



Université Libanaise

École Doctorale
Sciences et Technologies



Doctorat Université Libanaise

THESE EN COTUTELLE

Pour obtenir le grade de Docteur délivré par

L'Université Lille 2 Droit et Santé

Spécialité: Immunologie

et

L'Ecole Doctorale des Sciences et Technologie

(Université Libanaise)

Spécialité: Microbiologie alimentaire et médicale

Présentée et soutenue publiquement par

Ranin Beshara

Le 26 Octobre 2018

Impact d'une infection par le virus grippal de type A sur la myélopoïèse

Directeur de thèse Français: **Dr. Christelle Faveeuw**

Directeur de thèse Libanais: **Dr. Fouad Dabboussi**

Membres du Jury

Dr. Georges Bahr, Université Balamand, Liban

Rapporteur

Dr. Hamida Hammad, Université de Ghent, Belgique

Rapporteur

Dr. Julie Helft, Institut curie, France

Examineur

Dr. Laure Al Chamy, Université Saint Joseph, Liban

Examineur

*A mes parents,
A mes petits neveux Joseph et Chris*

“The fruit of your own hard work is the sweetest”
~~ **Deepika Padukone** ~~

Remerciements

En préambule, je tiens à exprimer ma sincère gratitude à tous ceux qui m'ont apporté leur aide dans l'élaboration de ce projet ainsi qu'à ceux qui ont contribué à rendre possible la réalisation de ce travail de thèse.

Je tiens tout d'abord à adresser mes grands remerciements aux membres de jury qui, en tant que président, rapporteurs et examinateurs à avoir accepté d'évaluer mon travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au directeur de l'équipe 12 **Dr. François Trottein** pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire. Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée.

Je voudrais adresser mes grands remerciements tout particulièrement à ma directrice de thèse **Dr. Christelle Faveuw** pour l'encadrement scientifique ainsi pour le temps que tu as consacré pour moi afin de réaliser ce projet. Merci pour ta patience et pour ton accompagnement dans mes premiers pas au laboratoire pour réaliser ce projet. Les connaissances, le savoir-faire et les conseils que tu m'as transmis sont et resteront très précieux pour moi.

Je tiens également à remercier le directeur de l'équipe à l'université libanaise **Dr. Monzer Hamze**, de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet. Les conseils scientifiques et humaines que vous m'avez transmis sont très précieux pour moi.

Un grand merci pour mon directeur de thèse **Dr. Fouad Dabboussi** pour la confiance que vous m'avez attribué pendant ces 3 ans. Je tiens également à vous exprimer mes gratitude et mon appréciation pour tout ce que vous avez fait pour moi. Vous m'avez donné de l'énergie positive !!

J'aimerais aussi adresser un grand merci pour le co-directeur de thèse **Dr. Bachar Ismail** pour le temps que vous m'avez consacré. Vos conseils et votre soutien scientifique et moral ont été une grande aide pour moi.

Mes remerciements particuliers vont aussi pour **Maya Hassan, Reem Ghinnagow, Eva Vilain et Luciana Tavares**. Ce fut un grand plaisir de vous rencontrer. Merci pour votre amitié et pour votre support dans les moments difficiles et dans les grosses journées qui duraient plus de 12 heures. Je vous aime !

Je voudrais également remercier mes chers amis **Mazen Zaylaa** et **Michel Hosny** pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mon travail et de mes voyages.

Valentin Sencio et **Daphnée Soulard**, quelques mots ne soient pas suffisants pour vous exprimer ma sincère gratitude pour votre aide dans les manipes durant mon dernier séjour au Liban. Un immense merci !

Merci **Jean-claude**, **Isabelle**, **Christophe** et **Philippe** pour vos conseils et suggestions scientifiques lors des réunions de l'équipe.

Je tiens aussi à remercier de tout mon cœur les membres de l'équipe 12. J'ai eu un grand plaisir de travailler avec vous et de connaître vous tous, **Asma**, **Mélina**, **Lucie**, **Anne-France**, **Emilie**, **Laurye**, **Christophe C.**, **Delphine**, **Laura**, **Muriel**, **Gwen**, **Bachirou**, **Gaelle**, **Olivia**, **Fahima**, **Fior** et **Aneesh**.

Enfin, de tout cœur, j'adresse tout mon affection à ma famille, à mon frère **Wissam** et mes sœurs **Salwa**, **Bouchra** et la petite **Rana**, à ma mère **Maguy** et mon père **Youssef** et à mon cousin de cœur **Charbel**. Quelques lignes ne sont pas suffisantes pour vous exprimer mes reconnaissances. Malgré mon éloignement durant mon séjour en France, vous étiez toujours là pour moi. Merci pour les motivations et le soutien que vous m'avez apporté pour dépasser les moments difficiles et aller jusqu'au bout. J'espère être toujours à la hauteur de vos attentes.

Mes petits-neveux **Joseph** et **Chris** votre présence et votre sourire sont une véritable force et une source de bonheur. Je vous aime infiniment !

Ce travail a été rendu possible grâce à la bourse de Conseil National de la Recherche Scientifique de la République Libanaise (CNRS-L) et une bourse de l'Université Libanaise (UL). Ce projet n'aurait pas été possible sans le financement et les subventions de l'Inserm, du CNRS, de l'Université de Lille, l'Institut Pasteur de Lille, la Région Hauts de France et l'Agence Nationale de la Recherche.

Cadre de travail

- Laboratoire

Mon travail a été effectué au sein de l'Institut Pasteur de Lille - Centre d'infection et d'immunité de Lille - dirigé par le Dr. Camille Locht. Plus précisément, mon travail a été réalisé dans l'équipe 12 : « Lung Infection and Innate Immunity » animée par le Dr. François Trottein. Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une co-tutelle de thèse entre Laboratoire de Microbiologie, Santé et Environnement (LMSE), dirigé par Dr. Monzer HAMZE et affilié à l'école doctorale de Sciences et biotechnologies, Faculté de Santé Publique, Université Libanaise et l'Université de Lille.

-Financement

Ce projet a été financé par une bourse doctorale du Conseil national de la recherche scientifique de la République libanaise (CNRS-L) et de l'Université libanaise (programme de prix CNRS-L / UL PhD). Ce travail a été financé par les subventions de l'Inserm, du CNRS, de l'Université de Lille, l'Institut Pasteur de Lille, la Région Hauts de France et l'Agence Nationale de la Recherche.

Table de matières

<i>Liste des Figures</i>	1
<i>Liste des Abréviations</i>	2
<i>Résumé</i>	7
<i>Summary</i>	7
<i>Introduction</i>	10
Chapitre 1 Les cellules dendritiques.....	11
1 Les sous-populations de DC	11
1.1 Les DC classiques ou conventionnelles.....	12
1.2 Les DC non classiques.....	14
2 Les caractéristiques générales de DC	17
2.1 Traitement et présentation de l'antigène	17
2.2 Migration	21
2.3 Activation des lymphocytes T	21
Chapitre 2 Hématopoïèse: Développement de la lignée myéloïde.....	23
1 Hématopoïèse.....	23
2 La myélopoïèse	25
2.1 La DCpoïèse	27
2.2 La monopoïèse.....	29
3 Homologie chez l'homme.....	30
4 Les facteurs de croissance.....	31
4.1 Flt3-L.....	31
4.2 GM-CSF	33
4.3 M-CSF	35
Chapitre 3 Régulation de l'hématopoïèse et de la myélopoïèse durant l'infection	36
1 Mécanismes d'interférence virale avec l'hématopoïèse	36
1.1 Infection virale directe des HSPC	36
1.2 Reconnaissance directe des PAMPs viraux.....	37
1.3 Effet des cytokines pro-inflammatoires sur l'hématopoïèse	39
1.4 Impact de l'altération du microenvironnement de la MO après une infection virale sur l'hématopoïèse.....	40

2	L'altération de la myélopoïèse durant l'infection.....	42
Chapitre 4 La grippe : agent infectieux, aspects cliniques et épidémiologie.....		46
1	Classification et structure de virus grippaux A.....	46
2	Le cycle de réplication virale.....	47
2.1	Fixation du virus sur la cellule hôte.....	47
2.2	Endocytose de la particule virale.....	48
2.3	Passage nucléaire des ARN négatifs	48
2.4	Transcription et réplication virale.....	48
2.5	Synthèse des protéines virales	49
2.6	Bourgeonnement.....	50
2.7	Libération des nouveaux virions.....	50
3	Transmission et symptômes.....	51
4	Diagnostique et traitement	52
5	Epidémiologie	53
5.1	Variabilité antigénique	53
5.2	Epidémies	54
5.3	Pandémies.....	55
Chapitre 5 La réponse immunitaire dirigée contre le virus <i>influenza A</i>		56
1	La réponse immunitaire innée.....	56
1.1	Détection du virus grippal par les récepteurs de l'immunité innée	56
1.2	Les cellules intervenant dans l'immunité innée contre la grippe	61
1.3	La réponse immunitaire adaptative.....	74
Chapitre 6 Les mécanismes responsables de la surinfection bactérienne.....		77
1	Altération du tractus respiratoire suite à une infection par <i>influenza A</i>	77
1.1	Changements mécaniques de l'épithélium pulmonaire	77
1.2	Changements dans la fonction des voies respiratoires	78
2	Le virus grippal altère la réponse immunitaire contre les bactéries.....	79
2.1	Altération de la réponse immunitaire innée.....	79
2.2	Acteurs de la réponse immunitaire adaptative.....	84
3	Moyens thérapeutiques pour traiter la surinfection	86
Objectifs		89
Matériels et méthodes		92

Résultats	99
Discussion	121
1 Les conséquences de l'infection grippale sur l'homéostasie des DC pulmonaires	123
2 Comment expliquer la diminution du nombre de progéniteurs de cDC?	125
2.1 La diminution des progéniteurs de cDC n'est pas liée à une apoptose accrue ou à un recrutement augmenté vers la périphérie.....	125
2.2 Les progéniteurs de cDC ne sont pas altérés intrinsèquement après une infection grippale	126
2.3 La diminution des progéniteurs de cDC peut s'expliquer par une accélération de la monopoïèse durant une infection par IAV	127
2.4 Les cytokines pro-inflammatoires ne sont pas impliquées dans la chute du nombre des progéniteurs de cDC	129
2.5 Altération dans les facteurs de différenciation des DC	131
3 Quelles sont les conséquences de la chute de cDC lors d'une infection par IAV?	133
4 Le Flt3-L dans le contexte d' <i>Influenza</i> : une nouvelle stratégie thérapeutique dans la restauration du nombre de cDC et la protection contre la surinfection bactérienne	134
5 Les mécanismes possibles par lesquels les cDC assurent une protection contre l'infection bactérienne post-grippale	136
Conclusion et perspectives	138
Bibliographie	141
Annexe	190

Liste des Figures

Figure 1: Les différentes populations de DC et leur localisation.....	17
Figure 2: Les voies classiques de présentation de l'antigène par les molécules du CMH-I et CMH-II.	20
Figure 3: Hématopoïèse murine: Développement des cellules sanguines à partir des CSH au niveau de la MO.	24
Figure 4: La myélopoïèse dans la MO murine.	26
Figure 5: Développement des cDC dans un modèle murin.	28
Figure 6: Voies de signalisation médiées par l'interaction du Flt3-L/Flt3.	33
Figure 7: Les quatre mécanismes par lesquels les infections virales peuvent influencer la fonction des HSPC.	42
Figure 8: Structure du virus influenza A.....	47
Figure 9: le cycle de réplication virale.	51
Figure 10: La reconnaissance du virus de l'influenza A par les récepteurs du système immunitaire inné (PRR).	60
Figure 11: Induction de l'immunité humorale et cellulaire par les DC contre la grippe....	65
Figure 12: Les sous-populations de DC pulmonaires durant une infection virale.	71
Figure 13: Les mécanismes responsables de la surinfection bactérienne après la grippe....	86
Figure 14: L'infection grippale conduit à diminution du nombre de progéniteurs de DC, dépendant du temps.....	101
Figure 15: L'infection grippale affecte la différenciation des sous-populations de pre-cDC dans la MO.	103
Figure 16: L'infection par IAV n'induit pas une sortie excessive ni l'apoptose de progéniteurs de DC dans la MO.....	105
Figure 17: L'infection par le virus grippal n'induit pas une altération intrinsèque de DC mais affecte la production de Flt3-L et GM-CSF.	107
Figure 18: L'infection par le virus grippal induit une accélération de la monopoïèse dans la MO.....	111
Figure 19: La neutralisation des cytokines pro-inflammatoires ne rétablit pas le nombre de progéniteurs de DC dans la MO.	113
Figure 20: La surexpression du Flt3-L au cours d'une infection par IAV restaure la DCpoïèse et est associée à une expression accrue des gènes impliqués dans l'intégrité de la barrière pulmonaire.....	117
Figure 21: Le traitement par Flt3-L au cours de la grippe protège partiellement contre une infection à pneumocoque secondaire.....	119

Liste des Abréviations

A

ARN : acide ribonucléique

ARNv: acide ribonucléique viral

ADCC: Antibody-Dependent Cell-Mediated *Cytotoxicity*

α -GalCer: α -galactosylceramide

Ac: anticorps

B

Batf3: Basic Leucine Zipper ATF-Like Transcription Factor 3

BAL: Bronchoalveolar Lavage

C

cDC: cellules dendritiques conventionnelles

CMP: Common Myeloïd Progenitors

CLP: Common Lymphoïd Progenitors

cMoP: Common Monocyte Progenitors

CDP: Common Dendritic cell Progenitors

CD: Cluster of Differentiation

CMH : Complexe Majeure d'Histocompatibilité

CPA : Cellule Présentatrice de l'Antigène

CMV: Cytomegalovirus

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CSM: Cellules Stromales Mésoenchymateuses

CE: Cellules Endothéliales

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease

D

DC: Dendritic Cells

F

FLt3-L: Fms-like tyrosine kinase 3 ligand

Fc: Fragment cristallisable

G

GMP: Granulocyte Monocyte Progenitors

GMDP: Granulocyte-Monocyte Dendritic cell Progenitors

GM-CSF: Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor

G-CSF: Granulocyte Colony-Stimulating Factor

H

HLA: Human Leukocyte Antigen

HSPC: Hematopoietic Stem and Progenitors Cells

HCV: Hepatitis C virus

HHV: Human Herpes Virus

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HTLV: Human T-Lymphotropic Virus

HA: Hémagglutinine

I

IAV: Influenza type A Virus

IRF: Interferon-Regulatory Factor

Id2: Inhibitor of DNA binding 2

IFN: Interféron

Ig: Immunoglobuline

IL: Interleukine

IKDC: Interferon-producing Killer DC

IFNARKO: type I interferon Receptor Knock Out

iNKT: invariant Natural Killer T cell

iNOS: inducible Nitric Oxide Synthase

L

LC: Langerhans Cells

LT-HSC: Long Term Hematopoietic Stem Cells

LB: Lymphocyte B

LT: Lymphocyte T

LPS: Lipopolysaccharide

M

MO: Moelle Osseuse

MPP : Multipotent Progenitors

MEP: Megakaryocyte Erythroid Progenitors

MDP: Monocyte-Dendritic cells Progenitors

MPS: Mononuclear Phagocyte System

moDC: monocyte-derived Dendritic Cell

Mo: Monocytes

MYD88: Myeloid differentiation primary response 88

MDSC: Myeloid-Derived Suppressor Cells

MARCO: Macrophage Receptor with Collagenous structure

M-CSF: Macrophage Colony-Stimulating Factor

mAc: anticorps monoclonaux

N

NLR: NOD-Like Receptor

NLRP3: NOD-Like Receptor Pyrin domain containing 3

NFIL3: Nuclear Factor Interleukin-3

NK: Natural Killer

NEP: Nuclear Export Protein

NS1 : Non Structural protein 1

NeuAc : acides N- Acétylneuraminiques

NLS: Nuclear Localization Sequence

NP: Nucléoprotéine

NFκB: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NKG2D: Natural Killer Group 2D

NETs: Neutrophils Extracellular Traps

NA : Neuraminidase

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P

pDC : cellules dendritiques plasmacytoïdes

pre-cDC: conventional dendritic cell precursor

pre-pDC: plasmacytoïd dendritic cell precursor

PRR: Pattern Recognition Receptor

PAMPs: Pathogen-Associated Molecular Pattern

R

RLR: RIG-Like Receptor

RNP: Ribonucléoprotéines

RdRp: ARN polymérase ARN-dépendante

ROS: Reactive Oxygene Species

RT-qPCR : Reverse transcription, quantitative Polymerase Chain Reaction

S

ST-HSC: Short Term Hematopoietic Stem Cells

SIV: Simian Immunodeficiency Virus

SA: Sialic Acid

S. pneumoniae: Streptococcus pneumoniae

T

TipDC: TNF- α and iNOS-producing DC

TLR: Toll-Like Receptor

TCR: T Cell Receptor

TRAIL: TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand

Th: T helper

Treg: T régulatrices

Tc: cytotoxic *T lymphocytes*

W

WT: Wild-Type

Résumé

L'infection par le virus de la grippe, ou le *Myxovirus influenzae* de type A (IAV), constitue l'une des causes les plus importantes de maladies des voies respiratoires dans le monde. Elle conduit également à des épidémies récurrentes avec des taux élevés de morbidité et de mortalité. Des surinfections bactériennes, principalement causées par *Streptococcus pneumoniae* (pneumonie), sont souvent associées à la grippe et contribuent de manière significative à l'excès de mortalité. La perturbation de l'intégrité des tissus pulmonaires et la diminution de l'immunité antibactérienne au cours de l'infection par IAV sont à l'origine de la colonisation et à la dissémination des bactéries.

L'infection grippale entraîne une altération profonde du compartiment de cellules myéloïdes pulmonaires caractérisée par une altération numérique ou fonctionnelle des cellules sentinelles - les macrophages alvéolaires et les cellules dendritiques conventionnelles (cDC) - et par un recrutement de cellules myéloïdes inflammatoires -les neutrophiles, les monocytes inflammatoires ou encore les cellules dendritiques inflammatoires.

Les cellules myéloïdes sont originaires de la moelle osseuse (MO). Lors d'infections, la myélopoïèse peut être profondément affectée afin de maintenir la production et la mobilisation de cellules myéloïdes inflammatoires au niveau du site d'infection. A l'heure actuelle, les conséquences de l'infection grippale sur la myélopoïèse restent encore mal connues.

Dans notre projet, nous rapportons que l'infection grippale conduit à une diminution transitoire du nombre de cDC (cDC1 et cDC2) dans les poumons qui coïncide avec une chute dans la MO, du nombre de progéniteurs/précurseurs impliqués dans la génération des cDC (CDP, pre-cDC et plus particulièrement les pre-cDC1). Cette diminution de la "DCpoïèse" est associée à une accélération de la génération des monocytes, *i.e.* monopoïèse. La différenciation altérée des cDC est indépendante des cytokines pro-inflammatoires et n'est pas due à un dysfonctionnement intrinsèque des précurseurs de cDC. De façon intéressante, nous rapportons que ces altérations au niveau de la MO sont associées à une diminution de la production de Flt3-L ou *Fms-like tyrosine kinase 3 ligand*, un facteur crucial pour la différenciation des DC. La supplémentation en Flt3-L au cours de la grippe rétablit la différenciation des progéniteurs de cDC dans la MO et restaure le compartiment des cDC pulmonaires. De façon intéressante, cette restauration s'accompagne d'une

protection partielle contre l'infection pneumococcique secondaire caractérisée par une réduction de la charge bactérienne, une amélioration de la pathologie pulmonaire et une survie prolongée.

Summary

Influenza type A virus (IAV) infection, is one of the most important causes of respiratory diseases worldwide. It also leads to recurrent epidemics with high rates of morbidity and mortality. Secondary bacterial infections, mainly caused by *Streptococcus pneumoniae* (pneumonia), are often associated with *influenza* and contribute significantly to excess mortality. Disruption of lung tissue integrity and impaired antibacterial immunity during IAV infection participate in bacterial pulmonary colonization and dissemination out of the lungs.

Influenza infection leads to a profound alteration in the pulmonary myeloid cell compartment characterized by numeric or functional alteration of sentinel cells (alveolar macrophages and conventional dendritic cells (cDC)) and recruitment of inflammatory myeloid cells (neutrophils, inflammatory monocytes and inflammatory dendritic cells).

Myeloid cells originate from the bone marrow (BM). During infections, myelopoiesis may be profoundly affected in order to maintain the production and mobilization of inflammatory myeloid cells to the site of infection. At present, the consequences of influenza infection on myelopoiesis remain poorly understood.

In our project, we report that influenza infection leads to a transient decrease in the number of cDC (cDC1 and cDC2) in the lungs, and severely impairs the number of BM progenitors committed to the DC lineage (CDP, pre-cDC and, most importantly, the cDC1-biased pre-DC lineage). This reduction was associated with an increase in the production of monocytes in the BM (monopoiesis). The altered cDC differentiation was independent of pro-inflammatory cytokines and was not due to an intrinsic dysfunction of cDC precursors. Defective DC genesis during influenza was associated with a decrease in the production of the key cDC differentiation factor, Fms-like tyrosine kinase 3 ligand (Flt3-L). Importantly, Flt3-L overexpression during influenza restores the differentiation of BM progenitors into cDC - a phenomenon associated with repopulation of cDC in the lungs. The restoration of pulmonary cDC associates with a partial protection against secondary pneumococcal infection characterized by reduced bacterial loads, improved pathological outcomes and prolonged survival.

Introduction

Chapitre 1 Les cellules dendritiques

Historiquement, Ralph Steinman et Zanvil Cohn ont mis en évidence la présence d'une population rare de cellules qui ont une morphologie étoilée distincte. Ces cellules ont été nommées cellules dendritiques (DC), en grec « *dendron* », qui signifie arbre en référant à leur morphologie qui consiste en de longues ramifications cytoplasmiques. Elles ont d'abord été décrits comme des cellules sentinelles et mobiles, surveillant les tissus (Steinman *et al.*, 1973). En plus de leur caractère morphologique, il a été montré que les DC expriment la molécule du CMH (*Complexe Majeure d'Histocompatibilité*) chez la souris, ou l'équivalent HLA chez l'homme (*Human Leukocyte Antigen*) (Zinkernagel *et al.*, 1974). Grâce à l'expression de ces molécules, les DC sont considérées comme la population majeure de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) professionnelles qui ont une forte capacité à activer les lymphocytes T naïfs (Nussenzweig *et al.*, 1980). Les DC peuvent dégrader tous les pathogènes qu'elles captent, mais contrairement aux autres CPA comme les macrophages et les lymphocytes B, le rôle principal des DC n'est pas la clairance des pathogènes, mais plutôt d'activer les LT naïfs dans les ganglions lymphatiques. Les DC sont donc à l'interface entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Pour cette découverte, le prix de Nobel a été décerné à Ralph Steinman en 2011 (Shortman, 2012).

Les DC représentent une population très hétérogène (Mildner *et al.*, 2014). La plupart des sous populations de DC ont une courte durée de vie *in vivo* (2-10 jours) et sont donc continuellement générées à l'homéostasie et en cas d'inflammation (Kovats, 2012).

1 Les sous-populations de DC

Les DC sont principalement divisées en deux sous types : (1) les DC classiques ou conventionnelles (cDC1 et cDC2) et (2) les DC non-classiques : les pDC (DC plasmacytoïdes), moDC (*monocyte-derived DC*) et les LC (*Langerhans Cells*). Ces diverses sous populations de DC se différencient par leur ontogenèse (décrit dans le chapitre 2) mais aussi leur localisation (**Figure 1**), leur sécrétion de cytokines ainsi que leurs propriétés fonctionnelles (Mildner *et al.*, 2014).

1.1 Les DC classiques ou conventionnelles

Les cDC peuvent être divisées en deux sous-populations, caractérisées principalement par l'expression de CD8 α /CD103 (cDC1) ou de CD11b (cDC2).

1.1.1 Les DC CD8 α /CD103 ou cDC1

L'hétérogénéité au sein de cette sous population de DC a d'abord été démontrée par le groupe de Shortman et Steinman, qui a découvert des DC exprimant CD8 α dans des organes lymphoïdes murins (Crowley *et al.*, 1989) (Vremec *et al.*, 1992). Une population équivalente existe également dans les tissus non lymphoïdes, bien que ces cellules n'expriment pas CD8 α mais sont identifiées par l'expression de l'intégrine CD103 ($\alpha_E\beta_7$) et de CD24 (Bursch *et al.*, 2007) (M. L. del Rio *et al.*, 2007). Chez l'homme, les DC BDCA3⁺ (CD141⁺) sont les cellules équivalentes des cDC CD8 α ⁺ / CD103⁺ (Jose A. Villadangos *et al.*, 2010).

Des études transcriptomiques chez la souris ont montré que les cDC1 CD8 α dans les organes lymphoïdes et les CD103 dans les organes non lymphoïdes partagent un profil génomique similaire malgré leur environnement tissulaire différent (Miller *et al.*, 2012). En effet, les cDC1 (CD8 α ⁺ et CD103⁺) sont dérivées de précurseurs de cDC, appelés pre-cDC (*conventional dendritic cell precursor*) et leur développement dépend des facteurs de transcription Batf3, Id2, IRF8 et NFIL3. La délétion de l'un ou l'autre de ces gènes conduit à un défaut dans leur développement (Aliberti *et al.*, 2003) (K. Hildner *et al.*, 2008) (Kashiwada *et al.*, 2011) (F. Ginhoux *et al.*, 2009).

Les cDC1 (CD8 α ⁺) représentent 20~40% des cDC de la rate et des ganglions lymphatiques. De façon similaire aux CD103⁺, les CD8 α ⁺ n'expriment pas le CD11b ou d'autres marqueurs de macrophages. Par contre, elles expriment des niveaux élevés de Flt3 (*FMS-like tyrosine kinase 3 Receptor*) et prolifèrent en réponse au Flt3-L (*FMS-like tyrosine kinase 3 Ligand*) (Claudia Waskow *et al.*, 2008b). Les cDC1 spléniques sont fonctionnellement spécialisées dans la présentation croisée des antigènes exogènes par les molécules du CMH-I aux LT CD8⁺ (den Haan *et al.*, 2000). Les cDC1 présentent des antigènes glycolipidiques via la molécule CD1d et peuvent activer les iNKT (*invariant Natural Killer T cells*) qui vont ensuite produire rapidement des cytokines Th1 ou Th2 (Stoyan Ivanov *et al.*, 2012) (P. Arora *et al.*, 2014) (Macho-Fernandez *et al.*, 2014).

Les cDC1 se caractérisent par l'expression de TLR (*Toll-Like Receptor*)-3, TLR11, le récepteur d'épuration CD36 et la lectine de type C, Clec9A (A. D. Edwards *et al.*, 2003) (Davey *et al.*, 2010).

Les cDC1 produisent également de nombreuses autres cytokines et chimiokines en réponse à des ligands de TLR, y compris l'IL-6, le TNF- α et RANTES (Macri *et al.*, 2017). Le récepteur de chimiokines XCR1 (*X-C motif Chemokine Receptor 1*) a été identifié comme un marqueur exprimé uniquement sur les cDC1 chez l'homme et la souris (Bachem *et al.*, 2010) (Croizat *et al.*, 2010) (Dorner *et al.*, 2009). En réponse à une stimulation par TLR3, les cDC1 produisent principalement l'IL-12p70 et favorise la présentation croisée des antigènes viraux ou tumoraux (M.-L. del Rio *et al.*, 2007). De plus, il a été démontré que la déplétion des cDC1 chez les souris *batf3*^{-/-} diminue la présentation croisée aux lymphocytes cytotoxiques, des antigènes dérivés du virus WNV (*West Nile Virus*) ou de tumeurs (Kai Hildner *et al.*, 2008)

Etant donné leur contribution majeure à l'activation des lymphocytes T cytotoxiques, les cDC1 constituent une cible de choix quant à l'utilisation des cDC dans le traitement anti-viral et anti-tumoral.

1.1.2 Les DC CD11b ou cDC2

Les cDC2 sont les plus abondantes parmi les DC dans les organes lymphoïdes, à l'exception du thymus, et sont également retrouvées dans les tissus non lymphoïdes. Elles se caractérisent par l'expression de l'intégrine CD11b et de SIRP α (CD172 α) (M. Williams *et al.*, 2014) (Florent Ginhoux *et al.*, 2014). Les cDC2 chez l'homme expriment la molécule CD1c. Les facteurs de transcription qui contrôlent leur développement comprennent RelB (Briseño *et al.*, 2017), NOTCH2 (Lewis *et al.*, 2011), RBP-J (Caton *et al.*, 2007), IRF2 (Ichikawa *et al.*, 2004) et IRF4 (Suzuki *et al.*, 2004). Contrairement aux cDC1, une analyse transcriptomique montre que les cDC2 forment une population hétérogène qui reste moins bien caractérisée (Jaitin *et al.*, 2014). Ces cellules peuvent être distinguées en fonction de l'expression de marqueurs de surface, tels que CD4 ou encore ESAM (*Endothelial cell-Selective Adhesion Molecule*) (Lewis *et al.*, 2011). Une analyse génomique comparative a montré que les cDC CD4⁻ Esam^{lo} CD11b⁺, mais pas les CD4⁺ Esam^{hi} CD11b⁺, avaient une signature monocyttaire y compris l'expression des récepteurs de cytokines (*Csf1r* et *Csf3r*) et de chimiokines (*Ccr2*), ainsi que le lysozyme (Lewis *et al.*, 2011).

En raison de leur forte expression de molécules du CMH-II, les cDC2 ont une capacité supérieure, comparativement aux cDC1 à activer les LT CD4⁺ dans les organes lymphoïdes, plus particulièrement les lymphocytes Th2 et les Th17 qui sont impliqués dans la réponse immunitaire

contre les pathogènes extracellulaires (A. Schlitzer *et al.*, 2013) (Lewis *et al.*, 2011). Récemment, il a été montré que cette propriété était attribuée à leur expression du facteur de transcription IRF4 (Vander Lugt *et al.*, 2014). Les cDC2 expriment principalement les TLR2 et les TLR7 (Alexander D. Edwards *et al.*, 2003). Elles sont également caractérisées par leur production de cytokines, telles que IL-6 (Persson *et al.*, 2013), IL-23 (A. Schlitzer *et al.*, 2013), TNF- α et faiblement l'IL-10 (Macri *et al.*, 2017). Elles ont également la capacité à produire l'IFN-I, plus particulièrement IFN- α , et d'IL-12 mais moins que cDC1 (Luber *et al.*, 2010). Finalement, les cDC2 spléniques après activation de leurs TLR (TLR-2, 3, 4, 7 et 9), constituent des sources importantes de chimiokines pro-inflammatoires, telles que CCL3, CCL4, et CCL5 (Proietto *et al.*, 2004).

A l'égard de leurs rôles cruciaux dans la polarisation de la réponse T CD4 vers Th2 et Th17 via les cytokines produites, les cDC2 peuvent intervenir dans les stratégies thérapeutiques qui visent à traiter les maladies auto-immunes et les maladies infectieuses.

1.2 Les DC non classiques

1.2.1 Les DC plasmacytoïdes

Les pDC ont été identifiées d'abord chez l'homme (F. P. Siegal *et al.*, 1999) et plus tard chez la souris (Asselin-Paturel *et al.*, 2001). Elles représentent une population rare de DC (0,3-0,5% du sang périphérique humain ou des organes lymphoïdes murins) (Sozzani *et al.*, 2010) (Reizis *et al.*, 2011). Les pDC circulent dans le sang et sont présentes dans les organes périphériques et présentent un phénotype et une morphologie ronde caractéristique des lymphocytes (Reizis *et al.*, 2011). De même, ces cellules sont distribuées dans les voies aériennes ainsi que dans le parenchyme et les septa alvéolaires du poumon. Les pDC partagent des caractéristiques communes avec les cDC, telles que leur développement dépendant de Flt3-L (D. Kingston *et al.*, 2009) et une capacité à activer les cellules T mais d'une façon plus faible que les cDC (Sapoznikov *et al.*, 2007). Les pDC expriment faiblement le CD11c, les molécules du CMH et les molécules de co-stimulation (Miriam Merad *et al.*, 2013b). La faible expression de ces récepteurs justifie la faible tendance de pDC, par rapport aux cDC, à initier la réponse des lymphocytes T naïfs (J. A.

Villadangos *et al.*, 2008). Elles expriment également une gamme étroite de TLR, y compris le TLR7 et le TLR9. L'activation de ces récepteurs par des antigènes viraux induit la production massive d'IFN-I (Nakano *et al.*, 2001) (F. P. Siegal *et al.*, 1999) par la voie de MYD88 (*Myeloid differentiation primary response 88*) -IRF7, ce qui souligne le rôle crucial des pDC dans la réponse anti-virale (Honda *et al.*, 2005).

1.2.2 Les moDC

Plusieurs études ont mis en évidence la présence des DC inflammatoires dérivées des monocytes inflammatoires (Mo Ly6C^{high}) appelées aussi moDC (*monocyte-derived DC*) et ont la capacité à migrer vers les organes lymphoïdes et non lymphoïdes (Serbina *et al.*, 2003) (Mildner *et al.*, 2013) (Segura *et al.*, 2013). A l'homéostasie, ces cellules sont retrouvées dans certains tissus comme l'intestin et en cas d'infection sont présentes dans les autres tissus. *In vitro* ces cellules peuvent être générées en présence de GM-CSF (*Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor*) (Helft *et al.*, 2015) ou GM-CSF et IL-4 pour les monocytes humains (Heystek *et al.*, 2000). Les études *in vivo* faites chez la souris montrent que les monocytes génèrent des DC suite à l'activation de TLR4 ou en présence de bactéries (K. V. Chow *et al.*, 2017). Phénotypiquement, les moDC expriment des marqueurs communs avec les cDC (CMH-II, CD11b, CD11c, CCR7 et DC-SIGN qui est également appelé CD209a) mais elles peuvent être distinguées par leur expression de CD64 (FcγRI) (Tamoutounour *et al.*, 2012). De plus, les moDC conservent des marqueurs monocytaires, tels que le CD64 et le Ly6C mais perdent l'expression de M-CSFR (*Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor*) (Plantinga *et al.*, 2013). Etant donné la signature pro-inflammatoire qui caractérise ces cellules et leur développement dépendant du GM-CSF (Greter *et al.*, 2012), les moDC sont considérées comme des monocytes effecteurs plutôt que des DC (Mildner *et al.*, 2013). Cependant, certaines études ont montré leur efficacité dans la présentation de l'antigène aux LT tout comme les cDC (Tamoutounour *et al.*, 2012). De plus, il a été démontré leur contribution dans la réponse cytotoxique par une présentation croisée et en activant les Th1 comme les cDC1 (León *et al.*, 2007) (Ji *et al.*, 2013). De même, les moDC ont également été décrites pour induire des réponses Th2 et Th17 comme les cDC2 (Siddiqui *et al.*, 2010) (Plantinga *et al.*, 2013) (Segura *et al.*, 2013). Selon le contexte, il semble que les moDC peuvent avoir des fonctions similaires à celles de sous-populations de cDC. Des études supplémentaires qui visent à utiliser différentes

marqueurs pour caractériser ces cellules et les distinguer de cDC et des monocytes, vont nous permettre d'améliorer nos connaissances sur leur biologie et leurs fonctions.

1.2.3 Les cellules de Langerhans

Les LC ont été identifiées au 19^{ème} siècle comme une population unique de phagocytes mononuclées retrouvée dans l'épiderme. Les LC expriment les molécules du CMH-II et ont la capacité de stimuler les LT dans une culture *in vitro* (Romani *et al.*, 2010). Les LC sont considérées depuis longtemps comme des DC sentinelles résidentes au niveau du tissu cutané, capables de capter l'antigène de leur environnement et migrer vers les ganglions drainants pour activer les LT naïfs (Romani *et al.*, 1989). Cependant, il n'existe aucune preuve qui affirme ce rôle (Romani *et al.*, 2012). De plus, les LC partagent une origine commune avec la plupart des macrophages tissulaires, ce qui contraste avec les cDC qui ont une durée de vie courte et sont renouvelées à partir des CSH (*Cellules Souches Hématopoïétiques*). Avant la naissance, la population de LC est établie à partir de monocytes dérivés du foie fœtal (Hoeffel *et al.*, 2012). Ainsi, les LC s'auto-renouvellent dans des conditions physiologiques stables sans être remplacées à partir de précurseurs sanguins (Merad *et al.*, 2002). Contrairement aux cDC, le développement des LC est indépendant de Flt3-L (F. Ginhoux *et al.*, 2009) mais nécessite un engagement du récepteur Csf1r par son ligand IL-34 (F. Ginhoux *et al.*, 2006) (Y. Wang *et al.*, 2012). Collectivement, ces données suggèrent que les LC sont plus proches des macrophages que des DC (Mildner *et al.*, 2014).

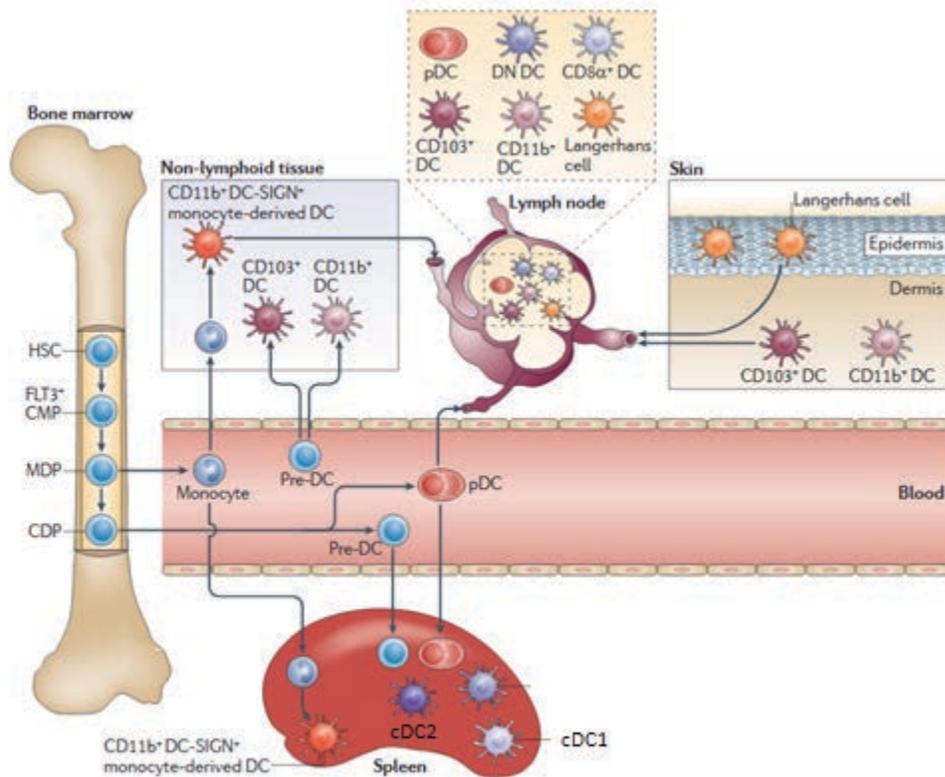


Figure 1: Les différentes populations de DC et leur localisation.

A l'homéostasie, les DC spléniques provenant des pre-cDC et sont divisées en 2 sous-populations de DC classiques : cDC1 et les cDC2. Les ganglions drainants comprennent les DC $CD8\alpha^+$ et $CD8\alpha^-$ mais sont également peuplés par des DC migratoires. Les LC se développent dans l'épiderme et migrent vers les ganglions lymphatiques par des vaisseaux lymphatiques. La population de DC dermiques est largement composée de DC $CD11b^+$ et $CD103^+$, et ces cellules migrent via les vaisseaux lymphatiques vers le ganglion. En réponse à l'inflammation, les monocytes peuvent se développer en moDC, au niveau de la rate et des tissus non-lymphoïdes (Belz *et al.*, 2012).

2 Les caractéristiques générales de DC

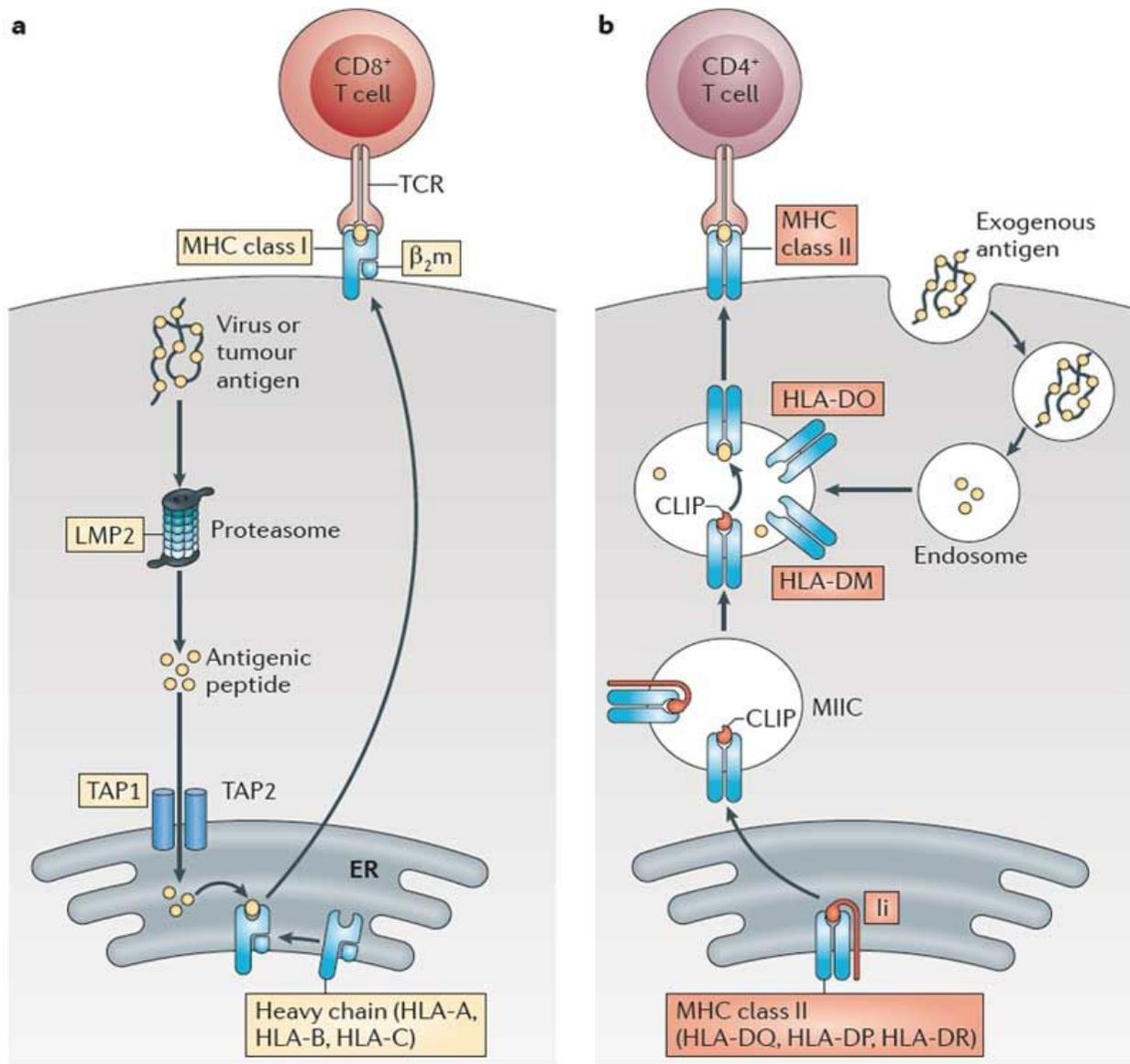
2.1 Traitement et présentation de l'antigène

Les DC captent les antigènes par plusieurs moyens : phagocytose, micro-/macro-pinocytose et endocytose. Le dernier type de capture est médié par les récepteurs Fc (récepteur $Fc\gamma$ de type I ou $CD64$ et $Fc\gamma$ de type II ou $CD32$), les intégrines ($\alpha\beta3$ ou $\alpha\beta5$), les récepteurs de lectines de type

C (CLR, y compris le récepteur du mannose et DEC205), les récepteurs d'épuration (CD36) qui peuvent aussi reconnaître le PtdSer (phosphatidylserine) exprimé à la surface des cellules apoptotiques (Trahtemberg *et al.*, 2017) (Sabado *et al.*, 2017). Généralement, les antigènes endogènes sont présentés par les molécules du CMH-I pour activer les LT CD8⁺ et les antigènes exogènes sur la molécule CMH-II pour activer les LT CD4⁺ par des voies classiques (**Figure 2**). En effet, les antigènes endogènes, qui proviennent de la cellule même, suivent la voie protéasomique où ils vont être dégradés en petits peptides. Ces derniers sont ensuite envoyés vers le réticulum endoplasmique, entrent via la molécule TAP (transporteur du traitement de l'antigène) et se lient aux CMH-I (Vyas *et al.*, 2008). Ensuite, le complexe CMH-I/peptide est transporté par l'appareil de Golgi vers la membrane plasmique des DC pour activer les LT CD8⁺ (**Figure 2a**). Les antigènes exogènes, qui proviennent de l'environnement extracellulaire de la DC, suivent la voie endocytique où ils vont être dégradés en petits peptides. Ces derniers se lient dans le compartiment endosomal avec la molécule de CMH-II. Le complexe CMH-II/peptide est transporté directement vers la membrane plasmique pour activer les LT CD4⁺ (**Figure 2b**) (José A. Villadangos *et al.*, 2001). Les DC sont également capables de réaliser une présentation non conventionnelle des antigènes exogènes sur le CMH-I, qui est connue sous le nom de «présentation croisée» (Bevan, 1976) ; un phénomène crucial dans l'immunité contre les virus, les bactéries intracellulaires et la réponse anti-tumorale (J. Helft *et al.*, 2012) (Rock, 2003) (Sanchez-Paulete *et al.*, 2017). Deux chemins peuvent être empruntés par les DC (voies non classiques) afin de présenter les antigènes exogènes sur les molécules de CMH-I. La voie cytosolique : les antigènes exogènes endocytés et relargués du phagosome sont dégradés par le protéasome et renvoyés vers le phagosome où ils vont s'associer avec le CMH-I. La voie vacuolaire: le phagosome qui contient les antigènes exogènes dégradés, fusionne avec un phagosome qui contient une molécule de CMH-I recyclé de la membrane (Joffre *et al.*, 2012). Les cDC1 sont spécialisées et très efficaces dans ce type de mécanisme (Martin Williams *et al.*, 2014). De façon intéressante, les DC sont également capables de présenter des antigènes cytosoliques endogènes sur les molécules du CMH-II. Cette présentation non conventionnelle a été décrite durant l'autophagie (C. Paludan *et al.*, 2005). Cette voie de présentation est altérée dans les DC déficientes en *atg5*, un gène régulateur de l'autophagie, bien que leur propriété de présentation croisée reste intacte (H. K. Lee *et al.*, 2010).

Les cDC sont les principales populations de DC qui activent les cellules T (J. A. Villadangos *et al.*, 2007). Toutefois, les pDC ont aussi un rôle potentiel dans la capture, le traitement et la

présentation de l'antigène aux cellules T au site d'infection ou dans les ganglions (J. A. Villadangos *et al.*, 2008). En effet, il a été démontré que les pDC activées subissent des changements phénotypiques similaires à ceux des cDC activées qui se traduisent par l'acquisition d'une morphologie dendritique, l'augmentation de l'expression des molécules du CMH et de co-stimulation, permettant aux pDC de présenter l'antigène aux LT (Asselin-Paturel *et al.*, 2001) (Bjorck, 2001; Kadowaki *et al.*, 2001) (Nakano *et al.*, 2001) (Grouard *et al.*, 1997; O'Keeffe *et al.*, 2002). De la même manière, des études ont démontré le rôle des moDC dans la présentation des antigènes aux LT CD8⁺ et à leur expansion en périphérie (Wakim *et al.*, 2008). Ainsi, les moDC peuvent aussi être impliquées dans la présentation croisée à l'origine d'une réponse cytotoxique (Ji *et al.*, 2013) (León *et al.*, 2007).



Nature Reviews | Immunology

Figure 2: Les voies classiques de présentation de l'antigène par les molécules du CMH-I et CMH-II.

(a) : Les antigènes intracellulaires, tels que les virus ou les antigènes tumoraux, sont transformés en petits peptides composés de plusieurs sous-unités, y compris LMP2. Les peptides sont transportés, via TAP, dans le réticulum endoplasmique (ER), où ils sont chargés sur la molécule de CMH-I, qui est composé d'une chaîne lourde et de β_2m . La molécule de CMH-I présente les peptides à la surface des cellules pour activer les LT CD8⁺. **(b) :** Les antigènes provenant de sources extracellulaires, tels que des antigènes bactériens, sont traités par des enzymes endolysosomales et dégradés en petits peptides. Ces peptides se lient avec la molécule CMH-II en déplaçant le peptide à chaîne invariante associé à la classe II (CLIP), qui est dérivé de la chaîne invariante (Ii) associée à la molécule de CMH-II. HLA-DO et HLA-DM régulent le processus de chargement de l'antigène. Le complexe CMH-II présente des antigènes exogènes aux LT CD4⁺ (Kobayashi *et al.*, 2012).

2.2 Migration

Etant donné leur localisation au niveau des barrières corporelles et des orifices d'entrée des organes, les DC constituent une barrière immunitaire efficace face aux pathogènes (Mildner *et al.*, 2014). Les DC immatures présentent au niveau de ces barrières/orifices expriment plusieurs récepteurs de chimiokines comprenant CCR1, CCR2, CCR5, CCR6, CXCR1, CXCR2 et CXCR4, avec quelques différences dans le profil de l'expression entre les sous-populations de DC. Les chimiokines (ligands) pour ces récepteurs sont produites dans les tissus périphériques et induisent le recrutement des DC immatures afin de jouer leur rôle de sentinelles, en surveillant les tissus (Y. Liu *et al.*, 2014). Après la capture de l'antigène et l'activation de ses PRR (*Pattern Recognition Receptors*), les DC augmentent leur expression de CCR7 (Dieu *et al.*, 1998) et deviennent plus sensibles aux CCL19 et CCL21 qui sont exprimées dans les zones T des ganglions lymphatiques où elles les attirent pour activer les LT (Gunn *et al.*, 1998). L'importance de l'interaction entre les CCR7 et ses ligands a été mise en évidence dans une étude chez les souris déficientes pour le récepteur CCR7 et qui montre une altération significative dans le recrutement de DC vers les ganglions après leur activation (Forster *et al.*, 1999).

2.3 Activation des lymphocytes T

Les DC ont un potentiel unique pour stimuler spécialement les LT dans une co-culture composée de diverses populations des cellules *in vitro* (Steinman *et al.*, 1978). Des études chez des souris déficientes en DC (CD11c⁺) montrent l'importance de ces cellules dans l'initiation de la réponse cellulaire et dans l'activation des cellules T naïfs et aussi les cellules T mémoires en présentant les antigènes sur la molécule de CMH (Birnberg *et al.*, 2008) (Jung *et al.*, 2002). L'activation des cellules T nécessite 3 stimuli : (1) l'interaction du TCR (*T-Cell Receptor*) avec le complexe CMH-peptide, (2) l'interaction de CD28 avec les molécules de co-stimulation des DC (CD80/CD86) et (3) la production des cytokines qui jouent un rôle dans la polarisation des cellules T. Il est important de noter que l'interaction entre les LT et les DC est bidirectionnelle : en effet, les LT en exprimant le CD40L interagissent avec les DC qui expriment le CD40 et favorisent la maturation de DC (Elgueta *et al.*, 2009). L'interaction de CD40L/CD40 stimule la production de cytokines

par les DC, l'expression des molécules co-stimulatrices et facilite la présentation croisée de l'antigène (Quezada *et al.*, 2004).

En conclusion, les DC et plus particulièrement les cDC sont cruciales dans l'initiation et la régulation des réponses immunes. Les DC, tout comme l'ensemble des cellules immunitaires, sont dérivées de la MO (*moelle osseuse*), siège de l'hématopoïèse et sont produites de façon continue tout au long de la vie. La différenciation des DC que j'appellerais aussi "DCpoïèse", fait partie plus particulièrement du processus de myélopoïèse - à l'origine de la formation de l'ensemble des cellules myéloïdes, c'est-à-dire les DC, les monocytes, les macrophages et les granulocytes. Dans le chapitre 2 de cette thèse, nous discuterons en détail du développement de ces cellules.

Chapitre 2 Hématopoïèse: Développement de la lignée myéloïde

1 Hématopoïèse

L'hématopoïèse est le processus de formation des cellules sanguines à partir de rares populations de CSH résidentes dans la MO (Jagannathan-Bogdan *et al.*, 2013). Ce processus se déroule de façon hiérarchique et est orchestré par plusieurs facteurs (facteurs de transcription, facteurs de croissance, cytokines, chimiokines...) afin de maintenir l'homéostasie et la production des cellules immunitaires (Smith, 1990). En effet, étant donné leur durée de vie limitée, les cellules sanguines doivent être fabriquées et remplacées de façon permanente à partir des CSH. Ces dernières sont caractérisées par leur pouvoir d'expansion, d'auto-renouvellement et de différenciation (Orkin *et al.*, 2008) (Bryder *et al.*, 2006). L'auto-renouvellement est la capacité d'une cellule à se diviser asymétriquement ou symétriquement pour produire une ou deux cellules souches filles ayant un potentiel de développement similaire à la cellule mère. Cette capacité est essentielle pour les CSH afin d'augmenter leur nombre et de maintenir leur pool. Au fur et à mesure du processus de différenciation, ces cellules perdent leur potentiel d'auto-renouvellement et génèrent diverses cellules progénitrices i.e. les MPP (*Multipotent Progenitors*). Les MPP sont des progéniteurs primitifs et spécialisés dans la génération des CMP (*Common Myeloid Progenitors*) et des CLP (*Common Lymphoid Progenitors*), 2 familles des progéniteurs qui conduisent à la production de cellules matures des lignées myéloïde et lymphoïde, respectivement (Kondo *et al.*, 1997) (Akashi *et al.*, 2000) (**Figure 3**). Les CLP génèrent principalement les LT (*Lymphocytes T*), les LB (*Lymphocytes B*), les cellules NK (*Natural Killer*) (Kondo *et al.*, 1997). Les CMP sont à l'origine de deux progéniteurs plus engagés : les MEP (*Megakaryocyte Erythroid Progenitors*) et les GMP (*Granulocyte Monocyte Progenitors*). Les MEP génèrent les érythrocytes et les plaquettes sanguines. Les GMP sont à l'origine de plusieurs populations ; les monocytes/macrophages, les DC (*Dendritic Cells*) et les granulocytes qui incluent les neutrophiles, les basophiles et les éosinophiles.

L'hématopoïèse est organisée hiérarchiquement; la population cellulaire la moins mature et la plus rare se situe en haut de la hiérarchie hématopoïétique (Oguro *et al.*) (W. W. Pang *et al.*, 2011). Pour éviter la prolifération inutile et les réplifications chromosomiques qui augmentent le risque de mutations oncogéniques, les CSH restent dormantes et quiescentes pour maintenir leur intégrité

génomique (Mohrin *et al.*, 2010). Cependant, en réponse à divers stimuli, tels que l'irradiation, la chimiothérapie cytotoxique ou encore les infections, les CSH peuvent se diviser et proliférer (Shao *et al.*, 2013).

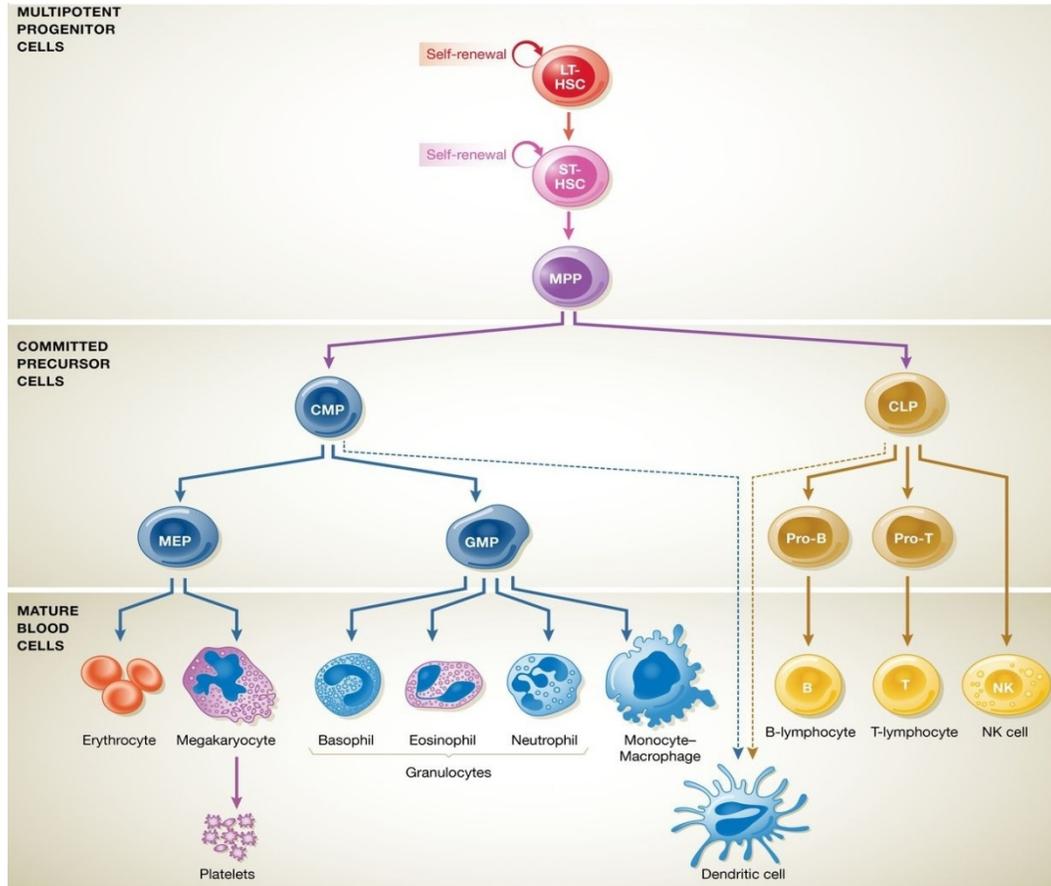


Figure 3: Hématopoïèse murine: Développement des cellules sanguines à partir des CSH au niveau de la MO.

Les LT-HSC (*Long Term Hematopoietic Stem Cells*) multipotentes ont une capacité de reconstitution à long terme et peuvent se différencier en ST-HSC (*Short Term Hematopoietic Stem Cells*) puis en MPP. Lors de la différenciation, les MPP donnent naissance aux CMP et CLP. Les CLP génèrent principalement la lignée lymphoïde et les CMP sont à l'origine de la lignée myéloïde. Les CLP génèrent les pro-B, pro-T et les NK. Ensuite, les pro-B et les pro-T se différencient en LB et LT respectivement. Les CMP génèrent des progéniteurs plus engagés, les MEP et les GMP qui sont à leur tour capables de former toutes les cellules différenciées de la lignée myéloïde au niveau de la MO (Ackermann *et al.*, 2015). Les MEP sont à l'origine des érythrocytes et des mégacaryocytes. Ces derniers vont ensuite générer les plaquettes. Les GMP sont à l'origine des granulocytes (les neutrophiles, les basophiles et les éosinophiles), les monocytes/macrophages et les DC. A noter que les DC peuvent également être développées à partir des CLP (Reagan *et al.*, 2016).

2 La myélopoïèse

La myélopoïèse est le processus de formation des cellules myéloïdes à partir des cellules pluripotentes, les MPP. A l'homéostasie, la myélopoïèse est étroitement régulée et contrôlée par des signaux extrinsèques comme des facteurs de croissance (GM-CSF, G-CSF, M-CSF, Flt3-L...), des cytokines (IL-1, IFN- γ , IL-6, IL-27...) et des chimiokines (CXCL12, CCL3, CX3CL1...) (Takizawa *et al.*, 2012) et par des facteurs intrinsèques comme des facteurs de transcription (IRF8, IRF4, Batf3, PU.1 ...) (Miriam Merad *et al.*, 2013a). Les CMP qui sont les précurseurs de cellules myéloïdes, se différencient ensuite en GMDP (*Granulocyte-Monocyte Dendritic Cell Progenitors*) ou les progéniteurs communs aux granulocytes/monocytes/DC, appelés aussi GMP (*Granulocyte-Monocyte Progenitors*) (**Figure 4**). Ces derniers vont poursuivre leur processus de différenciation et donner soit les granulocytes, plus particulièrement les neutrophiles soit les progéniteurs communs aux monocytes et aux DC, appelés MDP (*Monocyte-Dendritic Cells Progenitors*). A noter que les expériences basées sur le transfert adoptif de CLP ont montré que la lignée lymphoïde a également la capacité à générer les DC (Traver *et al.*, 2000).

Les MDP sont caractérisés par leur expression de CX3CR1, CD135 (Flt3R), CD115 (CSF-1R / M-CSFR) et CD117 et l'absence d'expression du CMH-II, des marqueurs de cellules T, B, NK et d'érythrocytes (Fogg *et al.*, 2006) (Chen Varol *et al.*, 2007). Ces MDP vont se différencier (1) en un précurseur commun de monocytes, appelé cMoP (*Common Monocyte Progenitors*) qui vont ensuite générer les monocytes matures, i.e. la monopoïèse (Hettinger *et al.*, 2013) et (2) en un précurseur commun de DC appelé CDP (*Common Dendritic Cell Progenitors*) qui sont à l'origine des DC. i.e. la DCpoïèse (Satpathy *et al.*, 2012).

Les DC sont classées avec les macrophages et les monocytes comme des phagocytes mononucléés formant le système MPS (*Mononuclear Phagocyte System*). Ce système a été décrit en 1972 par l'équipe de Van Furth, comme un système de cellules phagocytaires situées dans le tissu conjonctif réticulaire, provenant d'un progéniteur commun de la MO (van Furth *et al.*, 1972). Bien qu'ils proviennent d'un progéniteur commun, les DC et les monocytes/macrophages suivent des voies de développement distinctes dérivant finalement de deux précurseurs différents (K. Liu *et al.*, 2009). La différenciation des MDP en DC ou en monocytes dépend initialement des cytokines et des

facteurs de transcription. Les cytokines peuvent agir localement, au niveau de la niche de la MO, ou à distance, par voie systémique (circulation sanguine).

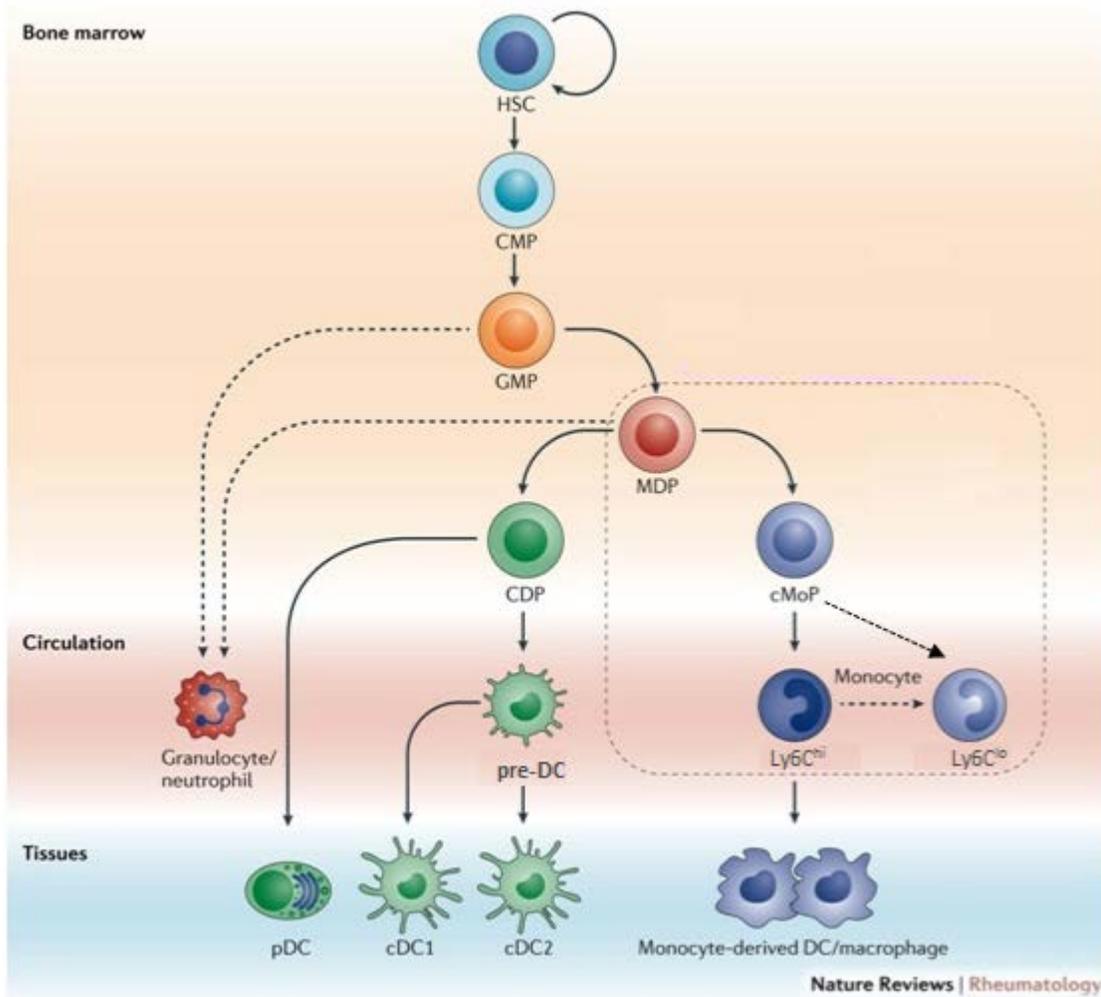


Figure 4: La myélopoïèse dans la MO murine.

La lignée myéloïde dérivée du progéniteur commun de cellules myéloïdes (CMP), donne naissance au progéniteur des granulocytes-macrophages/DC (GMP). Les granulocytes proviennent de précurseurs supplémentaires non représentés dans cette figure. Les neutrophiles sont les granulocytes les plus abondants et résidants dans la MO jusqu'au moment de leur libération dans le sang. Le progéniteur commun de monocyte et de cellule dendritique (MDP) donne naissance au progéniteur commun des cellules dendritiques (CDP) et au progéniteur commun de monocyte (cMoP). Deux sous-populations de monocytes sont dérivés des cMoP ; les monocytes Ly6C^{hi} (monocyte inflammatoire) et les monocytes Ly6C^{low} (monocytes résidents) (non illustré). Les données récentes suggèrent que la sous-population de monocyte Ly6C^{hi} peut se développer en monocytes Ly6C^{low}. Les CDP se développent en pDC ou en pre-cDC, les

précurseurs communs de cellules dendritiques classiques (cDC1 et cDC2). Adaptée de (Udalova *et al.*, 2016).

2.1 La DCpoïèse

Les CDP (CD117^{low} CX3CR1⁺ CD135⁺ CD115⁺) vont poursuivre leur différenciation localement en pDC (DC plasmacytoïdes) (CD117⁻ CX3CR1⁻ CD135⁺ CD115⁻ CCR9⁺ CD11c^{int} B220⁺ Ly6C⁺) et en pre-cDC (CD117⁻ CX3CR1⁺ CD135⁺ CD115⁻ CD11c⁺ CD11b⁻). Un stade de différenciation supplémentaire a été décrit dans lequel les CDP peuvent générer un précurseur de pDC (pre-pDC) qui conserve à la fois le potentiel de générer les cDC et les pDC en fonction des stimuli environnementaux (A. Schlitzer *et al.*, 2012) (Andreas Schlitzer *et al.*, 2011). La génération de pDC nécessite l'activation de deux facteurs de transcription : BCL11A (*B-Cell Lymphoma/Leukemia 11A*) et E2-2 (Cisse *et al.*, 2008) (Ippolito *et al.*, 2014). De plus, Manz et ses collègues ont montré, par des expériences de transfert adoptif, que les pDC peuvent se développer à partir des CLP (M. G. Manz *et al.*, 2001). Les pDC achèvent leur différenciation dans la MO puis elles migrent vers les tissus périphériques lymphoïdes et non lymphoïdes (Reizis *et al.*, 2011)

Les pre-cDC représentent les précurseurs communs des DC conventionnelles ou cDC (**Figure 5**). Cependant la contribution des CLP dans la génération des cDC reste encore mal connue (Sichien *et al.*, 2017). Les pre-cDC sont les seuls précurseurs à l'heure actuelle qui quittent la MO pour migrer via la circulation sanguine vers les tissus périphériques où ils terminent leur différenciation en cDC matures, soit en cDC1 (CD8 α ⁺/CD103⁺ cDC) soit en cDC2 (CD11b⁺ cDC) (Kang Liu *et al.*, 2009) (Naik *et al.*, 2007). Des études récentes ont mis en évidence une hétérogénéité dans la population de pre-cDC de la MO dans un modèle murin (A. Schlitzer *et al.*, 2015) (Gary E. Grajales-Reyes *et al.*, 2015). En effet, selon Schlitzer et collègues (A. Schlitzer *et al.*, 2015), 4 sous populations différentes ont pu être mises en évidence sur la base de l'expression de Ly6C et Siglec-H: La population de pre-cDC Siglec-H⁺ Ly-6C⁻ représente la population la moins différenciée (appelée late CDP). Celle-ci va se différencier en pre-cDC Siglec-H⁺ Ly-6C⁺ (appelé pre-cDC). Cette dernière population de pre-cDC peut ensuite se différencier soit en pre-cDC biaisées vers un profil de cDC1 (appelé pre-cDC1) (Siglec-H⁻ Ly-6C⁻) soit en pre-cDC biaisées vers un profil de cDC2 (appelé pre-cDC2) (Siglec-H⁻ Ly-6C⁺). L'analyse transcriptomique montre que les deux sous-populations pre-cDC1 et pre-cDC2 ont une expression élevée de gènes associés

à un phénotype mature de DC, tels que *Zbtb46* et *Tbx21*. Les gènes qui codent pour *Flt3*, *Stat2* et *Stat3* sont omniprésents dans les 4 sous-populations de pre-cDC. Par contre, *irf4*, qui code pour un régulateur majeur de la lignée cDC2 (A. Schlitzer *et al.*, 2013) (Persson *et al.*, 2013), a une expression élevée au niveau les pre-cDC2 (A. Schlitzer *et al.*, 2015). Tandis que les transcrits spécifiques de la lignée cDC1, incluant *Id2*, *Batf3*, *Notch4* et *Ifi205* (F. Ginhoux *et al.*, 2009) (Miller *et al.*, 2012), sont plus fortement exprimés au niveau les pre-cDC1 (A. Schlitzer *et al.*, 2015).

