

Liste des abréviations

- AhR:** Aryl hydrocarbon Receptor
- ANOVA:** Analysis Of VAriance
- APC:** Allophycocyanine
- AWAh:** Adult worm antigen from *S. haematobium*
- AWAm:** Adult worm antigen from *S. mansoni*
- BD:** Becton Dickinson
- Bcl6:** B-cell lymphoma 6 protein
- BFA:** Bréfeldine A
- BSA:** Bovis Serum Albumin
- C:** Celsius
- CA:** California
- C57BL/6 ou BL/6:** C57 black 6
- CBA/J:** C.C.x Bagg, strain A Jackson
- CCL20:** Chemokine (C-C motif) ligand 20
- CD:** Cluster of Differentiation
- CD40L:** CD40 Ligand
- CDC:** Center for Disease Control and Prevention
- CMH :** Complexe Majeur d’Histocompatibilité
- CNERS:** Comite National d’Ethique et de la Recherche du Sénégal
- CTLA4:** Cytotoxic T-lymphocyte-Associated protein 4
- CXCL:** C-X-C motif chemokine
- CXCR5:** C-X-C chemokine receptor type 5
- DC:** Dendritic Cells
- DMSO:** Diméthyle sulfoxyde
- EDN:** Eosinophil-Derived Neurotoxin
- EDTA:** Ethylène Di-amine Tétra-acétique
- ES-62:** excretory–secretory product 62
- f-Th:** Follicular T helper Cell

FACS: Fluorescence-Activated Cell Sorting
FasL: Fatty Acid Synthase Ligand
FBS: Fetal Bovis Serum
Fc- γ : Fragment cristallisable gamma
FITC: Fluorescein Isothiocyanate
FOXP3: forkhead box P3
G-CSF: Granulocyte Colony-stimulating Factor
GATA-3: GATA binding protein 3
HEPES: 4-(2-Hydroxyethyl)-1-Piperazineethanesulfonic acid
Ig: Immunoglobuline
IFN- γ : Interféron gamma
IFN- γ R: Interféron gamma Receptor
IKK- β : Inhibitor of nuclear factor Kappa-B Kinase subunit beta
IL: Illinois
IL: Interleukine
IL-2R : Récepteur de l'Interleukine 2
IL-12R : Récepteur de l'Interleukine 12
IL-23R : Récepteur de l'Interleukine 23
IL-2R γ c: Recepteur γ c de l'Interleukin 2
IL-17R : IL-17 Receptor
IMT: Institut de Médecine Tropicale
IMTA: Institut de Médecine Tropicale d'Anvers
IQR: Interquartile Range
iTreg: Cellule T régulatrice inductible
LNPIII: Lacto-N-III Fucopentanose
MC: Mémoire Centrale
MCP-3/5: Monocyte Chemotactic Protein-3
ME: Mémoire effectrice
MFI: Mean Fluorescence Intensity

MIP-1 α : Macrophage Inflammatory Protein 1 alpha
MIP-1 β : Macrophage Inflammatory Protein 1 beta
MyD88: Myeloid differentiation primary response gene (88)
naTreg : Cellule T régulatrice naturells
nMDS: nonmetric multidimensional scaling
NO: Nitric Oxyd
NOD-like: Nucleotide-binding Oligomerisation Domain-like
OMS: Organisation Mondiale de la Santé
P: P-value
PAMP: Pathogen-associated molecular patterns
PB: Pacific Blue
PBS: Phosphate buffered saline
PE: Phycoerythrin
PECy7: Phycoerythrin Cynine 7
PerCP: Peridinin chlorophyll
PBMC: Pheripheral Blood Mononuclear Cells
PCA: parametric principal component analysis
PCR: Polymerase chain reaction
PFA: Paraformaldehyde
PMA: Phorbol-Myristate-Acetate
PRR: Pattern Recognition Receptors
PU.1: Purine-rich nucleic acid binding protein 1
RANTES: Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted
ROR- γ t: Retinoid-Related Orphan Receptor gamma t
RELM β : Resistin-like Molecule Beta
RPMI: Roswell Park Memorial Institut
SCHISTOINIR : Schistosomiasis Innate Immune Responses and
Immunoregulation
SEAm: Schistosoma egg antigen derived from *S. mansoni*

SD: Standard Deviation

STAT: Signaling Transducer and Activator of Transcription

T-bet: T-box expressed in T cells

TCR: T Cell Receptor

TGF- β : Transforming growth factor beta

Th: T helper Cell

Tfh: Follicular T helper Cell

TLR: Toll-like Receptor

TLSP: Thymic Stromal Lymphopoietin

TNF: Tumor Necrosis Factor

TNF-R: Tumor Necrosis Factor Receptor

US: United States

USA: United States of America

VIH: Virus de l'immunodéficience Humaine

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

TABLE DE MATIERES

2.8. Hétérogénéité de la fonction T effectrice et spécificités de la réponse immunitaire selon l'environnement	29
2.8.1. Aspects généraux de la réponse T effectrice	29
2.8.2. Spécificités de la réponse immunitaire selon l'environnement	33
3. Immunopathologie de la schistosomiase	35
3.1. Réponses immunitaires contre les schistosomes	35
3.1.1. Réponse immunitaire innée	35
3.1.2. Réponse immunitaire adaptative	37
3.2. Immunopathologie de la schistosomiase	39
3.2.1. La réponse Th1/Th2 dans la pathologie au cours de la Schistosomiase	40
3.2.2. Rôle des cellules Th17 dans l'induction de la pathologie	42
3.2.3. Rôle des cellules T régulatrices dans la pathologie au cours de la schistosomiase.....	44
3.2.4. L'équilibre Treg et Th17 au cours de la schistosomiase	46
Deuxième partie : résultats et discussion	
4. Objectifs	49
5. Résultats	52
5.1. Article 1 : Les changements du profil immunitaire sont fonction de l'urbanisation et du mode de vie	52
Résumé	53
Introduction	54
Matériels et méthodes.....	56
- Population d'étude	56
- Séparation et fixation des cellules	57
- Stimulation cellulaire	57
- Analyse par cytométrie de flux	58

- Analyses statistiques	59
Résultats	59
- Population d'étude	59
- Distribution des sous-populations des lymphocytes T CD4 ⁺ , des cytokines pro- et anti-inflammatoires dans les populations des zones rurales et urbaines.....	60
- L'IL-10 est corrélée à l'IFN- γ , l'IL-17 et l'IL-4 dans la population rurale et pas dans les populations urbaines	63
- Augmentation de la proportion des cellules mémoires T CD4 ⁺ et B dans la population rurale	64
- L'activation des lymphocytes T et B est plus importante chez les sénégalais par rapport au Néerlandais	68
5.2. Article 2 : Réponses cytokine aux <i>Schistosoma mansoni</i> et <i>Schistosoma haematobium</i> en relation à l'infection en zone co endémique au nord du Sénégal	74
Résumé	75
Introduction	76
Matériels et méthodes	77
- Aspects éthiques	77
- Sites de l'étude	77
- Parasitologie	78
- Culture cellulaire	78
- Détermination des cytokines	79
- Analyses statistiques	80
Résultats	81
- Caractéristiques de la population d'étude	81

- Les antigènes de <i>S. haematobium</i> induisent des niveaux de cytokine plus élevés que ceux de <i>S. mansoni</i>	82
- Profil général des cytokines	84
- Relation entre les profils de cytokine et l'infection par les schistosomes	87
- Relation entre les profils de cytokine et le statut infectieux	89
5.3. Article 3 : Les cellules Th17 sont associées à la pathologie au cours de la schistosomiase humaine	92
Résumé	93
Introduction	94
Matériels et méthodes	95
- Population d'étude	95
- Examens parasitologiques et radiologiques	96
- Séparation et fixation des cellules	97
- Stimulation cellulaire	97
- Analyse par cytométrie de flux	98
- Les différentes souches de souris	99
- Préparation des cellules animales et stimulation cellulaire	99
- Analyse des cellules murines par cytométrie	100
- Analyses statistiques	101
Résultats	101
- Analyse de la population d'étude	101
- Les sujets avec des atteintes du tractus urinaire présentaient des proportions plus importantes de cellules Th17 au niveau du sang périphérique	102

- Les proportions des cellules Th1 et Th2 ne montrent pas de différence significative entre sujets avec ou sans signes pathologiques	107
- Les granulocytes du sang périphérique sont plus élevés chez patients présentant des signes de morbidité	109
- La proportion des cellules Th17 au niveau du sang périphérique, de la rate et du foie était plus élevées chez les souris CBA	113
6 : Discussion	113
6.1. Spécificités « environnementales » du profil immunitaire	113
6.2. Réponse immunitaire au cours de la schistosomiase	118
6.3. Rôle des cellules T régulatrices et Th17 dans la pathologie au cours de la schistosomiase	121
7. Conclusions	126
8. Perspectives	129
9. Références bibliographiques	130

Annexes

Annexe 1 : Tirés-à-part des articles utilisés pour la thèse

Article 1

Article 2

Article 2

Annexe 2 : Bio-sketch

Annexe 3 : Liste des publications et communication orales

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau 1 (supplémentaire 1): Caractéristiques des anticorps monoclonaux utilisés pour la cytométrie de flux	69
Tableau 2 : Infections par les schistosomes au niveau de la population d'étude...	82
Table 3 : Niveau des cytokines en réponse aux antigènes de schistosomes suivant 72h de stimulation.....	83
Tableau 4 : « Goodness of fit » des intensités d'infection et statuts infectieux des profils de cytokines	91
Tableau 5 : Caractéristiques de la population d'étude	102

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Figure 1 : Cycle évolutif des schistosomes	12
Figure 2 : Distribution de la schistosomiase à travers le monde	14
Figure 3 : Mécanismes d'activation des cellules Th1	22
Figure 4 : Réponses effectrices des cellules Th1 et Th2	24
Figure 5 : Hétérogénéité des cellules T auxiliaires	30
Figure 6 : Fonction des différentes cellules T auxiliaires	32
Figure 7 : Interaction entre les cellules T auxiliaires et les cellules présentatrices d'antigène	33
Figure 8 : Mécanismes de la réponse immunitaire contre les helminthes	39
Figure 9 : Mécanisme d'induction de la pathologie par les cellules Th17 au cours de la schistosomiase	45
Figure 10 : Principales composantes de la réponse immunitaires au niveau du granulome	47
Figure 11 : Distribution des sous-populations de lymphocyte T CD4+ et des cytokines pro- et anti-inflammatoires	63
Figure 12 : IL-10 est positivement corrélée à l'IFN- γ , l'IL-17 et l'IL-4 dans la population rurale et pas dans les populations urbaines	65
Figure 13 : Expression des marqueurs d'activation et mémoires des cellules T	67
Figure 14 : Expression des marqueurs d'activation et mémoires des cellules B	68
Figure 15 (supplémentaire 1) : Analyse des populations de cellules Th1 et Th2 par leur facteur de transcription et cytokines effectrices	71
Figure 16 (supplémentaire 2) : Analyse des populations de cellules Th17 et T régulatrices	72
Figure 17 (supplémentaire 3) : Analyse des populations de cellules mémoires T et B	73

Figure 18 (supplémentaire 4): Analyse des marqueurs d'activation des cellules T et B	74
Figure 19 : Variation des réponses cytokines par les antigènes de schistosome en relation avec l'intensité de l'infection	87
Figure 20 : Variation des réponses cytokines induites par les antigènes de schistosome en relation avec le statut infectieux	90
Figure 21 : Augmentation de l'expression de ROR γ t chez les patients présentant une morbidité	106
Figure 22: Augmentation de la production d'IL-17 chez les patients présentant une morbidité	108
Figure 23 : Les cellules Th1 et Th2 ne montrent pas différence significative entre les groupes	110
Figure 24 : Augmentation des granulocytes chez les patients présentant une morbidité	111
Figure 25 : Augmentation de la proportion des cellules Th17 au niveau du sang périphérique, de la rate du granulome hépatique des souris CBA.....	113
Figure 26 : Expression de Foxp3+ au niveau du sang périphérique, de la rate et du granulome hépatique de souris BL/6	114

RESUME

Résumé de thèse de doctorat

Profil immunitaire en zone rurale endémique aux schistosomes et caractéristiques de la réponse cellulaire dans la schistosomiase et la pathologie associée

Auteur : Moustapha Mbow

Il est estimé à environ 207 million le nombre de personnes infectées par les schistosomes à travers le monde. Au Sénégal, la maladie est principalement conscrte au nord où *Schistosoma haematobium* et *S. mansoni* sont co-endémiques depuis plus de deux décennies. La schistosomiase peut entraîner chez l'hôte des réactions immunopathologiques sévères qui, chez le modèle animal, seraient liées aux cellules pro-inflammatoires Th17. La réaction immunitaire de l'hôte peut cependant dépendre de facteurs environnementaux qui peuvent conditionner les mécanismes effecteurs. Nous nous sommes proposés dans cette étude d'évaluer le profil immunitaire de population rurale vivant en zone endémique aux schistosomes et d'étudier la réponse immunitaire induite par les antigènes de schistosomes au cours de l'infection mais les réponses cellulaires associées aux manifestations pathologiques.

A cet effet, les sous-populations de cellules T auxiliaires, les cytokines pro- et anti-inflammatoires ainsi que l'activation et les phénotypes mémoires des cellules T et B ont été déterminés chez des sujets sains vivant en zone rurale endémique aux schistosomes et en zone urbaine du Sénégal et des Pays-Bas. Chez les sujets infectés, l'expression des cytokines effectrices en réponse aux antigènes de schistosomes ainsi que l'association entre les cellules T auxiliaires et les atteintes tissulaires chez l'homme et chez la souris ont été déterminées.

Nos résultats ont montré que les sujets vivant en zone rurale présentaient une plus grande magnitude des réponses T effectrices et mémoires, du profil inflammatoire et de l'activation immunitaire. L'étude des réponses immunitaires au cours de l'infection et la morbidité a montré que les antigènes de *S. haematobium* étaient plus immunogènes que ceux de *S. mansoni* et que les atteintes tissulaires au cours de la schistosomiase étaient associées aux cellules Th17.

La différence d'immunogénicité entre les deux espèces de schistosome, dont résulte probablement la persistance moins longue des signes pathologiques de la schistosomiase à *S. haematobium*, pourrait être déterminante dans la morbidité de la schistosomiase en zone co-endémique. Nos résultats montrent pour la première fois que les cellules Th17 sont associées aux manifestations immunopathologiques de la schistosomiase humaine. Ces aspects de la réponse immunitaire pourraient avoir d'importantes implications dans les stratégies d'intervention, pas seulement pour la schistosomiase, mais aussi pour d'autres maladies. L'étude de la réponse immunitaire contre les microorganismes devrait cependant prendre en compte les spécificités environnementales qui auraient un impact dans la réponse effectrice.

Mots clés : Schistosomiase, zone co-endémique, réponse cytokine, cellules Treg, Th17

Introduction

Les schistosomiasés ou bilharziosés sont des affections parasitaires dues à des trématodes hématophages vivant au stade adulte dans le système circulatoire des mammifères et évoluant au stade larvaire chez un mollusque d'eau douce. On estime environ à 207 millions le nombre de personnes infectées par les schistosomes qui sont repartis en six espèces pathogènes pour l'homme [1]. La schistosomiase fait partie des maladies dites « négligées » car bénéficiant de peu de moyens pour la recherche et pour son contrôle, contrairement aux autres maladies comme l'infection par le VIH, la tuberculose ou le paludisme.

Au Sénégal, la maladie est consignée au nord, dans certains foyers à l'est et du sud du pays. En effet peu de temps après la construction du barrage de Diama en 1986, le nord du Sénégal a été confronté à une invasion par *S. mansoni* jusque-là méconnue dans la région [2-5]. En quelques années, la prévalence dans la zone de Richard Toll, épice de l'épidémie, est passée de 0% en 1988 à 75% en 1992 avec une intensité de l'infection jamais décrite dans le monde [6]. Les schistosomes sévissent toujours au Sénégal autour du barrage et dans la localité de Richard Toll où *Schistosoma haematobium* et *S. mansoni* sont endémiques depuis plus de deux décennies.

Parmi les helminthiases, la schistosomiase est l'une des principales causes de morbidité et de mortalité et certaines études ont montré que sa répartition géographique et son impact sur la santé publique vont au-delà des estimations officielles [7-9]. La morbidité liée à la schistosomiase mérite une attention particulière car les dommages causés au niveau des organes atteints peuvent persister au-delà de l'âge adulte, même longtemps après l'élimination du parasite. Les obstructions urinaires causées par la bilharziose urinaire sont une conséquence fréquente de la bilharziose urinaire; les atteintes hépatospléniques

et gastro-intestinales au décours de la bilharziose intestinale conduisent souvent à un issu fatal [10-12].

A l'instar de la plupart des helminthiases chroniques, la schistosomiase induit une inflammation chronique avec comme conséquence des signes pathologiques qui peuvent apparaître de manière précoce ou tardive [13-15]. Cependant, certains composants du parasite peuvent réguler la réponse immunitaire de l'hôte, permettant à long terme la survie du parasite. Le séjour prolongé du parasite dans l'organisme provoque une stimulation répétée du système immunitaire avec souvent des effets immunopathologiques principalement causés par le granulome réactionnel développé par l'hôte en réponse aux œufs [16;17]. Dans la schistosomiase expérimentale à *Schistosoma mansoni*, il a été montré que la formation de granulome était associée aux cellules Th2 [17;18] dont les cytokines IL-4 et IL-13 contribuent au développement de fibroses par activation des macrophages alternatifs [18;19]. Cependant, du fait que les cellules Th2 sont capables de moduler cette réponse immunopathologique et participer à la réparation des tissus [20], l'implication d'autres sous-populations cellulaires dans le développement de l'immunopathologie sévère serait plus que probable.

Chez l'homme, peu d'études sont menées sur les mécanismes d'induction de la pathologie au cours de la schistosomiase. Dans la schistosomiase expérimentale, le développement de la pathologie sévère serait étroitement liée aux cellules Th17 qui agiraient de concert avec les cellules Th1 pour induire une réponse pro-inflammatoire [17;21]. Il a aussi été montré que les helminthes ont une grande capacité à induire une réponse T régulatrice pour contrôler les mécanismes inflammatoires [22;23] dont les cellules Th17 sont supposées induire. Ainsi au cours de la schistosomiase, l'orientation préférentielle des cellules T naïves vers le phénotype Treg ou Th17 pourrait conditionner la

survenue de réactions pathologiques. La compréhension des mécanismes impliqués dans la réponse immunitaire et dans la survenue de l'immunopathologie de la schistosomiase pourrait avoir d'importantes implications dans les stratégies d'intervention, pas seulement pour la schistosomiase mais aussi pour d'autres maladies.

Puisque les données immunologiques disponibles proviennent souvent d'études expérimentales et que l'infection de souris par *S. haematobium* est particulièrement difficile, nous nous sommes ainsi intéressée à une zone co-endémique pour pouvoir étudier les éventuelles interactions entre *Schistosoma haematobium* et *S. mansoni* dans la réponse immunitaire.

Bien que des signes de morbidité puissent survenir chez les sujets infectés, la réaction immunitaire de l'hôte vis-à-vis des parasites peut grandement dépendre de la zone d'endémie. En effet les différents environnements résultant du mode de vie ou de l'exposition aux microorganismes ont un impact sur le système immunitaire et peuvent par conséquent conditionner les mécanismes effecteurs vis-à-vis d'un même pathogène.

Nous nous sommes proposée dans ce travail de déterminer le profil immunologique de population rurale vivant en zone endémique aux schistosomes, d'étudier les réponses effectrices aux antigènes des deux principales espèces de schistosome présentes dans cette zone et d'évaluer comment évolue l'équilibre entre les cellules T auxiliaires pro- et anti-inflammatoires dans la pathologie survenant au cours de la maladie. Puisque chez l'homme nous ne pouvons accéder qu'au sang périphérique, nous avons aussi utilisé un modèle animal pour vérifier si les résultats obtenus au niveau périphérique se reflèteraient au niveau des tissus.

Cette étude a été réalisée en collaboration entre l'Unité d'Immunologie du laboratoire de Bactériologie et Virologie du Centre Hospitalier National Universitaire Aristide le Dantec, le service de parasitologie du Département des Sciences Biomédicales de l'Institut de Médecine Tropicale (IMT) d'Anvers (Belgique) et le département d'Immunité cellulaire du service de Parasitologie du Centre Médicale de l'Université de Leiden (Pays-Bas) où les tests immunologiques chez l'homme ont été réalisés. Les investigations chez la souris ont été réalisées au Département de Parasitologie de l'Université de Médecine de Turfs de Boston aux Etats Unis.

1. Généralités sur les schistosomes

1.1. Rappel sur les helminthes

Le terme « helminthe », utilisé pour regrouper des parasites écologiquement similaires, dérive du grec qui signifie « ver » [24]. Il a été documenté des cas d'helminthiases datant des temps les plus anciens de notre histoire. En effet, des œufs d'helminthes intestinaux ont été retrouvés dans les matières fécales d'hommes momifiés datant de plusieurs milliers d'années [25;26] et de nombreuses manifestations cliniques de l'infection datant des temps anciens ont été retrouvées dans les écrits d'Hippocrate («*Egyptian medical papyrus*») et dans la Bible [25]. Les helminthes ont même en quelque sorte modifié le cours de l'histoire moderne en particulier au XXe siècle en Chine pendant la guerre froide, lorsque le schistosome est connu comme « la douve du sang qui a sauvé Formosa » [27] car la schistosomiase aiguë qui sévissait dans les troupes chinoises interrompit l'assaut de Mao sur Taiwan (historiquement connu sous le nom de Formose), assez longtemps pour que les navires américains entrèrent dans le détroit de Taïwan [28].

