agissant sur le système nerveux central. Sa régulation est assurée par deux grands mécanismes : une forme soluble du récepteur spécifique (sIL-1R) qui est capable de bloquer l'IL-1 et agit comme un inhibiteur (voir ci-dessous) et un antagoniste spécifique du récepteur de l'IL-1 (IL-1RA) produit par les monocytes sous le rétrocontrôle de l'IL-1.

Le TNF- $\alpha$  est produit par de nombreuses cellules dont les macrophages, monocytes, PNN, cellules épithéliales, endothéliales, kératinocytes, lymphocyte et exerce de nombreuses fonctions dans l'inflammation et l'activation des autres leucocytes. Il induit entre autre la production par les endothéliums de molécules d'adhérence et de chimiokines nécessaires à l'accumulation des leucocytes dans le foyer inflammatoire, et il augmente la perméabilité vasculaire. Il induit la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par de nombreux types cellulaires et en particulier des monocytes/macrophages. Il active la phagocytose des PNN, la cytotoxicité des cellules NK. Il a également des effets sur le système nerveux central (fièvre, anorexie) et cardio-vasculaire à fortes doses (fuite capillaire, choc). Il agit enfin également sur les lymphocytes en particulier en ayant un effet mitogénique, en stimulant la migration des lymphocytes T cytotoxiques et en induisant l'apoptose des lymphocytes T matures. Le TNF- $\alpha$  agit par l'intermédiaire de récepteurs membranaires TNF I de 55 kDA (414 acides aminés) et TNF II de 75kDA (461 acides aminés) sur la voie de signalisation. Le récepteur TNF I est présent sur tous les tissus humains et serait le médiateur principal de l'effet inflammatoire du TNF- $\alpha$  [28, 29] tandis que le récepteur TNF II est plutôt restreints aux cellules immunitaires et est aussi le récepteur du TNF- $\beta$  [30]. Ces deux récepteurs peuvent déclencher la voie de signalisation NF $\kappa$ B qui active de nombreux gènes impliqués dans les réponses immunitaires adaptatives et innées mais seul le récepteur TNF I peut aussi induire la voie qui conduit à l'activation de la caspase 8 entraînant l'apoptose. L'interaction spécifique du récepteur avec le ligand approprié induit donc soit la mort soit la prolifération cellulaire. Cette variabilité de la

réponse dépend du type cellulaire, du stade de différenciation et de l'état de transformation de la cellule cible mais aussi d'autres facteurs de régulation comme les récepteurs solubles de TNFI et TNFII que nous détaillerons dans le paragraphe suivant.

L'IL-6 est aussi une cytokine pro inflammatoire produite en phase aigüe de l'inflammation par la plupart des types cellulaires dont les macrophages, les lymphocytes T et les cellules endothéliales. L'IL-6 intervient en stimulant la production hépatocytaire des protéines de la phase aigüe de l'inflammation et stimule la production de molécules intervenant dans les processus de réparation tissulaire. Enfin elle intervient aussi dans l'immunité spécifique en favorisant la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes en particulier.

Une autre cytokine pro-inflammatoire, le facteur MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor) et est secrétée par les cellules épithéliales, endothéliales, macrophages, les cellules T et de nombreuses autres cellules inflammatoires [31]. C'est un médiateur important de la régulation des réponses immunes et en particulier inflammatoires. Elle augmente la production de cytokines pro-inflammatoires, elle contrebalance les effets des glucocorticoïdes endogènes [32] et a un effet anti-apoptotique. Bien qu'elle ait été initialement décrite comme ayant un effet inhibiteur sur la migration des macrophages dans les modèles souris, c'est en fait une cytokine qui induit l'adhésion et la migration des cellules de la lignée monocyttaire dans les veinules post capillaires. Cette fonction est médiée par MCP-1 qui est induite par MIF au niveau des cellules endothéliales mais aussi par une action directe de MIF qui augmente sur les cellules endothéliales et les monocytes l'expression de plusieurs molécules d'adhésions (E-sélectines, VCAM-1, ICAM-1) et induit la synthèse de différentes chimiokines (IL8, MCP-1 ...). Enfin, MIF est lié à plusieurs maladies inflammatoires ainsi qu'au syndrome de détresse respiratoire aigue et au sepsis grave. Son antagonisme serait donc une stratégie thérapeutique dans ces situations [33]. La synthèse de MIF par les macrophages activés est inhibée par la cytokine anti-inflammatoire l'IL-10 [34].

L'IL-12p70 joue également un rôle important dans l'immunité antivirale en augmentant la production d'IFN-g par les cellules NK et les cellules T. C'est une cytokine hétérodimérique composée de sous unité p40 et p35 principalement produite par les cellules dendritiques myéloïdes (mDC), les monocytes et les macrophages. L'IL-12 joue un rôle important dans la différenciation des lymphocytes T CD4+ naïfs en cellules Th1 [35, 36] et est ainsi une voie de passage vers l'immunité adaptative.

### **b) Les cytokines anti-inflammatoires**

Les cytokines anti-inflammatoires régulent la réaction inflammatoire permettant qu'elle ne devienne pas exagérée et pathologique. Certaines cytokines sont des antagonistes spécifiques de récepteurs de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL1 RA qui est un récepteur antagoniste de l'IL-1 bloquant son activité. Il serait donc une stratégie thérapeutique dans le traitement de certaines maladies inflammatoires [37]. De même, nous avons les récepteurs solubles du TNF alpha, le sTNF-I de 55kDA et le sTNF-II de 75kDA qui sont produits par clivage protéolytique des récepteurs membranaires TNF I et TNF II et sont présents dans le plasma et autres liquides biologiques comme l'urine et les surnageant cellulaires. Ces formes solubles circulantes modulent la biodisponibilité du ligand du TNF alpha dans l'organisme. Le TNF alpha est une cytokine présente à l'état normal dans le sérum sans pour autant être activé, ce qui peut être expliqué par le rôle négatif des récepteurs solubles. Une augmentation des récepteurs solubles dans les maladies inflammatoires comme la tuberculose, les cancers et l'infection VIH a été observée [38, 39].