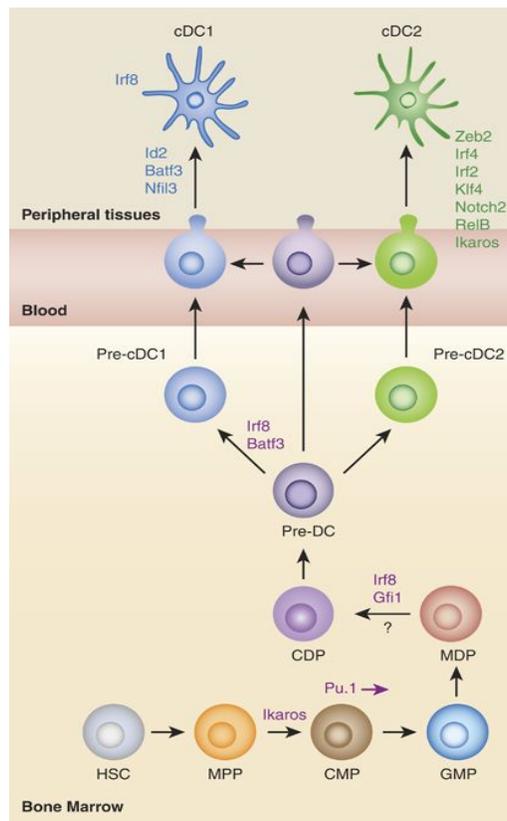


Figure 5: Développement des cDC dans un modèle murin.

Les cDC se développent à partir de CSH au niveau de la MO de manière progressive. Les CSH génèrent des MPP, qui génèrent ensuite des CMP, une étape régulée par le facteur de transcription appelé par Ikaros. A partir de ce stade, le développement des cDC est régulé au moins en partie par le PU.1. Les CMP se transforment ensuite en GMP, qui à leur tour se transforment en MDP et CDP, une étape nécessitant Irf8 et Gfi1, avant de devenir pre-cDC. Les pre-cDC de la MO ne sont pas toujours engagés. Ces cellules se divisent progressivement en pre-cDC1 de façon dépendante de l'Irf8 / Batf3 et en pre-cDC2. Ces pre-cDC quittent la MO et migrent vers la périphérie, via la circulation sanguine, pour se différencier en cDC1 et cDC2 respectivement. Le développement de cDC1 dépend d'Irf8, Id2, Batf3 et Nfil3, tandis que les cDC2 nécessitent Zeb2, Irf4, RelB, Notch2, Klf4, Irf2 et Ikaros (Sichien *et al.*, 2017).

2.2 La monopoïèse

Un progéniteur de monocytes appelé cMoP a été identifié au niveau de la MO (Hettinger *et al.*, 2013). Ces cellules ont perdu l'expression de Flt3 (CD135), ont acquis l'expression de Ly6C et conservé l'expression de CD115 et de CX3CR1 (Hettinger *et al.*, 2013). Les cMoP vont produire les monocytes inflammatoires (CD115⁺ Ly6C^{hi} CX3CR1^{int}) (Mo Ly6C^{high}) et les monocytes résidents (CD115⁺ Ly6C^{low} CX3CR1^{hi}) (Mo Ly6C^{low}) (Hettinger *et al.*, 2013). Le développement des monocytes est régulé par plusieurs facteurs de transcription (Laslo *et al.*, 2006). Parmi ces facteurs, le PU.1 a été identifié comme un facteur crucial qui joue un rôle clé dans la monopoïèse (DeKoter *et al.*, 1998). Il a été démontré que l'IRF8 est impliqué également dans le développement des monocytes. En effet, les souris *irf8*^{-/-} présentent une déplétion complète des Mo Ly6C^{high} et une réduction de moitié des Mo Ly6C^{low} (Kurotaki *et al.*, 2013). De même, il a été démontré que IRF8 coopère avec PU.1 pour former un amplificateur (*enhancer*) qui induit le *klf4*, un gène lié au développement des monocytes (Tamura *et al.*, 2015). Les facteurs de croissance hémopoïétiques M-CSF (ou CSF-1) et GM-CSF (ou CSF-2), sont considérés comme des facteurs cruciaux dans la voie de développement des monocytes à l'homéostasie et durant l'inflammation, respectivement (Gasson, 1991) (Hamilton, 2008).

La migration des Mo Ly6^{high} hors de la MO nécessite l'engagement du récepteur de chimiokine CCR2 (Serbina *et al.*, 2006). En revanche, la plupart des Mo Ly6C^{low} gagnent la circulation sanguine indépendamment du CCR2 mais plutôt dépendant de CCR5 (Tacke *et al.*, 2007) (R. N. Hanna *et al.*, 2012). Les Mo Ly6C^{low} sont connus sous le nom de « *patrolling monocytes* » étant donné leur capacité à réparer l'endothélium endommagé lors de l'inflammation (Auffray *et al.*, 2007) (Carlin *et al.*, 2013). Une étude a montré que le transfert adoptif de Mo Ly6C^{high} entraîne un recrutement de ces cellules vers les sites d'inflammation et montre que ces cellules ont une courte durée de vie, tandis que le transfert adoptif de Mo Ly6C^{low} montre que ces monocytes patrouillent les vaisseaux sanguins et la plupart de ces cellules résident principalement dans les tissus non enflammés avec une demi-vie plus longue (Geissmann *et al.*, 2003). De même, l'approche de transfert cellulaire montre que les Mo Ly6C^{low} sont dérivés des Mo Ly6C^{high} (Chen Varol *et al.*, 2007), (Yrlid *et al.*, 2006), (Sunderkotter *et al.*, 2004). En effet, en absence d'inflammation, les Mo Ly6C^{high} retournent vers la MO où ils vont se différencier en Mo Ly6C^{low} (Sunderkotter *et al.*, 2004) (Chen Varol *et al.*, 2007).

Les monocytes peuvent aussi reconstituer le MPS en donnant naissance à des macrophages et à des DC au niveau des tissus (Frederic Geissmann *et al.*, 2010). Il est important de noter que de nombreuses études ont démontré la capacité des Mo Ly6C^{high} à se différencier en DC produisant du TNF- α et des oxydes nitriques (Tip-DC : *TNF- α and iNOS-producing DC*) au cours des maladies cutanées (Serbina *et al.*, 2006) (León *et al.*, 2007) (Geissmann *et al.*, 2008). De plus, les études de transfert adoptif des Mo Ly6C^{high} dans une souris en état inflammatoire, montre la capacité de ces cellules à générer les moDC (Geissmann *et al.*, 2003) (Geissmann *et al.*, 2008).

3 Homologie chez l'homme

La culture *in vitro* de cellules souches hématopoïétiques humaines (CD34⁺) dérivés du sang de cordon et de la MO a permis d'identifier l'équivalent des MDP murins, appelé *human MDP* ou hMDP. Comme chez la souris, les hMDP génèrent (1) les hCDP et (2) les cMoP (J. Lee *et al.*, 2015) (Kawamura *et al.*, 2017). Les hCDP sont à l'origine des cDC et des pDC (J. Lee *et al.*, 2015) (Gaëlle Breton *et al.*, 2015). Il a également été décrit dans le sang de cordon, des précurseurs communs aux cDC (cDC1 CD141⁺ et cDC2 CD1c⁺) mais pas aux pDC appelés hpre-cDC (Gaëlle Breton *et al.*, 2015) (See *et al.*, 2017) (Breton *et al.*, 2016). Des données émergentes ont suggéré une hétérogénéité au sein de la population de hpre-cDC, similaire à celle décrite chez la souris. Il existe en effet une fraction de hpre-cDC qui pourrait produire une des deux sous populations de cDC *in vitro*, suggérant qu'une fraction des hpre-cDC serait déjà engagée vers la voie des cDC1 ou des cDC2 (Gaëlle Breton *et al.*, 2015).

En ce qui concerne les monocytes, les cMoP sont à l'origine de deux populations de monocytes chez l'homme et sont corrélées avec celles de souris. Cependant, ces cellules n'expriment pas les mêmes marqueurs de surface que ceux retrouvés chez la souris. Les monocytes humains sont caractérisés par l'expression du corécepteur au LPS (CD14) et du récepteur aux fragments cristallisables des anticorps (Fc) CD16. Les monocytes CD14⁺ CD16⁻ représentent environ 95% des monocytes sanguins humains sont équivalents aux Mo Ly6C^{high} murins qui constituent environ 50% des monocytes de souris circulants (Geissmann *et al.*, 2003) (Gordon *et al.*, 2005) (Ziegler-

Heitbrock, 2007). Les monocytes CD14⁺ CD16⁺ équivalents aux Mo Ly6C^{low} murins sont plus rares chez l'homme par rapport aux souris (Florent Ginhoux *et al.*, 2014).

4 Les facteurs de croissance

4.1 Flt3-L

Le développement de toutes les cellules hématopoïétiques est contrôlé par des facteurs de croissance spécifiques à la lignée/aux précurseurs. Le Flt3-L, est un régulateur crucial de l'hématopoïèse (Tsapogas *et al.*, 2017). Il intervient plus particulièrement dans la prolifération et la différenciation des précurseurs de DC dans la MO et en périphérie (Watowich *et al.*, 2010) (Karsunky *et al.*, 2003). Plusieurs rapports ont montré que le Flt3-L est impliqué dans la différenciation terminale des pre-cDC en cDC1 et cDC2, plus particulièrement les cDC1, au niveau des tissus périphériques (F. Ginhoux *et al.*, 2009) (Claudia Waskow *et al.*, 2008a) (Kristin Hochweller *et al.*, 2009).

Flt3, le récepteur de Flt3-L, également connu sous le nom de CD135, Flk-2 (*Fetal liver kinase 2*) et STK-1 (*Stem cell Tyrosine Kinase 1*) (Karsunky *et al.*, 2003) (K. Liu *et al.*, 2009) est exprimé par plusieurs progéniteurs hématopoïétiques. Cependant, contrairement aux autres lignées, les DC conservent l'expression de Flt3 tout au long de leur processus de maturation (Karsunky *et al.*, 2003) (K. Liu *et al.*, 2010). Récemment, une étude a rapporté la capacité de certains Mo Ly6C^{high} à exprimer Flt3 (Menezes *et al.*, 2016).

Le Flt3-L peut exister sous forme soluble ou transmembranaire, et est exprimé par de nombreux types cellulaires (Lyman *et al.*, 1998) (K. Liu *et al.*, 2010). Une étude antérieure dans un modèle murin s'est intéressée à étudier la production de Flt3-L et la source de ce facteur pour maintenir l'homéostasie des DC. Il a été montré que l'ARNm codant pour le Flt3-L est exprimé de façon ubiquitaire dans tous les organes (Lyman *et al.*, 1998). En 2012, Miloud et ses collaborateurs ont montré que la production de Flt3-L dans les organes lymphoïdes (rate, thymus, MO...) est principalement médiée par les cellules hématopoïétiques (NK, NKT, mastocytes, basophiles, LT,...) alors que dans les organes non lymphoïdes (rein, poumon, côlon, intestin grêle...), les cellules non hématopoïétiques (cellules endothéliales, cellules stromales...) constituent sa source principale (Miloud *et al.*, 2012). De plus, Miloud et ses collègues ont démontré que les poumons

contenaient la plus grande quantité de Flt3-L alors que les organes lymphoïdes, comme la rate et la MO, produisaient des quantités plutôt faibles.

Les souris déficientes en Flt3-L (souris *flt3l^{-/-}*) ou les souris traitées avec des inhibiteurs de Flt3 (SU11657) montrent une réduction drastique du nombre de cDC et de pDC (McKenna *et al.*, 2000) (R. Tussiwand *et al.*, 2005). A noter que la génération des LC (DC retrouvées dans l'épiderme) et les Tip-DC ne dépend pas de Flt3-L. De même une étude a démontré une fréquence faible de pre-cDC dans les poumons des souris *flt3l* KO par rapport aux souris contrôles. Ceci suggère que le Flt3-L agit sur la différenciation et aussi la prolifération des pre-cDC dans les tissus périphériques (F. Ginhoux *et al.*, 2009).

En parallèle, plusieurs études ont démontré que l'administration de Flt3-L chez les souris et chez l'homme, stimule l'expansion de cDC, pDC et leurs progéniteurs (Bjorck, 2001) (Karsunky *et al.*, 2003) (Maraskovsky *et al.*, 1996) (Haniffa *et al.*, 2012). En effet, les études chez l'homme montrent que l'administration de Flt3-L induit une expansion du nombre de hpre-cDC (Gaëlle Breton *et al.*, 2015) et ainsi des cDC (CD11c⁺) mais aussi des pDC et des monocytes (CD14⁺) circulants dans le sang (Pulendran *et al.*, 2000) (E. Maraskovsky *et al.*, 2000). De façon intéressante, il a été démontré que la déplétion des DC induit une augmentation de la concentration de Flt3-L dans le sang ce qui suggère un boucle de rétrocontrôle pour maintenir la production des DC (Bigley *et al.*, 2011) (Miriam Merad *et al.*, 2013b).

Le Flt3-L est couramment utilisé pour générer *in vitro* des DC différenciées à partir de cellules totales de MO chez les souris, et à partir des cellules progénitrices CD34⁺ humaines, représentant ainsi une source importante de DC pour les études expérimentales (Brasel *et al.*, 2000; Karine *et al.*, 2010) (Naik *et al.*, 2007).

L'interaction de Flt3-L avec son récepteur Flt3 conduit à une dimérisation du récepteur et une activation secondaire de son domaine tyrosine kinase et la phosphorylation des protéines contenant le domaine Src-homologie 2 (SH2) (**Figure 6**). Le récepteur Flt3 activé phosphoryle également d'autres protéines telles que Grb2, Gab2, SHIP, conduisant finalement à l'activation des voies Ras/MEK/Erk/PI3K/AKT ou PKB et mTOR et bloque la voie FOXO (Lavagna-Sevenier *et al.*, 1998) (Ahsberg *et al.*, 2010). Afin d'étudier le rôle de la voie mTOR dans le développement des DC, une étude a utilisé des souris déficientes pour les deux protéines RAPTOR et RICTOR spécifiquement au niveau des DC, qui sont des composants clés de mTORC1 et de mTORC2 respectivement (J. D. Weber *et al.*, 2012) (Kellersch *et al.*, 2013) (Nobs *et al.*, 2015). Il a été

montré que ces souris déficientes en mTOR et traitées avec Flt3-L présentent un défaut du nombre de DC pulmonaires et de cDC spléniques en particulier la sous-population CD8⁺ dans la rate. Le nombre de DC dans le foie et de pDC dans la rate n'est pas affecté. Ainsi, la voie mTOR joue un rôle crucial dans le développement des DC pulmonaires et spléniques (Nobs *et al.*, 2015). Le Flt3 peut également activer la voie de signalisation de STAT3 (Laouar *et al.*, 2003) (N. Onai *et al.*, 2006) et STAT5a (Zhang *et al.*, 2000) en activant la voie JAK/STAT. Pris dans son ensemble, l'interaction Flt3-L/Flt3 conduit à la transduction du signal par plusieurs voies de signalisation pour activer finalement des facteurs de transcription impliqués dans l'apoptose, la survie et la prolifération des cellules, notamment les DC.

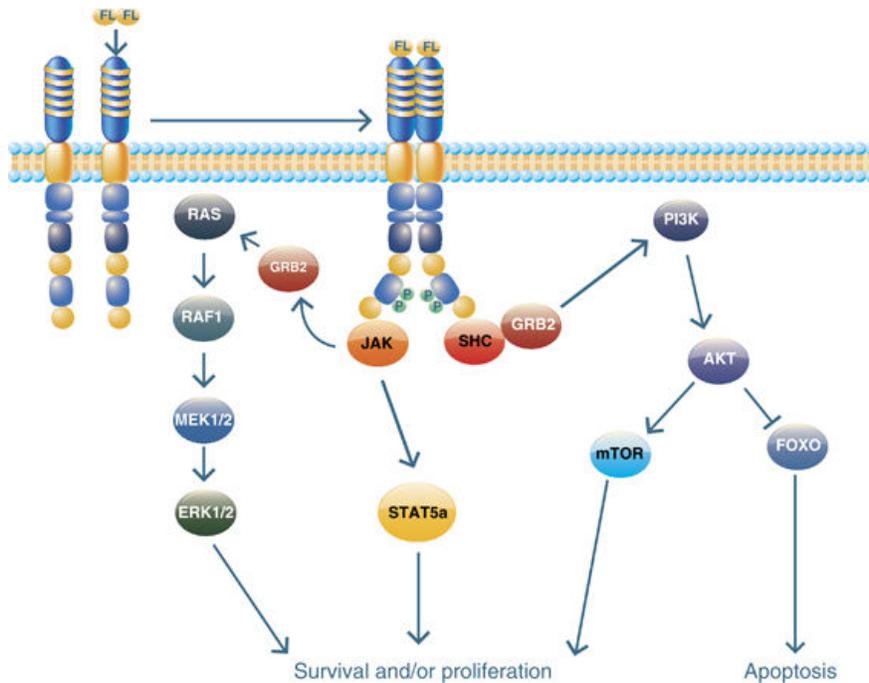


Figure 6: Voies de signalisation médiées par l'interaction du Flt3-L/Flt3.

Lors de l'interaction du Flt3-L avec son récepteur Flt3, ce dernier se dimérise et induit une activation par une phosphorylation des protéines contenant les domaines SHC et JAK et autres protéines tels que les Grb2, Gab2, SHIP, conduisant finalement à l'activation des voies Ras/MEK/Erk/PI3K/AKT ou PKB et mTOR et bloque la voie FOXO (Swords *et al.*, 2012).

4.2 GM-CSF

Le GM-CSF ou le CSF-2 a été initialement découvert comme un facteur capable de générer à la fois des colonies de granulocytes et de macrophages à partir de précurseurs de cellules myéloïdes *in vitro* (Avalos, 1996). Le récepteur au GM-CSF ou GM-CSFR, appelé aussi CD116, est exprimé

principalement à la surface des cellules phagocytaires mononucléées et leurs précurseurs (Sjöblom *et al.*, 2002). Le GM-CSF est le premier facteur de croissance utilisé pour générer des DC à partir de progéniteurs hématopoïétiques murins et de monocytes humains *in vitro* (Caux *et al.*, 1992) (Inaba *et al.*, 1992) (Sallusto *et al.*, 1995). Une étude a montré que les DC dérivées d'une culture *in vitro* avec de GM-CSF sont équivalentes aux moDC ou Tip-DC plutôt que des DC à l'homéostasie (Y. Xu *et al.*, 2007). Une autre étude plus récente a montré une hétérogénéité des cellules générées dans une culture *in vitro* avec GM-CSF. En effet, il a été mis en évidence la présence au moins de deux types cellules : des macrophages dérivés des monocytes et des DC dérivées des CDP (Helft *et al.*, 2015). Le GM-CSF, inhibe *in vitro* le développement des pDC en activant la voie de signalisation de STAT5 (Esashi *et al.*, 2008) (N. Onai *et al.*, 2008). *In vivo*, il a été démontré que les organes lymphoïdes de souris déficientes en GM-CSF ont un nombre normal de DC (Vremec *et al.*, 1997). Cependant, l'administration exogène ou la surexpression de GM-CSF augmente exclusivement le nombre de DC dans les organes lymphoïdes (Maraskovsky *et al.*, 1996) (Vremec *et al.*, 1997). Cette cytokine semble jouer un rôle plus important dans le développement des DC dans les tissus non lymphoïdes (Greter *et al.*, 2012). En effet, le GM-CSF est impliqué dans le développement de DC (CD103⁺ CD11b⁺) dans l'intestin et les DC (CD103⁺ CD11b⁻) dans le poumon, le foie, le rein et le derme (Bogunovic *et al.*, 2009) (Greter *et al.*, 2012) (King *et al.*, 2010) (C. Varol *et al.*, 2009). A noter que le niveau d'expression de CD103 sur les DC est régulé par le GM-CSF (Zhan *et al.*, 2011). Le GM-CSF est impliqué également *in vivo* dans la génération des moDC. En effet, il a été démontré que les monocytes transférés ne génèrent des DC que dans les tissus inflammatoires, sous l'action de GM-CSF (C. Varol *et al.*, 2009) (Naik *et al.*, 2007).

Malgré ces données et sa désignation comme facteur de croissance hématopoïétique, le GM-CSF ne semble pas jouer un rôle majeur dans la myélopoïèse à l'homéostasie. En effet, les souris dépourvues de GM-CSF ou de son récepteur ne présentent aucune perturbation importante dans la lignée myéloïde (Greter *et al.*, 2012) (Bogunovic *et al.*, 2009) (Martin Williams *et al.*, 2013). Cependant, si nous regardons de plus près la littérature, le GM-CSF semble participer au maintien des DC, notamment en périphérie. Bien que les souris déficientes en GM-CSF aient un nombre normal de DC dans les tissus lymphoïdes, le GM-CSF semble être impliqué dans l'homéostasie des DC dans les tissus non lymphoïdes (D. Kingston *et al.*, 2009) (Greter *et al.*, 2012).

4.3 M-CSF

Le M-CSF appelé aussi le CSF-1 est un facteur crucial qui régule la production, la survie et le développement des monocytes et des macrophages (Douglass *et al.*, 2008). Le M-CSFR ou CD115 est exprimé principalement sur les monocytes, les macrophages et leurs précurseurs. Des études chez des souris op/op (*osteopetrotic* : présentent une mutation dans le gène M-CSF) qui produisent du M-CSF non fonctionnel, montrent un défaut majeur dans la production des monocytes et des macrophages (Frank *et al.*, 2003) (Penkowa *et al.*, 2002). Ceci entraîne des maladies neurologiques ou squelettiques (ostéopétrose) mais peu de dysfonctionnements immunologiques (Wiktor-Jedrzejczak *et al.*, 1990) (Pixley *et al.*, 2004). La déficience pour le récepteur CD115 a un effet plus grave sur le nombre des monocytes/macrophages que la déficience en M-CSF (Dai *et al.*, 2002). Ceci pourrait être expliqué par l'identification de l'IL-34 en tant qu'autre ligand de CD115 (H. Lin *et al.*, 2008). Quelques études ont suggéré un rôle du M-CSF dans le développement des DC chez la souris. En effet, le récepteur de M-CSF (CD115) est exprimé à la surface de la plupart des DC au niveau des organes lymphoïdes (MacDonald *et al.*, 2005) ou encore au niveau des progéniteurs de DC, tels que les MDP et les CDP dans la MO (C. Waskow *et al.*, 2008) (Nobuyuki Onai *et al.*, 2007). De même, ce récepteur soutient également le développement des pDC et des cDC *in vitro* et *in vivo* (Nobuyuki Onai *et al.*, 2007) (Merad *et al.*, 2009). En effet, les souris déficientes en M-CSFR présente une légère réduction de ces 2 types cellulaires (MacDonald *et al.*, 2005). Finalement, il a été suggéré que le M-CSF est nécessaire pour le développement *in vivo* des cellules Tip-DC et les LC, mais cette observation reste encore à être démontré (F. Ginhoux *et al.*, 2006) (Greter *et al.*, 2012).

Chapitre 3 Régulation de l'hématopoïèse et de la myélopoïèse durant l'infection

Il est connu depuis longtemps que les infections bactériennes, virales ou parasitaires, systémiques ou locales, peuvent affecter l'hématopoïèse et plus particulièrement la myélopoïèse au niveau de la MO. Les données de la littérature montrent que les infections aiguës accélèrent la myélopoïèse en déclenchant la mobilisation des cellules myéloïdes de la MO vers les tissus infectés par un mécanisme appelé «myélopoïèse d'urgence». Cependant, les mécanismes moléculaires et cellulaires par lesquels la niche hématopoïétique régule la production, le maintien et la sortie des cellules immunitaires lors d'une infection virale, restent mal compris.

Durant mes travaux de thèse, nous avons utilisé un modèle d'infection virale pulmonaire par *Influenza* de type A et étudié les conséquences d'une telle infection sur la myélopoïèse. Pour cela, il serait intéressant de mieux comprendre les mécanismes d'interférences des virus avec l'hématopoïèse et leurs conséquences sur la défense de l'hôte.

1 Mécanismes d'interférence virale avec l'hématopoïèse

Les virus et les réponses immunitaires anti-virales ont un impact majeur sur l'hématopoïèse (Glatman Zaretsky *et al.*, 2014). King et Goodell ont classé quatre mécanismes différents par lesquels les infections virales peuvent influencer la biologie des HSPC (*Hematopoietic Stem and Progenitors Cells*) (**Figure 7**) (K. Y. King *et al.*, 2011). Les deux premiers agissent de façon directe sur les HSPC soit (i) infection directe, soit (ii) reconnaissance directe d'un agent pathogène via ses PAMP. Les deux autres mécanismes sont indirects : soit (iii) via des cytokines pro-inflammatoires libérées par d'autres cellules, soit (iv) par des modifications du microenvironnement de la MO. Ces quatre scénarios peuvent se dérouler en même temps et amplifier l'effet de l'infection sur l'hématopoïèse.

1.1 Infection virale directe des HSPC

Un certain nombre de virus comprenant le CMV (*Cytomegalovirus*), le HCV (*Hepatitis C virus*) et le HHV (*Human Herpes Virus*), peuvent infecter directement les HSPC (Maciejewski *et al.*,

1992) (Mirandola *et al.*, 2000). Certains de ces virus peuvent même inhiber l'hématopoïèse après une infection directe des HSPC. Par exemple, l'infection par le CMV ou par le HHV-7 induit une myélosuppression *in vitro* en diminuant la survie et la prolifération de ces cellules par un mécanisme de lyse/apoptose (Simmons *et al.*, 1990) (Mirandola *et al.*, 2000). Le parvovirus B19, le seul parvovirus pathogène humain connu, a un tropisme sélectif pour la lignée érythroïde dans la MO. Il induit un blocage de l'érythropoïèse qui peut se manifester par une aplasie transitoire ou persistante des érythrocytes (Chisaka *et al.*, 2003). De plus, l'interaction directe de ce virus avec les HSPC induit des changements dans l'expression des facteurs intracellulaires, tels que le microARN, et peut ainsi affecter l'hématopoïèse. En effet, les rétrovirus tels que le HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) et le HTLV (*Human T-Lymphotropic Virus*) ciblent les microARN et altèrent les voies cellulaires. Ces effets peuvent entraîner le développement de tumeurs malignes hématopoïétiques telles que les lymphomes à cellule B et les lymphomes de Hodgkin (Bouzar *et al.*, 2008) (Ouellet *et al.*, 2009). Les virus HIV et SIV (*Simian Immunodeficiency Virus*) ont un effet délétère à des stades précoces de l'infection. Par exemple, les SIV ont des effets inhibiteurs sur l'hématopoïèse *ex vivo* chez l'homme, notamment sur les progéniteurs hématopoïétiques CD34⁺. Cette inhibition dépend entièrement de la présence de la protéine virale Nef qui interfère avec les voies de STAT5a et STAT5b (Prost *et al.*, 2008).

Globalement, l'infection virale directe des HSPC altère la production des cellules hématopoïétiques. Cependant, les mécanismes sous-jacents n'ont pas été complètement élucidés. Il est possible que l'interférence du virus avec la machinerie des cellules hôtes infectées, contribue à inhiber leur cycle de vie et ainsi l'expansion et la différenciation de ces cellules.

1.2 Reconnaissance directe des PAMPs viraux

Les PRR les plus étudiés au niveau de CSH sont les récepteurs transmembranaires de type TLR, et les récepteurs intracellulaires RLR (RIG-I) (J. Chow *et al.*, 2015). Quatre TLR sont principalement impliqués dans la reconnaissance des acides nucléiques viraux: Les TLR3, 7, 8 et 9. D'autres TLR extracellulaires peuvent également être impliqués tels les TLR2 et TLR4, qui peuvent reconnaître des composants viraux tels que les glycoprotéines de l'enveloppe virale (Xagorari *et al.*, 2008).

De façon intéressante, plusieurs TLR endosomaux et extracellulaires ont été retrouvés au niveau des CSH (Schuettpelez *et al.*, 2013). En effet, De Luca et ses collègues ont rapporté que les HSPC expriment le TLR3 (De Luca *et al.*, 2009), alors que l'équipe de Sioud a montré que ces cellules exprimaient particulièrement les TLR7 et les TLR8 (Sioud *et al.*, 2006). Ces différentes observations pourraient s'expliquer par des sources différentes de cellules utilisées. Par exemple, De Luca et ses collègues ont isolé les HSPC à partir du sang de cordon, alors que l'équipe de Sioud a isolé ces cellules de la MO. Par conséquent, l'expression de TLR à la surface des HSPC circulantes montre que ces cellules ont la capacité de détecter la présence d'un antigène au cours d'une infection systémique. A noter que ces cellules expriment également le TLR2 (Herman *et al.*, 2016) (Nagai *et al.*, 2006). L'interaction directe de l'antigène viral avec les TLR (TLR2/4 dans un modèle murin et TLR7/8 dans un modèle humain) déclenche *in vitro* et *in vivo* le cycle cellulaire des CSH quiescents (Nagai *et al.*, 2006; Sioud *et al.*, 2006; Takizawa *et al.*, 2011), suggérant un rôle précoce important de ces cellules dans la détection des pathogènes et la modulation de l'hématopoïèse au cours de l'infection. Récemment, il a été rapporté que l'exposition des HSPC murins aux ligands de TLR, altère l'expression des récepteurs de chimiokines (Takizawa *et al.*, 2012), suggérant que l'activation des TLR pourrait même réguler la capacité de migration de HSPC.

Bien que la voie de signalisation de TLR7 et TLR8 aboutit à la différenciation des HSPC vers la lignée myéloïde (Sioud *et al.*, 2006), l'activation de TLR9 induit la production *in vitro* de DC au détriment des macrophages (Megias *et al.*, 2012). En effet, il a été rapporté que les CLP provenant de souris infectées par le virus de l'herpès et déficientes en TLR9 (*tlr9^{-/-}*) ont une capacité diminuée à générer des DC *in vitro* comparativement aux CLP provenant de souris infectées de type sauvage. Ceci suggère qu'au cours de l'infection par le virus de l'herpès, les CLP sont engagés vers la différenciation des DC, de façon dépendante de TLR9. Dans cette même étude, ces résultats ont été confirmés *in vivo* après un traitement de souris non infectées avec du CpG-ODN (le ligand de TLR9) : ce traitement est associé à une augmentation de la génération de DC au niveau de la MO (Robert S. Welner *et al.*, 2008). Par contre, inversement, une étude *in vivo* a montré que la signalisation TLR9 réduit le potentiel des CMP à produire des DC (Robert S. Welner *et al.*, 2008). Ces résultats indiquent que l'activation de TLR9 affecte, de manière différente, la production de DC dérivants de la lignée myéloïde (CMP) ou lymphoïde (CLP).

En conclusion les HSPC répondent aux infections virales après la reconnaissance directe de plusieurs PAMP viraux. Ainsi, l'activation de différents types de PRR peut aboutir à des effets différents, y compris les changements dans l'expression des récepteurs de chimiokines, l'altération dans la différenciation des lignées cellulaires et l'induction de l'apoptose.

1.3 Effet des cytokines pro-inflammatoires sur l'hématopoïèse

Bien que la perturbation dans le processus de l'hématopoïèse en conditions pathologiques puisse être attribuée à l'infection directe de la MO, les infections locales et les infections systémiques peuvent également entraîner des altérations profondes de l'hématopoïèse par le biais des cytokines et des chimiokines produites (Lopez *et al.*, 2011). Une fois les PRR activés par les virus au niveau des sites d'infection, les cellules immunitaires et non-immunitaires produisent localement un grand nombre de cytokines et de chimiokines, notamment IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , GM-CSF, TGF- β , CCL-3 (MIP-1 α), CCL-4 (MIP-1 β), CXCL-10 (IP-10) et IFN-I. Les types de cytokines produites dépendent de la voie de signalisation activée par l'interaction particulière d'un PAMP viral avec son PRR spécifique sur un type cellulaire particulier (Mogensen *et al.*, 2001; Rouse *et al.*, 2010). En général, les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α associées à la production d'IFN-I, sont communes à toutes les infections virales et bactériennes (Mogensen *et al.*, 2001). L'IFN-I peut déclencher le cycle cellulaire de CSH et induire leur prolifération et leur différenciation, en aboutissant finalement à une diminution du nombre de cellules indifférenciées (Sato *et al.*, 2009). De même, une étude a montré que l'IFN-I peut agir sur la fonction des HSPC. En effet, il a été démontré que l'infection par le virus d'*influenza*, ou encore par le virus *Sendai* dans un modèle murin, induit la production d'IFN-I dans le poumon qui gagne ensuite la MO via la circulation sanguine et induit une augmentation de l'expression des gènes antiviraux dans les cellules hématopoïétiques (Hermesh *et al.*, 2010).

L'IL-6 est exprimé fortement dans des conditions inflammatoires, y compris les infections par le virus de l'herpès et le virus grippal (S. R. Paludan, 2001) (Matsukura *et al.*, 1996) et suite à une stimulation par le LPS (Eggesbo *et al.*, 1996) (Beurel *et al.*, 2009). L'IL-6 stimule la production de neutrophiles dans la MO (Chiba *et al.*, 2017). Cette cytokine soutient également le

développement des cellules B, ce qui assure la résistance contre diverses infections virales tels que le virus EBV (Hirano *et al.*, 1985) (Chiba *et al.*, 2017).

La production systémique importante d'IL-1 β et de TNF- α caractérise de nombreuses infections virales et provoque des altérations au niveau de la MO. Le TNF- α entraîne une réduction dans le nombre des progéniteurs lymphocytaires, tandis que l'IL-1 β induit une augmentation du nombre de précurseurs granulocytaires dans la MO (Ueda *et al.*, 2004). Etant donné que l'interaction CXCR4-CXCL12 induit la rétention des LB et des cellules myéloïdes (les précurseurs granulocytaires) dans la MO (Ma *et al.*, 1999), le traitement avec le TNF- α réduit le niveau de CXCL12 dans la MO et augmente la mobilisation des LB dans la circulation sanguine (Ueda *et al.*, 2004).

Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre le rôle physiologique de ces changements induits par les cytokines dans la MO et pour comprendre leur impact sur le développement de réponses immunitaires adaptées à des pathogènes spécifiques.

1.4 Impact de l'altération du microenvironnement de la MO après une infection virale sur l'hématopoïèse

Les infections virales peuvent également affecter l'hématopoïèse en altérant la niche de la MO. Outre les cellules hématopoïétiques, la MO contient également des cellules non hématopoïétiques telles que des ostéoblastes, des cellules stromales mésenchymateuses (CSM), des adipocytes, des cellules périvasculaires, des cellules endothéliales (CE) et des cellules de Schwann non myélinisantes (Kiel *et al.*, 2008; Sugiyama *et al.*, 2012). Depuis longtemps, il est connu que les cellules non hématopoïétiques de la MO sont capables de maintenir *in vivo* une hématopoïèse à long terme en soutenant un pool de CSH quiescents. Ceci est médié par plusieurs facteurs parmi lesquels on cite principalement le facteur HIF-1 alpha (*Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha*), le CXCL-12 produit par les cellules stromales (Tzeng *et al.*, 2011) (Takubo *et al.*, 2010) et le TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) produit par les cellules de Schwann non myélinisantes (Yamazaki *et al.*, 2009).

Il n'est pas encore clairement établi si les cellules stromales de la MO sont ciblées directement par l'infection virale et si elles peuvent être impliquées dans la régulation de l'hématopoïèse durant

une infection. Des études ont suggéré que les populations stromales peuvent être directement infectées par certains virus, ce qui peut entraîner l'apoptose et le dysfonctionnement de ces cellules. En effet, il a été rapporté que les virus de CMV infectent les CSM de la MO et suppriment leur capacité à soutenir l'hématopoïèse *in vitro* (Nombela-Arrieta *et al.*, 2016). De même, le virus de LCMV (*Lymphocytic Choriomeningitis Virus*) peut infecter à la fois les cellules stromales et les précurseurs mégacaryocytaires et myélocytaires. L'infection par ce virus conduit à une aplasie transitoire dans la MO de façon dépendante de l'action directe de l'IFN-I et de l'IFN- γ sur les cellules hématopoïétiques. Cette aplasie atteint son pic 3 jours après l'infection et revient à son état normal 10 jours après, coïncidant avec la clairance virale. Cependant, la contribution des cellules stromales dans cette altération n'a pas été rapportée (Binder *et al.*, 1997). Récemment, une étude a montré qu'en réponse à l'IFN- γ sécrété par les cellules T CD8⁺ lors d'une infection par LCMV, les CSM produisent de l'IL-6 qui à son tour régule négativement l'expression de deux facteurs de transcription : Runx-1 et Cebp α et augmente la différenciation de la lignée myéloïde (Schurch *et al.*, 2014). Ces résultats indiquent que, pendant l'infection par le LCMV, l'IFN- γ sécrété par les LT cytotoxiques augmente la myélopoïèse via la niche de la MO.

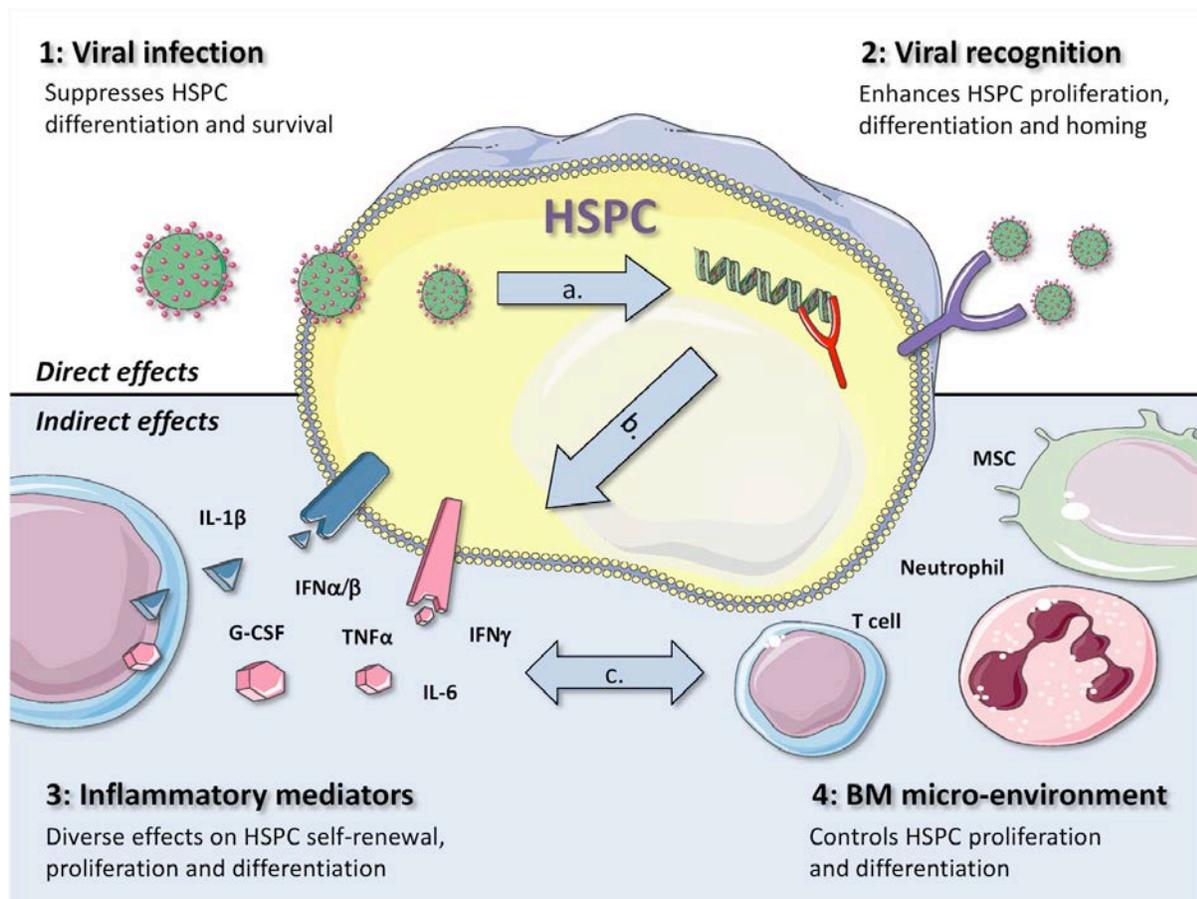


Figure 7: Les quatre mécanismes par lesquels les infections virales peuvent influencer la fonction des HSPC.

Le virus interagit directement avec les HSPC: par une infection directe (1) ou par la reconnaissance spécifique du virus via les PRR (2). De même, le virus peut affecter indirectement la production des cellules hématopoïétiques: via des médiateurs inflammatoires (3) ou par des changements dans le microenvironnement de la MO (4). Au cours d'une infection virale, ces mécanismes contribuent aux altérations de l'hématopoïèse. (a) Lorsqu'un virus infecte une HSPC, la reconnaissance est médiée par des PRR intracellulaires (b) la reconnaissance des infections virales par les PRR conduit généralement à la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que les IFN-I. (c) L'IFN- γ est produit par les cellules T spécifiques du virus et peut affecter directement les HSPC et induit la production d'IL-6 par les CSM, en provoquant la différenciation vers la lignée myéloïde (Pascutti *et al.*, 2016).

2 L'altération de la myélopoïèse durant l'infection

La myélopoïèse d'urgence constitue un indicateur de stress et de la présence d'une inflammation (Katherine Y. King *et al.*, 2011) (Goldszmid *et al.*, 2014). Contrairement aux LT et LB qui peuvent fortement proliférer en réponse à la reconnaissance spécifique de leurs antigènes, les cellules

immunitaires innées doivent être reconstituées à partir des CSH et des progéniteurs dans la MO à cause de leur faible activité proliférative. Il a été démontré que les signaux provenant de l'agent infectieux ou de la réponse immunitaire qui en résulte, déclenchent le cycle cellulaire de CSH pour passer d'un état quiescent à un état prolifératif (Schuettpelez *et al.*, 2013). Cependant, les mécanismes moléculaires sous-jacents de cette activation restent encore mal compris (Furusawa *et al.*, 2016).

Au cours des infections bactériennes, la myélopoïèse est profondément affectée afin d'augmenter la production et le recrutement des cellules myéloïdes, tels les monocytes et les neutrophiles au niveau du site d'infection. Des études antérieures chez l'homme et chez les souris, ont rapporté une forte augmentation de la concentration de G-CSF, GM-CSF et Flt3-L circulants dans le sang (100 fois plus par rapport aux concentrations basales) lors des infections bactériennes systémiques (Kawakami *et al.*, 1990) (Cebon *et al.*, 1994) (Watari *et al.*, 1989) (Cheers *et al.*, 1988) (Selig *et al.*, 1995) (Presneill *et al.*, 2000). Cette augmentation est associée à une prolifération accélérée des précurseurs des cellules myéloïdes au détriment des cellules lymphoïdes, au niveau de la MO avec une augmentation importante de la production de granulocytes plus particulièrement les neutrophiles (Markus G. Manz *et al.*, 2014). L'injection de LPS, un composant de la paroi bactérienne, augmente la production de granulocytes, de monocytes et de DC mais diminue la production de LB (Nagai *et al.*, 2006) (Ueda *et al.*, 2005) (C. Shi *et al.*, 2011). De même, l'activation de l'inflammasome suite à une infection bactérienne induit la production de G-CSF de façon dépendante d'IL-1 α et l'IL-1 β entraînant une myélopoïèse d'urgence (Dubois *et al.*, 1993). L'infection par *Escherichia coli* induit la production de G-CSF, via l'activation de la voie TLR4/MYD88 au niveau de la MO et accélère ainsi la production granulocytaire, plus particulièrement celles des neutrophiles (Boettcher *et al.*, 2014). Une étude plus récente a mis en évidence la production d'IL-3 médiée par les LB qui contribue à son tour à l'augmentation de la production de neutrophiles et de monocytes impliqués dans l'inflammation au cours du sepsis (G. F. Weber *et al.*, 2015). Par conséquent, la concentration élevée en IL-3 chez les patients septiques constitue un indicateur de mauvais pronostic. Pasquevich et ses collègues ont rapporté que l'infection systémique par *Yersinia enterocolitica* favorise la myélopoïèse au détriment de la différenciation des cDC d'une manière dépendante de TLR-4 et de l'IFN- γ (Pasquevich *et al.*, 2015). Une augmentation similaire dans le nombre des précurseurs de monocytes au niveau de la

MO a été observée au cours de l'infection par *Listeria monocytogenes*. Les auteurs ont montré que ce phénomène était dépendant de la signalisation de MYD88/Trif et associé à une augmentation de l'expression de CCL2 qui induit le recrutement continu des monocytes vers la rate (Serbina *et al.*, 2009) (C. Shi *et al.*, 2011). Une étude intéressante a montré que l'infection avec une dose létale de *Listeria monocytogenes* altère la fonction des monocytes au niveau de la MO en stimulant les voies de signalisation anti-inflammatoires et inhibant les effets bactéricides de ces cellules (Drevets *et al.*, 2010). De même, l'infection par *Ehrlichia muris* induit aussi des changements dans la fonction et dans le phénotype des cellules progénitrices myéloïdes dans la MO et augmente la production de granulocytes et de monocytes dépendant de la signalisation directe de l'IFN- γ (MacNamara, Oduro, *et al.*, 2011).

Dans le cas des infections parasitaires, l'agent infectieux peut également affecter indirectement les cellules myéloïdes de la MO, via la production de médiateurs pro-inflammatoires. Les études sur le rôle de cytokines dans le contexte des infections parasitaires restent cependant peu nombreuses. L'infection chronique intestinale par *Toxoplasma gondii* induit une production locale d'IL-12 par les DC. L'IL-12 gagne la circulation sanguine et entre dans la MO conduisant à la production d'IFN- γ par les NK. L'IFN- γ conduit à son tour une altération de la myéloïèse et une reprogrammation des précurseurs de monocytes (cMoP) dans la MO, conduisant à la production de monocytes aux propriétés régulatrices (Askenase *et al.*, 2015 1). Cette propriété permet ainsi au parasite de contrôler la réponse immunitaire de l'hôte (Drevets *et al.*, 2010). De même, lors d'une infection expérimentale par *Plasmodium berghei* (Malaria), l'IL-27, une des cytokines de la famille IL-6/IL-12, a une capacité unique à agir directement sur les progéniteurs hématopoïétiques en favorisant leur expansion et leur différenciation vers la lignée myéloïde et favorisant ainsi la myéloïèse. En outre, il a été montré que l'IL-27 augmente la production de neutrophiles au niveau de la MO (Furusawa *et al.*, 2016).

Les infections virales peuvent également altérer la myéloïèse. Cette altération médiée par plusieurs mécanismes (détaillés avant), peut débiter dès les stades les plus primitifs de l'hématopoïèse (HSPC) (Pascutti *et al.*, 2016). L'infection systémique par LCMV accélère la

monopoïèse au détriment la génération de neutrophiles de façon dépendante de la production de l'IFN- γ (de Bruin *et al.*, 2012). Les infections virales respiratoires aiguës, tel le *Pneumovirus*, engage la différenciation des progéniteurs vers la lignée myéloïde sous l'action de TNF- α et d'IFN- γ dans la MO et augmente leur recrutement vers les poumons (Maltby *et al.*, 2014). En plus de leur production, les infections virales affectent la fonction des cellules de la MO. En effet, l'infection locale par le virus *Sendai*, induit l'expression des gènes anti-viraux dans la MO, via la production d'IFN-I et assurant une réponse inflammatoire pulmonaire importante pour la clairance virale (Hermesh *et al.*, 2010)

Lors de la grippe, une accumulation de cellules myéloïdes au niveau de la MO a été observé (Long *et al.*, 2013). L'équipe de Tang a confirmé ces résultats avec une contribution de la signalisation CD137L/CD137 dans la myélopoïèse d'urgence (Tang *et al.*, 2013). L'accélération de la myélopoïèse pourrait être un mécanisme sous-jacent du virus de la grippe pour augmenter la production et le recrutement des cellules myéloïdes dans les poumons et renforcer ainsi la défense anti-virale (Perrone *et al.*, 2008) (Tang *et al.*, 2013) (Hermesh *et al.*, 2010) (Long *et al.*, 2013). Bien que Stifter et ses collègues aient exclu le rôle des interférons dans la régulation de la myélopoïèse lors de la grippe (Stifter *et al.*, 2016), l'équipe de Hermesh a mis en évidence l'implication d'IFN-I dans l'altération du phénotype des cellules de la MO en augmentant la transcription des gènes antiviraux (*il6*, *il12p40*, *ccl2* et *Ifn-I*) et améliorant la clairance virale (Hermesh *et al.*, 2010). A noter que dans cette dernière étude, les auteurs ont montré l'absence du virus dans la MO.

Ces données montrent que l'infection respiratoire par le virus de la grippe peut contrôler indirectement le processus de la myélopoïèse, sans avoir infecté directement la MO, afin d'améliorer la réponse immunitaire pulmonaire. Les études restent cependant très limitées.

Chapitre 4 La grippe : agent infectieux, aspects cliniques et épidémiologie

1 Classification et structure de virus grippaux A

Le virus de la grippe ou le *Myxovirus influenza* appartient à la famille des *Orthomyxoviridae* qui comprend plusieurs genres: *influenzavirus A*, *Influenzavirus B*, *Influenzavirus C*, *Influenzavirus D*, *Thogovirus* et *Isavirus* (Szewczyk *et al.*, 2014). A noter que dans notre projet nous nous sommes intéressés au type A que nous détaillerons par la suite.

Les virions d'*Orthomyxovirida* sont généralement de forme sphérique, avec un diamètre allant de 100-200 nm. Toutefois, certaines souches de laboratoire peuvent former des structures filiformes prolongées, qui dépassent parfois 1000 nm. Les virions sont relativement instables dans l'environnement et sont inactivés par la chaleur, la sécheresse, les pH extrêmes et de détergents (Palese, 2004). *Influenzavirus* est un genre de virus dont le support génétique est segmenté en 8 segments d'ARN qui sont des simples brins, linéaires, de polarité négative (ARN -), avec une nucléocapside à symétrie hélicoïdale (Bouvier *et al.*, 2008) (**Figure 8**). Six de ces segments codent pour des protéines uniques : l'hémagglutinine (HA), la neuraminidase (NA, une protéine tétramérique), la nucléoprotéine (NP), et les 3 sous-unités de la polymérase virale (PA, PB1 et PB2). Un segment code pour les protéines de matrice 1 et 2 (M1 et M2) et un segment code pour la protéine non-structurale 1 (NS1) et pour la protéine d'export nucléaire (NS2 ou NEP : *Nuclear Export Protein*) (J. M. Chen *et al.*, 2009). L'enveloppe virale se compose d'une bicouche lipidique (composée de deux feuilletts) qui provient des membranes plasmiques de l'hôte et qui contient les glycoprotéines de surface majeures : la HA par laquelle le virus s'attache aux cellules cibles et la NA qui sert à libérer les virions formés par les cellules infectées. De même, un petit nombre de canaux ioniques composés de tétramères de la protéine de matrice M2 est inséré également dans l'enveloppe virale et impliqué dans la régulation du pH interne du virus (Nayak *et al.*, 2009). L'enveloppe est soutenue par la protéine de matrice M1, qui est la plus abondante dans les virions, et joue un rôle important dans la fixation de la ribonucléoprotéine (RNP) (Szewczyk *et al.*, 2014). La RNP est une structure complexe composée principalement de la protéine NP qui enveloppe les huit différents segments d'ARN. Chaque segment d'ARN est associé par son extrémité, à un complexe de trois protéines de transcription/réplication: PB1, PB2 et PA (Boivin *et al.*, 2010)

Concernant la protéine NS1, il a été montré qu'elle est impliquée dans le blocage de la synthèse protéique des cellules et dans l'inhibition de la réponse immunitaire de l'hôte.

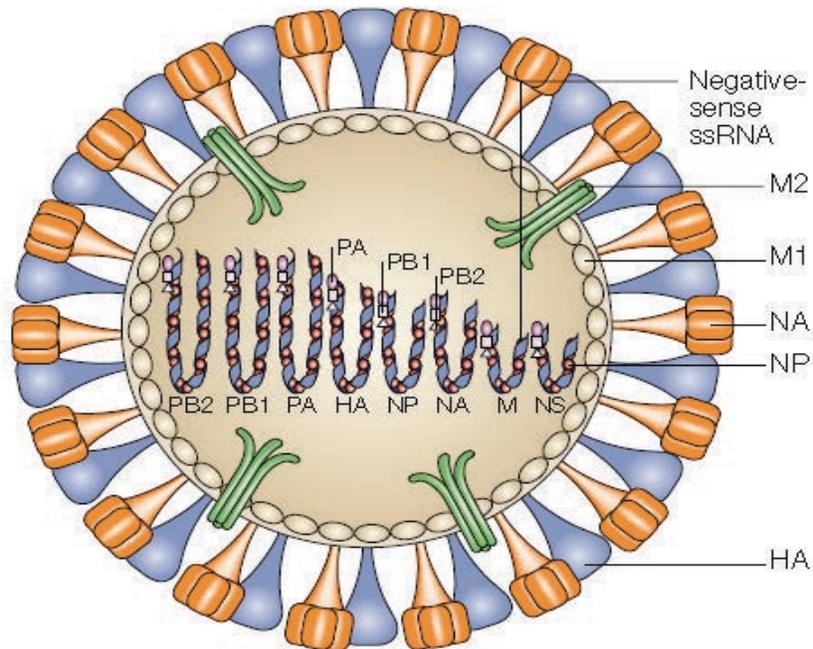


Figure 8: Structure du virus influenza A.

Deux glycoprotéines de surface, HA et NA, ainsi que la protéine du canal ionique M2 sont intégrées dans l'enveloppe virale qui est dérivée de la membrane plasmique de l'hôte. Le complexe RNP comprend un segment d'ARN viral associé à la NP et trois protéines polymérasiques (PA, PB1 et PB2). La protéine de la matrice M1 est associée à la fois à la RNP et à l'enveloppe virale. Un petit nombre de protéines NS2 est également présent, mais sa localisation dans le virion est inconnue (Horimoto *et al.*, 2005).

2 Le cycle de réplication virale

Le cycle de réplication du virus *influenza A* est un cycle lytique qui aboutit à la lyse des cellules infectées ; le virus détourne la machinerie de la cellule hôte vers la production de nouveaux virions qui vont ensuite infecter de nouvelles cellules (**Figure 9**).

2.1 Fixation du virus sur la cellule hôte

Le cycle d'infection débute par la liaison spécifique de la particule virale, via la glycoprotéine de surface HA, aux récepteurs portés par les protéines membranaires des cellules cibles : les acides

N- acétylneuraminiques (NeuAc) ou acides sialiques (SA). Le SA est un dérivé de sucre (*ose*) à onze atomes de carbone couramment trouvé aux extrémités de plusieurs glycoconjugués. Ainsi, il est omniprésent dans le mucus associé à la membrane muqueuse de la bouche, du nez, du tractus respiratoire et du tractus gastro-intestinal (Bouvier *et al.*, 2008).

2.2 Endocytose de la particule virale

À la suite de la fixation sur la cellule hôte, le virus de la grippe pénètre par endocytose via des vésicules de clathrine (Roberts *et al.*, 2015). L'acidité du compartiment endosomal est importante pour la décapsidation du virus. Le pH acide conduit à une modification conformationnelle irréversible de la HA qui sera clivée en deux sous-unités : HA1 et HA2, reliées ensemble par des liaisons disulfures. La HA clivée subit de nouveaux changements structurels qui sont mis en évidence par l'exposition du peptide de fusion à l'extrémité N-terminale de la sous unité HA2 pour initier la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane endosomale (Nayak *et al.*, 2004; Szewczyk *et al.*, 2014). Les ions d'hydrogène sont ensuite pompés à partir de l'endosome dans la particule de virus par l'intermédiaire du canal ionique M2. Ceci permet la libération de RNP et les 8 segments génomiques dans le cytoplasme de la cellule infectée (Sieczkarski, 2005 #94).

2.3 Passage nucléaire des ARN négatifs

La réplication et la transcription virale se déroulent dans le noyau, les ribonucléoprotéines passent du cytoplasme au noyau à travers les pores nucléaires par un transport actif (ATP dépendant). De plus, les protéines virales NP, PA, PB1 et PB2 contiennent un signal de localisation nucléaire (NLS) permettant l'interaction avec des protéines cellulaires (karyophérine α et β) qui sont impliquées dans le transport vers le noyau (Samji, 2009).

2.4 Transcription et réplication virale

Comme mentionné ci-dessus, le génome viral est constitué de brins d'ARN de sens négatif : celui-ci doit d'abord être converti en un ARN de sens positif pour être transcrit (Samji, 2009).

La réplication et la transcription virale se déroulent dans le noyau et sont catalysées par le complexe trimérique viral, l'ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp) qui est constituée de PB2, PB1, et la sous-unité PA (Matsuoka *et al.*, 2013).

La transcription consiste à synthétiser l'ARNm à partir de l'ARNv. L'enzyme RdRP reconnaît spécifiquement la coiffe méthylée de l'extrémité 5' des pre-ARNm cellulaires. Grâce à son activité endonucléasique, l'enzyme clive l'ARNm cellulaire, 10 à 15 nucléotides après la coiffe. Ces oligonucléotides formés servent d'amorces pour la synthèse de l'ARNm viral à partir de l'ARNv : ce mécanisme est appelé « cap snatching » (Boivin *et al.*, 2010). Ces ARNm néoformés sont reconnus par la machinerie de la cellule infectée et traduits en protéines.

La réplication consiste à amplifier les ARN du virus. Cette phase ne nécessite pas la présence d'une amorce, elle commence par une phase de transcription (Vreede *et al.*, 2007). En effet, deux types d'ARN positifs sont formés grâce à l'enzyme RdRP : une copie complémentaire (ARNc) de polarité positive qui sert de matrice à la synthèse des brins négatifs pour constituer le génome viral et une copie d'ARNm de polarité positive qui sera exprimée en protéines virales (Fodor, 2013) (Neumann *et al.*, 2004 ?).

L'élongation de l'ARNm s'effectue par la transcription de la matrice ARNv jusqu'au signal de polyadénylation, constitué par une série de cinq à sept uraciles (U) situé en amont de l'extrémité 5' du brin de l'ARNv (Robertson *et al.*, 1981).

2.5 Synthèse des protéines virales

Lors d'une infection virale par *influenza* de type A, un arrêt de la synthèse des protéines cellulaires de l'hôte est observé alors que les ARNm viraux sont traduits très efficacement. Cette traduction sélective est orchestrée par le détournement de plusieurs facteurs cellulaires de traduction, en bloquant la production des enzymes anti-viraux, vers les séquences conservées des extrémités 5 non traduites (5UTR) des ARNm viraux (J. C. Kash *et al.*, 2006).

Les ARNm viraux, positifs, coiffés et polyadénylés sont exportés dans le cytoplasme où ils sont traduits en protéines virales. Les protéines HA et NA possèdent des signaux de glycosylation permettant de gagner l'appareil de Golgi où les chaînes oligosaccharidiques y sont ajoutées. Les PA, PB1 et PB2 sont des protéines caryophiles ; elles regagnent le noyau pour former les RNP.

La protéine virale de matrice M1 et la protéine d'export nucléaire, NEP, ont des rôles critiques dans cette étape. Après la liaison de M1 au complexe RNP, la protéine NEP s'attache au complexe RNP/M1 par son domaine C-terminal (Akarsu *et al.*, 2003) et va permettre la sortie des RNP néoformées du noyau vers la membrane par l'intermédiaire du « guidage » effectué par NEP et M1 (Boulo *et al.*, 2007).

2.6 Bourgeoisement

Les RNP néoformées gagnent la membrane cytoplasmique de la cellule infectée via les microtubules où les virions sont assemblés (Amorim *et al.*, 2011). Cette membrane, qui est riche en cholestérol et en sphingolipides, sera modifiée par l'implantation des glycoprotéines virales (HA, NA et M2) et est recouverte par les molécules M1 de matrice. M1 interagit avec les RNP virales et ce complexe s'assemble avec HA, NA et M2 dans des particules virales (Fontana *et al.*, 2012)

2.7 Libération des nouveaux virions

Le relargage des virions néoformés est assuré par l'activité enzymatique "sialidase" de la NA (Mitnaul *et al.*, 2000). Cette dernière hydrolyse les liaisons α -cétosidiques (C2-O-C3Gal ou C2-O-C6Gal) entre les SA terminaux (Neu5Ac) et le galactose des glycoconjugués des protéines membranaires, permettant la libération de virus en évitant l'agrégation des virions. Ainsi NA joue un rôle essentiel dans la propagation et la transmission du virus (Nayak *et al.*, 2009).

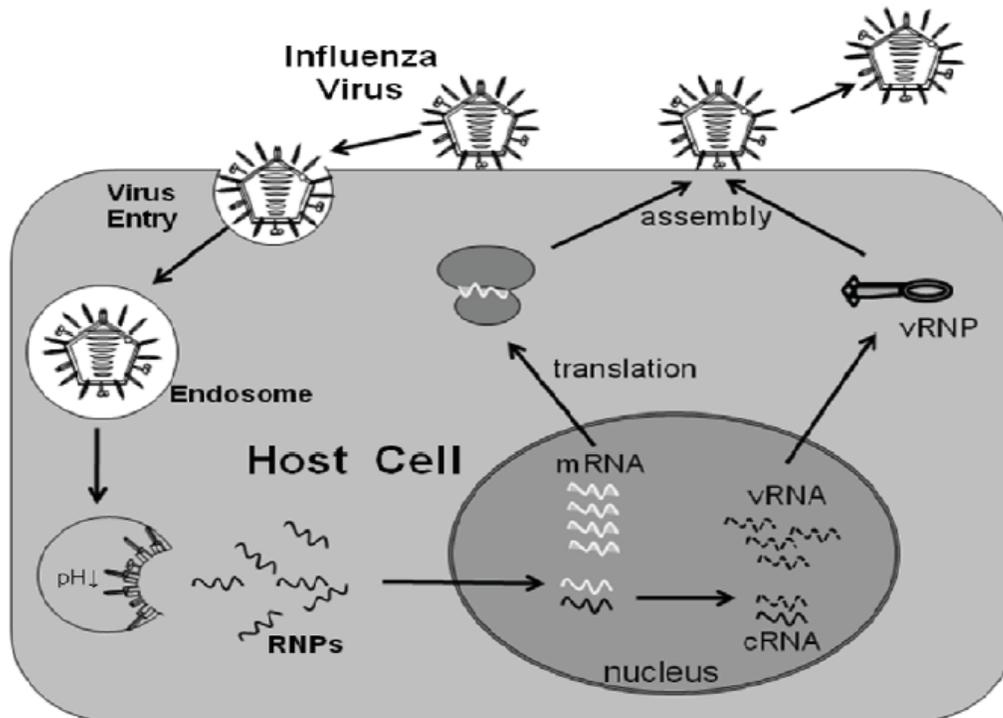


Figure 9: le cycle de réplication virale.

Le virus de la grippe se lie aux molécules d'acide sialique à la surface des cellules hôtes (cellules épithéliales pulmonaires) via ses HA de l'enveloppe. Cela déclenche la formation des vésicules recouvertes de clathrine et l'internalisation dans les endosomes. À l'intérieur de l'endosome, le virus est exposé à un pH bas (acide), ce qui déclenche un changement conformationnel de la protéine HA et conduit à la fusion des membranes virales avec la membrane de l'endosome. Le faible pH déclenche également l'entrée des protons H^+ dans le virus via le canal ionique M2, dissociant ainsi les vRNPs des protéines M1, ce qui entraîne la libération des RNP dans le cytoplasme. Les RNP sont transportées dans le noyau où la polymérase virale (RdRP) initie la synthèse de l'ARNm viral. Les ARNm viraux sont ensuite transportés vers le cytoplasme pour se traduire en protéines virales. La polymérase virale est également responsable de la synthèse de l'ARNv via deux étapes de réplication: $ARNv(-) \rightarrow ARNc(+) \rightarrow ARNv(-)$. Les molécules nucléoprotéiques sont ensuite déposées sur l'ARNc et l'ARNv pendant la synthèse de l'ARN pour former des complexes RNP qui sont ensuite transportés vers le cytoplasme. De nouvelles protéines virales se rassemblent alors au niveau de la membrane cellulaire et forme une couche protéique sous une enveloppe lipidique. Des nouvelles particules virales infectieuses se détachent, par bourgeonnement, de la membrane cellulaire et seront libérées dans l'environnement extracellulaire pour envahir de nouvelles cellules (Yeganeh *et al.*, 2013).

3 Transmission et symptômes

La propagation de virus de l'*influenza* se fait principalement par la transmission des gouttelettes dans l'air lorsque les malades toussent ou éternuent (Bridges *et al.*, 2003). Selon le CDC (*Centers for Disease Control and Prevention, USA*), la majorité des adultes asymptomatiques peuvent

infecter d'autres personnes dès le 1^{ère} jour après infection et ceci jusqu'à 5 à 7 jours après apparition des symptômes. A noter que les enfants peuvent transmettre le virus pendant plus de 7 jours.

Les manifestations cliniques les plus fréquentes causées par la grippe se traduisent par l'apparition soudaine de fièvre, fatigue, d'éternuements, d'une toux sèche, de rhinorrhée, de myalgie et de léthargie (Jain *et al.*, 2009). Ces symptômes sont la conséquence des réactions inflammatoires et des mécanismes de défense de l'organisme contre le virus et sont souvent utilisés comme indices pour comparer la gravité de la maladie chez l'homme, entre les sous-types de la grippe (Girard *et al.*, 2010). En effet, les patients atteints du virus H1N1 présentent une augmentation des maux de tête, de myalgie et de fatigue, qui sont des symptômes courants de la grippe (Petridis *et al.*, 2014). De même, jusqu'à 50% des personnes infectés par H1N1 présentent des symptômes gastro-intestinaux, y compris la diarrhée et des vomissements (Girard *et al.*, 2010). En ce qui concerne les patients atteints par le virus H3N2, il n'y a pas de symptômes spécifiques (Petridis *et al.*, 2014). Il est intéressant de noter qu'une étude comparative entre H1N1 et H3N2 a montré que le sous-type H3N2 est plus létal que H1N1 (Lemaitre *et al.*, 2012).

4 Diagnostique et traitement

La majorité des cas de grippe n'est pas diagnostiquée à cause de leur statut asymptomatique. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a montré que les symptômes classiques de la grippe, au cours des périodes pendant lesquelles le virus circule, se manifestent par une fièvre aiguë > 38°C, toux ou mal de gorge. A noter que les symptômes cliniques de la grippe sont communs avec d'autres virus respiratoires, y compris le rhinovirus, le coronavirus, le virus respiratoire syncytial et le virus para-influenza (Tregoning *et al.*, 2010). Cependant, afin de dépister la présence du virus grippal, la valeur prédictive positive d'un diagnostic varie considérablement selon la prévalence de la grippe circulante et peut atteindre 70-80% au cours du pic d'une épidémie (Monto *et al.*, 2000). Les tests de laboratoire sur les échantillons respiratoires ou sériques (la culture cellulaire pour détecter directement l'antigène, et le RT-qPCR pour détecter l'ARN viral) sont effectués sur des cas hospitalisés où la gravité des symptômes augmente et les patients pourraient présenter des complications pulmonaires qui comprennent la pneumonie bactérienne secondaire (Petric *et al.*, 2006).

Les traitements habituels de la grippe consistent à suivre les conseils donnés, par exemple le repos, la réhydratation et le soulagement symptomatique tels que l'utilisation d'antipyrétiques. Selon l'OMS, les médicaments antiviraux (qui peuvent être de deux classes - inhibiteurs de la neuraminidase tels que l'oseltamivir et les adamantanes tels que l'amantadine) devraient être réservés aux patients à haut risque de complications de la grippe saisonnière. En cas de pandémie, ces médicaments peuvent être utilisés plus largement pour la prophylaxie et le traitement afin de limiter la transmission.

5 Épidémiologie

Le virus grippal de type A est caractérisé par sa diversité et son adaptabilité. Sa capacité de transmission à l'homme et sa variabilité antigénique sont à l'origine de l'apparition des épidémies et des pandémies hivernales au cours de l'histoire.

5.1 Variabilité antigénique

Les propriétés antigéniques des deux glycoprotéines de surface, HA et NA, sont utilisées pour classer les virus *influenza* de type A en sous-types. Il existe 18 HA (H1-H18) et 11 NA (N1-N11) (J. H. Lin *et al.*, 2015). Il faut noter que seuls les sous-types constitués d'une combinaison de H1, H2 ou H3 avec N1 ou N2 présentent la capacité de transmission interhumaine (J. H. Lin *et al.*, 2015). A noter que le sous-type H16 a été isolé à partir de mouettes rieuses de Suède et de Norvège (Fouchier *et al.*, 2005), le H17 a été découvert en 2012 chez les roussettes de fruits (Tong *et al.*, 2012) et la H18 a été découvert dans une batte péruvienne en 2013 (Tong *et al.*, 2013).

Le virus de la grippe évolue de façon continue, il est soumis à un degré élevé de mutation génomique au cours de la réplication, ce qui peut entraîner des changements dans HA et NA et l'apparition de nouvelles variantes. En ce qui concerne la grippe saisonnière, des modèles de changements sont la conséquence de glissement antigénique (*antigenic drift*) par lequel le virus subit des mutations ponctuelles au niveau du génome viral. Ceci se traduit par des modifications antigéniques mineures, plus particulièrement au niveau de HA qui change légèrement d'année en année. Ces petits changements génétiques produisent habituellement des virus qui sont très étroitement liés les uns aux autres partageant généralement les mêmes propriétés antigéniques, ce

qui peut être illustré par leur lien de parenté étroit sur un arbre phylogénétique. Cependant, ces changements sont suffisants pour modifier le vaccin chaque année et ils sont responsables des épidémies de grippe saisonnière mais ne provoquent pas de pandémie mondiale. En effet, généralement, une fois le système immunitaire exposé à un virus similaire, il peut répondre à cette infection (appelée parfois protection croisée) (Fauci, 2006). A l'inverse, une pandémie de grippe apparaît lorsqu'il y a une cassure antigénique (*antigenic shift*) ou changement majeur dans les virus de la grippe de type A qui atteint les protéines d'enveloppe, soit HA seule ou simultanément HA et NA. Les souches pandémiques apparaissent par réassortiment entre deux souches de l'*influenza* A, une zoonotique et l'autre humaine (Brooke *et al.*, 2013). Par conséquent, ces modifications majeures entraînent l'émergence de nouveaux sous-types du virus de la grippe qui peuvent se reproduire efficacement chez l'homme et échappent au système immunitaire et sont, en général, à l'origine des pandémies (Bouvier *et al.*, 2008).