Il existe une diversité impressionnante d'hôtes vertébrés des helminthes qui sont regroupés à des dizaines voire des centaines de taxons différents. Leur cycle peut être direct par la transmission d'un hôte à l'autre, faisant intervenir différents stades de développement à travers différentes espèces hôtes. Les helminthes adultes ont une grande taille par rapport aux agents pathogènes microbiens, variant de quelques centaines de microns à quelques dizaines de mètres de long. Le temps relativement court de leur maturation (une conséquence de leur taille) et la nécessité pour l'hôte de compléter leur cycle de développement implique qu'une croissance exponentielle comme celle observée avec les bactéries ou les virus est très limitée [16]. Bien que beaucoup de microorganismes représentent une menace pour l'hôte avec une réponse pro-inflammatoire parfois sévère, les helminthes

semblent être capables d'atténuer la réponse immunitaire par une forte composante régulatrice [29].

Il existe deux principaux phyla d'helminthes:

- ✓ Les nématodes (aussi appelés vers ronds) qui englobent la plus grande partie des parasites intestinaux (surtout les géo-helminthes) et les filaires qui sont à l'origine de la filariose lymphatique et l'onchocercose [30].
- ✓ Les plathelminthes (ou vers plats) qui incluent les douves tels que les schistosomes (trématodes) et les cestodes tels que le ténia du porc qui est à l'origine de la cysticercose [30].

En 1947, Norman Stoll avait publié un document historique intitulé « *This wormy word* » dans lequel il entreprit d'évaluer le nombre de personnes infectées par les helminthes à travers monde [31]. Plusieurs estimations ont par la suite confirmé les observations initiales de Stoll, estimant à des centaines de millions le nombre de personnes porteuses de ces parasites [32;33]. Aujourd'hui, on estime qu'environ un tiers des trois milliards de personnes vivant avec moins de deux dollars US par jour dans les régions en développement de l'Afrique subsaharienne, d'Asie et des Amériques est infecté par un ou plusieurs types helminthes [34]. Les plus fréquentes helminthiases sont l'ascaridiase, la trichocéphalose et l'ankylostomiase, suivies par la schistosomiase et la filariose lymphatique.

La schistosomiase appartient au grand groupe des maladies dites négligées car, contrairement à l'attention particulière portée aux maladies telles que l'infection par le VIH, la tuberculose ou le paludisme, elle bénéficie de peu de moyen pour la recherche et pour son contrôle.

1.2. Caractéristiques des différentes espèces de schistosomes

Les schistosomias ou bilharzioses sont des affections parasitaires dues à des trématodes, vers plats, à sexes séparés, hématophages, vivant au stade adulte dans le système circulatoire des mammifères et évoluant au stade larvaire chez un mollusque d'eau douce. On répertorie environ 207 millions de cas de bilharzioses dans le monde ; et six espèces de schistosomes pathogènes pour l'homme sévissent à l'état endémique dans trois continents [35].

1.2.1 *Schistosoma haematobium*

Schistosoma haematobium est l'agent de la bilharziose uro-génitale. Chez l'homme, les vers adultes manifestent un tropisme électif pour les plexus veineux péri-vésicaux et péri-rectaux. La femelle pond ses œufs à éperon terminal, en paquet, dans les parois rectales et vésicales ; certains œufs sont éliminés essentiellement par les urines mais beaucoup restent dans les tissus avoisinants (granulomes) où ils sont parfois embolisés à distance. La longévité de *S. haematobium* est de plus de 10 ans et l'homme est le seul réservoir du parasite. Les hôtes intermédiaires sont des mollusques appartenant le plus souvent aux genres *Bulinus* et *Physopsis* [36;37].

La bilharziose à *S. haematobium* sévit dans toute l'Afrique, Madagascar (côte ouest), l'Ile Maurice. Il existe quelques foyers sur les alentours du Bassin Méditerranéen (Maghreb) et dans le Proche Orient. L'Amérique en est indemne [38].

1.2.2. *Schistosoma mansoni*

C'est l'agent de la bilharziose intestinale et parfois hépatosplénique. Les schistosomes adultes vivent dans les plexus veineux mésentériques inférieurs. La ponte des œufs a surtout lieu dans la paroi intestinale et les œufs à éperon latéral s'embolisent souvent dans le foie ou la rate [37].

La longévité de *S. mansoni* est de plus de 10 ans (34 ans chez un malade). L'homme est le principal réservoir du parasite mais pas le seul ; une trentaine d'espèces animales (rongeurs) ont été retrouvées spontanément infestées. Les hôtes intermédiaires de *S. mansoni* sont des planorbes appartenant à divers genres et espèces [37].

La bilharziose à *S. mansoni* est la plus répandue des schistosomiasés dans le monde et présente une importante extension en Afrique tropicale. On la retrouve aussi sur la côte Est de Madagascar. C'est la seule bilharziose américaine. Elle touche les Antilles et l'Amérique du Sud où elle fut importée [37].

1.2.3. *Schistosoma japonicum*

C'est l'espèce la plus pathogène pour l'homme et détermine la redoutable bilharziose artério-veineuse. Chez l'homme, les vers adultes vivent essentiellement dans les plexus veineux mésentériques supérieurs mais des couples erratiques peuvent loger ailleurs, notamment dans les artères pulmonaires. La ponte est particulièrement abondante (2. 000 à 3. 000 œufs par jour) [39].

La longévité de *Schistosoma japonicum* ne dépasse guère 5 ans. Ce ver détermine une anthroponose qui affecte l'homme et de très nombreux animaux sauvages et domestiques. Les hôtes intermédiaires sont des Oncomélanies [37].

La bilharziose à *S. japonicum* est strictement asiatique. Elle sévit en Chine, à Taïwan, aux Philippines, aux Célèbes (Sulawesi). Eradiquée au Japon,

elle ne garde de ce pays que son nom.

1.2.4. *Schistosoma mekongi*

Schistosoma mekongi, strictement asiatique, est également très pathogène; sa morphologie est semblable à celle de *S. japonicum*. Son hôte intermédiaire est un mollusque appelé *Tricula aperta*, plus petit que les Oncomélanies et ne survit pas à la sécheresse. Il existe des foyers limités en Thaïlande, aux confins du Laos et du Cambodge [40].

1.2.5. *Schistosoma intercalatum* et *S. guineensis*

Agents de la bilharziose rectale, *S. intercalatum* et *S. guineensis* sont très proches morphologiquement mais présentent des répartitions géographiques différentes. Les vers adultes vivent essentiellement dans les plexus veineux péri-rectaux. Leur longévité est assez mal connue ; leurs hôtes intermédiaires sont des bulins (*Bulinus africanus* et *B. globosus*) [37].

Ces deux bilharzioses sévissent en Afrique équatoriale et de l'Ouest : République Démocratique du Congo pour *S. intercalatum* ; République Centrafricaine, République Démocratique du Congo, Guinée équatoriale, Cameroun, Gabon, Nigéria, Angola, Tchad et Sao Tomé pour *S. guineensis* [37].

1.3. Cycle évolutif des schistosomes

Le cycle évolutif des six espèces de schistosome est identique dans ses grandes lignes et nécessite l'intervention obligatoire d'un hôte intermédiaire, un mollusque d'eau douce. Les femelles, localisées selon l'espèce dans les fines ramifications veineuses de l'intestin ou de la vessie, pondent des œufs qui, par effraction, tombent dans la cavité de l'organe et sont éliminés par les selles (*S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum*, *S. guineensis*) ou par les urines (*S. haematobium*) (Figure 1). Si les œufs sont stoppés dans leur

progression par les défenses de l'organisme ou s'ils sont pondus dans des organes pleins (foie, poumon,...), il n'y a pas d'évolution et on retrouve les œufs calcifiés en coupe histologique [41]. Si, par contre, les œufs sont rejetés dans le milieu extérieur et si les conditions sont favorables (pH voisin de la neutralité et température comprise entre 18°C et 33°C), au contact de l'eau douce, ils libèrent une forme larvaire ciliée, le miracidium (dont la durée de vie est courte : quelques heures), qui doit nager à la recherche du mollusque spécifique de l'espèce de schistosome [42].

Au niveau de l'hépto-pancréas du mollusque, lorsque la température est adéquate (30°C), les formes larvaires donnent les sporocystes de stades I et II. L'évolution larvaire chez le mollusque demande un mois. Du mollusque, sort la forme ultime de l'évolution larvaire : la cercaire. Par phénomène de polyembryonie, un miracidium donne des milliers de cercaires. Cette cercaire mesure 0,5 mm, possède une « queue » bifide (furcocercaire) et circule dans l'eau, prête à pénétrer par voie transcutanée dans toute partie du corps humain immergée (la contamination par voie buccale reste cependant une éventualité très rare) [43;44].

La durée de survie des furcocercaires est courte (seulement quelques heures) et c'est par chimiotactisme que celles-ci sont attirées et pénètrent par effraction dans les téguments de l'hôte définitif. Dès que les furcocercaires sont fixées, elles se séparent de leur « queue » et la partie antérieure ou schistosomule est entraînée par la voie lymphatique dans la grande circulation. A partir de la 48ème heure, et pendant plusieurs jours, elles sont dans les capillaires pulmonaires puis gagnent le cœur. Par l'intermédiaire de la circulation abdominale et des veines du système porte, les parasites parviennent au foie où ils deviennent adultes vers le 2ème mois. Après accouplement, les vers remontent la circulation porte à contre-courant. Les femelles fécondées se

séparent alors des mâles et s'engagent, selon un tropisme particulier à chaque espèce, dans les fines ramifications viscérales d'un territoire veineux déterminé où elles déposent leurs œufs [43;44].

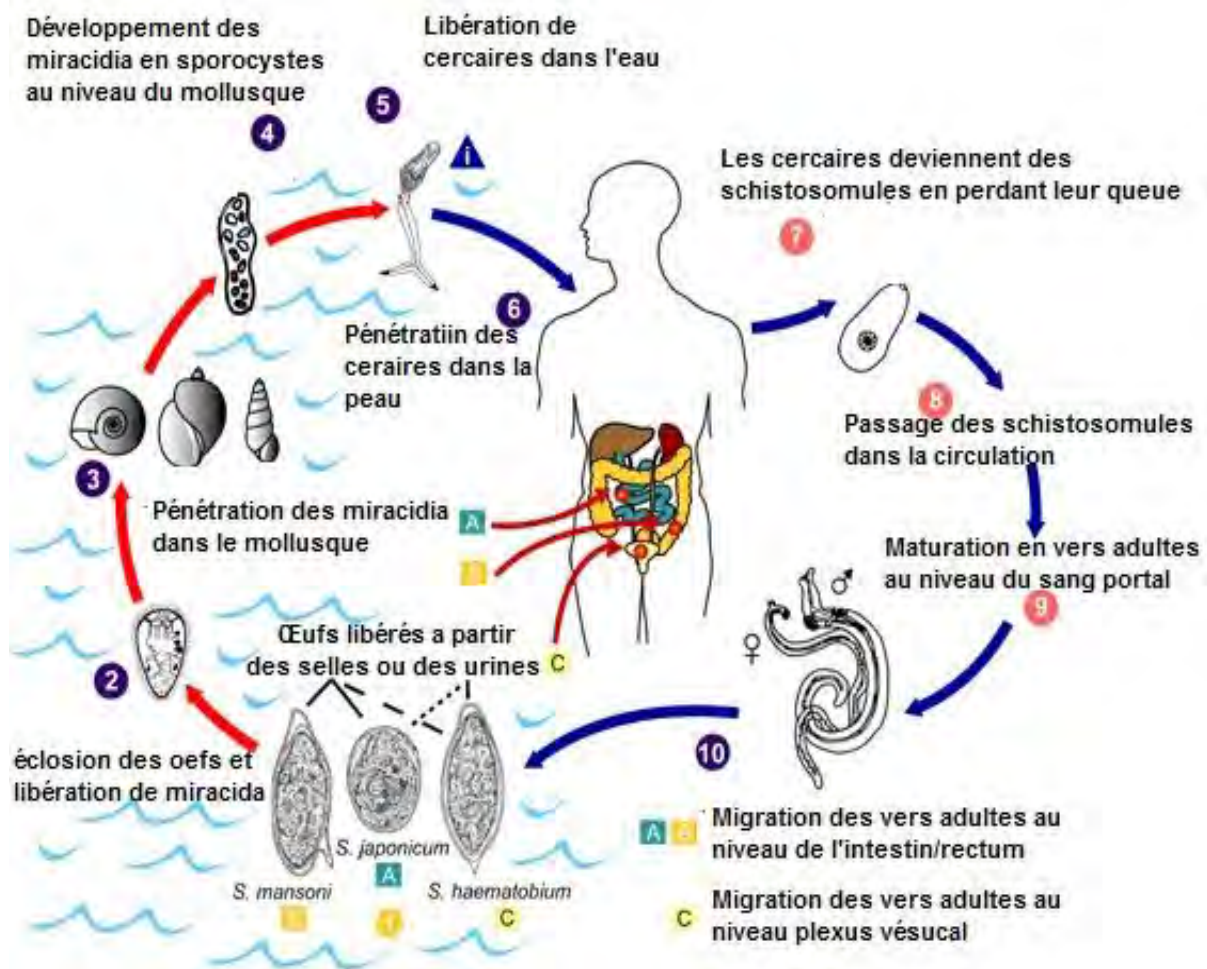


Figure 1 : Cycle évolutif des schistosomes (adaptée de « Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 800-CDC-INFO » [45]). 1) Les œufs de schistosomes sont éliminés par les urines ou les selles et si les conditions sont favorables, 2) ils éclosent et libèrent les miracidiums dans l'eau. 3) les miracidiums pénètrent alors dans l'hôte intermédiaire qui est le mollusque où ils peuvent se développer en 4) sporocystes puis en 5) cercaires. 6) Les cercaires libérées dans l'eau infectent l'homme par pénétration dans la peau de l'hôte et, en perdant leur queue, 7) deviennent des schistosomules. A travers la circulation sanguine, 8, 9) les schistosomules migrent vers les tissus et finissent leur maturation dans les veines. 10) Les vers adultes résident alors dans les veinules mésentériques de divers tissus et la localisation dépend de l'espèce : A) veines mésentériques du petit intestin pour *S. japonicum*, B) veines mésentérique supérieures du gros intestin pour *S. mansoni*; cependant, ces localisations sont

interchangeables pour les deux espèces. C) S. haematobium quant à lui réside le plus souvent au niveau du plexus veineux de la vessie mais peut aussi atteindre les veinules rectaux. Les vers femelles pondent des œufs au niveau des veinules du système portal et péri-vésical et les œufs sont progressivement entraînés vers la lumière de l'intestin pour S. mansoni et S. japonicum et la vessie et les uretères pour S. haematobium.

1.4. Épidémiologie de la schistosomiase

Au cours des 60 dernières années, des centaines de millions de cas d'infections parasitaires ont été rapportés à travers le monde [32;46] avec une grande part d'helminthiases souvent associées à des morbidités sévères [47]. L'OMS estime à 207 millions le nombre de personnes infectées à travers le monde [48] dont la plupart se trouvent en Afrique, en Amérique du Sud et Sud Est de l'Asie [49]. Et selon certaines prévisions, 800 millions de personnes seraient à risque de contracter ces maladies [32], particulièrement en Afrique Sub-saharienne où elles sont souvent associées à d'importants signes de morbidité [49;50].

L'ankylostomiase et la schistosomiase peuvent causer durant la grossesse, une prématurité néonatale, la réduction du poids de naissance du nouveau-né et l'augmentation de la morbidité et la mortalité maternelle [29]. Ces helminthiases sont également d'importants déterminants de la réduction de la productivité surtout en milieu rural car la chronicité qui s'y est associée peut être invalidante [51-53].

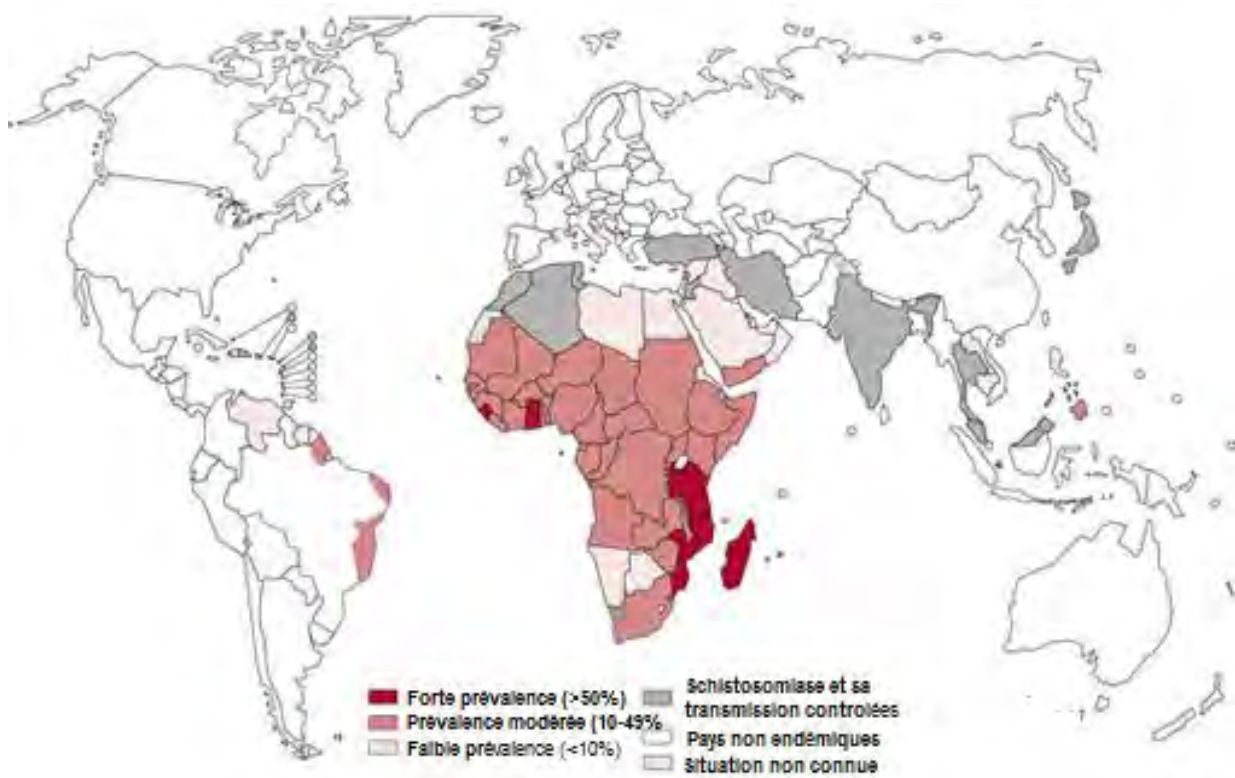


Figure 2 : Distribution de la schistosomiase à travers le monde [54] : *L'Afrique reste le continent le plus touché avec des prévalences très plus fortes pouvant dépasser 50% dans certaines régions de l'Est et de l'Ouest. On rencontre cependant dans le continent Africain certains foyers (au nord et au sud) qui présentent de faibles prévalences ; la transmission est contrôlée dans de rares cas.*

La répartition géographique des bilharzioses est très étendue. En Afrique, on estime à cent de million le nombre de personnes atteintes par la bilharziose à *S. haematobium*. Les principales zones d'endémie sont la vallée du Nil, l'Afrique intertropicale, notamment l'Afrique de l'Ouest et du Sud. Elle sévit également au Maghreb en petits foyers, à Madagascar et aux Iles Maurice. Au Yémen, au Moyen-Orient et en Inde subsistent des foyers limités [7].

La bilharziose à *S. mansoni* atteint environ 60 millions d'individus. En Afrique, elle se rencontre en Égypte, en Afrique de l'Est, du Sud et de l'Ouest. Elle est également retrouvée en Amérique latine.

S. japonicum sévit en Chine, à Taiwan, au Japon, en Corée, aux Philippines tandis que *S. mekongi* est retrouvé dans des petits foyers le long du fleuve Mekong. *S. intercalatum* quant à lui est uniquement retrouvée en Afrique principalement en Afrique centrale [31].

Les premières enquêtes sur la bilharziose remontent en 1952 [55]. Les régions les plus touchées par cette affection étaient celles de l'Est, du Sud-Est et de la vallée du fleuve Sénégal où la bilharziose urinaire était endémique. D'autres foyers de la bilharziose urinaire existent au niveau des oasis de la Mauritanie et des barrages au Sénégal [56]. Selon les données disponibles, les premiers cas de la Bilharziose intestinale à *S. mansoni* remontent à l'année 1994 avec l'installation du barrage de Diama, entraînant la focalisation de la parasitose dans le delta du fleuve Sénégal sous forme d'endémie [57]. Parmi les facteurs potentiels d'extension des bilharzioses en Mauritanie et au Sénégal, on note la construction du barrage de Diama ainsi que la multiplication des projets d'aménagement hydro-agricoles sur la rive droite du fleuve Sénégal.