D'autres cytokines régulent l'inflammation comme l'IL-10. Elle est principalement produite par les monocytes mais aussi par les lymphocytes Th2 et les lymphocytes T régulateurs. Cette cytokine diminue l'expression des cytokines pro inflammatoires impliquées dans la réponse Th1 mais aussi la diminution de l'expression de HLA-DR sur les monocytes les rendant moins aptes à la présentation antigénique. Elle est aussi utilisée a visé thérapeutique pour diminuer la réponse Th1 dans les maladies comme le psoriasis [40]. Le facteur de croissance transformant bêta (TGF-b) est aussi une cytokine anti-inflammatoire qui contrôle la prolifération, la différenciation et l'apoptose dans la plupart des cellules incluant les cellules de l'immunité innée. Ainsi le TGF-b peut inhiber l'hématopoïèse mais aussi la prolifération de thymocytes, cellules T et B ainsi que les cellules NK [41]. Par ailleurs, le TGF-b désactive les monocytes/macrophages en inhibant la production de forme réactive d'oxygène et d'azote et inhibant la capacité

phagocytaire de ces cellules [42].

### **c) Les chimiokines**

Les chimiokines sont des cytokines qui ont pour rôle d'attirer les cellules de l'immunité (chimiotactisme) au niveau du foyer inflammatoire et de permettre ainsi une régulation du développement et la différenciation de cellules inflammatoires. Les chimiokines jouent aussi un rôle essentiel dans la coordination des mouvements des cellules dendritiques et des lymphocytes permettant ainsi le passage de l'immunité innée à l'immunité adaptative [43]. Enfin, il est intéressant de noter que les récepteurs de chimiokines constituent des cibles privilégiées des virus, par exemple l'Herpès Virus-8 Humain associé au sarcome de Kaposi (HHV-8) synthétise une chimiokine virale identique à MIP-2a, qui bloque le récepteur de cette chimiokine rendant les cellules infectées insensibles à MIP-2a [44]. De même, les récepteurs CCR5 et CXCR4 ont été identifiés comme étant co-récepteurs d'entrée du VIH dans les lymphocytes CD4.

L'IL-8 appelé CXCL8 et ligand de CXCR1 et CXCR2 est la principale chimiokine produite par les polynucléaires neutrophiles. Elle est aussi produite par les cellules endothéliales ainsi que les monocytes activés et les macrophages en réponse à l'inflammation. L'IL-8 participe à la migration et à l'activation des neutrophiles et des lymphocytes T au site de l'infection [45]. La chimiokine MCP-1 (Monocyte Chemo-attractant Protein 1) aussi appelé CCL2 est le ligand de CCR2. Elle est sécrétée par les cellules endothéliales et les macrophages et est impliquée dans le recrutement des neutrophiles, monocytes/macrophages et les lymphocytes T [46].

D'autres chimiokines sont produites en réponse aux Interférons. IP-10 (Interferon gamma induced Protein 10) ou CXCL10 est le ligand de CXCR3 et est sécrétée par la plupart des cellules de l'immunité mais aussi par d'autres types cellulaires comme les cellules endothéliales et les kératinocytes en réponse à leur stimulation par l'interféron gamma. De nombreux rôles ont été attribués à cette chimiokine comme l'attraction des monocytes/macrophages, des lymphocytes T activés, des cellules NK ou des cellules dendritiques [47]. De plus, IP-10 induit la migration et l'augmentation de l'activité cytotoxique des cellules NK [48].

## **B. LA GRIPPE A H1N1 (2009)**

### **1. Origine et structure du virus de la grippe A H1N1 (2009)**

Le virus de la grippe appartient à la famille des Orthomyxoviridae et au genre Influenza de sous type A qui est le plus fréquent, le plus virulent et qui est à l'origine des pandémies. Il infecte les cellules de l'épithélium respiratoire. Il est constitué d'un génome de 8 segments d'ARN monocaténaux codant pour 11 protéines de polarité négative. Le virus est entouré d'une enveloppe phospholipidique hérissée de deux glycoprotéines qui sont l'hémagglutinine (HA) et la neuramidase (NA). Ces deux protéines de surface du virus vont permettre la pénétration du virus et sa réplication dans la cellule hôte. A ce jour, 16 HA (H1-H16) et 9 NA (N1-N9) ont été identifiées. La protéine HA facilite la liaison du virus sur les récepteurs de la cellule hôte et également sa fusion aux endosomes intracellulaires. Cet attachement se fait par une liaison, de type « clé-serrure », entre la sous unité HA de l'Hémagglutinine (sur la particule virale) et l'acide sialique (sur la membrane de la cellule cible). Puis l'entrée du virus va se faire par endocytose. La protéine NA joue un rôle au niveau du détachement de bourgeons lors de la formation de nouveaux virus et permet donc la libération des nouvelles protéines virales formées dans la cellule hôte. Les polymérases (PB1, PB2 et l'acide polymérase) et la nucléoprotéine permettent la réplication et la transcription de l'ARN viral. Les protéines nucléaires et les protéines de la

matrice exportent les ribonucléoprotéides viraux du noyau vers le cytoplasme pour assembler de nouveaux virions[49].