5.2 Epidémies

Selon l'OMS, le CDC et d'autres partenaires, les chiffres épidémiques nouvellement publiés en 2017 rapportent que les décès associés à la grippe sont estimés entre 290 000 et 650 000. Ce nombre montre une forte augmentation par rapport aux estimations antérieures (250 000 à 500 000 décès), ces chiffres datant de plus de 10 ans. Selon le CDC, la plupart des décès apparaissent parmi la population fragile : les personnes âgées de plus de 75 ans, les enfants âgés de moins de 5 ans et dans les régions les plus pauvres du monde comme en Afrique subsaharienne. Il a été démontré que la cause majeure de décès aux cours des pandémies de grippe est due aux infections bactériennes secondaires (Palacios *et al.*, 2010) (Walter *et al.*, 2010). Au cours de la dernière décennie, *Streptococcus pneumoniae* (29 à 48 %) et *Staphylococcus aureus* (7 à 40 %) ont été considérés comme étant les principaux agents bactériens de la pneumonie associée à la grippe (Garg *et al.*, 2015) (Oliveira *et al.*, 2001). Il est intéressant de noter que selon une étude clinique ancienne, le virus de la grippe seul (sans complication bactérienne) n'a contribué qu'à 10 % des cas des décès (Nicholson, 1996). De même, une autre étude a montré que la vaccination antigrippale seule entraînait une réduction des hospitalisations pour pneumonie de 52% et des décès de 70%. De plus, la vaccination anti-pneumococcique seule réduit le nombre d'hospitalisation et la mortalité de 27% et 34%, respectivement. De façon intéressante, lorsque ces deux vaccins sont administrés ensemble, une réduction plus importante de l'hospitalisation pour

pneumonie (63%) et de la mortalité (81%) a été signalé, comparativement aux vaccins administrés seuls (Nichol, 1999).

5.3 Pandémies

Les pandémies sont définies généralement comme des maladies qui touchent un vaste nombre de populations, sur plus d'un continent, dans un laps de temps très court. Typiquement, elles se produisent à des intervalles de temps de 10 à 40 ans. A noter que selon l'OMS, trois conditions particulières doivent être présentes pour déclencher une pandémie : (1) L'émergence d'un nouveau sous-type de virus grippal qui ne circulait pas auparavant (2) la capacité de ce sous-type à provoquer une pathologie et (3) la transmission interhumaine.

Au cours de l'histoire, l'humanité a connu plusieurs pandémies de grippe. La pandémie de grippe espagnole en hiver 1918 a été la plus dramatique : la souche H1N1 a tué 50 millions de personnes (Horimoto *et al.*, 2005). Après la grippe espagnole de 1918, la pandémie de grippe asiatique H2N2 de 1957-58 et la grippe de Hong Kong H3N2 de 1968-70 sont apparues au cours du XX^e siècle et étaient beaucoup moins sévères. Elles ont provoquées environ 1-2 millions de morts (Rajagopal *et al.*, 2007). Les données plus récentes de 2009 ont montré l'émergence d'une nouvelle pandémie au Mexique, causée par le sous-type H1N1. Le virus s'est ensuite répandu aux États-Unis et dans le monde entier (Taubenberger *et al.*, 2010). Smith et ses collègues ont montré que cette souche assemble un triple assortiment de gènes de la grippe humaine, aviaire et porcine (G. J. D. Smith *et al.*, 2009). Actuellement, H3N2 et H1N1 sont les seuls sous-types de grippe A circulants chez l'homme.

Chapitre 5 La réponse immunitaire dirigée contre le virus *influenza A*

Le système immunitaire est composé de plusieurs types d'acteurs cellulaires et moléculaires qui coopèrent ensemble pour protéger le corps contre les infections microbiennes. Il implique deux systèmes de défenses : la réponse immunitaire innée (naturelle) et la réponse immunitaire adaptative (acquise, spécifique). Cette dernière est, à son tour, divisée en immunité cellulaire et immunité humorale. La réponse immunitaire au cours de l'infection grippale est un sujet de recherche depuis plus de 70 ans (Andrewes, 1939). Nous détaillerons les différentes composantes de la réponse immunitaire innée et adaptative contre le virus.

1 La réponse immunitaire innée

Dans le tractus respiratoire, il existe plusieurs lignes de défenses non-spécifiques telles que les barrières naturelles (physiques et chimiques), qui empêchent le virus de disséminer dans les voies respiratoires. Ces barrières comprennent le mucus, les peptides antimicrobiens, les surfactants et le mouvement des cils au niveau de l'épithélium pulmonaire (Sanders *et al.*, 2011). La muqueuse épithéliale des voies aériennes ne représente pas seulement une barrière physique. Elle est également considérée comme un site de détection virale et une source de médiateurs inflammatoires.

1.1 Détection du virus grippal par les récepteurs de l'immunité innée

La première étape de défense consiste à détecter la présence du virus par les PRR, qui sont les récepteurs de l'immunité innée. Parmi ces récepteurs, il y a les TLR, les *Nucleotide-binding Oligomerization Domain (NOD)-Like-Receptor (NLR)* et les *Retinoic acid-Inducible Gene 1 ; RIG-Like-Receptor (RLR)* (**Figure 10**) (S. Wu *et al.*, 2011). Ces récepteurs sont exprimés par les cellules immunitaires dans le poumon et par les cellules non immunitaires (cellules de l'épithélium pulmonaire).

1.1.1 Les TLR

Les TLR jouent un rôle crucial dans les réponses immunitaires. Il existe deux types de TLR : les TLR extracellulaires et les TLR endosomaux. Ainsi ils ont la capacité de détecter les pathogènes extra et intracellulaires (Vidya *et al.*, 2018). Les TLR endosomaux sont les plus impliqués dans la détection des infections virales. Il est déjà connu que le TLR3 reconnaît l'ARN double brin au niveau de l'endosome (Alexopoulou *et al.*, 2001). Étant donné que les cellules infectées par le virus de la grippe ne génèrent pas d'ARN double brin (Pichlmair *et al.*, 2006), il est probable que le TLR3 reconnaisse des structures d'ARN non identifiées actuellement, présentes dans les cellules pulmonaires infectées et dérivées de la phagocytose (Schulz *et al.*, 2005). À noter que les cellules épithéliales respiratoires humaines expriment principalement le TLR3 dont l'activation par le virus de la grippe induit la production de cytokines pro-inflammatoires, notamment les interférons de type I (IFN-I) α et β (Le Goffic *et al.*, 2007). Les IFN-I sont capables de contrôler la réplication virale mais peuvent également entraîner des pathologies pulmonaires importantes (Le Goffic *et al.*, 2007) (Le Goffic *et al.*, 2006). En effet, il a été montré que des souris déficientes pour le TLR3 présentent une production faible d'IFN-I et une pathologie moins importante et peuvent ainsi survivre plus longtemps malgré la charge virale élevée dans les poumons par rapport aux souris contrôles (Le Goffic *et al.*, 2006). De même, l'absence de TLR3 réduit la production de chimiokines après une infection grippale et ainsi diminue l'infiltrat leucocytaire dans les poumons, notamment les LT CD8⁺ (Heer *et al.*, 2007). À noter que les souris déficientes pour le TLR3 et infectées avec une dose sublétales de virus de la grippe, génèrent une réponse humorale normale (Heer *et al.*, 2007). Le TLR7 joue aussi un rôle crucial dans la reconnaissance virale. Il détecte principalement l'ARN viral simple brin. Ce récepteur est exprimé fortement par les pDC. Lors d'une infection grippale, les pDC produisent massivement l'IFN-I et ceci dépend de la signalisation de TLR7. Cette signalisation active la protéine adaptatrice MYD88 et stimule les facteurs nucléaires NF κ B (*Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) et IRF7 (*Interferon-Regulatory Factor*)-7 (Barchet *et al.*, 2005).

Bien qu'une étude ait montré l'implication de TLR3, TLR7 et MYD88 dans le contrôle de la réplication virale (Seo *et al.*, 2010), celle-ci contredit une étude plus ancienne où les souris déficientes en TLR7 présentent une résistance plus accrue pour aux virus (Le Goffic *et al.*, 2006).

Cette différence dans les résultats pourrait être due à une libération plus faible de médiateurs inflammatoires chez ces souris et une pathologie pulmonaire plus faible.

Le TLR8 est également impliqué dans la reconnaissance de l'ARN viral simple brin mais sa contribution dans l'infection par le virus influenza est peu connu (Iwasaki *et al.*, 2014).

Lee et ses collègues ont rapporté un rôle crucial de TLR10 chez l'homme au cours de l'infection grippale. Cependant ce TLR semble non fonctionnel chez les souris (S. M. Y. Lee *et al.*, 2014).

1.1.2 Les récepteurs de type NOD ou « NLR »

Les récepteurs intracellulaires de type NLR comprennent une grande famille de récepteurs intracellulaires et sont caractérisés par la présence d'un motif conservé NOD (Harton *et al.*, 2002) (Inohara *et al.*, 2001). Les NLR sont décrits pour avoir un rôle dans l'induction de la réponse innée contre le virus de la grippe. En effet, la protéine mitochondriale NLRX1 interagit avec la protéine virale PB1 pour inhiber l'apoptose des macrophages et ainsi maintenir leur production d'IFN-I pour renforcer la réponse anti-virale (Jaworska *et al.*, 2014). Néanmoins, une autre étude contradictoire a montré que le NLRX1 empêche la production d'IFN-I en interférant avec les voies de signalisation de MAVS et TRAF6 et cause une pathologie plus sévère dans le modèle murin (Allen *et al.*, 2011). Ces résultats montrent que le NLRX1 peut maintenir la réponse immunitaire innée contre le virus de la grippe mais en parallèle peut aggraver la pathologie.

De nombreuses études ont montré le rôle de l'inflammasome NLRP3 lors des infections virales. Les inflammasomes sont des complexes de signalisation multi-protéiques. Leur activation implique la stimulation de TLR/NF κ B et déclenche l'activation des caspases inflammatoires et la maturation de l'IL-1 β et l'IL-18 (Guarda *et al.*, 2011) (V. Hornung *et al.*, 2010) (Jo *et al.*, 2016). La contribution de l'inflammasome NLRP3 dans l'initiation de la réponse anti-virale a été initialement montrée au cours de l'infection par le virus Sendai (Kanneganti *et al.*, 2006) et le virus de la grippe (Allen *et al.*, 2009). Bien que des études aient suggéré que l'ARN viral soit le ligand de NLRP3 et induise l'assemblage du complexe multiprotéique de NLRP3, le mécanisme moléculaire par lequel l'ARN viral intervient dans l'activation de l'inflammasome reste inconnu (Kuriakose *et al.*, 2017). Lors d'une infection grippale, il a été montré qu'il y avait une activation de la caspase-1 et une production importante d'IL-1 β et d'IL-18 (Kanneganti *et al.*, 2006). De plus,

les souris infectées par le virus de la grippe et déficientes pour le NLRP3, caspase 1 ou le récepteur d'IL-1 (IL-1R), présentent une nécrose pulmonaire accrue et une fonction respiratoire réduite. Ainsi, l'absence de NLRP3 conduit à une mortalité plus importante par rapport aux souris de type sauvages et infectées (Thomas *et al.*, 2009). Des études ultérieures ont montré que le virus de la grippe activait NLRP3 *in vitro* dans divers types de cellules comme les DC, les macrophages, les cellules épithéliales nasales humaines et la lignée monocyttaire humaine THP-1 (Allen *et al.*, 2009) (Ichinohe *et al.*, 2009). Il faut noter que l'interaction directe entre NLRP3 et l'ARN viral n'a pas été établie.

1.1.3 Les récepteurs de type RIG-I ou « RLR »

Les RLR sont des récepteurs cytosoliques qui détectent la présence des pathogènes intracellulaires notamment l'ARN viral (Dixit *et al.*, 2013). Parmi les différents membres de la famille des RLR, RIG-I est le mieux caractérisé pour son implication dans l'infection grippale. RIG-I est crucial pour la détection virale et la production d'IFN-I, ceci indépendamment des pDC. En effet, les cellules épithéliales infectées, les cDC et les macrophages alvéolaires sont impliqués (Kato *et al.*, 2005) (Kato *et al.*, 2006) (Q. Sun *et al.*, 2006). Au niveau du cytosol, RIG-I reconnaît le 5'-triphosphate de l'ARN viral simple brin produit après sa réplication (Veit Hornung *et al.*, 2006) (Baum *et al.*, 2010) (Pichlmair *et al.*, 2006). Lors de la reconnaissance de l'ARN viral, le domaine hélicase de RIG-I se lie à l'ATP, induisant un changement de conformation et permettant le recrutement de caspases qui vont se lier à la protéine antivirale de signalisation mitochondriale (MAVS) et activer IRF-3, IRF-7 et NFκB et ainsi induire la production d'IFN-I et des cytokines pro-inflammatoires (Luo *et al.*, 2011) (Iwasaki *et al.*, 2014) (I. Y. Chen *et al.*, 2015). Une étude récente a montré que la signalisation de RIG-I via MAVS est cruciale pour la réponse immunitaire innée et adaptative anti-virale. En effet, les souris déficientes en RIG-I présentent une réduction de la réponse T et une clairance du virus grippal retardée par rapport aux souris sauvages (Kandasamy *et al.*, 2016).

D'une façon intéressante, des études antérieures ont montré que la protéine NS1 du virus de la grippe pouvait bloquer la signalisation dépendante de RIG-I ce qui inhibe la production de l'IFN-I et affaiblit la réponse anti-virale (Gack *et al.*, 2009) (Pichlmair *et al.*, 2006). Ainsi, ces résultats

décrivent un mécanisme immunosuppresseur par lequel le virus peut échapper à la réponse immunitaire.

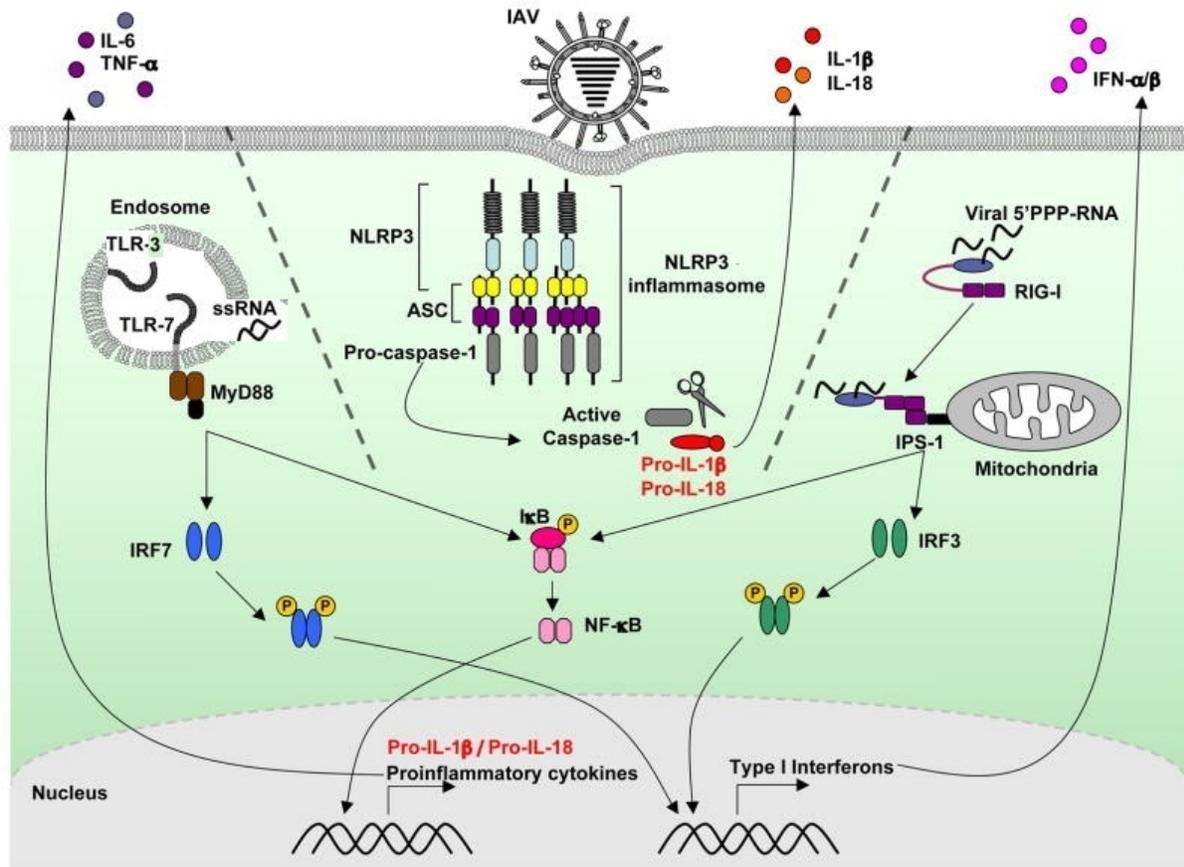


Figure 10: La reconnaissance du virus de l'influenza A par les récepteurs du système immunitaire inné (PRR).

Le virus *influenza* de type A est détecté par au moins trois types de PRR différents : TLR, NLR et RLR. L'ARN viral simple brin (ssRNA) est reconnu par le TLR7 dans l'endosome. Le récepteur cytosolique RIG-I détecte l'ARN viral simple brin qui porte un 5' triphosphate. De plus, les TLR7 et TLR3 endosomaux détectent l'ARN viral double brin. Le signal TLR7 dépend de la voie MYD88 et conduit à l'activation d'IRF7 et NF- κ B. Le signal RIG-I dépend de la protéine IPS-1 (*Interferon- β Promoter Stimulator 1*) localisée dans les mitochondries et va ensuite activer IRF3 et NF- κ B. Suite à leur activation, IRF-7 et IRF-3 migrent vers le noyau pour activer la production d'IFN-I tandis que NF- κ B agit comme facteur de transcription pour l'induction de cytokines pro-inflammatoires incluant l'IL-6, le TNF- α et IL-1 β . La voie TLR7 joue un rôle clé dans la production d'IFN-I au niveau les pDC, tandis que la plupart des autres cellules infectées par le virus utilisent la voie RIG-I. De même, le virus de la grippe de type A active l'inflammasome NLRP3 dans les DC et les macrophages conduisant à l'activation de la caspase-1 qui intervient dans la maturation/clivage de la pro-IL-1 β /IL-18 en IL-1 β et IL-18 actifs (I. K. Pang *et al.*, 2011).

1.2 Les cellules intervenant dans l'immunité innée contre la grippe

La reconnaissance de virus de la grippe par les PRR déclenche une réponse immunitaire complexe basée sur la production des cytokines et des chimiokines pro-inflammatoires. Ceci induit une inflammation excessive corrélée avec l'accumulation incontrôlée de cellules de l'immunité innée. Plusieurs types de cellules participent à la défense anti-virale. Ces cellules et leurs fonctions sont détaillées ci-dessous.

1.2.1 Les macrophages alvéolaires

Les macrophages alvéolaires représentent la première ligne de défense pulmonaire. De nombreuses études ont montré que ces cellules jouent un rôle clé dans la réponse initiale à l'infection par le virus de la grippe (H. M. Kim *et al.*, 2008) (Tate *et al.*, 2010). En effet, l'absence de macrophages alvéolaires chez des souris infectées conduit à des pathologies pulmonaires plus graves et à une diminution de la survie (Purnama *et al.*, 2014) (Schneider *et al.*, 2014). Ghoneim et ses collègues ont rapporté une réduction de 90% de macrophages alvéolaires, 7 jours après l'infection grippale. Cette déplétion est due à un mort cellulaire induit par le virus (Ghoneim *et al.*, 2013). La restauration des macrophages alvéolaires par injection de GM-CSF améliore la survie après une infection (Ghoneim *et al.*, 2013) (Sever-Chroneos *et al.*, 2011) (Huang *et al.*, 2011). Cependant, une étude très récente a montré que la déplétion/persistance des macrophages alvéolaires dépendait largement du contexte génétique de la souris et des conditions d'infection (Danielle Califano *et al.*, 2018). En effet, l'infection grippale de souris BALB/c entraîne plutôt un déclin significatif du nombre de ces macrophages de manière dépendante de l'IFN- γ , alors que le nombre de ces cellules chez la souris C57BL/6 infectée n'est pas altéré mais leur phénotype est modifié.

Les macrophages alvéolaires constituent une source d'oxyde nitrique synthase 2 (NOS2), de TNF- α , et d'IFN-I et ont une expression importante de TRAIL (*TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand*) qui est associée à la pathologie pulmonaire induite par le virus en induisant l'apoptose des cellules épithéliales alvéolaires (Farley *et al.*, 2006) (K. L. Lin *et al.*, 2008). Des études *in vitro* ont montré que le virus grippal se réplique au sein des macrophages dérivés des monocytes sanguins en induisant une production importante de cytokines pro-inflammatoires tels le TNF- α et l'IFN- β principalement, celle-ci étant impliquées dans le développement de la pathologie (S. M.

Y. Lee *et al.*, 2009) (Cheung *et al.*, 2002). Dans un modèle murin, l'inhibition de l'expression de TRAIL par ces cellules, en bloquant la voie de signalisation de l'IFN- β , induit un meilleur contrôle de lésions épithéliales après une infection grippale (Hogner *et al.*, 2013). Ces données suggèrent que les macrophages alvéolaires pourraient avoir un rôle bénéfique et un rôle délétère dans le contrôle de la charge virale au cours de l'infection grippale.

1.2.2 Monocytes inflammatoires

Les monocytes inflammatoires MoLy6C^{high} expriment fortement CCR2 et faiblement CX3CR1 (Gordon *et al.*, 2005) (Chao Shi *et al.*, 2011). Les Mo Ly6C^{high} sont recrutés au niveau du poumon et favorise l'immunopathologie induit par le virus de la grippe (Narasaraju *et al.*, 2010). Ceci est dû en partie au fait que ces cellules produisent des cytokines/chimiokines pro-inflammatoires, et expriment iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*) qui induisent des lésions pulmonaires importantes durant l'infection (Chao Shi *et al.*, 2011) (Narasaraju *et al.*, 2010). Les Mo Ly6C^{high} recrutés dans les poumons jouent également un rôle bénéfique en phagocytant les leucocytes apoptotiques au site d'infection (Jennings *et al.*, 2005).

Le recrutement des Mo Ly6C^{high} dans les poumons est dû à leur expression de CCR2 dont la fonction est d'interagir avec la chimiokine CCL2 (*Chemokine (CC motif) Ligand-2*) (ou MCP-1) (Gordon *et al.*, 2005). Les études *in vitro* ont montré que CCL-2 est produite principalement par les cellules épithéliales alvéolaires suite à une infection grippale (J. McGill *et al.*, 2009) (Herold *et al.*, 2006).

Les études *in vivo* ont montré que les souris déficientes en CCR2 et infectées par le virus grippal ont un recrutement diminué des Mo Ly6C^{high} dans les poumons et ceci est associé à une réduction de la pathologie pulmonaire (Keer Sun *et al.*, 2017) (Dawson *et al.*, 2000) (J. R. Aldridge *et al.*, 2009). De plus, les souris déficientes en CCR2 et infectées présentent aussi une réduction de l'activation des cellules T CD8⁺ spécifiques du virus, conduisant à une augmentation du titre viral dans les poumons (Dawson *et al.*, 2000). Le transfert adoptif des Mo Ly6C^{high} chez des souris déficientes en CCR2 restaure les réponses T CD8⁺ et favorise la clairance du virus (J. R. Aldridge *et al.*, 2009). D'autres études ont utilisées des méthodes alternatives (par exemple l'utilisation de souris MCP1^{-/-}) pour évaluer la réponse monocyttaire au cours de la grippe. En effet, l'absence du

ligand de CCR2, le MCP1, chez les souris a peu d'effet sur la maladie, bien que l'utilisation de l'anti-MCP-1 puisse réduire l'inflammation lors de la grippe (D. Damjanovic *et al.*, 2011) . Ceci montre le rôle délétère des Mo Ly6C^{high} lors d'une infection. D'autres études contradictoires suggèrent que les monocytes ont un rôle protecteur en utilisant un traitement avec le muramyl-dipeptide. Muramyl-dipeptide est un PAMP qui stimule NOD2, qui est un récepteur intracellulaire reconnaît le peptidoglycane bactérien. Le traitement au muramyl-dipeptide, augmente la production de MCP-1 et le recrutement de monocytes au cours de la grippe et induit une protection contre l'infection (Coulombe *et al.*, 2012)

Globalement, Mo Ly6C^{high} semblent jouer un rôle bénéfique au début de l'infection mais pourraient avoir un rôle délétère en participant au maintien de l'inflammation pulmonaire et causer des dommages à des temps plus tardives de l'infection.

La deuxième population de monocytes appelée monocytes résidents Mo Ly6C^{low}, expriment faiblement le CCR2 et fortement le CX3CR1 (Gordon *et al.*, 2005) (Chao Shi *et al.*, 2011). Lors de la grippe, ces cellules patrouillent et réparent les cellules endothéliales endommagées par une infection (Chao Shi *et al.*, 2011).

1.2.3 Les cellules dendritiques

Les DC constituent également une première ligne de défense contre le virus grippal. Elles sont équipées en PRR, lesquels peuvent détecter précocement et de façon directe les antigènes viraux ou indirectement les cellules infectées apoptotiques (Waithman *et al.*, 2012). Parmi ces PRR, les DC peuvent exprimer les TLR3, TLR7, TLR8, RLR, NLR, AIM2 (Waithman *et al.*, 2012). A noter que le TLR7 chez les souris, et le TLR8 chez l'homme sont les plus étudiés au niveau des DC lors de la grippe (Diebold *et al.*, 2004). Au cours de la grippe, des études chez l'homme et chez la souris montrent que les DC activées produisent une large gamme de cytokines et de chimiokines, y compris IL-6, IL-12, IL-18, TNF α , IL-8, CCL-5 (RANTES), CXCL-10 (IP-10), CCL-3/4 (MIP-1) et l'IFN-I (Penna *et al.*, 2002) (Foti *et al.*, 1999). De façon importante, un certain nombre de médiateurs innés solubles produits chez l'homme au cours de la grippe peuvent altérer la réponse

des DC contre le virus, y compris, SP-D (*Surfactant Proteins-D*), les défensines et LL-37 (Ganguly *et al.*, 2009) (D. J. Davidson *et al.*, 2004).

Suite à une infection par le virus grippal, les DC peuvent acquérir les antigènes via deux mécanismes distincts déjà décrit dans le premier chapitre pour activer la réponse immunitaire humorale et cellulaire (**Figure 11**). Ainsi, le rôle principal de DC n'est pas la clairance virale, mais plutôt d'activer la réponse adaptative contre le virus.

Des études ont montré l'implication des DC dans le contrôle du titre viral dans les poumons et ainsi dans la survie lors de la grippe. En effet, il a été démontré que la déplétion de DC, en utilisant des souris DTR-CD11c, augmente la charge virale, augmente la perte de poids et ainsi la sévérité de l'infection (Corine H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008). Ceci est dû à une diminution de la réponse cytotoxique des LT CD8⁺ spécifiques de virus. En réponse à une primo infection grippale, les LT CD8⁺ sont activés dans les ganglions lymphatiques. Suite à leur sortie des ganglions, les LT CD8⁺ effecteurs migrent vers les poumons où ils se divisent (Jodi McGill *et al.*, 2009). Un tel processus est possible car les DC sont continuellement recrutées dans les poumons au cours de la grippe (McGill *et al.*, 2008) (K. L. Lin *et al.*, 2008) (J. R. Aldridge *et al.*, 2009). Celles-ci comprennent les cDC (cDC1 et cDC2), les pDC, ainsi que les moDC et les IKDC (*Interferon-Producing Killer DC*) (T. S. Kim *et al.*, 2009a) (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (Corine H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (H. Lin *et al.*, 2008) (GeurtsvanKessel *et al.*, 2009).

Il est important de noter que l'infection directe des DC par le virus de la grippe peut aussi induire leur apoptose (Oh *et al.*, 2000), ce qui constitue un des mécanismes par lequel le virus peut échapper à la réponse immunitaire en inhibant l'activation de la réponse adaptative. En effet, il a été montré que l'infection directe des DC humaines (cDC) par le virus de la grippe, abroge le mécanisme de présentation croisée (Smed-Sorensen *et al.*, 2012). Pour surmonter cela, les DC directement infectées par le virus peuvent transférer leur antigène à des DC fonctionnelles non infectées. Ce mécanisme de présentation de l'antigène grippal reste à démontrer (Waithman *et al.*, 2012).

Les DC pulmonaires représentent une population hétérogène (**Figure 12**) et nous allons maintenant détailler les caractéristiques et les fonctions antivirales de ces différentes sous-populations de DC au cours de l'infection grippale.

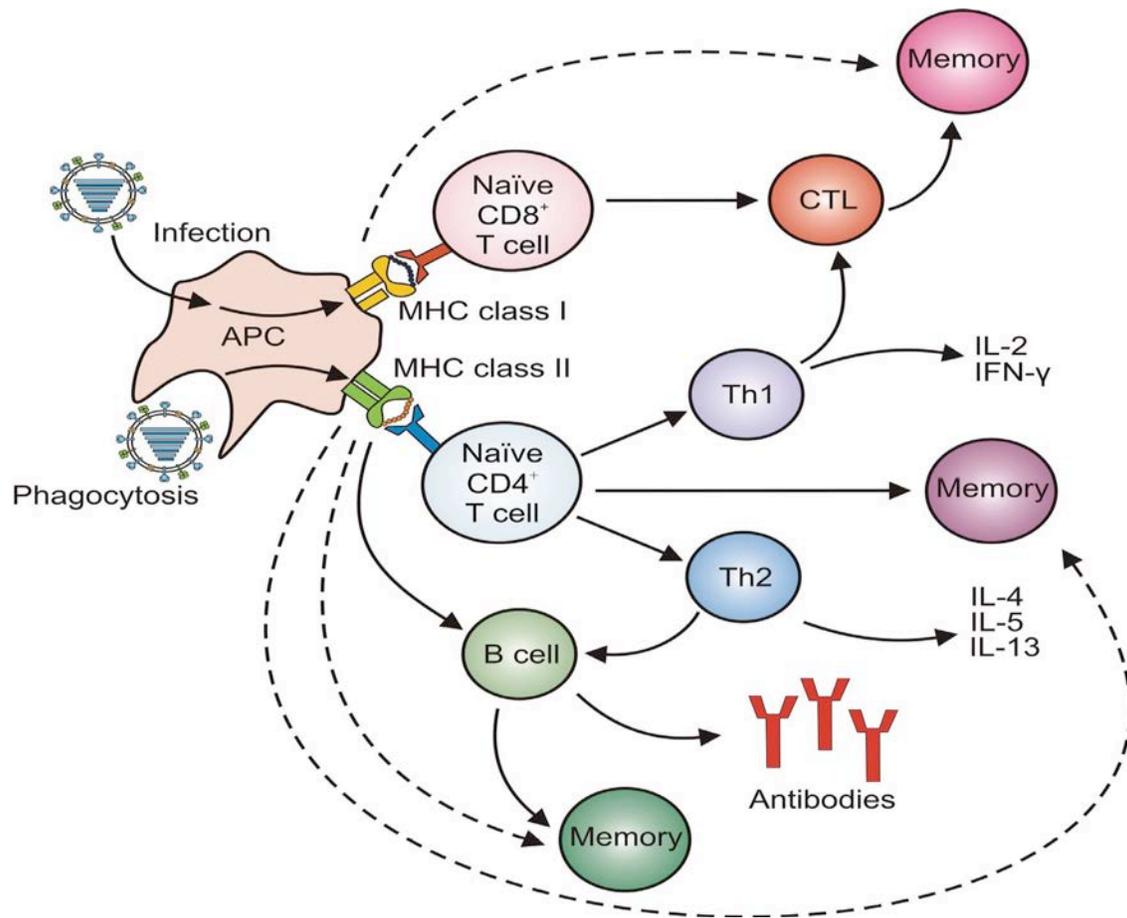


Figure 11: Induction de l'immunité humorale et cellulaire par les DC contre la grippe.

L'induction des réponses immunitaires après une infection primaire par le virus grippal est indiquée par des flèches pleines. L'activation plus rapide des cellules T et B mémoire spécifiques de l'antigène viral lors d'une rencontre secondaire avec le virus de la grippe est indiquée par des flèches en pointillés (van de Sandt *et al.*, 2012).

1.2.3.1 cDC1 (CD8 α^+ et CD103 $^+$)

Au niveau du poumon, les cDC CD103⁺ (qui expriment aussi le CD24), appelées aussi cDC migratoires, peuvent être retrouvées dans la muqueuse respiratoire et la paroi vasculaire. Les cDC CD8 α^+ se résident dans les ganglions lymphatiques drainants (Hao *et al.*, 2008) (Waithman *et al.*, 2012) (T. H. Kim *et al.*, 2014).

Au cours de la grippe, les cDC1 (CD103⁺) captent l'antigène viral de poumons et migrent vers les ganglions lymphatiques drainants 2 jours après le début de l'infection (Hermesh *et al.*, 2010) (Moltedo *et al.*, 2009) (C. H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (Lukens *et al.*, 2009). Ceci pourrait expliquer la chute observée dans leur nombre au niveau des poumons après l'infection (André Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (Barthelemy *et al.*, 2017). Cependant, ces résultats sont à prendre avec précautions car d'autres études ne soutiennent pas cette diminution du nombre de cDC1 (C. H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (J. L. Cruz *et al.*, 2017). La migration des cDC1 est principalement médiée par le GM-CSF produit via les cellules épithéliales alvéolaires suite à une infection grippale (Unkel *et al.*, 2012). Suite à leur migration, la présentation des NP par les cDC CD103⁺ dans les ganglions induit une prolifération précoce, 2 jours après l'infection, des cellules T CD8⁺ spécifiques de cet antigène (Suárez-Ramírez *et al.*, 2011). Une étude très récente a rapporté que l'infection par le virus grippal chez les souris nouveau-nées engendrent dans les poumons deux populations phénotypiquement et fonctionnellement distinctes de DC CD103⁺ (CD103^{low} et CD103^{hi}) (Ruckwardt *et al.*, 2018). En effet, il a été montré que les DC CD103^{low} sont phénotypiquement immatures et expriment de façon faible des molécules co-stimulatrices ce qui induit une altération précoce dans la capacité à stimuler les LT chez ces souris.

Des études ont montré que les antigènes viraux peuvent être transférés des DC CD103⁺ migratoires vers les cDC CD8 α ⁺ résidentes dans les ganglions lymphatiques afin d'activer les cellules T (Belz *et al.*, 2004).

La sous-population cDC1 est principalement impliquée dans l'induction des réponses immunitaires primaires Th1 (Maisonasse *et al.*, 2015). Les cDC1 ont la capacité à phagocyter des cellules infectées apoptotiques et de présenter ces antigènes exogènes par la molécule de CMH-I par une présentation croisée pour activer les LT CD8⁺ (Julie Helft *et al.*, 2012) (K. Hildner *et al.*, 2008) (Desch *et al.*, 2011). En effet, il a été montré qu'après l'interaction directe avec les cellules T, les cDC1 activent la migration des LT CD8⁺ et Th1 vers les poumons, secrétant l'IFN- γ dans les espaces aériens et accélérant la clairance virale. La déplétion des cDC1 dans le modèle de souris *Batf3*^{-/-} ou langerin-DTR (*Diphtheria Toxin Receptor*) diminue ainsi la clairance virale en altérant le nombre des LT CD8⁺ spécifiques du virus dans les poumons (C. H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (J. Helft *et al.*, 2012).

1.2.3.2 cDC2 (CD11b⁺)

Les cDC2 résident principalement dans la lamina propria qui est située au-dessous de la membrane basale (Robbins *et al.*, 2008) (T. H. Kim *et al.*, 2014). Les cDC2 pulmonaires sont les principales cellules productrices de chimiokines pro-inflammatoires, y compris MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES et MCP5, attirant les cellules inflammatoires et les LT effecteurs vers le poumon (Beatty *et al.*, 2007). Ces cellules présentent une sensibilité moyenne à une infection par le virus de la grippe par rapport à d'autres sous-populations (Hao *et al.*, 2008). Au cours d'une infection, les DC CD11b⁺ captent l'antigène et migrent vers les ganglions lymphatiques où elles s'accumulent pour devenir la sous-population majeure de cDC (Lukens *et al.*, 2009). Les cDC CD11b⁺ captent l'antigène virale et activent les LT CD8⁺ via la molécule co-stimulatrice CD70 dans les ganglions lymphatiques, sans transférer l'antigène aux cellules DC CD8 α ⁺ résidentes (André Ballesteros-Tato *et al.*, 2010). Bien que les cDC2 soient les plus nombreuses dans les ganglions lymphatiques suite à une infection, ils induisent très faiblement la réponse *in vitro* des cellules T CD8⁺ spécifiques de virus (Suárez-Ramírez *et al.*, 2011). Par contre, au cours de l'infection grippale, les cDC2 jouent un rôle crucial dans la présentation de l'antigène viral aux LT CD4⁺ et induisent leur activation (T. S. Kim *et al.*, 2009b). Plusieurs rapports ont d'ailleurs montré l'implication majeure des cDC2 dans la réponse Th2 protectrice contre la grippe (Maisonnasse *et al.*, 2015) (Williams *et al.*, 2013) (Roxane Tussiwand *et al.*, 2015).

1.2.3.3 pDC

Les pDC sont les plus résistantes à une infection par le virus de la grippe (Hao *et al.*, 2008). Au cours d'une infection grippale, les pDC s'accumulent dans les poumons et dans les ganglions lymphatiques après sa capture de la NP virale et sécrètent de grandes quantités d'IFN-I (T. H. Kim *et al.*, 2014). Une étude *ex vivo* montre la présence de NP au niveau des pDC isolées à partir de ganglions lymphatiques de souris infectées en utilisant des anticorps spécifiques dirigés contre ces antigènes (Corine H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008). L'accumulation simultanée de pDC dans les tissus infectés et dans les ganglions pourrait être une preuve supplémentaire de leur capacité migratoire. Cependant la plupart des pDC qui se présentent dans les ganglions au cours de l'infection, entrent via les veinules à endothélium épais (Cella *et al.*, 1999; Grouard *et al.*, 1997)

(Frederick P. Siegal *et al.*, 1999). Ainsi, il n'est pas clairement établi si les pDC de poumons capturent l'antigène et migrent vers les ganglions ou bien si la particule NP passe dans les vaisseaux lymphatiques et est capturée par les pDC localisées dans les ganglions (Corine H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (J. A. Villadangos *et al.*, 2008).

Les pDC matures régulent positivement leur expression de CMH et des molécules co-stimulatrices de cellules T pour présenter des antigènes via les CMH-I et II aux cellules T CD8⁺ et CD4⁺, respectivement (J. A. Villadangos *et al.*, 2008). A noter que l'expression des molécules du CMH et de co-stimulation lors de la grippe n'est pas aussi élevée que celle des cDC, ce qui pourrait expliquer que les pDC soient moins efficaces que les cDC à activer les LT (Schlecht *et al.*, 2004). D'ailleurs, il a été montré que la déficience en pDC (en utilisant des anticorps anti-120G8) a peu d'impact sur la réponse des LT CD8⁺ spécifiques du virus. Ainsi, l'absence des pDC n'affecte pas la clairance virale et la sévérité de la maladie (C. H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008). De façon intéressante, il a été montré que l'absence de pDC chez les souris Ikaros^{L/L} entraîne une diminution du recrutement de LT dans l'espace broncho-alvéolaire au début de l'infection. Ce recrutement est restauré après transfert de pDC chez les souris Ikaros^{L/L}. Ceci suggère donc que l'afflux initial des LT dans le BAL (*Bronchoalveolar Lavage*) est régulé par les pDC (Wolf *et al.*, 2009). Cette observation peut être expliquée par le fait que les pDC ont la capacité de produire une grande variété de chimiokines, telles que CXCL9, CXCL10, CXCL11, et CCL4 (Piqueras *et al.*, 2006) (Megjugorac *et al.*, 2004).

1.2.3.4 moDC

Au cours de l'infection grippale, les moDC se différencient à partir des Mo Ly6C^{high} infiltrés dans le poumon (Serbina *et al.*, 2009) (Neyt *et al.*, 2013) (M. Guilliams *et al.*, 2013). La migration et la différenciation des monocytes sont dépendantes de CCR2 et de l'IFN-I, respectivement (K. L. Lin *et al.*, 2008) (Seo *et al.*, 2011). Certaines études *in vitro* ont suggéré que les moDC produisaient de l'IFN-I capable de contrôler la réplication virale (W. Cao *et al.*, 2012) (Hou *et al.*, 2012). Les moDC produisent également de grandes quantités de chimiokines spécifiques des monocytes tels le MCP-1 (appelé aussi CCL2, IP-10 (*Inducible Protein 10* ou CXCL-10)). Ceci renforce la défense anti-virale en augmentant le recrutement de monocytes dans les poumons (W. Cao *et al.*, 2012) (Gill *et al.*, 2008).

Il n'est pas encore clairement établi si les moDC migrent vers les ganglions lymphatiques et induisent une réponse T spécifique du virus (T. S. Kim *et al.*, 2009b) (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010). Toutefois, des études ont montré que les moDC expriment faiblement les molécules du CMH et de co-stimulation, ce qui suggère que les moDC ne joueraient pas de rôle dans l'activation des LT (W. Cao *et al.*, 2012) (Gill *et al.*, 2008). Il a d'ailleurs été montré que les moDC stimulaient très faiblement les LT CD4⁺ et CD8⁺ naïfs après infection par le virus grippal ce qui suggère qu'elles sont incapables de capturer/dégrader/présenter les antigènes viraux. Les moDC ont pourtant la capacité d'activer fortement les LT lorsque celles-ci sont prétraitées avec un peptide viral (T. S. Kim *et al.*, 2009b) (K. L. Lin *et al.*, 2011), suggérant que leur expression des molécules du CMH est suffisante pour présenter un peptide viral et activer les LT. Cependant, certains rapports ont décrit une accumulation de moDC (CCR2⁺) dans les organes lymphoïdes et une activation de LT CD4⁺ suite à une infection grippale (Shortman *et al.*, 2007) (Qu *et al.*, 2004) (León *et al.*, 2007). Nakano et ses collaborateurs ont suggéré que le recrutement de moDC est essentiel pour promouvoir le développement de réponses Th1 au sein des ganglions lymphoïdes suite à une infection. Bien que les DC CD8 α ⁺ soient connues pour induire une réponse Th1, les auteurs démontrent que moDC induit des réponses Th1 encore plus robustes que les DC CD8 α ⁺ (Nakano *et al.*, 2009).

Plusieurs études ont suggéré que les moDC pourraient activer les LT spécifiques dans le poumon, un peu plus tardivement au cours de la grippe. En effet, Les LT seraient activés dans les ganglions et ensuite migreraient dans les poumons où elles seraient re-activées par les moDC (T. S. Kim *et al.*, 2009a) (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (Corine H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (H. Lin *et al.*, 2008) (GeurtsvanKessel *et al.*, 2009).

1.2.3.5 IKDC

Les IKDC (CD3⁻ CD19⁻ B220⁺ CMHII⁺ CD11c^{int} NK1.1^{hi} CD11b^{int}) ont initialement été décrites comme ayant la capacité à produire de l'IFN- γ et avoir des fonctions immunitaires de cellules NK et aussi le potentiel à présenter des antigènes aux LT naïfs (Taieb *et al.*, 2006) (Chan *et al.*, 2006). Dans le contexte de l'infection grippale, une étude a mis en évidence le rôle des IKDC *in vivo* dans

les poumons de souris infectées par le virus de la grippe dans la présentation de l'antigène et dans l'activation des cellules T CD8⁺ mais pas des LT CD4⁺ (GeurtsvanKessel *et al.*, 2009). En effet, il a été montré que la déplétion des IKDC induit une réduction dans le nombre de LT CD8⁺ spécifique de virus. Dans cette même étude, GeurtsvanKessel et ses collègues ont montré une accumulation des IKDC dans les poumons avec un pic à 7 jours après une infection par le virus. Leur déplétion, en utilisant un anticorps anti-NK1.1, conduit à une expansion réduite des cellules T CD8⁺ spécifiques du virus dans les poumons et est associée à une augmentation dans la charge virale (GeurtsvanKessel *et al.*, 2009). A noter qu'*in vitro*, les IKDC spléniques sont incapables de présenter des antigènes viraux aux LT spécifiques du virus (Caminschi *et al.*, 2007). Suite à ces quelques études, il s'est avéré que les IKDC représentent plutôt une population immature de cellules NK (J. Hanna *et al.*, 2004) (Roncarolo *et al.*, 1991).

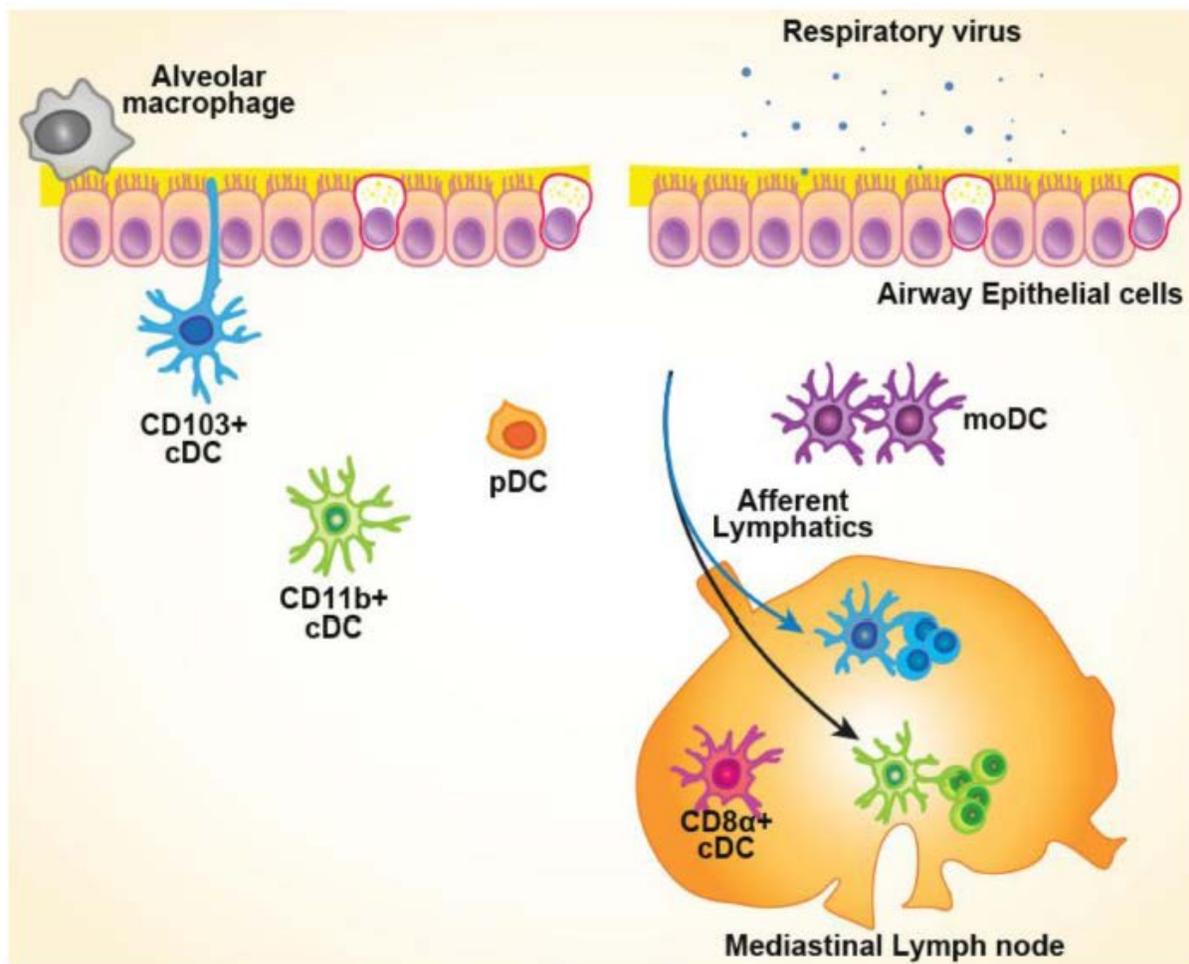


Figure 12: Les sous-populations de DC pulmonaires durant une infection virale.

A l'homéostasie, il existe dans les poumons différentes sous-populations de DC : les cDC CD103⁺, cDC CD11b⁺ et les pDC. Les cDC CD103⁺ sont principalement situées dans la muqueuse respiratoire et leurs dendrites peuvent atteindre l'espace alvéolaire pour capter l'antigène viral. Les cDC CD11b⁺ sont distribuées dans la lamina propria située en dessous de la membrane basale. Les pDC sont présentes dans les voies aériennes, le parenchyme et les septa alvéolaires. Après l'infection virale, les Mo Ly6C^{high} recrutés vers les poumons se différencient en mDC. Après la capture de l'antigène viral, les DC migrent vers les ganglions lymphatiques médiastinaux drainants via les vaisseaux lymphatiques afférents. Les DC qui ont migrées présentent l'antigène et activent les cellules T naïfs. Les DC CD8α⁺ résidentes des ganglions lymphatiques peuvent recevoir l'antigène des DC migratrices et le présenter aux LT (T. H. Kim *et al.*, 2014).

1.2.4 Les neutrophiles

Les neutrophiles constituent les premières cellules effectrices recrutées dans le poumon après l'infection par le virus grippal (Tate *et al.*, 2008). Dans un modèle murin, au cours de la phase précoce de l'infection par le virus grippal, les neutrophiles représentent 70 à 90% des cellules totales dans les BAL (Sakai *et al.*, 2000).

Les neutrophiles ont des fonctions anti-virales puissantes, telles la phagocytose, la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), la production de peptides antimicrobiens (LL-37, défensines) et la libération de pièges extracellulaires appelés NET (*Neutrophil Extracellular Traps*) (Galani *et al.*, 2015). Ainsi, ces cellules jouent un rôle important dans les réponses immunitaires protectrices et dans la pathologie pulmonaire chez l'homme et chez les souris (Fujisawa, 2008) (Mantovani *et al.*, 2011). De même, leur déplétion chez les souris infectées par IAV contribue à la perte de contrôle de la charge virale et aboutit à des pathologies plus graves (Tate *et al.*, 2008). Un rôle inattendu des neutrophiles a été rapporté dans l'induction de la réponse immunitaire adaptative contre le virus. En effet, les neutrophiles peuvent jouer le rôle de CPA en présentant l'antigène et activant les LT suite à une infection (Tate *et al.*, 2012).

1.2.5 Les cellules Natural Killer

Les NK sont des cellules effectrices importantes de la réponse immunitaire innée. Ces cellules peuvent reconnaître les cellules infectées par le virus à des temps précoces de l'infection, via leurs récepteurs de cytotoxicité (NCR) : NKp44 et NKp46. Ces récepteurs peuvent reconnaître la

protéine HA de la grippe, et cette interaction est médiée par le SA contenu dans les molécules NKp44 et NKp46 (Gazit *et al.*, 2006) (Arnon *et al.*, 2004) (Jarahian *et al.*, 2009). L'engagement de ces récepteurs conduit à une cytotoxicité accrue contre les cellules infectées et induit la production de cytokines par les cellules NK activées (Arnon *et al.*, 2001). Dans ce contexte, il a été démontré que la susceptibilité à l'infection grippale est plus élevée chez les souris qui présentent une déficience en NKp46 (Gazit *et al.*, 2006), confirmant une étude plus ancienne qui montre que la déplétion des NK par des anticorps dirigés contre ces cellules induit une morbidité et une mortalité plus élevées après infection (Stein-Streilein *et al.*, 1986). Une étude réalisée chez les souris âgées, ayant un nombre réduit de cellules NK pulmonaires et spléniques, montre une susceptibilité plus importante à l'infection grippale chez ces souris (Beli *et al.*, 2011).

A des temps plus tardifs, après le déclenchement de la réponse adaptative humorale, les NK peuvent interagir avec les cellules infectées reconnues par leurs anticorps (anti-HA). Cette interaction induit la lyse de ces cellules par un processus appelé ADCC (*Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity*). Les cellules NK réduisent également la pathologie induite par le virus grippal via la production d'IL-22 qui joue un rôle majeur dans le maintien de l'intégrité de l'épithélium pulmonaire (P. Kumar *et al.*, 2013). A noter que les cellules NK produisent également de l'IL-10 qui régule la production d'IL-12 par les DC et ainsi contrôle l'inflammation excessive durant une infection (Perona-Wright *et al.*, 2009).

1.2.6 Les cellules T Natural Killer invariantes

Les cellules T Natural Killer invariantes ou iNKT représentent une population de LT $\alpha\beta$ "innés" exprimant des marqueurs associés aux cellules NK. Ces cellules ont la particularité de reconnaître les lipides exogènes présentés par la molécule CD1d apparentée au CMH de classe I. Ces cellules jouent un rôle crucial lors d'une infection virale par leur capacité à produire rapidement d'importantes quantités d'IFN- γ , d'IL-4 ou encore d'IL-17 (De Santo *et al.*, 2008) (Kok *et al.*, 2012). Les souris déficientes en cellules iNKT (souris *Ja18^{-/-}*) ont une pathologie pulmonaire aggravée et sont plus susceptibles au virus de la grippe. Les iNKT se caractérisent également par la production d'IL-22 au cours de l'infection grippale qui pourrait avoir un rôle protecteur au niveau de la barrière épithéliale (Paget *et al.*, 2012).

Les iNKT jouent également un rôle sur l'immunité adaptative anti-virale, notamment la réponse T CD8⁺ (Paget *et al.*, 2011). En effet, une étude au laboratoire montre que les souris *Ja18^{-/-}* infectées ont une réponse T CD8⁺ réduite, associée à une altération du nombre et de la fonction des cDC CD103⁺ pulmonaires. De plus, Ho et ses collègues ont montré que l'activation des iNKT après administration d' α -galactosylceramide (α -GalCer), un agoniste de ces cellules, induit une meilleure réponse humorale et une production plus importante d'anticorps spécifiques du virus de la grippe (Ho *et al.*, 2008). Par conséquent, l'activation de ces cellules permet un meilleur contrôle de la charge virale et protège contre l'infection grippale (Galli *et al.*, 2007).

De façon intéressante, les iNKT sont également impliqués dans le contrôle de l'activité des cellules MDSC (*Myeloid-Derived Suppressor Cells*). Ces dernières représentent une population hétérogène de cellules myéloïdes immatures qui s'accumulent au cours d'inflammations chroniques ou en contexte tumoral et jouent un rôle immunosuppresseur (Gabrilovich *et al.*, 2012) (V. Kumar *et al.*, 2016) (Meirow *et al.*, 2015). La déficience en cellules iNKT au cours de la grippe est associée à une augmentation significative du recrutement des MDSC au niveau du poumon ce qui réduit le contrôle de la charge virale (De Santo *et al.*, 2008).

1.2.7 Les cellules T gamma delta (T $\gamma\delta$)

Les cellules T $\gamma\delta$ sont des LT qui expriment un récepteur unique des LT (TCR) qui est composé d'une chaîne γ et d'une chaîne δ . Ces cellules peuvent se retrouver dans la muqueuse intestinale, la peau, les poumons et l'utérus, et sont impliqués dans l'initiation et la propagation des réponses immunitaires (Nielsen *et al.*, 2017). Il a été rapporté que les lymphocytes T $\gamma\delta$ peuvent éliminer les cellules infectées par le virus grippal par des mécanismes qui incluent l'engagement des récepteurs d'apoptose NKG2D (*Natural Killer Group 2D*) et TRAIL ou des récepteurs de mort cellulaire CD95 (Fas ou FasR) qui induisent la production de perforines et de granzymes (Qin *et al.*, 2009). De plus, les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont caractérisées par leur capacité à produire de façon importante l'IL-17, qui est crucial dans la réponse immunitaire au niveau des muqueuses respiratoires (Narita *et al.*, 2010). En effet, il a été démontré que l'IL-17 joue un rôle important dans le recrutement de neutrophiles et ainsi dans la pathologie induite par le virus grippal (Crowe *et al.*, 2009).

1.3 La réponse immunitaire adaptative

1.3.1 Immunité cellulaire

Les LT CD4⁺ sont principalement connus pour produire des cytokines : elles peuvent avoir un profil Th1, Th2, Th17 ou encore Treg. Une étude a montré, grâce à la culture *in vitro* avec un antigène viral du virus de la grippe, que les cellules Th1 produisent l'IFN- γ , et l'IL-2 qui sont principalement impliqués dans la réponse immunitaire cellulaire. Tandis que les Th2 après une telle stimulation produisent IL-4 et IL-13 et favorisent principalement la réponse des LB (Lamb *et al.*, 1982). Les lymphocytes T CD4⁺ peuvent aussi avoir une activité cytotoxique (Soghoian *et al.*, 2010). Elles tuent les cellules infectées soit par la voie des perforines/granzymes (Gamadia *et al.*, 2004), soit via l'activation des récepteurs activateurs qui se trouvent normalement sur les cellules NK tels que NKG2D, KIR2DS2 et KARAP / DAP12 (Saez-Borderias *et al.*, 2006) (van Bergen *et al.*, 2004). Afin de confirmer le rôle de LT CD4⁺ au cours de la grippe, une étude a montré que la déplétion de ces cellules en utilisant l'anti-CD4 abroge la capacité de souris à éliminer le virus et présentent une mortalité plus importante par rapport aux souris contrôles (Mozdzanowska *et al.*, 2000).

Il a été rapporté que la neutralisation de l'IL-17 produit par les Th17 en utilisant des anticorps neutralisants spécifiques diminue la protection contre l'infection grippale (Hamada *et al.*, 2009). Les lymphocytes Th17 produisent également de l'IL-6 au cours de la grippe qui lève l'immunosuppression induit par les Treg et favorise la clairance virale (Campbell *et al.*, 2011) (Longhi *et al.*, 2008).

Les lymphocytes Treg sont impliqués dans la régulation de la réponse inflammatoire pulmonaire lors de la phase de résolution de l'infection grippale, par leur production de l'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire (Kreijtz *et al.*, 2011).

En réponse à l'infection grippale, les LT CD8⁺ sont activés au niveau des ganglions. Une fois activées, les cellules T CD8⁺ quittent les ganglions et sont recrutées vers les poumons. Ces cellules ont la capacité de produire un large panel de cytokines (IL-2, IL-9, IL-10, IL-21, IFN- γ et TNF) et de chimiokines (CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9 et CXCL10) pour attirer des cellules

immunitaires innées et adaptatives vers les poumons et faciliter la clairance virale (Hamada *et al.*, 2013) (N. L. La Gruta *et al.*, 2004) (J. Sun *et al.*, 2009).

Les LT CD8⁺ sont connus principalement pour jouer un rôle cytotoxique lors de la grippe (Regner *et al.*, 2009). Guo et ses collègues ont montré que la déplétion des cellules T CD8⁺, avant ou après l'infection par le virus de la grippe, abroge la réponse cytotoxiques et ainsi conduit à un défaut de contrôle de la réplication virale et une diminution de la survie par rapport aux souris contrôles (Hailong Guo *et al.*, 2014). L'expression de TRAIL par les LT CD8⁺ semble contribuer à la clairance des cellules infectées par le virus de la grippe. En effet, la déficience en TRAIL par les T CD8⁺ chez les souris infectées augmente la charge virale. De même, le transfert adoptif des cellules T CD8⁺ déficientes en TRAIL ne protège pas les souris infectées contre une infection par le virus grippal (Brincks *et al.*, 2008). De façon intéressante, une étude a montré l'implication des cellules T CD8⁺ dans l'inhibition de l'inflammation pulmonaire excessive via leur capacité à produire l'IL-10 pendant l'infection grippale. Le blocage de l'action de l'IL-10 au moment de l'infiltration des cellules T CD8⁺ entraîne une inflammation pulmonaire létale (J. Sun *et al.*, 2009). De façon intéressante, des études ont décrit des nouvelles sous-populations de cellules T CD8⁺ dans les poumons de souris infectées : les "Tc1" (*cytotoxic T lymphocytes*) produisent un niveau élevé d'IFN- γ et les "Tc2", "Tc17" qui pourraient produire des cytokines non classiques pour les LT CD8⁺ (Hamada *et al.*, 2013). Par exemple, les cellules "Tc2" produisent IL-4, IL-5 et faiblement l'IFN- γ et les cellules "Tc17" produisent IL-17 et faiblement l'IFN- γ . Il a été démontré que les cellules "Tc2" et "Tc17" différenciées *in vitro* sont aussi cytotoxiques que les cellules "Tc1", et le transfert adoptif de cellules "Tc2" ou "Tc17" dans des souris infectées améliore la survie après une infection grippale (Cerwenka *et al.*, 1999) (Hamada *et al.*, 2009) (Hamada *et al.*, 2013).

1.3.2 Immunité humorale

Les souris déficientes en LB ont une susceptibilité accrue à l'infection grippale par rapport aux souris contrôles (Graham *et al.*, 1997). Les anticorps les plus connus sont ceux qui sont dirigés contre les deux glycoprotéines de surface HA et NA (Gerhard, 2001). Les anticorps spécifiques de HA empêchent la fixation et l'entrée du virus dans la cellule hôte. En outre, ces anticorps facilitent la neutralisation et la phagocytose des particules virales par des cellules exprimant le récepteur Fc

(fragment cristallisable). Whittle et ses collègues ont décrit un anticorps humain (CH56) dirigé contre le récepteur de HA (SA) et capable de neutraliser divers virus du même sous-type antigénique (Whittle *et al.*, 2011). Les anticorps dirigés contre la NA ont également un rôle protecteur. En effet, l'activité enzymatique de la protéine NA entraîne le clivage des résidus de SA sur la surface cellulaire pour faciliter la libération et la propagation des virions nouvellement formés (Matrosovich *et al.*, 2004). Il a donc été proposé que le blocage de NA par des anticorps neutralisants inhibe la propagation du virus.

Les principaux isotypes produits lors d'une infection par le virus de la grippe sont des IgM, IgA et IgG. Les IgM déclenchent la neutralisation du virus grippal en activant le système de complément (Fernandez Gonzalez *et al.*, 2008) (Jayasekera *et al.*, 2007). Les anticorps IgA muqueux ou sécrétoires sont produits localement et transportés le long des muqueuses des voies respiratoires par un transport trans-épithélial et peuvent fournir une protection locale. Ces anticorps empêchent l'interaction entre le virus et les cellules et assure ainsi la protection notamment pour les voies respiratoires supérieures (Mazanec *et al.*, 1995). Les IgA sériques sont produits rapidement après l'infection par le virus de la grippe. La présence de ces anticorps dans les sérums est révélatrice d'une infection (Rothbarth *et al.*, 1999) (Voeten *et al.*, 1998). Les anticorps sériques du sous-type d'IgG sont présents principalement dans les voies respiratoires inférieures et assurent une protection de longue durée en empêchant l'entrée de virus dans les cellules par bloquer l'interaction avec son récepteur (B. R. Murphy *et al.*, 1982).

Chapitre 6 Les mécanismes responsables de la surinfection bactérienne

Les études épidémiologiques ont clairement montré que l'infection par le virus de l'*influenza A* augmente la susceptibilité aux infections bactériennes secondaires y compris l'infection par *S. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ou *Haemophilus influenzae* (Ballinger *et al.*, 2010). Les surinfections seraient responsables de la forte morbidité et mortalité associées à la grippe. La susceptibilité accrue à la surinfection bactérienne commence généralement dès le quatrième jour et se poursuit jusqu'à deux semaines après l'infection par le virus. Les mécanismes menant aux surinfections bactériennes sont très complexes et restent mal compris. Deux mécanismes majeurs sont à l'origine de ces surinfections : le virus altère la muqueuse respiratoire et la réponse immunitaire innée (Jonathan A. McCullers, 2006).

1 Altération du tractus respiratoire suite à une infection par *influenza A*

La plupart des données cliniques suggèrent que les changements induits par le virus grippal dans les voies respiratoires amènent les voies aériennes supérieures et les poumons à une infection bactérienne secondaire. Les travaux récents montrent que l'endommagement causé par le virus au niveau de la couche épithéliale pulmonaire favorise l'exposition des molécules de la matrice extracellulaire et les éléments de la membrane basale et facilite l'adhérence des bactéries (Plotkowski *et al.*, 1986; Short *et al.*, 2016) (Robinson *et al.*, 2015). Nous allons maintenant détailler les changements induits par le virus dans les voies respiratoires.

1.1 Changements mécaniques de l'épithélium pulmonaire

En utilisant une souche virale hautement pathogène (A/Porto Rico/8/34) (H1N1) (PR8), de nombreuses études réalisées chez la souris, ont mis en évidence des lésions épithéliales pulmonaires induites par le virus, fournissant un nombre accru de sites d'attachement pour les bactéries (Jonathan A. McCullers *et al.*, 2002) (Gao *et al.*, 2017) (Jia *et al.*, 2017). Par exemple, le clivage de SA, exprimé à la surface de la membrane des cellules de l'hôte, par la protéine NA du virus grippal, pourrait exposer les récepteurs cryptiques aux bactéries, ce qui permettrait à celui-ci

d'adhérer à la trachée et de descendre dans les poumons (Jonathan A. McCullers *et al.*, 2003). Cette même souche de virus utilisée à des doses relativement faibles provoque également des lésions épithéliales importantes dans le poumon et ainsi augmente la susceptibilité à l'infection bactérienne secondaire et diminue la survie (Grimm *et al.*, 2007) (Srivastava *et al.*, 2009). Lors de la surinfection bactérienne post-grippale par *S.pneumoniae*, les bactéries adhèrent aux zones des voies respiratoires endommagées et les souris présentent une charge bactérienne plus élevée comparativement aux souris non infectées par le virus grippal (Plotkowski *et al.*, 1986). Globalement, plusieurs rapports suggèrent que le dommage épithélial pulmonaire causé par le virus est un facteur majeur dans la surinfection bactérienne et aussi dans la mortalité au cours des pandémies grippales de 1918 et 1957 (G. J. Smith *et al.*, 2009).

L'infection par des souches virales moins pathogènes n'engendre pas de dommages pulmonaires. Cependant, suite à une infection secondaire, les bactéries persistent dans les poumons pendant des périodes prolongées, par des mécanismes immunosuppresseurs induits par le virus (Jonathan A. McCullers *et al.*, 2003) (K. F. van der Sluijs *et al.*, 2006).

1.2 Changements dans la fonction des voies respiratoires

Les virus grippaux induisent, en plus des altérations mécaniques, des altérations dans la fonction du poumon qui, facilitent également la pneumonie bactérienne secondaire (Jonathan A. McCullers, 2006). En effet, l'infection grippale cause une obstruction des voies respiratoires qui est due à la perturbation de la production du surfactant, l'augmentation des sécrétions de mucines et l'afflux de cellules inflammatoires. Ceci assure un milieu favorable pour la croissance bactérienne (Qi *et al.*, 2011) (John C. Kash *et al.*, 2015).

Il est bien connu que l'épithélium pulmonaire constitue la première ligne de défense contre les infections bactériennes grâce à la sécrétion de mucus et à la présence de cils qui jouent un rôle important dans l'élimination des bactéries. En effet, des études antérieures ont montré qu'une infection par le virus de la grippe induit une activité non coordonnée et une réduction dans la fréquence de battements de cils ainsi une perturbation dans leur fonction (Pittet *et al.*, 2010). Ceci favorise également la croissance des bactéries et inhibe leur clairance. Il est important de noter que chez les patients atteints d'une maladie pulmonaire préexistante telle que la maladie pulmonaire

obstructive chronique (COPD), la grippe aggrave la maladie en prédisposant à la bronchite chronique et à la pneumonie (Y. Chen *et al.*, 2005) (Glezen *et al.*, 2000).

2 Le virus grippal altère la réponse immunitaire contre les bactéries

Parallèlement aux dommages mécaniques de la muqueuse respiratoire, le virus de la grippe entraîne également une dérégulation des réponses immunitaires innée et adaptative, prédisposant l'hôte à une infection bactérienne secondaire (**Figure 13**).

2.1 Altération de la réponse immunitaire innée

Au niveau pulmonaire, l'activation du système immunitaire inné conduit à la production de cytokines/chimiokines/molécules inflammatoires et l'activation des cellules immunitaires, processus bien coordonné afin de contrôler les infections bactériennes (Abramson *et al.*, 1982). Pourtant, une exposition antérieure à une infection virale peut altérer la réponse innée et la défense anti-bactérienne. Les acteurs majeurs qui sont affectés par le virus sont : les médiateurs inflammatoires (peptides antimicrobiens et interférons anti-viraux) et les cellules immunitaires innées.

2.1.1 Les médiateurs inflammatoires :

2.1.1.1 Peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens participent à l'élimination des micro-organismes pathogènes envahissants, y compris les bactéries Gram positif et négatif, les champignons et les virus. L'expression de ces peptides est présente dans une variété de cellules, y compris les cellules épithéliales des muqueuses et les cellules phagocytaires circulantes (Brogden, 2005). Leur production est induite principalement par les agents pathogènes et par les cytokines et fait partie de la réponse immunitaire innée de l'hôte. Cependant, leur expression peut être supprimée par des facteurs de virulence des pathogènes ou par des facteurs environnementaux et ainsi conduit à une susceptibilité accrue à la surinfection (Diamond *et al.*, 2009). Des travaux récents ont montré que l'infection par le virus de la grippe réduit la production pulmonaire des peptides antimicrobiens

associés à l'IL-17 et à l'IL-22 tels que la lipocaline 2, CAMP (*Cathelicidin Antimicrobial Peptide*), REG3B, S100A8 et S100A9 et augmente la susceptibilité à une infection secondaire par *S. aureus* (Robinson *et al.*, 2014). De plus, dans cette même étude, il a été démontré que la supplémentation exogène de lipocaline 2 améliore l'issue de la surinfection. Il faut mentionner que la régulation de la production de peptides antimicrobiens pendant la surinfection chez l'homme n'a pas été évaluée.