Nous avons récemment conduit une étude de surveillance cross-sectionnelle au nord du Sénégal pour mieux comprendre l'épidémiologie des infections aux schistosomes dans cette région. Nos résultats avaient montré des prévalences de 61% et 50%, pour *S. mansoni* et *S. haematobium* respectivement, et plus de 50% d'infection mixte (co-infection par les deux espèces) [58]. De plus la co-infection était associée à une plus forte intensité de l'infection. Que ce soit l'infection mixte ou par une seule des espèces de schistosome, la prévalence était plus élevée chez les enfants avec un pic à l'adolescence qui déclinait ensuite avec l'âge ; cette diminution de la prévalence avec l'âge était plus marquée pour la schistosomiase à *S. haematobium* que *S. mansoni* [58]. Cette évolution de la prévalence et de l'intensité de l'infection avec l'âge mérite une considération particulière car pourrait avoir un impact

non négligeable sur les mécanismes de protection de la schistosomiase en zone co-endémique.

Dans les pays en voie de développement, il y a souvent une co-endémicité entre les helminthiases le paludisme [34;38;59] ou VIH/SIDA [34;60] avec comme conséquences une synergie des morbidités [38] et l'augmentation de la transmission par d'autres maladies [34;38;59]. Toutefois, les outils actuellement disponibles pour le contrôle des infections parasitaires sont limitées avec peu de molécules (Albendazole, Oxamniquine, le Praziquantel et l'Ivermectine) sont développés pour traiter les helminthiases [61]. Avec le Diéthylcarbamazine et le Mébendazole, ces médicaments représentent près de l'ensemble de la pharmacopée de la lutte contre ces infections qui sont les plus courantes dans le monde. Ce manque de médicaments anthelminthiques par rapport à d'autres infections reflète la modeste motivation des marchés commerciaux pour le développement de traitement contre les helminthes. En effet, les helminthiases sont considérées comme des maladies tropicales négligées qui reçoivent moins de 1% des fonds alloués à la recherche mondiale [50]. Et en dépit de cet état de fait, les récentes avancées moléculaires et immunologiques ont permis de montrer que les helminthes sont une source riche de molécules immunorégulatrices dont une meilleure connaissance de leurs mécanismes d'action pourraient être d'un apport considérable de le domaine de la biomédecine [62].

1.5. Physiopathologie de la schistosomiase

La plupart des infections par les helminthes entraînent une inflammation chronique avec comme conséquence chez l'homme des signes pathologiques qui peuvent apparaître de manière précoce ou tardive [13-15]. La schistosomiase est l'une principale causes de morbidité et de mortalité parmi les helminthiases et certaines études montrent que sa répartition géographique et son impact sur la

santé publique vont au-delà des estimations officielles [7-9]. Les cas de morbidité liés à la schistosomiase méritent une attention particulière surtout dans les zones rurales des pays en voie de développement où sa forte prévalence pose un problème socio-économique et de santé publique [63]. Pour la plupart des parasites à tropisme tissulaires, les dommages causés au niveau des organes atteints peuvent persister au-delà de l'âge adulte longtemps même après l'élimination du parasite. Les obstructions urinaires causées par la bilharziose urinaire sont des conséquences fréquentes de l'infection; et les affections hépatospléniques et gastro-intestinales au décours de la bilharziose intestinale conduisent souvent à un issu fatal [10-12].

La pathologie induite au cours de la schistosomiase est principalement due à un granulome réactionnel développé en réponse à l'accumulation des œufs de parasite [10;19;29]; et la sévérité de la maladie est associée à l'intensité et à la durée de l'infection. Le ver adulte réside en effet au niveau de la veine portale. Quelques-uns de œufs sont libérés à travers les selles tandis que d'autres restent au niveau de l'organisme sont entraînés par le flux sanguin vers les capillaires pré-sinusoïdes où ils entrent dans la formation du granulome. Les œufs sont alors détruits par le granulome qui va séquestrer les antigènes pathogéniques avec comme conséquence une fibrose tissulaire [29].

La plupart des signes pathologiques se développent en effet au niveau des sites où l'accumulation des œufs est importante tels que le foie dans le cas de *Schistosoma mansoni* et au niveau du tractus urinaire avec le *Schistosoma haematobium* [10]. Cependant, il existe des localisations atypiques telles que la peau, les poumons, le cerveau, les muscles squelettiques... [11]. Pour des raisons non encore élucidées, les enfants tendent à avoir une plus grande charge de parasites intestinaux par rapport aux adultes, avec comme conséquence un retard de la croissance, une diminution des conditions physiques et un retard

cognitif [64;65]. Ceci pourrait résulter de phénomènes physiologiques ou être lié à une immaturité des fonctions de reconnaissance, effectrices et/ou mémoires des cellules immunitaires de l'enfant [66].

1.5.1. Physiopathologie de la schistosomiase aiguë

La schistosomiase aiguë est similaire aux trois principales espèces et est caractérisée par une dermatite due aux cercaires et un syndrome de Katayama [11;67]. Pour *S. mansoni* et *S. haematobium*, cette phase aiguë est la même chez tous les individus exposés pour la première fois [10;67] tandis que pour *S. japonicum*, elle est associée à des manifestations sévères et persistantes qui peuvent rapidement évoluer vers l'hépatosplénomégalie et l'hypertension portale [10;67;68]. La dermatite est une hypersensibilité de type IgE en réponse à la pénétration des cercaires et est caractérisée par des lésions maculo-papuleuses et des éruptions prurigineuses qui peuvent persister plusieurs jours [10;11;67]. La dermatite survient de manière inconstante chez les sujets en zone endémique mais restent fréquents chez les sujets neufs [10]. Le syndrome de Katayama quand à lui est une hypersensibilité par complexe immun en réponse à la migration des schistosomules et la libération précoce des œufs [10;67]. La migration des vers juvéniles peut aussi entraîner des syndromes abdominaux [10;67].

1.5.2. Physiopathologie de la schistosomiase chronique

Les manifestations chroniques sont variables et dépendent de la localisation anatomique des schistosomes. Dans le cas des schistosomiasés à *S. mansoni* et *S. japonicum*, on assiste à une hépatosplénomégalie tandis la forme chronique de la schistosomiase à *S. haematobium* est caractérisée par des atteintes du tractus urinaire [10;67]. Ces manifestations peuvent être plus complexes en cas de co-infection par plusieurs espèces de schistosomes [11;69].

1.5.2.1. Les atteintes hépatiques, spléniques et gastro intestinales

Ces sont des manifestations graves liées à la schistosomiase à *S. mansoni* et sont caractérisées par une hépatosplénomégalie, une fibrose périportale, une hypertension portale, des accumulations d'ascites et des varices œsophagiennes [63;70]; la progression vers l'hépatosplénomégalie varie entre 5 et 15 ans [10]. Les manifestations gastro-intestinales sont causées par une réponse granulomateuse aux œufs au niveau de la muqueuse intestinale, conduisant à des pseudoplypes, des ulcérations et des saignements superficiels [11]. La splénomégalie quant à elle est due aux œufs de schistosome au niveau des sinusoides hépatiques aboutissant au développement de granulomes. L'inflammation associée au granulome conduit à un excès de dépôt de collagène et d'autres composants de la matrice du granulome au niveau du foie ; ceci est à l'origine de la fibrose périportale et de l'occlusion progressive de la veine porte. Cette occlusion de la veine porte aboutit au développement d'hypertension portale, de splénomégalie, à des ascites, des varices et des saignements gastro-intestinaux [10;11]. L'anémie associée à la schistosomiase résulte des pertes de sang suite aux hématuries, aux saignements viscéraux et intestinaux et aux facteurs hémolytiques produits par les schistosomes [71].

1.5.2.2. Les atteintes du tractus uro-génital

Elles sont spécifiques de l'infection par *S. haematobium* et résultent du dépôt d'œufs de schistosomes sur les parois de la vessie et des uretères. Ce phénomène conduirait, lors de l'infection chronique, à la fibrose et à la calcification de la vessie et des uretères qui est la manifestation typique de la colique rénale et de l'hydronéphrose [10;11;72]. Ces manifestations peuvent aboutir à la défaillance rénale qui peut souvent se compliquer par une super-infection bactérienne secondaire [10;11]. La schistosomiase urogénitale peut être caractérisée chez l'homme par une hématospermie et peut aussi affecter

l'épididyme, les testicules et la corde spermatique [10]. Chez la femme, le granulome peut se loger dans la vulve ou le vagin, entraînant des lésions ulcéreuses qui sont des facteurs de risque pour les maladies sexuellement transmissibles comme le VIH [10]. L'atteinte de l'utérus, des tubes de Fallop ou des ovaires est rare mais la cicatrice fibrotique induite par la réponse du granulome peut conduire à l'infertilité.

1.5.2.3. Aspects génétiques

Plusieurs études ont montré que des différences génétiques au niveau du locus du CMH et d'autres régions de gènes sont corrélées à l'intensité de l'infection et la sévérité de la fibrose hépatique [73-75]. Chez des souris infectées par *S. mansoni*, il a été montré que les réponses immunitaires contre la schistosomiase étaient aussi fonction des caractéristiques génétiques des souches de souris [76].

2. Généralités sur les cellules T auxiliaires

Les lymphocytes T CD4⁺ (T « helper » ou T auxiliaires) présentent une grande hétérogénéité fonctionnelle avec différents profils caractérisés par la sécrétion de cytokine(s). Les premiers lymphocytes auxiliaires effecteurs ont été identifiés par *Mosmann et Coffman* [77] qui avaient proposé 2 sous-populations distinctes, à savoir les cellules Th1 et Th2, caractérisées par un profil cytokinique et des fonctions effectrices distincts [77]. Cependant, cette dichotomie Th1/Th2 a par la suite été revue à la lumière d'investigations mettant en évidence une troisième sous-population de cellule T auxiliaire, les cellules Th17, qui joue un rôle déterminant dans les processus inflammatoires [78;79]. Agissant en contrebalance, les cellules auxiliaires T régulatrices (Treg) viennent réguler l'hyper-activation des cellules T [80;81]. D'autres sous-populations de cellules T auxiliaires dont le rôle et/ou les caractéristiques demeurent moins connues ont aussi été identifiées.

2.1. Les cellules T auxiliaires 1 et 2 (Th1 et Th2)

Les cellules Th1, contrôlées par le facteur de transcription T-bet, sont caractérisées par leur production l'IFN- γ mais aussi de TNF- α , de TNF- β et d'IL-2 [77]. Il est classiquement admis que les lymphocytes Th1 sont les principales cellules effectrices de la réponse contre le pathogènes intracellulaires (virus, bactéries et parasites intracellulaires). En effet, l'IFN- γ permet l'activation des macrophages et augmente leur activité phagocytaire ; il permet aussi l'expression des CMH-I et II, l'induction d'IL-12, d'oxyde nitrique (NO) et la production d'anion superoxide qui sont importants pour l'élimination des pathogènes intracellulaires [82]. L'IFN- γ favorise aussi la commutation isotypique des immunoglobulines en IgG2a et IgG3 chez la souris, correspondant probablement aux IgG1 et IgG3 chez l'Homme [83]. L'IgG produit va en effet se fixer sur le récepteur Fc- γ et au complément, entraînant l'opsonisation et la phagocytose de certains pathogènes.

Cependant, les cellules Th1 peuvent aussi provoquer des réactions d'hypersensibilité retardées au cours desquelles l'IFN- γ et le TNF- β induisent une forte inflammation et des lésions tissulaires. De plus, les cellules Th1 peuvent acquérir des capacités cytolytiques suite à l'expression de FasL à leur surface.

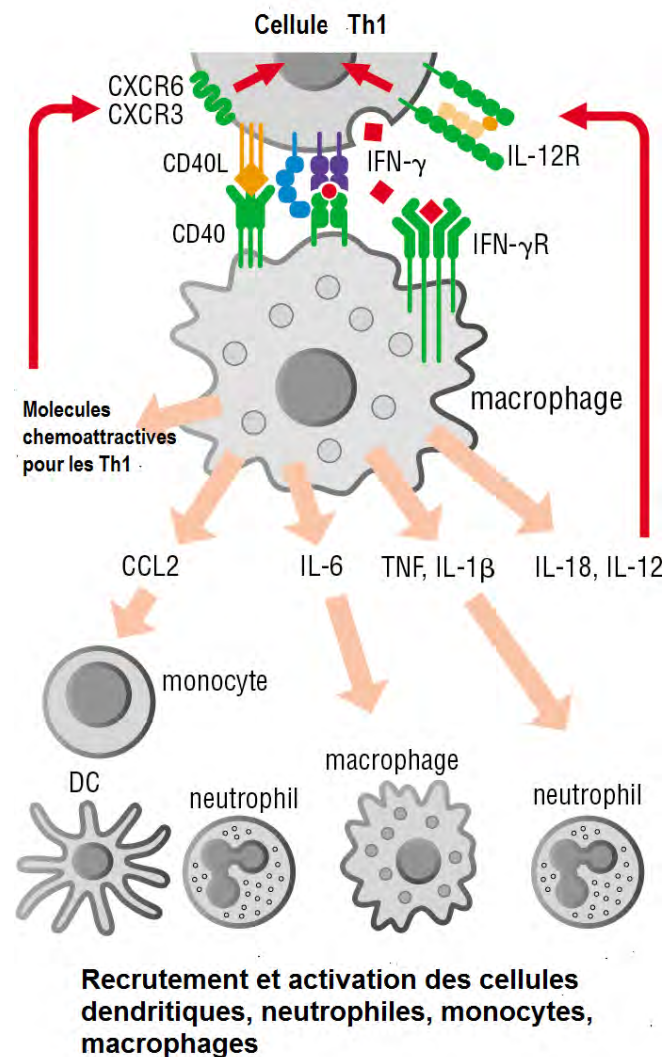


Figure 3 : Mécanismes d'activation des cellules Th1 (adaptée New Sciences Press 2007). Les cellules présentatrices d'antigènes, activées à la suite de présentation de peptides microbiens exogènes aux cellules Th1, assurent le recrutement et l'activation des cellules de l'immunité innée mais fournissent aussi le « troisième » signal aux lymphocytes Th1 pour l'entretien de leurs fonctions effectrices et la différenciation en cellules mémoires.

Cependant, le rôle des cellules Th1 qui a été décrit dans de nombreux syndromes auto-immuns comme la sclérose en plaques, le diabète et le lupus s'est vu être revu suite à la suite de la découverte des cellules Th17 qui auraient un rôle plus prépondérant dans ces maladies [78].

Les lymphocytes Th2, contrôlés par le facteur de transcription GATA3, produisent l'IL-4, l'IL-5, l'IL-13, l'IL-25 et l'IL-33 et sont impliqués dans l'élimination des pathogènes extracellulaires comme le toxoplasme, les leishmanies ou encore les parasites intestinaux [84]. L'IL-4, principale cytokine de ces cellules Th2, favorise la commutation isotypique des immunoglobulines en IgE qui joue un rôle important dans la dégranulation des mastocytes [85;86]. Les cellules Th2 « aide » aussi les lymphocytes B à produire la sous-classe IgG1 chez la souris (et son homologue IgG4 chez l'homme) qui peuvent se fixer sur le complément [85;86]. L'IL-5 quant à elle est la principale cytokine responsable de la différenciation, de l'activation et du recrutement des éosinophiles [86].

A l'instar de l'IL-4, l'IL-13 stimule la croissance et la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes producteurs d'IgE. Cependant, les lymphocytes Th2 peuvent aussi être à l'origine de maladies allergiques. En effet, les IgE et les mastocytes dérivant de l'activation des cellules Th2 spécifiques d'allergènes peuvent entraîner des réactions allergiques et de l'asthme [87;88]. Il a été montré que les individus atteints d'atopie sévère ont des taux élevés d'IgE spécifiques d'allergènes qui étaient fortement corrélés aux cellules Th2 spécifiques des allergènes en cause [87].

Le développement de ces sous-populations cellulaires (Th1 et Th2) est mutuellement antagoniste. En effet, l'IFN- γ bloque la différenciation des Th2 par inhibition de la production d'IL-4, et réciproquement [89]. Une amplification positive s'établit alors pour une des deux sous-populations,

résultant en une polarisation fonctionnelle de la réponse immunitaire selon les cytokines présentes dans le microenvironnement cellulaire [90].

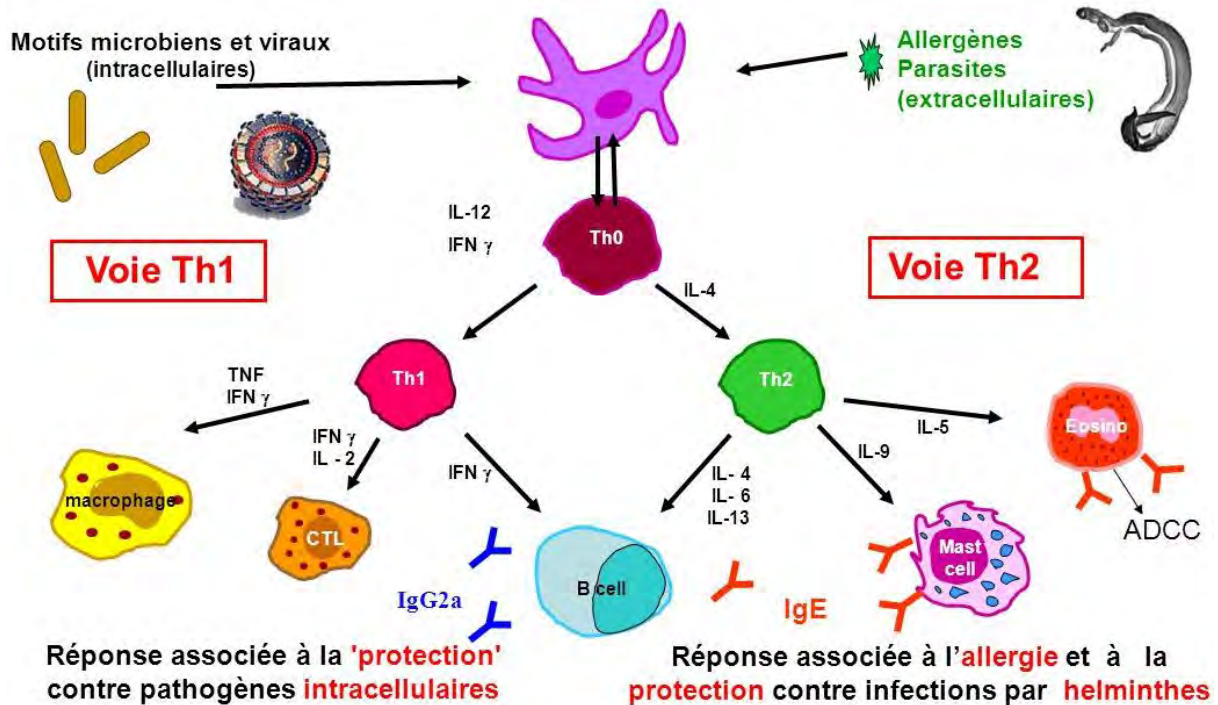


Figure 4 : Réponses effectrices des cellules Th1 et Th2

2.2. Les cellules T auxiliaires 17 (Th17)

La découverte des cellules Th17 (lignée des cellules $CD4^+$ qui produisent IL-17 et contrôlées par le facteur de transcription ROR- γ t) mit fin au dogme de la médiation de l'immunopathologie des syndromes inflammatoires et maladies auto-immunes par les cellules Th1 [91]. Ces cellules apparaissent primordiales dans la protection contre les infections par les bactéries intracellulaires et les infections fongiques et jouent un rôle important dans le recrutement et l'activation des cellules de l'immunité innée comme les polynucléaires neutrophiles [92].

Les lymphocytes Th17 produisent l'IL-17A et IL-17F ainsi que d'autres cytokines plus ou moins spécifiques de cette lignée cellulaire telles que l'IL-21,

l'IL-22, l'IL-26, le TNF- α et l'IL-10 [93;94]. L'IL-17 a essentiellement pour cible les cellules épithéliales sur lesquelles elle favorise la production de facteurs de croissance G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor), de chimiokines (CXCL1, CXCL2, CXCL5 et CXCL8) et de mucines [95]. Dans certains modèles, l'IL-17A induit aussi la production de β -défensines et de CCL20 [96]. Les lymphocytes Th17 participent ainsi au niveau des épithéliums à la défense contre les bactéries extracellulaires, notamment *Klebsiella pneumoniae* [97].

Les réponses effectrices Th17 sont aussi associées aux maladies auto-immunes telles que la sclérose en plaques, le psoriasis et la maladie de Crohn [98]. En effet au cours des syndromes inflammatoires, L'IL-17A favorise le recrutement, l'activation et la migration des neutrophiles par la production de facteurs de co-stimulation mais aussi l'expression de CXCL8 par les macrophages [78]. Les autres cytokines produites par les cellules Th17 telles que l'IL-17F, IL-21, IL-22 peuvent aussi activer les cellules mononuclées pour induire ou maintenir l'inflammation. Du fait leur capacité à recruter les neutrophiles, les cellules Th17 apparaissent ainsi primordiales dans l'élimination des pathogènes extracellulaires [99].