Les virus de la grippe évoluent constamment, en particulier au niveau de leurs protéines HA et NA. Cette évolution leur permet d'échapper aux défenses immunitaires des espèces qu'ils infectent. Les protéines HA et NA sont en effet les protéines externes antigéniques reconnues par le système immunitaire. Sous la pression immunitaire, le virus de la grippe subit des évolutions antigéniques. Les modifications peuvent être infimes ou radicales. Elles sont dues à des modifications des gènes qui codent pour ces protéines. Deux types de mécanismes sont à l'origine de l'évolution des virus grippaux :

- les glissements antigéniques qui sont des modifications progressives très petites mais continues, qui apparaissent chez chaque souche donnée du virus. Ce sont elles qui concourent à la réapparition, chaque année, d'une nouvelle épidémie de grippe.
- les cassures antigéniques peuvent se produire ponctuellement et concourent à l'apparition des pandémies grippales.

Une pandémie grippale est une épidémie caractérisée par la diffusion rapide et géographiquement très étendue (plusieurs continents ou monde entier) d'un nouveau sous-type de virus résultant d'une transformation génétique conséquente. Principalement, une telle cassure peut apparaître si un virus hybride émerge en comportant au moins une des protéines de surface complètement inconnue de l'homme et une conservation de toutes les protéines internes des virus grippaux humains nécessaires au cycle cellulaire le tout associé à un ou plusieurs facteurs de haute virulence. Ce phénomène d'hybridation peut se produire par exemple lors d'une coinfection d'un porc par un virus d'origine aviaire et un virus d'origine humaine (le porc jouant le rôle de creuset). Une cassure peut également se produire en cas de réémergence d'un ancien virus ayant circulé chez l'Homme autrefois, contre lequel la population actuelle n'est pas immunisée. Ou encore en cas de passage direct d'un virus aviaire à l'Homme, chez qui il réussirait à s'adapter. Quelque soit le processus par lequel apparaît une cassure antigénique, cela nécessite une succession d'étapes (le hasard des réassortiments, la transmission entre animal et Homme, l'évolution du virus pour être adapté à l'Homme, les facteurs de virulence, etc.) qui rendent son occurrence extrêmement rare. Le virus de la grippe A H1N1 a été isolé en Californie en 2009 et est donc identifié comme grippe A/Californie/04/2009. Il a été responsable de la première pandémie du XXI<sup>e</sup> siècle. Ce groupe a été initialement appelé grippe porcine car les premières analyses ont identifié des segments de gène similaires à ceux du virus de la grippe A H1N1 circulant chez les porcs chez les premiers patients [50]. Ce virus est en fait un virus réassorti de différents virus d'origine porcine (Eurasie et Amérique du Nord), aviaire (Amérique du nord) et humaine (H3N2) [51, 52].

## 2. Epidémiologie

Le 21 avril 2009, deux cas d'insuffisance respiratoire due au nouveau virus de la grippe A H1N1 ont été confirmés chez des enfants dans le sud de la Californie [53]. Quelques jours après, le CDC (Center for Disease Control and Prevention) a signalé des cas confirmés de grippe A H1N1 chez des patients au Mexique, où 47 cas de pneumonies sévères ont fait 12 décès. Le virus a diffusé rapidement à l'ensemble du monde dans les mois qui ont suivis son apparition et l'organisation mondiale de la santé a qualifié la situation de pandémie le 11 juin 2009.

Lors de la première vague 2009/2010, 213 pays ont été touchés dans le monde avec environ 622 000 cas de grippe H1N1 (2009) et plus de 16000 décès. En France le nombre d'infections dues au virus A H1N1(2009) est estimé à partir des données de consultations médicales des réseaux GROG (groupe régionaux d'observation de la grippe) et 8 à 15 millions de personnes ont été infectées avec 1329 cas de grippe graves et 264 décès. Une 2<sup>e</sup> vague est survenue en hiver 2010-2011 et a causé 152 décès en France (INVS)

### **3. Transmission et symptômes**

La transmission se fait d'une personne à l'autre comme pour les virus de la grippe saisonnière c'est à dire par inhalation de gouttelettes infectieuses par quintes de toux ou d'éternuement mais aussi par contamination des mains ou des surfaces. La période d'incubation est courte et est de 24h à 7 jours (en moyenne 5 jours).

Les signes de la grippe A H1N1 (2009) sont similaires à ceux de grippe saisonnière, une étude sur 44 cas confirmés de grippe A H1N1 (2009) a révélé en majorité de la fièvre (96%), toux (98%), céphalées (82%), rhinorrhée (82%), frissons (80%) et courbatures (80%), et quelques cas de nausées (55%), diarrhées (48%), douleurs articulaires (46%) et maux de ventre (36%) [54].

#### **4. Les formes pulmonaires graves**

Les symptômes de la grippe H1N1 (2009) sont en général caractérisés par un syndrome grippal d'évolution bénigne similaire à celui de la grippe saisonnière. Cependant une atteinte pulmonaire grave (pneumonies virales) est observée chez certains patients entraînant une hospitalisation en réanimation. Soixante cinq à 75% de ces patients nécessite un support ventilatoire [55]. On parle de formes graves de grippe chez les patients confirmés ou probables A (H1N1) 2009 ayant fait un passage en réanimation, en soins intensifs, ou décédés (InVS). Il existe des facteurs de risque tel que l'obésité ou la grossesse mais 30% de cas graves sont sans co-morbidité. A la différence de la grippe saisonnière, une population relativement jeune est atteinte avec un âge moyen de 30 à 40 ans sans antécédents et avec un taux de mortalité élevé par sévère défaillance pulmonaire aiguë ce qui n'est pas observé lors des épidémies de grippe saisonnière. C'est le syndrome respiratoire de détresse aigu (SDRA) [56] que nous détaillerons dans le paragraphe suivant.