2.1.1.2 Les interférons antiviraux de type I

Au cours de la grippe, de nombreuses études ont mis en évidence l'implication de la voie antivirale de l'IFN dans l'altération de la réponse dirigée contre les bactéries et ainsi dans la surinfection post-grippale. L'IFN-I joue un rôle délétère en induisant une inflammation excessive et ainsi des lésions pulmonaires importantes conduisant à la surinfection secondaire (Carrero, 2013). Des souris déficientes pour le récepteur de l'IFN-I (souris *Ifnar^{-/-}*) et infectées par le virus de la grippe sont protégées contre une infection bactérienne secondaire à *S. pneumoniae* (Shahangian *et al.*, 2009). La production d'IFN-I induite par le virus de la grippe inhibe également la production d'IL-23, une cytokine associée à l'induction de la production d'IL-17 et qui joue un rôle important dans la clairance bactérienne (Anupa Kudva *et al.*, 2011b). Finalement, l'IFN-I peut inhiber directement l'infiltration des neutrophiles dans les poumons et / ou induire leur apoptose et augmenter la susceptibilité aux surinfections bactériennes (P. Y. Lee *et al.*, 2009) (Shahangian *et al.*, 2009).

2.1.2 Les cellules immunitaire innées

2.1.3 Les macrophages alvéolaires

Le virus de la grippe affecte le nombre de cellules phagocytaires des voies respiratoires et contribue ainsi à une perturbation de la défense anti-bactérienne. La diminution du nombre de macrophages alvéolaires lors de la grippe entraîne un défaut de la clairance des bactéries et favorise la surinfection bactérienne post-grippale (Ghoneim *et al.*, 2013). A noter que la population de macrophages alvéolaires est complètement restaurée deux semaines après l'infection virale. De plus, après une infection grippale, les macrophages alvéolaires ont une expression accrue du

récepteur CD200, un récepteur qui joue un rôle important dans la régulation de la réponse immunitaire innée en transmettant un signal inhibiteur et en bloquant la fonction pro-inflammatoire des cellules myéloïdes (Minas *et al.*, 2006). Ainsi, la signalisation de CD200 supprime la réponse des macrophages lors d'une surinfection bactérienne (Snelgrove *et al.*, 2008). Les macrophages alvéolaires de souris infectées présentent également une diminution de l'expression de MARCO (*Macrophage Receptor with Collagenous structure*), qui réduit ainsi leur capacité à ingérer les bactéries (K. Sun *et al.*, 2008). De la même façon, une étude a montré que les macrophages alvéolaires, isolés après la résolution de l'infection grippale, présentent une désensibilisation aux signaux de TLR ce qui altère la production de cytokines et de chimiokines qui sont nécessaires pour l'activation et le recrutement des autres cellules immunitaires comme les neutrophiles (Didierlaurent *et al.*, 2008). A noter que la diminution de la production de chimiokines est causée par une diminution de la translocation du facteur nucléaire κ B (NF- κ B) dans le noyau des macrophages alvéolaires par un mécanisme qui n'est pas encore identifié (Didierlaurent *et al.*, 2008).

2.1.4 Les monocytes inflammatoires

Le recrutement de Mo Ly6C^{high} au cours de l'infection grippale est associé à un endommagement des cellules épithéliales pulmonaires. Ceci est dû en partie à leur expression importante de TRAIL, de TNF- α et de NOS2 qui contribuent aux lésions de l'épithélium pulmonaire et facilite l'invasion bactérienne (G. T. Ellis *et al.*, 2015) (S. Herold *et al.*, 2008) (S. Davidson *et al.*, 2014) (K. L. Lin *et al.*, 2008). Plusieurs études ont montré que l'inhibition de la migration des Mo Ly6C^{high} dans les poumons, en utilisant des modèles de souris CCR2^{-/-}, est associée à une diminution des dommages épithéliaux et à une résistance accrue aux surinfections bactériennes (S. Herold *et al.*, 2008) (K. L. Lin *et al.*, 2008). De même, les souris CCR2^{-/-} présentent une réduction de la charge bactérienne et une survie prolongée après une infection grippale (G. T. Ellis *et al.*, 2015).

2.1.5 Les neutrophiles

Les neutrophiles jouent un rôle crucial dans l'élimination des infections bactériennes pulmonaires. Cependant, plusieurs études ont rapporté que la neutrophilie accrue lors d'une infection antérieure par le virus grippal est plutôt associée à une forte inflammation et ainsi à des lésions épithéliales pulmonaires. Par conséquent, ce type de neutrophilie augmente la susceptibilité à une surinfection bactérienne par *S. aureus* ou par *S. pneumoniae* (Jonathan A. McCullers *et al.*, 2002). En effet, les souris infectées par *S. aureus* six jours après l'administration du virus de la grippe, présentent un nombre plus élevé de neutrophiles dans les BAL associé à une charge bactérienne plus élevée par rapport aux souris ayant reçu des bactéries seules (Anupa Kudva *et al.*, 2011a). Des résultats similaires ont été trouvés dans le cas d'une surinfection par *S. pneumoniae* (Daniela Damjanovic *et al.*, 2013). Cependant, l'inhibition de recrutement des neutrophiles en utilisant des anticorps neutralisants spécifiques de la chimiokine CXCL2 au cours de la surinfection n'améliore pas la morbidité et la mortalité (A. Kudva *et al.*, 2011). De même, des études antérieures ont montré que, lors de la grippe, la réduction dans le nombre de neutrophiles, causée par l'apoptose de ces cellules, favorise les surinfections bactériennes (P. Y. Lee *et al.*, 2009) (Shahangian *et al.*, 2009). Ceci suggère que les neutrophiles jouent un rôle bénéfique au début de l'infection mais entraîne une inflammation excessive et donc un rôle délétère plus tardivement.

Des travaux ont montré une contribution des NET ou les pièges extracellulaires libérés par les neutrophiles dans les complications post-grippales (Narayana Moorthy *et al.*, 2013). En effet, il a été montré que les NET peuvent favoriser la pathologie pulmonaire en libérant des histones extracellulaires cytotoxiques qui contribuent à l'inflammation et augmente la susceptibilité aux infections bactériennes (Narayana Moorthy *et al.*, 2013) (J. Xu *et al.*, 2009).

Finalement, il a été montré que les neutrophiles isolés de poumons infectés par le virus de la grippe, présentent des réponses anti-bactériennes altérées. Dans un modèle humain, l'infection de neutrophiles par le virus de la grippe *in vitro*, entraîne une inhibition du chimiotactisme et une diminution de la production d'anions superoxyde par ces cellules (Abramson *et al.*, 1982) (Colamussi *et al.*, 1999). Il est important de noter qu'*in vivo*, le virus peut infecter directement les neutrophiles dans le poumon et interférer avec leurs fonctions anti-bactériennes (LeVine *et al.*, 2001) (Seki *et al.*, 2004).

2.1.6 Les cellules NK

Les cellules NK sont également considérées comme des cellules effectrices importantes lors d'infections bactériennes, via leur libération de facteurs antibactériens comme le TNF- α (Braciale *et al.*, 2012). Les cellules NK isolées de poumons infectés présentent une production diminuée de TNF- α , mais les mécanismes sous-jacents ne sont pas clairement établis. De plus, l'infection par le virus grippal induit une réduction de l'activation et le recrutement des NK dans le poumon ce qui favorise l'infection bactérienne secondaire (Small *et al.*, 2010).

Des études antérieures ont montré que l'interaction de CD200R avec son ligand diminue l'activation de la réponse immunitaire innée suite à une infection par le virus de la grippe (Snelgrove *et al.*, 2008). De façon intéressante, une étude a montré une forte augmentation du nombre de cellules NK chez les souris déficientes pour le CD200R, ce qui permet un meilleur contrôle de la charge bactérienne de *S. pneumoniae* suite à une infection grippale (Goulding *et al.*, 2011).

Il est important de noter que les cellules NK sont susceptibles d'être infectées par le virus de la grippe, ce qui pourrait conduire à des défauts de leurs activités effectrices telles que la cytotoxicité et la production des cytokines et des chimiokines (H. Guo *et al.*, 2009).

2.1.7 iNKT

Les études sur le rôle des de ces cellules dans la surinfection sont peu documentées. Une étude de notre laboratoire a démontré que lors d'une infection bactérienne post-grippale, les iNKT deviennent incapables de produire l'IFN- γ et l'IL-17, deux cytokines cruciales dans la clairance bactérienne. Cet phénotype est dû à la forte production d'IL-10 dans les poumons de souris infectées (Barthelemy, Ivanov, Fontaine, *et al.*, 2016). Ceci peut ainsi favoriser la surinfection bactérienne. De plus, l'injection d' α -GalCer, puissant activateur des cellules iNKT, à des temps précoce ou tardif de la surinfection entraîne une production importante d'IFN- γ et d'IL-17 par les iNKT permettant de diminuer la charge bactérienne dans les poumons et dans la rate (Barthelemy, Ivanov, Hassane, *et al.*, 2016).

2.1.8 Les cellules T $\gamma\delta$

L'implication de ces cellules lors d'une infection bactérienne post-grippale est peu connue. Une étude a montré l'inhibition de leur production d'IL-17 par la voie de signalisation de l'IFN-I lors de la grippe. De plus, le transfert adoptif de cellules T $\gamma\delta$ de souris *Ifnar*^{-/-} augmente leur production d'IL-17 et ainsi la clairance des bactéries (Wenjing Li *et al.*, 2012).

2.2 Acteurs de la réponse immunitaire adaptative

L'infection par le virus de la grippe induit des réponses immunes de type cytotoxique T CD8⁺ et de type Th1 caractérisées par la production d'IFN- γ . Il a été montré que la production massive de cette cytokine aggrave les lésions pulmonaires et favorise la surinfection (Wiley *et al.*, 2001).

Une étude chez la souris a montré que l'IL-13 régule négativement la production d'IFN- γ à des stades précoces de l'infection, et réduit la susceptibilité à la surinfection par *S. aureus*. A des stades plus tardifs, les souris présentent des faibles taux d'IL-13 et des taux élevés d'IFN- γ produit par les lymphocytes Th1 augmentant ainsi la susceptibilité à la surinfection par *S. aureus*. A l'inverse, le blocage du récepteur IL-13R α 2 correspondant à une augmentation de l'IL-13 et une diminution d'IFN- γ , diminue la charge bactérienne (Agnieszka Rynda-Apple *et al.*, 2014). Cependant, une autre étude a plutôt montré un rôle protecteur de l'IFN- γ produit par les cellules T CD8⁺ (Blevins *et al.*, 2014). En effet, les auteurs ont observé une diminution du nombre de LT CD8⁺, due à leur apoptose induit par le virus grippal, ayant pour conséquence de diminuer la production de l'IFN- γ par ces cellules et favoriser la surinfection bactérienne. Finalement, une étude plus ancienne avait montré que les souris déficientes en IFN- γ avaient la même charge bactérienne dans les voies respiratoires par rapport aux souris sauvages après une infection par le virus de la grippe (A. Kudva *et al.*, 2011). Par conséquent, cette étude ne montre pas un effet significatif de l'IFN- γ sur la surinfection. Ainsi, le rôle de l'IFN- γ produit par les cellules T dans la surinfection bactérienne post-grippale reste encore controversé et pourrait dépendre de l'environnement pulmonaire.

L'IL-10 joue un rôle crucial dans la régulation de l'inflammation mais contribue aux infections bactériennes secondaires de la grippe (Koenraad F. van der Sluijs *et al.*, 2004) (McKinstry *et al.*, 2009) (J. Sun *et al.*, 2009). Des travaux montrent que les cellules T (Treg et T CD8⁺) sont la source

principale d'IL-10 lors de l'infection grippale (J. Sun *et al.*, 2009). Le blocage de l'IL-10, en utilisant un anticorps neutralisant, favorise la clairance de *S. pneumoniae* (Koenraad F. van der Sluijs *et al.*, 2004). De même, le virus de la grippe induit une production locale d'IDO (*Indoleamine 2,3-Dioxygenase*) dans les poumons qui altère les réponses inflammatoires en induisant la production de l'IL-10 et en facilitant la croissance bactérienne au cours de la pneumonie bactérienne secondaire (K. F. van der Sluijs *et al.*, 2006). A l'inverse, l'inhibition d'IDO entraîne une diminution de la production d'IL-10 et une amélioration de la clairance de *S. pneumoniae*.

Les cellules Th17 sont caractérisées par la production d'IL-17 et IL-22, lesquelles jouent un rôle important dans la clairance bactérienne suite à une infection par le virus influenza (Y. Lin *et al.*, 2010). Une étude a montré que l'infection par le virus peut induire une réduction dans la transcription des gènes et dans l'expression des protéines de l'IL-17 et de l'IL-22 par ces cellules. Cette réduction est dépendante de l'IFN-I et elle favorise les infections bactériennes secondaires par *S. aureus* ou encore par *S. pneumoniae* (A. Kudva *et al.*, 2011). L'injection de cytokines qui induisent la production d'IL-17 par les Th17 tels qu'IL-1 β ou IL-23, après infection par *S. aureus*, améliore la survie des souris (A. Kudva *et al.*, 2011) (Robinson *et al.*, 2013) (Diveu *et al.*, 2009) (Anupa Kudva *et al.*, 2011b).

L'infection grippale induit la production d'IL-27 (J. Cao *et al.*, 2014), une cytokine connue pour inhiber le développement des cellules Th17 en activant la voie STAT1 (Diveu *et al.*, 2009). Le rôle de l'IL-27 a été récemment démontré dans la surinfection bactérienne post-grippale. Les souris déficientes en IL-27 présentent un nombre plus important de Th17 et sont moins susceptibles aux infections par *S. pneumoniae* et *S. aureus* (J. Cao *et al.*, 2014). Ces données s'accordent à montrer que le virus grippal altère la réponse Th17 et ainsi favorise la surinfection bactérienne.

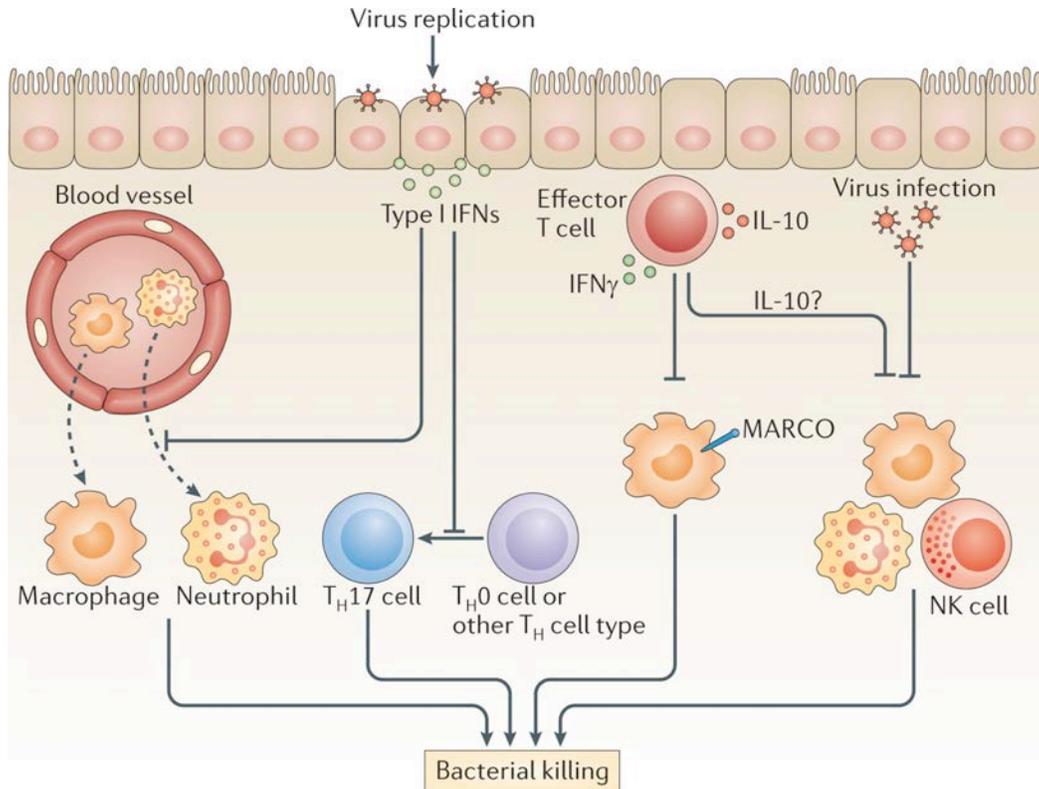


Figure 13: Les mécanismes responsables de la surinfection bactérienne après la grippe.

L'infection induit la production d'IFN-I qui inhibe le recrutement des neutrophiles et des macrophages dans les poumons au cours de l'infection bactérienne. L'IFN-I inhibe également la différenciation des cellules T naïves (cellules Th0) ou d'autres types de cellules Th (telles que Th1 et Th2) en Th17 (A. Kudva *et al.*, 2011) et favorise ainsi la susceptibilité de l'hôte à une infection bactérienne secondaire. La production d'IFN- γ par des cellules T effectrices spécifiques du virus de la grippe, diminue l'expression du récepteur MARCO par les macrophages alvéolaires et inhibe l'ingestion de bactéries par ces cellules. De plus, la production d'IL-10 par les cellules T effectrices, peut empêcher les cellules immunitaires innées, en particulier les macrophages, de tuer les bactéries. Enfin, l'interaction directe et / ou l'infection des cellules immunitaires innées - telles que les macrophages, les neutrophiles et les NK - par le virus de la grippe altère leur capacité à tuer les bactéries (Braciale *et al.*, 2012).

3 Moyens thérapeutiques pour traiter la surinfection

Différentes approches pour prévenir et traiter la grippe et la pneumonie bactérienne secondaire ont été testées dans le modèle murin. L'effet d'une large gamme d'antibiotiques et d'anti-inflammatoires a récemment été étudié. Il a été montré que la dexaméthasone limite l'inflammation durant la surinfection bactérienne par *S. pneumoniae* lors de la grippe, mais n'améliore pas la

morbidité ou l'issue de la maladie (Daniela Damjanovic *et al.*, 2013). De plus, le traitement précoce par la dexaméthasone augmente la charge virale (Ghoneim *et al.*, 2014). Néanmoins, deux études ont montré que la combinaison de dexaméthasone avec l'ampicilline ou avec l'azithromycine améliore la clairance de *S. pneumoniae*, diminue la pathologie pulmonaire et augmente la survie. Le traitement avec l'ampicilline conduit à une lyse excessive de *S. pneumoniae*, ceci augmente l'interaction des lysats bactériens avec le TLR2 et augmente le recrutement des neutrophiles et la mortalité de souris de façon dépendante de la signalisation de ce TLR (Karlstrom *et al.*, 2011). L'azithromycine seule réduit la charge de *S. pneumoniae*, mais n'améliore pas les lésions pulmonaires (Karlstrom *et al.*, 2011) (Daniela Damjanovic *et al.*, 2013).

Le linézolide est un antibiotique actif contre le MRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) qui agit en se liant à la sous-unité ribosomale 50S et en inhibant la synthèse protéique de la bactérie. Cet antibiotique est capable de réduire la pneumonie bactérienne secondaire dans des modèles expérimentaux, en inhibant l'expression de l'IFN- γ (Breslow-Deckman *et al.*, 2013). Cependant, une étude antérieure montrait que le traitement avec l'IFN- γ durant une infection par *S.pneumoniae*, protégeait contre les bactéries (Czarnecki *et al.*, 1993). La protection médiée par l'IFN- γ pourrait être expliquée par la capacité de cette cytokine à activer les neutrophiles permettant ainsi la clairance bactérienne (Yamamoto *et al.*, 2004)

Certains antibiotiques peuvent fonctionner en modulant le système immunitaire en plus de leurs propriétés antimicrobiennes directes. La trithérapie avec le linézolide, la clindamycine et la vancomycine diminue la production de cytokines inflammatoires, la charge de *S. aureus* et la morbidité au cours de la surinfection (X. Liu *et al.*, 2013). Ces données suggèrent que les thérapies antibiotiques ou stéroïdiennes limitent l'inflammation et peuvent être bénéfiques lors de la co-infection bactérienne avec MRSA ou une infection secondaire post-grippale.

Cependant, une meilleure compréhension des mécanismes à l'origine de la surinfection bactérienne, permettrait le développement de nouvelles stratégies immuno-thérapeutiques. Les thérapies visant à inhiber les cytokines, chimiokines, les récepteurs de chimiokines ou les TLR devraient être étudiées. Récemment, une petite molécule inhibitrice de CCR2 a été évaluée au cours de la surinfection à *S. pneumoniae* (K. L. Lin *et al.*, 2011). L'inhibition de CCR2 au cours de l'infection grippale n'induit pas d'augmentation de la charge bactérienne dans les poumons lors de la surinfection et améliore la survie. Ceci est associé à une diminution de l'accumulation des

Mo Ly6C^{high} dans les poumons et ainsi à une diminution de la pathologie. Une autre étude a mis en évidence l'effet bénéfique d'un traitement local avec le GM-CSF, sur les macrophages alvéolaires et sur la protection contre les surinfections bactériennes par *S. pneumoniae* (Ghoneim *et al.*, 2013)

Un anticorps monoclonal agoniste de TLR4, l'UT12, a également été étudié au cours de la surinfection bactérienne de la grippe. Les souris ont été inoculées par voie intranasale avec *S. pneumoniae* 2 jours après l'inoculation du virus de la grippe. UT12 a été administré 2 h avant chaque inoculation. Dans ce cas, l'UT12 a accéléré le recrutement des monocytes par la production de CCL2 dépendante de la kinase C-JUN N-terminale (JNK) et de la voie NF-κB et a ainsi augmenté la phagocytose des bactéries (Tanaka *et al.*, 2013). De même, cette étude indique que chaque inoculation d'UT12 pourrait avoir des effets prophylactiques et protège contre ces infections.

Enfin, le développement d'une prophylaxie ciblée, ou la mise en place d'un traitement par antibiotiques en combinaison avec des autres stratégies thérapeutiques qui visent à moduler la réponse immunitaire dans les poumons restent des approches prometteuses pour contrôler la pathologie pulmonaire induite par le virus de la grippe et assurer la protection contre la surinfection bactérienne post-grippale.

Objectifs

Les virus grippaux de type A sont responsables de maladies respiratoires aiguës et représentent un problème majeure de santé publique dans le monde entier. L'infection par IAV est souvent compliquée par des infections bactériennes secondaires (notamment *S. pneumoniae*) qui sont à l'origine de morbidité et de la mortalité (J. A. McCullers, 2014).

La dérégulation de la production de cytokines et de chimiokines au cours de la grippe, déclenche une inflammation excessive corrélée avec l'accumulation incontrôlée de cellules myéloïdes dans les poumons telles les neutrophiles, les Mo Ly6C^{high} ou encore les mDC (Nicole L. La Gruta *et al.*, 2007) (Garcia *et al.*, 2010) (Stoyan Ivanov *et al.*, 2012) (Barthelemy, Ivanov, Fontaine, *et al.*, 2016). Ce recrutement de cellules inflammatoires est associé à des perturbations du compartiment de cellules sentinelles pulmonaires, *e.g.* les macrophages alvéolaires et les cDC. Cependant, les études restent controversées quant aux conséquences de l'infection grippale sur leur nombre : En particulier, les cellules sentinelles, notamment les cDC, sont-elles recrutées ou déplétées ? (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (J. L. G. Cruz *et al.*, 2017) (C. H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008).

Pour répondre à la demande accrue en cellules myéloïdes au cours de l'infection, la MO est fortement sollicitée et déclenche le processus de "myélopoïèse d'urgence". A l'homéostasie, la myélopoïèse est un processus étroitement régulé et contrôlé par des facteurs intrinsèques comme des facteurs de transcription (Miriam Merad *et al.*, 2013a) et par des signaux extrinsèques comme des facteurs de croissance, des cytokines et des chimiokines (Takizawa *et al.*, 2012). Lors d'infections bactériennes/virales systémiques telles les infections à *E. muris*, *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes*, ou encore le virus LCMV, la myélopoïèse est profondément affectée afin de maintenir la production et la mobilisation de cellules myéloïdes inflammatoires, telles les monocytes et les neutrophiles, au niveau du site d'infection comme la rate, pour combattre l'infection (MacNamara, Oduro, *et al.*, 2011) (Pasquevich *et al.*, 2015) (Serbina *et al.*, 2009) (Drevets *et al.*, 2010) (de Bruin *et al.*, 2012). Dans le cas des infections locales (non systémiques), *e.g.* *T. gondii* ou le *pneumovirus*, l'agent infectieux peut également affecter indirectement les cellules myéloïdes dans la MO (Askenase *et al.*, 2015) (Maltby *et al.*, 2014).

A l'heure actuelle, les conséquences de l'infection grippale sur la myélopoïèse restent très peu connues. Les données les plus récentes restent très descriptives et concernent principalement la monopoïèse et la granulopoïèse. Par exemple, il a été rapporté une diminution du nombre de cellules myéloïdes matures dans la MO des souris infectées par IAV (Hermesh *et al.*, 2010) (Long

et al., 2013). Stifter *et al* ont montré que les voies de signalisation des interférons ne semblaient pas être impliquées dans la régulation de la myélopoïèse au cours de la grippe (Stifter *et al.*, 2016).

Aucune information n'est disponible à l'heure actuelle sur l'impact de l'infection grippale sur la génération des cDC dans la MO ou "DCpoïèse".

Par conséquent, mon projet de thèse a eu pour but dans un premier temps **de revisiter l'impact de l'infection grippale sur le devenir des cDC pulmonaires**. Nos résultats nous ont conduits à nous intéresser dans un deuxième temps **aux conséquences de l'infection grippale sur la myélopoïèse d'urgence et plus particulièrement la "DCpoïèse"**. Il s'avère que l'infection grippale perturbe la "DCpoïèse" et mon projet de thèse nous a conduit à des résultats originaux que je vais vous exposer dans la suite de manuscrit.

Matériels et méthodes

Souris et infections

Les souris mâles C57Bl/6 (8 semaines) ont été achetées chez Janvier (Le Genest-St-Isle, France). Les souris C57Bl/6 *Ifn γ ^{-/-}* (>10 "backcrossing") proviennent du laboratoire Jackson et ont été décrites précédemment (Muller *et al.*, 1994). Pour les infections par le virus Influenza et la bactérie *S. pneumoniae*, les souris ont été maintenues dans une animalerie de biosécurité niveau 2 à l'Institut Pasteur de Lille. Les souris ont été anesthésiées et injectées par voie intranasale (i.n.) avec 50 μ l de PBS contenant, ou non (Mock), 30 unités formant des plages (PFU) de la souche grippale hautement pathogène H3N2 Scotland/ 20/74 ou 100 PFU de la souche WSN/33 de H1N1. Pour la surinfection, les souris infectées avec H1N1 (A/WSN/33) ont été inoculées avec 10³ CFU de *S. pneumoniae* sérotype 3 (ATCC 6303), 4 jours après l'infection virale.

Déclaration d'éthique

Les animaux étaient hébergés dans un environnement spécifique exempt d'agents pathogènes à l'animalerie de l'Institut de Lille Pasteur. Les expérimentations ont été réalisées selon les Directives "des soins et de l'utilisation des animaux de laboratoire du gouvernement français" et approuvées par la Direction départementale des Services Vétérinaires (préfecture de Lille, France ; numéro d'autorisation : AF 16/20090) Directive du Conseil de 1986 et révisée en 2010, 2010/63 / UE). De plus, le présent projet a été soumis à l'approbation du Comité national de protection et d'utilisation des animaux de laboratoire (CEEA 75) et a reçu le numéro d'autorisation 00357.03.

Réactifs et anticorps

Les anticorps monoclonaux murins (mAc) dirigés contre CD3 (biotine), NK1.1 (biotine), Ter119 (biotine), CD11b (biotine), CD45R / B220 (FITC ou biotine), Gr1 (FITC, AlexaFluor 700 ou APC), Ly6G (FITC), Ly6C (APC / Cy7, AlexaFluor 700), CD11b (PE / Cy5), Ly6A / E (Alexa Fluor 647) CD19 (FITC) , CD4 (FITC), CD8 (FITC), Siglec-F (APC ou PE), CD45 (brillant violet 421 ou 510 ou APC / Cy7), CD117 (Percp-Cy5.5), CD135 (APC ou PE), CD115 (PE), CD127 (PE-Cy7), CD11c (PE-Cy7 ou BV605), CMH de classe II (Pacific-blue ou AlexaFluor700-) , CD172 α (FITC), CD64 (APC), Siglec-H (Pacific Blue), Siglec-F (PE) CD24 (Percp-Cy5.5), CD11b (FITC ou biotine), Ly6C (AlexaFluor700 ou l'APC-Cy7), CCR2 (PE) et la streptavidine

(AlexaFluor-700 ou PE) ont été achetés chez Ozyme (Montigny le Bretonneux, France) ou BD Biosciences (Le Pont de Claix, France). L'iodure de propidium et l'annexine V ont été achetés chez Ozyme et BD Biosciences, respectivement. Les mAc neutralisants contre l'IFN γ (R4-6A2), l'IL-6 (MP5-20F3), le TNF- α (XT3.11) et le mAc témoin isotypique (HRPN) proviennent de BioXcell (West Lebanon, NH). Le LPS ultrapure issu du sérotype 0111 d'*Escherichia Coli* B4 a été acheté chez Cayla (Toulouse, France). Le plasmide Flt3-L nous a été donné par F Andris et O Leo (Université Libre de Bruxelles, Gosselies, Belgique).

Préparation des cellules

Les tibias et les fémurs de souris ont été prélevés stérilement, du milieu PBS 2% SVF a été injecté à l'intérieur de l'os à l'aide d'une seringue afin d'expulser la carotte de MO. Les cellules sont remises en suspension puis filtrées (filtre de 90 μ m) et lavées. Les rates ont été traitées avec du PBS contenant de la collagénase de type IV (1mg/ml) et 1 μ g/ml de DNase type I (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) à 37 ° C pendant 20 min. Les rates ont ensuite été écrasées à l'aide d'un piston puis les suspensions cellulaires ont été filtrées et lavées avec du PBS 2% SVF (*Sérum de Veau Fœtal*). Les souris ont été perfusées avec du PBS 2% SVF, puis les poumons excisés et finement hachés, suivi d'une digestion enzymatique (20 min à 37°C) dans du PBS contenant 1 mg/ml de collagénase type VIII (ou collagénase de type IV pour l'analyse des pre-cDC de poumons) et 1 μ g/ml de DNase type I. Les homogénats pulmonaires ont été filtrés et lavés avec du PBS/2%SVF. Après centrifugation, les culots cellulaires ont été repris dans un Percoll™ 20% et centrifugés à 2000 rpm, 15 min sans frein. Après lavage des culots, ils ont été repris dans du milieu PBS/2%SVF. Pour toutes les suspensions cellulaires, les globules rouges ont été éliminés avec du tampon de lyse (Sigma) et les cellules mononuclées ont été remises en suspension dans du PBS / 2% de SVF. Le nombre total de cellules a été compté en cellule de Malassez à l'aide du bleu de trypan.

Les DC dérivées de la MO

Les cellules totales de la MO ont été cultivées dans des plaques 6 puits avec 5×10^6 cellules/puit dans 4 ml de RPMI complet (10% de SVF), en présence de Flt3-L (100 ng /ml). Au jour 4, la moitié du milieu a été enlevée et remplacée par du milieu neuf contenant du Flt3-L. Les cellules générées ont été récupérées aux jours 8-9. L'analyse phénotypique a été réalisée par cytométrie en flux en utilisant les mAc anti-Siglec H, anti-CD11c, anti-CMHII, anti-CD172a et anti-CD24. Pour l'analyse fonctionnelle, les cellules ont été cultivées en plaques de 96 puits, à 1×10^5 cellules/puit dans du RPMI / % SVF, en présence de LPS (100 ng / ml) pendant 24h. La production des cytokines a été mesurée dans les surnageants de culture par ELISA.

Cytométrie en flux

Les populations cellulaires ($CD45^+$) ont été analysées en utilisant un cytomètre de type LS Fortessa (BD Biosciences) selon les marqueurs de surface cellulaire suivants: Dans la **MO**, (MDP): Lin (*)⁻ CD117⁺ CD135⁺ CD115⁺ CD127⁻ (CDP) Lin (*)⁻ CD117^{low} CD135⁺ CD115⁺ CD127⁻ CD11c⁻ CMHII⁻ (cMoPs): Lin (**)⁻ CD117⁺ CD135⁻ CD115⁺ Ly6C⁺ CD11b⁻. Dans la **MO, la rate et le sang** (pre-cDC): Lin (*)⁻ CD11c⁺ CMHII⁻ CD135⁺ Sirpα^{-low} et Siglec-H⁻ Ly6C⁻ pour les pre-cDC biaisées vers la voie des cDC1 ou Siglec-H⁻ Ly6C⁺ pour les pre-cDC biaisées vers la voie des cDC2. Dans la **MO et le sang**, (monocytes): Lin (**)⁻ CD115⁺ Ly6G⁻ CD11b⁺ Ly6C^{high} ou Ly6C^{low/neg}. Dans les **poumons**, (DC): Siglec-F⁻ Ly6G⁻ CD11c⁺ CMHII⁺ et CD64⁻ pour les cDC ou CD64⁺ pour moDC; (Mo Ly6C^{high}): Siglec-F⁻ Ly6G⁻ Ly6C⁺ CD11b⁺ CCR2⁺ CD11c⁻. Les cellules mortes ont été exclues par coloration à l'iodure de propidium. Pour l'analyse, 1 à 2×10^6 des cellules ont été acquises et les données ont été analysées avec le logiciel FACSDiva ou FlowJo (TreeStar, US).

Lin *: CD3, NK1.1, Ter119, CD11b, CD45R / B220, Ly6G.

Lin **: CD3, NK1.1, Ter119, CD45R / B220, Ly6G.

Purification des monocytes et restimulation

Les cellules de la MO ont été récupérées à partir de souris infectées ou non et les suspensions cellulaires ont été préparées comme décrit ci-dessus. Les monocytes ont été triés en utilisant un

trieur de cellules FACS Aria III (BD Biosciences). Les cellules de la MO ont été marquées avec des anticorps biotinylés anti-Ter119, -CD3, -NK1.1, -CD45R / B220 et la streptavidine couplée au PE / Cy7 puis les mAc spécifiques de CD45 conjugué au Birilliant Violet 421, Ly6G conjugué à l'APC-Cy7, Ly6C conjugué à l'Alexa Fluor 700, CD11b conjugué au FITC et CD115 conjugué au PE. Ce protocole a donné une pureté cellulaire supérieure à 98%, comme il est évalué par FACS. Ensuite, les monocytes ont été cultivés à 1×10^5 cellules/puit dans du RPMI/SVF à 5% pendant 24h en présence de LPS (100 ng/ml). La production des cytokines a été mesurée dans les surnageants de culture par ELISA.

Quantification des cytokines et des facteurs de croissance

Les niveaux d'IL-6, IL-12p40 et IL-10 ont été quantifiés dans des surnageants de culture en utilisant des kits ELISA (eBiosciences, R&D) et selon les recommandations du fabricant. Les taux de Flt3-L et de GM-CSF ont été quantifiés par ELISA (systèmes de R&D) dans les sérums ainsi que dans les lysats de MO et de tissus pulmonaires. Brièvement, les poumons totaux ont été lysés dans 600 μ l de tampon de lyse (0,2% de NP-40, EDTA 1 mM, Anti-protéase 1X, PBS 1X) et incubés pendant 30 minutes dans la glace. Les lysats ont été centrifugés pendant 15 minutes à 3500 tr/min et le surnageant a été transféré dans un nouveau tube. Pour les cellules de la MO (2×10^7 cellules), celles-ci ont été remises en suspension dans 500 μ l de tampon de radioimmunoprécipitation (RIPA) (tri-HCL 50 mM, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, Triton 1%, désoxycholate de sodium 1%, SDS 0,1%, anti- Protease 1X, PBS 1X) et incubées 15 min dans la glace avec agitation périodique. Les cellules lysées ont été centrifugées pendant 15 minutes à 13000 tr/min à 4°C et le surnageant a été transféré dans un nouveau tube.

Analyse quantitative de l'expression des gènes par RT-PCR

Les ARN totaux de poumons entiers et de monocytes triés de la MO ont été extraits, les ADNc ont été synthétisés et une RT-PCR quantitative a été effectuée. L'expression des gènes a été analysée par l'incorporation du SYBR green fluorescent dans l'ADN double brin, et en utilisant le logiciel QuantStudio™ 12k Flex (ThermoFisher Scientific). Les amorces murines utilisées étaient: *cd200* (5'-TTTGCTGTTGTCCCAGGTCCT-3' , 5'-GCATGGCACTGCATTGCTCTA-3'); *Socs3* (5'-GGAACCCTCGTCCGAAGTTC-3' , 5'-CAATCTTCTCGCCCCACAA-3'); *Il6* (5'-CAACCACGGCCTTCCCTACT-3' , 5'-CCACGATTTCCCAGAGAACATG-3'); *Inos* (5'-

ACCACAAGGCCACATCGGAT-3' , 5'-AATGGCATGAGGCAGGAG-3'); *Cx3crl* (5'-AAGTTCCCTTCCCATCTGCT-3' , 5'-CAA AATTCTCTAGATCCAGTTCAGG-3'); *Flt3l* (5'-GAGTCAA AAGCCCAGCAGGAT-3', 5'-GCATTCCTGTGCGACGCTAACTT-3'); *Csf2* (5'-TGCCTGTACGTTGAATGAAGA-3', 5'-CCCGTAGACCCTGCTCGAATA-3'); *Il17a* (5'-CCGCAATGAAGACCCTGATAGA-3', 5'-AGAATTCATGTCGTGGTCCAGC-3'); *Il23p19* (5'-CAC-CAG-CGG-GAC-ATA-TGA-AT-3', 5'-GTT-GTC-CTT-GAG-TCC-TTG-TGG-3'); *Il1b* (5'-TCGTGCTGTGCGGACCCATA-3', 5'-GTCGTTGCTTGGTTCTCCTTGT-3'); *Isg15* (5'-GGCCACAGCAACATCTATGAGG-3', 5'-CTCGAAGCTCAGCCAGAACTG-3'); *Oas3* (5'-GTGGCACCGATGTCGAACTC-3', 5'-AGCAACATTCGCATGGCA-3'); *Tjp1* (5'-AGGTCTTCGCAGCTCCAAGAGAAA-3', 5'-ATCTGGCTCCTCTCTTGCCAACTT-3'); *Ocln* (5'-AGCAGCCCTCAGGTGACTGTTATT-3', 5'-ACGACGTAACTCCTGAACAAGCA-3'); *Areg* (5'-TTTGGTGAACGGTGTGGAGAA-3', 5'-CGAGGATGATGGCAGAGACAA-3'); *Gapdh* (5'-GCAAAGTGGAGATTGTTGCCA -3', 5'-GCCTTGACTGTGCCGTTGA-3'). Ces amorces ont été conçues en utilisant le logiciel Primer Express (Applied Biosystems, Villebon sur Yvette, France). Les résultats ont été normalisés par rapport à l'expression du gène *gapdh* et sont exprimés sous la forme d'une augmentation du nombre de fois par rapport au niveau d'expression génique moyen des souris infectées et non infectées.

Pour la quantification du nombre de copies virales, une transcription inverse a été réalisée en utilisant une amorce spécifique du gène viral M1 (5'-TCT AAC CGA GGT CGA AAC GTA-3'), SuperScript® II Reverse Transcriptase (ThermoFisher Scientific) et RNase OUT (ThermoFisher Scientific). Une matrice plasmidique portant le brin négatif de la protéine virale M1 (pPoll-M1, squelette pUC18) a été diluée en série (10 fois) pour établir une courbe standard (valeur Ct / nombre de copies virales) allant de 3,8 x 10⁹ (Ct ~ 5) à 380 copies (Ct ~ 25), permettant ainsi la quantification du virus dans les échantillons par interpolation des valeurs de Ct.

Injection du plasmide-Flt3-L et infections

Des souris C57Bl/6 ont été injectées en moins de 5 secondes avec un plasmide Flt3-L ou un plasmide contrôle (pcDNA3) dilué dans 1,4 ml de solution de Ringer (injection hydrodynamique) comme décrit précédemment (Crispo *et al.*, 2013 108). Les souris ont été infectées avec IAV 24h plus tard (WSN, 100 PFUs). L'efficacité de la délivrance du gène Flt3-L a été évaluée 5 jours plus tard. Pour ce faire, les cellules spléniques, pulmonaires et de la MO ont été récupérées et marquées

avec un cocktail d'anticorps permettant l'identification des sous-populations de cDC par cytométrie de flux. Pour tester l'efficacité de l'administration du plasmide Flt3-L sur la surinfection, les souris ont été infectées avec IAV 24h après l'injection de plasmide et inoculées avec *S. pneumoniae* 4 jours après l'infection par le virus. Les bactéries viables dans les poumons et la rate ont été comptées 36 h après l'infection par *S. pneumoniae* en étalant des dilutions (de 10 en 10) d'homogénats de poumon ou de rate sur des plaques de gélose au sang. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant une nuit et les CFU (*Colony Forming Unit*) ont été comptées 24 h plus tard. La survie et le poids des souris ont été surveillés quotidiennement après l'infection par IAV et les souris ont été euthanasiées lorsqu'elles ont perdu plus de 20% de leur poids corporel initial.

Évaluation de la pathologie pulmonaire

Pour l'examen histopathologique, les poumons ont été fixés par gonflage et immersion dans du PBS contenant 3,2% de paraformaldehyde et inclus dans la paraffine. Pour évaluer l'inflammation des voies aériennes, des coupes de poumons fixés (sections de 5 µm) ont été colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Trois sections uniformément réparties par poumon ont été analysées au microscope en double aveugle par un pathologiste. Les degrés de l'alvéolite pulmonaire ont été classés de 0 (absent) à 4 (grave).

Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel GraphPad Prism. La signification statistique a été évaluée en utilisant des tests non-paramétriques Mann-Whitney U ou Kruskal-Wallis (suivis par un test de Dunns) pour comparer les moyennes de répliquats biologiques dans chaque groupe expérimental. Nous avons utilisé le two-way ANOVA lorsque plusieurs paramètres ont été étudiés. La survie des souris infectées a été analysée en utilisant la méthode de Kaplan-Meier et un test de log-rank. Les résultats avec une valeur de p inférieure à 0,05 ont été considérés comme significatifs. ns: non significatif; *, p <0,05; **, p <0,01; ***, p <0,001.

Résultats

L'infection par IAV diminue le nombre de cDC dans les poumons et altère la génération des progéniteurs de cDC dans la MO

L'infection grippale affecte le nombre de DC dans le poumon, un phénomène qui pourrait être important dans l'évolution de la maladie (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010 13; Barthelemy *et al.*, 2017 72). Cependant, que les cDC - cDC1 et cDC2 - soient recrutées ou non lors d'une infection par IAV reste un point controversé.

Dans un premier temps, nous avons revisité ces résultats en utilisant CD64, un marqueur qui permet la distinction entre les cDC et les moDC (Langlet *et al.*, 2012 109). Comme le montre la **figure 14A** (stratégie de gating dans la **figure supplémentaire 1A**), la fréquence et le nombre absolu de cDC dans les poumons de souris infectées par IAV (H3N2) sont significativement diminués dès le 4^{ème} jour d'infection et atteint son maximum 7 jours après infection. Ces changements ont été observés pour les deux sous-populations cDC1 (CD24^{high}) et cDC2 (CD172 α^+). A des temps plus tardifs, la fréquence des cDC revient à la normale. Le nombre (mais pas la fréquence) des cDC et cDC2 retourne à la normale 10 jours après l'infection alors que le nombre de cDC1 reste faible à 10 et retourne à la normale 14 jours après infection (**Figure 14A, panel de droite**).

Après avoir confirmé la chute de la fréquence / du nombre des cDC pulmonaires après l'infection par IAV, nous avons ensuite étudié l'effet d'une infection grippale sur la génération *de novo* des cDC. Pour ce faire, le nombre de progéniteurs de cDC dans la MO a été quantifié au cours de l'infection par l'IAV (stratégie de gating dans la **figure supplémentaire 1B**). Comme le montre la **figure 14B**, le nombre absolu de MDP n'est pas modifié au cours de l'infection mais le nombre des CDP et celui des pre-cDC sont diminués de manière significative entre 4 et 10 d'infection. De manière intéressante, l'expression de CD135 (récepteur au Flt3-L) par les CDP et pre-cDC est augmenté entre 7 et 16 jours d'infection (**Figure 14C, les CDP ne sont pas représentés**). Le nombre de CDP et de pre-cDC revient à la normale 16 jours après infection. A noter que le nombre réduit de CDP et de pre-cDC dans la MO a également été observé suite à une infection par une autre souche de virus influenza, WSN (virus H1N1) (**Figure 14D**). Ces résultats indiquent que l'altération de la différenciation des cDC dans la MO est une conséquence générale de l'infection par IAV, quel que soit la souche virale utilisée.

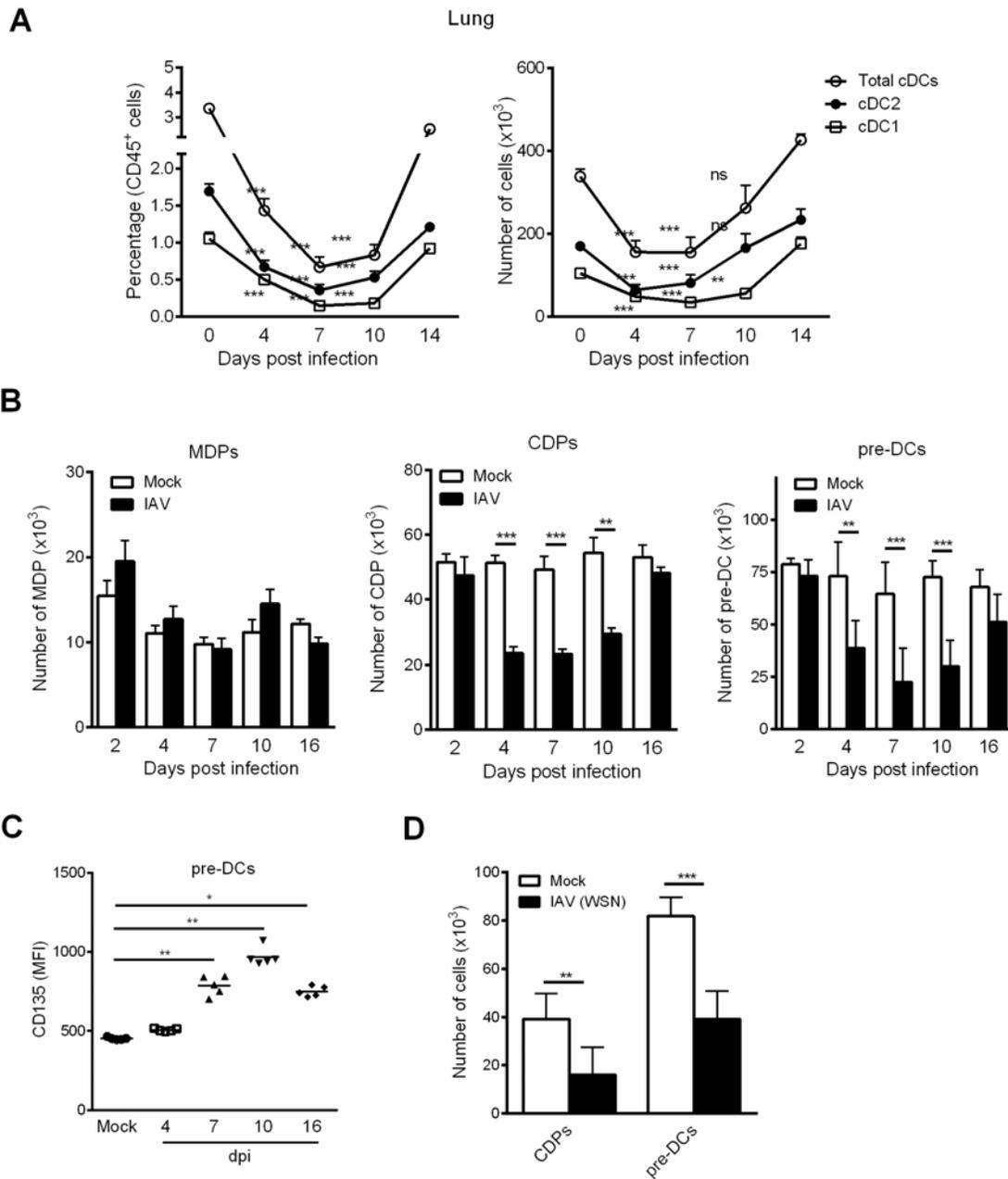


Figure 14: L'infection grippale conduit à diminution du nombre de progéniteurs de DC, dépendant du temps.

(A) Les souris ont été infectées ou pas par voie i.n avec une dose sub létale (30 pfu) de virus grippal H3N2. La fréquence (**panel de gauche**) et le nombre absolu (**panel de droite**) des cDC totales pulmonaires (Siglec-F⁺ CD11c⁺ CMHII⁺ CD64⁻), cDC2 (CD172α⁺ CD24^{low}) et cDC1 (CD172α⁻ CD24^{high}) ont été évalués par cytométrie en flux après différents jours d'infection. Les moyennes ± SEM de deux expériences (n=11) sont représentées. (B) Les souris infectées (ou non) par H3N2 ont été sacrifiées à différents temps après l'infection et les nombres absolus de MDP, CDP et pre-DC dans la MO ont été quantifiés par cytométrie de flux. Les moyennes ± SEM de réplicats biologiques issus de 3 expériences sont représentées (n = 6-15).

(C) La médiane de l'intensité de fluorescence (MFI) de l'expression de CD135 sur les pre-cDC a été analysée à différents temps après l'infection. Les données sont issues de deux expériences indépendantes (n = 6-8). (D) Les souris ont été infectées ou pas par voie i.n par WSN et le nombre absolu de CDP et de pré-DC a été évalué par cytométrie de flux 7 jours après l'infection. Les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques issus de 2 expériences sont représentées (n = 10). **, p < 0.01; ***, p < 0.001.

Deux études très récentes ont mis en évidence une hétérogénéité dans la population de pre-cDC de la MO (Gary E. Grajales-Reyes *et al.*, 2015; A. Schlitzer *et al.*, 2015). D'après Schlitzer et collègues, quatre sous populations différentes ont pu être mises en évidence sur la base de l'expression de Ly6C et Siglec-H (**Figure 15A**) : Les pre-cDC (1) Siglec-H⁺ Ly6C⁻ se différencient en pre-cDC (2) Siglec-H⁺ Ly6C⁺, qui se différencient ensuite soit en pre-cDC biaisées vers un profil de cDC1 (Siglec-H⁻ Ly6C⁻) soit en pre-cDC biaisées vers un profil de cDC2 (Siglec-H⁻ Ly6C⁺). Les résultats présentés dans la **figure 15B** montrent que 7 jours après l'infection, comparativement aux souris mock, le nombre de cellules parmi les 2 populations de pre-cDC les moins différenciées (pre-cDC (1) et (2)) est significativement diminué ainsi que la population de pre-cDC biaisée vers un profil de cDC1. La population de pre-cDC biaisée vers un profil de cDC2 n'est pas altérée. A noter que le nombre de cDC est également fortement réduit dans la MO entre 4 et 10 jours d'infection (**Figure 15C**). Pris dans leur ensemble, les résultats suggèrent que l'infection par IAV affecte le nombre de cDC dans les poumons et altère la génération des précurseurs de cDC dans la MO.

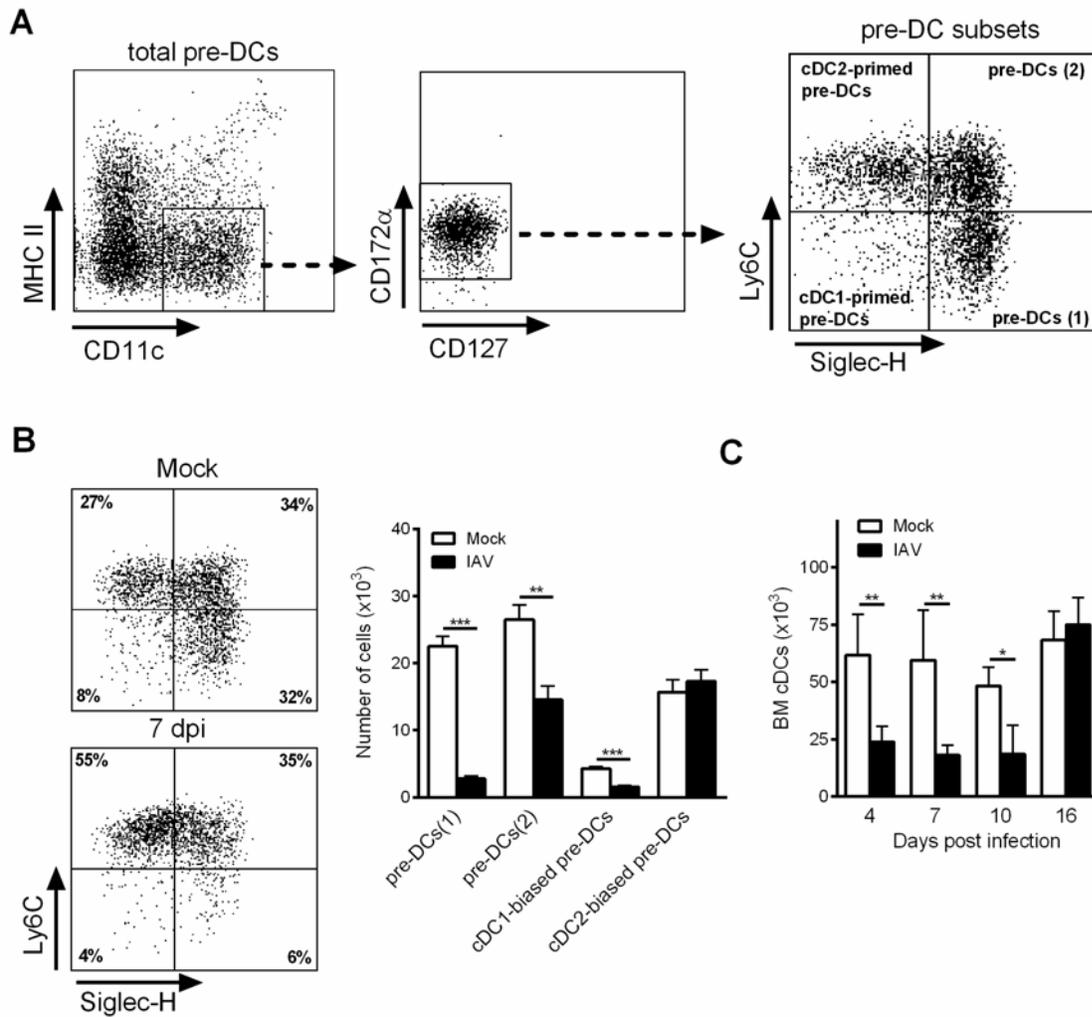


Figure 15: L'infection grippale affecte la différenciation des sous-populations de pre-cDC dans la MO.

(A) Stratégie de gating pour les sous-populations de pre-cDC dans la MO selon l'expression de Siglec-H et Ly6C. (B) Les souris ont été infectées ou non, avec le virus H3N2 et les sous-populations de pre-cDC dans la MO ont été analysées à 7dpi. Un dot plot représentatif est montré (**panel de gauche**) et le nombre absolu de chaque sous-population de pre-cDC est ensuite calculé (**panel de droite**). Les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques issus de trois expériences sont représentées (n = 12). (C) Des souris infectées ou non par IAV ont été sacrifiées à différents temps après infection et le nombre absolu de cDC de la MO a été quantifié par cytométrie de flux (moyenne \pm SEM, n = 5). *, p < 0,05; **, p < 0,01; ***, p < 0,001.

L'infection par IAV ne semble pas (1) altérer la sortie des progéniteurs de la MO et (2) induire l'apoptose des progéniteurs de DC

Suite à ces résultats, nous avons émis l'hypothèse qu'au cours de l'infection grippale, le nombre modifié de progéniteurs de DC dans la MO pouvait être dû à un recrutement important en périphérie et/ou à une apoptose locale. Quel que soit le temps d'infection (2 et 4 jours après l'infection), les CDP et les pre-cDC restent négatifs pour l'iodure de propidium et l'annexine V (**Figure 16A**), suggérant que l'IAV n'induit pas une apoptose locale des progéniteurs. Il est connu que les pre-cDC quittent la MO pour migrer de façon continue, via la circulation sanguine, vers les tissus périphériques comme la rate où ils constituent un réservoir pour le développement/renouvellement des cDC (Shortman *et al.*, 2007 101). Ainsi, nous avons quantifié le nombre de pre-cDC dans le sang, la rate et les poumons d'animaux infectés ou non infectés par IAV (**Figure 16B** et **figure supplémentaire 2**). Comme le montre la **figure 16C**, le nombre de pre-cDC dans le sang n'est pas diminué après l'infection. De plus, l'analyse des pre-cDC dans les tissus périphériques a plutôt révélé une diminution significative des pre-cDC dans la rate 4 après l'infection et dans les poumons 7 jours après l'infection. A noter que les CDP sont indétectables dans le sang et dans la rate de souris infectées (résultats non représentés). Ces résultats suggèrent que le faible nombre de progéniteurs de cDC observé dans la MO lors d'une infection par IAV n'est pas associé à une sortie excessive de ces cellules vers les tissus périphériques.

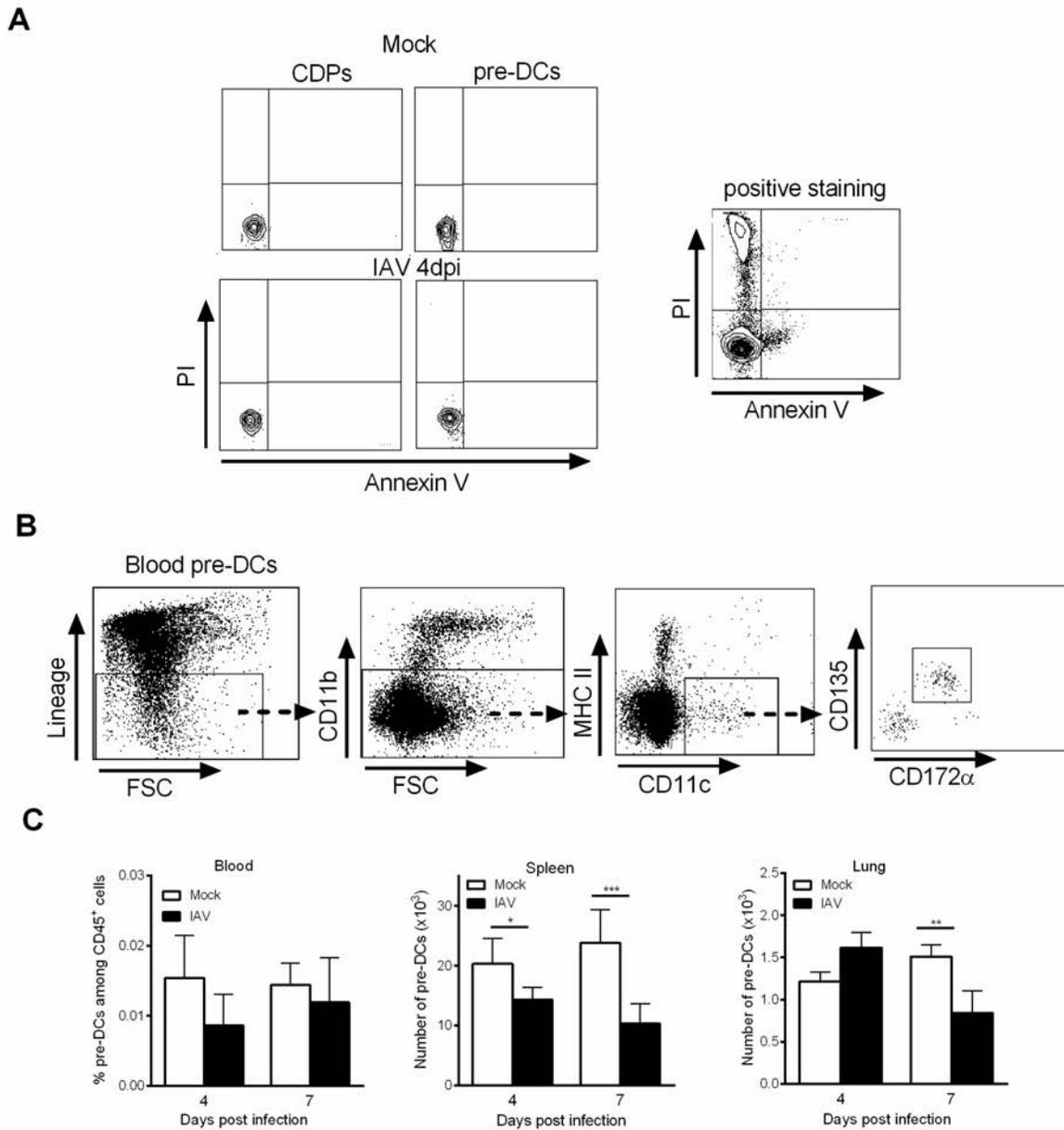


Figure 16: L'infection par IAV n'induit pas une sortie excessive ni l'apoptose de progéniteurs de DC dans la MO.

(A) Dot plots représentatifs des CDP et pre-cDC de la MO de souris infectées (4 dpi) marqués à l'annexine V et l'iodure de propidium (**panel de gauche**). Des cellules de MO laissées plusieurs heures à 37 ° C dans du PBS sont marquées positivement à l'annexine V et l'iodure de propidium : Elles sont considérées comme un contrôle positive de marquage (**panel de droite**). Les souris ont été infectées (ou non) par voie i.n. avec 30 pfu de virus H3N2 et les pre-cDC ont été quantifiés dans les tissus périphériques. (B) Stratégie de gating pour analyser les pre-cDC dans le sang. (C) La fréquence de pre-cDC du sang (**à gauche**) et le nombre

absolu de pre-cDC dans la rate et le poumon (**milieu et à droite**) ont été évalués par cytométrie de flux 4 et 7 dpi. Les moyennes \pm SEM de 6-12 souris sont représentées. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

L'infection par IAV n'entraîne pas de problèmes intrinsèques au sein des progéniteurs de DC, mais affecte la synthèse des facteurs de différenciation

Pour déterminer si l'infection grippale affecte intrinsèquement la capacité de différenciation des progéniteurs de DC, les cellules totales de la MO de souris infectées ou non par IAV (4dpi et 7dpi) ont été cultivées *in vitro* en présence de Flt3-L, un facteur clé indispensable à la différenciation des DC. Les résultats montrent que le nombre total de DC générées à partir de MO de souris infectées est toujours plus élevé que celui obtenu à partir de MO de souris contrôles (**Figure 17A**). L'analyse phénotypique par cytométrie de flux a révélé qu'environ 10% de ces cellules étaient des DC plasmacytoïdes (pDC) et 80% de ces cellules étaient des cDC (**Figure supplémentaire 3A**). À noter que nous n'avons pas détecté de monocytes dans les 10% de cellules restantes (**Figure supplémentaire 3A**). La fréquence des sous-populations de cDC1 ($CD172\alpha^+ CD24^{high}$) et cDC2 ($CD172\alpha^- CD24^{low}$) (stratégie de gating dans la **figure supplémentaire 3A**) est similaire entre les souris infectées et non infectées (**Figure 17B, panel de gauche**). Enfin, la restimulation par le LPS des cellules totales générées *in vitro* à partir de MO de souris IAV, montre une capacité plus importante à produire des cytokines inflammatoires (IL-6 et d'IL-12p40), comparativement aux souris non infectées (**Figure 17B, panel de droite**), la production d'IL-10 étant équivalente dans les deux groupes (**Figure supplémentaire 3B**). Ainsi, les précurseurs/progéniteurs de la MO à l'origine de la génération des cDC ne semblent pas être altérés intrinsèquement par le virus IAV. Suite à ces résultats, nous avons émis l'hypothèse que la grippe pouvait interférer avec la production de facteurs de différenciation cruciaux pour la différenciation des progéniteurs en cDC matures. Comme le montre la **figure 17C**, la concentration de Flt3-L dans la MO (**panel supérieur**) et dans le sang (**panel inférieur**) est significativement réduite 7 jours après infection. Étant donné que la voie Flt3-L / Flt3 est également essentielle dans la différenciation des pre-cDC en cDC matures dans les tissus périphériques, y compris le compartiment pulmonaire (Claudia Waskow *et al.*, 2008b), la production de Flt3-L a été quantifiée dans les poumons. De façon

remarquable, une expression diminuée du transcrite de *flt3l* et de la protéine Flt3-L a été détectée dans le poumon d'animaux infectés (7dpi) (**Figure 17D**).

En plus du Flt3-L, le *granulocyte/macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), joue également un rôle important dans l'homéostasie des cDC (Greter *et al.*, 2012). Comme montré dans la **figure 17E**, l'expression des transcrits de *Csf2* et la production de GM-CSF dans les poumons sont également significativement diminuées chez les animaux infectés par rapport aux souris contrôles. Par conséquent, l'infection par IAV entraîne une diminution de la production de facteurs clés pour la différenciation des cDC : Le Flt3-L et le GM-CSF.

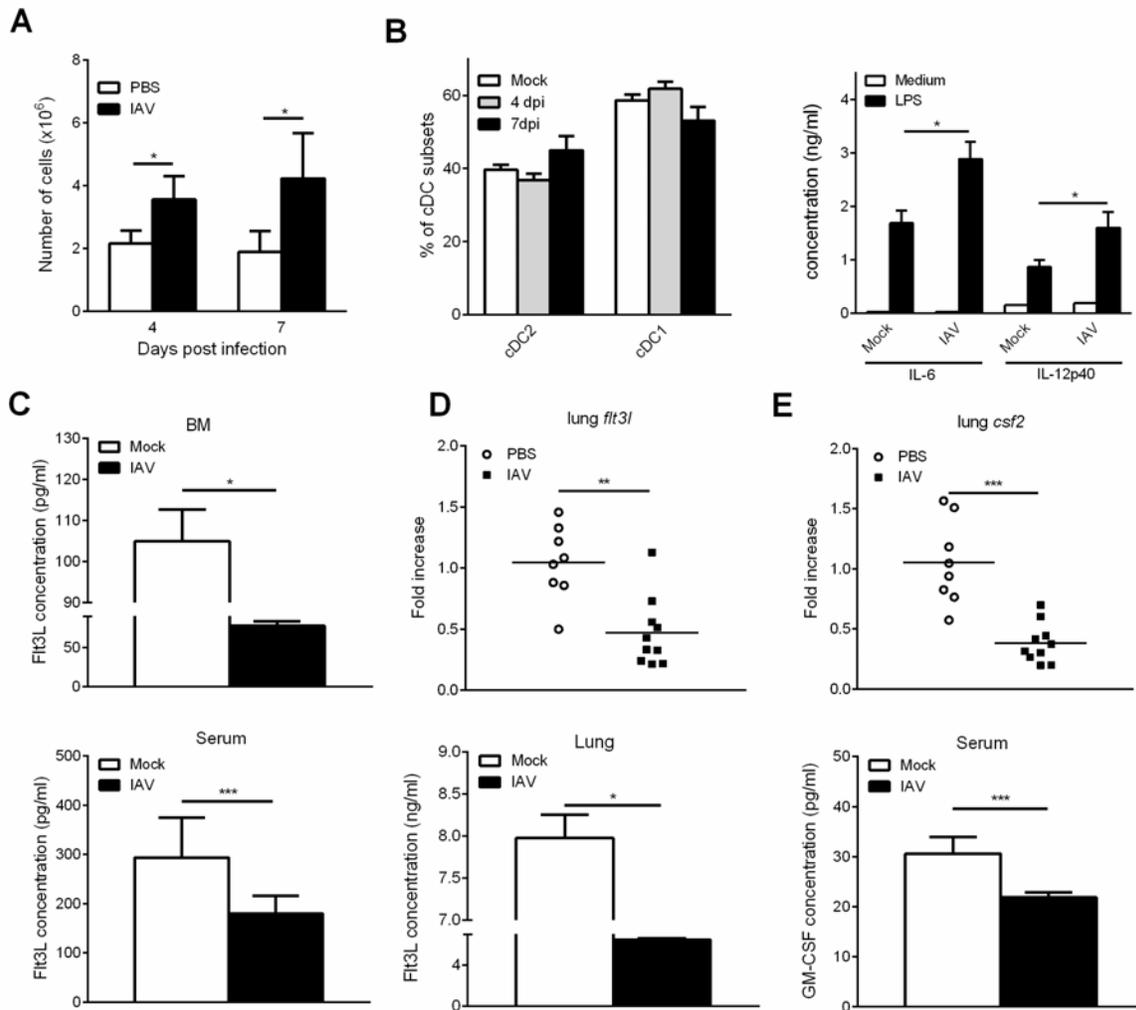


Figure 17: L'infection par le virus grippal n'induit pas une altération intrinsèque de DC mais affecte la production de Flt3-L et GM-CSF.

(A-B) Les souris ont été infectées (ou non) par voie i.n. avec 30 pfu de virus H3N2 et sacrifiées 4 et 7 jours après infection. Les cellules de la MO ont ensuite été cultivées pendant 9 jours avec le Flt3L recombinant (100 ng / ml). **(A)** Les cellules générées ont été comptées **(B, panel de gauche)** et la fréquence des sous-populations de cDC a été évaluée par cytométrie de flux. **(B, panel de droite)** Les DC générées ont été stimulées avec du LPS (100 ng/ml) pendant 24 heures et la production de cytokines a été quantifiée dans le surnageant. Les moyennes \pm SEM de 4 souris sont représentées. **(C)** La production de Flt3L a été quantifiée dans des extraits protéiques de poumons de souris infectées ou non **(panel supérieur)** et dans le sérum **(panel inférieur)** ainsi que dans la MO et les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques issus de 2 expériences sont représentées (n = 17). **(D)** Le nombre de copies d'ARNm de *Flt3l* **(panel supérieur)** et la production de Flt3-L **(panel inférieur)** dans les poumons ont été évalués par RT-PCR quantitative et ELISA, respectivement. **(E)** Le nombre de copies d'ARNm de *Gm-csf* a été déterminé par RT-PCR quantitative **(panel supérieur)** et la production de GM-CSF dans le sérum a été quantifiée par ELISA **(panel inférieur)**.