2.3. Les cellules T régulatrices (Treg)

L'idée de la régulation du système immunitaire avait été proposée il y a plus de 35 ans et il a fallu plus de deux décennies plus tard pour caractériser leur phénotype et établir leur rôle dans le contrôle des cellules T auto-réactives. Les cellules T régulatrices agissent en contrebalance pour protéger l'hôte contre les réponses cellulaires excessives ou les lymphocytes T auto-réactifs et en inhibant les réponses auto-immune grâce à l'IL-10 et le TGF- β . Ces cellules sont capables de réprimer l'expression du CMH de classe II, d'inhiber les molécules d'adhésion et de co-stimulations essentielles pour l'initiation de réponse

immunitaire [100], d'empêcher la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les cellules T et les monocytes/macrophages et de moduler la capacité de co-stimulation des cellules présentatrices d'antigènes [100]. La synergie de tous ces mécanismes aboutit ainsi à un état anergique des cellules T [101;102].

Les cellules Treg présentent le phénotype $CD4^+CD25^+$ et peuvent être divisées en cellules T régulatrices naturelles (nTreg) et inductibles (iTreg) [103]. Les cellules Treg naturelles se développent au niveau du thymus en exprimant un répertoire varié de récepteurs de TCR de haute spécificité pour les antigènes du soi [104]. Elles sont caractérisées par l'expression du facteur de transcription FOXP3 et sont recrutées après sélection au niveau du thymus [29]. Les iTreg n'expriment pas le FOXP3 et se développent au niveau périphérique par activation des cellules effectrices [29].

Il a été montré chez la souris que la stimulation des cellules $CD4^+$ naïves par le TGF- β et l'IL2 entraînait leur différenciation en cellules Treg exprimant le FOXP3 et possédant des fonctions suppressives [105;106]. Chez l'homme cependant, l'acquisition du FOXP3 par les cellules T après stimulation du TCR en présence de TGF- β ne s'accompagne pas de fonction régulatrice [107], suggérant ainsi que le mécanisme d'action des cellules Treg inductibles pourrait ne être restreint à la production de cytokines suppressives. En effet chez l'homme, les iTreg (cellules T $CD4^+CD45RA^+$ stimulées avec des anticorps spécifiques anti-CD3 et anti-CD46) expriment le granzyme B et possèdent des propriétés cytotoxiques dépendantes de la perforine [108]. Contrairement aux nTreg, l'action des iTreg est souvent restreinte à des types de cellules particuliers, aux antigènes des tumeurs et antigènes du non soi [22]. Ainsi, les iTreg seraient les cellules régulatrices adéquates pour répondre aux agents pathogènes.

Les lymphocytes Th3 et Tr1 sont aussi des cellules suppressives mais associées à la tolérance muqueuse via la sécrétion de TGF- β et d'IL-10 respectivement [109].

2.4. Les cellules T auxiliaires 22 (Th22)

Il a été récemment rapporté une nouvelle population distincte de cellules T auxiliaires produisant l'IL-22 (Th22) qui interviendrait dans les maladies inflammatoires [110;111]. Cependant du fait que l'IL-22 est aussi produite de manière non négligeable par les cellules Th17 et que les cellules Th22 produisent aussi l'IL-17 [112], la distinction parfaite entre les cellules Th22 et Th17 est toujours discutée.

2.5. Les lymphocytes T CD4⁺ folliculaires (Tfh)

Les cellules Tfh expriment le récepteur de chimiokine CXCR5 favorisant leur migration dans les follicules B des organes lymphoïdes secondaires où elles participent à la différenciation et à la maturation des lymphocytes B via l'IL-4 et l'IL-21 ; elles contribuent également à la formation des centres germinatifs et à la production d'anticorps de haute affinité [109].

2.6. Les cellules T auxiliaires 9 (Th9)

L'IL-9 a été identifiée bien avant la découverte de Th9. Cette cytokine, à l'instar de l'IL-2, l'IL-4, l'IL-7, l'IL-15 et l'IL-21, appartient à la famille des cytokines utilisant le récepteur γc de l'IL-2 (IL-2R γc) pour la transduction de signaux [113].

La polarisation des cellules Th9 dépendant de l'IL-2 est favorisée par l'IL-4 et le TGF- β ; son induction est améliorée par l'IL-1 tandis qu'elle est inhibée par l'IFN- γ [114-116]. Les cellules Th9 induisent l'asthme allergique principalement par production d'IL-13 et d'éotaxine [117]. Elles favorisent aussi le recrutement des cellules Th17 dans certaines maladies auto-immunes et

entraînent la prolifération cellulaire au cours des leucémies [118]. Chez la souris, les cellules Th9 seraient capables d'activer les mastocytes qui ont une action effectrice efficace contre l'infection par les nématodes [116].

2.7. Facteurs impliqués dans la différenciation des lymphocytes T CD4⁺

Les mécanismes impliqués dans l'induction des différents lymphocytes T CD4⁺ ne sont pas encore complètement élucidés. De façon générale, un signal de différenciation ou « troisième signal » reçu par des lymphocytes T CD4 naïfs durant leur activation est a été suggéré. Ce signal dépend de la nature et de la quantité d'antigènes reconnus par les cellules présentatrices d'antigènes. Par exemple, l'interaction entre les PAMP («Pathogen-associated molecular patterns») et les PRR («Pattern Recognition Receptors») induit l'activation des cellules présentatrices d'antigène et la sécrétion de cytokines inductrices d'une réponse Th1 (IL-12, IFN- γ).

Le troisième signal dérive principalement des cytokines présentes dans le microenvironnement où a lieu l'interaction physique entre les cellules présentatrices d'antigènes et les lymphocytes T. Une synergie des cytokines est nécessaire pour la différenciation de chaque type de lymphocytes T, notamment l'IL-12 et l'IFN- γ pour les cellules Th1, l'IL-4, l'IL-2 et le TLSP (Thymic Stromal Lympho Poietin) pour les cellules Th2, le TGF- β et l'IL-6 (et provisoirement l'IL-21 et l'IL-23) pour les cellules Th17 et le TGF- β et l'IL-2 pour les iTreg [90;119-121].

L'interaction des cytokines avec leur récepteur initie l'activation des protéines de la famille STAT (Signaling Transducer and Activator of Transcription) qui induisent une augmentation de l'expression des facteurs de transcription de différents gènes, y compris ceux des cytokines elles-mêmes.

Chaque type de lymphocyte T possède ainsi un facteur de transcription majeur et spécifique qui, dans une action conjointe et complexe avec des protéines STAT spécifiques, inhibe le développement des autres lignées et polarise la cellule [90].

Il existe une certaine plasticité entre les différents profils de lymphocytes T CD4⁺. De cette plasticité qui est sous le contrôle de modifications épigénétiques des facteurs de transcription, résulte une adaptation des cellules T effectrices au « contexte immunologique » dans lequel elles se trouvent. Par exemple, des cellules Th17 peuvent, sous l'effet d'IL-12, produire de l'IFN- γ , cytokine caractéristique d'un profil Th1 [94]. Cette plasticité qui commence à mieux être comprise démontre que la « destinée » des lymphocytes T CD4⁺ effecteurs n'est pas « gravée dans le marbre ».

En somme, l'activation et la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ naïfs (ou priming) permet l'amplification clonale des lymphocytes spécifiques d'antigènes et une efficacité accrue des réponses immunes adaptatives. Ces cellules jouent un rôle majeur dans la coordination des réponses immunitaires, notamment par leur « aide » apportée aux lymphocytes T CD8 cytotoxiques et aux lymphocytes B spécifiques d'antigènes, ainsi que par l'amplification de la réponse immunitaire innée.

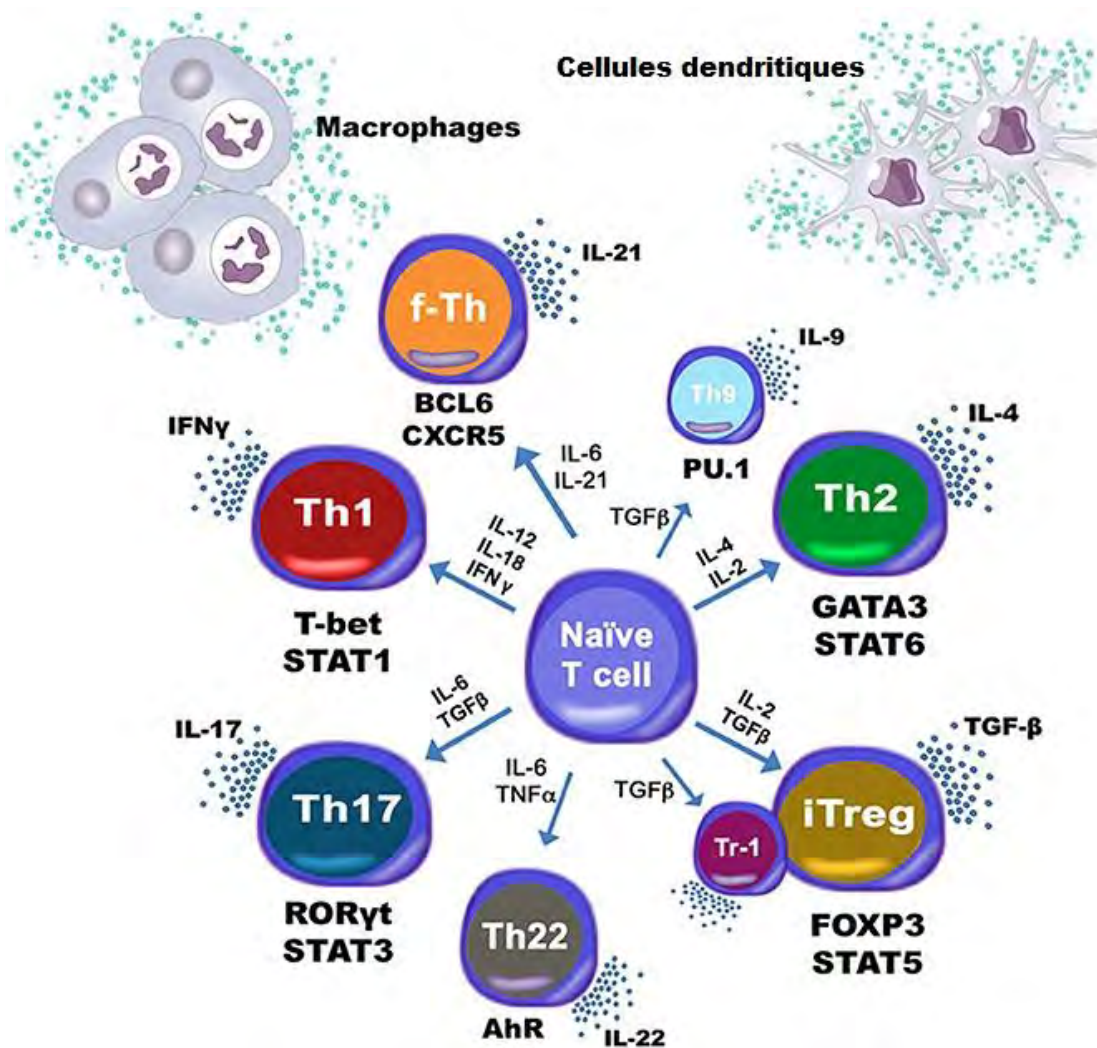


Figure 5: Hétérogénéité des cellules T auxiliaires (adaptée de Carbo A et *al.* [122]). Cette figure illustre les cellules T auxiliaires de type 1 (Th1), type 2 (Th2), type 17 (Th17), type 9 (Th9) et type 22 (Th22), les cellules auxiliaires folliculaires (Tfh), régulatrices induites (iTreg) et régulatrices de type 1 (Tr1) avec pour chacune la ou les principale(s) cytokine(s) inductrice(s) et la ou les principale(s) cytokine(s) effectrice(s).

2.8. Hétérogénéité de la fonction T effectrice et spécificités de la réponse immunitaire selon l'environnement

2.8.1. Aspects généraux de la réponse T effectrice

Les cellules T auxiliaires sont les principaux acteurs de la lutte contre les pathogènes. Elles produisent des cytokines plus ou moins spécifiques capables de contrôler les infections mais aussi de limiter certains aspects

immunopathologiques induits lors des réponses immunitaires excessives [123-125] ; ces cellules semblent aussi jouer un important rôle dans l'optimisation de la réponse des lymphocytes T cytotoxiques (CD8) et du maintien et de la persistance de leur profil mémoire [126].

Comme il a été précédemment indiqué, la réponse immunitaire de l'hôte contre les antigènes est coordonnée par ces cellules T auxiliaires spécialisées, chacune caractérisée par un profil cytokine distinct et une fonction spécifique. Les cellules Th1 sont impliquées dans les mécanismes d'hypersensibilité retardée, activent les macrophages et sont importantes pour l'élimination des pathogènes intracellulaires [127], tandis que les cellules Th2 jouent un important rôle dans la production et la commutation isotypique des immunoglobulines et dans l'élimination de certains parasites comme les helminthes [86]. Les cellules Th17 sont quant à elles médiatrices de plusieurs syndromes inflammatoires chroniques et des réponses immunitaires contre les bactéries extracellulaires et les infections fongiques [92]. Une sous-population distincte de cellules T auxiliaire produisant l'IL-22 (Th22) a récemment été identifiée [128] mais leurs fonctions précises dans les infections restent toujours à déterminer bien que leur rôle dans les maladies inflammatoires a été suggéré. Agissant en contrebalance, les cellules T régulatrices maintiennent la tolérance périphérique et protègent l'hôte contre des lymphocytes auto-réactives.

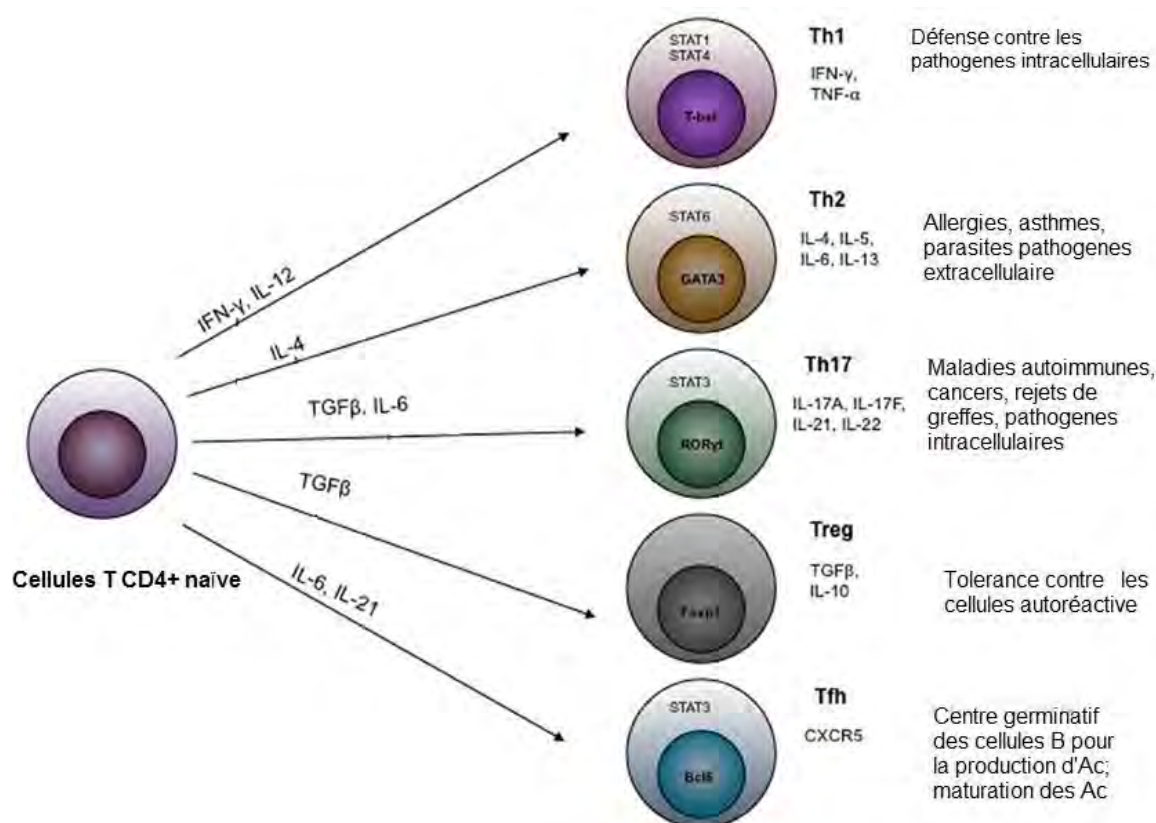


Figure 6 : Fonction des différentes cellules T auxiliaires. Cette figure illustre les principales cellules T auxiliaires présentant chacune une fonction spécifique. Les Th1 interviennent dans la défense contre les pathogènes intracellulaires ; les Th2 dans les allergies, l'asthme et les parasites extracellulaires ; les Th17 dans maladies inflammatoires auto-immunes, les cancers, rejets de greffes, les pathogènes intracellulaires... ; les Treg dans la tolérance des cellules auto-réactives ; et les Tfh principalement dans la production et la maturation des anticorps.

L'interaction entre les cellules T et les cellules présentatrices d'antigènes fournit les signaux nécessaires pour l'activation des lymphocytes et leur transformation en cellules effectrices. L'expression de HLA-DR restreinte aux cellules immunocompétentes comme les lymphocytes B et les macrophages peut s'étendre aux lymphocytes T activés [129]. Le degré d'expression de HLA-DR au niveau des monocytes reflète leur habilité à présenter l'antigène aux cellules T [130]; et la faible expression de HLA-DR au niveau des monocytes périphériques serait associée à un risque élevée de développer des infections [131-133]. La molécule de co-stimulation B7-2, exprimée au niveau des cellules

présentatrices d'antigènes et des lymphocytes B, pourrait aussi être induite au niveau des cellules T après activation persistante via le CD3 [134]. L'expression de CD86 est aussi augmentée à la surface des cellules B activées [135;136].

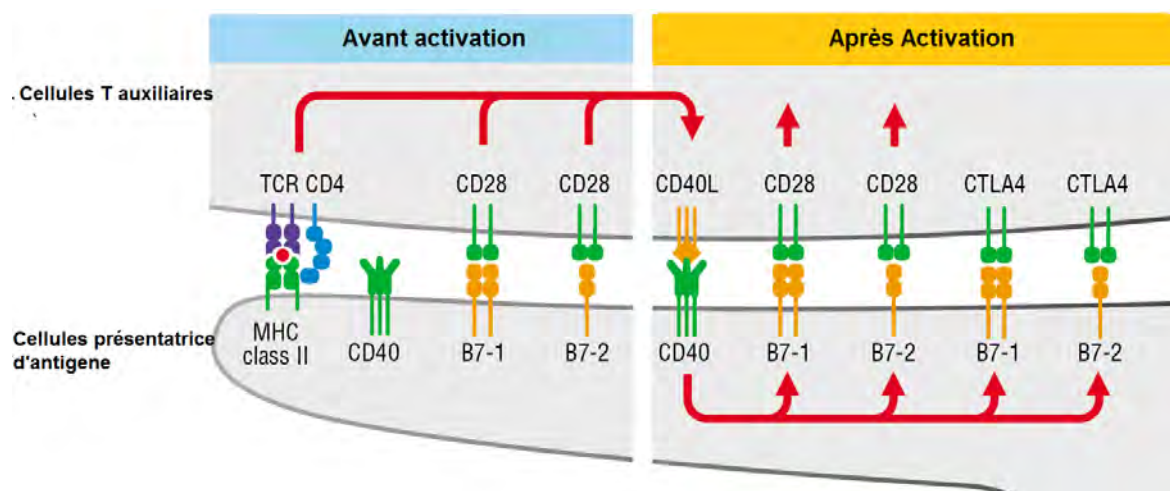


Figure 7 : Interaction entre les cellules T auxiliaires et les cellules présentatrices d'antigène (adaptée New Sciences Press 2007). L'activation des cellules T naïves et leur transformation en cellules effectrices nécessitent un premier signal fourni par la reconnaissance du pathogène dont les antigènes sont présentés par une CPA (interaction TCR-CMH), mais aussi des interactions entre le CD28 des cellules et B7-1 et B7-2 (ou CD80 et CD86 respectivement) des cellules présentatrices d'antigène dont l'expression est sous le contrôle de l'interaction entre CD40/CD40L. Cette interaction CD40/CD40L peut aussi activer la voie inhibitrice via CTLA4 par liaison avec ses ligands B7-1 et B7-2.

Le CD27, appartenant à la famille des récepteurs du facteur de nécrose des tumeurs (TNF-R) et modérément exprimé au niveau des cellules T naïves et de certaines populations de cellules T CD4⁺ et CD8⁺ mémoires, connaît une forte expression après l'engagement du TCR afin de favoriser l'expansion et la survie des cellules T [137;138]. Le CD27 est combinée aux isoformes de CD45 pour définir les cellules T CD4⁺ mémoires effectrices (ME) (CD27-CD45RA-) et mémoires centrales (MC) (CD27⁺CD45RA⁻) [139] ; c'est aussi un marqueur des cellules B mémoires [140;141].