### **C. PHYSIOPATHOLOGIE DES FORMES PULMONAIRES GRAVES DE LA GRIPPE**

#### **1. Le syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA)**

Le SDRA peut être du à différentes maladies. Le SDRA est un terme qualitatif qui définit clairement des dommages pulmonaires et un dysfonctionnement respiratoire avec une diminution de la compliance pulmonaire et des échanges gazeux [57]. Il traduit une atteinte de la membrane alvéolo-capillaire induisant un œdème pulmonaire lésionnel. Cette manifestation peut apparaître dans un grand nombre de situations pathologiques comme les pneumonies virales ou, bactérienne, le choc septique, les traumatismes majeurs [58] avec des mécanismes différents. Il est caractérisé par une inflammation du parenchyme pulmonaire qui mène à des anomalies d'échanges de gaz avec une libération en parallèle de médiateurs inflammatoires du parenchyme pulmonaire qui cause une inflammation, une hypoxémie ; souvent une défaillance multiviscérale en résulte.

Dans ce contexte le SDRA est caractérisé par trois étapes physiopathologiques successives. La première phase est dite exsudative avec histologiquement une infiltration par des PNN, une destruction des pneumocytes et un œdème. Dans cette première phase, les macrophages locaux sont activés par le facteur MIF sécrété en quantité importante. Les macrophages activés produisent des cytokines comme l'IL-

1, l'IL-8, l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  qui agissent au niveau local pour attirer les polynucléaires par chimiotactisme et les activer [59]. Les polynucléaires jouent aussi un rôle physiopathologique important en libérant des molécules pro inflammatoires comme les protéases, les leucotriènes et le facteur d'activation des plaquettes (PAF). Ceci entraîne des lésions de la barrière alvéolo-capillaire avec une augmentation de la perméabilité endothéliale et un œdème pulmonaire. La deuxième phase est dite sub-proliférative et est caractérisée par un début d'organisation fibreuse. Le TNF- $\alpha$  y joue un rôle majeur en induisant le recrutement et la prolifération des fibroblastes dans l'interstitium et les alvéoles entraînant une fibrose alvéolaire. Enfin, la troisième phase est dite phase chronique caractérisée par des images de fibrose interstitielle majeure.

#### **2. Orage cytokinique au cours de la grippe pulmonaire grave**

Comme nous l'avons vu plus haut, la grippe A H1N1 grave est donc une des causes possible de syndrome de détresse respiratoire aigu sévère (SDRA). Le peu de données disponibles sur



l'autopsie des poumons des patients infectés de grippe H1N1 décédés montre un aspect de dommage alvéolaire diffus et une nécrose des parois bronchiolaires [60, 61]. Au niveau périphérique plusieurs équipes rapportent au cours de la grippe grave et en particulier la grippe H5N1, la présence d'une forte réponse immunitaire innée inflammatoire qui se traduit par une forte sécrétion de chimiokines (MCP-1, MCP-3, IP-10, MIP-1a) et de cytokines pro-inflammatoires (IL-1b, IL-6, IL-8) dont la libération est associée à une défaillance viscérale parfois mortelle [62]. Quelques travaux ont caractérisé plus en avant le rôle physiopathologique de certaines de ces molécules solubles.

La grippe Espagnole de 1918 est en effet la plus sévère de notre histoire avec une estimation de 50 millions de morts à travers le monde.

Des études utilisant un virus recombinant r1918 ont permis de mettre en évidence le rôle d'une dysrégulation des réponses immunes chez des souris infectées avec en particulier une importante augmentation de l'expression des gènes des cytokines pro-inflammatoires dès J1 et jusqu'à la mort des souris. Cette hyperexpression génique était directement corrélée à la gravité des dommages pulmonaires observés chez les animaux [63]. Une équipe a questionné plus en détail le rôle de deux cytokines pro-inflammatoires IL-1 et TNF- $\alpha$  dans l'infection liée au virus aviaire H5N1 puis au virus de la grippe Espagnole r1918. En utilisant des modèles de souris KO pour le récepteur de l'IL-1 ou du TNF- $\alpha$  cette équipe suggère que dans le modèle de la grippe aviaire H5N1 le TNF- $\alpha$  accélérerait la morbidité liée à l'infection alors que l'IL-1 participerait aux dommages mais atténuerait la mortalité [64]. De même, en ce qui concerne l'infection par r1918, les auteurs montrent que plus que « l'orage cytokinique » global, ce serait la sécrétion de TNF- $\alpha$  qui serait déterminante pour la pathogénicité contre la grippe liée au r1918 alors que la sécrétion d'IL-1 serait plutôt protectrice [65]. Cette relation entre le TNF- $\alpha$  et les lésions pulmonaires est également mise en avant dans un travail sur H1N2 chez le porc dans lequel le taux de TNF- $\alpha$  dans le LBA est très corrélé à la gravité des lésions pulmonaires [65].

L'IL-6, une des autres cytokines pro-inflammatoires sécrétées en quantité importante pourrait également jouer un rôle dans la protection anti-H1N1 en assurant la survie des neutrophiles dans les poumons [66] et en favorisant le développement d'une réponse humorale optimale.