L'infection par IAV conduit à une monopoïèse accrue dans la MO

Une étude récente montre qu'une infection bactérienne systémique induit une accélération de la monopoïèse au détriment de la génération des cDC (Pasquevich *et al.*, 2015). Nous avons donc étudié les conséquences de l'infection respiratoire par IAV sur la monopoïèse. L'analyse des progéniteurs de monocytes, les cMoP (dérivés directement de MDP) ne montre pas de changement significatif dans leur nombre au niveau de la MO, quel que soit le temps d'infection **(Figure 18A)**. Par contre, le nombre de monocytes Ly6C^{high} dans la MO (appelés monocytes inflammatoires) est significativement réduit 4 jours après infection mais pas 7 jours après **(Figure 18B, panel de gauche)**. Ceci est associé à un nombre accru de monocytes Ly6C^{high} dans le sang 7 jours après infection suggérant une sortie des monocytes de la MO **(Figure 18B, panel de droite)**. Nous avons également analysé l'expression de la molécule Ly6A/E (Sca-1), un marqueur normalement trouvé sur les CSH, mais qui peut être exprimé par d'autres types de cellules de la MO après infection. Nous montrons une expression significativement augmentée de ce marqueur sur les monocytes Ly6C^{high} dans la MO et dans le sang de souris infectées **(Figure 18C)**. Nous avons ensuite trié les monocytes Ly6C^{high} pour analyser leur phénotype et leur fonction. L'analyse des profils d'expression génique a montré une régulation positive de la transcription de l'ARNm des gènes pro- inflammatoires (*inos*, *il6*) et anti-inflammatoires (*socs3*, *cd200*) et une diminution drastique des transcrits d'ARNm de *Cx3cr1*, 7 jours après l'infection **(Figure 18D)**. Ces résultats suggèrent la présence de monocytes Ly6C^{high} ayant un phénotype régulateur comme récemment rapporté par Askenase et ses collègues (Askenase *et al.*, 2015). Ces changements ont été associés à une

production accrue d'IL-6 et d'IL-10 par les monocytes Ly6C^{high} de la MO infectée par l'IAV en réponse à une restimulation avec le LPS (**Figure 18E**). Enfin, l'infection par IAV conduit également à une diminution significative du nombre de monocytes Ly6C^{low} (*patrolling monocytes*) dans la MO, 4 et 7 jours après l'infection, et dans le sang après 7 jours d'infection (**Figure 18F**). Pris dans leur ensemble, nos résultats suggèrent que le virus de la grippe accélère la monopoïèse, avec génération de monocytes inflammatoires et anti-inflammatoires, au détriment des cDC.

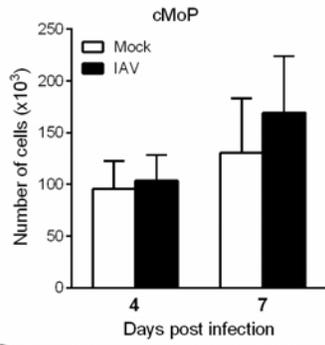
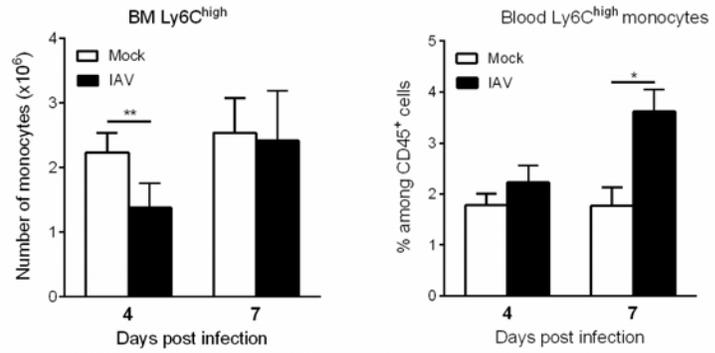
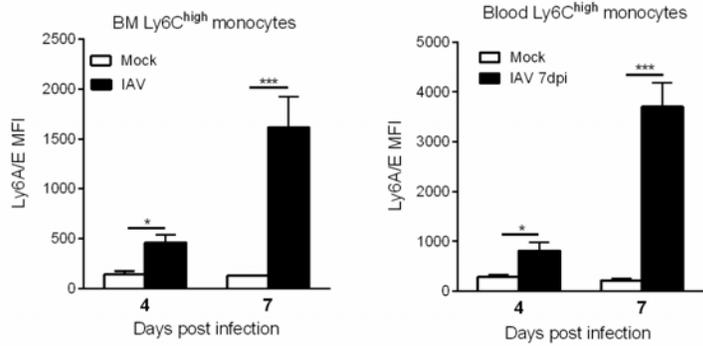
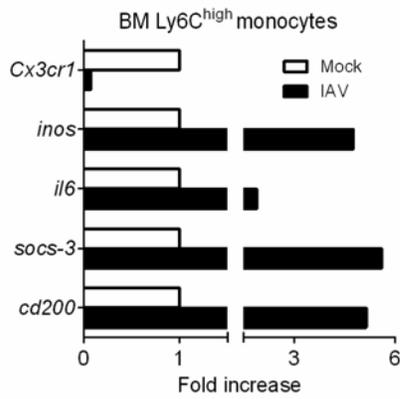
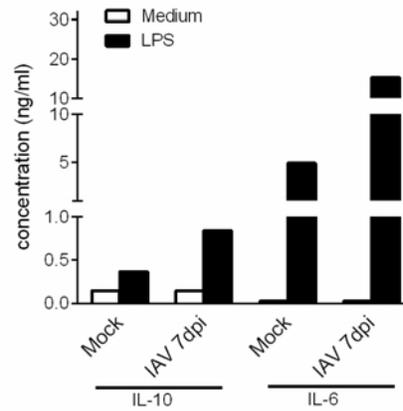
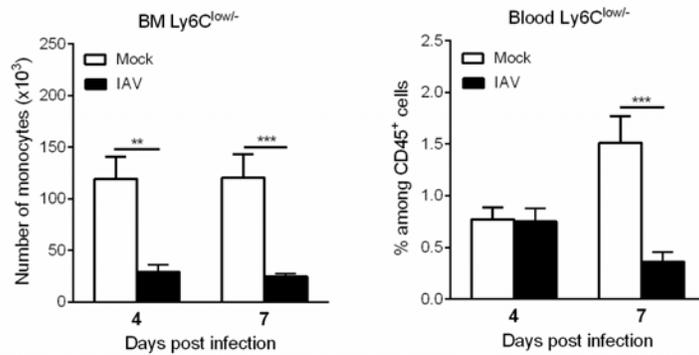
A**B****C****D****E****F**

Figure 18: L'infection par le virus grippal induit une accélération de la monopoïèse dans la MO.

(A-C) Les souris infectées et non infectées ont été sacrifiées 7 jours après l'infection. (A) Le nombre absolu de cMoPs dans la MO a été quantifié par cytométrie de flux. Les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques issus de 2 expériences sont représentées (n = 6). (B) Le nombre absolu de monocytes de la MO CD115⁺ Ly6C^{high} (panel de gauche) et la fréquence des monocytes sanguins CD115⁺ Ly6C^{high} (parmi les cellules CD45⁺) ont été évalués par cytométrie de flux. Les données sont issues de 3 expériences (n = 9). (C) La médiane de l'intensité de fluorescence (MFI) de Ly6A / E sur les monocytes Ly6C⁺ issus de la MO et du sang, a été analysée. Les données sont issues de 2 expériences (n = 6-7). (D-E) Les monocytes Ly6C^{high} ont été triés par FACS à partir de la MO de souris infectées (ou non) après 7 jours d'infection. (D) Les taux de transcrits d'ARNm des gènes pro- et anti-inflammatoires ont été déterminés par RT-PCR quantitative et normalisés par rapport au gène de ménage (*Gapdh*). Les données représentent les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques (n = 2). (E) Les monocytes triés ont été cultivés pendant 24 heures avec du LPS (100 ng/ml) et la production de cytokines a été quantifiée par ELISA. Les moyennes de duplicata biologiques sont montrées. (F) Le nombre absolu de monocytes de la MO CD115⁺ Ly6C^{low}/- (panel de gauche) et la fréquence des monocytes sanguins CD115⁺ Ly6C^{low}/- ont été évalués par cytométrie de flux. Les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques issus de 3 expériences sont représentées (n = 9). *, p <0,05; **, p <0,01; ***, p <0,001.

La diminution du nombre de progéniteurs de DC ne dépend pas des cytokines pro-inflammatoires

Nous avons ensuite tenté de clarifier les mécanismes moléculaires responsables de la réduction du nombre de progéniteurs de DC dans la MO pendant l'infection. Il a été récemment rapporté que la signalisation de l'IFN- γ est impliquée dans l'altération du développement des DC après une infection systémique à *Y. enterocolitica* (Pasquevich *et al.*, 2015). Pour étudier le rôle potentiel de l'IFN- γ dans notre contexte, les souris *Ifng*^{-/-} ont été infectées par l'IAV. De façon similaire aux souris WT, les souris déficientes en IFN- γ présentent un nombre significativement diminué de CDP et de pre-cDC après 7 jours d'infection (Figure 19A). Il convient de noter que la déficience en IFN- γ ne rétablit pas la concentration de Flt3-L dans les sérums (Figure 19B). De plus, le traitement de souris infectées avec un mAc neutralisant l'IFN γ (Figure 19C, panels inférieurs) ne restaure pas, même partiellement, le nombre de CDP ou de pre-cDC chez les souris infectées, par rapport au traitement avec un isotype contrôle. Ceci suggère que l'effet observé ne dépend pas de la présence d'IFN- γ .

Nous avons ensuite évalué le rôle d'autres cytokines pro-inflammatoires, TNF- α , IL-6 et IFN-I, également connues pour déclencher la myélopoïèse d'urgence, (Buechler *et al.*, 2013) (Hermesh

et al., 2010) (Maltby *et al.*, 2014) (Takizawa *et al.*, 2012) (Corentin Lasseaux *et al.*, 2017). La déplétion de la voie de signalisation de l'IFN-I n'affecte pas le nombre de CDP et de pre-cDC dans la MO (**Figure 19D**). En parallèle, la diminution du taux sérique de Flt3-L observée chez les souris WT infectées par l'IAV est également observée chez les animaux *Ifnar*^{-/-} infectés (**Figure 19E**). Finalement, la neutralisation du TNF- α et de l'IL-6 n'a pas rétabli le nombre de CDP et de pre-cDC lors de l'infection par IAV (**Figure 19F**). Par conséquent, la diminution du nombre de progéniteurs de DC dans la MO de souris infectées est indépendante de l'IFN- γ , du TNF- α , de l'IL-6 ou des IFN-I. Nos données suggèrent également que la production de Flt3-L n'est pas régulée par la signalisation de l'IFN (type I et II).

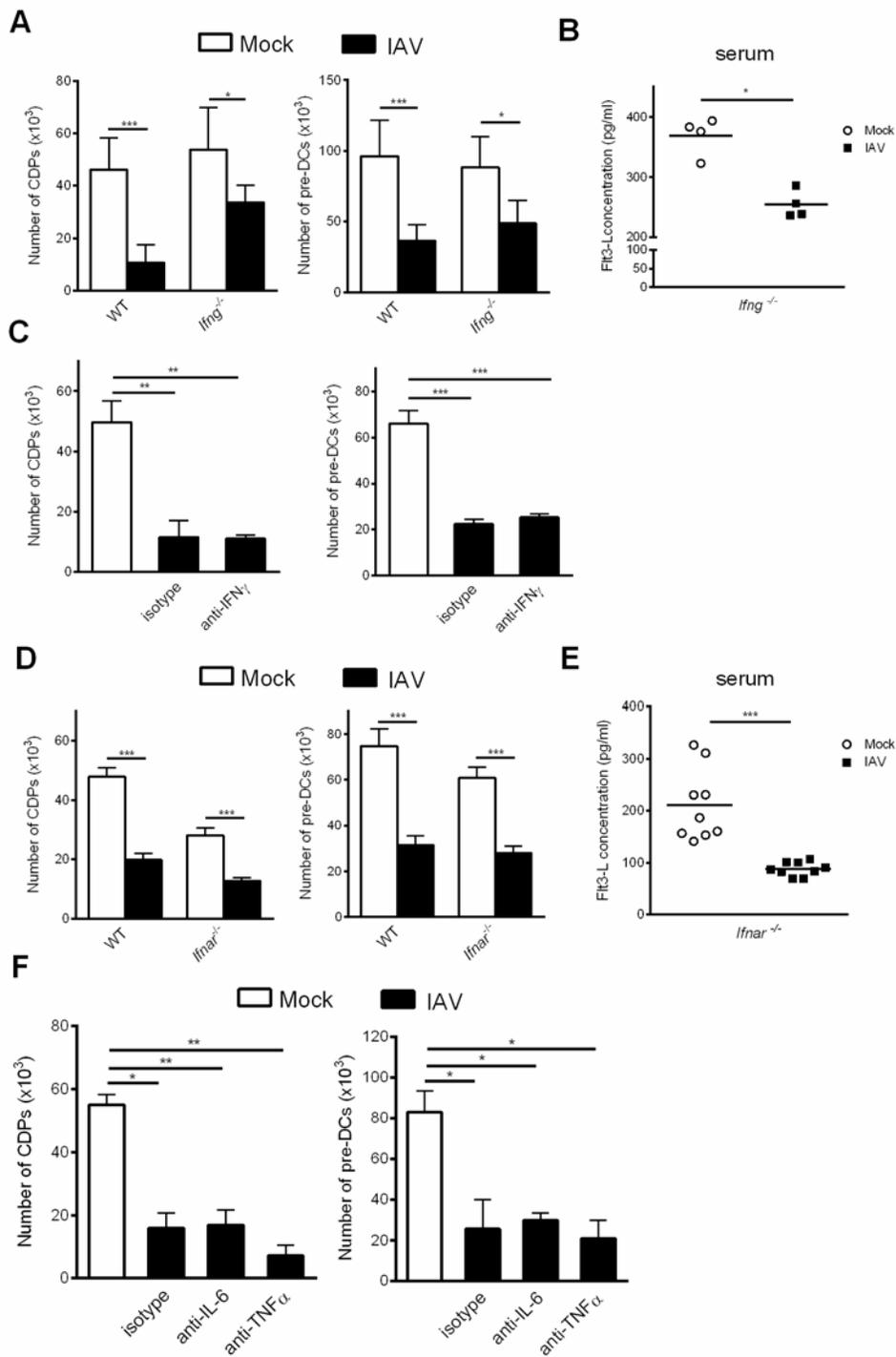


Figure 19: La neutralisation des cytokines pro-inflammatoires ne rétablit pas le nombre de progéniteurs de DC dans la MO.

(A) Les souris WT et *Ifng*^{-/-} de même âge et même sexe ont été infectées ou pas par voie i.n avec une dose sublétales de virus grippal. (B) La production de FIt3-L a été quantifiée dans le sérum de souris *Ifng*^{-/-}

infectées ou non par IAV (7 dpi) (n = 4). **(C)** Les souris WT ont été infectées et traitées au jour 0, 2, 4 et 6 avec un anticorps anti-IFN γ ou un isotype (300 μ g/souris). **(D)** Les souris WT et *Ifnar*^{-/-} de même âge et même sexe ont été infectées ou pas avec IAV. **(E)** La production de Flt3-L a été quantifiée dans le sérum de souris *Ifnar*^{-/-} infectées ou non par IAV (7 dpi) (n = 9). **(F)** Les souris WT ont été infectées et traitées aux jours 0, 2, 4 et 6 avec un anti-IL-6, anti-TNF α ou un isotype contrôle (300 μ g / souris). **(A, C, D, F)**. Le nombre absolu de CDP et de pre-cDC de la MO a été évalué par cytométrie de flux 7 jours après infection. **(A, C)** Les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques issus de deux ou trois expériences sont montrées (n = 9-12). **(D)** Les données sont issues de trois expériences (n = 10-15). **(F)** Les moyennes \pm SEM de réplicats biologiques sont montrées (n = 5). *, p <0,05; **, p <0,01; ***, p <0,001.

La surexpression de Flt3-L au cours d'une infection par IAV stimule la différenciation des cDC dans le BM, restaure le pool de cDC dans les poumons et diminue le recrutement de monocytes inflammatoires

Plusieurs études ont montré que l'immunosuppression consécutive à des brûlures ou une septicémie pouvait être corrigée après restauration du compartiment de DC, soit par transfert de DC ou par traitement avec de Flt3-L (Claudia F. Benjamim *et al.*, 2005) (Toliver-Kinsky *et al.*, 2005). Nous avons d'abord évalué si la population de cDC pouvait être restaurée au cours d'une infection grippale. A cette fin, un plasmide codant pour le Flt3-L a été injecté par voie i.v. chez des animaux, un jour avant l'infection par IAV, afin d'augmenter la production systémique de Flt3-L. Comme le montre la **figure 20A**, la concentration sérique de Flt3-L est plus élevée chez les souris infectées ou non, traitées avec le plasmide Flt3-L, comparativement aux animaux contrôles. Une analyse des progéniteurs de DC dans la MO a révélé un nombre accru de CDP et de pre-cDC totales chez les animaux traités au Flt3-L (**Figure 20B**). De façon intéressante, le nombre de CDP et pre-cDC est similaire chez les animaux traités avec le plasmide, infectés ou non par IAV. A noter que la surexpression de Flt3-L est associée à une diminution de l'expression de CD135 sur les CDP et les pre-cDC de souris traitées avec le plasmide (**Figure supplémentaire 4 et non représentée**). L'analyse des sous populations de pre-cDC a montré des nombres élevés de toutes les sous-populations en réponse au Flt3-L, indépendamment de l'infection, bien que l'augmentation soit plus importante pour les pre-cDC biaisées vers un profil de cDC1 (**Figure 20C**). La surexpression de Flt3-L durant l'infection grippale est également associée à une augmentation de la fréquence totale des cDC (cDC1 et cDC2) dans les poumons d'animaux infectés et non infectés par IAV (**Figure 20D**). Il est important de noter que, contrairement à la MO, la surexpression de

Flt3-L induit une expansion plus importante des cDC chez les animaux non infectés comparativement aux animaux infectés. A noter que l'administration du plasmide codant pour le Flt3-L n'influence pas le nombre de moDC et de neutrophiles dans le compartiment pulmonaire (**Figure 20E et figure supplémentaire 4**). En revanche, de façon intéressante, la surexpression de Flt3-L réduit de manière significative le nombre de Mo Ly6C^{high} CCR2⁺ chez les souris infectées (**figure 20E**). Nous avons ensuite regardé si la restauration du pool de cDC dans les poumons affectait la réplication virale. La surexpression de Flt3-L a un effet modéré (non significatif) sur la charge virale (légèrement augmentée) et n'affecte pas l'expression des gènes induits par les IFN (*Isg15*, *Oas3*), dont l'expression est généralement liée à la charge virale (**Figure 20F et non représenté**). Une étude récente d'Ellis et de ses collègues a montré que le recrutement précoce de Mo Ly6C^{high} CCR2⁺ au cours d'une infection par IAV est critique dans les dommages causés au niveau de la barrière épithéliale et l'invasion bactérienne secondaire (G. T. Ellis *et al.*, 2015). En accord avec le nombre réduit de Mo Ly6C^{high} CCR2⁺ (**Figure 20E**), le plasmide Flt3-L augmente l'expression génique de *Tjp1* (protéine de jonction serrée 1) et de *Ocln* (occludine), 2 protéines associées à la fonction de barrière pulmonaire. En parallèle, la surexpression de Flt3-L augmente l'expression de *Areg* (amphiréguline), une protéine essentielle à la restauration de l'intégrité épithéliale et à la réparation tissulaire. Pris dans leur ensemble, les résultats montrent que la surexpression de Flt3-L au cours d'une infection par IAV (i) restaure la DCpoïèse, (ii) restaure le nombre de cDC pulmonaires et (iii) diminue l'infiltration des Mo Ly6C^{high} qui pourrait expliquer l'effet sur l'expression des gènes associés à la fonction de barrière ou réparation pulmonaire.

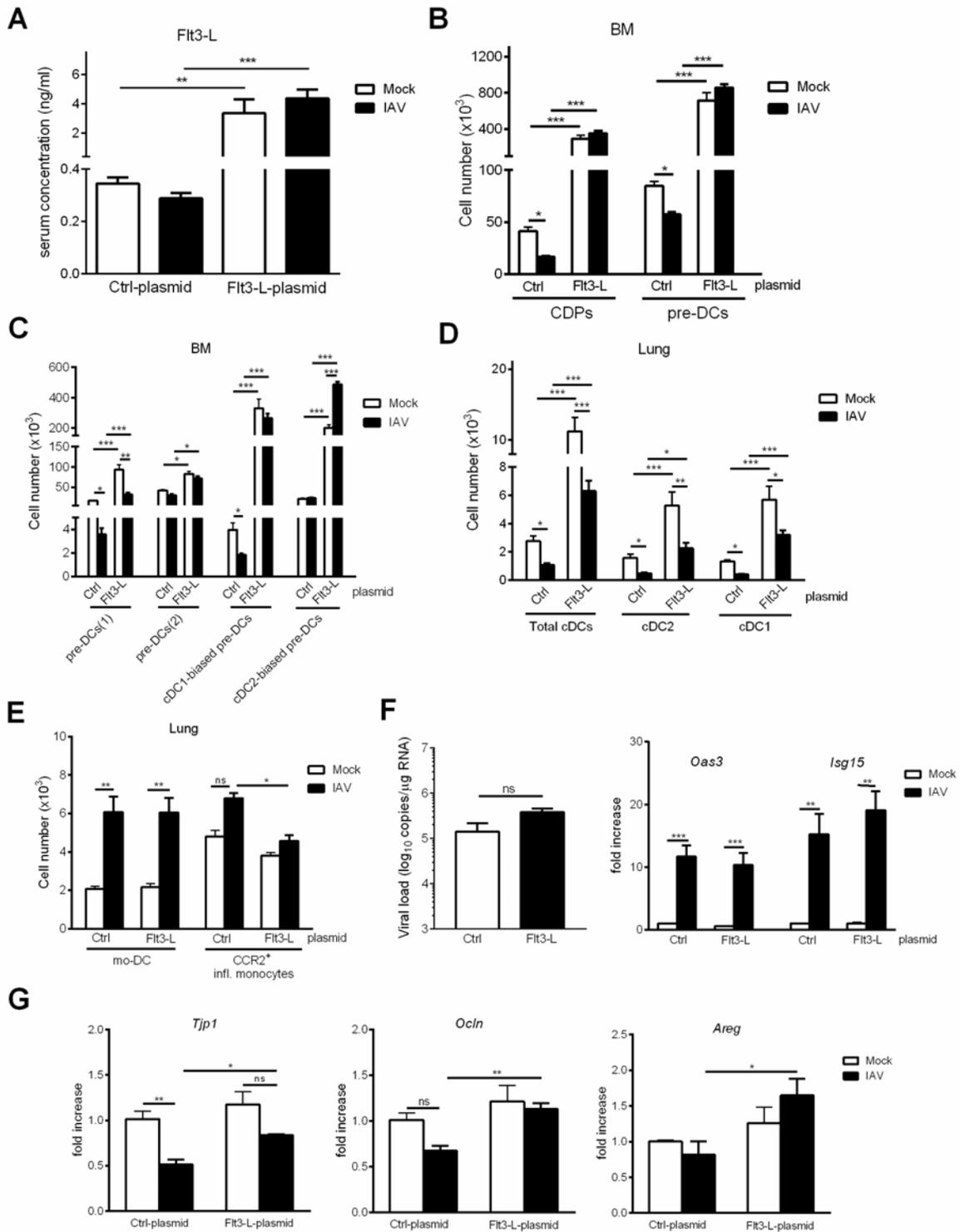


Figure 20: La surexpression du Flt3-L au cours d'une infection par IAV restaure la DCpoïèse et est associée à une expression accrue des gènes impliqués dans l'intégrité de la barrière pulmonaire.

Les souris ont été injectées par voie i.v. avec 2 µg d'un plasmide contrôle ou plasmide-Flt3-L. Les souris ont ensuite été infectées ou pas avec IAV 24h plus tard. Les souris ont été sacrifiées 4 dpi. (A) La production de Flt3-L a été quantifiée dans les sérums, (B) les nombres de CDP, de pre-cDC totaux et des sous-populations de pre-cDC (C) ont été évalués dans la MO par cytométrie en flux. (D) Les nombres de cDC (cDC1, cDC2) et (E) d'autres cellules myéloïdes ont été déterminés dans les poumons. (F) La charge virale (en log de 10 copies d'ARN M1 viral / µg ARN) (**panel de gauche**) et l'expression d'ARNm des gènes *Isg15* et *Oas3* ont été quantifiées dans les poumons (RT-PCR). (G) Le nombre de copies d'ARNm associé à l'intégrité de la barrière (*Ocln*, *Tjp1*) et à la réparation tissulaire (*Areg*) a été déterminé dans les poumons (RT-PCR). Toutes les données de RT-PCR sont normalisées par rapport au gène de ménage (*Gapdh*) et exprimées en "fold increase" par rapport à la moyenne de l'expression génique de plasmide-control/animaux non infectés. Les données représentent la moyenne ± SEM de réplicats biologiques (A-E) n = 6-12 et (F-G) n = 5. *, p <0,05; **, p <0,01; ***, p <0,001, ns: non significatif.

La surexpression de Flt3-L au cours d'une infection par IAV protège partiellement contre l'infection secondaire à *Streptococcus pneumoniae*.

Nous avons finalement étudié les conséquences de la surexpression de Flt3-L au cours de l'infection grippale sur une infection bactérienne secondaire. Pour cela, des souris traitées et infectées avec IAV ont été secondairement inoculées avec *Streptococcus pneumoniae*, un agent pathogène opportuniste majeur impliqué dans la surinfection bactérienne. Dans ce système, l'infection avec une faible dose de *S. pneumoniae* (10³ unités formant colonies, CFU) est suffisante pour la croissance bactérienne locale et la translocation systémique conduisant à une bactériémie contribuant à la mort (J. A. McCullers, 2014) (A. Rynda-Apple *et al.*, 2015). Bien que cela ne soit pas significatif, les souris traitées avec Flt3-L présentent une charge bactérienne plus faible dans les poumons que les souris traitées avec le plasmide témoin (**Figure 21A, panel de gauche**). Par contre, de façon intéressante, la surexpression de Flt3-L conduit à une réduction significative de la dissémination bactérienne, comme en témoigne le nombre moins élevé de bactéries viables dans la rate (**Figure 21A, panel de droite**). L'expression des cytokines liées à la réponse Th17 est importante pour contrôler la croissance des bactéries respiratoires dans le contexte d'une infection grippale antérieure (J. Cao *et al.*, 2014) (Wenjing Li *et al.*, 2012). Aucune différence significative dans l'expression des gènes codant pour les cytokines induisant les réponses Th17 (*Il23p19*, *Il1b*) et les cytokines associées à la réponse Th17 (*Il17a*, *Il17f*, *Il22*) n'a été observée chez des souris co-infectées, traitées ou non par Flt3-L (**Figure 21B et non montré**). Afin d'évaluer l'effet du Flt3-

L sur les lésions pulmonaires, nous avons analysé des coupes histologiques de poumons. Toutes les souris co-infectées présentent des signes d'inflammation pulmonaire mis en évidence par une inflammation interstitielle et des lésions alvéolaires (**Figure 21C**). Comparativement au groupe témoin, les souris traitées par Flt3-L présentent des lésions alvéolaires moins marquées, une inflammation alvéolaire moins diffuse (principalement composée de neutrophiles et de lymphocytes) et un épaississement interstitiel moindre (noté sur la **figure 21C, panel de droite**). Peu de lésions bronchiques ont été observées à ce moment et aucune différence majeure n'a été notée entre les deux groupes. Nous avons ensuite déterminé si l'effet positif de Flt3-L sur la charge bactérienne et la pathologie pulmonaire pouvait avoir des conséquences sur la morbidité et la mortalité. Les souris co-infectées perdent du poids mais cette perte est moins importante chez les souris traitées avec le plasmide Flt3-L (**Figure 21D, panel de gauche**). De façon intéressante, la surexpression du Flt3-L chez les souris co-infectées retarde la mortalité comparativement aux animaux contrôles (**Figure 21D, panel de droite**). Pris dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que le traitement avec le plasmide codant pour le Flt3-L au cours de l'infection grippale protège partiellement contre une infection bactérienne secondaire, comme en témoigne la diminution du nombre de bactéries dans la rate (dissémination systémique réduite), la pneumonie réduite et la survie prolongée.

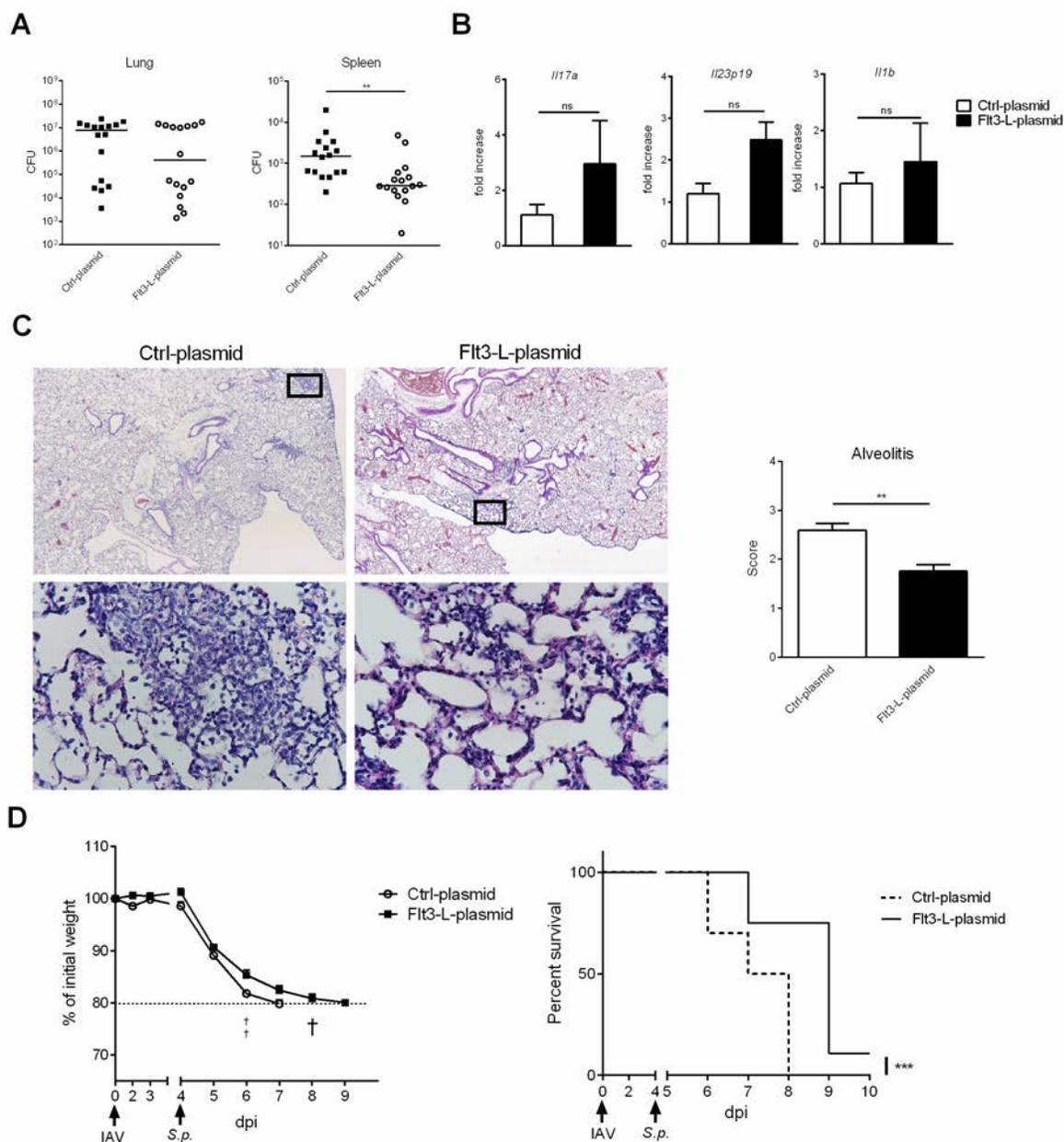


Figure 21: Le traitement par Flt3-L au cours de la grippe protège partiellement contre une infection à pneumocoque secondaire.

Les souris ont été injectées par voie i.v. avec 2 µg d'un plasmide contrôle ou le plasmide-Flt3-L. Les souris ont été infectées par IAV 24 heures plus tard. Quatre jours après infection, les souris ont été infectées par *S. pneumoniae* (10^3 CFU). **(A)** Les souris ont été sacrifiées 30 heures après l'infection à *S. pneumoniae* et le nombre de CFU a été déterminé dans les poumons et la rate. Les lignes pleines correspondent aux valeurs médianes. Les données sont issues de deux expériences indépendantes (n = 16). **(B-C)** Les souris ont été sacrifiées 12 heures après la surinfection avec *S. pneumoniae*. **(B)** Le nombre de copies d'ARNm de gènes codant pour des cytokines associées à la réponse Th17 a été quantifié par RT-PCR. Toutes les données de RT-PCR sont normalisées par rapport au gène de ménage (*Gapdh*) et exprimées en "fold increase" par

rapport à la moyenne de l'expression génique de plasmide-contrôle/animaux co-infectés (n = 5). **(C)** Analyse histologique des coupes pulmonaires. **Panel de gauche:** Des coupes représentatives de poumons colorées à l'hématoxyline et à l'éosine sont présentées. L'inflammation alvéolaire diffuse est marquée par un épaissement interstitiel chez les animaux traités avec le plasmide contrôle qui reste modérée chez les animaux traités par Flt3-L. Les images pulmonaires ont été prises au grossissement x4 (**panel supérieur**) et x40 (**panel inférieur**). Le **panel inférieur** représente un agrandissement de la région pulmonaire encadrée en noir dans le **panel supérieure**. **Panel de droite:** L'alvéolite a été évalué et les données représentent les moyennes \pm SEM (n = 4 souris / groupe). **(D)** L'évolution du poids corporel (en % du poids corporel initial) et le taux de survie des souris co-infectées traitées ou non avec Flt3-L ont été contrôlés quotidiennement (n = 10). **, p <0,01; ***, p <0,001, ns: non significatif.

Discussion

L'infection par le virus grippal de type A représente l'une des causes les plus importantes de maladies des voies respiratoires dans le monde. Elle conduit à des épidémies récurrentes avec des taux élevés de morbidité et de mortalité (Lang *et al.*, 2012). La mortalité est principalement due aux surinfections bactériennes post-grippales dont *S. pneumoniae* est la plus répandue. Le virus facilite l'invasion bactérienne par plusieurs mécanismes, y compris l'altération mécanique de l'épithélium respiratoire et le dysfonctionnement de la réponse immunitaire innée anti-bactérienne (Joseph *et al.*, 2013). L'immunosuppression induite par le virus grippal se traduit par une altération fonctionnelle ou une réduction dans le nombre des cellules immunitaires conduisant à une altération de la réponse anti-bactérienne de l'hôte (Y. Wu *et al.*, 2011). Plusieurs études ont montré une perturbation du nombre de cellules myéloïdes infiltrées dans les poumons lors de l'infection grippale (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (Barthelemy, Ivanov, Fontaine, *et al.*, 2016) (Ghoneim *et al.*, 2013) (Dela Cruz *et al.*, 2017). Concernant les cDC (cDC1 et cDC2), les données de la littérature rapportant leur recrutement et/ou déplétion, restent à ce jour controversées (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (J. L. G. Cruz *et al.*, 2017) (C. H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (Stoyan Ivanov *et al.*, 2012) (Barthelemy *et al.*, 2017). Les DC jouent un rôle crucial durant l'infection grippale via leur capacité unique à activer les cellules T naïfs spécifiques du virus (Banchereau *et al.*, 1998) (Hart, 1997) (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (K. L. Lin *et al.*, 2008) (Dela Cruz *et al.*, 2017) (Dolfi *et al.*, 2011).

En parallèle, il existe un fort recrutement des Mo Ly6C^{high} et des moDC dans les poumons de souris infectées (Gill *et al.*, 2008; Iijima *et al.*, 2011) (Dela Cruz *et al.*, 2017) (Gregory T. Ellis *et al.*, 2015) (Barthelemy, Ivanov, Fontaine, *et al.*, 2016). Cependant, les Mo Ly6C^{high} exercent une fonction pro-inflammatoire délétère dans les poumons conduisant à des lésions pulmonaires graves, ce qui facilite l'invasion bactérienne (K. L. Lin *et al.*, 2011) (S.-J. Lin *et al.*, 2014) (Susanne Herold *et al.*, 2008) (Gregory T. Ellis *et al.*, 2015).

Les monocytes/macrophages et les DC sont dérivés de la lignée myéloïde et sont considérés comme des acteurs clé du système immunitaire inné dans la réponse anti-microbienne (Clarke, 2014; Taylor *et al.*, 2003). Ces cellules assurent une immunité naturelle contre les microorganismes via leur capacité de phagocytose, la présentation d'antigènes et le recrutement d'autres cellules inflammatoires (Rivera *et al.*, 2016). En ce qui concerne leur génération dans la MO, les études sur les MDP en tant que progéniteurs de DC et de monocytes sont controversées.

La différenciation des DC et des monocytes dans la MO est un processus étroitement régulé par des facteurs de croissance, des cytokines et des facteurs de transcription (Miriam Merad *et al.*, 2013b) (Theresa L. Murphy *et al.*, 2016) (Schmid *et al.*, 2010).

Contrairement aux cellules immunitaires adaptatives, telles que les LT et les LB, qui peuvent se proliférer fortement en réponse à leurs antigènes spécifiques, les cellules immunitaires innées doivent être reconstituées à partir des CSH et des progéniteurs dans la MO à cause de leur faible activité proliférative (Furusawa *et al.*, 2016). Pour répondre à la demande accrue en cellules myéloïdes au cours de l'infection, la MO sera fortement sollicitée pour accélérer la production des cellules myéloïdes, un phénomène appelé « myélopoïèse d'urgence » (R. S. Welner *et al.*, 2014).

A l'heure actuelle, les conséquences de l'infection grippale sur la myélopoïèse restent très peu connues. Récemment, des rapports ont suggéré que l'infection par IAV déclenche la production des cellules myéloïdes de la MO, ce qui pourrait influencer favorablement l'immunité pulmonaire contre le virus (Long *et al.*, 2013) (Hermesh *et al.*, 2010) (Maltby *et al.*, 2014) (Tang *et al.*, 2013).

Dans la présente étude, nous avons pu montrer une chute transitoire dans le nombre de cDC (cDC1 et cDC2) suite à une infection grippale par la souche H3N2, associée à une augmentation du nombre de moDC dans les poumons (non montrée dans notre étude). La chute de cDC peut être considérée un mécanisme supplémentaire de l'immunosuppression induite par le virus de la grippe et qui pourrait faciliter la surinfection. Ainsi, nous avons émis l'hypothèse que l'infection par le virus de l'*Influenza* pouvait affecter la myélopoïèse au niveau de la MO. Nos résultats montrent une chute du nombre de progéniteurs/précurseurs impliqués dans la génération des cDC au cours de l'infection grippale (avec un pic au jour 7 de l'infection), et une accélération du processus de mono-poïèse. La chute dans le nombre de cDC est associée à une diminution de la production de Flt3-L, dans la MO, le sang et les poumons des souris infectées. La supplémentation de Flt3-L augmente la différenciation des cDC au cours de l'infection grippale et protège partiellement les souris contre la surinfection par *S. pneumoniae*.

1 Les conséquences de l'infection grippale sur l'homéostasie des DC pulmonaires

La régulation de l'homéostasie des DC pendant l'infection prend une place importante aujourd'hui dans la recherche étant donné la capacité unique de ces cellules à initier les réponses immunitaires

innées et acquises. La déplétion dans le nombre des DC spléniques dans un modèle murin est un événement précoce au cours d'une infection polymicrobienne systémique (Newton *et al.*, 2004) (Tinsley *et al.*, 2003) (Richard S. Hotchkiss *et al.*, 2013). Cette altération est associée à un dysfonctionnement des DC ce qui induit une immunosuppression post-septicémie et prédispose l'hôte à la surinfection bactérienne secondaire (Pastille *et al.*, 2011) (Roquilly *et al.*, 2017). Dans notre étude, nous avons étudié l'impact d'une infection virale locale par l'*Influenza* de type A sur l'homéostasie des DC pulmonaires. Lors de la grippe, plusieurs rapports ont montré une altération dans le nombre des cellules sentinelles dans les poumons (les macrophages alvéolaires et les cDC) (T. S. Kim *et al.*, 2009b) (Corine H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (Ghoneim *et al.*, 2013) (J. L. G. Cruz *et al.*, 2017). En ce qui concerne les macrophages alvéolaires, les études restent controversées si ces cellules sont déplétées ou non au cours de l'infection. Les données sur les cDC, qui incluent les deux sous-populations cDC1 et cDC2, restent moins claires. Notre laboratoire a déjà décrit une diminution du nombre total de cDC dans le poumon suite à une infection grippale (Barthelemy *et al.*, 2017). Des rapports antérieurs ont montré un recrutement de cDC2 vers les ganglions lymphatiques (A. Ballesteros-Tato *et al.*, 2010) (Corine H. GeurtsvanKessel *et al.*, 2008) (Dela Cruz *et al.*, 2017). En ce qui concerne les cDC1, si elles sont déplétées ou non lors de la grippe reste cependant toujours mal connu. Dans la présente étude, nous avons pu montrer une chute transitoire des deux sous-populations de cDC pulmonaires ; les cDC1 (CD24⁺) et les cDC2 (CD172a⁺). La différence dans la pathogénicité de la souche virale utilisée dans notre étude (H3N2) avec les autres études H1N1 (PR8), pourrait conduire à des différents résultats. De plus, dans notre projet, nous avons utilisé le mAc anti-CD64 pour distinguer entre les cDC et les moDC. Nous avons déjà utilisé cet anticorps dans notre étude précédente où nous avons mis en évidence une diminution du nombre de cDC (Barthelemy *et al.*, 2017). Ainsi, la différence dans la méthodologie utilisée pour marquer les cellules pour la cytométrie en flux (préparation des tissus, utilisation de l'anti-CD64, type de collagénase,...) pourrait expliquer le contraste dans les conclusions avec les études antérieures.

Suite à ces résultats, nous avons étudié l'impact de l'infection grippale sur la voie de développement et de différenciation des cDC dans la MO. Nous avons pu montrer que la chute des cDC dans les poumons coïncide avec une chute transitoire (4dpi -10 dpi) du nombre de CDP et de pre-cDC, mais pas de MDP, dans la MO. Ceci a été déjà investigué dans un modèle d'infection bactérienne systémique par *Y. enterocolitica* où les auteurs ont montré que la chute de cDC de la

rate des souris infectées était associée à une diminution du nombre de pre-cDC, CDP et MDP dans la MO (Pasquevich *et al.*, 2015). Dans cette même étude, une infection bactérienne à *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, ou encore *Listeria monocytogenes* conduisait également à une diminution des pre-cDC. De la même façon, la diminution du nombre de cDC spléniques chez des souris endotoxémiques est concomitante avec une diminution des pre-cDC dans la MO (Corentin Lasseaux *et al.*, 2017). A côté des infections bactériennes, la réduction du nombre de DC spléniques observée au cours de l'infection virale par LCMV, est associée à une diminution dans le développement de leurs progéniteurs au niveau de la MO (Sevilla *et al.*, 2004).

Les pre-cDC de la MO représentent une population hétérogène. En effet, il existe dans la MO de souris, des pre-cDC déjà programmées pour générer plus tard en périphérie des cDC1 et des cDC2 (Gary E. Grajales-Reyes *et al.*, 2015) (A. Schlitzer *et al.*, 2015). Dans notre étude, nous avons pu montrer que la population pre-cDC1 est la plus affectée.

Nous pouvons donc conclure que l'infection grippale peut affecter le développement des progéniteurs de cDC dans la MO ce qui pourrait expliquer la chute du nombre des cDC dans les poumons. Il est important de noter que durant cette période (4dpi-10dpi) la chute dans le nombre de CDP, pre-cDC et la sous-population de pre-cDC1 dans la MO, et la chute des cDC pulmonaires coïncide avec le pic de la surinfection bactérienne.

2 Comment expliquer la diminution du nombre de progéniteurs de cDC?

Plusieurs questions ont été adressées pour trouver les mécanismes moléculaires expliquant cette chute des progéniteurs de cDC dans la MO suite à une infection grippale. Nous avons ainsi évalué les hypothèses possibles qui pouvaient justifier cette diminution.

2.1 La diminution des progéniteurs de cDC n'est pas liée à une apoptose accrue ou à un recrutement augmenté vers la périphérie

Une étude antérieure a montré que le virus de la grippe induisait une diminution de la prolifération des cellules pre-B au niveau de la MO. Cette observation n'était pas liée au recrutement de ces cellules vers la périphérie mais à un apoptose de celles-ci, dépendante du TNF- α et de la lymphotoxine- α produites dans la MO durant l'infection, ce qui induit une diminution de leur

différenciation en LB (Sedger *et al.*, 2002). Dans notre protocole, le virus n'induit pas l'apoptose des progéniteurs de cDC dans la MO, bien que nous n'excluons pas la possibilité que l'élimination des progéniteurs morts par les phagocytes puisse interférer avec leur détection.

L'infection grippale pourrait également conduire à une sortie accrue des progéniteurs de cDC hors de la MO, et leur migration vers le sang et les tissus périphériques. Schmid et ses collègues ont rapporté que le transfert adoptif de CDP, stimulés *in vitro* par TLR, conduit à leur migration vers des ganglions lymphatiques où ils donnent naissance aux cDC (Schmid *et al.*, 2011). Dans la présente étude, nous n'avons pas détecté de CDP dans le sang, ni dans la rate de souris infectées par IAV (données non présentées). Les modèles expérimentaux sont très différents ce qui peut expliquer ces résultats. Le nombre réduit de pre-cDC observé dans le sang, la rate et les poumons après 4 et 7 jours d'infection élimine l'hypothèse qui suggère une sortie accrue des pre-cDC et une migration vers les tissus. Des investigations supplémentaires, notamment par des transferts adoptifs de pre-cDC et de CDP marqués, pour étudier l'entrée / la rétention de ces cellules dans les tissus périphériques lors d'une infection, seraient nécessaires pour tirer une conclusion définitive. Une diminution similaire du recrutement des pre-cDC dans les poumons associée à une diminution des cDC matures a été mise en évidence après une infection virale par RSV (Hongwei Wang *et al.*, 2006). En accord avec ces données nous pouvons suggérer que l'altération dans la voie de génération de cDC dans la MO lors de la grippe, diminue le recrutement des pre-cDC dans les poumons et conduit à une inhibition de l'expansion des cDC en réponse à l'infection.

2.2 Les progéniteurs de cDC ne sont pas altérés intrinsèquement après une infection grippale

L'altération dans la fonction des DC a été déjà décrite au cours des infections systémiques. Les DC septiques chez l'homme et chez la souris ont une capacité plus faible à produire des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IL-12) et plus importante à produire des cytokines anti-inflammatoires (IL-10 et de TGF- β), après une stimulation *in vitro* (Claudia F. Benjamim *et al.*, 2005) (Flohe *et al.*, 2006) (Poehlmann *et al.*, 2009) (Pène *et al.*, 2008). Dans notre étude nous avons pu montrer que l'infection grippale n'induit pas de défaut fonctionnels intrinsèques des progéniteurs / précurseurs de cDC de la MO, qui auraient pu altérer leur capacité ultérieure à se

différencier en cDC. D'une part, les cellules totales de la MO de souris infectées par l'IAV, en présence de Flt3-L, se différencient en cDC (cDC1 et cDC2). De plus, le nombre de cellules générées à partir de MO de souris infectées est plus élevé que celui obtenu à partir de MO de souris contrôles, un processus probablement dû à l'augmentation de l'expression de Flt3 (CD135), le récepteur de Flt3-L, par les CDP et les pre-cDC après une infection. Et finalement, les cDC totales générées à partir de la MO des souris infectées, montrent un phénotype inflammatoire plus prononcé, caractérisé par une production plus importante d'IL-12p40 et d'IL-6 et une production similaire d'IL-10 par rapport aux souris contrôles, après une stimulation *in vitro* avec le LPS. Ainsi, nous pouvons suggérer que le virus de la grippe reprogramme les DC nouvellement générées en DC plus inflammatoires afin de répondre à l'infection. Il serait intéressant de voir si ce phénotype est altéré dans les 2 sous populations, cDC1 et cDC2 en évaluant la production de ces cytokines par un marquage intracellulaire. Ainsi, contrairement à une infection bactérienne systémique, l'infection locale pulmonaire par le virus grippal n'a pas d'impact négatif sur le nombre / les fonctions des DC dérivées des progéniteurs de la MO (Pène *et al.*, 2008) (Pastille *et al.*, 2011).

2.3 La diminution des progéniteurs de cDC peut s'expliquer par une accélération de la monopoïèse durant une infection par IAV

La diminution du nombre de progéniteurs de cDC dans la MO de souris grippées pourrait également s'expliquer par une accélération de la monopoïèse liée à l'infection au détriment de la génération des cDC. Ceci a été récemment mis en évidence dans un modèle d'infection systémique par *Y. enterocolitica* (Pasquevich *et al.*, 2015). Dans cette étude, les auteurs montrent que l'infection favorise la monopoïèse au détriment de la différenciation des cDC d'une manière dépendante de TLR-4 et de l'IFN- γ (Pasquevich *et al.*, 2015). Au cours de la grippe, la diminution transitoire du nombre de Mo Ly6C^{high} dans la MO et leur nombre élevé dans le sang, supportent l'idée que l'infection favorise la monopoïèse dans la MO. Afin de confirmer ces résultats, il serait intéressant d'évaluer la monopoïèse (i) *in vivo* en mesurant l'incorporation de BrdU ou (ii) *in vitro* par le test clonogénique des progéniteurs de granulocytes/monocytes (CFU-GM). Notre observation est en accord avec le recrutement de Mo Ly6C^{high} rapporté dans les poumons de souris infectées par IAV (K. L. Lin *et al.*, 2011) (S.-J. Lin *et al.*, 2014) (Susanne Herold *et al.*, 2008) (Stifter *et al.*, 2016) (G. T. Ellis *et al.*, 2015).

Lors des infections microbiennes, la monopoïèse est très souvent accélérée pour permettre la production de Mo Ly6C^{high} capables d'aller combattre l'infection. Les fonctions monocytaires sont déterminées par des signaux locaux dans les tissus où ces monocytes sont recrutés (Askenase *et al.*, 2015) (Arnold *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2014). Cependant, récemment, une étude a montré que les fonctions des monocytes pouvaient être reprogrammées directement dans la MO, avant même que ces cellules arrivent dans le tissu infecté. En effet, l'infection locale intestinale par *Toxoplasma gondii* altère la monopoïèse principalement en reprogrammant dans la MO, les progéniteurs de monocytes, les cMoP, pour générer des Mo Ly6C^{high} avec une fonction anti-inflammatoire (Askenase *et al.*, 2015). Dans notre projet, l'analyse de phénotype/ fonction des Mo Ly6C^{high} suggère que ces cellules sont constituées d'une population mixte de monocytes régulateurs/inflammatoires dans la MO d'animaux infectés, 7 jours après infection. En effet, nous observons une augmentation de l'expression des gènes *cd200*, *socs3*, *sca-1*, et une diminution de *cx3cr1* 7 jours de l'infection, reflétant ainsi un phénotype plutôt anti-inflammatoire, d'après l'étude de Askenase et ses collègues. Par contre, à l'inverse de cette étude, nous observons également une augmentation de l'expression de gènes pro-inflammatoires (*il6*, *inos*) par les Mo Ly6C^{high} de la MO de souris infectées. Notre étude fonctionnelle montre également que les Mo Ly6C^{high} de souris infectées produisent de façon importante des cytokines inflammatoires et anti-inflammatoires, IL-6 et IL-10, respectivement. Ces résultats semblent suggérer que l'infection pulmonaire par le virus grippal peut reprogrammer la fonction des Mo Ly6C^{high} avant leur sortie de la MO. Des études supplémentaires seraient nécessaires pour établir si l'infection grippale peut altérer la fonction des cMoP. Nous avons réalisé une étude préliminaire du phénotype des Mo Ly6C^{high} à des temps plus tardifs après infection. Bien que non présentés, nos résultats montrent que 14 jours après infection par le virus IAV, les Mo Ly6C^{high} de souris infectées ont un phénotype proche de celui des souris contrôles suggérant que ce phénotype mixte pro et anti-inflammatoire est un phénotype transitoire. La mise en évidence des monocytes anti-inflammatoires dans la MO pourraient coïncider avec une étape de résolution de l'infection. En d'autres termes, après une étape de réponse inflammatoire nécessaire pour se débarrasser de l'agent pathogène, une réponse anti-inflammatoire est nécessaire pour permettre le contrôle de cette réponse et un retour à l'homéostasie.

Parallèlement aux Mo Ly6C^{high}, nous avons montré pour la première fois une diminution drastique dans le nombre des Mo Ly6C^{low/-} dans la MO et dans le sang de souris infectées. A noter que cette deuxième population de monocytes joue un rôle important dans la phase de résolution de la grippe en patrouillant et réparant les cellules endothéliales endommagées par une infection (Chao Shi *et al.*, 2011). Deux hypothèses ont été émises concernant cette diminution. La première suggère que ces cellules migrent vers le poumon ou vers les organes périphériques et ne sont pas renouvelées. Ceci est en accord avec le recrutement de Mo Ly6C^{low/-} montré par Stifter et ses collègues dans les poumons de souris infectées par l'IAV (Stifter *et al.*, 2016). Dans les poumons, les Mo Ly6C^{low/-} semblent avoir une certaine plasticité, puisqu'elles peuvent se transformer en Mo Ly6C^{high}, un processus contrôlé par les IFN-I (Stifter *et al.*, 2016). Selon la littérature, certaines études montrent que les Mo Ly6C^{low/-} sont dérivées des Mo Ly6C^{high} (Chen Varol *et al.*, 2007), (Yrlid *et al.*, 2006), (Sunderkotter *et al.*, 2004). Ces résultats sont controversés mais dans notre modèle (contexte de la grippe), la deuxième hypothèse séduisante serait une augmentation de la monopoïèse vers la production des Mo Ly6C^{high} au détriment des Mo Ly6C^{low/-}.

Ces monocytes sont caractérisés par leur forte expression de la molécule CX3CR1. Cependant, il est à ce jour difficile d'étudier cette population de monocytes, notamment dans les tissus périphériques tels que les poumons car il n'existe pas d'anticorps murins anti-CX3CR1 efficace. Seule l'utilisation de souris CX3CR1 Knock in GFP pourrait nous permettre de mieux appréhender leur cinétique de disparition dans la MO et de recrutement dans les poumons.

2.4 Les cytokines pro-inflammatoires ne sont pas impliquées dans la chute du nombre des progéniteurs de cDC

Les perturbations de la myélopoïèse aux cours des infections microbiennes sont très souvent dépendantes de la production de cytokines de type pro-inflammatoires (MacNamara, Jones, *et al.*, 2011). En raison de la tempête cytokinique mise en place suite à l'infection par l'IAV (Q. Liu *et al.*, 2016), nous avons émis l'hypothèse que les cytokines pro-inflammatoires pouvaient être responsables de l'altération du développement de cDC dans la MO. Les IFN-I, l'IFN- γ , l'IL-6 et le TNF α ont été décrits comme des facteurs capables de promouvoir et accélérer la monopoïèse dans certains contextes (Chiba *et al.*, 2017) (Yanez *et al.*, 2017). Leur rôle potentiel dans le contrôle du développement des cDC dans la MO est peu connu. L'IFN-I est impliqué dans

l'augmentation de la proportion de moDC dans la MO et dans la rate suite à l'injection de LPS sans aucun effet sur le développement des précurseurs de cDC (Corentin Lasseaux *et al.*, 2017). Lors d'une infection systémique par *Y. enterocolitica*, l'IFN- γ contribue principalement à l'accélération de la production des monocytes au détriment des DC (Pasquevich *et al.*, 2015). Dans notre projet, nous montrons que l'infection de souris déficientes pour les récepteurs d'IFN-I (*Ifnar*^{-/-}) avec le virus IAV conduit à une diminution de CDP et de pre-cDC dans la MO, comparable à celles de souris contrôles. Des résultats similaires ont été obtenus en utilisant des souris *Ifn γ* ^{-/-} ou en utilisant des anticorps neutralisants l'IFN- γ . Contrairement aux données rapportées par l'équipe de Pasquevich, nos résultats suggèrent que la diminution du nombre de CDP et de pre-cDC durant la grippe ne dépend pas de l'IFN- γ . En plus de la différence dans le type de pathogène utilisé, cette différence dans les résultats pourrait s'expliquer par la présence d'*Y. enterocolitica* dans la MO. Dans notre modèle, le virus de la grippe n'a pas été détecté dans la MO. En effet, en utilisant une technique très fine de quantification du virus (protéine M1), nous n'avons pas réussi à détecter de copies d'ARNm de la protéine M1 du virus de la grippe dans les MO de souris infectées (résultats non montrés). Cependant, nous ne pouvons pas totalement exclure l'absence de virus: il est possible que les progéniteurs de cDC (ou autres précurseurs/progéniteurs), très faiblement représentés dans les MO, puissent être infectés. Pour vérifier cette hypothèse, une analyse quantitative des ARNm de la protéine M1 du virus de la grippe devrait être faite sur les CDP, pre-cDC purifiées de souris infectées par le virus IAV. Ces résultats suggèrent néanmoins que l'effet du virus sur la DCpoïèse est indirect. En accord avec nos données, Stifter et ses collègues ont déjà démontré que les voies de signalisation des interférons ne semblaient pas être impliquées dans la régulation de la myélopoïèse au cours de la grippe (Stifter *et al.*, 2016). De plus, la neutralisation des cytokines pro-inflammatoires, tels que l'IL-6 et le TNF α , ne restaure pas la chute de progéniteurs de cDC. Les résultats de notre étude nous amènent à conclure que la diminution de nombre de CDP et de pre-cDC pendant la grippe est indépendante de ces cytokines. Il est cependant possible que ces cytokines puissent agir ensemble et seule la neutralisation de plusieurs cytokines à la fois pourrait nous permettre de répondre à cette question. Dans notre modèle, nous n'avons pas étudié l'effet de la déficience de ces cytokines sur la monopoïèse. Il serait intéressant de le faire.

Les IFN de type III représentent une famille émergente de cytokines qui agit comme première ligne de défense contre l'infection grippale (Markus Mordstein *et al.*, 2008) (Ioanna E. Galani *et*

al., 2017). Bien que l'impact des IFN-III sur la myélopoïèse soit actuellement inconnu, il pourrait être intéressant d'étudier son rôle potentiel (en combinaison ou non avec les autres types d'IFN) au cours de l'infection par l'IAV. Ainsi, l'utilisation par exemple des souris déficientes pour le récepteur de l'IFN-III (*IL28Rα^{-/-}*) dans le contexte de la grippe pourrait nous permettre d'étudier leur contribution dans notre observation.

2.5 Altération dans les facteurs de différenciation des DC

2.5.1 L'altération de la DCpoïèse est associée à la diminution de la production de Flt3-L

Une explication possible au phénotype que nous observons serait une altération de la production des facteurs cruciaux pour la génération et la différenciation des progéniteurs en DC. Parmi ces facteurs, le Flt3-L est une cytokine clé dans le développement des cDC. L'ARNm de Flt3-L est exprimé dans tout le corps et de façon ubiquitaire par les cellules hématopoïétiques et non hématopoïétiques (Lyman *et al.*, 1998). Il régule la voie de génération de DC dans la MO et conduit également à la différenciation de pre-cDC en cDC matures dans les tissus périphériques (Claudia Waskow *et al.*, 2008a) (Karsunky *et al.*, 2003). Dans notre étude, nous rapportons pour la première fois une diminution de la production de Flt3-L dans la MO, le sang et les poumons des souris infectées. Ces résultats pourraient expliquer le nombre réduit de CDP et de pre-cDC dans la MO et ainsi suggérer une diminution de l'expansion des cDC dans les poumons. Nos données sont surprenantes car, selon la littérature, un défaut dans la génération des DC en conditions de stress est plutôt associé à une synthèse accrue de Flt3-L, pour compenser la chute de ces cellules et assurer une restauration des DC *in vivo* (Birnberg *et al.*, 2008) (Kristin Hochweller *et al.*, 2009) (Stella E. Autenrieth *et al.*, 2012) (Céline Eidenschenk *et al.*, 2010). En condition infectieuse, Guermonprez et ses collègues ont montré, chez la souris et l'homme, une augmentation de la production de Flt3-L ainsi une augmentation du nombre de DC, plus particulièrement des cDC1 suite à une infection parasitaire par *Plasmodium berghei* (Pierre Guermonprez *et al.*, 2013). Une augmentation similaire des taux sériques de Flt3-L par un mécanisme inconnu, a été observée à 36h d'infection par le virus LCMV avec un pic 2 jours après et un retour à la normale 3 jours après infection (C. Eidenschenk *et al.*, 2010). Cette augmentation était associée à une expansion des DC et une activation des NK.

Les pre-cDC sont les seuls progéniteurs qui quittent la MO pour terminer leur différenciation dans les tissus périphériques (Claudia Waskow *et al.*, 2008b) (F. Ginhoux *et al.*, 2009). Bien que présent de façon ubiquitaire dans tout le corps, le Flt3-L est fortement produit dans les poumons par rapport au sang ou à d'autres organes tels que la rate et la MO (Miloud *et al.*, 2012) (Lyman *et al.*, 1998). Il est possible dans notre étude que la production (et expression) réduite de Flt3-L dans les poumons interfère avec la différenciation des pre-cDC vers les cDC1 et cDC2. Ginhoux et ses collaborateurs ont précédemment rapporté que le Flt3-L était un facteur crucial pour la lignée cDC1 (F. Ginhoux *et al.*, 2009). Nous montrons que la différenciation des pre-cDC vers la lignée cDC1 est sévèrement altérée dans la MO et dans les poumons des animaux infectés par l'IAV, une observation qui pourrait être étroitement liée à la chute de Flt3-L.

2.5.2 La diminution de la production de GM-CSF pourrait interférer avec la différenciation des cDC2 dans les poumons

Le GM-CSF est un facteur de croissance crucial, qui peut agir localement au niveau des poumons et entraîne une différenciation et une expansion importante de DC pulmonaire (Bukreyev *et al.*, 2001). Bien que le Flt3-L soit produit dans le sérum à l'homéostasie, la production de GM-CSF ne devient significative que dans les cas des infections et pourrait alors conduire au développement de DC (Merad *et al.*, 2009) (Shalin H. Naik *et al.*, 2006) (Chen Varol *et al.*, 2007) (Hamilton, 2008). En plus du Flt3-L, le GM-CSF maintient principalement à l'homéostasie le pool de cDC2 dans les tissus non lymphoïdes tels les poumons (F. Ginhoux *et al.*, 2009) (Dior Kingston *et al.*, 2009) (Greter *et al.*, 2012). Lors d'une infection virale respiratoire par RSV, la production de GM-CSF dans les poumons augmente significativement et favorise la différenciation de cDC2 à partir de précurseurs pulmonaires (CD11c⁺ CMHII⁻) et l'expansion de ces cellules (Bukreyev *et al.*, 2001) (H. Wang, N. Peters, & J. Schwarze, 2006).

Nos travaux montrent que la voie de différenciation des cDC2 dans la MO, mais pas dans les poumons, des animaux infectés par le virus grippal n'est pas affectée. Cependant, l'expression du GM-CSF dans les poumons de souris infectées est diminuée, ce qui pourrait expliquer l'altération du nombre de cDC2 pulmonaires. A noter que dans notre étude, le GM-CSF est difficilement détectable dans la MO de souris. Bien que d'autres investigations soient nécessaires, nos résultats

suggèrent que le GM-CSF serait importante pour la différenciation des pre-cDC vers la lignée cDC2 dans les poumons des souris infectées.

2.5.3 Comment expliquer l'altération de la production du Flt3-L ?

Dans la littérature, aucune étude n'a décrit une diminution du pool de cDC associée à une production systémique réduite de Flt3-L lors d'une infection. L'inhibition des voies de signalisation de l'IFN de type I et de type II ne semble pas influencer la concentration de Flt3-L dans le sang. Ceci suggère donc une absence de rôle de ces cytokines dans la régulation de la production de Flt3-L au moins au niveau systémique. Une étude plus détaillée de la production de Flt3-L dans les autres tissus devrait être faite. Bien que les mécanismes sous-jacents ne soient pas connus, une apoptose / mort cellulaire accrue des cellules productrices de Flt3-L (et du GM-CSF) au cours de l'infection grippale pourrait contribuer, même partiellement, à ce phénomène. En effet, le virus de la grippe peut induire la mort cellulaire de différents types cellulaires. L'expression de Flt3-L dans les organes lymphoïdes (rate, MO, ganglions) dépend des cellules hématopoïétiques (cellules T, B, NK) (Miloud *et al.*, 2012) (Saito *et al.*, 2013) et l'IAV induit indirectement une apoptose des cellules B dans la MO (Sedger *et al.*, 2002). Dans le même ordre d'idées, les cellules non hématopoïétiques sont les principaux producteurs de Flt3-L dans les poumons (Miloud *et al.*, 2012) et l'apoptose des cellules épithéliales consécutives à une infection par IAV pourrait expliquer la diminution de Flt3-L (et GM-CSF) (Susanne Herold *et al.*, 2008) (Unkel *et al.*, 2012). Le Flt3-L peut exister sous forme soluble ou transmembranaire, et est exprimé par de nombreux types cellulaires (Lyman *et al.*, 1998) (K. Liu *et al.*, 2010). La forme transmembranaire de Flt3-L peut être clivée par une protéase pour générer une forme soluble de la protéine qui est biologiquement active (Lyman *et al.*, 1993). Ainsi la diminution de la concentration de Flt3-L détecté dans notre contexte pourrait être due à un défaut dans le clivage de la forme transmembranaire de Flt3-L induit par le virus.

3 Quelles sont les conséquences de la chute de cDC lors d'une infection par IAV?

La baisse des cDC pulmonaires au cours de l'IAV peut interférer avec des stratégies d'immunothérapie, qui pourrait permettre de lutter contre les infections secondaires. Une étude dans notre laboratoire a montré que l'administration de l' α -Galcer, un agoniste puissant des iNKT,

protège contre l'infection primaire pneumococcique via la production de l'IFN- γ et de l'IL-17 par ces cellules. Cependant, ce traitement n'est pas efficace dans le contexte d'une infection bactérienne post-grippale (Barthelemy, Ivanov, Fontaine, *et al.*, 2016). Ces résultats sont, au moins en partie, dus à la forte chute dans le nombre de cDC1 pulmonaires qui sont impliqués de façon importante dans l'activation des cellules iNKT (Stoyan Ivanov *et al.*, 2012) (Pooja Arora *et al.*, 2014). Ainsi, la déplétion dans le nombre de cDC au cours de la grippe induit une diminution dans l'activation des cellules iNKT et réduit la clairance bactérienne. Par conséquent, les stratégies qui visent à prévenir la chute des cDC dans les poumons pendant la grippe, pourraient être une option intéressante pour mieux contrôler la surinfection bactérienne.

4 Le Flt3-L dans le contexte d'*Influenza* : une nouvelle stratégie thérapeutique dans la restauration du nombre de cDC et la protection contre la surinfection bactérienne

La surexpression du Flt3-L stimule l'expansion des progéniteurs de DC et induit une augmentation du nombre de cDC - cDC1 et cDC2 - dans les tissus périphériques (Bjorck, 2001) (Karsunky *et al.*, 2003) (Maraskovsky *et al.*, 1996). L'administration de Flt3-L après une infection par *L. Monocytogenes* ou *M. tuberculosis* contribue à une expansion *in vivo* des DC. Ceci augmente la réponse spécifique de lymphocyte T CD8⁺ contre ces infections (Alaniz *et al.*, 2004). Plusieurs rapports ont mis en évidence les effets bénéfiques du transfert de DC pulmonaires, ou encore l'expansion des cDC par injection de Flt3-L, dans le contexte des infections secondaires chez des souris immunodéprimées (Pastille *et al.*, 2011) (Gregory *et al.*, 2001) (Julia Bohannon *et al.*, 2008) (Patil *et al.*, 2017) (Pène *et al.*, 2008) (Wang *et al.*, 2015) (Hundeshagen *et al.*, 2017). En utilisant un modèle murin d'infection par *P. aeruginosa* en cas de brûlure, le traitement avec Flt3-L améliore la capacité des DC à induire la clairance bactérienne en activant les neutrophiles (Bohannon *et al.*, 2010). Dans ces modèles, la restauration des cDC a amélioré la réponse immunitaire antibactérienne et/ou réduit la réponse inflammatoire et les lésions pulmonaires.

Dans un contexte d'infection respiratoire par RSV, le traitement avec Flt3-L augmente le nombre de cDC et celui des pDC pulmonaires, et protège la souris contre la pathologie induite par le virus (Smit *et al.*, 2008). Les souris nouveau-nées présentent un faible recrutement de DC dans les poumons après l'infection par le RSV. Ainsi, le traitement de ces souris par Flt3-L (i) augmente le

nombre de toutes les sous-populations de DC pulmonaires, (ii) rétablit les voies d'IFN-I et (iii) induit une activation de lymphocytes T CD8⁺ spécifiques de virus (Remot *et al.*, 2016). Durant le syndrome de défaillance multiviscérale, l'utilisation de Flt3-L peut être considérée comme une stratégie thérapeutique pour réduire les infections secondaires et les lésions tissulaires qui ciblent le poumon en compensant la chute des DC pulmonaires (H. W. Wang *et al.*, 2012). Comme cela a été montré par plusieurs études chez la souris, nous avons supposé que la restauration du nombre de cDC par l'injection de Flt3-L, pouvait lutter contre l'immunosuppression induit par le virus grippal.

Dans notre modèle, nous montrons que l'administration du plasmide codant pour Flt3-L chez des souris infectées par IAV, augmente la concentration systémique de Flt3-L et favorise la différenciation des cDC dans la MO et restaure le compartiment des cDC dans les poumons. Il est important de noter que la surexpression de Flt3-L conduit à un nombre similaire de progéniteurs de DC dans la MO indépendamment de l'infection, suggérant que Flt3-L est suffisant pour induire la DCpoïèse - principalement la voie cDC1 - chez les animaux infectés. Nous avons également observé une diminution de l'expression de récepteur de Flt3-L (CD135) par les CDP et les pre-cDC en réponse à son injection. Il peut s'agir d'un rétrocontrôle pour compenser la forte production de Flt3L ou bien le récepteur est occupé par son ligand bloquant ainsi l'accès à l'anticorps lors de l'étape de marquage en cytométrie de flux. En revanche, bien que le traitement par Flt3-L ait restauré le pool de cDC dans le poumon de souris infectées, le nombre reste inférieur à celui des animaux non infectés. Ceci suggère que Flt3-L est crucial mais qu'il existe d'autres facteurs supplémentaires, par exemple le GM-CSF, nécessaires à la restauration complète du compartiment de cDC pulmonaires. De façon intéressante, cette stratégie protège partiellement les souris infectées par l'IAV contre une infection bactérienne secondaire. Nos données montrent que la surexpression de Flt3-L au cours d'une infection grippale réduit légèrement la charge bactérienne dans les poumons. La reconstitution du pool de cDC est également associée à une réduction des lésions pulmonaires chez les souris co-infectées (alvéolite réduite) et la dissémination bactérienne systémique. Ces effets s'accompagnent d'une perte de poids corporel réduite et à une mortalité retardée. Ces résultats sont très encourageants et il serait très intéressant de voir si nous pouvons améliorer l'effet du Flt3-L. Ainsi nous pouvons proposer de nouveaux protocoles d'injection du Flt3-L afin de booster l'effet anti-bactérien dans les poumons. Il serait intéressant d'essayer

l'administration de Flt3-L sous forme d'une protéine par voie i.n afin d'avoir un effet direct dans les poumons. Nous pourrions également changer le moment de l'injection, en traitant les souris avec le plasmide ou la protéine Flt3-L après l'infection grippale.