2.8.2. Spécificités de la réponse immunitaire selon l'environnement

Le compartiment des cellules T CD4⁺ est d'une hétérogénéité particulière, pas seulement en terme de spécificité antigénique, mais aussi en terme de phénotype et fonctions effectrice [124;142;143]. Ces caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles peuvent être modulés par de multiples facteurs dont l'immunité innée, l'environnement, la durée et le degré d'exposition aux microorganismes [144;145]. La plupart des études immunologiques se font sans tenir compte des spécificités environnementales. En effet dans des études évaluant les réponses cellulaires T à des antigènes vaccinaux, il a été montré une grande hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle des différentes sous-populations cellulaires selon les cohortes [146;147], montrant ainsi que l'évaluation simultanée de plusieurs attributs de la réponse cellulaire est nécessaire pour mieux prédire une réponse immunitaire contre une infection ou un vaccin, surtout sur des populations vivant dans des environnements différents.

Au cours des dernières décennies, une augmentation de la prévalence globale de plusieurs maladies allergiques et inflammatoires chroniques a été rapportée dans les pays développés [148]. Vu que les allergies sont plus fréquentes dans les pays industrialisés [149] et que leur prévalence devient de plus en plus élevée dans les pays en voie de développement qui connaissent une urbanisation galopante et des changements importants de mode de vie [150], on pourrait penser à une relation causale entre le profil immunologique et les changements environnementaux. Bien que les prédispositions génétiques de l'hôte puissent conditionner la survenue de ces maladies [151-153], ces polymorphismes seuls ne peuvent pas expliquer la rapide évolution de ces syndromes inflammatoires et allergiques. En effet la diététique, l'hygiène de vie, un environnement riche en polluants et allergènes ainsi que l'exposition à des

charges importantes de parasites et autres microorganismes pourraient affecter la dynamique de notre système immunitaire. La fameuse théorie de « l'hypothèse hygiénique » suggère que l'exposition précoce à d'importantes charges microbiennes pourrait être un facteur protecteur car permettrait de développer l'immunité, tandis que les personnes ayant un mode de vie les mettant à l'abri de nombreux microorganismes seraient plus susceptibles à certaines maladies [154;155].

Ainsi, l'atténuation des mécanismes de reconnaissance et de la réponse immunitaire qui luttent contre les microorganismes pathogènes et favorisent la tolérance immunitaire vis-à-vis de certains aliments, particules de l'air et bactéries commensales, augmenterait vraisemblablement la susceptibilité aux infections, allergies et maladies inflammatoires.

3. Immunopathologie de la schistosomiase

La plupart des études immunologiques sur la schistosomiase concernent les mécanismes de protection contre la maladie et de la survenue de l'immunopathologie. Les manifestations de la maladie sont principalement dues à la réponse immunitaire de l'hôte aux œufs des parasites et à la réaction au granulome induit par ces œufs [17;18;156;157]. Le granulome détruit en effet les œufs en séquestrant leurs composants immunopathogéniques, favorisant ainsi très souvent une fibrose des tissus de l'hôte [17]; et l'intensité et la durée de l'infection déterminent ainsi la sévérité des atteintes tissulaires.

Au cours de la schistosomiase, la pathologie se développe le plus souvent au niveau des sites où il y a une accumulation maximale d'œufs comme l'intestin et le foie pour *Schistosoma mansoni* et *S. japonicum* et le tractus urinaire pour *S. haematobium* [156;157]. Cependant, les granulomes peuvent aussi se localiser au niveau d'autres tissus comme la peau, les poumons, le cerveau, les glandes surrénales et les muscles [157].

La plupart des études conduites chez la souris ont montré que la réponse immunitaire contre les schistosomes et la formation du granulome fait intervenir principalement les cellules Th2 mais aussi d'autres populations de cellules T auxiliaires [17-19].

3.1. Réponses immunitaires contre les schistosomes

3.1.1. Réponse immunitaire innée

Lors de la réponse immunitaire, les produits libérés par les helminthes semblent être capables, au moins en partie, de provoquer la suppression de certaines réponses effectrices [158;159] qui favorisent la polarisation vers les cellules Th2 et/ou Treg [160-162]. A partir de la voie d'induction des cellules Th1, le modèle d'initiation des réponses Th2 le plus simple dans les

helminthiases serait une interaction entre un motif moléculaire (PAMP) dérivé du ver et un motif de reconnaissance des récepteurs (PRR) exprimé par les cellules dendritiques. Les PAMP des helminthes pourraient agir par l'intermédiaire d'un ou de plusieurs TLR, ou encore d'autres classes de récepteurs de l'immunité innée comme les lectines de type C, le NOD-like (nucleotide-binding oligomerisation domain-like) ou des récepteurs de protéases [163;164]. Il a été montré que le LNPIII (lacto-N-III fucopentanose) synthétique, équivalent à une molécule naturellement présente dans l'œuf l'antigène soluble, interagissait avec le TLR4 pour induire une polarisation vers un profil Th2 par les cellules dendritiques [165]; le lysophosphatidique phosphatidylsérine des schistosomes agit aussi par ce même mécanisme [166]. L'ES-62 du nématode *Acanthocheilonema viteae* exerce des effets immunomodulateurs sur les macrophages [167] et les cellules dendritiques [168] par un mécanisme TLR4-dépendant [169]. Toutefois, l'interaction entre l'ES-62 et le TLR4 au niveau des mastocytes, et qui conduit à l'inhibition de la production de cytokines Th1, mais pas de cytokines Th2, n'implique pas de signalisation TLR classique [170]. En outre, la réponse Th2 induite par le SEA sur les cellules dendritiques a été montrée indépendante MyD88, TLR2 et TLR4 [171].

Une autre considération des mécanismes de cette réponse innée est que les PRR, sur les cellules autres que les cellules dendritiques comme les basophiles [172;173], les mastocytes [170] et les éosinophiles [174], pourraient être en faveur d'une réponse Th2. Au cours de l'infection à *Trichuris muris*, l'expression d'un inhibiteur de la kappa-B kinase beta (IKK β) dépendante du TSLP peut stimuler la différenciation des cellules dendritiques et l'induction de réponse Th2. La réponse des éosinophiles comprend la sécrétion de neurotoxine EDN (eosinophil-derived neurotoxin) entraînant l'activation des cellules dendritiques TLR2/Myd88-dépendant qui, *in vivo*, favorisent une réponse

adaptative vers un phénotype Th2. Dans la schistosomiase, un large éventail d'autres molécules de signalisation, telles que les défensines et les cathélicidines qui ont des effets pro-inflammatoires avérés, peut être produit [174].

Même si les cellules dendritiques sont essentielles dans l'initiation de l'expansion des cellules Th2, la reconnaissance des motifs par ces cellules elles-mêmes pourraient donc ne pas être nécessaire. Il est ainsi possible que certains signaux inducteurs de la réponse Th2 puissent ne pas passer par les cellules présentatrices d'antigènes et agiraient donc directement sur les lymphocytes T avant la différenciation phénotypique terminale [160].

3.1.2. Réponse immunitaire adaptative

Le développement de la résistance aux nématodes gastro-intestinaux est généralement associé à une réponse Th2 [175] déclenchée par un certain nombre de cytokines dont l'interleukine IL-4 [176], IL-5, IL-9 [177], IL-13 [178], IL-21 [85], IL-25 et IL33 [179]. Cette cascade de mécanismes effecteurs peut aussi impliquer une réponse B (avec la commutation de classe des immunoglobulines et sécrétion d'immunoglobulines E), l'activation des mastocytes, des éosinophiles, des basophiles et une augmentation de la perméabilité et de la contractilité des muscles lisses intestinaux avec production de mucus. L'augmentation de l'IL-13 (cytokine Th2), responsable du renouvellement des cellules épithéliales de l'intestin [180] et la production de RELM β (Resistin-like Molecule Beta) [181] qui interfère avec la chémotaxine sécrétée par les nématodes, pourrait également être déterminante dans la protection. Par exemple chez la souris, les mastocytes des muqueuses sont essentielles pour l'expulsion des vers au cours des infections par *Trichuris muris* et *Trichinella spiralis* [177;182] mais pas dans l'infection à *Heligmosomoides bakeri* ou à *Nippostrongylus brasiliensis* [183]. Au cours de la schistosomiase, les réponses

Th2 sont de facto déclenchées [184] mais tous les déterminants de la protection de l'hôte ne sont pas encore élucidés [185;186].

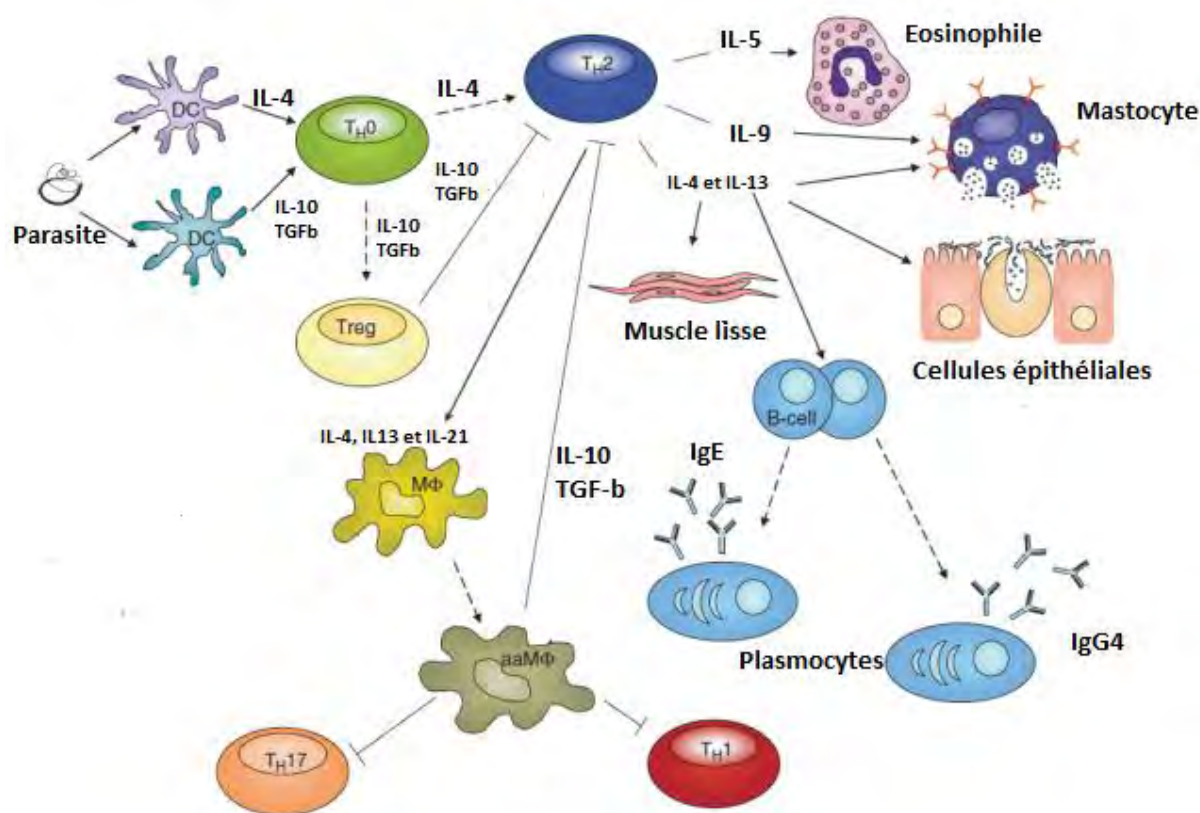


Figure 8 : Mécanismes de la réponse immunitaire contre les helminthes (adaptée de Jackson et al. [187]). Les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) provenant des helminthes stimulent la différenciation des cellules dendritiques qui polarisent les cellules T auxiliaires vers les sous-populations Th2 et Treg. Les cellules Th2 induites produisent diverses cytokines (IL-4, IL-5, IL-9, ...) médiatrices des réponses effectrices des éosinophiles, des mastocytes, de la commutation isotypique des cellules B pour la production d'anticorps, l'augmentation de la perméabilité intestinale, la constructibilité des muscles lisse avec production de mucus etc... Les cellules Treg produisent au niveau périphérique l'IL-10 et le TGF-β pour réguler les réponses naturelles et adaptatives.

Chez l'homme, des études sur la relation entre la sévérité de la schistosomiase et la production *in vitro* de cytokines et chémokines ont montré que certaines différences sur les formes cliniques sont associées à des profils immunitaires distincts [188;189]. En effet, il a été montré chez des patients

atteints de schistosomiase gastro-intestinale chronique une réponse typique Th1/Th2 avec des taux élevés d'IL-4 comparés à ceux présentant la forme aiguë [188]. Durant les premiers 4 à 6 semaines de l'infection chez la souris, on assiste au développement d'une réponse Th1 contre la migration des schistosomules et des vers immatures, caractérisé par des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN- γ , le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6 [29;190]. Chez l'homme, des taux élevés de ces cytokines ont aussi été associés au développement du syndrome Katayama [72]. D'autres investigations chez des souris déficientes du gène d'IFN- γ ou traitées avec des anticorps anti-IFN- γ ont montré que l'IFN- γ est crucial pour le développement de granulome et contribue au recrutement de neutrophiles au cours de la réaction inflammatoire [191;192].

A la suite de la réponse Th1, le système immunitaire s'oriente vers une réponse Th2 dominante caractérisée par une forte expression d'IL-4, d'IL-5, d'IL-10 et d'IL-13 [17;18]. Bien que l'IL-4 et l'IL-13 soient importantes dans le développement des cellules Th2, la production de ces cytokines par l'immunité innée semble jouer un rôle négligeable dans l'induction de réponse Th2. En effet, en plus de l'IL-4, l'IL-13, l'IL-5, l'IL-9 et l'IL-10, les cellules Th2 peuvent aussi produire l'IL-25 et l'IL-31 qui pourraient avoir un rôle primordial dans l'induction et la régulation des réponses Th2 [193;194].

Au vue d'études sur l'homme et sur l'animal, il est maintenant connu que la réponse Th2 peut expulser les vers adultes de l'intestin [195] et favoriser la survie de l'hôte en présence du parasite [196], mais ne peut pas éliminer les helminthes lors d'une réinfection [197].

3.2. Immunopathologie de la schistosomiase

Les mécanismes sous-jacents du développement des signes pathologiques au cours de la schistosomiase apparaissent complexes et ne sont pas encore bien

élucidés. Bien que l'intensité de l'infection puisse être associée à la morbidité [198;199], les aspects immunologiques seraient associés à la survenue des atteintes tissulaires [67;200]. En effet comme dans la plupart des maladies infectieuses, la réponse de l'hôte aux schistosomes est coordonnée par les cellules T auxiliaires dont chacune est caractérisée par un ou plusieurs profil(s) cytokinique(s) distincte(s) et un rôle relativement unique incluant une fonction effectrice vis-à-vis du parasite [18], des réactions inflammatoires au niveau des tissus [21] ou encore des mécanismes de modulation des réponses immunitaires [201]. La connaissance des mécanismes cellulaires impliqués dans la physiopathologie de la schistosomiase pourraient avoir d'importantes implications non seulement dans le contrôle de la maladie, mais aussi dans les stratégies d'intervention d'autres syndromes inflammatoires et pathologies granulomateux et fibrotiques [202].

3.2.1. La réponse Th1/Th2 dans la pathologie au cours de la schistosomiase

Il est bien connu qu'au cours des infections par les nématodes, la réponse effectrice Th2, à travers l'interleukine-4 (IL-4) [176], IL-5 [203], IL-9 [177], IL-13 [178], joue un rôle primordial en favorisant le changement isotopique des cellule B productrices d'immunoglobuline E (IgE) ainsi que l'activation des réponses effectrices des polynucléaires éosinophiles et des basophiles. En plus de l'IL-4, l'IL-13, l'IL-5, l'IL-9 et IL-10, il a été montré chez la souris que les cellules Th2 pouvaient aussi induire l'IL-25 et l'IL-31 qui ont aussi un important rôle dans l'induction et la régulation de la réponse Th2 [86;193;194;204;205].

Des études expérimentales sur des souris infectées par *Schistosoma mansoni* ont mis en évidence le rôle important de la réponse Th2 dans la formation du granulome sous forme d'une réaction d'hypersensibilité retardée régulée par plusieurs populations cellulaires, cytokines et chémokines [29].

Dans la plupart des infections par les helminthes, les réponses de cicatrisation seraient à l'origine des dommages tissulaires [206]. Le rôle de certains composants de la réponse immunitaire Th2 dans la protection de l'hôte et dans les processus immunopathologiques, tels que l'IL-25 et l'IL-31, a fait l'objet de plusieurs investigations [86;207] mais peu travaux ont été fait chez l'homme. Néanmoins chez des patients présentant des fibroses hépatiques, il a été montré des taux élevés de cellules T productrices d'IL4 et d'IL5 avec une faible production d'IL10 [189]. De plus, un risque élevé de développer une fibrose sévère a été associé à une faible production d'IFN- γ et des taux élevés de TNF- α en réponse aux antigènes solubles de l'œuf [208]; de même, la fibrose serait corrélé à une forte production d'IL-4 en réponse aux antigènes d'œuf et extraits d'antigènes de ver adulte [209]. Cependant, l'absence d'association entre la production de cytokines, l'expression de marqueurs d'activation et le taux de lymphocytes producteur d'IL-10 suggèrent que l'absence de fonction immunorégulatrice de l'IL10 serait un facteur important dans l'instauration des formes sévères chez les patients présentant avec une fibrose périportale [210]. A l'opposé, chez des patients présentant une splénomégalie, l'altération de la réponse Th2 était associée à une production importante d'IFN- γ en réponse aux antigènes solubles d'œufs et aux extraits de vers adultes [188] et à une faible expression de cellules T productrices d'IL-10 [189] avec comme conséquence une réponse pro-inflammatoire. Ces études suggèrent ainsi que l'issue de l'infection par le schistosome ne dépend pas seulement de la nature de la réponse Th1/Th2 mais aussi de la régulation de cette réponse par l'IL10 produit par les cellules T régulatrices. De toute évidence chez la souris, les cytokines Th2 (IL-4 et l'IL-13) participent à l'immunopathologie tandis que la réponse Th1 (à travers l'IFN- γ) intervient dans la protection contre le développement de pathologie sévère [29].

Des études chez des souris déficientes en IL-13 et en IL-4 ont montré que l'IL-4 favorise le développement du granulome au cours de la schistosomiase tandis que l'IL-13 est le facteur clé dans l'induction de la fibrose hépatique [72;211;212]. La taille du granule dépend ainsi de la production d'IL-4 qui entraîne la prolifération des cellules Th2 et la production d'IL-5 et d'IL-13 [213]. Il a cependant été montré que l'IL-4 n'était pas requise pour le développement de la fibrose mais permettait d'améliorer les effets de l'IL-13 sur la fibrose [211]. L'IL-13 est aussi connu pour sa synergie avec l'IL-4 pour l'initiation de réponse Th2 et dans le recrutement des éosinophiles au niveau du granulome [211]. Chez des souris déficientes en TGF- β , il a été montré que l'action de l'IL-13 sur la fibrose était dépendante du TGF- β [214]. L'IL-5 participe aussi au recrutement des éosinophiles au niveau du granulome [215] et contribue ainsi directement au cascade de la réponse immunitaire par le recrutement de cellules [216].

3.2.2. Rôle des cellules Th17 dans l'induction de la pathologie

En dépit du rôle de la réponse Th2 dans l'immunopathologie de la schistosomiase, en l'occurrence dans le développement du granulome et de la fibrose, les mécanismes sous-jacents de l'induction des effets inflammatoires restent mal élucidés. Des études chez le modèle animal sur les mécanismes de développement de l'immunopathologie et de la réaction inflammatoire au cours de la schistosomiase ont permis de mettre en évidence le rôle des cellules pro-inflammatoires Th17 dans l'induction de la pathologie sévère [217]. Dans la schistosomiase murine, les cytokines Th2 peuvent induire une pathologie dans la phase chronique mais leur action est moins marquée que celle des cytokines Th1 (IFN- γ) ou Th17 (IL-17) qui conduisent souvent à un issu fatal, surtout dans la phase aigüe [217;218]. Les sévères signes pathologiques induits au cours de la schistosomiase ont été par la suite montrés être dépendants de l'IL-23 qui est une cytokine des cellules Th17 [21;219].

A l'instar d'autres infections parasitaires, l'axe IL-23/IL-17 conduit, au cours de la schistosomiase, à une réponse effectrice corrélée à un mauvais pronostic. En effet chez des souris déficientes en récepteur d'IL-17 (IL-17R), il a été montré que l'infection par *Toxoplasma gondii* entraînait une augmentation significative de leur mortalité par rapport aux souches sauvages et que ces effets étaient associés à une diminution du taux de CXCL8 (molécule d'adhésion des cellules inflammatoires), au recrutement des neutrophiles au niveau du site de l'infection et à une augmentation de la densité parasitaire [220]. De plus, les souris exprimant l'IL-17R développaient des atteintes tissulaires moins importantes, indiquant que l'IL-17 joue un rôle non négligeable dans la pathogenèse [220]. De même, l'exacerbation de la pathologie induite par l'immunisation par des antigènes d'œuf de schistosomes est corrélée à l'augmentation des cellules Th17 [219]. Ces résultats montrent qu'à l'instar de certains syndromes inflammatoires chroniques et maladies auto-immunes [217], la voie Th17 pourrait être le principal mécanisme inducteur des effets immunopathologiques au cours de la schistosomiase.