Le rôle du TNF pourrait également passer par la chimiokine IP10. Plusieurs équipes rapportent une sécrétion très augmentée d'IP10 dans le sang circulant et dans le poumon au cours de l'infection par H5N1 ou d'autres influenza virus [67, 68] sans que ceci ne soit spécifique à influenza puisque retrouvé dans d'autres infections virales respiratoires sévères [68]. La co-culture de cellules pulmonaires infectées par H5N1 avec de l'IFN- $\alpha$  ou du TNF- $\alpha$  augmente considérablement la sécrétion d'IP10 et pourrait de fait participer par ce biais participer aux dommages inflammatoires pulmonaires observés dans ces formes de grippe pulmonaires graves [67].

MIF, qui a de nombreux effets de régulation sur le système immunitaire en particulier sur la chémoattraction des macrophages et en induisant la sécrétion de nombreuses cytokines pro-inflammatoires, pourrait participer à la mise en place du syndrome pro-inflammatoire excessif au cours de l'infection grippale grave. Elle est synthétisée constitutivement par les cellules broncho-alvéolaires du poumon et sa présence est très augmentée en situation de SDRA [59]. Le blocage de cette cytokine (anticorps ou souris déficientes) protège des souris du choc septique. Dans un modèle in vitro l'infection et la mort de lignées cellulaires broncho alvéolaires par H5N1 induit la sécrétion de MIF et d'IL-8 [69]. De plus, il a été montré que MIF serait directement responsable d'une induction des autres cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF  $\alpha$ ) et d'IP-10 dans le modèle de grippe létale H5N1 [66]. Le blocage de cette cytokine dans ce modèle n'augmentant pas la mortalité des souris, il a même été proposé comme une approche thérapeutique au cours la grippe H5N1.

Il est clair cependant que la présence de macrophages et des polynucléaires au site de l'infection est nécessaire à une réponse conduisant à la guérison. Ainsi, une équipe a mis en

évidence dans un modèle de souris infectées par H5N1 le rôle protecteur de MCP-1, indispensable à la mise en place d'une réponse immune anti-influenza adéquate [70]. En effet, la délétion de MCP-1 est associée à une diminution du recrutement de macrophages et de polynucléaires dans le poumon des souris et à une des charges virales et une perte de poids beaucoup plus importantes par rapport à des souris sauvages pour MCP-1 [70].

Le niveau de production de cytokines entre elles ou entre la balance de cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoire serait peut être au final la clef de l'évolution vers une guérison ou une évolution grave. Une augmentation de cytokines anti-inflammatoires, IL-1 RA et récepteurs solubles du TNF, dans le LBA de patients atteints de SDRA a été rapportée mais celle-ci lors des gripes sévères pourrait être insuffisante face à l'importance de la réponse pro-inflammatoire.

## BIBLIOGRAPHIES

1. Webb SA, Pettila V, Seppelt I, Bellomo R, Bailey M, Cooper DJ, *et al.* Critical care services and 2009 H1N1 influenza in Australia and New Zealand. *The New England journal of medicine* 2009,**361**:1925-1934.
2. Louie JK, Acosta M, Winter K, Jean C, Gavali S, Schechter R, *et al.* Factors associated with death or hospitalization due to pandemic 2009 influenza A(H1N1) infection in California. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 2009,**302**:1896-1902.
3. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nature reviews. Immunology* 2001,**1**:135-145.
4. Wilmanski JM, Petnicki-Ocwieja T, Kobayashi KS. NLR proteins: integral members of innate immunity and mediators of inflammatory diseases. *Journal of leukocyte biology* 2008,**83**:13-30.
5. Onoguchi K, Yoneyama M, Fujita T. Retinoic acid-inducible gene-I-like receptors. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 2011,**31**:27-31.
6. Ziegler-Heitbrock HW, Strobel M, Fingerle G, Schlunck T, Pforte A, Blumenstein M, *et al.* Small (CD14+/CD16+) monocytes and regular monocytes in human blood. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology* 1991,**59**:127-130.
7. Szabo G, Miller-Graziano CL, Wu JY, Takayama T, Kodys K. Differential tumor necrosis factor production by human monocyte subsets. *Journal of leukocyte biology* 1990,**47**:206-216.
8. Grage-Griebenow E, Flad HD, Ernst M, Bzowska M, Skrzeczynska J, Pryjma J. Human MO subsets as defined by expression of CD64 and CD16 differ in phagocytic activity and generation of oxygen intermediates. *Immunobiology* 2000,**202**:42-50.
9. Wong KL, Tai JJ, Wong WC, Han H, Sem X, Yeap WH, *et al.* Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood* 2011,**118**:e16-31.
10. Belge KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, *et al.* The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. *Journal of immunology* 2002,**168**:3536-3542.
11. Ohura K, Katona IM, Wahl LM, Chenoweth DE, Wahl SM. Co-expression of chemotactic ligand receptors on human peripheral blood monocytes. *Journal of immunology* 1987,**138**:2633-2639.
12. Weber C, Belge KU, von Hundelshausen P, Draude G, Steppich B, Mack M, *et al.* Differential chemokine receptor expression and function in human monocyte subpopulations. *Journal of leukocyte biology* 2000,**67**:699-704.
13. Dinarello CA. The biology of interleukin-1. *Chemical immunology* 1992,**51**:1-32.
14. Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Current drug targets. Inflammation and allergy* 2005,**4**:281-286.
15. Gordon S, Martinez FO. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity* 2010,**32**:593-604.
16. Ding L, Linsley PS, Huang LY, Germain RN, Shevach EM. IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression. *Journal of immunology* 1993,**151**:1224-1234.