5 Les mécanismes possibles par lesquels les cDC assurent une protection contre l'infection bactérienne post-grippale

Dans le contexte grippal, les modifications physiques et l'altération de la réponse immunitaire innée sont deux mécanismes qui entraînent la prolifération et la dissémination bactérienne. Dans le présent rapport, nous postulons que la différenciation perturbée des progéniteurs de cDC pourrait en partie expliquer l'état de l'immunosuppression post-grippale. Ainsi, nos travaux montrent que la restauration de la chute de cDC (par injection de Flt3-L) assure partiellement une protection contre les infections bactériennes post-grippale. Quels sont les mécanismes sous-jacents de cette protection ?

Nos résultats excluent un rôle de Flt3-L dans la réponse anti-virale (charge virale identique) et dans la réponse Th17, réponse importante dans la défense anti-pneumococcique. Nous suggérons plutôt un rôle de Flt-3-L dans la barrière physique des poumons. En effet, nos résultats montrent que la surexpression de Flt3-L augmente l'expression des transcrits codant pour les protéines associées aux fonctions de barrière et de réparation tissulaire (*Tjp1*, *Ocln* et *Areg*) chez les souris co-infectées. L'étude histologique montre en effet des lésions alvéolaires plus faibles après le traitement Flt3L. Pour approfondir nos travaux, il faudrait utiliser par exemple l'approche de la résistance trans-épithéliale (TEER) en mesurant la perméabilité au dextran pour voir l'effet de Flt3-L sur l'intégrité de la barrière pulmonaire. Des études antérieures ont montré que le recrutement accru des Mo Ly6C^{hi} CCR2⁺ et des moDC CCR2⁺ lors de la grippe, induit des lésions pulmonaires importantes et contribue à la colonisation bactérienne lors d'une infection secondaire (G. T. Ellis *et al.*, 2015) (S. Herold *et al.*, 2008) (S. Davidson *et al.*, 2014) (K. L. Lin *et al.*, 2008). Par conséquent, l'inhibition de leur recrutement en utilisant des souris déficientes en CCR2 (CCR2^{-/-}) et co-infectées, réduit les dommages épithéliaux et protège contre l'invasion bactérienne (G. T. Ellis *et al.*, 2015). Dans notre étude, nos résultats suggèrent que la diminution de recrutement de Mo Ly6C^{hi} CCR2⁺, mais pas les moDC CCR2⁺, suite à un traitement avec Flt3-L pourrait être à l'origine de l'effet bénéfique de ce traitement sur les lésions épithéliales et sur la

dissémination bactérienne après la grippe. Cette hypothèse a néanmoins besoin d'être confirmé. Nous pouvons ainsi suggérer que le Flt3-L n'a pas un effet, au moins dans notre contexte, sur les moDC.

Pris dans leur ensemble, nos résultats révèlent de nouveaux mécanismes menant à une modification de la génération des cDC dans le contexte de la grippe et révèlent que la diminution de la production de Flt3-L pourrait être un indicateur potentiel au risque de la susceptibilité à une infection secondaire. Notre étude met également en évidence l'effet bénéfique de l'injection de Flt3-L dans le contexte de l'infection par IAV et présente le Flt3-L comme une stratégie thérapeutique pour améliorer la réponse immunitaire antibactérienne et/ou diminué la réponse inflammatoire et les lésions pulmonaires assurant ainsi une protection contre les infections bactériennes secondaires.

Des données émergentes indiquent que des facteurs importants dans la myélopoïèse pourraient être utilisés en milieu clinique pour prévenir les infections sévères chez les personnes immunodéprimées (Prashanth K. Kandalla *et al.*, 2016). En effet, Kandalla et ses collègues ont démontré l'effet bénéfique thérapeutique du traitement au M-CSF contre une infection bactérienne avec *Pseudomonas aeruginosa* ou une infection fongique à *Aspergillus fumigatus*, après une transplantation de cellules hématopoïétiques. Ce traitement augmente la production de cellules myéloïdes matures. Nous pouvons alors suggérer que le Flt3-L pourrait être une nouvelle approche potentielle de traitement de la surinfection bactérienne dans le contexte de la grippe antérieure en engageant la myélopoïèse vers la production des DC. Dans le même contexte, la surproduction de GM-CSF restaure le nombre et la fonction des macrophages lors d'une infection grippale et protège contre les infections bactériennes secondaires (Ghoneim *et al.*, 2013). Nous supposons donc que l'administration thérapeutique de Flt3-L (cDC), en association avec d'autres facteurs de croissance tels que le GM-CSF (macrophages), pourrait représenter une approche prometteuse pour améliorer la protection contre les infections bactériennes secondaires post-grippales.

Conclusion et perspectives

En conclusion, nous avons rapporté que l'infection grippale induit une diminution transitoire des cDC pulmonaires (cDC1 et cDC2) qui coïncide avec la surinfection bactérienne. De même mon projet de thèse a permis pour la première fois de montrer que l'infection par le virus de la grippe induit une altération profonde de la DCpoïèse dans la MO, en affectant plus particulièrement la voie des cDC1, tout en favorisant la monopoïèse. De façon originale, la DCpoïèse altérée au cours de la grippe est associée à une diminution de la production de Flt3-L. De façon intéressante, nous avons rapporté que la surexpression de Flt3-L au cours de la grippe restaure la différenciation des progéniteurs de DC et le pool de cDC dans les poumons et assure une protection partielle contre la surinfection bactérienne.

Notre étude met en évidence l'effet d'une infection virale distale sur la genèse de cDC dans la MO. Ceci pourrait représenter un nouveau mécanisme immunosuppresseur induit par le virus de la grippe pour faciliter l'invasion bactérienne. Ainsi via l'administration de Flt3-L, la réponse immunitaire innée pulmonaire est renforcée.

Notre étude préclinique permet de proposer des nouvelles stratégies thérapeutiques dans le futur basées sur l'administration de Flt3-L seul ou en combinaison avec autres facteurs (comme le GM-CSF) ou avec des médicaments antibactériens conventionnels (c'est-à-dire des antibiotiques) pour protéger contre la surinfection bactérienne post-grippale.

Les résultats observés chez la souris pourraient-ils être valables chez l'homme?

Chez l'homme, les conséquences de l'infection grippale sur la myélopoïèse restent encore inconnues. Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction, la hiérarchie de la production des cDC et des monocytes chez l'homme est similaire à celle retrouvée chez la souris. Brièvement, des progéniteurs humains équivalents aux MDP, cMoP, CDP et pre-cDC (pre-cDC1 et pre-cDC2) murins ont été identifiés dans la MO et dans le sang de cordon ombilical (Gaëlle Breton *et al.*, 2015) (G. Breton *et al.*, 2015) (Kawamura *et al.*, 2017). Tout comme le modèle murin, chez l'homme, le Flt3-L est un facteur de croissance hématopoïétique qui induit la prolifération et la survie des progéniteurs hématopoïétiques primitifs, plus particulièrement les MDP, CDP et pre-cDC dans la MO, et les pre-cDC dans les tissus périphériques et engage leur développement vers la voie des DC (Claudia Waskow *et al.*, 2008a). Dans notre étude nous avons trouvé une

diminution de la détection de Flt3-L dans la MO, le sérum et les poumons des souris grippées associée à une diminution du développement et de la différenciation des cDC. Il serait donc intéressant de quantifier la concentration de Flt3-L dans les sérums des patients atteints de la grippe de type A, ce qui pourrait permettre de savoir s'il y a une perturbation dans le développement des cDC dans la MO ou même dans les poumons. Les études chez l'homme et chez la souris démontrent que l'administration de Flt3-L déclenche l'expansion des cDC et des pDC (Maraskovsky *et al.*, 1996) (Pulendran *et al.*, 1997). Chez l'homme, un essai clinique de phase I a été réalisé chez des personnes saines et a montré que l'administration de Flt3-L induit une augmentation significative dans le nombre des DC circulantes et dans le nombre des précurseurs de DC (Eugene Maraskovsky *et al.*, 2000). Si la chute de Flt3-L après une infection grippale est également observée chez l'homme, nous pouvons suggérer que la supplémentation en Flt3-L pourrait avoir un effet bénéfique dans les poumons de patients infectés, via la production de DC, et déclencher une meilleure réponse immunitaire contre le virus de la grippe et avoir des conséquences sur les infections bactériennes secondaires.

Bibliographie

- Abramson, J. S., Giebink, G. S., & Quie, P. G. (1982). Influenza A virus-induced polymorphonuclear leukocyte dysfunction in the pathogenesis of experimental pneumococcal otitis media. *Infect Immun*, *36*(1), 289-296.
- Ackermann, M., Liebhaber, S., Klusmann, J. H., & Lachmann, N. (2015). Lost in translation: pluripotent stem cell-derived hematopoiesis. *EMBO Mol Med*, *7*(11), 1388-1402. doi: 10.15252/emmm.201505301
- Ahsberg, J., Tsapogas, P., Qian, H., Zetterblad, J., Zandi, S., Mansson, R., . . . Sigvardsson, M. (2010). Interleukin-7-induced Stat-5 acts in synergy with Flt-3 signaling to stimulate expansion of hematopoietic progenitor cells. *J Biol Chem*, *285*(47), 36275-36284. doi: 10.1074/jbc.M110.155531
- Akarsu, H., Burmeister, W. P., Petosa, C., Petit, I., Muller, C. W., Ruigrok, R. W., & Baudin, F. (2003). Crystal structure of the M1 protein-binding domain of the influenza A virus nuclear export protein (NEP/NS2). *EMBO J*, *22*(18), 4646-4655. doi: 10.1093/emboj/cdg449
- Akashi, K., Traver, D., Miyamoto, T., & Weissman, I. L. (2000). A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature*, *404*, 193. doi: 10.1038/35004599
- Alaniz, R. C., Sandall, S., Thomas, E. K., & Wilson, C. B. (2004). Increased dendritic cell numbers impair protective immunity to intracellular bacteria despite augmenting antigen-specific CD8+ T lymphocyte responses. *J Immunol*, *172*(6), 3725-3735.
- Aldridge, J. R., Jr., Moseley, C. E., Boltz, D. A., Negovetich, N. J., Reynolds, C., Franks, J., . . . Thomas, P. G. (2009). TNF/iNOS-producing dendritic cells are the necessary evil of lethal influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *106*(13), 5306-5311. doi: 10.1073/pnas.0900655106
- Aldridge, J. R., Moseley, C. E., Boltz, D. A., Negovetich, N. J., Reynolds, C., Franks, J., . . . Thomas, P. G. (2009). TNF/iNOS-producing dendritic cells are the necessary evil of lethal influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *106*(13), 5306-5311. doi: 10.1073/pnas.0900655106
- Alexopoulou, L., Holt, A. C., Medzhitov, R., & Flavell, R. A. (2001). Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature*, *413*(6857), 732-738. doi: 10.1038/35099560
- Aliberti, J., Schulz, O., Pennington, D. J., Tsujimura, H., Reis e Sousa, C., Ozato, K., & Sher, A. (2003). Essential role for ICSBP in the in vivo development of murine CD8alpha + dendritic cells. *Blood*, *101*(1), 305-310. doi: 10.1182/blood-2002-04-1088
- Allen, I. C., Moore, C. B., Schneider, M., Lei, Y., Davis, B. K., Scull, M. A., . . . Ting, J. P. (2011). NLRX1 protein attenuates inflammatory responses to infection by interfering with the RIG-I-MAVS and TRAF6-NF-kappaB signaling pathways. *Immunity*, *34*(6), 854-865. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.026
- Allen, I. C., Scull, M. A., Moore, C. B., Holl, E. K., McElvania-TeKippe, E., Taxman, D. J., . . . Ting, J. P. (2009). The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA. *Immunity*, *30*(4), 556-565. doi: 10.1016/j.immuni.2009.02.005
- Amorim, M. J., Bruce, E. A., Read, E. K., Foeglein, A., Mahen, R., Stuart, A. D., & Digard, P. (2011). A Rab11- and microtubule-dependent mechanism for cytoplasmic transport of influenza A virus viral RNA. *J Virol*, *85*(9), 4143-4156. doi: 10.1128/JVI.02606-10
- Andrewes, C. H. (1939). Immunity in Influenza: The Bearing of Recent Research Work: (Section of Epidemiology and State Medicine). *Proc R Soc Med*, *32*(3), 145-152.

- Arnold, L., Henry, A., Poron, F., Baba-Amer, Y., van Rooijen, N., Plonquet, A., . . . Chazaud, B. (2007). Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *J Exp Med*, *204*(5), 1057-1069. doi: 10.1084/jem.20070075
- Arnon, T. I., Achdout, H., Lieberman, N., Gazit, R., Gonen-Gross, T., Katz, G., . . . Mandelboim, O. (2004). The mechanisms controlling the recognition of tumor- and virus-infected cells by NKp46. *Blood*, *103*(2), 664-672. doi: 10.1182/blood-2003-05-1716
- Arnon, T. I., Lev, M., Katz, G., Chernobrov, Y., Porgador, A., & Mandelboim, O. (2001). Recognition of viral hemagglutinins by NKp44 but not by NKp30. *Eur J Immunol*, *31*(9), 2680-2689. doi: 10.1002/1521-4141(200109)31:9<2680::AID-IMMU2680>3.0.CO;2-A
- Arora, P., Baena, A., Yu, Karl O., Saini, Neeraj K., Kharkwal, Shalu S., Goldberg, Michael F., . . . Porcelli, Steven A. (2014). A Single Subset of Dendritic Cells Controls the Cytokine Bias of Natural Killer T Cell Responses to Diverse Glycolipid Antigens. *Immunity*, *40*(1), 105-116. doi: 10.1016/j.immuni.2013.12.004
- Arora, P., Baena, A., Yu, K. O., Saini, N. K., Kharkwal, S. S., Goldberg, M. F., . . . Porcelli, S. A. (2014). A single subset of dendritic cells controls the cytokine bias of natural killer T cell responses to diverse glycolipid antigens. *Immunity*, *40*(1), 105-116. doi: 10.1016/j.immuni.2013.12.004
- Askenase, M. H., Han, S. J., Byrd, A. L., Morais da Fonseca, D., Bouladoux, N., Wilhelm, C., . . . Belkaid, Y. (2015). Bone-Marrow-Resident NK Cells Prime Monocytes for Regulatory Function during Infection. *Immunity*, *42*(6), 1130-1142. doi: 10.1016/j.immuni.2015.05.011
- Asselin-Paturel, C., Boonstra, A., Dalod, M., Durand, I., Yessaad, N., Dezutter-Dambuyant, C., . . . Trinchieri, G. (2001). Mouse type I IFN-producing cells are immature APCs with plasmacytoid morphology. *Nat Immunol*, *2*(12), 1144-1150. doi: 10.1038/ni736
- Auffray, C., Fogg, D., Garfa, M., Elain, G., Join-Lambert, O., Kayal, S., . . . Geissmann, F. (2007). Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science*, *317*(5838), 666-670. doi: 10.1126/science.1142883
- Autenrieth, S. E., Warnke, P., Wabnitz, G. H., Lucero Estrada, C., Pasquevich, K. A., Drechsler, D., . . . Autenrieth, I. B. (2012). Depletion of dendritic cells enhances innate anti-bacterial host defense through modulation of phagocyte homeostasis. *PLoS Pathog*, *8*(2), e1002552. doi: 10.1371/journal.ppat.1002552
- Autenrieth, S. E., Warnke, P., Wabnitz, G. H., Lucero Estrada, C., Pasquevich, K. A., Drechsler, D., . . . Autenrieth, I. B. (2012). Depletion of Dendritic Cells Enhances Innate Anti-Bacterial Host Defense through Modulation of Phagocyte Homeostasis. *PLoS Pathogens*, *8*(2), e1002552. doi: 10.1371/journal.ppat.1002552
- Avalos, B. R. (1996). Molecular analysis of the granulocyte colony-stimulating factor receptor. *Blood*, *88*(3), 761-777.
- Bachem, A., Guttler, S., Hartung, E., Ebstein, F., Schaefer, M., Tannert, A., . . . Kroczeck, R. A. (2010). Superior antigen cross-presentation and XCR1 expression define human CD11c+CD141+ cells as homologues of mouse CD8+ dendritic cells. *J Exp Med*, *207*(6), 1273-1281. doi: 10.1084/jem.20100348
- Ballesteros-Tato, A., Leon, B., Lund, F. E., & Randall, T. D. (2010). Temporal changes in dendritic cell subsets, cross-priming and costimulation via CD70 control CD8(+) T cell responses to influenza. *Nat Immunol*, *11*(3), 216-224. doi: 10.1038/ni.1838

- Ballesteros-Tato, A., León, B., Lund, F. E., & Randall, T. D. (2010). Temporal changes in dendritic cell subsets, cross-priming and costimulation via CD70 control CD8(+) T cell responses to influenza. *Nat Immunol*, *11*(3), 216-224. doi: 10.1038/ni.1838
- Ballinger, M. N., & Standiford, T. J. (2010). Postinfluenza bacterial pneumonia: host defenses gone awry. *J Interferon Cytokine Res*, *30*(9), 643-652. doi: 10.1089/jir.2010.0049
- Banchereau, J., & Steinman, R. M. (1998). Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, *392*(6673), 245-252. doi: 10.1038/32588
- Barchet, W., Cella, M., & Colonna, M. (2005). Plasmacytoid dendritic cells--virus experts of innate immunity. *Semin Immunol*, *17*(4), 253-261. doi: 10.1016/j.smim.2005.05.008
- Barthelemy, A., Ivanov, S., Fontaine, J., Soulard, D., Bouabe, H., Paget, C., . . . Trottein, F. (2016). Influenza A virus-induced release of interleukin-10 inhibits the anti-microbial activities of invariant natural killer T cells during invasive pneumococcal superinfection. *Mucosal Immunol*. doi: 10.1038/mi.2016.49
- Barthelemy, A., Ivanov, S., Fontaine, J., Soulard, D., Bouabe, H., Paget, C., . . . Trottein, F. (2017). Influenza A virus-induced release of interleukin-10 inhibits the anti-microbial activities of invariant natural killer T cells during invasive pneumococcal superinfection. *Mucosal Immunol*, *10*(2), 460-469. doi: 10.1038/mi.2016.49
- Barthelemy, A., Ivanov, S., Hassane, M., Fontaine, J., Heurtault, B., Frisch, B., . . . Trottein, F. (2016). Exogenous Activation of Invariant Natural Killer T Cells by alpha-Galactosylceramide Reduces Pneumococcal Outgrowth and Dissemination Postinfluenza. *MBio*, *7*(6). doi: 10.1128/mBio.01440-16
- Baum, A., Sachidanandam, R., & Garcia-Sastre, A. (2010). Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(37), 16303-16308. doi: 10.1073/pnas.1005077107
- Beatty, S. R., Rose, C. E., Jr., & Sung, S. S. (2007). Diverse and potent chemokine production by lung CD11bhigh dendritic cells in homeostasis and in allergic lung inflammation. *J Immunol*, *178*(3), 1882-1895.
- Beli, E., Clinthorne, J. F., Duriancik, D. M., Hwang, I., Kim, S., & Gardner, E. M. (2011). Natural killer cell function is altered during the primary response of aged mice to influenza infection. *Mech Ageing Dev*, *132*(10), 503-510. doi: 10.1016/j.mad.2011.08.005
- Belz, G. T., & Nutt, S. L. (2012). Transcriptional programming of the dendritic cell network. *Nat Rev Immunol*, *12*(2), 101-113. doi: 10.1038/nri3149
- Belz, G. T., Smith, C. M., Kleinert, L., Reading, P., Brooks, A., Shortman, K., . . . Heath, W. R. (2004). Distinct migrating and nonmigrating dendritic cell populations are involved in MHC class I-restricted antigen presentation after lung infection with virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(23), 8670-8675. doi: 10.1073/pnas.0402644101
- Benjamim, C. F., Lundy, S. K., Lukacs, N. W., Hogaboam, C. M., & Kunkel, S. L. (2005). Reversal of long-term sepsis-induced immunosuppression by dendritic cells. *Blood*, *105*(9), 3588-3595. doi: 10.1182/blood-2004-08-3251
- Benjamim, C. F., Lundy, S. K., Lukacs, N. W., Hogaboam, C. M., & Kunkel, S. L. (2005). Reversal of long-term sepsis-induced immunosuppression by dendritic cells. *Blood*, *105*(9), 3588-3595. doi: 10.1182/blood-2004-08-3251
- Beurel, E., & Jope, R. S. (2009). Lipopolysaccharide-induced interleukin-6 production is controlled by glycogen synthase kinase-3 and STAT3 in the brain. *Journal of Neuroinflammation*, *6*(1), 9. doi: 10.1186/1742-2094-6-9

- Bevan, M. J. (1976). Cross-priming for a secondary cytotoxic response to minor H antigens with H-2 congenic cells which do not cross-react in the cytotoxic assay. *J Exp Med*, 143(5), 1283-1288.
- Bigley, V., Haniffa, M., Doulatov, S., Wang, X.-N., Dickinson, R., McGovern, N., . . . Collin, M. (2011). The human syndrome of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. *J Exp Med*, 208(2), 227-234. doi: 10.1084/jem.20101459
- Binder, D., Fehr, J., Hengartner, H., & Zinkernagel, R. M. (1997). Virus-induced Transient Bone Marrow Aplasia: Major Role of Interferon- α/β during Acute Infection with the Noncytopathic Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *J Exp Med*, 185(3), 517-530.
- Birnberg, T., Bar-On, L., Sapozhnikov, A., Caton, M. L., Cervantes-Barragan, L., Makia, D., . . . Jung, S. (2008). Lack of conventional dendritic cells is compatible with normal development and T cell homeostasis, but causes myeloid proliferative syndrome. *Immunity*, 29(6), 986-997. doi: 10.1016/j.immuni.2008.10.012
- Bjorck, P. (2001). Isolation and characterization of plasmacytoid dendritic cells from Flt3 ligand and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-treated mice. *Blood*, 98(13), 3520-3526.
- Blevins, L. K., Wren, J. T., Holbrook, B. C., Hayward, S. L., Swords, W. E., Parks, G. D., & Alexander-Miller, M. A. (2014). Coinfection with *Streptococcus pneumoniae* Negatively Modulates the Size and Composition of the Ongoing Influenza-Specific CD8⁺ T Cell Response. *The Journal of Immunology*. doi: 10.4049/jimmunol.1400529
- Boettcher, S., Gerosa, R. C., Radpour, R., Bauer, J., Ampenberger, F., Heikenwalder, M., . . . Manz, M. G. (2014). Endothelial cells translate pathogen signals into G-CSF-driven emergency granulopoiesis. *Blood*, 124(9), 1393-1403. doi: 10.1182/blood-2014-04-570762
- Bogunovic, M., Ginhoux, F., Helft, J., Shang, L., Hashimoto, D., Greter, M., . . . Merad, M. (2009). Origin of the lamina propria dendritic cell network. *Immunity*, 31(3), 513-525. doi: 10.1016/j.immuni.2009.08.010
- Bohannon, J., Cui, W., Cox, R., Przkora, R., Sherwood, E., & Toliver-Kinsky, T. (2008). Prophylactic Treatment with Fms-Like Tyrosine Kinase-3 Ligand after Burn Injury Enhances Global Immune Responses to Infection. *The Journal of Immunology*, 180(5), 3038-3048. doi: 10.4049/jimmunol.180.5.3038
- Bohannon, J., Cui, W., Cox, R., Przkora, R., Sherwood, E., & Toliver-Kinsky, T. (2008). Prophylactic treatment with fms-like tyrosine kinase-3 ligand after burn injury enhances global immune responses to infection. *J Immunol*, 180(5), 3038-3048.
- Bohannon, J., Cui, W., Sherwood, E., & Toliver-Kinsky, T. (2010). Dendritic cell modification of neutrophil responses to infection after burn injury. *J Immunol*, 185(5), 2847-2853. doi: 10.4049/jimmunol.0903619
- Boivin, S., Cusack, S., Ruigrok, R. W., & Hart, D. J. (2010). Influenza A virus polymerase: structural insights into replication and host adaptation mechanisms. *J Biol Chem*, 285(37), 28411-28417. doi: 10.1074/jbc.R110.117531
- Boulo, S., Akarsu, H., Ruigrok, R. W., & Baudin, F. (2007). Nuclear traffic of influenza virus proteins and ribonucleoprotein complexes. *Virus Res*, 124(1-2), 12-21. doi: 10.1016/j.virusres.2006.09.013
- Bouvier, N. M., & Palese, P. (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 26 Suppl 4, D49-53.

- Bouzar, A. B., & Willems, L. (2008). How HTLV-1 may subvert miRNAs for persistence and transformation. *Retrovirology*, *5*(1), 101. doi: 10.1186/1742-4690-5-101
- Braciale, T. J., Sun, J., & Kim, T. S. (2012). Regulating the adaptive immune response to respiratory virus infection. *Nat Rev Immunol*, *12*(4), 295-305. doi: 10.1038/nri3166
- Brasel, K., De Smedt, T., Smith, J. L., & Maliszewski, C. R. (2000). Generation of murine dendritic cells from flt3-ligand-supplemented bone marrow cultures. *Blood*, *96*(9), 3029-3039.
- Breslow-Deckman, J. M., Mattingly, C. M., Birket, S. E., Hoskins, S. N., Ho, T. N., Garvy, B. A., & Feola, D. J. (2013). Linezolid decreases susceptibility to secondary bacterial pneumonia postinfluenza infection in mice through its effects on IFN-gamma. *J Immunol*, *191*(4), 1792-1799. doi: 10.4049/jimmunol.1300180
- Breton, G., Lee, J., Liu, K., & Nussenzweig, M. C. (2015). Defining human dendritic cell progenitors by multiparametric flow cytometry. *Nat Protoc*, *10*(9), 1407-1422. doi: 10.1038/nprot.2015.092
- Breton, G., Lee, J., Zhou, Y. J., Schreiber, J. J., Keler, T., Pühr, S., . . . Nussenzweig, M. C. (2015). Circulating precursors of human CD1c(+) and CD141(+) dendritic cells. *J Exp Med*, *212*(3), 401-413. doi: 10.1084/jem.20141441
- Breton, G., Zheng, S., Valieris, R., Tojal da Silva, I., Satija, R., & Nussenzweig, M. C. (2016). Human dendritic cells (DCs) are derived from distinct circulating precursors that are precommitted to become CD1c(+) or CD141(+) DCs. *J Exp Med*, *213*(13), 2861-2870. doi: 10.1084/jem.20161135
- Bridges, C. B., Kuehnert, M. J., & Hall, C. B. (2003). Transmission of influenza: implications for control in health care settings. *Clin Infect Dis*, *37*(8), 1094-1101. doi: 10.1086/378292
- Brincks, E. L., Katewa, A., Kucaba, T. A., Griffith, T. S., & Legge, K. L. (2008). CD8 T cells utilize TRAIL to control influenza virus infection. *J Immunol*, *181*(7), 4918-4925.
- Briseño, C. G., Gargaro, M., Durai, V., Davidson, J. T., Theisen, D. J., Anderson, D. A., . . . Murphy, K. M. (2017). Deficiency of transcription factor RelB perturbs myeloid and DC development by hematopoietic-extrinsic mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *114*(15), 3957-3962. doi: 10.1073/pnas.1619863114
- Brogden, K. A. (2005). Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol*, *3*(3), 238-250. doi: 10.1038/nrmicro1098
- Brooke, C. B., Ince, W. L., Wrammert, J., Ahmed, R., Wilson, P. C., Bennink, J. R., & Yewdell, J. W. (2013). Most Influenza A Virions Fail To Express at Least One Essential Viral Protein. *J Virol*, *87*(6), 3155-3162. doi: 10.1128/jvi.02284-12
- Bryder, D., Rossi, D. J., & Weissman, I. L. (2006). Hematopoietic stem cells: the paradigmatic tissue-specific stem cell. *Am J Pathol*, *169*(2), 338-346. doi: 10.2353/ajpath.2006.060312
- Buechler, M. B., Teal, T. H., Elkon, K. B., & Hamerman, J. A. (2013). Cutting edge: Type I IFN drives emergency myelopoiesis and peripheral myeloid expansion during chronic TLR7 signaling. *J Immunol*, *190*(3), 886-891. doi: 10.4049/jimmunol.1202739
- Bukreyev, A., Belyakov, I. M., Berzofsky, J. A., Murphy, B. R., & Collins, P. L. (2001). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expressed by recombinant respiratory syncytial virus attenuates viral replication and increases the level of pulmonary antigen-presenting cells. *J Virol*, *75*(24), 12128-12140. doi: 10.1128/JVI.75.24.12128-12140.2001
- Bursch, L. S., Wang, L., Igyarto, B., Kissenpfennig, A., Malissen, B., Kaplan, D. H., & Hogquist, K. A. (2007). Identification of a novel population of Langerin+ dendritic cells. *J Exp Med*, *204*(13), 3147-3156. doi: 10.1084/jem.20071966

- Califano, D., Furuya, Y., & Metzger, D. W. (2018). Effects of Influenza on Alveolar Macrophage Viability Are Dependent on Mouse Genetic Strain. *J Immunol*, *201*(1), 134-144. doi: 10.4049/jimmunol.1701406
- Califano, D., Furuya, Y., & Metzger, D. W. (2018). Effects of Influenza on Alveolar Macrophage Viability Are Dependent on Mouse Genetic Strain. *The Journal of Immunology*. doi: 10.4049/jimmunol.1701406
- Caminschi, I., Ahmet, F., Heger, K., Brady, J., Nutt, S. L., Vremec, D., . . . Shortman, K. (2007). Putative IKDCs are functionally and developmentally similar to natural killer cells, but not to dendritic cells. *J Exp Med*, *204*(11), 2579-2590. doi: 10.1084/jem.20071351
- Campbell, D. J., & Koch, M. A. (2011). Phenotypical and functional specialization of FOXP3+ regulatory T cells. *Nat Rev Immunol*, *11*(2), 119-130. doi: 10.1038/nri2916
- Cao, J., Wang, D., Xu, F., Gong, Y., Wang, H., Song, Z., . . . Yin, Y. (2014). Activation of IL-27 signalling promotes development of postinfluenza pneumococcal pneumonia. *EMBO Mol Med*, *6*(1), 120-140. doi: 10.1002/emmm.201302890
- Cao, W., Taylor, A. K., Biber, R. E., Davis, W. G., Kim, J. H., Reber, A. J., . . . Sambhara, S. (2012). Rapid Differentiation of Monocytes into Type I IFN-Producing Myeloid Dendritic Cells as an Antiviral Strategy against Influenza Virus Infection. *The Journal of Immunology*, *189*(5), 2257-2265. doi: 10.4049/jimmunol.1200168
- Carlin, Leo M., Stamatiades, Efsthios G., Auffray, C., Hanna, Richard N., Glover, L., Vizcay-Barrena, G., . . . Geissmann, F. (2013). Nr4a1-Dependent Ly6C(low) Monocytes Monitor Endothelial Cells and Orchestrate Their Disposal. *Cell*, *153*(2), 362-375. doi: 10.1016/j.cell.2013.03.010
- Carrero, J. A. (2013). Confounding roles for type I interferons during bacterial and viral pathogenesis. *Int Immunol*, *25*(12), 663-669. doi: 10.1093/intimm/dxt050
- Caton, M. L., Smith-Raska, M. R., & Reizis, B. (2007). Notch-RBP-J signaling controls the homeostasis of CD8- dendritic cells in the spleen. *J Exp Med*, *204*(7), 1653-1664. doi: 10.1084/jem.20062648
- Cauley, L. S., & Vella, A. T. (2015). Why is coinfection with influenza virus and bacteria so difficult to control? *Discov Med*, *19*(102), 33-40.
- Caux, C., Dezutter-Dambuyant, C., Schmitt, D., & Banchereau, J. (1992). GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. *Nature*, *360*(6401), 258-261. doi: 10.1038/360258a0
- Cebon, J., Layton, J. E., Maher, D., & Morstyn, G. (1994). Endogenous haemopoietic growth factors in neutropenia and infection. *Br J Haematol*, *86*(2), 265-274.
- Cella, M., Jarrossay, D., Facchetti, F., Alebardi, O., Nakajima, H., Lanzavecchia, A., & Colonna, M. (1999). Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon. *Nat Med*, *5*(8), 919-923. doi: 10.1038/11360
- Cerwenka, A., Morgan, T. M., Harmsen, A. G., & Dutton, R. W. (1999). Migration kinetics and final destination of type 1 and type 2 CD8 effector cells predict protection against pulmonary virus infection. *J Exp Med*, *189*(2), 423-434.
- Chan, C. W., Crafton, E., Fan, H.-N., Flook, J., Yoshimura, K., Skarica, M., . . . Housseau, F. (2006). Interferon-producing killer dendritic cells provide a link between innate and adaptive immunity. *Nat Med*, *12*, 207. doi: 10.1038/nm1352

<https://www.nature.com/articles/nm1352#supplementary-information>

- Cheers, C., Haigh, A. M., Kelso, A., Metcalf, D., Stanley, E. R., & Young, A. M. (1988). Production of colony-stimulating factors (CSFs) during infection: separate determinations of macrophage-, granulocyte-, granulocyte-macrophage-, and multi-CSFs. *Infect Immun*, *56*(1), 247-251.
- Chen, I. Y., & Ichinohe, T. (2015). Response of host inflammasomes to viral infection. *Trends Microbiol*, *23*(1), 55-63. doi: 10.1016/j.tim.2014.09.007
- Chen, J., Schlitzer, A., Chakarov, S., Ginhoux, F., & Poidinger, M. (2016). Mpath maps multi-branching single-cell trajectories revealing progenitor cell progression during development. *Nat Commun*, *7*, 11988. doi: 10.1038/ncomms11988
- Chen, J. M., Sun, Y. X., Chen, J. W., Liu, S., Yu, J. M., Shen, C. J., . . . Peng, D. (2009). Panorama phylogenetic diversity and distribution of type A influenza viruses based on their six internal gene sequences. *Virology*, *6*, 137. doi: 10.1186/1743-422X-6-137
- Chen, Y., Stewart, P., Dales, R., Johansen, H., Bryan, S., & Taylor, G. (2005). In a retrospective study of chronic obstructive pulmonary disease inpatients, respiratory comorbidities were significantly associated with prognosis. *J Clin Epidemiol*, *58*(11), 1199-1205. doi: 10.1016/j.jclinepi.2005.03.010
- Cheung, C. Y., Poon, L. L. M., Lau, A. S., Luk, W., Lau, Y. L., Shortridge, K. F., . . . Peiris, J. S. M. (2002). Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? *The Lancet*, *360*(9348), 1831-1837. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11772-7
- Chiba, Y., Mizoguchi, I., Hasegawa, H., Ohashi, M., Orii, N., Nagai, T., . . . Yoshimoto, T. (2017). Regulation of myelopoiesis by proinflammatory cytokines in infectious diseases. *Cell Mol Life Sci*. doi: 10.1007/s00018-017-2724-5
- Chisaka, H., Morita, E., Yaegashi, N., & Sugamura, K. (2003). Parvovirus B19 and the pathogenesis of anaemia. *Rev Med Virol*, *13*(6), 347-359. doi: 10.1002/rmv.395
- Chow, J., Franz, K. M., & Kagan, J. C. (2015). PRRs are watching you: Localization of innate sensing and signaling regulators. *Virology*, *479-480*, 104-109. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.051
- Chow, K. V., Sutherland, R. M., Zhan, Y., & Lew, A. M. (2017). Heterogeneity, functional specialization and differentiation of monocyte-derived dendritic cells. *Immunol Cell Biol*, *95*(3), 244-251. doi: 10.1038/icb.2016.104
- Cisse, B., Caton, M. L., Lehner, M., Maeda, T., Scheu, S., Locksley, R., . . . Reizis, B. (2008). Transcription factor E2-2 is an essential and specific regulator of plasmacytoid dendritic cell development. *Cell*, *135*(1), 37-48. doi: 10.1016/j.cell.2008.09.016
- Clarke, T. B. (2014). Microbial Programming of Systemic Innate Immunity and Resistance to Infection. *PLoS Pathog*, *10*(12), e1004506. doi: 10.1371/journal.ppat.1004506
- Colamussi, M. L., White, M. R., Crouch, E., & Hartshorn, K. L. (1999). Influenza A virus accelerates neutrophil apoptosis and markedly potentiates apoptotic effects of bacteria. *Blood*, *93*(7), 2395-2403.
- Coulombe, F., Fiola, S., Akira, S., Cormier, Y., & Gosselin, J. (2012). Muramyl dipeptide induces NOD2-dependent Ly6C(high) monocyte recruitment to the lungs and protects against influenza virus infection. *PLoS One*, *7*(5), e36734. doi: 10.1371/journal.pone.0036734
- Crispo, M., Van Maele, L., Tabareau, J., Cayet, D., Errea, A., Ferreira, A. M., . . . Sirard, J. C. (2013). Transgenic mouse model harboring the transcriptional fusion ccl20-luciferase as a novel reporter of pro-inflammatory response. *PLoS One*, *8*(11), e78447. doi: 10.1371/journal.pone.0078447

- Crowe, C. R., Chen, K., Pociask, D. A., Alcorn, J. F., Krivich, C., Enelow, R. I., . . . Kolls, J. K. (2009). Critical role of IL-17RA in immunopathology of influenza infection. *J Immunol*, *183*(8), 5301-5310. doi: 10.4049/jimmunol.0900995
- Crowley, M., Inaba, K., Witmer-Pack, M., & Steinman, R. M. (1989). The cell surface of mouse dendritic cells: FACS analyses of dendritic cells from different tissues including thymus. *Cell Immunol*, *118*(1), 108-125.
- Crozat, K., Guiton, R., Contreras, V., Feuillet, V., Dutertre, C. A., Ventre, E., . . . Dalod, M. (2010). The XC chemokine receptor 1 is a conserved selective marker of mammalian cells homologous to mouse CD8alpha+ dendritic cells. *J Exp Med*, *207*(6), 1283-1292. doi: 10.1084/jem.20100223
- Cruz, J. L., Perez-Giron, J. V., Ludtke, A., Gomez-Medina, S., Ruibal, P., Idoyaga, J., & Munoz-Fontela, C. (2017). Monocyte-derived dendritic cells enhance protection against secondary influenza challenge by controlling the switch in CD8(+) T-cell immunodominance. *Eur J Immunol*, *47*(2), 345-352. doi: 10.1002/eji.201646523
- Cruz, J. L. G., Pérez-Girón, J. V., Lüdtke, A., Gómez-Medina, S., Ruibal, P., Idoyaga, J., & Muñoz-Fontela, C. (2017). Monocyte-derived dendritic cells enhance protection against secondary influenza challenge by controlling the switch in CD8(+) T-cell immunodominance. *Eur J Immunol*, *47*(2), 345-352. doi: 10.1002/eji.201646523
- Czarniecki, C. W., & Sonnenfeld, G. (1993). Interferon-gamma and resistance to bacterial infections. *APMIS*, *101*(1), 1-17.
- Dai, X.-M., Ryan, G. R., Hapel, A. J., Dominguez, M. G., Russell, R. G., Kapp, S., . . . Stanley, E. R. (2002). Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects. *Blood*, *99*(1), 111-120. doi: 10.1182/blood.V99.1.111
- Damjanovic, D., Divangahi, M., Kugathasan, K., Small, C. L., Zganiacz, A., Brown, E. G., . . . Xing, Z. (2011). Negative regulation of lung inflammation and immunopathology by TNF-alpha during acute influenza infection. *Am J Pathol*, *179*(6), 2963-2976. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.09.003
- Damjanovic, D., Lai, R., Jeyanathan, M., Hogaboam, C. M., & Xing, Z. (2013). Marked Improvement of Severe Lung Immunopathology by Influenza-Associated Pneumococcal Superinfection Requires the Control of Both Bacterial Replication and Host Immune Responses. *Am J Pathol*, *183*(3), 868-880. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.05.016>
- Davey, G. M., Wojtasiak, M., Proietto, A. I., Carbone, F. R., Heath, W. R., & Bedoui, S. (2010). Cutting edge: priming of CD8 T cell immunity to herpes simplex virus type 1 requires cognate TLR3 expression in vivo. *J Immunol*, *184*(5), 2243-2246. doi: 10.4049/jimmunol.0903013
- Davidson, D. J., Currie, A. J., Reid, G. S., Bowdish, D. M., MacDonald, K. L., Ma, R. C., . . . Speert, D. P. (2004). The cationic antimicrobial peptide LL-37 modulates dendritic cell differentiation and dendritic cell-induced T cell polarization. *J Immunol*, *172*(2), 1146-1156.
- Davidson, S., Crotta, S., McCabe, T. M., & Wack, A. (2014). Pathogenic potential of interferon alphabeta in acute influenza infection. *Nat Commun*, *5*, 3864. doi: 10.1038/ncomms4864

- Dawson, T. C., Beck, M. A., Kuziel, W. A., Henderson, F., & Maeda, N. (2000). Contrasting effects of CCR5 and CCR2 deficiency in the pulmonary inflammatory response to influenza A virus. *Am J Pathol*, *156*(6), 1951-1959. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65068-7
- de Bruin, A. M., Libregts, S. F., Valkhof, M., Boon, L., Touw, I. P., & Nolte, M. A. (2012). IFN γ induces monopoiesis and inhibits neutrophil development during inflammation. *Blood*, *119*(6), 1543-1554. doi: 10.1182/blood-2011-07-367706
- De Kler, I., Willems, F., Lambrecht, B., & Goriely, S. (2014). Ontogeny of myeloid cells. *Front Immunol*, *5*, 423. doi: 10.3389/fimmu.2014.00423
- De Luca, K., Frances-Duvert, V., Asensio, M. J., Ihsani, R., Debien, E., Taillardet, M., . . . Defrance, T. (2009). The TLR1/2 agonist PAM3CSK4 instructs commitment of human hematopoietic stem cells to a myeloid cell fate. *Leukemia*, *23*, 2063. doi: 10.1038/leu.2009.155
- <https://www.nature.com/articles/leu2009155#supplementary-information>
- De Santo, C., Salio, M., Masri, S. H., Lee, L. Y., Dong, T., Speak, A. O., . . . Cerundolo, V. (2008). Invariant NKT cells reduce the immunosuppressive activity of influenza A virus-induced myeloid-derived suppressor cells in mice and humans. *J Clin Invest*, *118*(12), 4036-4048. doi: 10.1172/JCI36264
- DeKoter, R. P., Walsh, J. C., & Singh, H. (1998). PU.1 regulates both cytokine-dependent proliferation and differentiation of granulocyte/macrophage progenitors. *EMBO J*, *17*(15), 4456-4468. doi: 10.1093/emboj/17.15.4456
- del Rio, M.-L., Rodriguez-Barbosa, J.-I., Kremmer, E., & Förster, R. (2007). CD103⁻ and CD103⁺ Bronchial Lymph Node Dendritic Cells Are Specialized in Presenting and Cross-Presenting Innocuous Antigen to CD4⁺ and CD8⁺ T Cells. *The Journal of Immunology*, *178*(11), 6861-6866. doi: 10.4049/jimmunol.178.11.6861
- del Rio, M. L., Rodriguez-Barbosa, J. I., Kremmer, E., & Forster, R. (2007). CD103- and CD103+ bronchial lymph node dendritic cells are specialized in presenting and cross-presenting innocuous antigen to CD4+ and CD8+ T cells. *J Immunol*, *178*(11), 6861-6866.
- Dela Cruz, C. S., & Wunderink, R. G. (2017). Respiratory Viral and Atypical Pneumonias. *Clin Chest Med*, *38*(1), xiii-xiv. doi: 10.1016/j.ccm.2016.12.001
- den Haan, J. M., Lehar, S. M., & Bevan, M. J. (2000). CD8(+) but not CD8(-) dendritic cells cross-prime cytotoxic T cells in vivo. *J Exp Med*, *192*(12), 1685-1696.
- Desch, A. N., Randolph, G. J., Murphy, K., Gautier, E. L., Kedl, R. M., Lahoud, M. H., . . . Jakubzick, C. V. (2011). CD103+ pulmonary dendritic cells preferentially acquire and present apoptotic cell-associated antigen. *J Exp Med*, *208*(9), 1789-1797. doi: 10.1084/jem.20110538
- Diamond, G., Beckloff, N., Weinberg, A., & Kisich, K. O. (2009). The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Curr Pharm Des*, *15*(21), 2377-2392.
- Didierlaurent, A., Goulding, J., Patel, S., Snelgrove, R., Low, L., Bebien, M., . . . Hussell, T. (2008). Sustained desensitization to bacterial Toll-like receptor ligands after resolution of respiratory influenza infection. *J Exp Med*, *205*(2), 323-329. doi: 10.1084/jem.20070891
- Diebold, S. S., Kaisho, T., Hemmi, H., Akira, S., & Reis e Sousa, C. (2004). Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*, *303*(5663), 1529-1531. doi: 10.1126/science.1093616

- Dieu, M. C., Vanbervliet, B., Vicari, A., Bridon, J. M., Oldham, E., Ait-Yahia, S., . . . Caux, C. (1998). Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites. *J Exp Med*, *188*(2), 373-386.
- Diveu, C., McGeachy, M. J., Boniface, K., Stumhofer, J. S., Sathe, M., Joyce-Shaikh, B., . . . Kastelein, R. A. (2009). IL-27 blocks RORc expression to inhibit lineage commitment of Th17 cells. *J Immunol*, *182*(9), 5748-5756. doi: 10.4049/jimmunol.0801162
- Dixit, E., & Kagan, J. C. (2013). Intracellular pathogen detection by RIG-I-like receptors. *Adv Immunol*, *117*, 99-125. doi: 10.1016/B978-0-12-410524-9.00004-9
- Dolfi, D. V., Duttagupta, P. A., Boesteanu, A. C., Mueller, Y. M., Oliai, C. H., Borowski, A. B., & Katsikis, P. D. (2011). Dendritic Cells and CD28 Costimulation Are Required To Sustain Virus-Specific CD8⁺ T Cell Responses during the Effector Phase In Vivo. *The Journal of Immunology*, *186*(8), 4599-4608. doi: 10.4049/jimmunol.1001972
- Dorner, B. G., Dorner, M. B., Zhou, X., Opitz, C., Mora, A., Guttler, S., . . . Kroczeck, R. A. (2009). Selective expression of the chemokine receptor XCR1 on cross-presenting dendritic cells determines cooperation with CD8⁺ T cells. *Immunity*, *31*(5), 823-833. doi: 10.1016/j.immuni.2009.08.027
- Douglass, T. G., Driggers, L., Zhang, J. G., Hoa, N., Delgado, C., Williams, C. C., . . . Jadus, M. R. (2008). Macrophage colony stimulating factor: Not just for macrophages anymore! A gateway into complex biologies. *International Immunopharmacology*, *8*(10), 1354-1376. doi: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.04.016>
- Drevets, D. A., Schawang, J. E., Mandava, V. K., Dillon, M. J., & Leenen, P. J. (2010). Severe *Listeria monocytogenes* infection induces development of monocytes with distinct phenotypic and functional features. *J Immunol*, *185*(4), 2432-2441. doi: 10.4049/jimmunol.1000486
- Dubois, C. M., Neta, R., Keller, J. R., Jacobsen, S. E., Oppenheim, J. J., & Ruscetti, F. (1993). Hematopoietic growth factors and glucocorticoids synergize to mimic the effects of IL-1 on granulocyte differentiation and IL-1 receptor induction on bone marrow cells in vivo. *Exp Hematol*, *21*(2), 303-310.
- Edwards, A. D., Diebold, S. S., Slack, E. M., Tomizawa, H., Hemmi, H., Kaisho, T., . . . Reis e Sousa, C. (2003). Toll-like receptor expression in murine DC subsets: lack of TLR7 expression by CD8⁺ DC correlates with unresponsiveness to imidazoquinolines. *Eur J Immunol*, *33*(4), 827-833. doi: 10.1002/eji.200323797
- Edwards, A. D., Diebold, S. S., Slack, E. M. C., Tomizawa, H., Hemmi, H., Kaisho, T., . . . Sousa, C. R. e. (2003). Toll-like receptor expression in murine DC subsets: lack of TLR7 expression by CD8⁺ DC correlates with unresponsiveness to imidazoquinolines. *Eur J Immunol*, *33*(4), 827-833. doi: doi:10.1002/eji.200323797
- Eggesbo, J. B., Hjermann, I., Hostmark, A. T., & Kierulf, P. (1996). LPS induced release of IL-1 beta, IL-6, IL-8 and TNF-alpha in EDTA or heparin anticoagulated whole blood from persons with high or low levels of serum HDL. *Cytokine*, *8*(2), 152-160. doi: 10.1006/cyto.1996.0022
- Eidenschenk, C., Crozat, K., Krebs, P., Arens, R., Popkin, D., Arnold, C. N., . . . Beutler, B. (2010). Flt3 permits survival during infection by rendering dendritic cells competent to activate NK cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(21), 9759-9764. doi: 10.1073/pnas.1005186107
- Eidenschenk, C., Crozat, K., Krebs, P., Arens, R., Popkin, D., Arnold, C. N., . . . Beutler, B. (2010). Flt3 permits survival during infection by rendering dendritic cells competent to activate

- NK cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(21), 9759-9764. doi: 10.1073/pnas.1005186107
- Elgueta, R., Benson, M. J., de Vries, V. C., Wasiuk, A., Guo, Y., & Noelle, R. J. (2009). Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. *Immunol Rev*, 229(1), 152-172. doi: 10.1111/j.1600-065X.2009.00782.x
- Ellis, G. T., Davidson, S., Crotta, S., Branzk, N., Papayannopoulos, V., & Wack, A. (2015). TRAIL(+) monocytes and monocyte-related cells cause lung damage and thereby increase susceptibility to influenza–Streptococcus pneumoniae coinfection. *EMBO Reports*, 16(9), 1203-1218. doi: 10.15252/embr.201540473
- Ellis, G. T., Davidson, S., Crotta, S., Branzk, N., Papayannopoulos, V., & Wack, A. (2015). TRAIL+ monocytes and monocyte-related cells cause lung damage and thereby increase susceptibility to influenza–Streptococcus pneumoniae coinfection. *EMBO Rep*, 16(9), 1203-1218. doi: 10.15252/embr.201540473
- Esashi, E., Wang, Y. H., Perng, O., Qin, X. F., Liu, Y. J., & Watowich, S. S. (2008). The signal transducer STAT5 inhibits plasmacytoid dendritic cell development by suppressing transcription factor IRF8. *Immunity*, 28(4), 509-520. doi: 10.1016/j.immuni.2008.02.013
- Farley, K. S., Wang, L. F., Razavi, H. M., Law, C., Rohan, M., McCormack, D. G., & Mehta, S. (2006). Effects of macrophage inducible nitric oxide synthase in murine septic lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 290(6), L1164-1172. doi: 10.1152/ajplung.00248.2005
- Fauci, A. S. (2006). Seasonal and pandemic influenza preparedness: science and countermeasures. *J Infect Dis*, 194 Suppl 2, S73-76. doi: 10.1086/507550
- Fernandez Gonzalez, S., Jayasekera, J. P., & Carroll, M. C. (2008). Complement and natural antibody are required in the long-term memory response to influenza virus. *Vaccine*, 26 Suppl 8, I86-93.
- Flohe, S. B., Agrawal, H., Schmitz, D., Gertz, M., Flohe, S., & Schade, F. U. (2006). Dendritic cells during polymicrobial sepsis rapidly mature but fail to initiate a protective Th1-type immune response. *J Leukoc Biol*, 79(3), 473-481. doi: 10.1189/jlb.0705413
- Fodor, E. (2013). The RNA polymerase of influenza A virus: mechanisms of viral transcription and replication. *Acta Virol*, 57(2), 113-122.
- Fogg, D. K., Sibon, C., Miled, C., Jung, S., Aucouturier, P., Littman, D. R., . . . Geissmann, F. (2006). A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and dendritic cells. *Science*, 311(5757), 83-87. doi: 10.1126/science.1117729
- Fontana, J., Cardone, G., Heymann, J. B., Winkler, D. C., & Steven, A. C. (2012). Structural changes in Influenza virus at low pH characterized by cryo-electron tomography. *J Virol*, 86(6), 2919-2929. doi: 10.1128/JVI.06698-11
- Forster, R., Schubel, A., Breitfeld, D., Kremmer, E., Renner-Muller, I., Wolf, E., & Lipp, M. (1999). CCR7 coordinates the primary immune response by establishing functional microenvironments in secondary lymphoid organs. *Cell*, 99(1), 23-33.
- Foti, M., Granucci, F., Aggujaro, D., Liboi, E., Luini, W., Minardi, S., . . . Ricciardi-Castagnoli, P. (1999). Upon dendritic cell (DC) activation chemokines and chemokine receptor expression are rapidly regulated for recruitment and maintenance of DC at the inflammatory site. *Int Immunol*, 11(6), 979-986. doi: 10.1093/intimm/11.6.979
- Fouchier, R. A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T. M., Herfst, S., Smith, D., . . . Osterhaus, A. D. (2005). Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin

- subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol*, 79(5), 2814-2822. doi: 10.1128/JVI.79.5.2814-2822.2005
- Frank, S., Christian, S., Jan, E., Stephan, G., Clemens, S., & Cord, S. (2003). Monocyte and macrophage functions in M-CSF-deficient op/op mice during experimental leishmaniasis. *J Leukoc Biol*, 73(5), 564-573. doi: doi:10.1189/jlb.12011003
- Fujisawa, H. (2008). Neutrophils Play an Essential Role in Cooperation with Antibody in both Protection against and Recovery from Pulmonary Infection with Influenza Virus in Mice. *J Virol*, 82(6), 2772-2783. doi: 10.1128/jvi.01210-07
- Furusawa, J.-i., Mizoguchi, I., Chiba, Y., Hisada, M., Kobayashi, F., Yoshida, H., . . . Yoshimoto, T. (2016). Promotion of Expansion and Differentiation of Hematopoietic Stem Cells by Interleukin-27 into Myeloid Progenitors to Control Infection in Emergency Myelopoiesis. *PLoS Pathog*, 12(3), e1005507. doi: 10.1371/journal.ppat.1005507
- Gabrilovich, D. I., Ostrand-Rosenberg, S., & Bronte, V. (2012). Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol*, 12(4), 253-268. doi: 10.1038/nri3175
- Gack, M. U., Albrecht, R. A., Urano, T., Inn, K. S., Huang, I. C., Carnero, E., . . . Garcia-Sastre, A. (2009). Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by the host viral RNA sensor RIG-I. *Cell Host Microbe*, 5(5), 439-449. doi: 10.1016/j.chom.2009.04.006
- Galani, I. E., & Andreacos, E. (2015). Neutrophils in viral infections: Current concepts and caveats. *J Leukoc Biol*, 98(4), 557-564. doi: 10.1189/jlb.4VMR1114-555R
- Galani, I. E., Triantafyllia, V., Eleminiadou, E.-E., Koltsida, O., Stavropoulos, A., Manioudaki, M., . . . Andreacos, E. (2017). Interferon- β ; Mediates Non-redundant Front-Line Antiviral Protection against Influenza Virus Infection without Compromising Host Fitness. *Immunity*, 46(5), 875-890.e876. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.025
- Galani, I. E., Triantafyllia, V., Eleminiadou, E. E., Koltsida, O., Stavropoulos, A., Manioudaki, M., . . . Andreacos, E. (2017). Interferon-lambda Mediates Non-redundant Front-Line Antiviral Protection against Influenza Virus Infection without Compromising Host Fitness. *Immunity*, 46(5), 875-890 e876. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.025
- Galli, G., Pittoni, P., Tonti, E., Malzone, C., Uematsu, Y., Tortoli, M., . . . Abrignani, S. (2007). Invariant NKT cells sustain specific B cell responses and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(10), 3984-3989. doi: 10.1073/pnas.0700191104
- Gamadia, L. E., Rentenaar, R. J., van Lier, R. A., & ten Berge, I. J. (2004). Properties of CD4(+) T cells in human cytomegalovirus infection. *Hum Immunol*, 65(5), 486-492. doi: 10.1016/j.humimm.2004.02.020
- Ganguly, D., Chamilos, G., Lande, R., Gregorio, J., Meller, S., Facchinetti, V., . . . Gilliet, M. (2009). Self-RNA-antimicrobial peptide complexes activate human dendritic cells through TLR7 and TLR8. *J Exp Med*, 206(9), 1983-1994. doi: 10.1084/jem.20090480
- Gao, R., Wang, L., Bai, T., Zhang, Y., Bo, H., & Shu, Y. (2017). C-Reactive Protein Mediating Immunopathological Lesions: A Potential Treatment Option for Severe Influenza A Diseases. *EBioMedicine*, 22, 133-142. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.07.010
- Garcia, C. C., Russo, R. C., Guabiraba, R., Fagundes, C. T., Polidoro, R. B., Tavares, L. P., . . . Teixeira, M. M. (2010). Platelet-Activating Factor Receptor Plays a Role in Lung Injury and Death Caused by Influenza A in Mice. *PLoS Pathog*, 6(11), e1001171. doi: 10.1371/journal.ppat.1001171
- Garg, S., Jain, S., Dawood, F. S., Jhung, M., Pérez, A., D'Mello, T., . . . Finelli, L. (2015). Pneumonia among adults hospitalized with laboratory-confirmed seasonal influenza virus

- infection—United States, 2005–2008. *BMC Infectious Diseases*, 15(1), 369. doi: 10.1186/s12879-015-1004-y
- Gasson, J. C. (1991). Molecular physiology of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 77(6), 1131-1145.
- Gazit, R., Gruda, R., Elboim, M., Arnon, T. I., Katz, G., Achdout, H., . . . Mandelboim, O. (2006). Lethal influenza infection in the absence of the natural killer cell receptor gene Ncr1. *Nat Immunol*, 7(5), 517-523. doi: 10.1038/ni1322
- Geissmann, F., Auffray, C., Palframan, R., Wirrig, C., Ciocca, A., Campisi, L., . . . Lauvau, G. (2008). Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunol Cell Biol*, 86(5), 398-408. doi: 10.1038/icb.2008.19
- Geissmann, F., Jung, S., & Littman, D. R. (2003). Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity*, 19(1), 71-82.
- Geissmann, F., Manz, M. G., Jung, S., Sieweke, M. H., Merad, M., & Ley, K. (2010). Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science*, 327(5966), 656-661. doi: 10.1126/science.1178331
- Geissmann, F., Manz, M. G., Jung, S., Sieweke, M. H., Merad, M., & Ley, K. (2010). Development of Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells. *Science*, 327(5966), 656-661. doi: 10.1126/science.1178331
- Gerhard, W. (2001). The role of the antibody response in influenza virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol*, 260, 171-190.
- GeurtsvanKessel, C. H., Bergen, I. M., Muskens, F., Boon, L., Hoogsteden, H. C., Osterhaus, A. D. M. E., . . . Lambrecht, B. N. (2009). Both Conventional and Interferon Killer Dendritic Cells Have Antigen-Presenting Capacity during Influenza Virus Infection. *PLoS One*, 4(9), e7187. doi: 10.1371/journal.pone.0007187
- GeurtsvanKessel, C. H., Willart, M. A., van Rijt, L. S., Muskens, F., Kool, M., Baas, C., . . . Lambrecht, B. N. (2008). Clearance of influenza virus from the lung depends on migratory langerin+CD11b- but not plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*, 205(7), 1621-1634. doi: 10.1084/jem.20071365
- GeurtsvanKessel, C. H., Willart, M. A. M., van Rijt, L. S., Muskens, F., Kool, M., Baas, C., . . . Lambrecht, B. N. (2008). Clearance of influenza virus from the lung depends on migratory langerin(+)CD11b(-) but not plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*, 205(7), 1621-1634. doi: 10.1084/jem.20071365
- Ghoneim, H. E., & McCullers, J. A. (2014). Adjunctive corticosteroid therapy improves lung immunopathology and survival during severe secondary pneumococcal pneumonia in mice. *J Infect Dis*, 209(9), 1459-1468. doi: 10.1093/infdis/jit653
- Ghoneim, H. E., Thomas, P. G., & McCullers, J. A. (2013). Depletion of alveolar macrophages during influenza infection facilitates bacterial superinfections. *J Immunol*, 191(3), 1250-1259. doi: 10.4049/jimmunol.1300014
- Gill, M. A., Long, K., Kwon, T., Muniz, L., Mejias, A., Connolly, J., . . . Ramilo, O. (2008). Differential Recruitment of Dendritic Cells and Monocytes to Respiratory Mucosal Sites in Children with Influenza Virus or Respiratory Syncytial Virus Infection. *J Infect Dis*, 198(11), 1667-1676. doi: 10.1086/593018
- Ginhoux, F., & Jung, S. (2014). Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 14, 392. doi: 10.1038/nri3671

- Ginhoux, F., Liu, K., Helft, J., Bogunovic, M., Greter, M., Hashimoto, D., . . . Merad, M. (2009). The origin and development of nonlymphoid tissue CD103+ DCs. *J Exp Med*, 206(13), 3115-3130. doi: 10.1084/jem.20091756
- Ginhoux, F., Tacke, F., Angeli, V., Bogunovic, M., Loubreau, M., Dai, X. M., . . . Merad, M. (2006). Langerhans cells arise from monocytes in vivo. *Nat Immunol*, 7(3), 265-273. doi: 10.1038/ni1307
- Girard, M. P., Tam, J. S., Assossou, O. M., & Kieny, M. P. (2010). The 2009 A (H1N1) influenza virus pandemic: A review. *Vaccine*, 28(31), 4895-4902. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.05.031>
- Glatman Zaretsky, A., Engiles, J. B., & Hunter, C. A. (2014). Infection-induced changes in hematopoiesis. *J Immunol*, 192(1), 27-33. doi: 10.4049/jimmunol.1302061
- Glezen, W., Greenberg, S. B., Atmar, R. L., Piedra, P. A., & Couch, R. B. (2000). Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions. *JAMA*, 283(4), 499-505. doi: 10.1001/jama.283.4.499
- Goldszmid, R. S., Dzutsev, A., & Trinchieri, G. (2014). Host immune response to infection and cancer: unexpected commonalities. *Cell Host Microbe*, 15(3), 295-305. doi: 10.1016/j.chom.2014.02.003
- Gordon, S., & Taylor, P. R. (2005). Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol*, 5(12), 953-964. doi: 10.1038/nri1733
- Goulding, J., Godlee, A., Vekaria, S., Hilty, M., Snelgrove, R., & Hussell, T. (2011). Lowering the threshold of lung innate immune cell activation alters susceptibility to secondary bacterial superinfection. *J Infect Dis*, 204(7), 1086-1094. doi: 10.1093/infdis/jir467
- Graham, M. B., & Braciale, T. J. (1997). Resistance to and recovery from lethal influenza virus infection in B lymphocyte-deficient mice. *J Exp Med*, 186(12), 2063-2068.
- Grajales-Reyes, G. E., Iwata, A., Albring, J., Wu, X., Tussiwand, R., Kc, W., . . . Murphy, K. M. (2015). Batf3 maintains autoactivation of Irf8 for commitment of a CD8 α (+) conventional DC clonogenic progenitor. *Nat Immunol*, 16(7), 708-717. doi: 10.1038/ni.3197
- Grajales-Reyes, G. E., Iwata, A., Albring, J., Wu, X., Tussiwand, R., Wumesh, K. C., . . . Murphy, K. M. (2015). Batf3 maintains Irf8 autoactivation for commitment of a CD8 α (+) cDC clonogenic progenitor. *Nat Immunol*, 16(7), 708-717. doi: 10.1038/ni.3197
- Gregory, S. H., Sagnimeni, A. J., Zurowski, N. B., & Thomson, A. W. (2001). Flt3 ligand pretreatment promotes protective immunity to *Listeria monocytogenes*. *Cytokine*, 13(4), 202-208. doi: 10.1006/cyto.2000.0806
- Greter, M., Helft, J., Chow, A., Hashimoto, D., Mortha, A., Agudo-Cantero, J., . . . Merad, M. (2012). GM-CSF controls nonlymphoid tissue dendritic cell homeostasis but is dispensable for the differentiation of inflammatory dendritic cells. *Immunity*, 36(6), 1031-1046. doi: 10.1016/j.immuni.2012.03.027
- Grimaldi, D., Llitjos, J. F., & Pene, F. (2014). Post-infectious immune suppression: a new paradigm of severe infections. *Med Mal Infect*, 44(10), 455-463. doi: 10.1016/j.medmal.2014.07.017
- Grimm, D., Staeheli, P., Hufbauer, M., Koerner, I., Martinez-Sobrido, L., Solorzano, A., . . . Kochs, G. (2007). Replication fitness determines high virulence of influenza A virus in mice carrying functional Mx1 resistance gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(16), 6806-6811. doi: 10.1073/pnas.0701849104

- Grouard, G., Rissoan, M.-C., Filgueira, L., Durand, I., Banchereau, J., & Liu, Y.-J. (1997). The Enigmatic Plasmacytoid T Cells Develop into Dendritic Cells with Interleukin (IL)-3 and CD40-Ligand. *J Exp Med*, *185*(6), 1101-1112.
- Guarda, G., Zenger, M., Yazdi, A. S., Schroder, K., Ferrero, I., Menu, P., . . . Tschopp, J. (2011). Differential expression of NLRP3 among hematopoietic cells. *J Immunol*, *186*(4), 2529-2534. doi: 10.4049/jimmunol.1002720
- Guermonprez, P., Helft, J., Claser, C., Deroubaix, S., Karanje, H., Gazumyan, A., . . . Nussenzweig, M. C. (2013). Inflammatory Flt3l is essential to mobilize dendritic cells and for T cell responses during Plasmodium infection. *Nat Med*, *19*(6), 730-738. doi: 10.1038/nm.3197
- Guermonprez, P., Helft, J., Claser, C., Deroubaix, S., Karanje, H., Gazumyan, A., . . . Nussenzweig, M. C. (2013). Inflammatory Flt3L is essential to mobilize dendritic cells and for T cell responses during Plasmodium infection. *Nat Med*, *19*(6), 730-738. doi: 10.1038/nm.3197
- Guilliams, M., De Kleer, I., Henri, S., Post, S., Vanhoutte, L., De Prijck, S., . . . Lambrecht, B. N. (2013). Alveolar macrophages develop from fetal monocytes that differentiate into long-lived cells in the first week of life via GM-CSF. *J Exp Med*, *210*(10), 1977-1992. doi: 10.1084/jem.20131199
- Guilliams, M., Ginhoux, F., Jakubzick, C., Naik, S. H., Onai, N., Schraml, B. U., . . . Yona, S. (2014). Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat Rev Immunol*, *14*(8), 571-578. doi: 10.1038/nri3712
- Guilliams, M., Ginhoux, F., Jakubzick, C., Naik, S. H., Onai, N., Schraml, B. U., . . . Yona, S. (2014). Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat Rev Immunol*, *14*(8), 571-578. doi: 10.1038/nri3712
- Guilliams, M., Lambrecht, B. N., & Hammad, H. (2013). Division of labor between lung dendritic cells and macrophages in the defense against pulmonary infections. *Mucosal Immunology*, *6*, 464. doi: 10.1038/mi.2013.14
- Gunn, M. D., Tangemann, K., Tam, C., Cyster, J. G., Rosen, S. D., & Williams, L. T. (1998). A chemokine expressed in lymphoid high endothelial venules promotes the adhesion and chemotaxis of naive T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *95*(1), 258-263.
- Guo, H., Baker, S. F., Martínez-Sobrido, L., & Topham, D. J. (2014). Induction of CD8 T Cell Heterologous Protection by a Single Dose of Single-Cycle Infectious Influenza Virus. *J Virol*, *88*(20), 12006-12016. doi: 10.1128/jvi.01847-14
- Guo, H., Kumar, P., Moran, T. M., Garcia-Sastre, A., Zhou, Y., & Malarkannan, S. (2009). The functional impairment of natural killer cells during influenza virus infection. *Immunol Cell Biol*, *87*(8), 579-589. doi: 10.1038/icb.2009.60
- Hamada, H., Bassity, E., Flies, A., Strutt, T. M., Garcia-Hernandez, M. d. L., McKinstry, K. K., . . . Dutton, R. W. (2013). Multiple Redundant Effector Mechanisms of CD8(+) T Cells Protect against Influenza Infection. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *190*(1), 10.4049/jimmunol.1200571. doi: 10.4049/jimmunol.1200571
- Hamada, H., de la Luz Garcia-Hernandez, M., Reome, J. B., Misra, S. K., Strutt, T. M., McKinstry, K. K., . . . Dutton, R. W. (2009). Tc17, a Unique Subset of CD8 T Cells That Can Protect against Lethal Influenza Challenge. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *182*(6), 3469-3481. doi: 10.4049/jimmunol.0801814
- Hamilton, J. A. (2008). Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*, *8*(7), 533-544. doi: 10.1038/nri2356