L'immunopathologie sévère chez la souris, qu'elle soit induite par immunisation par des extraits d'œufs de schistosome chez la souche C57BL/6 ou survenant chez la souche sauvage CBA, est associée à une réponse pro-inflammatoire caractérisée par des taux élevés d'IFN- γ et d'IL-17 [219], respectivement produite par les cellules Th1 et Th17. Un élément important dans cette co-activité Th1/Th17 est que le facteur de transcription des cellules Th1 (T-bet) serait capable de réguler l'effet pro-inflammatoire des cellules Th17. En effet chez des souris T-bet^{-/-} immunisées par des extraits d'œufs de schistosome, on assiste à une accentuation des atteintes hépatiques par rapport aux souches T-bet^{+/+} [221]. Cependant, d'autres études suggèrent que T-bet régule plutôt l'immunopathologie induite par les œufs de schistosome, à travers la fonction

pro-inflammatoire des cellules Th17, en induisant une immunité Th1 qui réprime la réponse Th2 [221].

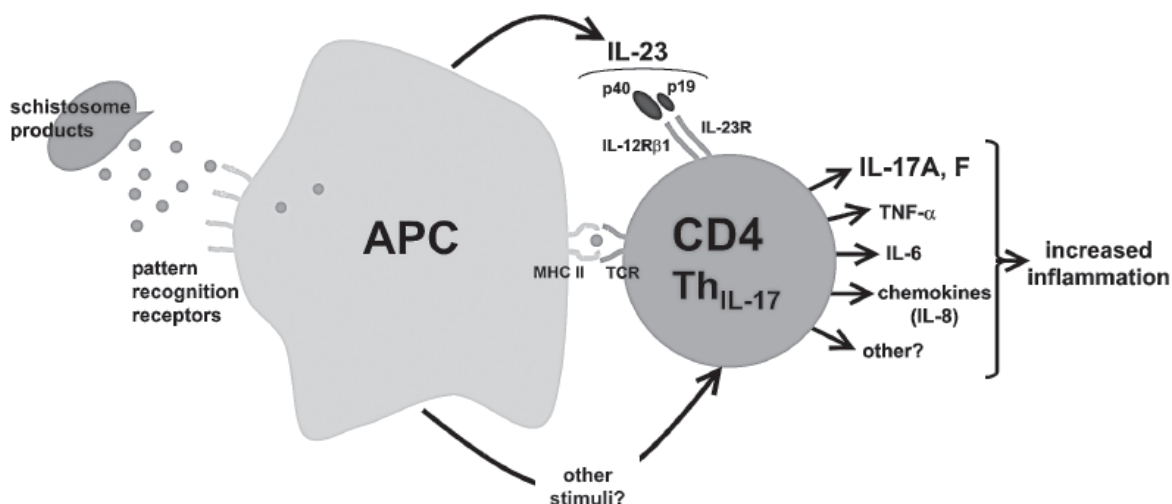


Figure 9: Mécanisme d'induction de la pathologie par les cellules Th17 au cours de la schistosomiase (Rutitzky et al. [222]). L'activation des cellules présentatrices d'antigènes par les produits du parasite, probablement à travers les récepteurs Toll-like (TLR), de type Lectine C ou autres molécules de reconnaissance des motifs microbiens, entraîne la production d'IL-23 par les cellules de l'immunité innée qui agirait sur les cellules Th17 pour la production de médiateurs pro-inflammatoires. Cependant, la possibilité d'une action en synergie avec d'autres cytokines ou de l'existence d'autres molécules de co-stimulation pour l'activation des cellules Th17 reste à élucider.

3.2.3. Rôle des cellules T régulatrices dans la pathologie au cours de la schistosomiase

Bien que les réactions inflammatoires soient importantes dans la protection de l'hôte contre les pathogènes, des mécanismes de régulation sont en contrepartie nécessaires pour limiter les atteintes tissulaires [223]. Ainsi, l'IL-10 qui est largement produite par les cellules T régulatrices agit en contrebalance en favorisant la polarisation des réponses Th1 en Th2 et vice versa, afin de prévenir une réponse Th1 ou Th2 excessive [29]. Dans la phase

précoce de la formation du granulome, l'IL-10 agit sur les cellules Th1 en supprimant la production d'IFN- γ [224].

En effet des études sur des souris recombinantes (déficiences au gène d'IL-10) ont montré que les iTreg sont d'importantes sources d'IL-10 régulant l'équilibre Th1/Th2 [224]. Ainsi les cellules T régulatrices contribuent à la régulation de la pathologie induite par les schistosomes en réprimant la réponse Th1 et en empêchant le développement d'une réponse Th2 excessive au niveau du granulome inflammatoire [17;224-226]. Dans une étude de suivi d'infection murine par *schistosoma mansoni*, il a été montré que les cellules Treg pouvaient avoir une activité suppressive sur les cytokines Th1 et Th2 [226]. Cependant, la régulation de la réponse Th2 au cours de la schistosomiase est complexe [227] et le rôle précis des cellules Treg dans le processus de la formation du granulome n'est pas encore bien compris.

La plupart des études sur les cellules T CD4⁺CD25⁺ ont montré que les cellules T régulatrices pourraient contribuer à la protection contre la schistosomiase [228]. Puisque la population des cellules T régulatrices connaît une expansion chez les souris infectées par les schistosomes ou traitées avec des œufs du parasite [229-231], l'action de ces cellules pourrait porter au niveau systémique plutôt qu'au niveau local. En effet au niveau périphérique, les cellules T régulatrices naturelles seraient capables de contrôler la réponse Th2 en réprimant la réponse Th1 à travers l'IL-10 [225]; et la déplétion des Treg augmente la production d'IL-4 et d'IFN- γ [226]. D'autres études ont cependant montré que la déplétion des cellules Treg au cours de l'infection par *schistosoma mansoni* n'altérerait pas la réponse immunitaire [226;227].

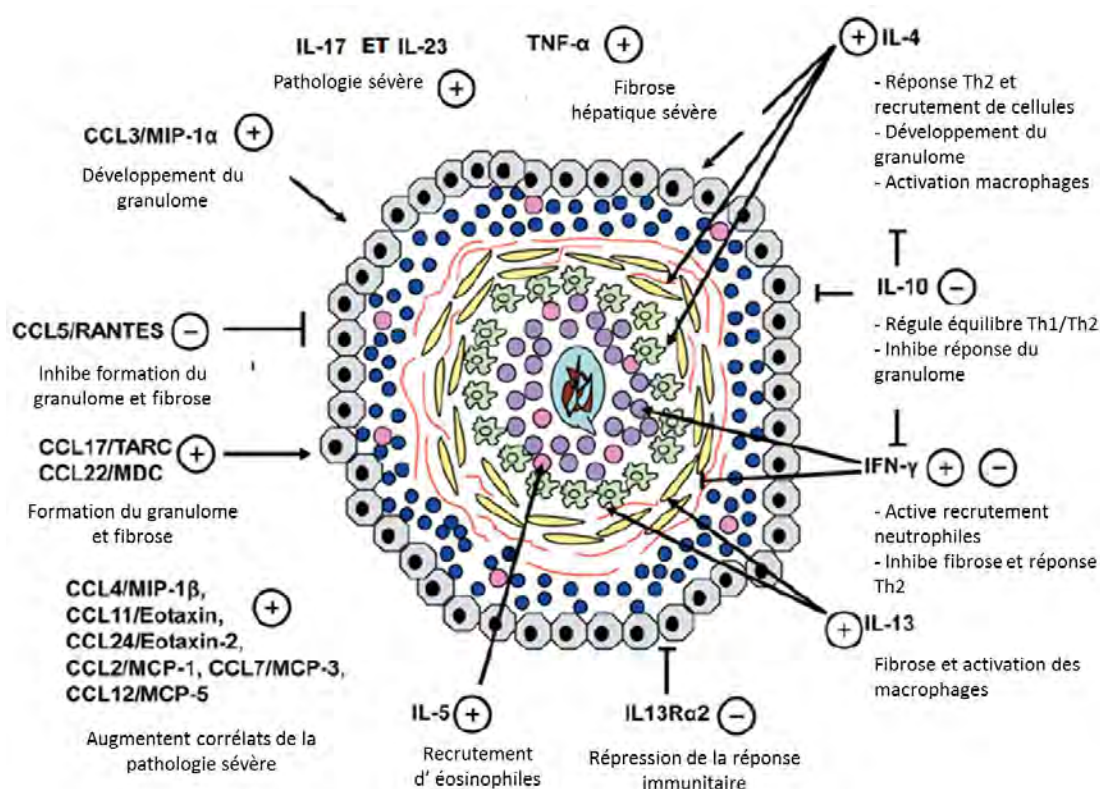


Figure 10: Principales composantes de la réponse immunitaires au niveau du granulome (adaptée de Burke et al ([202])). La réponse immunitaire contre le granule fait intervenir plusieurs composantes dont : l'IFN-γ (réponse Th1) qui induit le recrutement des neutrophiles et inhibe la réponse Th2 à l'origine de la fibrose ; IL-4, IL-5 et IL-13 (réponse Th2) qui favorisent le développement le granulome en recrutant les cellules et activant les macrophages ; TNF-α intervenant dans la fibrose hépatique sévère ; IL-17 qui a un rôle dans l'induction de la pathologie sévère ; des chimiokines favorisant le développement du granulomes et de la fibrose ; RANTES/CCL5 qui inhibent la formation du granulome et de la fibrose ; IL-10 régulant les réponse T effectrices au niveau du granulome.

3.2.4. L'équilibre Treg et Th17 au cours de la schistosomiase

En effet à côté des cellules Th17 dont le rôle dans l'induction de la pathologie au cours de la schistosomiase est avéré, il est maintenant établi que les helminthes ont un fort potentiel à induire une réponse T régulatrice pour contrôler les réactions inflammatoires [23]. Ainsi l'équilibre entre les cellules T régulatrices et Th17 pourrait conditionner le développement de la pathologie sévère [232].

Certaines études ont rapporté que la différenciation des cellules Th17 est au dépend des cellules Treg. En effet au niveau du sang périphérique de patients atteints du syndrome inflammatoire de Bowel, il a été montrée une diminution des cellules T régulatrices $CD4^+CD25^{\text{high}}Foxp3^+$ et une augmentation des cellules pro-inflammatoires [233], indiquant ainsi que cette maladie est associée à une diminution du ratio Treg/Th17 évoquant un environnement pro-inflammatoire du à une génération continue de cellules Th17. De même dans l'arthrite auto-immune, le développement des cellules Th17 apparaît étroitement lié aux cellules T régulatrices et on assiste à une diminution des effets pro-inflammatoires quand l'équilibre entre ces deux cellules est en faveur des cellules T régulatrices [234].

Bien que les mécanismes d'induction des cellules Treg ne soient pas encore totalement élucidés, leur développement semble être entravé par l'interaction avec les cellules Th17. Des études *in vitro* sur les conditions de différenciation des cellules Treg et Th17 ont montré que l'IL-6 et le TGF- β favorisant l'induction des cellules Th17 chez la souris tandis TGF- β seul pouvait conduire à la différenciation des cellules T régulatrices [235;236]. Le fait que TGF- β soit nécessaire pour la différenciation aussi bien des Treg que des Th17 suggère la possibilité d'un lien fonctionnel entre ces deux populations cellulaires. Il a été montré que le FOXP3 pouvait être associé au ROR- γ t pour inhiber son activité transcriptionnelle; et en présence d'IL-6, cette inhibition était abrogée et la différenciation des cellules Th17 est alors initiée [237]. Ces données suggèrent qu'il existe un environnement déterminant si une cellule T $CD4^+$ naïve serait différenciée en cellule Treg ou Th17.

Cependant, la relation entre les cellules Treg et Th17 à travers le TGF- β n'est pas toujours partagé car si le TGF- β semble être indispensable pour l'induction des cellules Th17 chez la souris, il n'en est pas ainsi chez l'homme

où les Th17 peuvent être induites en l'absence de TGF- β [120]. Néanmoins chez l'homme, d'autres interactions entre ces sous-populations cellulaires ont été démontrées, en l'occurrence l'expression des chémokines CCR6 et CCL20 pour la migration au niveau des de l'inflammation [238] et de CCR4 fortement induit par le FOXP3 et qui s'exprime sur les cellules T régulatrices périphérique [239].

Ainsi avec la découverte des cellules Th17, d'importants progrès ont été faits dans la compréhension de l'immunopathogenèse des réactions inflammatoires au niveau tissulaire [240] et du contrôle de l'inflammation par les cellules Treg [201;241]. Dans la schistosomiase murine, des travaux semblent indiquer que les cellules Treg préviennent le développement de la pathologie [29] tandis l'augmentation des cellules Th17 seraient corrélée à l'exacerbation de cette réponse inflammatoire. [219;242]. Chez l'homme, cet équilibre entre les cellules Treg et Th17 au cours d'infection par les helminthes n'a jusqu'ici pas été investiguée.

4. Objectifs

La schistosomiase est l'une des principales causes de morbidité parmi les helminthiases. Elle induit une inflammation chronique avec comme conséquence des atteintes tissulaires variables [13-15]. Le parasite est cependant capable de réguler la réponse immunitaire de l'hôte, permettant sa survie à long terme avec comme conséquence une stimulation permanente du système immunitaire qui s'accompagne très souvent d'effets immunopathologiques [16;17]. Puisque les données immunologiques disponibles proviennent d'études expérimentales et que l'infection par la souris avec le *S. haematobium* est particulièrement difficile, nous nous sommes intéressés à une zone co-endémique pour étudier les éventuelles interactions entre le *Schistosoma haematobium* et le *S. mansoni* dans la réponse immunitaire.

La plupart des études explorant les mécanismes sous-jacents de l'induction de la pathologie a été faite chez le modèle animal où il a été montré que le développement de la pathologie sévère serait étroitement lié aux cellules Th17 qui agiraient de concert avec les cellules Th1 pour induire une réponse pro-inflammatoire [17;21]. De même, les helminthes auraient une grande capacité à induire une réponse T régulatrice pour contrôler les mécanismes inflammatoires [22;23] que les cellules Th17 sont supposées induire. Ainsi les mécanismes de différenciation des cellules naïves vers les cellules Treg ou Th17 pourraient conditionner la survenue de l'immunopathologie au cours de la schistosomiase.

La réaction immunitaire de l'hôte vis-à-vis des parasites peut grandement dépendre de la zone d'endémie. En effet, il a été suggéré que les différents environnements résultant du mode de vie ou de l'exposition aux microorganismes pourrait conditionner les mécanismes effecteurs vis-à-vis d'un même pathogène.

✓ Objectifs généraux

Nous nous sommes proposés dans ce travail de déterminer le profil immunitaire de population rurale vivant en zone endémique aux schistosomes, d'étudier la réponse effectrice en réponse aux antigènes des deux principales espèces de schistosome présentes dans cette zone et d'évaluer comment évolue l'équilibre des cellules T auxiliaires pro- et anti-inflammatoires dans la pathologie induite au cours de la maladie. Puisque chez l'homme nous ne pouvons accéder qu'au sang périphérique, nous avons utilisé un modèle animal pour vérifier si les résultats obtenus au niveau périphérique se reflèteraient au niveau des tissus.

✓ Objectifs spécifiques

De manière spécifique, nous avons :

- évalué, chez des sujets sains vivant en zone rurale et urbaine au Sénégal et en zone urbaine de pays européen, les sous-populations des cellules T auxiliaires (Th1, Th2, Th17, Th22 et Treg), les cytokines pro- et anti-inflammatoires ainsi que l'activation immunitaire et les phénotypes mémoires des cellules T et B.
- mesuré, après stimulation cellulaire *in vitro*, l'expression des cytokines effectrices IL-10, IL-5, IFN- γ , TNF- α et IL-2 en réponse à des antigènes d'œufs et de vers adultes de *Schistosoma haematobium* et *S. mansoni* afin de déterminer l'immunogénicité de ces antigènes parasitaires
- étudié, à travers leur facteur de transcription et cytokine effectrice, les cellules T auxiliaires, en particulier les cellules T régulatrices et T auxiliaires 17 (Th17), dans la schistosomiase humaine et murine avec

ou sans atteintes tissulaires graves afin de déterminer les facteurs associés à la morbidité.

5. Résultats

5.1. Article 1

IMMUNOLOGY ORIGINAL ARTICLE

Changes in immunological profile as a function of urbanization and lifestyle

Moustapha Mbow,^{1,2,3} Sanne E. de Jong,² Lynn Meurs,³ Souleymane Mboup,¹ Tandakha Ndiaye Dieye,¹ Katja Polman³ and Maria Yazdanbakhsh²

¹Immunology Department of the Laboratory of Bacteriology and Virology of Aristide Le Dantec University Hospital, Dakar, Senegal,

²Leiden Immunoparasitology Group, Department of Parasitology, Leiden University Medical Centre, Leiden, the Netherlands, and

³Department of Biomedical Sciences of the Institute of Tropical Medicine of Antwerp, Antwerp, Belgium

**Les changements du profil immunitaire sont fonction
de l'urbanisation et du mode de vie**

Résumé

Introduction : Les changements de mode de vie et la rupture de l'homme avec son milieu naturel semblent être associés aux modifications observées dans notre système immunitaire et l'apparition de certains effets néfastes sur notre santé. Bien que la génétique puisse avoir un impact dans la réponse immunitaire et la susceptibilité à certaines maladies, il a été suggéré que la contribution des facteurs environnementaux demeure substantielle. Nous nous proposons dans cette étude de déterminer le profil immunologique de sujets sains vivant en zones rurale et urbaine de pays en voie de développement (Sénégal) et en milieu urbain de pays développé (les Pays-Bas). **Méthodologie :** En utilisant la cytométrie de flux multiparamétrique, nous avons déterminé les cellules T auxiliaires de type 1 (Th1), de type 2 (Th2), de type 17 (Th17), de type 22 (Th22), les cellules T régulatrices (Treg), mais aussi les marqueurs d'activation des cellules B et T et les sous-types de cellules mémoires B et T. **Résultats :** Les sénégalais habitant en zone rurale endémiques aux schistosomes présentaient des proportions significativement plus élevées de cellules Th1, Th2 et Th22, de cellules mémoires T $CD4^+$ T et une plus importante activation des cellules T $CD4^+$ et des lymphocytes B par rapport sujets vivant en zone urbaine du Sénégal et des Pays-Bas. Parmi les Sénégalais, les sujets habitant en zone rurale présentaient des pourcentages plus importants de cellules Th2, Th17 ainsi qu'un profil inflammatoire et des proportions de marqueurs d'activation et de cellules mémoires plus élevées. **Conclusion :** La plus grande magnitude de l'activation immunitaire, de la réponse Th2 et du phénotype mémoire observés dans la population rurale, suivie par celle de la population urbaine africaine puis européenne suggèrent que le profil immunitaire pourrait être fonction des changements environnementaux, ce qui pourrait avoir une conséquence dans la réponse immunitaire contre certaines infections et pathologies en général et dans la réponse vaccinale en particulier.

Introduction

Au cours des dernières décennies, une augmentation globale de la prévalence de nombreuses maladies inflammatoires a été notée dans les pays développés [148;243]. Bien que les prédispositions génétiques puissent conditionner le développement de certains syndromes inflammatoires complexes [151-153], elles ne peuvent pas à elles seules expliquer l'augmentation rapide de la prévalence de ces maladies. Les conditions environnementales telles que l'exposition à de nombreux micro-organismes à la fois mais aussi le mode de vie et les habitudes alimentaires et diététiques peuvent affecter non seulement notre physiologie mais aussi notre système immunitaire. Il a été rapporté que l'exposition précoce à un environnement hostile avec des charges élevées de microorganismes pourrait être un élément protecteur contre certaines maladies inflammatoires comme les allergies, tandis qu'une diminution de l'exposition aux microorganismes, la rupture avec le mode de vie traditionnel ou encore le changement alimentaire pourraient augmenter le risque aux maladies inflammatoires [154;155]. Des études épidémiologiques ont montré que les phénomènes allergiques sont très fréquents dans les pays développés et certaines zones urbaines des pays en voie de développement tandis qu'ils restent rares dans les populations rurales exposées à des parasites et plusieurs autres microorganismes [244-246]. Il est actuellement admis que les changements du notre système immunitaire en réponse aux changements environnementaux pourraient être responsables de la montée de certains syndromes inflammatoires.

Le système immunitaire est équipé de différentes cellules impliquées dans la reconnaissance et l'élimination d'une large variété de microorganismes, avec principalement les cellules T auxiliaires (T CD4⁺) essentielles dans la lutte contre les infections et la régulation du système immunitaire [86;92;127-129;247-249]. La réponse des cellules T auxiliaires de type 1 (Th1) est principalement impliquée dans la défense contre les pathogènes intracellulaires

[84], les cellules T auxiliaires de type 2 (Th2) dans la lutte contre les helminthes et les ectoparasites [86] et les cellules T auxiliaires de type 17 (Th17) apparaissent cruciales dans la défense contre les bactéries intracellulaires et les infections fongiques [92]. Une réponse T non contrôlée peut cependant causer des lésions au niveau des tissus et organes. Par exemple, les réponses Th1 et Th17 persistantes sont associées à des maladies inflammatoires et auto-immunes [250;251] tandis que l'hyper-activation des cellules Th2 peut conduire à des allergies [252]. L'hyper-activation du système immunitaire est contrôlée par des mécanismes régulateurs, avec à la base les cellules T régulatrices (Treg) qui produisent des molécules suppresseurs capables de contrôler les cellules T effectrices activées [253]. Plus récemment, l'interleukine-22 (IL-22), produite par une population distincte de cellule T (Th22) [128] ou par les cellules Th17 [112], a été rapportée comme jouant un rôle dans les maladies inflammatoires [110;111]. Les stades d'activation des cellules adaptatives et leur développement en cellules fonctionnelles effectrices et mémoires [254;255] pourrait être utilisées pour comparer le statut immunitaire de personnes vivant dans des environnements différents.