17. Bogdan C, Vodovotz Y, Nathan C. Macrophage deactivation by interleukin 10. *The Journal of experimental medicine* 1991,**174**:1549-1555.
18. Creery WD, Diaz-Mitoma F, Filion L, Kumar A. Differential modulation of B7-1 and B7-2 isoform expression on human monocytes by cytokines which influence the development of T helper cell phenotype. *European journal of immunology* 1996,**26**:1273-1277.
19. Scapini P, Lapinet-Vera JA, Gasperini S, Calzetti F, Bazzoni F, Cassatella MA. The neutrophil as a cellular source of chemokines. *Immunological reviews* 2000,**177**:195-203.
20. Territo MC, Ganz T, Selsted ME, Lehrer R. Monocyte-chemotactic activity of defensins from human neutrophils. *The Journal of clinical investigation* 1989,**84**:2017-2020.
21. van Gisbergen KP, Sanchez-Hernandez M, Geijtenbeek TB, van Kooyk Y. Neutrophils mediate immune modulation of dendritic cells through glycosylation-dependent interactions between Mac-1 and DC-SIGN. *The Journal of experimental medicine* 2005,**201**:1281-1292.
22. Hofman P. Molecular regulation of neutrophil apoptosis and potential targets for therapeutic strategy against the inflammatory process. *Current drug targets. Inflammation and allergy* 2004,**3**:1-9.
23. Liu YJ. IPC: professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annual review of immunology* 2005,**23**:275-306.
24. Farkas L, Kvale EO, Johansen FE, Jahnsen FL, Lund-Johansen F. Plasmacytoid dendritic cells activate allergen-specific TH2 memory cells: modulation by CpG oligodeoxynucleotides. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2004,**114**:436-443.
25. Masten BJ, Olson GK, Tarleton CA, Rund C, Schuyler M, Mehran R, *et al.* Characterization of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in human lung. *Journal of immunology* 2006,**177**:7784-7793.
26. Multhoff G, Mizzen L, Winchester CC, Milner CM, Wenk S, Eissner G, *et al.* Heat shock protein 70 (Hsp70) stimulates proliferation and cytolytic activity of natural killer cells. *Experimental hematology* 1999,**27**:1627-1636.
27. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annual review of immunology* 1999,**17**:189-220.
28. Englaro W, Bahadoran P, Bertolotto C, Busca R, Derijard B, Livolsi A, *et al.* Tumor necrosis factor alpha-mediated inhibition of melanogenesis is dependent on nuclear factor kappa B activation. *Oncogene* 1999,**18**:1553-1559.
29. Beutler B, van Huffel C. Unraveling function in the TNF ligand and receptor families. *Science* 1994,**264**:667-668.
30. Beltinger CP, White PS, Maris JM, Sulman EP, Jensen SJ, LePaslier D, *et al.* Physical mapping and genomic structure of the human TNFR2 gene. *Genomics* 1996,**35**:94-100.
31. Baugh JA, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor. *Critical care medicine* 2002,**30**:S27-S35.
32. Aeberli D, Leech M, Morand EF. Macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoid sensitivity. *Rheumatology* 2006,**45**:937-943.
33. Morand EF. New therapeutic target in inflammatory disease: macrophage

- migration inhibitory factor. *Internal medicine journal* 2005,**35**:419-426.
34. Wu J, Cunha FQ, Liew FY, Weiser WY. IL-10 inhibits the synthesis of migration inhibitory factor and migration inhibitory factor-mediated macrophage activation. *Journal of immunology* 1993,**151**:4325-4332.
  35. Hamza T, Barnett JB, Li B. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in infection applications. *International journal of molecular sciences* 2010,**11**:789-806.
  36. Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* 1993,**260**:547-549.
  37. Bresnihan B. The safety and efficacy of interleukin-1 receptor antagonist in the treatment of rheumatoid arthritis. *Seminars in arthritis and rheumatism* 2001,**30**:17-20.
  38. Aderka D, Englemann H, Hornik V, Skornick Y, Levo Y, Wallach D, *et al.* Increased serum levels of soluble receptors for tumor necrosis factor in cancer patients. *Cancer research* 1991,**51**:5602-5607.
  39. Kalinkovich A, Engelmann H, Harpaz N, Burstein R, Barak V, Kalickman I, *et al.* Elevated serum levels of soluble tumour necrosis factor receptors (sTNF-R) in patients with HIV infection. *Clinical and experimental immunology* 1992,**89**:351-355.
  40. Asadullah K, Sterry W, Stephanek K, Jasulaitis D, Leupold M, Audring H, *et al.* IL-10 is a key cytokine in psoriasis. Proof of principle by IL-10 therapy: a new therapeutic approach. *The Journal of clinical investigation* 1998,**101**:783-794.
  41. Kehrl JH. Transforming growth factor-beta: an important mediator of immunoregulation. *International journal of cell cloning* 1991,**9**:438-450.
  42. Tsunawaki S, Sporn M, Ding A, Nathan C. Deactivation of macrophages by transforming growth factor-beta. *Nature* 1988,**334**:260-262.
  43. Luster AD. The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. *Current opinion in immunology* 2002,**14**:129-135.
  44. Nakano K, Isegawa Y, Zou P, Tadagaki K, Inagi R, Yamanishi K. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV)-encoded vMIP-I and vMIP-II induce signal transduction and chemotaxis in monocytic cells. *Archives of virology* 2003,**148**:871-890.
  45. Huber AR, Kunkel SL, Todd RF, 3rd, Weiss SJ. Regulation of transendothelial neutrophil migration by endogenous interleukin-8. *Science* 1991,**254**:99-102.
  46. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 2009,**29**:313-326.
  47. Taub DD, Lloyd AR, Conlon K, Wang JM, Ortaldo JR, Harada A, *et al.* Recombinant human interferon-inducible protein 10 is a chemoattractant for human monocytes and T lymphocytes and promotes T cell adhesion to endothelial cells. *The Journal of experimental medicine* 1993,**177**:1809-1814.
  48. Taub DD, Sayers TJ, Carter CR, Ortaldo JR. Alpha and beta chemokines induce NK cell migration and enhance NK-mediated cytotoxicity. *Journal of immunology* 1995,**155**:3877-3888.
  49. Sullivan SJ, Jacobson RM, Dowdle WR, Poland GA. 2009 H1N1 influenza. *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic* 2010,**85**:64-76.
  50. Garten RJ, Davis CT, Russell CA, Shu B, Lindstrom S, Balish A, *et al.* Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009,**325**:197-201.