- Haniffa, M., Shin, A., Bigley, V., McGovern, N., Teo, P., See, P., . . . Ginhoux, F. (2012). Human Tissues Contain CD141(hi) Cross-Presenting Dendritic Cells with Functional Homology to Mouse CD103(+) Nonlymphoid Dendritic Cells. *Immunity*, *37*(1), 60-73. doi: 10.1016/j.immuni.2012.04.012
- Hanna, J., Gonen-Gross, T., Fitchett, J., Rowe, T., Daniels, M., Arnon, T. I., . . . Mandelboim, O. (2004). Novel APC-like properties of human NK cells directly regulate T cell activation. *Journal of Clinical Investigation*, *114*(11), 1612-1623. doi: 10.1172/JCI200422787
- Hanna, R. N., Shaked, I., Hubbeling, H. G., Punt, J. A., Wu, R., Herrley, E., . . . Hedrick, C. C. (2012). NR4A1 (Nur77) deletion polarizes macrophages toward an inflammatory phenotype and increases atherosclerosis. *Circ Res*, *110*(3), 416-427. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.253377
- Hao, X., Kim, T. S., & Braciale, T. J. (2008). Differential response of respiratory dendritic cell subsets to influenza virus infection. *J Virol*, *82*(10), 4908-4919. doi: 10.1128/JVI.02367-07
- Hart, D. N. J. (1997). Dendritic Cells: Unique Leukocyte Populations Which Control the Primary Immune Response. *Blood*, *90*(9), 3245-3287.
- Harton, J. A., Linhoff, M. W., Zhang, J., & Ting, J. P. (2002). Cutting edge: CATERPILLER: a large family of mammalian genes containing CARD, pyrin, nucleotide-binding, and leucine-rich repeat domains. *J Immunol*, *169*(8), 4088-4093.
- Heer, A. K., Shamshiev, A., Donda, A., Uematsu, S., Akira, S., Kopf, M., & Marsland, B. J. (2007). TLR signaling fine-tunes anti-influenza B cell responses without regulating effector T cell responses. *J Immunol*, *178*(4), 2182-2191.
- Helft, J., Böttcher, J., Chakravarty, P., Zelenay, S., Huotari, J., Schraml, Barbara U., . . . Reis e Sousa, C. (2015). GM-CSF Mouse Bone Marrow Cultures Comprise a Heterogeneous Population of CD11c⁺MHCII⁺ Macrophages and Dendritic Cells. *Immunity*, *42*(6), 1197-1211. doi: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.05.018>
- Helft, J., Manicassamy, B., Guermonprez, P., Hashimoto, D., Silvin, A., Agudo, J., . . . Merad, M. (2012). Cross-presenting CD103⁺ dendritic cells are protected from influenza virus infection. *J Clin Invest*, *122*(11), 4037-4047. doi: 10.1172/JCI60659
- Helft, J., Manicassamy, B., Guermonprez, P., Hashimoto, D., Silvin, A., Agudo, J., . . . Merad, M. (2012). Cross-presenting CD103(+) dendritic cells are protected from influenza virus infection. *J Clin Invest*, *122*(11), 4037-4047. doi: 10.1172/JCI60659
- Herman, A. C., Monlish, D. A., Romine, M. P., Bhatt, S. T., Zippel, S., & Schuettpelez, L. G. (2016). Systemic TLR2 agonist exposure regulates hematopoietic stem cells via cell-autonomous and cell-non-autonomous mechanisms. *Blood Cancer J*, *6*, e437. doi: 10.1038/bcj.2016.45
- Hermesh, T., Moltedo, B., Moran, T. M., & Lopez, C. B. (2010). Antiviral instruction of bone marrow leukocytes during respiratory viral infections. *Cell Host Microbe*, *7*(5), 343-353. doi: 10.1016/j.chom.2010.04.006
- Herold, S., Steinmueller, M., von Wulffen, W., Cakarova, L., Pinto, R., Pleschka, S., . . . Lohmeyer, J. (2008). Lung epithelial apoptosis in influenza virus pneumonia: the role of macrophage-expressed TNF-related apoptosis-inducing ligand. *J Exp Med*, *205*(13), 3065-3077. doi: 10.1084/jem.20080201
- Herold, S., Steinmueller, M., von Wulffen, W., Cakarova, L., Pinto, R., Pleschka, S., . . . Lohmeyer, J. (2008). Lung epithelial apoptosis in influenza virus pneumonia: the role of

- macrophage-expressed TNF-related apoptosis-inducing ligand. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(13), 3065-3077. doi: 10.1084/jem.20080201
- Herold, S., von Wulffen, W., Steinmueller, M., Pleschka, S., Kuziel, W. A., Mack, M., . . . Lohmeyer, J. (2006). Alveolar Epithelial Cells Direct Monocyte Transepithelial Migration upon Influenza Virus Infection: Impact of Chemokines and Adhesion Molecules. *The Journal of Immunology*, 177(3), 1817-1824. doi: 10.4049/jimmunol.177.3.1817
- Hettinger, J., Richards, D. M., Hansson, J., Barra, M. M., Joschko, A. C., Krijgsveld, J., & Feuerer, M. (2013). Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. *Nat Immunol*, 14(8), 821-830. doi: 10.1038/ni.2638
- Heystek, H. C., Mudde, G. C., Ohler, R., & Kalthoff, F. S. (2000). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) has opposing effects on the capacity of monocytes versus monocyte-derived dendritic cells to stimulate the antigen-specific proliferation of a human T cell clone. *Clinical and Experimental Immunology*, 120(3), 440-447. doi: 10.1046/j.1365-2249.2000.01225.x
- Hildner, K., Edelson, B. T., Purtha, W. E., Diamond, M., Matsushita, H., Kohyama, M., . . . Murphy, K. M. (2008). Batf3 Deficiency Reveals a Critical Role for CD8 α (+) Dendritic Cells in Cytotoxic T Cell Immunity. *Science (New York, N.Y.)*, 322(5904), 1097-1100. doi: 10.1126/science.1164206
- Hildner, K., Edelson, B. T., Purtha, W. E., Diamond, M., Matsushita, H., Kohyama, M., . . . Murphy, K. M. (2008). Batf3 deficiency reveals a critical role for CD8 α ⁺ dendritic cells in cytotoxic T cell immunity. *Science*, 322(5904), 1097-1100. doi: 10.1126/science.1164206
- Hirano, T., Taga, T., Nakano, N., Yasukawa, K., Kashiwamura, S., Shimizu, K., . . . Kishimoto, T. (1985). Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 82(16), 5490-5494.
- Ho, L. P., Denney, L., Luhn, K., Teoh, D., Clelland, C., & McMichael, A. J. (2008). Activation of invariant NKT cells enhances the innate immune response and improves the disease course in influenza A virus infection. *Eur J Immunol*, 38(7), 1913-1922. doi: 10.1002/eji.200738017
- Hochweller, K., Miloud, T., Striegler, J., Naik, S., Hammerling, G. J., & Garbi, N. (2009). Homeostasis of dendritic cells in lymphoid organs is controlled by regulation of their precursors via a feedback loop. *Blood*, 114(20), 4411-4421. doi: 10.1182/blood-2008-11-188045
- Hochweller, K., Miloud, T., Striegler, J., Naik, S., Hämmerling, G. J., & Garbi, N. (2009). Homeostasis of dendritic cells in lymphoid organs is controlled by regulation of their precursors via a feedback loop. *Blood*, 114(20), 4411-4421. doi: 10.1182/blood-2008-11-188045
- Hoeffel, G., Wang, Y., Greter, M., See, P., Teo, P., Malleret, B., . . . Ginhoux, F. (2012). Adult Langerhans cells derive predominantly from embryonic fetal liver monocytes with a minor contribution of yolk sac-derived macrophages. *J Exp Med*, 209(6), 1167-1181. doi: 10.1084/jem.20120340
- Hogner, K., Wolff, T., Pleschka, S., Plog, S., Gruber, A. D., Kalinke, U., . . . Herold, S. (2013). Macrophage-expressed IFN-beta contributes to apoptotic alveolar epithelial cell injury in severe influenza virus pneumonia. *PLoS Pathog*, 9(2), e1003188. doi: 10.1371/journal.ppat.1003188

- Honda, K., Yanai, H., Negishi, H., Asagiri, M., Sato, M., Mizutani, T., . . . Taniguchi, T. (2005). IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses. *Nature*, *434*(7034), 772-777. doi: 10.1038/nature03464
- Horimoto, T., & Kawaoka, Y. (2005). Influenza: lessons from past pandemics, warnings from current incidents. *Nat Rev Microbiol*, *3*(8), 591-600. doi: 10.1038/nrmicro1208
- Hornung, V., Ellegast, J., Kim, S., Brzózka, K., Jung, A., Kato, H., . . . Hartmann, G. (2006). 5'-Triphosphate RNA Is the Ligand for RIG-I. *Science*, *314*(5801), 994-997. doi: 10.1126/science.1132505
- Hornung, V., & Latz, E. (2010). Critical functions of priming and lysosomal damage for NLRP3 activation. *Eur J Immunol*, *40*(3), 620-623. doi: 10.1002/eji.200940185
- Hotchkiss, R. S., Monneret, G., & Payen, D. (2013). Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *The Lancet infectious diseases*, *13*(3), 260-268. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70001-X
- Hotchkiss, R. S., Monneret, G., & Payen, D. (2013). Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol*, *13*(12), 862-874. doi: 10.1038/nri3552
- Hou, W., Gibbs, J. S., Lu, X., Brooke, C. B., Roy, D., Modlin, R. L., . . . Yewdell, J. W. (2012). Viral infection triggers rapid differentiation of human blood monocytes into dendritic cells. *Blood*, *119*(13), 3128-3131. doi: 10.1182/blood-2011-09-379479
- Huang, F. F., Barnes, P. F., Feng, Y., Donis, R., Chroneos, Z. C., Idell, S., . . . Shams, H. (2011). GM-CSF in the lung protects against lethal influenza infection. *Am J Respir Crit Care Med*, *184*(2), 259-268. doi: 10.1164/rccm.201012-2036OC
- Hundeshagen, G., Cui, W., Musgrove, L., Cherry, A., Lee, S. J., Cox, R. A., & Toliver-Kinsky, T. (2017). Fms-Like Tyrosine Kinase-3 Ligand Attenuates Local and Systemic Infection in a Model of Post-Burn Pneumonia. *Shock*. doi: 10.1097/SHK.0000000000000964
- Ichikawa, E., Hida, S., Omatsu, Y., Shimoyama, S., Takahara, K., Miyagawa, S., . . . Taki, S. (2004). Defective development of splenic and epidermal CD4+ dendritic cells in mice deficient for IFN regulatory factor-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(11), 3909-3914. doi: 10.1073/pnas.0400610101
- Ichinohe, T., Lee, H. K., Ogura, Y., Flavell, R., & Iwasaki, A. (2009). Inflammasome recognition of influenza virus is essential for adaptive immune responses. *J Exp Med*, *206*(1), 79-87. doi: 10.1084/jem.20081667
- Iijima, N., Mattei, L. M., & Iwasaki, A. (2011). Recruited inflammatory monocytes stimulate antiviral Th1 immunity in infected tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(1), 284-289. doi: 10.1073/pnas.1005201108
- Inaba, K., Inaba, M., Romani, N., Aya, H., Deguchi, M., Ikehara, S., . . . Steinman, R. M. (1992). Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med*, *176*(6), 1693-1702.
- Inohara, N., & Nunez, G. (2001). The NOD: a signaling module that regulates apoptosis and host defense against pathogens. *Oncogene*, *20*(44), 6473-6481. doi: 10.1038/sj.onc.1204787
- Ippolito, G. C., Dekker, J. D., Wang, Y.-H., Lee, B.-K., Shaffer, A. L., Lin, J., . . . Tucker, H. O. (2014). Dendritic cell fate is determined by BCL11A. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *111*(11), E998-E1006. doi: 10.1073/pnas.1319228111
- Ivanov, S., Fontaine, J., Paget, C., Macho Fernandez, E., Van Maele, L., Renneson, J., . . . Trottein, F. (2012). Key role for respiratory CD103(+) dendritic cells, IFN-gamma, and IL-17 in

- protection against *Streptococcus pneumoniae* infection in response to alpha-galactosylceramide. *J Infect Dis*, 206(5), 723-734. doi: 10.1093/infdis/jis413
- Ivanov, S., Fontaine, J., Paget, C., Macho Fernandez, E., Van Maele, L., Renneson, J., . . . Trottein, F. (2012). Key Role for Respiratory CD103+ Dendritic Cells, IFN- γ , and IL-17 in Protection Against *Streptococcus pneumoniae* Infection in Response to α -Galactosylceramide. *J Infect Dis*, 206(5), 723-734. doi: 10.1093/infdis/jis413
- Iwasaki, A., & Pillai, P. S. (2014). Innate immunity to influenza virus infection. *Nat Rev Immunol*, 14(5), 315-328. doi: 10.1038/nri3665
- Jagannathan-Bogdan, M., & Zon, L. I. (2013). Hematopoiesis. *Development*, 140(12), 2463-2467. doi: 10.1242/dev.083147
- Jain, S., Kamimoto, L., Bramley, A. M., Schmitz, A. M., Benoit, S. R., Louie, J., . . . Pandemic Influenza, A. V. H. I. T. (2009). Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009. *N Engl J Med*, 361(20), 1935-1944. doi: 10.1056/NEJMoa0906695
- Jaitin, D. A., Kenigsberg, E., Keren-Shaul, H., Elefant, N., Paul, F., Zaretsky, I., . . . Amit, I. (2014). Massively Parallel Single-Cell RNA-Seq for Marker-Free Decomposition of Tissues into Cell Types. *Science*, 343(6172), 776-779. doi: 10.1126/science.1247651
- Jamieson, A. M., Pasman, L., Yu, S., Gamradt, P., Homer, R. J., Decker, T., & Medzhitov, R. (2013). Role of tissue protection in lethal respiratory viral-bacterial coinfection. *Science*, 340(6137), 1230-1234. doi: 10.1126/science.1233632
- Jarahian, M., Watzl, C., Fournier, P., Arnold, A., Djandji, D., Zahedi, S., . . . Momburg, F. (2009). Activation of Natural Killer Cells by Newcastle Disease Virus Hemagglutinin-Neuraminidase. *J Virol*, 83(16), 8108-8121. doi: 10.1128/jvi.00211-09
- Jaworska, J., Coulombe, F., Downey, J., Tzelepis, F., Shalaby, K., Tattoli, I., . . . Divangahi, M. (2014). NLRX1 prevents mitochondrial induced apoptosis and enhances macrophage antiviral immunity by interacting with influenza virus PB1-F2 protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111(20), E2110-2119. doi: 10.1073/pnas.1322118111
- Jayasekera, J. P., Moseman, E. A., & Carroll, M. C. (2007). Natural antibody and complement mediate neutralization of influenza virus in the absence of prior immunity. *J Virol*, 81(7), 3487-3494. doi: 10.1128/JVI.02128-06
- Jennings, J. H., Linderman, D. J., Hu, B., Sonstein, J., & Curtis, J. L. (2005). Monocytes Recruited to the Lungs of Mice during Immune Inflammation Ingest Apoptotic Cells Poorly. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 32(2), 108-117. doi: 10.1165/rcmb.2004-0108OC
- Ji, Q., Castelli, L., & Goverman, J. M. (2013). MHC Class I-Restricted Myelin Epitopes Are Cross-Presented by Tip-DCs That Promote Determinant Spreading to CD8(+) T Cells. *Nat Immunol*, 14(3), 254-261. doi: 10.1038/ni.2513
- Jia, L., Xie, J., Zhao, J., Cao, D., Liang, Y., Hou, X., . . . Li, Z. (2017). Mechanisms of Severe Mortality-Associated Bacterial Co-infections Following Influenza Virus Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 338. doi: 10.3389/fcimb.2017.00338
- Jo, E. K., Kim, J. K., Shin, D. M., & Sasakawa, C. (2016). Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol*, 13(2), 148-159. doi: 10.1038/cmi.2015.95
- Joffre, O. P., Segura, E., Savina, A., & Amigorena, S. (2012). Cross-presentation by dendritic cells. *Nat Rev Immunol*, 12(8), 557-569. doi: 10.1038/nri3254
- Joseph, C., Togawa, Y., & Shindo, N. (2013). Bacterial and viral infections associated with influenza. *Influenza Other Respir Viruses*, 7 Suppl 2, 105-113. doi: 10.1111/irv.12089

- Jung, S., Unutmaz, D., Wong, P., Sano, G., De los Santos, K., Sparwasser, T., . . . Lang, R. A. (2002). In vivo depletion of CD11c⁺ dendritic cells abrogates priming of CD8⁺ T cells by exogenous cell-associated antigens. *Immunity*, *17*(2), 211-220.
- Kadowaki, N., Ho, S., Antonenko, S., Malefyt, R. W., Kastelein, R. A., Bazan, F., & Liu, Y. J. (2001). Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J Exp Med*, *194*(6), 863-869.
- Kandalla, P. K., Sarrazin, S., Molawi, K., Berruyer, C., Redelberger, D., Favel, A., . . . Sieweke, M. H. (2016). M-CSF improves protection against bacterial and fungal infections after hematopoietic stem/progenitor cell transplantation. *J Exp Med*, *213*(11), 2269-2279. doi: 10.1084/jem.20151975
- Kandalla, P. K., Sarrazin, S., Molawi, K., Berruyer, C., Redelberger, D., Favel, A., . . . Sieweke, M. H. (2016). M-CSF improves protection against bacterial and fungal infections after hematopoietic stem/progenitor cell transplantation. *J Exp Med*, *213*(11), 2269-2279. doi: 10.1084/jem.20151975
- Kandasamy, M., Suryawanshi, A., Tundup, S., Perez, J. T., Schmolke, M., Manicassamy, S., & Manicassamy, B. (2016). RIG-I Signaling Is Critical for Efficient Polyfunctional T Cell Responses during Influenza Virus Infection. *PLoS Pathog*, *12*(7), e1005754. doi: 10.1371/journal.ppat.1005754
- Kanneganti, T. D., Body-Malapel, M., Amer, A., Park, J. H., Whitfield, J., Franchi, L., . . . Nunez, G. (2006). Critical role for Cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA. *J Biol Chem*, *281*(48), 36560-36568. doi: 10.1074/jbc.M607594200
- Karine, C., Rachel, G., Martin, G., Sandrine, H., Thomas, B., Isabelle, S. C., . . . Marc, D. (2010). Comparative genomics as a tool to reveal functional equivalences between human and mouse dendritic cell subsets. *Immunol Rev*, *234*(1), 177-198. doi: doi:10.1111/j.0105-2896.2009.00868.x
- Karlstrom, A., Heston, S. M., Boyd, K. L., Tuomanen, E. I., & McCullers, J. A. (2011). Toll-like receptor 2 mediates fatal immunopathology in mice during treatment of secondary pneumococcal pneumonia following influenza. *J Infect Dis*, *204*(9), 1358-1366. doi: 10.1093/infdis/jir522
- Karsunky, H., Merad, M., Cozzio, A., Weissman, I. L., & Manz, M. G. (2003). Flt3 ligand regulates dendritic cell development from Flt3⁺ lymphoid and myeloid-committed progenitors to Flt3⁺ dendritic cells in vivo. *J Exp Med*, *198*(2), 305-313. doi: 10.1084/jem.20030323
- Kash, J. C., Goodman, A. G., Korth, M. J., & Katze, M. G. (2006). Hijacking of the host-cell response and translational control during influenza virus infection. *Virus Res*, *119*(1), 111-120. doi: 10.1016/j.virusres.2005.10.013
- Kash, J. C., & Taubenberger, J. K. (2015). The Role of Viral, Host, and Secondary Bacterial Factors in Influenza Pathogenesis. *Am J Pathol*, *185*(6), 1528-1536. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.08.030
- Kashiwada, M., Pham, N.-L. L., Pewe, L. L., Harty, J. T., & Rothman, P. B. (2011). NFIL3/E4BP4 is a key transcription factor for CD8 α (⁺) dendritic cell development. *Blood*, *117*(23), 6193-6197. doi: 10.1182/blood-2010-07-295873
- Kato, H., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Uematsu, S., Matsui, K., . . . Akira, S. (2005). Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity*, *23*(1), 19-28. doi: 10.1016/j.immuni.2005.04.010

- Kato, H., Takeuchi, O., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Matsui, K., . . . Akira, S. (2006). Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*, *441*(7089), 101-105. doi: 10.1038/nature04734
- Kawakami, M., Tsutsumi, H., Kumakawa, T., Abe, H., Hirai, M., Kurosawa, S., . . . Fukushima, M. (1990). Levels of serum granulocyte colony-stimulating factor in patients with infections. *Blood*, *76*(10), 1962-1964.
- Kawamura, S., Onai, N., Miya, F., Sato, T., Tsunoda, T., Kurabayashi, K., . . . Ohteki, T. (2017). Identification of a Human Clonogenic Progenitor with Strict Monocyte Differentiation Potential: A Counterpart of Mouse cMoPs. *Immunity*, *46*(5), 835-848.e834. doi: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.04.019>
- Kellersch, B., & Brocker, T. (2013). Langerhans cell homeostasis in mice is dependent on mTORC1 but not mTORC2 function. *Blood*, *121*(2), 298-307. doi: 10.1182/blood-2012-06-439786
- Kiel, M. J., & Morrison, S. J. (2008). Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells. *Nature Reviews Immunology*, *8*, 290. doi: 10.1038/nri2279
- Kim, H. M., Lee, Y. W., Lee, K. J., Kim, H. S., Cho, S. W., van Rooijen, N., . . . Seo, S. H. (2008). Alveolar macrophages are indispensable for controlling influenza viruses in lungs of pigs. *J Virol*, *82*(9), 4265-4274. doi: 10.1128/JVI.02602-07
- Kim, T. H., & Lee, H. K. (2014). Differential Roles of Lung Dendritic Cell Subsets Against Respiratory Virus Infection. *Immune Netw*, *14*(3), 128-137. doi: 10.4110/in.2014.14.3.128
- Kim, T. S., & Braciale, T. J. (2009a). Respiratory Dendritic Cell Subsets Differ in Their Capacity to Support the Induction of Virus-Specific Cytotoxic CD8(+) T Cell Responses. *PLoS One*, *4*(1), e4204. doi: 10.1371/journal.pone.0004204
- Kim, T. S., & Braciale, T. J. (2009b). Respiratory Dendritic Cell Subsets Differ in Their Capacity to Support the Induction of Virus-Specific Cytotoxic CD8+ T Cell Responses. *PLoS One*, *4*(1), e4204. doi: 10.1371/journal.pone.0004204
- King, I. L., Kroenke, M. A., & Segal, B. M. (2010). GM-CSF-dependent, CD103+ dermal dendritic cells play a critical role in Th effector cell differentiation after subcutaneous immunization. *J Exp Med*, *207*(5), 953-961. doi: 10.1084/jem.20091844
- King, K. Y., & Goodell, M. A. (2011). Inflammatory modulation of HSCs: viewing the HSC as a foundation for the immune response. *Nature Reviews Immunology*, *11*, 685. doi: 10.1038/nri3062
- King, K. Y., & Goodell, M. A. (2011). Inflammatory modulation of HSCs: viewing the HSC as a foundation for the immune response. *Nat Rev Immunol*, *11*(10), 685-692. doi: 10.1038/nri3062
- Kingston, D., Schmid, M. A., Onai, N., Obata-Onai, A., Baumjohann, D., & Manz, M. G. (2009). The concerted action of GM-CSF and Flt3-ligand on in vivo dendritic cell homeostasis. *Blood*, *114*(4), 835-843. doi: 10.1182/blood-2009-02-206318
- Kingston, D., Schmid, M. A., Onai, N., Obata-Onai, A., Baumjohann, D., & Manz, M. G. (2009). The concerted action of GM-CSF and Flt3-ligand on in vivo dendritic cell homeostasis. *Blood*, *114*(4), 835-843. doi: 10.1182/blood-2009-02-206318
- Klinkhammer, J., Schnepf, D., Ye, L., Schwaderlapp, M., Gad, H. H., Hartmann, R., . . . Staeheli, P. (2018). IFN-lambda prevents influenza virus spread from the upper airways to the lungs and limits virus transmission. *Elife*, *7*. doi: 10.7554/eLife.33354
- Kobayashi, K. S., & van den Elsen, P. J. (2012). NLRC5: a key regulator of MHC class I-dependent immune responses. *Nature Reviews Immunology*, *12*, 813. doi: 10.1038/nri3339

- Kok, W. L., Denney, L., Benam, K., Cole, S., Clelland, C., McMichael, A. J., & Ho, L. P. (2012). Pivotal Advance: Invariant NKT cells reduce accumulation of inflammatory monocytes in the lungs and decrease immune-pathology during severe influenza A virus infection. *J Leukoc Biol*, *91*(3), 357-368. doi: 10.1189/jlb.0411184
- Kondo, M., Weissman, I. L., & Akashi, K. (1997). Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell*, *91*(5), 661-672.
- Kovats, S. (2012). Estrogen receptors regulate an inflammatory pathway of dendritic cell differentiation: mechanisms and implications for immunity. *Hormones and behavior*, *62*(3), 254-262. doi: 10.1016/j.yhbeh.2012.04.011
- Kreijtz, J. H., Fouchier, R. A., & Rimmelzwaan, G. F. (2011). Immune responses to influenza virus infection. *Virus Res*, *162*(1-2), 19-30. doi: 10.1016/j.virusres.2011.09.022
- Kudva, A., Scheller, E. V., Robinson, K. M., Crowe, C. R., Choi, S. M., Slight, S. R., . . . Alcorn, J. F. (2011a). Influenza A Inhibits Th17-Mediated Host Defense against Bacterial Pneumonia in Mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *186*(3), 1666-1674. doi: 10.4049/jimmunol.1002194
- Kudva, A., Scheller, E. V., Robinson, K. M., Crowe, C. R., Choi, S. M., Slight, S. R., . . . Alcorn, J. F. (2011). Influenza A inhibits Th17-mediated host defense against bacterial pneumonia in mice. *J Immunol*, *186*(3), 1666-1674. doi: 10.4049/jimmunol.1002194
- Kudva, A., Scheller, E. V., Robinson, K. M., Crowe, C. R., Choi, S. M., Slight, S. R., . . . Alcorn, J. F. (2011b). Influenza A Inhibits Th17-Mediated Host Defense against Bacterial Pneumonia in Mice. *The Journal of Immunology*, *186*(3), 1666-1674. doi: 10.4049/jimmunol.1002194
- Kumar, P., Thakar, M. S., Ouyang, W., & Malarkannan, S. (2013). IL-22 from conventional NK cells is epithelial regenerative and inflammation protective during influenza infection. *Mucosal Immunol*, *6*(1), 69-82. doi: 10.1038/mi.2012.49
- Kumar, V., Patel, S., Tcyganov, E., & Gaborilovich, D. I. (2016). The Nature of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Tumor Microenvironment. *Trends Immunol*, *37*(3), 208-220. doi: 10.1016/j.it.2016.01.004
- Kuriakose, T., & Kanneganti, T.-D. (2017). Regulation and functions of NLRP3 inflammasome during influenza virus infection. *Molecular Immunology*, *86*, 56-64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.01.023>
- Kurotaki, D., Osato, N., Nishiyama, A., Yamamoto, M., Ban, T., Sato, H., . . . Tamura, T. (2013). Essential role of the IRF8-KLF4 transcription factor cascade in murine monocyte differentiation. *Blood*, *121*(10), 1839-1849. doi: 10.1182/blood-2012-06-437863
- La Gruta, N. L., Kedzierska, K., Stambas, J., & Doherty, P. C. (2007). A question of self-preservation: immunopathology in influenza virus infection. *Immunol Cell Biol*, *85*(2), 85-92.
- La Gruta, N. L., Turner, S. J., & Doherty, P. C. (2004). Hierarchies in cytokine expression profiles for acute and resolving influenza virus-specific CD8+ T cell responses: correlation of cytokine profile and TCR avidity. *J Immunol*, *172*(9), 5553-5560.
- Lamb, J. R., Woody, J. N., Hartzman, R. J., & Eckels, D. D. (1982). In vitro influenza virus-specific antibody production in man: antigen-specific and HLA-restricted induction of helper activity mediated by cloned human T lymphocytes. *J Immunol*, *129*(4), 1465-1470.
- Lang, P. O., Mendes, A., Socquet, J., Assir, N., Govind, S., & Aspinall, R. (2012). Effectiveness of influenza vaccine in aging and older adults: comprehensive analysis of the evidence. *Clin Interv Aging*, *7*, 55-64. doi: 10.2147/CIA.S25215

- Langlet, C., Tamoutounour, S., Henri, S., Luche, H., Ardouin, L., Gregoire, C., . . . Williams, M. (2012). CD64 expression distinguishes monocyte-derived and conventional dendritic cells and reveals their distinct role during intramuscular immunization. *J Immunol*, *188*(4), 1751-1760. doi: 10.4049/jimmunol.1102744
- Laouar, Y., Welte, T., Fu, X. Y., & Flavell, R. A. (2003). STAT3 is required for Flt3L-dependent dendritic cell differentiation. *Immunity*, *19*(6), 903-912.
- Laslo, P., Spooner, C. J., Warmflash, A., Lancki, D. W., Lee, H. J., Sciammas, R., . . . Singh, H. (2006). Multilineage transcriptional priming and determination of alternate hematopoietic cell fates. *Cell*, *126*(4), 755-766. doi: 10.1016/j.cell.2006.06.052
- Lasseaux, C., Fourmaux, M.-P., Chamaillard, M., & Poulin, L. F. (2017). Type I interferons drive inflammasome-independent emergency monocytopoiesis during endotoxemia. *Sci Rep*, *7*, 16935. doi: 10.1038/s41598-017-16869-2
- Lasseaux, C., Fourmaux, M. P., Chamaillard, M., & Poulin, L. F. (2017). Type I interferons drive inflammasome-independent emergency monocytopoiesis during endotoxemia. *Sci Rep*, *7*(1), 16935. doi: 10.1038/s41598-017-16869-2
- Lavagna-Sevenier, C., Marchetto, S., Birnbaum, D., & Rosnet, O. (1998). FLT3 signaling in hematopoietic cells involves CBL, SHC and an unknown P115 as prominent tyrosine-phosphorylated substrates. *Leukemia*, *12*(3), 301-310.
- Le Goffic, R., Balloy, V., Lagranderie, M., Alexopoulou, L., Escriou, N., Flavell, R., . . . Si-Tahar, M. (2006). Detrimental contribution of the Toll-like receptor (TLR)3 to influenza A virus-induced acute pneumonia. *PLoS Pathog*, *2*(6), e53. doi: 10.1371/journal.ppat.0020053
- Le Goffic, R., Pothlichet, J., Vitour, D., Fujita, T., Meurs, E., Chignard, M., & Si-Tahar, M. (2007). Cutting Edge: Influenza A virus activates TLR3-dependent inflammatory and RIG-I-dependent antiviral responses in human lung epithelial cells. *J Immunol*, *178*(6), 3368-3372.
- Lee, H. K., Mattei, L. M., Steinberg, B. E., Alberts, P., Lee, Y. H., Chervonsky, A., . . . Iwasaki, A. (2010). In vivo requirement for Atg5 in antigen presentation by dendritic cells. *Immunity*, *32*(2), 227-239. doi: 10.1016/j.immuni.2009.12.006
- Lee, J., Breton, G., Oliveira, T. Y. K., Zhou, Y. J., Aljoufi, A., Pühr, S., . . . Liu, K. (2015). Restricted dendritic cell and monocyte progenitors in human cord blood and bone marrow. *J Exp Med*, *212*(3), 385-399. doi: 10.1084/jem.20141442
- Lee, P. Y., Li, Y., Kumagai, Y., Xu, Y., Weinstein, J. S., Kellner, E. S., . . . Reeves, W. H. (2009). Type I Interferon Modulates Monocyte Recruitment and Maturation in Chronic Inflammation. *Am J Pathol*, *175*(5), 2023-2033. doi: 10.2353/ajpath.2009.090328
- Lee, S. M. Y., Gardy, J. L., Cheung, C. Y., Cheung, T. K. W., Hui, K. P. Y., Ip, N. Y., . . . Peiris, J. S. M. (2009). Systems-Level Comparison of Host-Responses Elicited by Avian H5N1 and Seasonal H1N1 Influenza Viruses in Primary Human Macrophages. *PLoS One*, *4*(12), e8072. doi: 10.1371/journal.pone.0008072
- Lee, S. M. Y., Kok, K.-H., Jaume, M., Cheung, T. K. W., Yip, T.-F., Lai, J. C. C., . . . Peiris, J. S. M. (2014). Toll-like receptor 10 is involved in induction of innate immune responses to influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *111*(10), 3793-3798. doi: 10.1073/pnas.1324266111
- Lemaitre, M., Carrat, F., Rey, G., Miller, M., Simonsen, L., & Viboud, C. (2012). Mortality Burden of the 2009 A/H1N1 Influenza Pandemic in France: Comparison to Seasonal Influenza and the A/H3N2 Pandemic. *PLoS One*, *7*(9), e45051. doi: 10.1371/journal.pone.0045051

- León, B., López-Bravo, M., & Ardavín, C. (2007). Monocyte-Derived Dendritic Cells Formed at the Infection Site Control the Induction of Protective T Helper 1 Responses against *Leishmania*. *Immunity*, *26*(4), 519-531. doi: 10.1016/j.immuni.2007.01.017
- LeVine, A. M., Koeningsknecht, V., & Stark, J. M. (2001). Decreased pulmonary clearance of *S. pneumoniae* following influenza A infection in mice. *J Virol Methods*, *94*(1-2), 173-186.
- Lewis, K. L., Caton, M. L., Bogunovic, M., Greter, M., Grajkowska, L. T., Ng, D., . . . Reizis, B. (2011). Notch2 receptor signaling controls functional differentiation of dendritic cells in the spleen and intestine. *Immunity*, *35*(5), 780-791. doi: 10.1016/j.immuni.2011.08.013
- Li, W., Moltedo, B., & Moran, T. M. (2012). Type I interferon induction during influenza virus infection increases susceptibility to secondary *Streptococcus pneumoniae* infection by negative regulation of $\gamma\delta$ T cells. *J Virol*, *86*(22), 12304-12312. doi: 10.1128/JVI.01269-12
- Li, W., Moltedo, B., & Moran, T. M. (2012). Type I Interferon Induction during Influenza Virus Infection Increases Susceptibility to Secondary *Streptococcus pneumoniae* Infection by Negative Regulation of $\gamma\delta$ T Cells. *J Virol*, *86*(22), 12304-12312. doi: 10.1128/JVI.01269-12
- Lin, H., Lee, E., Hestir, K., Leo, C., Huang, M., Bosch, E., . . . Williams, L. T. (2008). Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome. *Science*, *320*(5877), 807-811. doi: 10.1126/science.1154370
- Lin, J. H., & Wu, H. S. (2015). Challenges and Strategies of Laboratory Diagnosis for Newly Emerging Influenza Viruses in Taiwan: A Decade after SARS. *Biomed Res Int*, *2015*, 805306. doi: 10.1155/2015/805306
- Lin, K. L., Suzuki, Y., Nakano, H., Ramsburg, E., & Gunn, M. D. (2008). CCR2+ monocyte-derived dendritic cells and exudate macrophages produce influenza-induced pulmonary immune pathology and mortality. *J Immunol*, *180*(4), 2562-2572.
- Lin, K. L., Sweeney, S., Kang, B. D., Ramsburg, E., & Gunn, M. D. (2011). CCR2-antagonist prophylaxis reduces pulmonary immune pathology and markedly improves survival during influenza infection. *J Immunol*, *186*(1), 508-515. doi: 10.4049/jimmunol.1001002
- Lin, S.-J., & Lee, Y.-C. (2014). Effect of Influenza A Infection on Maturation and Function of Neonatal Monocyte-Derived Dendritic Cells. *Viral Immunology*, *27*(6), 277-284. doi: 10.1089/vim.2014.0007
- Lin, Y., Slight, S. R., & Khader, S. A. (2010). Th17 cytokines and vaccine-induced immunity. *Semin Immunopathol*, *32*(1), 79-90. doi: 10.1007/s00281-009-0191-2
- Liu, K., & Nussenzweig, M. C. (2010). Origin and development of dendritic cells. *Immunol Rev*, *234*(1), 45-54. doi: 10.1111/j.0105-2896.2009.00879.x
- Liu, K., Vitoria, G. D., Schwickert, T. A., Guermonprez, P., Meredith, M. M., Yao, K., . . . Nussenzweig, M. (2009). In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science (New York, N.Y.)*, *324*(5925), 392-397. doi: 10.1126/science.1170540
- Liu, K., Vitoria, G. D., Schwickert, T. A., Guermonprez, P., Meredith, M. M., Yao, K., . . . Nussenzweig, M. (2009). In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science*, *324*(5925), 392-397. doi: 10.1126/science.1170540
- Liu, Q., Zhou, Y.-h., & Yang, Z.-q. (2016). The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy. *Cellular and Molecular Immunology*, *13*(1), 3-10. doi: 10.1038/cmi.2015.74
- Liu, X., He, Y., Xiao, K., White, J. R., Fusco, D. N., & Papanicolaou, G. A. (2013). Effect of linezolid on clinical severity and pulmonary cytokines in a murine model of influenza A

- and *Staphylococcus aureus* coinfection. *PLoS One*, 8(3), e57483. doi: 10.1371/journal.pone.0057483
- Liu, Y., & Shi, G. (2014). Role of G Protein-Coupled Receptors in Control of Dendritic Cell Migration. *Biomed Res Int*, 2014, 738253. doi: 10.1155/2014/738253
- Long, J. P., Kotur, M. S., Stark, G. V., Warren, R. L., Kasoji, M., Craft, J. L., . . . Sabourin, C. L. (2013). Accumulation of CD11b(+)Gr-1(+) cells in the lung, blood and bone marrow of mice infected with highly pathogenic H5N1 and H1N1 influenza viruses. *Arch Virol*, 158(6), 1305-1322. doi: 10.1007/s00705-012-1593-3
- Longhi, M. P., Wright, K., Lauder, S. N., Nowell, M. A., Jones, G. W., Godkin, A. J., . . . Gallimore, A. M. (2008). Interleukin-6 Is Crucial for Recall of Influenza-Specific Memory CD4+ T Cells. *PLoS Pathog*, 4(2), e1000006. doi: 10.1371/journal.ppat.1000006
- Lopez, C. B., & Hermesh, T. (2011). Systemic responses during local viral infections: type I IFNs sound the alarm. *Curr Opin Immunol*, 23(4), 495-499. doi: 10.1016/j.coi.2011.06.003
- Luber, C. A., Cox, J., Lauterbach, H., Fancke, B., Selbach, M., Tschopp, J., . . . Mann, M. (2010). Quantitative proteomics reveals subset-specific viral recognition in dendritic cells. *Immunity*, 32(2), 279-289. doi: 10.1016/j.immuni.2010.01.013
- Lukens, M. V., Kruijssen, D., Coenjaerts, F. E., Kimpen, J. L., & van Bleek, G. M. (2009). Respiratory syncytial virus-induced activation and migration of respiratory dendritic cells and subsequent antigen presentation in the lung-draining lymph node. *J Virol*, 83(14), 7235-7243. doi: 10.1128/JVI.00452-09
- Luo, D., Ding, S. C., Vela, A., Kohlway, A., Lindenbach, B. D., & Pyle, A. M. (2011). Structural insights into RNA recognition by RIG-I. *Cell*, 147(2), 409-422. doi: 10.1016/j.cell.2011.09.023
- Lyman, S. D., & Jacobsen, S. E. (1998). c-kit ligand and Flt3 ligand: stem/progenitor cell factors with overlapping yet distinct activities. *Blood*, 91(4), 1101-1134.
- Lyman, S. D., James, L., Vanden Bos, T., de Vries, P., Brasel, K., Gliniak, B., . . . et al. (1993). Molecular cloning of a ligand for the flt3/flk-2 tyrosine kinase receptor: a proliferative factor for primitive hematopoietic cells. *Cell*, 75(6), 1157-1167.
- Ma, Q., Jones, D., & Springer, T. A. (1999). The Chemokine Receptor CXCR4 Is Required for the Retention of B Lineage and Granulocytic Precursors within the Bone Marrow Microenvironment. *Immunity*, 10(4), 463-471. doi: [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80046-1](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80046-1)
- MacDonald, K. P. A., Rowe, V., Bofinger, H. M., Thomas, R., Sasmono, T., Hume, D. A., & Hill, G. R. (2005). The Colony-Stimulating Factor 1 Receptor Is Expressed on Dendritic Cells during Differentiation and Regulates Their Expansion. *The Journal of Immunology*, 175(3), 1399-1405. doi: 10.4049/jimmunol.175.3.1399
- Machiels, B., Dourcy, M., Xiao, X., Javaux, J., Mesnil, C., Sabatel, C., . . . Gillet, L. (2017). A gammaherpesvirus provides protection against allergic asthma by inducing the replacement of resident alveolar macrophages with regulatory monocytes. *Nat Immunol*, 18(12), 1310-1320. doi: 10.1038/ni.3857
- Macho-Fernandez, E., Cruz, L. J., Ghinnagow, R., Fontaine, J., Bialecki, E., Frisch, B., . . . Faveeuw, C. (2014). Targeted Delivery of α -Galactosylceramide to CD8 α Dendritic Cells Optimizes Type I NKT Cell-Based Antitumor Responses. *The Journal of Immunology*, 193(2), 961-969. doi: 10.4049/jimmunol.1303029

- Maciejewski, J. P., Bruening, E. E., Donahue, R. E., Mocarski, E. S., Young, N. S., & St Jeor, S. C. (1992). Infection of hematopoietic progenitor cells by human cytomegalovirus. *Blood*, *80*(1), 170-178.
- MacNamara, K. C., Jones, M., Martin, O., & Winslow, G. M. (2011). Transient activation of hematopoietic stem and progenitor cells by IFN γ during acute bacterial infection. *PLoS One*, *6*(12), e28669. doi: 10.1371/journal.pone.0028669
- MacNamara, K. C., Oduro, K., Martin, O., Jones, D. D., McLaughlin, M., Choi, K., . . . Winslow, G. M. (2011). Infection-induced myelopoiesis during intracellular bacterial infection is critically dependent upon IFN- γ signaling. *J Immunol*, *186*(2), 1032-1043. doi: 10.4049/jimmunol.1001893
- Macri, C., Pang, E. S., Patton, T., & O'Keeffe, M. (2017). Dendritic cell subsets. *Semin Cell Dev Biol*. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.12.009
- Maisonnette, P., Bouguyon, E., Piton, G., Ezquerro, A., Urien, C., Deloizy, C., . . . Bertho, N. (2015). The respiratory DC/macrophage network at steady-state and upon influenza infection in the swine biomedical model. *Mucosal Immunol*, *9*, 835. doi: 10.1038/mi.2015.105
- <https://www.nature.com/articles/mi2015105#supplementary-information>
- Maltby, S., Hansbro, N. G., Tay, H. L., Stewart, J., Plank, M., Donges, B., . . . Foster, P. S. (2014). Production and differentiation of myeloid cells driven by proinflammatory cytokines in response to acute pneumovirus infection in mice. *J Immunol*, *193*(8), 4072-4082. doi: 10.4049/jimmunol.1400669
- Mantovani, A., Cassatella, M. A., Costantini, C., & Jaillon, S. (2011). Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*, *11*(8), 519-531. doi: 10.1038/nri3024
- Manz, M. G., & Boettcher, S. (2014). Emergency granulopoiesis. *Nature Reviews Immunology*, *14*, 302. doi: 10.1038/nri3660
- Manz, M. G., Traver, D., Miyamoto, T., Weissman, I. L., & Akashi, K. (2001). Dendritic cell potentials of early lymphoid and myeloid progenitors. *Blood*, *97*(11), 3333-3341.
- Maraskovsky, E., Brasel, K., Teepe, M., Roux, E. R., Lyman, S. D., Shortman, K., & McKenna, H. J. (1996). Dramatic increase in the numbers of functionally mature dendritic cells in Flt3 ligand-treated mice: multiple dendritic cell subpopulations identified. *J Exp Med*, *184*(5), 1953-1962.
- Maraskovsky, E., Daro, E., Roux, E., Teepe, M., Maliszewski, C. R., Hoek, J., . . . McKenna, H. J. (2000). In vivo generation of human dendritic cell subsets by Flt3 ligand. *Blood*, *96*(3), 878-884.
- Maraskovsky, E., Daro, E., Roux, E., Teepe, M., Maliszewski, C. R., Hoek, J., . . . McKenna, H. J. (2000). In vivo generation of human dendritic cell subsets by Flt3 ligand. *Blood*, *96*(3), 878-884.
- Matrosovich, M. N., Matrosovich, T. Y., Gray, T., Roberts, N. A., & Klenk, H.-D. (2004). Neuraminidase Is Important for the Initiation of Influenza Virus Infection in Human Airway Epithelium. *J Virol*, *78*(22), 12665-12667. doi: 10.1128/JVI.78.22.12665-12667.2004
- Matsukura, S., Kokubu, F., Noda, H., Tokunaga, H., & Adachi, M. (1996). Expression of IL-6, IL-8, and RANTES on human bronchial epithelial cells, NCI-H292, induced by influenza virus A. *J Allergy Clin Immunol*, *98*(6 Pt 1), 1080-1087.

- Matsuoka, Y., Matsumae, H., Katoh, M., Eisfeld, A. J., Neumann, G., Hase, T., . . . Kawaoka, Y. (2013). A comprehensive map of the influenza A virus replication cycle. *BMC Syst Biol*, 7, 97. doi: 10.1186/1752-0509-7-97
- Mazanec, M. B., Coudret, C. L., & Fletcher, D. R. (1995). Intracellular neutralization of influenza virus by immunoglobulin A anti-hemagglutinin monoclonal antibodies. *J Virol*, 69(2), 1339-1343.
- McCullers, J. A. (2006). Insights into the Interaction between Influenza Virus and Pneumococcus. *Clin Microbiol Rev*, 19(3), 571-582. doi: 10.1128/CMR.00058-05
- McCullers, J. A. (2014). The co-pathogenesis of influenza viruses with bacteria in the lung. *Nat Rev Microbiol*, 12(4), 252-262. doi: 10.1038/nrmicro3231
- McCullers, J. A., & Bartmess, K. C. (2003). Role of Neuraminidase in Lethal Synergism between Influenza Virus and Streptococcus pneumoniae. *J Infect Dis*, 187(6), 1000-1009. doi: 10.1086/368163
- McCullers, J. A., & Rehg, J. E. (2002). Lethal Synergism between Influenza Virus and Streptococcus pneumoniae: Characterization of a Mouse Model and the Role of Platelet-Activating Factor Receptor. *J Infect Dis*, 186(3), 341-350. doi: 10.1086/341462
- McGill, J., Heusel, J. W., & Legge, K. L. (2009). Innate immune control and regulation of influenza virus infections. *J Leukoc Biol*, 86(4), 803-812. doi: 10.1189/jlb.0509368
- McGill, J., & Legge, K. L. (2009). Contribution of lung-resident T cell proliferation to the overall magnitude of the antigen-specific CD8 T cell response in the lungs following murine influenza virus infection. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 183(7), 4177-4181. doi: 10.4049/jimmunol.0901109
- McGill, J., Van Rooijen, N., & Legge, K. L. (2008). Protective influenza-specific CD8 T cell responses require interactions with dendritic cells in the lungs. *J Exp Med*, 205(7), 1635-1646. doi: 10.1084/jem.20080314
- McKenna, H. J., Stocking, K. L., Miller, R. E., Brasel, K., De Smedt, T., Maraskovsky, E., . . . Peschon, J. J. (2000). Mice lacking flt3 ligand have deficient hematopoiesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells. *Blood*, 95(11), 3489-3497.
- McKinstry, K. K., Strutt, T. M., Buck, A., Curtis, J. D., Dibble, J. P., Huston, G., . . . Swain, S. L. (2009). IL-10 deficiency unleashes an influenza-specific Th17 response and enhances survival against high-dose challenge. *J Immunol*, 182(12), 7353-7363. doi: 10.4049/jimmunol.0900657
- Megias, J., Yanez, A., Moriano, S., O'Connor, J. E., Gozalbo, D., & Gil, M. L. (2012). Direct Toll-like receptor-mediated stimulation of hematopoietic stem and progenitor cells occurs in vivo and promotes differentiation toward macrophages. *Stem Cells*, 30(7), 1486-1495. doi: 10.1002/stem.1110
- Megjugorac, N. J., Young, H. A., Amrute, S. B., Olshalsky, S. L., & Fitzgerald-Bocarsly, P. (2004). Virally stimulated plasmacytoid dendritic cells produce chemokines and induce migration of T and NK cells. *J Leukoc Biol*, 75(3), 504-514. doi: 10.1189/jlb.0603291
- Meirow, Y., Kanterman, J., & Baniyash, M. (2015). Paving the Road to Tumor Development and Spreading: Myeloid-Derived Suppressor Cells are Ruling the Fate. *Front Immunol*, 6, 523. doi: 10.3389/fimmu.2015.00523
- Menezes, S., Melandri, D., Anselmi, G., Perchet, T., Loschko, J., Dubrot, J., . . . Guernonprez, P. (2016). The Heterogeneity of Ly6C(hi) Monocytes Controls Their Differentiation into

- iNOS(+) Macrophages or Monocyte-Derived Dendritic Cells. *Immunity*, 45(6), 1205-1218. doi: 10.1016/j.immuni.2016.12.001
- Merad, M., & Manz, M. G. (2009). Dendritic cell homeostasis. *Blood*, 113(15), 3418-3427. doi: 10.1182/blood-2008-12-180646
- Merad, M., Manz, M. G., Karsunky, H., Wagers, A., Peters, W., Charo, I., . . . Engleman, E. G. (2002). Langerhans cells renew in the skin throughout life under steady-state conditions. *Nat Immunol*, 3(12), 1135-1141. doi: 10.1038/ni852
- Merad, M., Sathe, P., Helft, J., Miller, J., & Mortha, A. (2013). The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu Rev Immunol*, 31, 563-604. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-074950
- Merad, M., Sathe, P., Helft, J., Miller, J., & Mortha, A. (2013a). The Dendritic Cell Lineage: Ontogeny and Function of Dendritic Cells and Their Subsets in the Steady State and the Inflamed Setting. *Annual Review of Immunology*, 31(1), 563-604. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-074950
- Merad, M., Sathe, P., Helft, J., Miller, J., & Mortha, A. (2013b). The Dendritic Cell Lineage: Ontogeny and Function of Dendritic Cells and Their Subsets in the Steady State and the Inflamed Setting. *Annual Review of Immunology*, 31, 10.1146/annurev-immunol-020711-074950. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-074950
- Mildner, A., & Jung, S. (2014). Development and function of dendritic cell subsets. *Immunity*, 40(5), 642-656. doi: 10.1016/j.immuni.2014.04.016
- Mildner, A., Yona, S., & Jung, S. (2013). A close encounter of the third kind: monocyte-derived cells. *Adv Immunol*, 120, 69-103. doi: 10.1016/B978-0-12-417028-5.00003-X
- Miller, J. C., Brown, B. D., Shay, T., Gautier, E. L., Jovic, V., Cohain, A., . . . Immunological Genome, C. (2012). Deciphering the transcriptional network of the dendritic cell lineage. *Nat Immunol*, 13(9), 888-899. doi: 10.1038/ni.2370
- Miloud, T., Fiegler, N., Suffner, J., Hammerling, G. J., & Garbi, N. (2012). Organ-specific cellular requirements for in vivo dendritic cell generation. *J Immunol*, 188(3), 1125-1135. doi: 10.4049/jimmunol.1003920
- Minas, K., & Liversidge, J. (2006). Is The CD200/CD200 Receptor Interaction More Than Just a Myeloid Cell Inhibitory Signal? *Critical reviews in immunology*, 26(3), 213-230.
- Mirandola, P., Secchiero, P., Pierpaoli, S., Visani, G., Zamai, L., Vitale, M., . . . Zauli, G. (2000). Infection of CD34(+) hematopoietic progenitor cells by human herpesvirus 7 (HHV-7). *Blood*, 96(1), 126-131.
- Mitnaul, L. J., Matrosovich, M. N., Castrucci, M. R., Tuzikov, A. B., Bovin, N. V., Kobasa, D., & Kawaoka, Y. (2000). Balanced hemagglutinin and neuraminidase activities are critical for efficient replication of influenza A virus. *J Virol*, 74(13), 6015-6020.
- Mogensen, T. H., & Paludan, S. R. (2001). Molecular pathways in virus-induced cytokine production. *Microbiol Mol Biol Rev*, 65(1), 131-150. doi: 10.1128/MMBR.65.1.131-150.2001
- Mohrin, M., Bourke, E., Alexander, D., Warr, M. R., Barry-Holson, K., Le Beau, M. M., . . . Passegue, E. (2010). Hematopoietic stem cell quiescence promotes error-prone DNA repair and mutagenesis. *Cell Stem Cell*, 7(2), 174-185. doi: 10.1016/j.stem.2010.06.014
- Moltedo, B., Lopez, C. B., Pazos, M., Becker, M. I., Hermesh, T., & Moran, T. M. (2009). Cutting edge: stealth influenza virus replication precedes the initiation of adaptive immunity. *J Immunol*, 183(6), 3569-3573. doi: 10.4049/jimmunol.0900091

- Monticelli, L. A., Sonnenberg, G. F., Abt, M. C., Alenghat, T., Ziegler, C. G., Doering, T. A., . . . Artis, D. (2011). Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nat Immunol*, *12*(11), 1045-1054. doi: 10.1031/ni.2131
- Monto, A. S., Gravenstein, S., Elliott, M., Colopy, M., & Schweinle, J. (2000). Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med*, *160*(21), 3243-3247.
- Mordstein, M., Kochs, G., Dumoutier, L., Renauld, J.-C., Paludan, S. R., Klucher, K., & Staeheli, P. (2008). Interferon- λ Contributes to Innate Immunity of Mice against Influenza A Virus but Not against Hepatotropic Viruses. *PLoS Pathog*, *4*(9), e1000151. doi: 10.1371/journal.ppat.1000151
- Mordstein, M., Kochs, G., Dumoutier, L., Renauld, J. C., Paludan, S. R., Klucher, K., & Staeheli, P. (2008). Interferon-lambda contributes to innate immunity of mice against influenza A virus but not against hepatotropic viruses. *PLoS Pathog*, *4*(9), e1000151. doi: 10.1371/journal.ppat.1000151
- Mozdzanowska, K., Maiese, K., & Gerhard, W. (2000). Th cell-deficient mice control influenza virus infection more effectively than Th- and B cell-deficient mice: evidence for a Th-independent contribution by B cells to virus clearance. *J Immunol*, *164*(5), 2635-2643.
- Muller, U., Steinhoff, U., Reis, L. F., Hemmi, S., Pavlovic, J., Zinkernagel, R. M., & Aguet, M. (1994). Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense. *Science*, *264*(5167), 1918-1921.
- Murphy, B. R., Nelson, D. L., Wright, P. F., Tierney, E. L., Phelan, M. A., & Chanock, R. M. (1982). Secretory and systemic immunological response in children infected with live attenuated influenza A virus vaccines. *Infect Immun*, *36*(3), 1102-1108.
- Murphy, T. L., Grajales-Reyes, G. E., Wu, X., Tussiwand, R., Brisenó, C. G., Iwata, A., . . . Murphy, K. M. (2015). Transcriptional Control of Dendritic Cell Development. *Annu Rev Immunol*. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120204
- Murphy, T. L., Grajales-Reyes, G. E., Wu, X., Tussiwand, R., Briseño, C. G., Iwata, A., . . . Murphy, K. M. (2016). Transcriptional Control of Dendritic Cell Development. *Annual Review of Immunology*, *34*, 93-119. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120204
- Nagai, Y., Garrett, K. P., Ohta, S., Bahrun, U., Kouro, T., Akira, S., . . . Kincade, P. W. (2006). Toll-like receptors on hematopoietic progenitor cells stimulate innate immune system replenishment. *Immunity*, *24*(6), 801-812. doi: 10.1016/j.immuni.2006.04.008
- Naik, S. H., Metcalf, D., van Nieuwenhuijze, A., Wicks, I., Wu, L., O'Keeffe, M., & Shortman, K. (2006). Intrasplenic steady-state dendritic cell precursors that are distinct from monocytes. *Nat Immunol*, *7*, 663. doi: 10.1038/ni1340
- <https://www.nature.com/articles/ni1340#supplementary-information>
- Naik, S. H., Metcalf, D., van Nieuwenhuijze, A., Wicks, I., Wu, L., O'Keeffe, M., & Shortman, K. (2006). Intrasplenic steady-state dendritic cell precursors that are distinct from monocytes. *Nat Immunol*, *7*(6), 663-671. doi: 10.1038/ni1340
- Naik, S. H., Sathe, P., Park, H. Y., Metcalf, D., Proietto, A. I., Dakic, A., . . . Shortman, K. (2007). Development of plasmacytoid and conventional dendritic cell subtypes from single precursor cells derived in vitro and in vivo. *Nat Immunol*, *8*(11), 1217-1226. doi: 10.1038/ni1522
- Nakano, H., Lin, K. L., Yanagita, M., Charbonneau, C., Cook, D. N., Kakiuchi, T., & Gunn, M. D. (2009). Blood-derived inflammatory dendritic cells in lymph nodes stimulate acute T helper type 1 immune responses. *Nat Immunol*, *10*(4), 394-402. doi: 10.1038/ni.1707

- Nakano, H., Lyons-Cohen, M. R., Whitehead, G. S., Nakano, K., & Cook, D. N. (2017). Distinct functions of CXCR4, CCR2, and CX3CR1 direct dendritic cell precursors from the bone marrow to the lung. *J Leukoc Biol*, *101*(5), 1143-1153. doi: 10.1189/jlb.1A0616-285R
- Nakano, H., Yanagita, M., & Gunn, M. D. (2001). CD11c(+)B220(+)Gr-1(+) cells in mouse lymph nodes and spleen display characteristics of plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*, *194*(8), 1171-1178.
- Narasaraju, T., Ng, H. H., Phoon, M. C., & Chow, V. T. K. (2010). MCP-1 Antibody Treatment Enhances Damage and Impedes Repair of the Alveolar Epithelium in Influenza Pneumonitis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, *42*(6), 732-743. doi: 10.1165/rcmb.2008-0423OC
- Narayana Moorthy, A., Narasaraju, T., Rai, P., Perumalsamy, R., Tan, K. B., Wang, S., . . . Chow, V. T. (2013). In vivo and in vitro studies on the roles of neutrophil extracellular traps during secondary pneumococcal pneumonia after primary pulmonary influenza infection. *Front Immunol*, *4*, 56. doi: 10.3389/fimmu.2013.00056
- Narita, K., Hu, D. L., Mori, F., Wakabayashi, K., Iwakura, Y., & Nakane, A. (2010). Role of interleukin-17A in cell-mediated protection against Staphylococcus aureus infection in mice immunized with the fibrinogen-binding domain of clumping factor A. *Infect Immun*, *78*(10), 4234-4242. doi: 10.1128/IAI.00447-10
- Nayak, D. P., Balogun, R. A., Yamada, H., Zhou, Z. H., & Barman, S. (2009). Influenza virus morphogenesis and budding. *Virus Res*, *143*(2), 147-161. doi: 10.1016/j.virusres.2009.05.010
- Nayak, D. P., Hui, E. K., & Barman, S. (2004). Assembly and budding of influenza virus. *Virus Res*, *106*(2), 147-165. doi: 10.1016/j.virusres.2004.08.012
- Neumann, G., Brownlee, G. G., Fodor, E., & Kawaoka, Y. (2004). Orthomyxovirus replication, transcription, and polyadenylation. *Curr Top Microbiol Immunol*, *283*, 121-143.
- Newton, S., Ding, Y., Chung, C.-S., Chen, Y., Lomas-Neira, J. L., & Ayala, A. (2004). Sepsis-Induced Changes in Macrophage Co-Stimulatory Molecule Expression: CD86 as a Regulator of Anti-Inflammatory IL-10 Response. *Surgical infections*, *5*(4), 375-383. doi: 10.1089/sur.2004.5.375
- Neyt, K., & Lambrecht, B. N. (2013). The role of lung dendritic cell subsets in immunity to respiratory viruses. *Immunol Rev*, *255*(1), 57-67. doi: 10.1111/imr.12100
- Nichol, K. L. (1999). The additive benefits of influenza and pneumococcal vaccinations during influenza seasons among elderly persons with chronic lung disease. *Vaccine*, *17 Suppl 1*, S91-93.
- Nicholson, K. G. (1996). Impact of influenza and respiratory syncytial virus on mortality in England and Wales from January 1975 to December 1990. *Epidemiol Infect*, *116*(1), 51-63.
- Nielsen, M. M., Witherden, D. A., & Havran, W. L. (2017). gammadelta T cells in homeostasis and host defence of epithelial barrier tissues. *Nat Rev Immunol*, *17*(12), 733-745. doi: 10.1038/nri.2017.101
- Nobs, S. P., Schneider, C., Dietrich, M. G., Brocker, T., Rolink, A., Hirsch, E., & Kopf, M. (2015). PI3-Kinase-gamma Has a Distinct and Essential Role in Lung-Specific Dendritic Cell Development. *Immunity*, *43*(4), 674-689. doi: 10.1016/j.immuni.2015.09.006
- Nombela-Arrieta, C., & Isringhausen, S. (2016). The Role of the Bone Marrow Stromal Compartment in the Hematopoietic Response to Microbial Infections. *Front Immunol*, *7*, 689. doi: 10.3389/fimmu.2016.00689

- Nussenzweig, M. C., Steinman, R. M., Gutchinov, B., & Cohn, Z. A. (1980). Dendritic cells are accessory cells for the development of anti-trinitrophenyl cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med*, 152(4), 1070-1084.
- O'Keeffe, M., Hochrein, H., Vremec, D., Caminschi, I., Miller, J. L., Anders, E. M., . . . Shortman, K. (2002). Mouse plasmacytoid cells: long-lived cells, heterogeneous in surface phenotype and function, that differentiate into CD8(+) dendritic cells only after microbial stimulus. *J Exp Med*, 196(10), 1307-1319.
- Oguro, H., Ding, L., & Morrison, Sean J. SLAM Family Markers Resolve Functionally Distinct Subpopulations of Hematopoietic Stem Cells and Multipotent Progenitors. *Cell Stem Cell*, 13(1), 102-116. doi: 10.1016/j.stem.2013.05.014
- Oh, S., McCaffery, J. M., & Eichelberger, M. C. (2000). Dose-dependent changes in influenza virus-infected dendritic cells result in increased allogeneic T-cell proliferation at low, but not high, doses of virus. *J Virol*, 74(12), 5460-5469.
- Oliveira, E. C., Marik, P. E., & Colice, G. (2001). Influenza pneumonia: a descriptive study. *Chest*, 119(6), 1717-1723.
- Onai, N., & Manz, M. G. (2008). The STATs on dendritic cell development. *Immunity*, 28(4), 490-492. doi: 10.1016/j.immuni.2008.03.006
- Onai, N., Obata-Onai, A., Schmid, M. A., Ohteki, T., Jarrossay, D., & Manz, M. G. (2007). Identification of clonogenic common Flt3+M-CSFR+ plasmacytoid and conventional dendritic cell progenitors in mouse bone marrow. *Nat Immunol*, 8, 1207. doi: 10.1038/ni1518
- <https://www.nature.com/articles/ni1518#supplementary-information>
- Onai, N., Obata-Onai, A., Tussiwand, R., Lanzavecchia, A., & Manz, M. G. (2006). Activation of the Flt3 signal transduction cascade rescues and enhances type I interferon-producing and dendritic cell development. *J Exp Med*, 203(1), 227-238. doi: 10.1084/jem.20051645
- Orkin, S. H., & Zon, L. I. (2008). Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*, 132(4), 631-644. doi: 10.1016/j.cell.2008.01.025
- Ouellet, D. L., Plante, I., Barat, C., Tremblay, M. J., & Provost, P. (2009). Emergence of a complex relationship between HIV-1 and the microRNA pathway. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 487, 415-433.
- Paget, C., Ivanov, S., Fontaine, J., Blanc, F., Pichavant, M., Renneson, J., . . . Trottein, F. (2011). Potential role of invariant NKT cells in the control of pulmonary inflammation and CD8+ T cell response during acute influenza A virus H3N2 pneumonia. *J Immunol*, 186(10), 5590-5602. doi: 10.4049/jimmunol.1002348
- Paget, C., Ivanov, S., Fontaine, J., Renneson, J., Blanc, F., Pichavant, M., . . . Trottein, F. (2012). Interleukin-22 is produced by invariant natural killer T lymphocytes during influenza A virus infection: potential role in protection against lung epithelial damages. *J Biol Chem*, 287(12), 8816-8829. doi: 10.1074/jbc.M111.304758
- Palacios, G., Hornig, M., Cisterna, D., Savji, N., Bussetti, A. V., Kapoor, V., . . . Lipkin, W. I. (2010). Streptococcus pneumoniae Coinfection Is Correlated with the Severity of H1N1 Pandemic Influenza. *PLoS One*, 4(12), e8540. doi: 10.1371/journal.pone.0008540
- Palese, P. (2004). Influenza: old and new threats. *Nat Med*, 10, S82. doi: 10.1038/nm1141
- Paludan, C., Schmid, D., Landthaler, M., Vockerodt, M., Kube, D., Tuschl, T., & Munz, C. (2005). Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *Science*, 307(5709), 593-596. doi: 10.1126/science.1104904

- Paludan, S. R. (2001). Requirements for the induction of interleukin-6 by herpes simplex virus-infected leukocytes. *J Virol*, *75*(17), 8008-8015.
- Pang, I. K., & Iwasaki, A. (2011). Inflammasomes as mediators of immunity against influenza virus. *Trends Immunol*, *32*(1), 34-41. doi: 10.1016/j.it.2010.11.004
- Pang, W. W., Price, E. A., Sahoo, D., Beerman, I., Maloney, W. J., Rossi, D. J., . . . Weissman, I. L. (2011). Human bone marrow hematopoietic stem cells are increased in frequency and myeloid-biased with age. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *108*(50), 20012-20017. doi: 10.1073/pnas.1116110108
- Pascutti, M. F., Erkelens, M. N., & Nolte, M. A. (2016). Impact of Viral Infections on Hematopoiesis: From Beneficial to Detrimental Effects on Bone Marrow Output. *Front Immunol*, *7*, 364. doi: 10.3389/fimmu.2016.00364
- Pasquevich, K. A., Bieber, K., Gunter, M., Grauer, M., Potz, O., Schleicher, U., . . . Autenrieth, S. E. (2015). Innate immune system favors emergency monopoiesis at the expense of DC-differentiation to control systemic bacterial infection in mice. *Eur J Immunol*, *45*(10), 2821-2833. doi: 10.1002/eji.201545530
- Pastille, E., Didovic, S., Brauckmann, D., Rani, M., Agrawal, H., Schade, F. U., . . . Flohe, S. B. (2011). Modulation of dendritic cell differentiation in the bone marrow mediates sustained immunosuppression after polymicrobial sepsis. *J Immunol*, *186*(2), 977-986. doi: 10.4049/jimmunol.1001147
- Patil, N. K., Bohannon, J. K., Luan, L., Guo, Y., Fensterheim, B., Hernandez, A., . . . Sherwood, E. R. (2017). Flt3 Ligand Treatment Attenuates T Cell Dysfunction and Improves Survival in a Murine Model of Burn Wound Sepsis. *Shock*, *47*(1), 40-51. doi: 10.1097/shk.0000000000000688
- Pène, F., Zuber, B., Courtine, E., Rousseau, C., Ouaz, F., Toubiana, J., . . . Chiche, J.-D. (2008). Dendritic Cells Modulate Lung Response to *Pseudomonas aeruginosa* in a Murine Model of Sepsis-Induced Immune Dysfunction. *The Journal of Immunology*, *181*(12), 8513-8520. doi: 10.4049/jimmunol.181.12.8513
- Pene, F., Zuber, B., Courtine, E., Rousseau, C., Ouaz, F., Toubiana, J., . . . Chiche, J. D. (2008). Dendritic cells modulate lung response to *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of sepsis-induced immune dysfunction. *J Immunol*, *181*(12), 8513-8520.
- Penkowa, M., Poulsen, C. B., Carrasco, J., & Hidalgo, J. (2002). RETRACTED: M-CSF Deficiency Leads to Reduced Metallothioneins I and II Expression and Increased Tissue Damage in the Brain Stem after 6-Aminonicotinamide Treatment. *Experimental Neurology*, *176*(2), 308-321. doi: https://doi.org/10.1006/exnr.2002.7968
- Penna, G., Vulcano, M., Sozzani, S., & Adorini, L. (2002). Differential migration behavior and chemokine production by myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *Hum Immunol*, *63*(12), 1164-1171.
- Perona-Wright, G., Mohrs, K., Szaba, F. M., Kummer, L. W., Madan, R., Karp, C. L., . . . Mohrs, M. (2009). Systemic but not local infections elicit immunosuppressive IL-10 production by Natural Killer cells. *Cell Host Microbe*, *6*(6), 503-512. doi: 10.1016/j.chom.2009.11.003
- Perrone, L. A., Plowden, J. K., Garcia-Sastre, A., Katz, J. M., & Tumpey, T. M. (2008). H5N1 and 1918 pandemic influenza virus infection results in early and excessive infiltration of macrophages and neutrophils in the lungs of mice. *PLoS Pathog*, *4*(8), e1000115. doi: 10.1371/journal.ppat.1000115

