

CARACTERISATION DU MICROENVIRONNEMENT IMMUNITAIRE DANS LES TISSUS GINGIVAUX ATTEINTS DE PARODONTITE STADE 4

Vanessa D. Lobognon, Patrice Hemon, Yuna Delarue, Soizic Garaud, Divi CORNEC, Christophe Jamin, Jean-Eric Alard

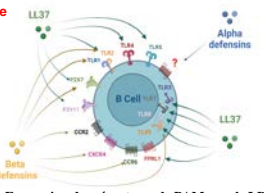
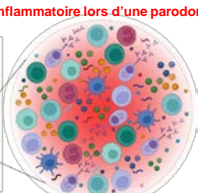
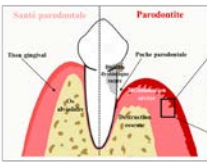
LBAI, UMR1227, Univ Brest, Inserm, Brest, France



INTRODUCTION

La réponse immunitaire lors de la parodontite fait intervenir des peptides antimicrobiens (PAMs), qui ont des effets antimicrobiens directs et immunomodulateurs sur des cellules immunitaires. Parmi ces cellules, les lymphocytes B (LB) qui peuvent participer à l'élimination des pathogènes et au processus de destruction osseuse. Les LB en fonction de leur stade de maturation et leur activation expriment des récepteurs aux PAMs, rendant crédible une éventuelle interaction entre les deux acteurs de la réponse immunitaire à ce jour méconnue. L'élucidation de l'action des PAMs sur les LB pourrait clarifier pourquoi les LB participent à la destruction de l'os alvéolaire pendant sa lutte contre les bactéries parodontopathogènes.

Infiltrat inflammatoire lors d'une parodontite



Expression des récepteurs de PAMs sur le LB

Objectif:

L'objectif de cette étude est d'identifier la communauté d'infiltrat immunitaire, avec en particulier les sous-populations de LB et leur association avec les alpha-défensines 1-3 (HNP 1-3) sur coupes de tissus gingivaux atteints de parodontite stade 4.

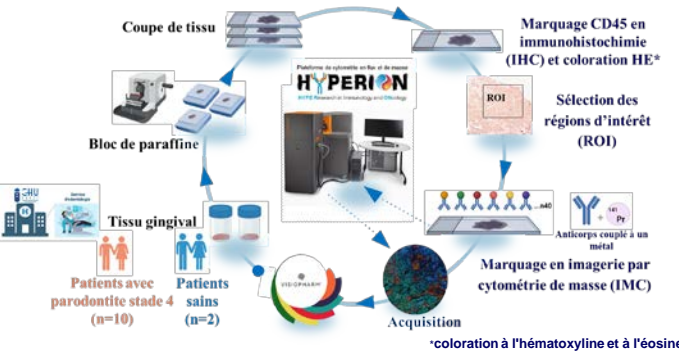
Les approches retenues sont l'utilisation de l'imagerie par cytométrie de masse dans un premier temps pour identifier les sous populations leucocytaires et de LB grâce à des marquages à l'aide d'anticorps couplés à des métaux. Cette approche sera réalisée parallèlement sur des tissus gingivaux sains. Dans un deuxième temps la microscopie confocale pour l'analyse spatiale de l'association entre LB et les HNP 1-3.

METHODOLOGIE

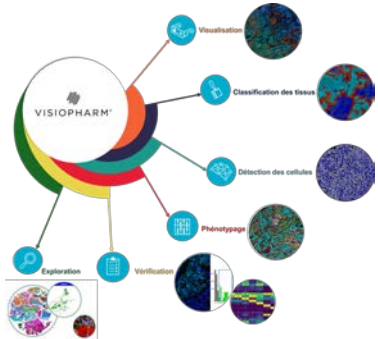
Flux de travail de l'imagerie par cytométrie de masse (IMC)

Collecte et préparation des tissus

Description du plan expérimental



Flux de travail pour l'analyse multiplex d'images de tissus



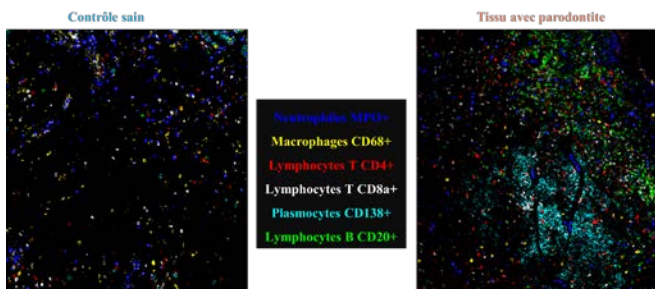
Flux de travail de l'imagerie par immunofluorescence



Une imagerie immunofluorescence spatiale Orion a été réalisée avant la microscopie confocale afin de mettre en évidence les infiltrats inflammatoires sur le tout le tissu et sélectionner les zones les plus riches en infiltrats inflammatoires pour analyse en microscopie confocale (MC).