51. Shinde V, Bridges CB, Uyeki TM, Shu B, Balish A, Xu X, *et al.* Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2005-2009. *The New England journal of medicine* 2009,**360**:2616-2625.
52. Trifonov V, Khiabani H, Rabadan R. Geographic dependence, surveillance, and origins of the 2009 influenza A (H1N1) virus. *The New England journal of medicine* 2009,**361**:115-119.
53. Swine influenza A (H1N1) infection in two children--Southern California, March-April 2009. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report* 2009,**58**:400-402.
54. Swine-origin influenza A (H1N1) virus infections in a school - New York City, April 2009. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report* 2009,**58**:470-472.
55. Chowell G, Bertozzi SM, Colchero MA, Lopez-Gatell H, Alpuche-Aranda C, Hernandez M, *et al.* Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 influenza. *The New England journal of medicine* 2009,**361**:674-679.
56. Rello J, Rodriguez A, Ibanez P, Socias L, Cebrian J, Marques A, *et al.* Intensive care adult patients with severe respiratory failure caused by Influenza A (H1N1)v in Spain. *Critical care* 2009,**13**:R148.
57. Jih TK. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) and severe acute respiratory syndrome (SARS): are we speaking different languages? *Journal of the Chinese Medical Association : JCMA* 2005,**68**:1-3.
58. Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *The Journal of clinical investigation* 2012,**122**:2731-2740.
59. Donnelly SC, Haslett C, Reid PT, Grant IS, Wallace WA, Metz CN, *et al.* Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *Nature medicine* 1997,**3**:320-323.
60. Mauad T, Hajjar LA, Callegari GD, da Silva LF, Schout D, Galas FR, *et al.* Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010,**181**:72-79.
61. Toyoshima M, Chida K, Suda T, Sato M. Necrotizing bronchiolitis in influenza A of swine origin (H1N1). *American journal of respiratory and critical care medicine* 2011,**184**:1086; author reply 1086.
62. Cilloniz C, Pantin-Jackwood MJ, Ni C, Goodman AG, Peng X, Proll SC, *et al.* Lethal dissemination of H5N1 influenza virus is associated with dysregulation of inflammation and lipoxin signaling in a mouse model of infection. *Journal of virology* 2010,**84**:7613-7624.
63. Kash JC, Tumpey TM, Proll SC, Carter V, Perwitasari O, Thomas MJ, *et al.* Genomic analysis of increased host immune and cell death responses induced by 1918 influenza virus. *Nature* 2006,**443**:578-581.
64. Szretter KJ, Gangappa S, Lu X, Smith C, Shieh WJ, Zaki SR, *et al.* Role of host cytokine responses in the pathogenesis of avian H5N1 influenza viruses in mice. *Journal of virology* 2007,**81**:2736-2744.
65. Kim B, Ahn KK, Ha Y, Lee YH, Kim D, Lim JH, *et al.* Association of tumor necrosis factor-alpha with fever and pulmonary lesion score in pigs experimentally infected with swine influenza virus subtype H1N2. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science* 2009,**71**:611-616.
66. Dienz O, Rud JG, Eaton SM, Lanthier PA, Burg E, Drew A, *et al.* Essential role of IL-6 in protection against H1N1 influenza virus by promoting neutrophil survival in the lung. *Mucosal immunology* 2012,**5**:258-266.