- Persson, E. K., Uronen-Hansson, H., Semmrich, M., Rivollier, A., Hagerbrand, K., Marsal, J., . . . Agace, W. W. (2013). IRF4 transcription-factor-dependent CD103(+)CD11b(+) dendritic cells drive mucosal T helper 17 cell differentiation. *Immunity*, *38*(5), 958-969. doi: 10.1016/j.immuni.2013.03.009
- Petric, M., Comanor, L., & Petti, Cathy A. (2006). Role of the Laboratory in Diagnosis of Influenza during Seasonal Epidemics and Potential Pandemics. *J Infect Dis*, *194*(Supplement_2), S98-S110. doi: 10.1086/507554
- Petridis, D., Zarogoulidis, P., Kallianos, A., Kioumis, I., Trakada, G., Spyrtos, D., . . . Zarogoulidis, K. (2014). Clinical differences between H3N2 and H1N1 influenza 2012 and lower respiratory tract infection found using a statistical classification approach. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, *10*, 77-86. doi: 10.2147/TCRM.S57429
- Pichlmair, A., Schulz, O., Tan, C. P., Naslund, T. I., Liljestrom, P., Weber, F., & Reis e Sousa, C. (2006). RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science*, *314*(5801), 997-1001. doi: 10.1126/science.1132998
- Piqueras, B., Connolly, J., Freitas, H., Palucka, A. K., & Banchereau, J. (2006). Upon viral exposure, myeloid and plasmacytoid dendritic cells produce 3 waves of distinct chemokines to recruit immune effectors. *Blood*, *107*(7), 2613-2618. doi: 10.1182/blood-2005-07-2965
- Pittet, L. A., Hall-Stoodley, L., Rutkowski, M. R., & Harmsen, A. G. (2010). Influenza virus infection decreases tracheal mucociliary velocity and clearance of *Streptococcus pneumoniae*. *Am J Respir Cell Mol Biol*, *42*(4), 450-460. doi: 10.1165/rcmb.2007-0417OC
- Pixley, F. J., & Stanley, E. R. (2004). CSF-1 regulation of the wandering macrophage: complexity in action. *Trends Cell Biol*, *14*(11), 628-638. doi: 10.1016/j.tcb.2004.09.016
- Plantinga, M., Guilliams, M., Vanheerswyngheles, M., Deswarte, K., Branco-Madeira, F., Toussaint, W., . . . Lambrecht, B. N. (2013). Conventional and monocyte-derived CD11b(+) dendritic cells initiate and maintain T helper 2 cell-mediated immunity to house dust mite allergen. *Immunity*, *38*(2), 322-335. doi: 10.1016/j.immuni.2012.10.016
- Plotkowski, M.-C., Puchelle, E., Beck, G., Jacquot, J., & Hannoun, C. (1986). Adherence of Type I *Streptococcus pneumoniae* to Tracheal Epithelium of Mice Infected with Influenza A/PR8 Virus. *American Review of Respiratory Disease*, *134*(5), 1040-1044. doi: 10.1164/arrd.1986.134.5.1040
- Poehlmann, H., Schefold, J. C., Zuckermann-Becker, H., Volk, H.-D., & Meisel, C. (2009). Phenotype changes and impaired function of dendritic cell subsets in patients with sepsis: a prospective observational analysis. *Crit Care*, *13*(4), R119. doi: 10.1186/cc7969
- Presneill, J. J., Waring, P. M., Layton, J. E., Maher, D. W., Cebon, J., Harley, N. S., . . . Cade, J. F. (2000). Plasma granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor levels in critical illness including sepsis and septic shock: relation to disease severity, multiple organ dysfunction, and mortality. *Crit Care Med*, *28*(7), 2344-2354.
- Proietto, A. I., O'Keeffe, M., Gartlan, K., Wright, M. D., Shortman, K., Wu, L., & Lahoud, M. H. (2004). Differential production of inflammatory chemokines by murine dendritic cell subsets. *Immunobiology*, *209*(1-2), 163-172. doi: 10.1016/j.imbio.2004.03.002
- Prost, S., Le Dantec, M., Augé, S., Le Grand, R., Derdouch, S., Auregan, G., . . . Kirszenbaum, M. (2008). Human and simian immunodeficiency viruses deregulate early hematopoiesis through a Nef/PPAR γ /STAT5 signaling pathway in macaques. *J Clin Invest*, *118*(5), 1765-1775. doi: 10.1172/JCI33037

- Pulendran, B., Banchereau, J., Burkeholder, S., Kraus, E., Guinet, E., Chalouni, C., . . . Palucka, K. (2000). Flt3-ligand and granulocyte colony-stimulating factor mobilize distinct human dendritic cell subsets in vivo. *J Immunol*, *165*(1), 566-572.
- Pulendran, B., Lingappa, J., Kennedy, M. K., Smith, J., Teepe, M., Rudensky, A., . . . Maraskovsky, E. (1997). Developmental pathways of dendritic cells in vivo: distinct function, phenotype, and localization of dendritic cell subsets in FLT3 ligand-treated mice. *J Immunol*, *159*(5), 2222-2231.
- Purnama, C., Ng, S. L., Tetlak, P., Setiagani, Y. A., Kandasamy, M., Baalasubramanian, S., . . . Ruedl, C. (2014). Transient ablation of alveolar macrophages leads to massive pathology of influenza infection without affecting cellular adaptive immunity. *Eur J Immunol*, *44*(7), 2003-2012. doi: 10.1002/eji.201344359
- Qi, L., Kash, J. C., Dugan, V. G., Jagger, B. W., Lau, Y.-F., Sheng, Z.-M., . . . Taubenberger, J. K. (2011). The Ability of Pandemic Influenza Virus Hemagglutinins to Induce Lower Respiratory Pathology is Associated with Decreased Surfactant Protein D Binding. *Virology*, *412*(2), 426-434. doi: 10.1016/j.virol.2011.01.029
- Qin, G., Mao, H., Zheng, J., Sia, S. F., Liu, Y., Chan, P. L., . . . Tu, W. (2009). Phosphoantigen-expanded human gammadelta T cells display potent cytotoxicity against monocyte-derived macrophages infected with human and avian influenza viruses. *J Infect Dis*, *200*(6), 858-865. doi: 10.1086/605413
- Qu, C., Edwards, E. W., Tacke, F., Angeli, V., Llodra, J., Sanchez-Schmitz, G., . . . Randolph, G. J. (2004). Role of CCR8 and other chemokine pathways in the migration of monocyte-derived dendritic cells to lymph nodes. *J Exp Med*, *200*(10), 1231-1241. doi: 10.1084/jem.20032152
- Quezada, S. A., Jarvinen, L. Z., Lind, E. F., & Noelle, R. J. (2004). CD40/CD154 Interactions at the Interface of Tolerance and Immunity. *Annual Review of Immunology*, *22*(1), 307-328. doi: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104533
- Rajagopal, S., & Treanor, J. (2007). Pandemic (Avian) Influenza. *Semin Respir Crit Care Med*, *28*(02), 159-170. doi: 10.1055/s-2007-976488
- Reagan, M. R., & Rosen, C. J. (2016). Navigating the bone marrow niche: translational insights and cancer-driven dysfunction. *Nat Rev Rheumatol*, *12*(3), 154-168. doi: 10.1038/nrrheum.2015.160
- Regner, M., Pavlinovic, L., Koskinen, A., Young, N., Trapani, J. A., & Mullbacher, A. (2009). Cutting edge: rapid and efficient in vivo cytotoxicity by cytotoxic T cells is independent of granzymes A and B. *J Immunol*, *183*(1), 37-40. doi: 10.4049/jimmunol.0900466
- Reizis, B., Bunin, A., Ghosh, H. S., Lewis, K. L., & Sisirak, V. (2011). Plasmacytoid dendritic cells: recent progress and open questions. *Annu Rev Immunol*, *29*, 163-183. doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101345
- Remot, A., Descamps, D., Jouneau, L., Laubret, D., Dubuquoy, C., Bouet, S., . . . Riffault, S. (2016). Flt3 ligand improves the innate response to respiratory syncytial virus and limits lung disease upon RSV reexposure in neonate mice. *Eur J Immunol*, *46*(4), 874-884. doi: 10.1002/eji.201545929
- Rivera, A., Siracusa, M. C., Yap, G. S., & Gause, W. C. (2016). Innate cell communication kick-starts pathogen-specific immunity. *Nat Immunol*, *17*(4), 356-363. doi: 10.1038/ni.3375
- Robbins, S. H., Walzer, T., Dombé, D., Thibault, C., Defays, A., Bessou, G., . . . Dalod, M. (2008). Novel insights into the relationships between dendritic cell subsets in human and

- mouse revealed by genome-wide expression profiling. *Genome Biol*, 9(1), R17-R17. doi: 10.1186/gb-2008-9-1-r17
- Roberts, K. L., Manicassamy, B., & Lamb, R. A. (2015). Influenza A virus uses intercellular connections to spread to neighboring cells. *J Virol*, 89(3), 1537-1549. doi: 10.1128/JVI.03306-14
- Robertson, J. S., Schubert, M., & Lazzarini, R. A. (1981). Polyadenylation sites for influenza virus mRNA. *J Virol*, 38(1), 157-163.
- Robinson, K. M., Choi, S. M., McHugh, K. J., Mandalapu, S., Enelow, R. I., Kolls, J. K., & Alcorn, J. F. (2013). Influenza A exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia by attenuating IL-1beta production in mice. *J Immunol*, 191(10), 5153-5159. doi: 10.4049/jimmunol.1301237
- Robinson, K. M., Kolls, J. K., & Alcorn, J. F. (2015). The immunology of influenza virus-associated bacterial pneumonia. *Curr Opin Immunol*, 34, 59-67. doi: 10.1016/j.coi.2015.02.002
- Robinson, K. M., McHugh, K. J., Mandalapu, S., Clay, M. E., Lee, B., Scheller, E. V., . . . Alcorn, J. F. (2014). Influenza A virus exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia in mice by attenuating antimicrobial peptide production. *J Infect Dis*, 209(6), 865-875. doi: 10.1093/infdis/jit527
- Rock, K. L. (2003). The ins and outs of cross-presentation. *Nat Immunol*, 4(10), 941-943. doi: 10.1038/ni1003-941
- Romani, N., Brunner, P. M., & Stingl, G. (2012). Changing views of the role of Langerhans cells. *J Invest Dermatol*, 132(3 Pt 2), 872-881. doi: 10.1038/jid.2011.437
- Romani, N., Clausen, B. E., & Stoitzner, P. (2010). Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunol Rev*, 234(1), 120-141. doi: 10.1111/j.0105-2896.2009.00886.x
- Romani, N., Koide, S., Crowley, M., Witmer-Pack, M., Livingstone, A. M., Fathman, C. G., . . . Steinman, R. M. (1989). Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cell clones. Intact protein is presented best by immature, epidermal Langerhans cells. *J Exp Med*, 169(3), 1169-1178.
- Roncarolo, M. G., Bigler, M., Haanen, J. B., Yssel, H., Bacchetta, R., de Vries, J. E., & Spits, H. (1991). Natural killer cell clones can efficiently process and present protein antigens. *The Journal of Immunology*, 147(3), 781-787.
- Roquilly, A., McWilliam, H. E. G., Jacqueline, C., Tian, Z., Cinotti, R., Rimbart, M., . . . Villadangos, J. A. (2017). Local Modulation of Antigen-Presenting Cell Development after Resolution of Pneumonia Induces Long-Term Susceptibility to Secondary Infections. *Immunity*, 47(1), 135-147 e135. doi: 10.1016/j.immuni.2017.06.021
- Rothbarth, P. H., Groen, J., Bohnen, A. M., de Groot, R., & Osterhaus, A. D. (1999). Influenza virus serology--a comparative study. *J Virol Methods*, 78(1-2), 163-169.
- Rouse, B. T., & Sehrawat, S. (2010). IMMUNITY AND IMMUNOPATHOLOGY TO VIRUSES: what decides the outcome? *Nat Rev Immunol*, 10(7), 514-526. doi: 10.1038/nri2802
- Ruckwardt, T. J., Morabito, K. M., Bar-Haim, E., Nair, D., & Graham, B. S. (2018). Neonatal mice possess two phenotypically and functionally distinct lung-migratory CD103+ dendritic cell populations following respiratory infection. *Mucosal Immunol*, 11(1), 186-198. doi: 10.1038/mi.2017.28
- Rynda-Apple, A., Harmsen, A., Erickson, A. S., Larson, K., Morton, R. V., Richert, L. E., & Harmsen, A. G. (2014). Regulation of IFN- γ by IL-13 Dictates the Susceptibility to

- Secondary Post-Influenza MRSA Pneumonia. *Eur J Immunol*, 44(11), 3263-3272. doi: 10.1002/eji.201444582
- Rynda-Apple, A., Robinson, K. M., & Alcorn, J. F. (2015). Influenza and Bacterial Superinfection: Illuminating the Immunologic Mechanisms of Disease. *Infect Immun*, 83(10), 3764-3770. doi: 10.1128/IAI.00298-15
- Sabado, R. L., Balan, S., & Bhardwaj, N. (2017). Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Res*, 27(1), 74-95. doi: 10.1038/cr.2016.157
- Saez-Borderias, A., Guma, M., Angulo, A., Bellosillo, B., Pende, D., & Lopez-Botet, M. (2006). Expression and function of NKG2D in CD4+ T cells specific for human cytomegalovirus. *Eur J Immunol*, 36(12), 3198-3206. doi: 10.1002/eji.200636682
- Saito, Y., Boddupalli, C. S., Borsotti, C., & Manz, M. G. (2013). Dendritic cell homeostasis is maintained by nonhematopoietic and T-cell-produced Flt3-ligand in steady state and during immune responses. *Eur J Immunol*, 43(6), 1651-1658. doi: 10.1002/eji.201243163
- Sakai, S., Kawamata, H., Mantani, N., Kogure, T., Shimada, Y., Terasawa, K., . . . Ochiai, H. (2000). Therapeutic effect of anti-macrophage inflammatory protein 2 antibody on influenza virus-induced pneumonia in mice. *J Virol*, 74(5), 2472-2476.
- Sallusto, F., Cella, M., Danieli, C., & Lanzavecchia, A. (1995). Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med*, 182(2), 389-400.
- Samji, T. (2009). Influenza A: understanding the viral life cycle. *Yale J Biol Med*, 82(4), 153-159.
- Sanchez-Paulete, A. R., Teijeira, A., Cueto, F. J., Garasa, S., Perez-Gracia, J. L., Sanchez-Arreaez, A., . . . Melero, I. (2017). Antigen cross-presentation and T-cell cross-priming in cancer immunology and immunotherapy. *Ann Oncol*, 28(suppl_12), xii44-xii55. doi: 10.1093/annonc/mdx237
- Sanders, C. J., Doherty, P. C., & Thomas, P. G. (2011). Respiratory epithelial cells in innate immunity to influenza virus infection. *Cell Tissue Res*, 343(1), 13-21. doi: 10.1007/s00441-010-1043-z
- Sapozhnikov, A., Fischer, J. A. A., Zaft, T., Krauthgamer, R., Dzionek, A., & Jung, S. (2007). Organ-dependent in vivo priming of naive CD4(+), but not CD8(+), T cells by plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*, 204(8), 1923-1933. doi: 10.1084/jem.20062373
- Sato, T., Onai, N., Yoshihara, H., Arai, F., Suda, T., & Ohteki, T. (2009). Interferon regulatory factor-2 protects quiescent hematopoietic stem cells from type I interferon-dependent exhaustion. *Nat Med*, 15, 696. doi: 10.1038/nm.1973
- <https://www.nature.com/articles/nm.1973#supplementary-information>
- Satpathy, A. T., KC, W., Albring, J. C., Edelson, B. T., Kretzer, N. M., Bhattacharya, D., . . . Murphy, K. M. (2012). Zbtb46 expression distinguishes classical dendritic cells and their committed progenitors from other immune lineages. *J Exp Med*, 209(6), 1135-1152. doi: 10.1084/jem.20120030
- Schlecht, G., Garcia, S., Escriou, N., Freitas, A. A., Leclerc, C., & Dadaglio, G. (2004). Murine plasmacytoid dendritic cells induce effector/memory CD8+ T-cell responses in vivo after viral stimulation. *Blood*, 104(6), 1808-1815. doi: 10.1182/blood-2004-02-0426
- Schlitzer, A., Heiseke, A. F., Einwachter, H., Reindl, W., Schiemann, M., Manta, C. P., . . . Krug, A. B. (2012). Tissue-specific differentiation of a circulating CCR9- pDC-like common dendritic cell precursor. *Blood*, 119(25), 6063-6071. doi: 10.1182/blood-2012-03-418400

- Schlitzer, A., Loschko, J., Mair, K., Vogelmann, R., Henkel, L., Einwächter, H., . . . Krug, A. (2011). Identification of CCR9⁺ murine plasmacytoid DC precursors with plasticity to differentiate into conventional DCs. *Blood*, *117*(24), 6562-6570. doi: 10.1182/blood-2010-12-326678
- Schlitzer, A., McGovern, N., Teo, P., Zelante, T., Atarashi, K., Low, D., . . . Ginhoux, F. (2013). IRF4 transcription factor-dependent CD11b⁺ dendritic cells in human and mouse control mucosal IL-17 cytokine responses. *Immunity*, *38*(5), 970-983. doi: 10.1016/j.immuni.2013.04.011
- Schlitzer, A., Sivakamasundari, V., Chen, J., Sumatoh, H. R., Schreuder, J., Lum, J., . . . Ginhoux, F. (2015). Identification of cDC1- and cDC2-committed DC progenitors reveals early lineage priming at the common DC progenitor stage in the bone marrow. *Nat Immunol*, *16*(7), 718-728. doi: 10.1038/ni.3200
- Schmid, M. A., Kingston, D., Boddupalli, S., & Manz, M. G. (2010). Instructive cytokine signals in dendritic cell lineage commitment. *Immunol Rev*, *234*(1), 32-44. doi: 10.1111/j.0105-2896.2009.00877.x
- Schmid, M. A., Takizawa, H., Baumjohann, D. R., Saito, Y., & Manz, M. G. (2011). Bone marrow dendritic cell progenitors sense pathogens via Toll-like receptors and subsequently migrate to inflamed lymph nodes. *Blood*, *118*(18), 4829-4840. doi: 10.1182/blood-2011-03-344960
- Schneider, C., Nobs, S. P., Heer, A. K., Kurrer, M., Klinke, G., van Rooijen, N., . . . Kopf, M. (2014). Alveolar macrophages are essential for protection from respiratory failure and associated morbidity following influenza virus infection. *PLoS Pathog*, *10*(4), e1004053. doi: 10.1371/journal.ppat.1004053
- Schuettpelz, L. G., & Link, D. C. (2013). Regulation of hematopoietic stem cell activity by inflammation. *Front Immunol*, *4*, 204. doi: 10.3389/fimmu.2013.00204
- Schulz, O., Diebold, S. S., Chen, M., Naslund, T. I., Nolte, M. A., Alexopoulou, L., . . . Reis e Sousa, C. (2005). Toll-like receptor 3 promotes cross-priming to virus-infected cells. *Nature*, *433*(7028), 887-892. doi: 10.1038/nature03326
- Schurch, C. M., Riether, C., & Ochsenein, A. F. (2014). Cytotoxic CD8⁺ T cells stimulate hematopoietic progenitors by promoting cytokine release from bone marrow mesenchymal stromal cells. *Cell Stem Cell*, *14*(4), 460-472. doi: 10.1016/j.stem.2014.01.002
- Sedger, L. M., Hou, S., Osvath, S. R., Glaccum, M. B., Peschon, J. J., van Rooijen, N., & Hyland, L. (2002). Bone marrow B cell apoptosis during in vivo influenza virus infection requires TNF-alpha and lymphotoxin-alpha. *J Immunol*, *169*(11), 6193-6201.
- See, P., Dutertre, C.-A., Chen, J., Günther, P., McGovern, N., Irac, S. E., . . . Ginhoux, F. (2017). Mapping the human DC lineage through the integration of high-dimensional techniques. *Science*, *356*(6342). doi: 10.1126/science.aag3009
- Segura, E., & Amigorena, S. (2013). Inflammatory dendritic cells in mice and humans. *Trends Immunol*, *34*(9), 440-445. doi: 10.1016/j.it.2013.06.001
- Seki, M., Higashiyama, Y., Tomono, K., Yanagihara, K., Ohno, H., Kaneko, Y., . . . Kohno, S. (2004). Acute infection with influenza virus enhances susceptibility to fatal pneumonia following Streptococcus pneumoniae infection in mice with chronic pulmonary colonization with Pseudomonas aeruginosa. *Clinical & Experimental Immunology*, *137*(1), 35-40. doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02481.x
- Selig, C., & Nothdurft, W. (1995). Cytokines and progenitor cells of granulocytopenia in peripheral blood of patients with bacterial infections. *Infect Immun*, *63*(1), 104-109.

- Seo, S. U., Kwon, H. J., Ko, H. J., Byun, Y. H., Seong, B. L., Uematsu, S., . . . Kweon, M. N. (2011). Type I interferon signaling regulates Ly6C(hi) monocytes and neutrophils during acute viral pneumonia in mice. *PLoS Pathog*, 7(2), e1001304. doi: 10.1371/journal.ppat.1001304
- Seo, S. U., Kwon, H. J., Song, J. H., Byun, Y. H., Seong, B. L., Kawai, T., . . . Kweon, M. N. (2010). MyD88 signaling is indispensable for primary influenza A virus infection but dispensable for secondary infection. *J Virol*, 84(24), 12713-12722. doi: 10.1128/JVI.01675-10
- Serbina, N. V., Hohl, T. M., Cherny, M., & Pamer, E. G. (2009). Selective expansion of the monocytic lineage directed by bacterial infection. *J Immunol*, 183(3), 1900-1910. doi: 10.4049/jimmunol.0900612
- Serbina, N. V., & Pamer, E. G. (2006). Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor CCR2. *Nat Immunol*, 7(3), 311-317. doi: 10.1038/ni1309
- Serbina, N. V., Salazar-Mather, T. P., Biron, C. A., Kuziel, W. A., & Pamer, E. G. (2003). TNF/iNOS-producing dendritic cells mediate innate immune defense against bacterial infection. *Immunity*, 19(1), 59-70.
- Sever-Chroneos, Z., Murthy, A., Davis, J., Florence, J. M., Kurdowska, A., Krupa, A., . . . Chronos, Z. C. (2011). GM-CSF modulates pulmonary resistance to influenza A infection. *Antiviral Res*, 92(2), 319-328. doi: 10.1016/j.antiviral.2011.08.022
- Sevilla, N., McGavern, D. B., Teng, C., Kunz, S., & Oldstone, M. B. A. (2004). Viral targeting of hematopoietic progenitors and inhibition of DC maturation as a dual strategy for immune subversion. *Journal of Clinical Investigation*, 113(5), 737-745. doi: 10.1172/JCI200420243
- Shahangian, A., Chow, E. K., Tian, X., Kang, J. R., Ghaffari, A., Liu, S. Y., . . . Deng, J. C. (2009). Type I IFNs mediate development of postinfluenza bacterial pneumonia in mice. *J Clin Invest*, 119(7), 1910-1920. doi: 10.1172/JCI35412
- Shao, L., Wang, Y., Chang, J., Luo, Y., Meng, A., & Zhou, D. (2013). Hematopoietic stem cell senescence and cancer therapy-induced long-term bone marrow injury. *Transl Cancer Res*, 2(5), 397-411. doi: 10.3978/j.issn.2218-676X.2013.07.03
- Shi, C., Jia, T., Mendez-Ferrer, S., Hohl, T. M., Serbina, N. V., Lipuma, L., . . . Pamer, E. G. (2011). Bone marrow mesenchymal stem and progenitor cells induce monocyte emigration in response to circulating toll-like receptor ligands. *Immunity*, 34(4), 590-601. doi: 10.1016/j.immuni.2011.02.016
- Shi, C., & Pamer, E. G. (2011). Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 11(11), 762-774. doi: 10.1038/nri3070
- Short, K. R., Kasper, J., van der Aa, S., Andeweg, A. C., Zaaoui-Boutahar, F., Goeijenbier, M., . . . Kuiken, T. (2016). Influenza virus damages the alveolar barrier by disrupting epithelial cell tight junctions. *European Respiratory Journal*, 47(3), 954-966. doi: 10.1183/13993003.01282-2015
- Shortman, K. (2012). Ralph Steinman and dendritic cells. *Immunol Cell Biol*, 90(1), 1-2. doi: 10.1038/icb.2011.91
- Shortman, K., & Naik, S. H. (2007). Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. *Nat Rev Immunol*, 7(1), 19-30. doi: 10.1038/nri1996

- Sichien, D., Lambrecht, B. N., Williams, M., & Scott, C. L. (2017). Development of conventional dendritic cells: from common bone marrow progenitors to multiple subsets in peripheral tissues. *Mucosal Immunol*, *10*, 831. doi: 10.1038/mi.2017.8
- Siddiqui, K. R. R., Laffont, S., & Powrie, F. (2010). E-Cadherin Marks a Subset of Inflammatory Dendritic Cells that Promote T Cell-Mediated Colitis. *Immunity*, *32*(4), 557-567. doi: 10.1016/j.immuni.2010.03.017
- Siegal, F. P., Kadowaki, N., Shodell, M., Fitzgerald-Bocarsly, P. A., Shah, K., Ho, S., . . . Liu, Y.-J. (1999). The Nature of the Principal Type 1 Interferon-Producing Cells in Human Blood. *Science*, *284*(5421), 1835-1837. doi: 10.1126/science.284.5421.1835
- Siegal, F. P., Kadowaki, N., Shodell, M., Fitzgerald-Bocarsly, P. A., Shah, K., Ho, S., . . . Liu, Y. J. (1999). The nature of the principal type 1 interferon-producing cells in human blood. *Science*, *284*(5421), 1835-1837.
- Simmons, P., Kaushansky, K., & Torok-Storb, B. (1990). Mechanisms of cytomegalovirus-mediated myelosuppression: perturbation of stromal cell function versus direct infection of myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *87*(4), 1386-1390.
- Sioud, M., Fløisand, Y., Forfang, L., & Lund-Johansen, F. (2006). Signaling through Toll-like Receptor 7/8 Induces the Differentiation of Human Bone Marrow CD34+ Progenitor Cells along the Myeloid Lineage. *Journal of Molecular Biology*, *364*(5), 945-954. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.09.054>
- Sjöblom, C., Wikland, M., & Robertson, S. A. (2002). Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Acts Independently of the Beta Common Subunit of the GM-CSF Receptor to Prevent Inner Cell Mass Apoptosis in Human Embryos1. *Biology of Reproduction*, *67*(6), 1817-1823. doi: 10.1095/biolreprod.101.001503
- Small, C. L., Shaler, C. R., McCormick, S., Jeyanathan, M., Damjanovic, D., Brown, E. G., . . . Xing, Z. (2010). Influenza infection leads to increased susceptibility to subsequent bacterial superinfection by impairing NK cell responses in the lung. *J Immunol*, *184*(4), 2048-2056. doi: 10.4049/jimmunol.0902772
- Smed-Sorensen, A., Chalouni, C., Chatterjee, B., Cohn, L., Blattmann, P., Nakamura, N., . . . Mellman, I. (2012). Influenza A virus infection of human primary dendritic cells impairs their ability to cross-present antigen to CD8 T cells. *PLoS Pathog*, *8*(3), e1002572. doi: 10.1371/journal.ppat.1002572
- Smit, J. J., Lindell, D. M., Boon, L., Kool, M., Lambrecht, B. N., & Lukacs, N. W. (2008). The Balance between Plasmacytoid DC versus Conventional DC Determines Pulmonary Immunity to Virus Infections. *PLoS One*, *3*(3), e1720. doi: 10.1371/journal.pone.0001720
- Smith, B. R. (1990). Regulation of hematopoiesis. *Yale J Biol Med*, *63*(5), 371-380.
- Smith, G. J., Bahl, J., Vijaykrishna, D., Zhang, J., Poon, L. L., Chen, H., . . . Guan, Y. (2009). Dating the emergence of pandemic influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *106*(28), 11709-11712. doi: 10.1073/pnas.0904991106
- Smith, G. J. D., Vijaykrishna, D., Bahl, J., Lycett, S. J., Worobey, M., Pybus, O. G., . . . Rambaut, A. (2009). Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature*, *459*, 1122. doi: 10.1038/nature08182
- <https://www.nature.com/articles/nature08182#supplementary-information>
- Snelgrove, R. J., Goulding, J., Didierlaurent, A. M., Lyonga, D., Vekaria, S., Edwards, L., . . . Hussell, T. (2008). A critical function for CD200 in lung immune homeostasis and the severity of influenza infection. *Nat Immunol*, *9*(9), 1074-1083. doi: 10.1038/ni.1637

- Soghoian, D. Z., & Streeck, H. (2010). Cytolytic CD4(+) T cells in viral immunity. *Expert Rev Vaccines*, 9(12), 1453-1463. doi: 10.1586/erv.10.132
- Sozzani, S., Vermi, W., Del Prete, A., & Facchetti, F. (2010). Trafficking properties of plasmacytoid dendritic cells in health and disease. *Trends Immunol*, 31(7), 270-277. doi: 10.1016/j.it.2010.05.004
- Srivastava, B., Błażejewska, P., Heßmann, M., Bruder, D., Geffers, R., Mauer, S., . . . Schughart, K. (2009). Host Genetic Background Strongly Influences the Response to Influenza A Virus Infections. *PLoS One*, 4(3), e4857. doi: 10.1371/journal.pone.0004857
- Stein-Streilein, J., & Guffee, J. (1986). In vivo treatment of mice and hamsters with antibodies to asialo GM1 increases morbidity and mortality to pulmonary influenza infection. *J Immunol*, 136(4), 1435-1441.
- Steinman, R. M., & Cohn, Z. A. (1973). Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*, 137(5), 1142-1162.
- Steinman, R. M., & Witmer, M. D. (1978). Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 75(10), 5132-5136.
- Stifter, S. A., Bhattacharyya, N., Pillay, R., Florido, M., Triccas, J. A., Britton, W. J., & Feng, C. G. (2016). Functional Interplay between Type I and II Interferons Is Essential to Limit Influenza A Virus-Induced Tissue Inflammation. *PLoS Pathog*, 12(1), e1005378. doi: 10.1371/journal.ppat.1005378
- Suárez-Ramírez, J. E., Wu, T., Lee, Y.-T., Aguila, C. C., Bouchard, K. R., & Cauley, L. S. (2011). Division of labor between subsets of lymph node Dendritic Cells determines the specificity of the CD8 recall response to influenza infection. *Eur J Immunol*, 41(9), 2632-2641. doi: 10.1002/eji.201141546
- Subramaniam, R., Barnes, P. F., Fletcher, K., Boggaram, V., Hillberry, Z., Neuenschwander, P., & Shams, H. (2014). Protecting against post-influenza bacterial pneumonia by increasing phagocyte recruitment and ROS production. *J Infect Dis*, 209(11), 1827-1836. doi: 10.1093/infdis/jit830
- Sugiyama, T., & Nagasawa, T. (2012). Bone Marrow Niches for Hematopoietic Stem Cells and Immune Cells. *Inflammation & Allergy Drug Targets*, 11(3), 201-206. doi: 10.2174/187152812800392689
- Sun, J., Madan, R., Karp, C. L., & Braciale, T. J. (2009). Effector T cells control lung inflammation during acute influenza virus infection by producing IL-10. *Nat Med*, 15(3), 277-284. doi: 10.1038/nm.1929
- Sun, K., Fischer, K. J., Yajjala, V. K., Bauer, C., & Bansal, S. (2017). Recruitment of inflammatory monocytes during influenza infection predisposes host to secondary *S. aureus* infection. *The Journal of Immunology*, 198(1 Supplement), 68.63-68.63.
- Sun, K., & Metzger, D. W. (2008). Inhibition of pulmonary antibacterial defense by interferon-gamma during recovery from influenza infection. *Nat Med*, 14(5), 558-564. doi: 10.1038/nm1765
- Sun, Q., Sun, L., Liu, H. H., Chen, X., Seth, R. B., Forman, J., & Chen, Z. J. (2006). The specific and essential role of MAVS in antiviral innate immune responses. *Immunity*, 24(5), 633-642. doi: 10.1016/j.immuni.2006.04.004
- Sunderkotter, C., Nikolic, T., Dillon, M. J., Van Rooijen, N., Stehling, M., Drevets, D. A., & Leenen, P. J. (2004). Subpopulations of mouse blood monocytes differ in maturation stage and inflammatory response. *J Immunol*, 172(7), 4410-4417.

- Suzuki, S., Honma, K., Matsuyama, T., Suzuki, K., Toriyama, K., Akitoyo, I., . . . Kumatori, A. (2004). Critical roles of interferon regulatory factor 4 in CD11bhighCD8alpha- dendritic cell development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(24), 8981-8986. doi: 10.1073/pnas.0402139101
- Swords, R., Freeman, C., & Giles, F. (2012). Targeting the FMS-like tyrosine kinase 3 in acute myeloid leukemia. *Leukemia*, *26*, 2176. doi: 10.1038/leu.2012.114
- Szewczyk, B., Bienkowska-Szewczyk, K., & Krol, E. (2014). Introduction to molecular biology of influenza a viruses. *Acta Biochim Pol*, *61*(3), 397-401.
- Tacke, F., Alvarez, D., Kaplan, T. J., Jakubzick, C., Spanbroek, R., Llodra, J., . . . Randolph, G. J. (2007). Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, *117*(1), 185-194. doi: 10.1172/JCI28549
- Taieb, J., Chaput, N., Menard, C., Apetoh, L., Ullrich, E., Bonmort, M., . . . Zitvogel, L. (2006). A novel dendritic cell subset involved in tumor immunosurveillance. *Nat Med*, *12*(2), 214-219. doi: 10.1038/nm1356
- Taki, M., Tsuboi, I., Harada, T., Naito, M., Hara, H., Inoue, T., & Aizawa, S. (2014). Lipopolysaccharide reciprocally alters the stromal cell-regulated positive and negative balance between myelopoiesis and B lymphopoiesis in C57BL/6 mice. *Biol Pharm Bull*, *37*(12), 1872-1881.
- Takizawa, H., Boettcher, S., & Manz, M. G. (2012). Demand-adapted regulation of early hematopoiesis in infection and inflammation. *Blood*, *119*(13), 2991-3002. doi: 10.1182/blood-2011-12-380113
- Takizawa, H., Regoes, R. R., Boddupalli, C. S., Bonhoeffer, S., & Manz, M. G. (2011). Dynamic variation in cycling of hematopoietic stem cells in steady state and inflammation. *J Exp Med*, *208*(2), 273-284. doi: 10.1084/jem.20101643
- Takubo, K., Goda, N., Yamada, W., Iriuchishima, H., Ikeda, E., Kubota, Y., . . . Suda, T. (2010). Regulation of the HIF-1alpha level is essential for hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell*, *7*(3), 391-402. doi: 10.1016/j.stem.2010.06.020
- Tamoutounour, S., Henri, S., Lelouard, H., de Bovis, B., de Haar, C., van der Woude, C. J., . . . Guilliams, M. (2012). CD64 distinguishes macrophages from dendritic cells in the gut and reveals the Th1-inducing role of mesenteric lymph node macrophages during colitis. *Eur J Immunol*, *42*(12), 3150-3166. doi: 10.1002/eji.201242847
- Tamura, T., Kurotaki, D., & Koizumi, S.-i. (2015). Regulation of myelopoiesis by the transcription factor IRF8. *International Journal of Hematology*, *101*(4), 342-351. doi: 10.1007/s12185-015-1761-9
- Tanaka, A., Nakamura, S., Seki, M., Fukudome, K., Iwanaga, N., Imamura, Y., . . . Kohno, S. (2013). Toll-Like Receptor 4 Agonistic Antibody Promotes Innate Immunity against Severe Pneumonia Induced by Coinfection with Influenza Virus and Streptococcus pneumoniae. *Clinical and Vaccine Immunology : CVI*, *20*(7), 977-985. doi: 10.1128/CVI.00010-13
- Tang, Q., Jiang, D., Alonso, S., Pant, A., Martinez Gomez, J. M., Kemeny, D. M., . . . Schwarz, H. (2013). CD137 ligand signaling enhances myelopoiesis during infections. *Eur J Immunol*, *43*(6), 1555-1567. doi: 10.1002/eji.201243071
- Tate, M. D., Brooks, A. G., & Reading, P. C. (2008). The role of neutrophils in the upper and lower respiratory tract during influenza virus infection of mice. *Respir Res*, *9*, 57. doi: 10.1186/1465-9921-9-57

- Tate, M. D., Brooks, A. G., Reading, P. C., & Mintern, J. D. (2012). Neutrophils sustain effective CD8(+) T-cell responses in the respiratory tract following influenza infection. *Immunol Cell Biol*, *90*(2), 197-205. doi: 10.1038/icb.2011.26
- Tate, M. D., Pickett, D. L., van Rooijen, N., Brooks, A. G., & Reading, P. C. (2010). Critical role of airway macrophages in modulating disease severity during influenza virus infection of mice. *J Virol*, *84*(15), 7569-7580. doi: 10.1128/JVI.00291-10
- Taubenberger, J. K., & Kash, J. C. (2010). Influenza Virus Evolution, Host Adaptation and Pandemic Formation. *Cell Host Microbe*, *7*(6), 440-451. doi: 10.1016/j.chom.2010.05.009
- Taylor, P. R., & Gordon, S. (2003). Monocyte heterogeneity and innate immunity. *Immunity*, *19*(1), 2-4.
- Thomas, P. G., Dash, P., Aldridge, J. R., Jr., Ellebedy, A. H., Reynolds, C., Funk, A. J., . . . Kanneganti, T. D. (2009). The intracellular sensor NLRP3 mediates key innate and healing responses to influenza A virus via the regulation of caspase-1. *Immunity*, *30*(4), 566-575. doi: 10.1016/j.immuni.2009.02.006
- Tinsley, K. W., Grayson, M. H., Swanson, P. E., Drewry, A. M., Chang, K. C., Karl, I. E., & Hotchkiss, R. S. (2003). Sepsis Induces Apoptosis and Profound Depletion of Splenic Interdigitating and Follicular Dendritic Cells. *The Journal of Immunology*, *171*(2), 909-914. doi: 10.4049/jimmunol.171.2.909
- Toliver-Kinsky, T. E., Cui, W., Murphey, E. D., Lin, C., & Sherwood, E. R. (2005). Enhancement of dendritic cell production by fms-like tyrosine kinase-3 ligand increases the resistance of mice to a burn wound infection. *J Immunol*, *174*(1), 404-410.
- Tong, S., Li, Y., Rivaller, P., Conrardy, C., Castillo, D. A., Chen, L. M., . . . Donis, R. O. (2012). A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *109*(11), 4269-4274. doi: 10.1073/pnas.1116200109
- Tong, S., Zhu, X., Li, Y., Shi, M., Zhang, J., Bourgeois, M., . . . Donis, R. O. (2013). New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog*, *9*(10), e1003657. doi: 10.1371/journal.ppat.1003657
- Trahtenberg, U., & Mevorach, D. (2017). Apoptotic Cells Induced Signaling for Immune Homeostasis in Macrophages and Dendritic Cells. *Front Immunol*, *8*, 1356. doi: 10.3389/fimmu.2017.01356
- Traver, D., Akashi, K., Manz, M., Merad, M., Miyamoto, T., Engleman, E. G., & Weissman, I. L. (2000). Development of CD8alpha-positive dendritic cells from a common myeloid progenitor. *Science*, *290*(5499), 2152-2154.
- Tregoning, J. S., & Schwarze, J. (2010). Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev*, *23*(1), 74-98. doi: 10.1128/CMR.00032-09
- Tsapogas, P., Mooney, C. J., Brown, G., & Rolink, A. (2017). The Cytokine Flt3-Ligand in Normal and Malignant Hematopoiesis. *Int J Mol Sci*, *18*(6). doi: 10.3390/ijms18061115
- Tussiwand, R., Everts, B., Grajales-Reyes, G. E., Kretzer, N. M., Iwata, A., Bagaitkar, J., . . . Murphy, K. M. (2015). Klf4 expression in conventional dendritic cells is required for T helper 2 cell responses. *Immunity*, *42*(5), 916-928. doi: 10.1016/j.immuni.2015.04.017
- Tussiwand, R., Onai, N., Mazzucchelli, L., & Manz, M. G. (2005). Inhibition of natural type I IFN-producing and dendritic cell development by a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor with Flt3 affinity. *J Immunol*, *175*(6), 3674-3680.
- Tzeng, Y. S., Li, H., Kang, Y. L., Chen, W. C., Cheng, W. C., & Lai, D. M. (2011). Loss of Cxcl12/Sdf-1 in adult mice decreases the quiescent state of hematopoietic stem/progenitor

- cells and alters the pattern of hematopoietic regeneration after myelosuppression. *Blood*, 117(2), 429-439. doi: 10.1182/blood-2010-01-266833
- Udalova, I. A., Mantovani, A., & Feldmann, M. (2016). Macrophage heterogeneity in the context of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 12(8), 472-485. doi: 10.1038/nrrheum.2016.91
- Ueda, Y., Kondo, M., & Kelsoe, G. (2005). Inflammation and the reciprocal production of granulocytes and lymphocytes in bone marrow. *J Exp Med*, 201(11), 1771-1780. doi: 10.1084/jem.20041419
- Ueda, Y., Yang, K., Foster, S. J., Kondo, M., & Kelsoe, G. (2004). Inflammation controls B lymphopoiesis by regulating chemokine CXCL12 expression. *J Exp Med*, 199(1), 47-58. doi: 10.1084/jem.20031104
- Unkel, B., Hoegner, K., Clausen, B. E., Lewe-Schlosser, P., Bodner, J., Gattenloehner, S., . . . Herold, S. (2012). Alveolar epithelial cells orchestrate DC function in murine viral pneumonia. *J Clin Invest*, 122(10), 3652-3664. doi: 10.1172/JCI62139
- van Bergen, J., Thompson, A., van der Slik, A., Ottenhoff, T. H., Gussekloo, J., & Koning, F. (2004). Phenotypic and functional characterization of CD4 T cells expressing killer Ig-like receptors. *J Immunol*, 173(11), 6719-6726.
- van de Sandt, C. E., Kreijtz, J. H. C. M., & Rimmelzwaan, G. F. (2012). Evasion of Influenza A Viruses from Innate and Adaptive Immune Responses. *Viruses*, 4(9), 1438-1476. doi: 10.3390/v4091438
- van der Sluijs, K. F., van Elden, L. J., Nijhuis, M., Schuurman, R., Florquin, S., Shimizu, T., . . . van der Poll, T. (2006). Involvement of the platelet-activating factor receptor in host defense against *Streptococcus pneumoniae* during postinfluenza pneumonia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 290(1), L194-199. doi: 10.1152/ajplung.00050.2005
- van der Sluijs, K. F., van Elden, L. J. R., Nijhuis, M., Schuurman, R., Pater, J. M., Florquin, S., . . . van der Poll, T. (2004). IL-10 Is an Important Mediator of the Enhanced Susceptibility to Pneumococcal Pneumonia after Influenza Infection. *The Journal of Immunology*, 172(12), 7603-7609. doi: 10.4049/jimmunol.172.12.7603
- van Furth, R., Cohn, Z. A., Hirsch, J. G., Humphrey, J. H., Spector, W. G., & Langevoort, H. L. (1972). The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull World Health Organ*, 46(6), 845-852.
- Vander Lugt, B., Khan, A. A., Hackney, J. A., Agrawal, S., Lesch, J., Zhou, M., . . . Singh, H. (2014). Transcriptional programming of dendritic cells for enhanced MHC class II antigen presentation. *Nat Immunol*, 15(2), 161-167. doi: 10.1038/ni.2795
- Varol, C., Landsman, L., Fogg, D. K., Greenshtein, L., Gildor, B., Margalit, R., . . . Jung, S. (2007). Monocytes give rise to mucosal, but not splenic, conventional dendritic cells. *J Exp Med*, 204(1), 171-180. doi: 10.1084/jem.20061011
- Varol, C., Vallon-Eberhard, A., Elinav, E., Aychek, T., Shapira, Y., Luche, H., . . . Jung, S. (2009). Intestinal lamina propria dendritic cell subsets have different origin and functions. *Immunity*, 31(3), 502-512. doi: 10.1016/j.immuni.2009.06.025
- Vidya, M. K., Kumar, V. G., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., & Bhatta, R. (2018). Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. *Int Rev Immunol*, 37(1), 20-36. doi: 10.1080/08830185.2017.1380200
- Villadangos, J. A., Cardoso, M. a., Steptoe, R. J., van Berkel, D., Pooley, J., Carbone, F. R., & Shortman, K. (2001). MHC Class II Expression Is Regulated in Dendritic Cells Independently of Invariant Chain Degradation. *Immunity*, 14(6), 739-749. doi: 10.1016/S1074-7613(01)00148-0

- Villadangos, J. A., & Schnorrer, P. (2007). Intrinsic and cooperative antigen-presenting functions of dendritic-cell subsets in vivo. *Nat Rev Immunol*, 7(7), 543-555. doi: 10.1038/nri2103
- Villadangos, J. A., & Shortman, K. (2010). Found in translation: the human equivalent of mouse CD8(+) dendritic cells. *J Exp Med*, 207(6), 1131-1134. doi: 10.1084/jem.20100985
- Villadangos, J. A., & Young, L. (2008). Antigen-presentation properties of plasmacytoid dendritic cells. *Immunity*, 29(3), 352-361. doi: 10.1016/j.immuni.2008.09.002
- Voeten, J. T. M., Groen, J., van Alphen, D., Claas, E. C. J., de Groot, R., Osterhaus, A. D. M. E., & Rimmelzwaan, G. F. (1998). Use of Recombinant Nucleoproteins in Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detection of Virus-Specific Immunoglobulin A (IgA) and IgG Antibodies in Influenza Virus A- or B-Infected Patients. *J Clin Microbiol*, 36(12), 3527-3531.
- Vreede, F. T., & Brownlee, G. G. (2007). Influenza Virion-Derived Viral Ribonucleoproteins Synthesize both mRNA and cRNA In Vitro. *J Virol*, 81(5), 2196-2204. doi: 10.1128/jvi.02187-06
- Vremec, D., Lieschke, G. J., Dunn, A. R., Robb, L., Metcalf, D., & Shortman, K. (1997). The influence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor on dendritic cell levels in mouse lymphoid organs. *Eur J Immunol*, 27(1), 40-44. doi: 10.1002/eji.1830270107
- Vremec, D., Zorbas, M., Scollay, R., Saunders, D. J., Ardavin, C. F., Wu, L., & Shortman, K. (1992). The surface phenotype of dendritic cells purified from mouse thymus and spleen: investigation of the CD8 expression by a subpopulation of dendritic cells. *J Exp Med*, 176(1), 47-58.
- Vyas, J. M., Van der Veen, A. G., & Ploegh, H. L. (2008). The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*, 8(8), 607-618. doi: 10.1038/nri2368
- Waithman, J., & Mintern, J. D. (2012). Dendritic cells and influenza A virus infection. *Virulence*, 3(7), 603-609. doi: 10.4161/viru.21864
- Wakim, L. M., Waithman, J., van Rooijen, N., Heath, W. R., & Carbone, F. R. (2008). Dendritic cell-induced memory T cell activation in nonlymphoid tissues. *Science*, 319(5860), 198-202. doi: 10.1126/science.1151869
- Walter, N. D., Taylor, T. H., Shay, D. K., Thompson, W. W., Brammer, L., Dowell, S. F., . . . Active Bacterial Core Surveillance, T. (2010). Influenza circulation and the burden of invasive pneumococcal pneumonia during a non-pandemic period in the United States. *Clin Infect Dis*, 50(2), 175-183. doi: 10.1086/649208
- Wang, H., Peters, N., Laza-Stanca, V., Nawroly, N., Johnston, S. L., & Schwarze, J. (2006). Local CD11c+ MHC class II- precursors generate lung dendritic cells during respiratory viral infection, but are depleted in the process. *J Immunol*, 177(4), 2536-2542.
- Wang, H., Peters, N., Laza-Stanca, V., Nawroly, N., Johnston, S. L., & Schwarze, J. (2006). Local CD11c⁺ MHC Class II⁻ Precursors Generate Lung Dendritic Cells during Respiratory Viral Infection, but Are Depleted in the Process. *The Journal of Immunology*, 177(4), 2536-2542. doi: 10.4049/jimmunol.177.4.2536
- Wang, H., Peters, N., & Schwarze, J. (2006). Plasmacytoid dendritic cells limit viral replication, pulmonary inflammation, and airway hyperresponsiveness in respiratory syncytial virus infection. *J Immunol*, 177(9), 6263-6270.
- Wang, H. W., Yang, W., Gao, L., Kang, J. R., Qin, J. J., Liu, Y. P., & Lu, J. Y. (2015). Adoptive transfer of bone marrow-derived dendritic cells decreases inhibitory and regulatory T-cell differentiation and improves survival in murine polymicrobial sepsis. *Immunology*, 145(1), 50-59. doi: 10.1111/imm.12423

- Wang, H. W., Yang, W., Lu, J. Y., Tian, G., Li, F., Wang, X. H., . . . Yang, Y. (2012). Treatment with Fms-like tyrosine kinase 3 ligand reverses lung dendritic cell immunoparalysis and ameliorates zymosan-induced secondary lung injury in mice. *Clin Exp Immunol*, *170*(2), 156-166. doi: 10.1111/j.1365-2249.2012.04641.x
- Wang, Y., Szretter, K. J., Vermi, W., Gilfillan, S., Rossini, C., Cella, M., . . . Colonna, M. (2012). IL-34 is a tissue-restricted ligand of CSF1R required for the development of Langerhans cells and microglia. *Nat Immunol*, *13*(8), 753-760. doi: 10.1038/ni.2360
- Wareing, M. D., Lyon, A., Inglis, C., Giannoni, F., Charo, I., & Sarawar, S. R. (2007). Chemokine regulation of the inflammatory response to a low-dose influenza infection in CCR2^{-/-} mice. *J Leukoc Biol*, *81*(3), 793-801. doi: 10.1189/jlb.0506299
- Waskow, C., Liu, K., Darrasse-Jeze, G., Guermonprez, P., Ginhoux, F., Merad, M., . . . Nussenzweig, M. (2008). The receptor tyrosine kinase Flt3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues. *Nat Immunol*, *9*(6), 676-683. doi: 10.1038/ni.1615
- Waskow, C., Liu, K., Darrasse-Jèze, G., Guermonprez, P., Ginhoux, F., Merad, M., . . . Nussenzweig, M. (2008a). FMS-like tyrosine kinase 3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues. *Nat Immunol*, *9*(6), 676-683. doi: 10.1038/ni.1615
- Waskow, C., Liu, K., Darrasse-Jèze, G., Guermonprez, P., Ginhoux, F., Merad, M., . . . Nussenzweig, M. (2008b). The receptor tyrosine kinase Flt3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues. *Nat Immunol*, *9*, 676. doi: 10.1038/ni.1615
- <https://www.nature.com/articles/ni.1615#supplementary-information>
- Watari, K., Asano, S., Shirafuji, N., Kodo, H., Ozawa, K., Takaku, F., & Kamachi, S. (1989). Serum granulocyte colony-stimulating factor levels in healthy volunteers and patients with various disorders as estimated by enzyme immunoassay. *Blood*, *73*(1), 117-122.
- Watowich, S. S., & Liu, Y. J. (2010). Mechanisms regulating dendritic cell specification and development. *Immunol Rev*, *238*(1), 76-92. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00949.x
- Weber, G. F., Chousterman, B. G., He, S., Fenn, A. M., Nairz, M., Anzai, A., . . . Swirski, F. K. (2015). Interleukin-3 amplifies acute inflammation and is a potential therapeutic target in sepsis. *Science (New York, N.Y.)*, *347*(6227), 1260-1265. doi: 10.1126/science.aaa4268
- Weber, J. D., & Gutmann, D. H. (2012). Deconvoluting mTOR biology. *Cell Cycle*, *11*(2), 236-248. doi: 10.4161/cc.11.2.19022
- Welner, R. S., & Kincade, P. W. (2014). 9-1-1: HSCs respond to emergency calls. *Cell Stem Cell*, *14*(4), 415-416. doi: 10.1016/j.stem.2014.03.010
- Welner, R. S., Pelayo, R., Nagai, Y., Garrett, K. P., Wuest, T. R., Carr, D. J., . . . Kincade, P. W. (2008). Lymphoid precursors are directed to produce dendritic cells as a result of TLR9 ligation during herpes infection. *Blood*, *112*(9), 3753-3761. doi: 10.1182/blood-2008-04-151506
- Whittle, J. R. R., Zhang, R., Khurana, S., King, L. R., Manischewitz, J., Golding, H., . . . Harrison, S. C. (2011). Broadly neutralizing human antibody that recognizes the receptor-binding pocket of influenza virus hemagglutinin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *108*(34), 14216-14221. doi: 10.1073/pnas.1111497108
- Wiktor-Jedrzejczak, W., Bartocci, A., Ferrante, A. W., Jr., Ahmed-Ansari, A., Sell, K. W., Pollard, J. W., & Stanley, E. R. (1990). Total absence of colony-stimulating factor 1 in the

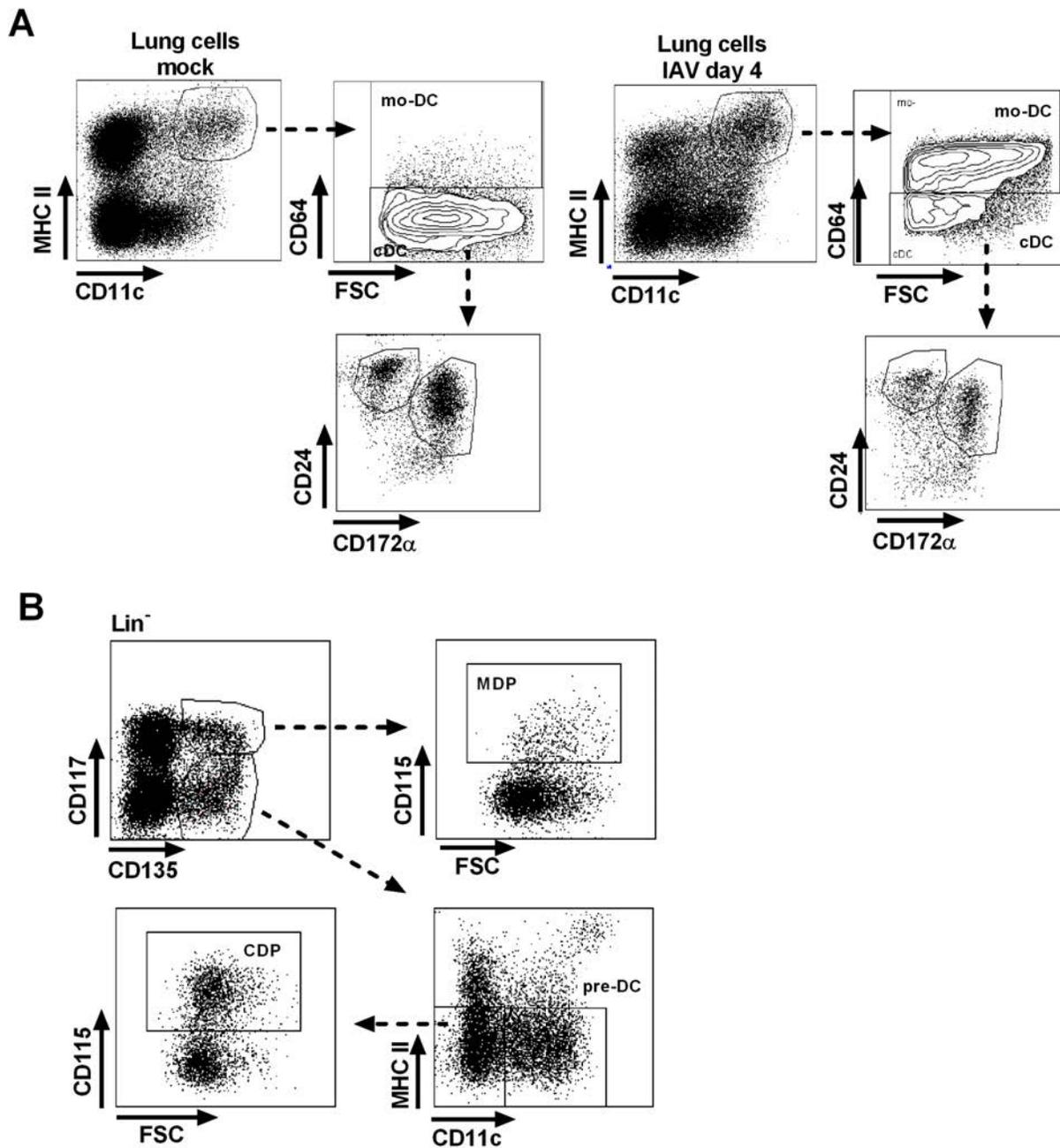
- macrophage-deficient osteopetrotic (op/op) mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87(12), 4828-4832.
- Wiley, J. A., Cerwenka, A., Harkema, J. R., Dutton, R. W., & Harmsen, A. G. (2001). Production of Interferon- γ by Influenza Hemagglutinin-Specific CD8 Effector T Cells Influences the Development of Pulmonary Immunopathology. *Am J Pathol*, 158(1), 119-130.
- Williams, J. W., Tjota, M. Y., Clay, B. S., Lugt, B. V., Bandukwala, H. S., Hrusch, C. L., . . . Sperling, A. I. (2013). Transcription factor IRF4 drives dendritic cells to promote Th2 differentiation. *Nat Commun*, 4, 2990-2990. doi: 10.1038/ncomms3990
- Wolf, A. I., Buehler, D., Hensley, S. E., Cavanagh, L. L., Wherry, E. J., Kastner, P., . . . Weninger, W. (2009). Plasmacytoid Dendritic Cells Are Dispensable during Primary Influenza Virus Infection. *The Journal of Immunology*, 182(2), 871-879. doi: 10.4049/jimmunol.182.2.871
- Wu, S., Metcalf, J. P., & Wu, W. (2011). Innate immune response to influenza virus. *Curr Opin Infect Dis*, 24(3), 235-240. doi: 10.1097/QCO.0b013e328344c0e3
- Wu, Y., Mao, H., Ling, M. T., Chow, K. H., Ho, P. L., Tu, W., & Lau, Y. L. (2011). Successive influenza virus infection and Streptococcus pneumoniae stimulation alter human dendritic cell function. *BMC Infect Dis*, 11, 201. doi: 10.1186/1471-2334-11-201
- Xagorari, A., & Chlichlia, K. (2008). Toll-like receptors and viruses: induction of innate antiviral immune responses. *Open Microbiol J*, 2, 49-59. doi: 10.2174/1874285800802010049
- Xu, J., Zhang, X., Pelayo, R., Monestier, M., Ammollo, C. T., Semeraro, F., . . . Esmon, C. T. (2009). Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med*, 15(11), 1318-1321. doi: 10.1038/nm.2053
- Xu, Y., Zhan, Y., Lew, A. M., Naik, S. H., & Kershaw, M. H. (2007). Differential Development of Murine Dendritic Cells by GM-CSF versus Flt3 Ligand Has Implications for Inflammation and Trafficking. *The Journal of Immunology*, 179(11), 7577-7584. doi: 10.4049/jimmunol.179.11.7577
- Yamamoto, N., Kawakami, K., Kinjo, Y., Miyagi, K., Kinjo, T., Uezu, K., . . . Saito, A. (2004). Essential role for the p40 subunit of interleukin-12 in neutrophil-mediated early host defense against pulmonary infection with Streptococcus pneumoniae: involvement of interferon-gamma. *Microbes Infect*, 6(14), 1241-1249. doi: 10.1016/j.micinf.2004.08.007
- Yamazaki, S., Iwama, A., Takayanagi, S.-i., Eto, K., Ema, H., & Nakauchi, H. (2009). TGF- β as a candidate bone marrow niche signal to induce hematopoietic stem cell hibernation. *Blood*, 113(6), 1250-1256. doi: 10.1182/blood-2008-04-146480
- Yanez, A., Coetzee, S. G., Olsson, A., Muench, D. E., Berman, B. P., Hazelett, D. J., . . . Goodridge, H. S. (2017). Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes. *Immunity*, 47(5), 890-902 e894. doi: 10.1016/j.immuni.2017.10.021
- Yanez, A., Goodridge, H. S., Gozalbo, D., & Gil, M. L. (2013). TLRs control hematopoiesis during infection. *Eur J Immunol*, 43(10), 2526-2533. doi: 10.1002/eji.201343833
- Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X.-F., & Wang, H. (2014). Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker Research*, 2, 1-1. doi: 10.1186/2050-7771-2-1
- Yeganeh, B., Rezaei Moghadam, A., Tran, A. T., Rahim, M. N., Ande, S. R., Hashemi, M., . . . Ghavami, S. (2013). Asthma and influenza virus infection: focusing on cell death and stress pathways in influenza virus replication. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 12(1), 1-17. doi: 10.1012.01/ijaai.117

- Yrlid, U., Jenkins, C. D., & MacPherson, G. G. (2006). Relationships between Distinct Blood Monocyte Subsets and Migrating Intestinal Lymph Dendritic Cells In Vivo under Steady-State Conditions. *The Journal of Immunology*, *176*(7), 4155-4162. doi: 10.4049/jimmunol.176.7.4155
- Zhan, Y., Carrington, E. M., van Nieuwenhuijze, A., Bedoui, S., Seah, S., Xu, Y., . . . Lew, A. M. (2011). GM-CSF increases cross-presentation and CD103 expression by mouse CD8(+) spleen dendritic cells. *Eur J Immunol*, *41*(9), 2585-2595. doi: 10.1002/eji.201141540
- Zhang, S., Fukuda, S., Lee, Y., Hangoc, G., Cooper, S., Spolski, R., . . . Broxmeyer, H. E. (2000). Essential role of signal transducer and activator of transcription (Stat)5a but not Stat5b for Flt3-dependent signaling. *J Exp Med*, *192*(5), 719-728.
- Ziegler-Heitbrock, L. (2007). The CD14+ CD16+ blood monocytes: their role in infection and inflammation. *J Leukoc Biol*, *81*(3), 584-592. doi: doi:10.1189/jlb.0806510
- Zinkernagel, R. M., & Doherty, P. C. (1974). Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature*, *248*, 701. doi: 10.1038/248701a0

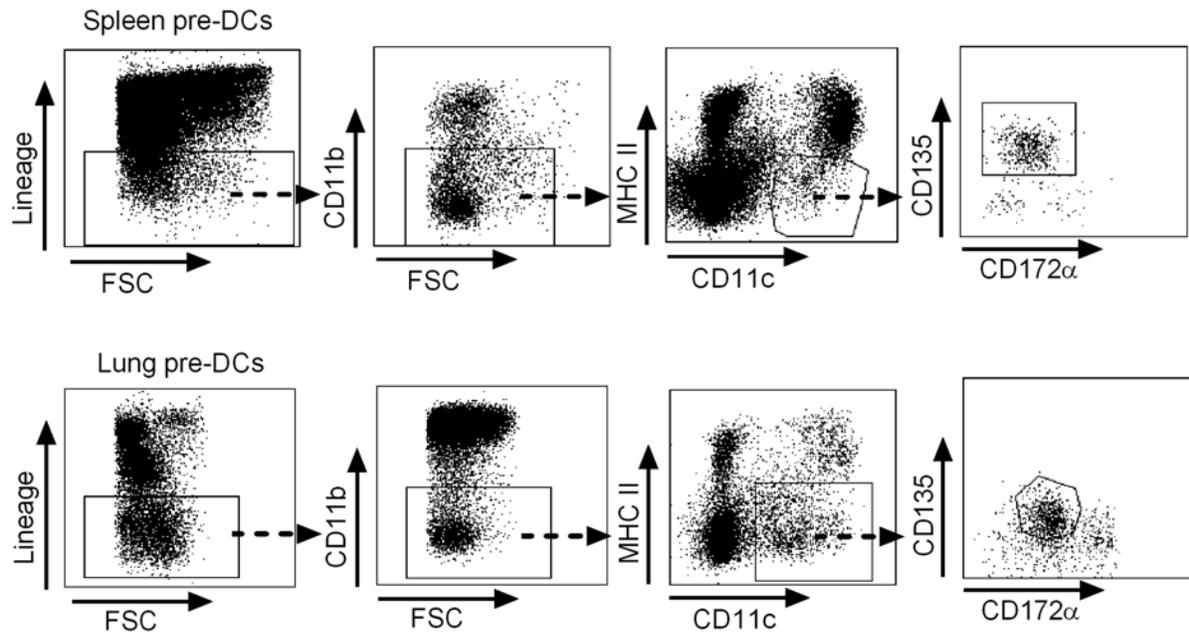
Annexe

Supporting information:

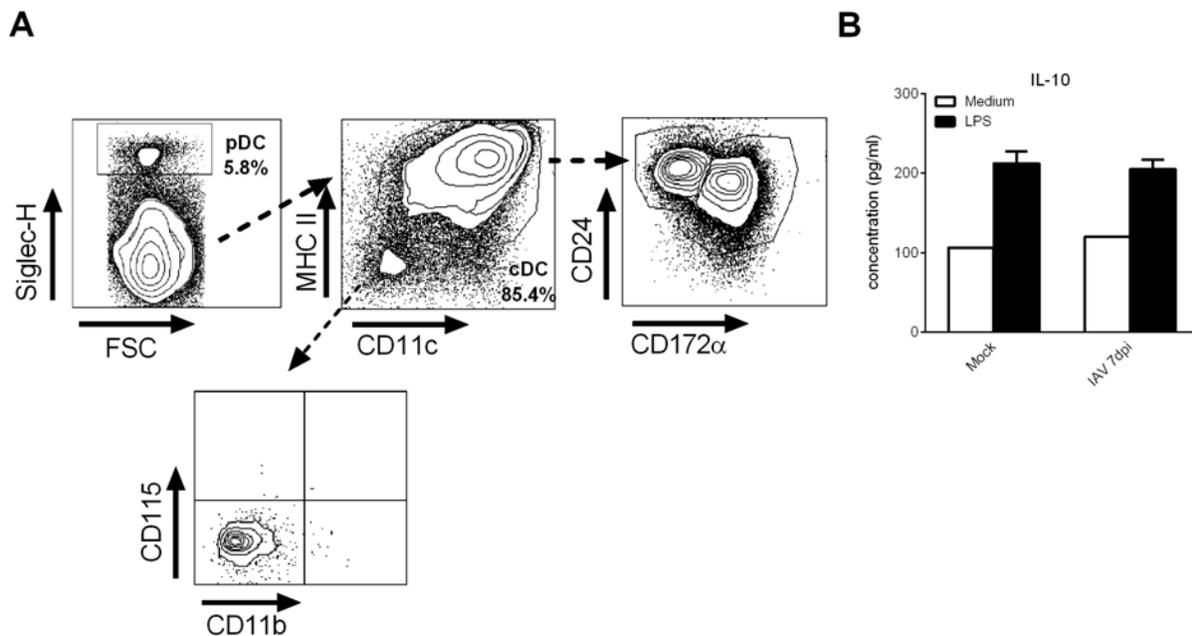
Beshara et al.,



S1 Fig: (A) Mice were infected i.n. with H3N2 virus. Gating strategy to analyze total lung cDCs (Siglec-F⁻ CD11c⁺MHCII⁺CD64⁺) and cDC subsets (CD172 α ⁺CD24⁺ and CD172 α ⁻CD24⁺) at day 0 (*left panel*) and 4dpi (*right panel*) is shown. (B) Gating strategy to analyze BM MDPs (Lin⁻CD117⁺CD135⁺CD115⁺), CDPs (Lin⁻CD117^{low}CD135⁺CD11c⁺CD115⁺) and pre-DCs (Lin⁻CD11c⁺MHCII⁺CD135⁺) is shown.

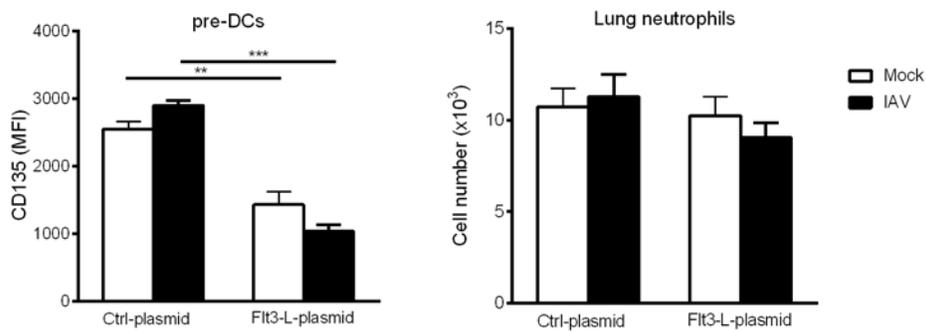


S2 Fig: Gating strategy to analyze spleen and lung pre-DCs. Lineage cocktail: Ter119, CD3, NK1.1, CD45RB220, Ly6G is shown.



S3 Fig: (A) Gating strategy to analyze Flt3-L-generated BM DC subsets is shown. The remaining cells (CD11c⁺MHCII⁺) were CD11b⁺CD115⁻. (B) BM-derived cells in the presence of Flt3-L, were stimulated

with LPS (100ng/ml) for 24h and IL-10 was quantified in the supernatant. Means \pm SEM of 4 mice are represented.



S4 Fig: Mice were i.v. injected with 2 μ g of a control- or Flt3-L- encoding plasmid and 24h later were infected or not with IAV. Four days later, the median of fluorescent intensity (MFI) of CD135 expression on BM pre-DCs (*left panel*) and the number of lung neutrophils (*right panel*) were analyzed by flow cytometry. Means \pm SEM of 6-12 mice are represented. **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

Les cellules myéloïdes	Marqueurs utilisés pour L'identification
MDP	Lin ^{-*} , CD11b ⁻ , CD135 ⁺ , CD117 ⁺ , CD115 ⁺ , CD127 ⁻
CDP	Lin ^{-*} , CD117 ^{-/low} , CD135 ⁺ , CD115 ⁺ , CD127 ⁻ , CD11c ⁻
Pre-cDC	Lin ^{-*} , CD135 ⁺ , CD117 ^{-/low} , CD11c ⁺ , MHCII ⁻
Pre-cDC(1)	Lin ^{-*} , CD11b ⁻ , CD135 ⁺ , CD117 ^{-/low} , CD11c ⁺ , MHCII ⁻ , Siglec-H ⁺ , Ly6C ⁻
Pre-cDC(2)	Lin ^{-*} , CD135 ⁺ , CD117 ^{-/low} , CD11c ⁺ , MHCII ⁻ , Siglec-H ⁺ , Ly6C ⁺
cDC1-biased pre-cDC	Lin ^{-*} , CD135 ⁺ , CD117 ^{-/low} , CD11c ⁺ , MHCII ⁻ , Siglec-H ⁻ , Ly6C ⁻
cDC2-biased pre-cDC	Lin ^{-*} , CD135 ⁺ , CD117 ^{-/low} , CD11c ⁺ , MHCII ⁻ , Siglec-H ⁻ , Ly6C ⁺
cDC	Siglec-F ⁻ , Ly6G ⁻ , CD11c ⁺ , MHCII ⁺ , CD64 ⁻ ,
cDC1	Siglec-F ⁻ , Ly6G ⁻ , CD11c ⁺ , MHCII ⁺ , CD64 ⁻ , CD24 ⁺
cDC2	Siglec-F ⁻ , Ly6G ⁻ , CD11c ⁺ , MHCII ⁺ , CD64 ⁻ , CD172α ⁺
moDC	Siglec-F ⁻ , Ly6G ⁻ , CD11c ⁺ , MHCII ⁺ , CD64 ⁺
cMoP	Lin ^{-*} , CD11b ⁻ , Ly6G ⁻ , CD117 ⁺ , CD115 ⁺ , CD135 ⁻ , Ly6C ^{high}
Mo Ly6C^{high}	Lin ^{-*} , CD11b ⁺ , CD115 ⁺ , Ly6G ⁻ , Ly6C ^{high}
Mo Ly6C^{low}	Lin ^{-*} , CD11b ⁺ , CD115 ⁺ , Ly6G ⁻ , Ly6C ^{low}

*Lin: CD3⁺, NK1.1⁺, Ter119biot⁺, CD45B220⁺, Ly6G⁺

Tableau 1 : Marqueurs utilisés pour identifier les cellules