RESULTATS

1- Images représentatives des marquages en IMC



Les lésions de parodontite stade 4 contiennent de grandes quantités de leucocytes par rapport au control sain, parmi lesquels se trouvent des plasmocytes CD138+ et des LB CD20+ majoritaires, tandis que les neutrophiles MPO+ sont les leucocytes les plus importants dans le contrôle sain.

2- Caractérisation des Infiltrats

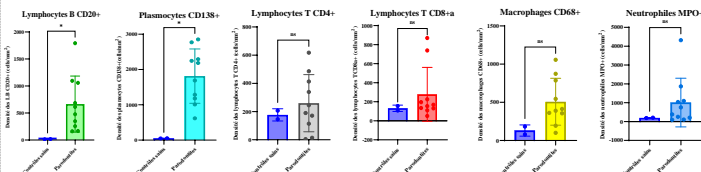


Figure 1: Profil des cellules immunitaires infiltrant le tissu gingival

Dans l'ensemble, les tissus atteints de parodontite stade 4 ont une densité de cellules immunitaires considérablement plus élevée que les tissus de contrôle sain. Nous observons une densité significativement plus élevée des cellules de la lignée B (LB CD20+ et plasmocytes CD138+). Les plasmocytes CD138+ constituent le groupe de cellules le plus important dans les tissus atteints de parodontite stade 4 (Fig. 1).

3- Caractérisation des lymphocytes B dans les infiltrats

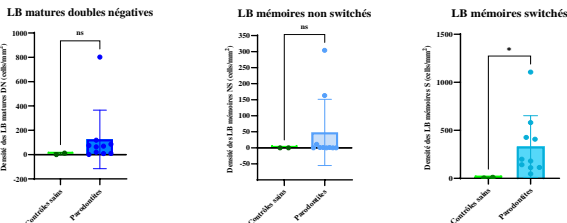


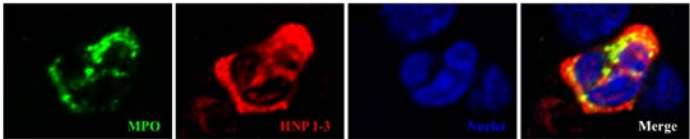
Figure 2: Profil des LB CD20+ infiltrant le tissu gingival

Parmi les LB CD20+, la densité cellulaire la plus importante est celle de la sous-population mémoires switchées qui est plus élevée ($p = 0.03$) dans les tissus de parodontite stade 4 que dans les tissus contrôles sains (Fig. 2).

4- Relation spatiale entre LB CD20+ , plasmocytes CD138+ et les HNP 1-3 dans le tissu gingival

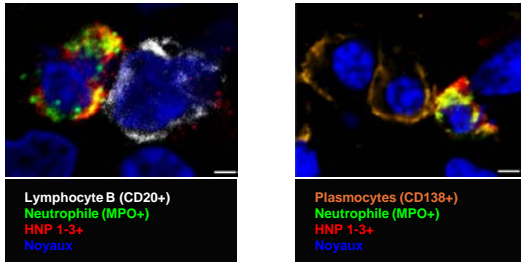
Images représentatives de microscopie confocale

Neutrophile (MPO+) HNP 1-3+



Les HNP 1-3 sont détectés dans les neutrophiles identifiés par la production de la myéloperoxydase (MPO+), ce qui correspond et confirme l'expression connue des HNP 1-3 dans les neutrophiles.

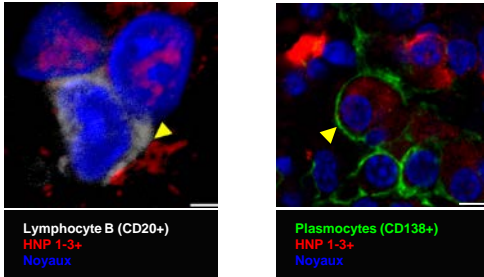
Contact



Les résultats de la MC montrent que les LB CD20+ et les plasmocytes CD138+ sont en contact avec les neutrophiles (MPO+) HNP 1-3+ présents dans le tissu.

Localisation péri-membranaire

Localisation intracellulaire



La MC met en évidence une localisation péri-membranaire des HNP 1-3 sur un LB CD20+ et une localisation intracellulaire des HNP 1-3 dans les plasmocytes CD138+, ce qui suggère que dans le tissu, le LB CD20+ capte les HNP 1-3 et que les plasmocytes CD138+ ont la capacité d'internaliser les HNP 1-3.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le contact entre les cellules de la lignée B et les neutrophiles (MPO+) HNP 1-3+, la captation des HNP 1-3 par les LB et l'internalisation des HNP 1-3 par les plasmocytes pourraient engendrer des effets sur les LB et les plasmocytes qui restent à déterminer.

Dans la suite de notre étude, nous vérifierons si l'expression cytoplasmique des HNP 1-3, correspond à une production des HNP 1-3 par des plasmocytes ou bien à une absorption suivie d'une internalisation des HNP 1-3 par ces plasmocytes.