Notre hypothèse est que les différents environnements résultant du changement de modes de vie ont un impact sur le système immunitaire. Dans cette étude, nous avons utilisé les mêmes réactifs et protocoles pour déterminer les sous-populations de cellules T auxiliaires, les cytokines pro- et anti-inflammatoires, l'activation des cellules T et B ainsi que les cellules mémoires T et B chez des populations vivant d'une part en zone rurale et urbaine en Afrique et d'autre part en zone urbaine en Europe.

Matériels et méthodes

Population d'étude

Au total 30 sujets adultes sains âgés de 20 à 30 ans issus de différentes zones géographiques ont été recrutés: zone rural et urbaine au Sénégal et zone urbaine aux Pays-Bas. La population rurale (n = 10) est constituée de paysans habitant dans le village de Pakh au nord du Sénégal (zone endémique à la schistosomiase) qui ont été recrutés comme groupe contrôle dans une étude investiguant la réponse immunitaire dans la pathologie au cours de la schistosomiase (article 3). Ces individus ont été testés négatifs pour le *Plasmodium falciparum* (par goutte épaisse et test de diagnostic rapide pour le paludisme), les schistosomes (par test de Kato-Katz sur les selles et la filtration des urines), pour *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* et hookworm [256]. La population urbaine du Sénégal (n = 10) est constituée de sujets travaillant au laboratoire de Bactériologie et Virologie de l'hôpital Aristide le Dantec de Dakar, capital du Sénégal, qui se sont portés volontaires pour participer à l'étude.

Parmi les Sénégalais, tous les sujets du groupe des ruraux et 9 sujets sur 10 du groupe des urbains sont d'ethnie wolof ; l'individu restant du groupe des urbains appartenait à la communauté sérère. Les européens étaient quant eux constitués de doctorants du Centre Médical de l'Université de Leiden (n = 10) qui se sont portés volontaires pour participer à l'étude. Tous les participants ont été interrogés sur leur état de santé ainsi que leur antécédents médicaux par un clinicien et aucun d'entre eux ne présentaient de signe clinique d'une infection courante ou un antécédent de maladie inflammatoire. Cependant, tous les sénégalais prétendaient avoir eu le paludisme au moins une dans leur vie.

Cette étude a été approuvée par le Comité National d'Ethique de la Recherche en Santé du Sénégal. Tous les participants ont eu à signer un consentement libre éclairé avant de participer à l'étude.

Séparation et fixation des cellules

Les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) ont été isolées dans les quatre heures qui ont suivi le prélèvement de sang par différence de densité en utilisant le Ficoll (GE Healthcare Bio-Sciences AB). Pour la détermination des facteurs de transcription, un million de cellules ont alors été fixées pendant une heure avec une solution de fixation (eBioscience) puis conservées à -80°C dans du RPMI (Roswell Park Memorial Institute) enrichi avec 100UI/ml de pénicilline (Gibco), 100UI/ml de streptomycine (Sigma-Aldrich), 1 mM de pyruvate (Sigma-Aldrich), 2 mM de glutamate (Sigma-Aldrich), 10% de FBS (Invitrogen) et 10% de dimethyl sulfoxyde (DMSO) (Merk).

Stimulation cellulaire

Pour la détermination des cytokines intracellulaires des cellules T, 1×10^6 PBMC ont été stimulées pendant 6 heures au total avec 100 ng/ml de phorbol-myristate-acetate (PMA) (Sigma-Aldrich) et 1 μ g/ml d'ionomycine (Sigma-Aldrich). La Bréfeldine A (BFA, 10 μ g) (Sigma-Aldrich) a été ajoutée après deux heures de stimulation et les cellules incubées pendant quatre heures supplémentaires à 37°C sous 5% CO₂. Les cellules ainsi stimulées ont été fixées avec du Paraformaldehyde (PFA) 2% (Sigma Aldrich) pendant 15 minutes puis conservées à -80°C dans du RPMI-1640 contenant 10% de FCS et 10% de DMSO.

Analyse par cytométrie de flux

Les PBMC qui ont été stimulées et fixées au Sénégal ont été acheminées à Leiden où les échantillons des sujets européens ont été collectées. Les PBMC fixées (dans une solution de fixation de eBioscience pour la détermination des facteurs de transcription et avec du PFA pour la détermination des cytokines intracellulaires) ont été décongelées, lavées une fois avec du RPMI-1640 contenant 10% de FBS, une fois avec du PBS (Fresenius Kabi). Les cellules ont ensuite été perméabilisées à la température ambiante et marquées avec des anticorps spécifiques pendant 30 minutes à 4°C dans une solution contenant un inhibiteur du récepteur du fragment du complément (anti-FcγR) (eBioscience) afin d'éviter les fixations non spécifiques. Pour les facteurs de transcription, 2.5×10^5 cellules ont été marquées à travers de différents panels. Panel 1: AmCyan-labelled anti-CD3 (BD Biosciences), PE-Cy7-labelled anti-CD4 (BD Biosciences), PE-labelled anti-ROR-γt (eBioscience), PerCP-Cy5.5-labelled anti-T-bet (eBioscience) et eFluor660-labelled anti-GATA-3 (eBioscience); Panel 2: APC-labelled anti-CD3 (BD Biosciences), PerCP-labelled anti-CD4 (BD Biosciences), PE-Cy7 anti-CD25 (BD Biosciences), FITC anti-FOXP3 (eBioscience), PE anti-CD127 (BD Biosciences); Panel 3: PE-Cy7 anti-CD4 (BD Biosciences), FITC anti-CD19 (BD Biosciences), PerCP anti-CD14 (BD Biosciences), PE anti-CD86 (BD Biosciences), APC-eFluor780 anti-HLA-DR (eBioscience), APC anti-CD27 (BD Biosciences) et PB anti-CD45RO (Biolegend). Pour la détermination des cytokines intracellulaires, 2.5×10^5 cellules ont été utilisées dans deux différents panels: Panel 4: AmCyan anti-CD3 (BD Biosciences), PerCP anti-CD4 (BD Biosciences), AlexaFluor488 anti-IL-17 (eBioscience), PE anti-IL-22 (R and D systems), PE-Cy7 anti-IL-4 (eBioscience), APC anti-IFN-γ (BD Biosciences); Panel 5: AmCyan anti-CD3 (BD Biosciences), PerCP anti-CD4 (BD Biosciences), PE anti-IL-10 (BD Biosciences), FITC anti-IL-2 (BD Biosciences), PE-Cy7 anti-TNF-α (eBioscience). Les cellules marquées ont été lavées et suspendues dans du PBS

contenant 0.5% de BSA et 2mM EDTA et analysées au FACSCanto (BD Biosciences). Les résultats obtenus ont été analysés par le logiciel FlowJo version 8.8.6 (Tree Star Inc.). Les caractéristiques des différents anticorps monoclonaux utilisés pour la cytométrie sont illustrées au niveau du tableau supplémentaire (Tableau 1).

Analyses statistiques

Les données obtenues ont été analysées en utilisant le logiciel SPSS version 17 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) et les figures réalisées avec le logiciel GraphPad Prism pour Window version 5.00 (Graphpad, CA, USA). Les différences entre groupes ont été évaluées en utilisant les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis H et Mann-Whitney U. Les corrélations entre cytokines ont été calculées en utilisant le test non paramétrique de Spearman Rho. Une valeur de P-value < 0.05 a été considérée comme statistiquement significative pour toute différence.

Résultats

Population d'étude

Du sang périphérique a été collecté à partir de volontaires âgés de 20 à 30 ans appartenant à trois groupes: 1) populations rurale (Ru-Sen), (âge médiane: 27 [Min:20 – Max:30], 50% male); 2) et urbaine du Sénégal, (Ur-Sen) (âge médiane: 27 [Min:26 – Max:30], 50% male); 3) et des sujets en zone urbaine des Pays-Bas (Ur-Dut) âge médiane: 26.5 [Min:26 – Max:29], 40% male). Il n'y avait pas de différence significative entre les différents groupes en ce qui concerne l'âge et le sexe ($p = 0.469$ et 0.465 respectivement).

Distribution des sous-populations des lymphocytes T CD4⁺, des cytokines pro- et anti-inflammatoires dans les populations des zones rurales et urbaines

Pour comparer l'immunité adaptative entre les populations rurales et urbaines, les proportions relatives des sous-populations de cellules T CD4⁺ ont été comparées entre les sénégalais en zone rural et urbaine et les néerlandais. Les populations de cellules T auxiliaires ont été définies par leur facteur de transcription (T-box expressed in T cells (T-bet), GATA binding protein 3 (GATA-3), retinoid-related orphan receptor gamma t (ROR- γ t), et forkhead box P3 (FOXP3)) et leur cytokine effectrice (interferon- γ (IFN- γ), interleukine-4 (IL-4), interleukine-17 (IL-17), interleukine-22 (IL-22), interleukine-2 (IL-2), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) et interleukine-10 (IL-10)). Les stratégies de gating des facteurs de transcription et des cytokines sont indiquées au niveau des figures supplémentaires 1 (Figure 15) et 2 (Figure 16). Les cellules Th1 ont été définies par le phénotype T CD4⁺ T-bet⁺ ou T CD4⁺IFN- γ ⁺, les cellules Th2 par T CD4⁺GATA-3⁺ ou T CD4⁺IL-4⁺ et les cellules Th17 comme T CD4⁺ROR- γ t⁺ ou T CD4⁺IL-17⁺. Pour toutes ces trois populations, les proportions de facteurs de transcription ou cytokines caractéristiques étaient plus élevées chez les sénégalais en zone rurale suivis des sénégalais en zone urbaine avec de plus faibles pourcentages chez les néerlandais en zone urbaine (figure 11A and 11B). Cependant, les pourcentages des cellules ROR- γ t⁺CD4⁺ étaient plus élevés chez les néerlandais en zone urbaine par rapport au sénégalais en zone urbaine. De plus, les pourcentages des cellules Th1 et Th2 ainsi que le ratio Th2/Th1 ont été évalués et le rapport IL-4/IFN- γ était plus faible chez les néerlandais (Figure 11C), indiquant des taux relatifs de cellule Th2 chez la population rurale du Sénégal.

A côté des cellules Th1, Th2 et Th17, les cytokines pro- et anti-inflammatoires produites par les cellules T CD4⁺, ainsi que les cellules T

régulatrices $CD4^{+}CD25^{+}FOXP3^{+}$ ont été analysées. Les pourcentages d'IL-2, de TNF- α et d'IL-22 étaient plus élevés dans la population rurale par rapport aux deux populations urbaines. Parmi les Sénégalais, les pourcentages des cellules T auxiliaires productrices de TNF- α et d'IL-2 étaient plus élevés dans la population rurale comparée aux sujets en zone urbaine mais cette différence n'était pas statistiquement significative. Une différence significative a été observée pour les cellules T $CD4^{+}$ productrices d'IL-10 tandis qu'aucune différence n'a été observée entre les sénégalais et les européens pour les cellules T régulatrices $CD4^{+}CD25^{hi}FOXP3^{+}$.

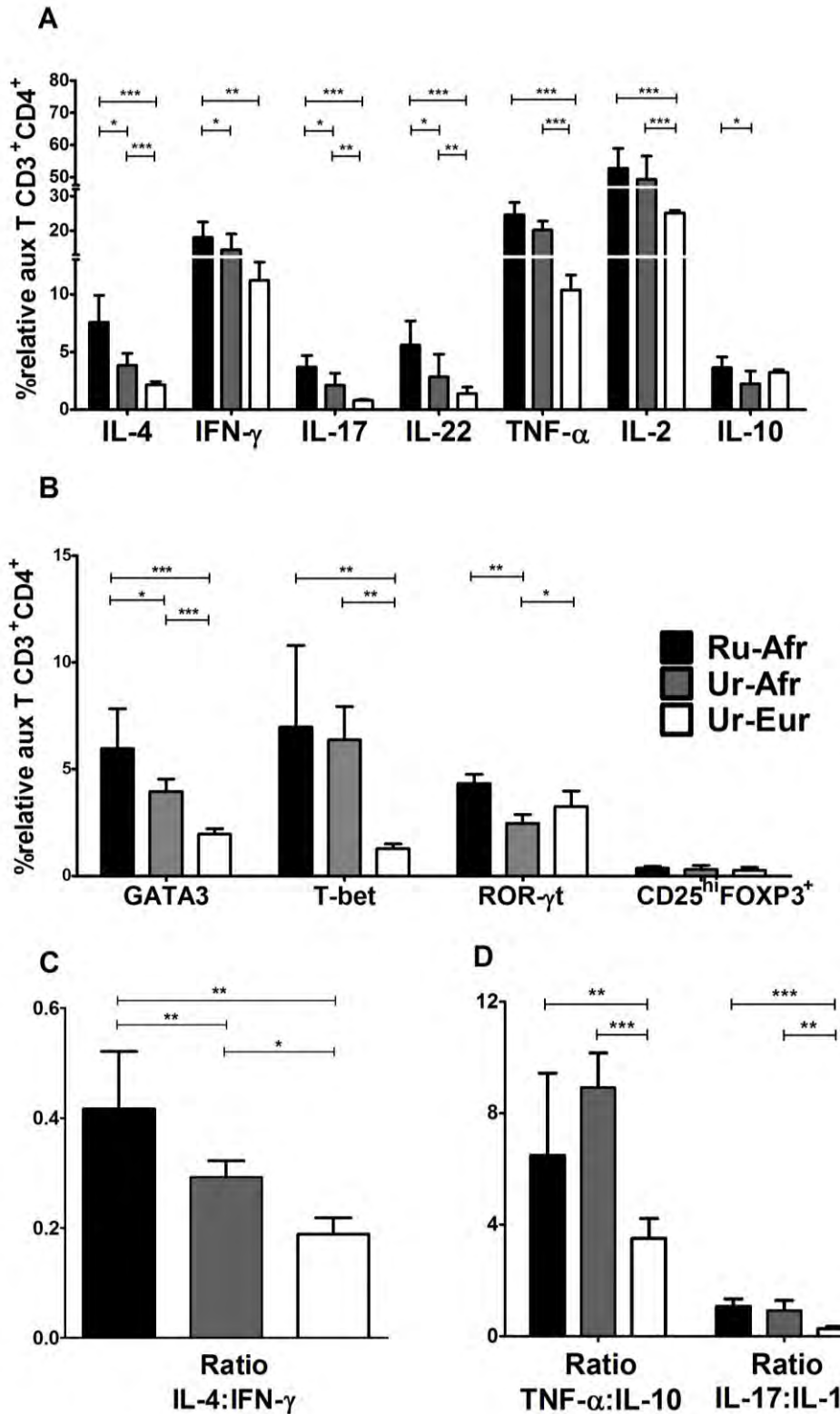


Figure 11: Distribution des sous-populations de lymphocyte T CD4⁺ et des cytokines pro- et anti-inflammatoires. Les pourcentages des cellules T CD4 productrices (A) IL-4⁺, INF- γ ⁺, IL-17⁺, IL-22⁺, TNF- α ⁺, IL-2⁺ et IL-10⁺ déterminés sur les PBMC stimulées par le PMA et ionomycine, l'expression de (B) GATA-3⁺ (GATA binding protein 3), T-bet⁺ (T-box

expressed in T cells), $ROR-\gamma t^+$ (retinoid-related orphan receptor gamma t) et $CD25^{hi}FOXP3^+$ sur les cellules T $CD4^+$ à partir des PBMC ex-vivo, et le ratio (C) IL-4 sur $INF-\gamma$, (D) $TNF-\alpha$ sur IL-10 et IL-17 sur IL-10 au niveau des groupes Ru-Sen ($n = 10$), Ur-Sen ($n = 10$) et Ur-Dut ($n = 10$) sont illustrés. Les données sont exprimées en médiane et 75% interquartiles. Les P-values ont été calculées avec le logiciel SPSS version 17 par le test non paramétrique de Mann-Whitney U et les figures réalisées avec le logiciel GraphPad Prism pour Windows version 5.00. Seuls les P-values montrant des différences significatives sont indiqués sur les figures. Abréviations: **Ru-Sen**: population rurale du Sénégal; **Ur-Sen**: population urbaine du Sénégal; **Ur-Dut**: population urbaine des Pays-Bas; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Pour évaluer les proportions des cytokines pro- et anti-inflammatoires, deux ratio pro/anti-inflammation ont été comparés entre les populations rurales et urbaines. Les ratios $TNF-\alpha/IL-10$ et $IL-17/IL-10$ ont montré un profil inflammatoire plus important chez les sénégalais comparés aux néerlandais tandis qu'aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les sénégalais en zone rurale et urbaine (Figure 11D).

L'IL-10 est corrélée à l' $IFN-\gamma$, l'IL-17 et l'IL-4 dans la population rurale et pas dans les populations urbaines

Les corrélations entre les pourcentages des cellules T $CD4^+$ productrices d'IL-10 et les cellules Th1 ($IFN-\gamma^+$), Th2 ($IL-4^+$) et Th17 ($IL-17^+$) ont été déterminées dans les différentes populations. L'IL-10 était positivement corrélées avec l' $IFN-\gamma$, IL-17 et l'IL-4 chez les sujets en zone rurale. Cependant, aucune corrélation significative n'a été observée chez les sujets sénégalais et néerlandais en zone urbaine (Figure 12).

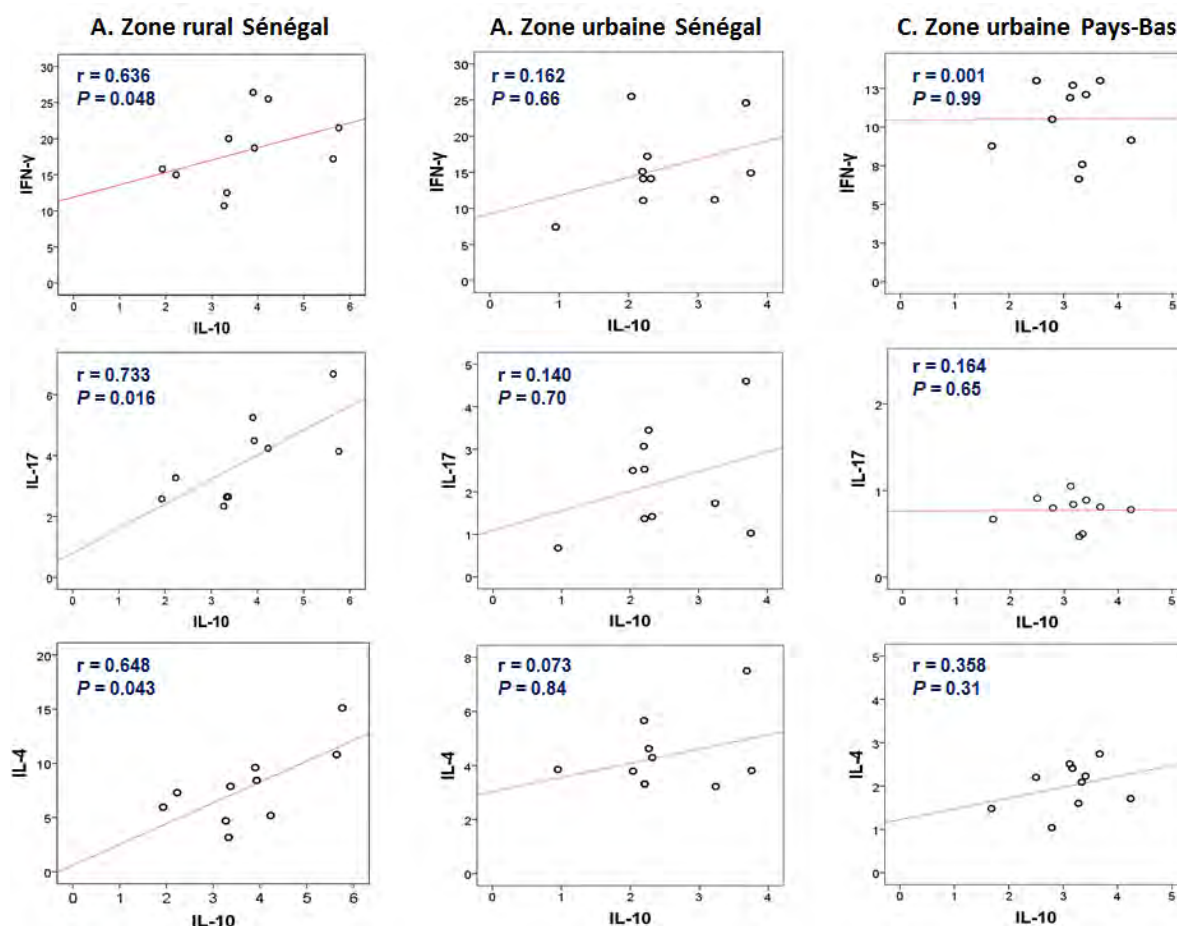


Figure 12: IL-10 est positivement corrélée à l'IFN-γ, l'IL-17 et l'IL-4 dans la population rurale et pas dans les populations urbaines. Scatter plots illustrant les corrélations entre l'IL-10 et l'IFN-γ, IL-17 et l'IL-4 chez les groupes (A) Ru-Sen ($n = 10$), (B) Ur-Sen ($n = 10$) et (C) Ur-Dut ($n = 10$). Les corrélations ont été calculées avec le logiciel SPSS version 20 en utilisant le test de Spearman Rho et les figures réalisées avec le même logiciel. Abréviations: Ru-Sen: population rurale du Sénégal; Ur-Sen: population urbaine du Sénégal; Ur-Dut: population urbaine des Pays-Bas; r : coefficient de corrélation.