67. Thitithanyanont A, Engering A, Uiprasertkul M, Ekchariyawat P, Wiboon-Ut S, Kraivong R, *et al.* Antiviral immune responses in H5N1-infected human lung tissue and possible mechanisms underlying the hyperproduction of interferon-inducible protein IP-10. *Biochemical and biophysical research communications* 2010,**398**:752-758.
68. Sumino KC, Walter MJ, Mikols CL, Thompson SA, Gaudreault-Keener M, Arens MQ, *et al.* Detection of respiratory viruses and the associated chemokine responses in serious acute respiratory illness. *Thorax* 2010,**65**:639-644.
69. Arndt U, Wennemuth G, Barth P, Nain M, Al-Abed Y, Meinhardt A, *et al.* Release of macrophage migration inhibitory factor and CXCL8/interleukin-8 from lung epithelial cells rendered necrotic by influenza A virus infection. *Journal of virology* 2002,**76**:9298-9306.
70. Dessing MC, van der Sluijs KF, Florquin S, van der Poll T. Monocyte chemoattractant protein 1 contributes to an adequate immune response in influenza pneumonia. *Clinical immunology* 2007,**125**:328-336.
71. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, *et al.* The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive care medicine* 1996,**22**:707-710.
72. Schwartz A, Fernandez-Repollet E. Standardization for flow cytometry. *Methods in cell biology* 1994,**42 Pt B**:605-626.
73. Mittag A, Tarnok A. Basics of standardization and calibration in cytometry--a review. *Journal of biophotonics* 2009,**2**:470-481.
74. Nicholson JK, Hubbard M, Jones BM. Use of CD45 fluorescence and side-scatter characteristics for gating lymphocytes when using the whole blood lysis procedure and flow cytometry. *Cytometry* 1996,**26**:16-21.
75. Meyer KC, Soergel P. Variation of bronchoalveolar lymphocyte phenotypes with age in the physiologically normal human lung. *Thorax* 1999,**54**:697-700.
76. Moreno R, Vincent JL, Matos R, Mendonca A, Cantraine F, Thijs L, *et al.* The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. Working Group on Sepsis related Problems of the ESICM. *Intensive care medicine* 1999,**25**:686-696.
77. Bosco MC, Puppo M, Blengio F, Fraone T, Cappello P, Giovarelli M, *et al.* Monocytes and dendritic cells in a hypoxic environment: Spotlights on chemotaxis and migration. *Immunobiology* 2008,**213**:733-749.
78. Muehlstedt SG, Lyte M, Rodriguez JL. Increased IL-10 production and HLA-DR suppression in the lungs of injured patients precede the development of nosocomial pneumonia. *Shock* 2002,**17**:443-450.
79. Fumeaux T, Pugin J. Role of interleukin-10 in the intracellular sequestration of human leukocyte antigen-DR in monocytes during septic shock. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2002,**166**:1475-1482.
80. Volk HD, Thieme M, Heym S, Docke WD, Ruppe U, Tausch W, *et al.* Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease--predictive value and new therapeutic strategies. *Behring Institute Mitteilungen* 1991:208-215.
81. Antoniadis CG, Berry PA, Davies ET, Hussain M, Bernal W, Vergani D, *et al.* Reduced monocyte HLA-DR expression: a novel biomarker of disease severity and outcome in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology* 2006,**44**:34-43.
82. Hershman MJ, Cheadle WG, Wellhausen SR, Davidson PF, Polk HC, Jr.

Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient. *The British journal of surgery* 1990,**77**:204-207.

83. Arankalle VA, Lole KS, Arya RP, Tripathy AS, Ramdasi AY, Chadha MS, *et al.* Role of host immune response and viral load in the differential outcome of pandemic H1N1 (2009) influenza virus infection in Indian patients. *PloS one* 2010,**5**.

84. Capsoni F, Minonzio F, Ongari AM, Carbonelli V, Galli A, Zanussi C. IL-10 up-regulates human monocyte phagocytosis in the presence of IL-4 and IFN-gamma. *Journal of leukocyte biology* 1995,**58**:351-358.

85. Mao H, Tu W, Liu Y, Qin G, Zheng J, Chan PL, *et al.* Inhibition of human natural killer cell activity by influenza virions and hemagglutinin. *Journal of virology* 2010,**84**:4148-4157.

86. Mao H, Tu W, Qin G, Law HK, Sia SF, Chan PL, *et al.* Influenza virus directly infects human natural killer cells and induces cell apoptosis. *Journal of virology* 2009,**83**:9215-9222.

87. York IA, Johnson DC. Direct contact with herpes simplex virus-infected cells results in inhibition of lymphokine-activated killer cells because of cell-to-cell spread of virus. *The Journal of infectious diseases* 1993,**168**:1127-1132.

88. Chehimi J, Bandyopadhyay S, Prakash K, Perussia B, Hassan NF, Kawashima H, *et al.* In vitro infection of natural killer cells with different human immunodeficiency virus type 1 isolates. *Journal of virology* 1991,**65**:1812-1822.

89. Isobe Y, Sugimoto K, Yang L, Tamayose K, Egashira M, Kaneko T, *et al.* Epstein-Barr virus infection of human natural killer cell lines and peripheral blood natural killer cells. *Cancer research* 2004,**64**:2167-2174.

90. Lopez-Verges S, Milush JM, Schwartz BS, Pando MJ, Jarjoura J, York VA, *et al.* Expansion of a unique CD57(+)NKG2Chi natural killer cell subset during acute human cytomegalovirus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011,**108**:14725-14732.

91. Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Parente E, Gruen J, Morandi B, *et al.* CD62L expression identifies a unique subset of polyfunctional CD56dim NK cells. *Blood* 2010,**116**:1299-1307.

92. Lopez-Verges S, Milush JM, Pandey S, York VA, Arakawa-Hoyt J, Pircher H, *et al.* CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56dimCD16+ NK-cell subset. *Blood* 2010,**116**:3865-3874.

93. Luyt CE, Combes A, Deback C, Aubriot-Lorton MH, Nieszkowska A, Trouillet JL, *et al.* Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2007,**175**:935-942.

94. Osawa R, Singh N. Cytomegalovirus infection in critically ill patients: a systematic review. *Critical care* 2009,**13**:R68.

95. Wolf AI, Buehler D, Hensley SE, Cavanagh LL, Wherry EJ, Kastner P, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells are dispensable during primary influenza virus infection. *Journal of immunology* 2009,**182**:871-879.

96. Paquette SG, Banner D, Zhao Z, Fang Y, Huang SS, Leomicronn AJ, *et al.* Interleukin-6 is a potential biomarker for severe pandemic H1N1 influenza A infection. *PloS one* 2012,**7**:e38214.