Augmentation de la proportion des cellules mémoires T CD4⁺ et B dans la population rurale

Nous avons déterminé les cellules mémoires T CD4⁺ et B (stratégies de gating des sous populations de cellules T et B mémoires son illustrées au niveau de la figure supplémentaire 3). La fréquence des cellules mémoires T CD4⁺CD45RO⁺ était significativement plus faible chez les néerlandais par

rapport aux sénégalais vivant en zone urbaine et rurale (Figure 13A). Parmi les sénégalais, ceux habitant en zone urbaine présentaient des niveaux d'expression des cellules T $CD4^+CD45RO^+$ plus élevées par rapport à la population rurale.

Nous avons aussi défini les cellules mémoires en sous populations de cellules T $CD4^+$ mémoires effectrices (ME) ($CD45RO^+CD27^-$) et centrales (MC) ($CD45RO^+CD27^+$). A l'instar des cellules mémoires totales, les fréquences des cellules ME et MC étaient plus faibles chez les néerlandais comparés aux sénégalais d'origine rurale et urbaine; et parmi les sénégalais, l'expression de ces cellules était plus forte en zone rurale qu'en zone urbaine (Figure 13B).

En ce qui concerne les cellules B mémoires, nous avons de même trouvé une diminution significative du pourcentage des cellules B $CD27^+$ (B mémoires) chez les néerlandais par rapport aux sénégalais (Figure 14A).

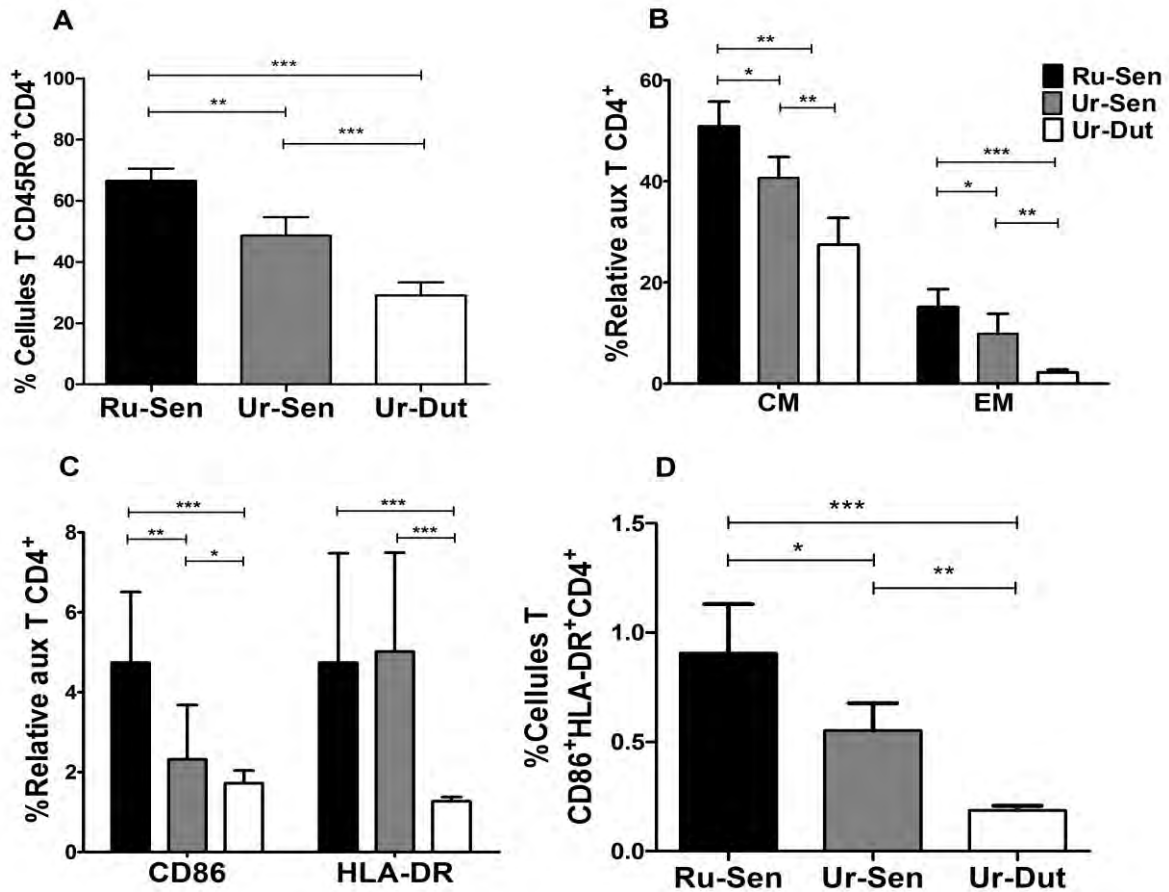


Figure 13: Expression des marqueurs d'activation et mémoires des cellules T. Les pourcentages de (A) CD45RO⁺, (B) cellule mémoires centrales CD45RO⁺CD27⁺ (CM) et mémoires effectrices CD45RO⁺CD27⁺ (EM), l'expression de (C) de CD86⁺ et HLA-DR⁺ et (D) la co-expression CD86⁺HLA-DR⁺ au niveau des lymphocytes T auxiliaires au niveau des groupes Ru-Sen (n =10), Ur-Sen (n = 10) et Ur-Dut (n = 10) sont illustrés. Les P-values ont été calculés avec le logiciel SPSS version 17 par le test non paramétrique de Mann-Whitney U et les figures réalisées par le logiciel GraphPad Prism pour Windows version 5.00. Seuls les P-values montrant des différences significatives sont indiqués sur les figures. Abréviations: **Ru-Sen**: population rurale du Sénégal; **Ur-Sen**: population urbaine du Sénégal; **Ur-Dut**: population urbaine des Pays-Bas; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

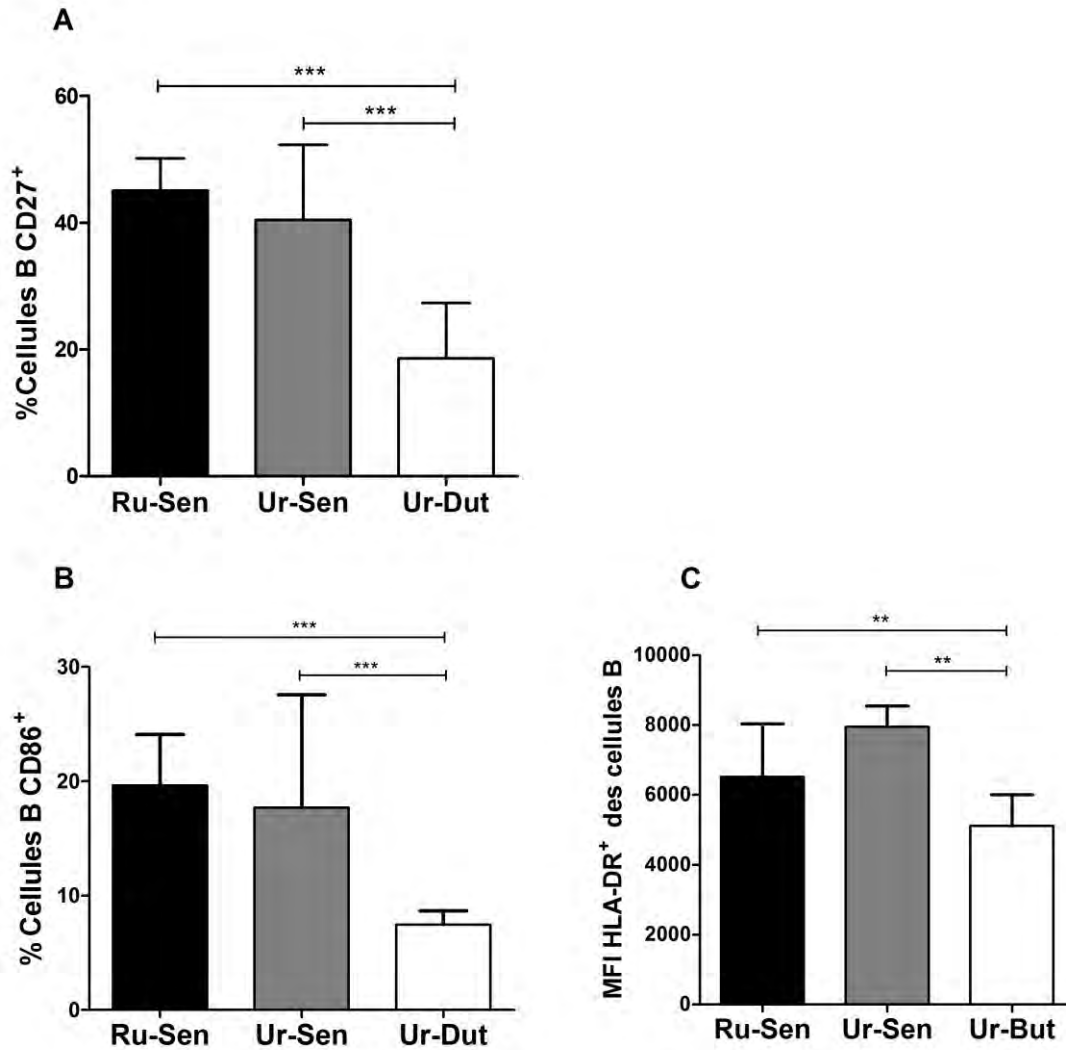


Figure 14: Expression des marqueurs d'activation et mémoires des cellules B. Les pourcentages de (A) CD27⁺, (B) CD86⁺ et (C) l'intensité moyenne de la fluorescence (MFI) de HLA-DR au niveau de cellules B sont illustrés au niveau des groupes Ru-Sen ($n = 10$), Ur-Sen ($n = 10$) et Ur-Dut ($n = 10$). Les P-values ont été calculés avec le logiciel SPSS version 17 par le test non paramétrique de Mann-Whitney U et les figures réalisées par le logiciel GraphPad Prism pour Windows version 5.00. Seuls les P-values montrant des différences significatives sont indiqués sur les figures. Abréviations: Ru-Sen: population rurale du Sénégal; Ur-Sen: population urbaine du Sénégal; Ur-Dut: population urbaine des Pays-Bas; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

L'activation des lymphocytes T et B est plus importante chez les sénégalais par rapport au Néerlandais

CD86 et HLA-DR exprimés sur les lymphocytes activés (247;257) ont été aussi évalué; la stratégie de gating des cellules T $CD4^+$ et B exprimant CD86 et/ou HLA-DR est illustrée au niveau de la figure supplémentaire 4. Le pourcentage des cellules $CD86^+CD4^+$ était plus faible chez les néerlandais par rapport aux Sénégalais. Et parmi les sénégalais, les pourcentages des cellules T $CD86^+CD4^+$ était plus élevés dans la population rurale par rapport à la population urbaine (Figure 13C). De même, le pourcentage des cellules T $HLA-DR^+CD4^+$ était plus faible chez les néerlandais comparés aux populations rurale et urbaine du Sénégal. Par contre, l'expression de HLA-DR au niveau des cellules T $CD4^+$ ne montrait pas de différence significative entre les populations Sénégalaises. De plus, les cellules T co-exprimant CD86 et HLA-DR étaient plus faibles dans les populations urbaines avec une expression plus faible chez les néerlandais (Figure 13D).

En ce qui concerne l'activation des cellules B, le pourcentage de $CD86^+CD19^+$ était, à l'instar des cellules T, plus faible chez les néerlandais par rapport aux populations urbaines et rurales du Sénégal (Figure 4B). De plus, l'intensité moyenne de fluorescence de HLA-DR au niveau des cellules B était plus faible dans la population néerlandaise par rapport aux deux populations sénégalaises (Figure 14C). Cependant, l'expression de CD86 et HLA-DR au niveau des cellules B ne montrait pas de différence statistiquement significative entre les populations sénégalaises.

Tableau 1 (supplémentaire 1): Caractéristiques des anticorps monoclonaux utilisés pour la cytométrie de flux.

Anticorps	Fluorochrome	Filtre	Fabricant	Catalogue	Isotype	Clone	Dilution
Panel 1							
CD3	AmCyan	FL8	BD Biosciences	339186	Mouse IgG1, κ	SK3	1:80
CD4	PE-Cy7	FL4	BD Biosciences	557852	Mouse IgG1, κ	SK3	1:100
ROR- γ t	PE	FL2	eBioscience	12-6988	Rat IgG2a	AFKJS-9	1:150
T-bet	PerCP-Cy5.5	FL3	eBioscience	45-5825	Mouse IgG1	4B10	1:500
GATA-3	eFluor-660	FL5	eBioscience	50-9966	Mouse IgG2b, κ	TWJ	1:80
Panel 2							
CD3	APC	FL5	BD Biosciences	555335	Mouse IgG1, κ	UCHT1	1:80
CD4	PerCP	FL3	BD Biosciences	345770	Mouse IgG1, κ	SK3	1:20
CD25	PE-Cy7	FL4	BD Biosciences	335824	Mouse IgG1,k	2A3	1:160
FOXP3	FITC	FL1	BD Biosciences	174776	Rat IgG2a, κ	PCH101	1:50
CD127	PE	FL2	BD Biosciences	557938	Mouse IgG1, κ	hIL-7K-M21	1:160
Panel 3							
CD4	PE-Cy7	FL4	BD Biosciences	557852	Mouse IgG1, κ	SK3	1:100
CD19	FITC	FL1	BD Biosciences	345776	Mouse IgG1, κ	4G7/HIB19	1:20
CD14	PerCP	FL3	BD Biosciences	345786	Mouse IgG2b, κ	M ϕ P9	1:20
CD86	PE	FL2	BD Biosciences	555668	Mouse IgG1, κ	2331(FUN-1)	1:50
HLA-DR	APC-eFluor780	FL6	eBioscience	47-9956	Mouse IgG2b, κ	LN3	1:250
CD27	APC	FL5	BD Biosciences	337169	Mouse IgG1, κ	L128	1:40
CD45RO	Pacific Blue	FL7	BioLegend	304215	Mouse IgG2a,k	UCHL1	1:160
Panel 4							
CD3	AmCyan	FL8	BD Biosciences	339186	Mouse IgG1, κ	SK3	1:80
CD4	PerCP	FL3	BD Biosciences	345770	Mouse IgG1, κ	SK3	1:20
IFN- γ	APC	FL5	BD Biosciences	554702	mouse IgG1, κ	B27	1:1600
IL-4	PE-Cy7	FL4	eBioscience	25-7049	Mouse IgG1, κ	8D4-8	1:200
IL-17	Alexa-Fluor488	FL1	eBioscience	53-7179	Mouse IgG1, κ	eBio64 DEC17	1:20
IL-22	PE	FL2	R&D Systems	IC7821P	Mouse IgG1, κ	142928	1:100
Panel 5							
CD3	AmCyan	FL8	BD Biosciences	339186	Mouse IgG1, κ	SK3	1:80
CD4	PerCP	FL3	BD Biosciences	345770	Mouse IgG1, κ	SK3	1:20
TNF- α	PE-Cy7	FL4	eBioscience	25-7349	Mouse IgG1,k	MAB11	1:1000
IL-2	FITC	FL1	BD Biosciences	340448	Mouse IgG1, κ	5344.111	1:20
IL10	PE	FL2	BD Biosciences	559330	Rat IgG2a	JES3-19F1	1:50

Pour chaque anticorps monoclonal utilisé dans les différents panels, le fluorochrome associé à l'anticorps, le fabriquant, le filtre d'émission par le FACSCanto II (Becton Dickinson), le numéro de catalogue, l'isotype de l'espèce utilisé par la production de l'anticorps, le clone de l'espèce et la dilution utilisée lors du marquage sont illustrés. Pour les panels 1, 2 et 3, le marquage a été faite sur les PBMC ex-vivo qui ont été fixées avec un tampon de fixation (eBioscience) tandis que le marquage des panels 4 et 5 a été fait sur les cellules stimulées avec du PMA et Ionomycine et fixées avec 2% de solution de formaldéhyde (Sigma-Aldrich).

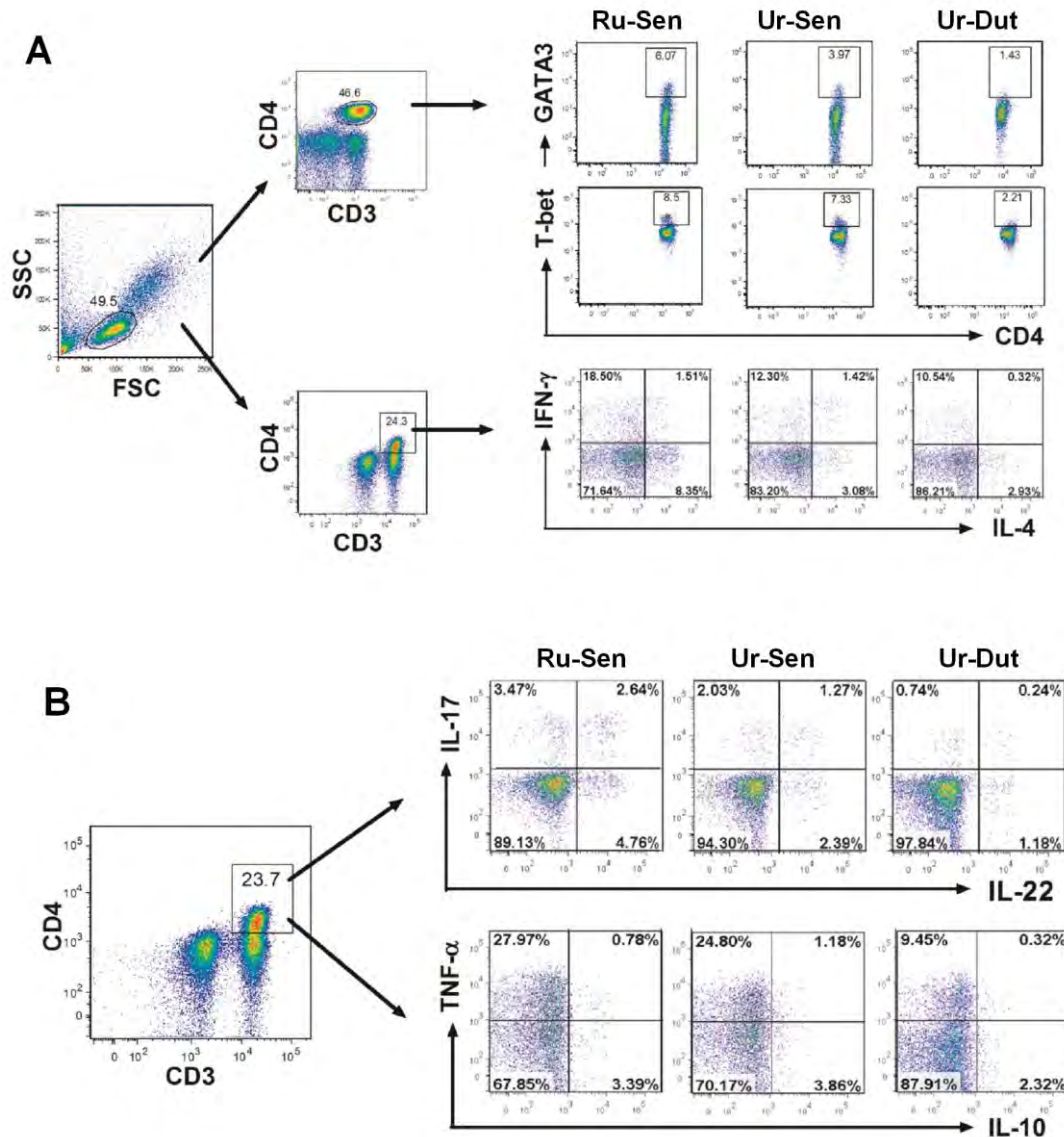


Figure 15 (supplémentaire 1): Analyse des populations de cellules Th1 et Th2 par leur facteur de transcription et cytokines effectrices. *A* partir des lymphocytes totaux, les cellules *T* auxiliaires ($T\ CD4^+$) ont été déterminés en fonction de leur expression en CD3 et CD4 pour la détermination (**A**) des sous-populations Th1 et Th2 (T-bet et GATA-3 respectivement) à partir des cellules ex-vivo PBMCs, ou IFN- γ et IL-4 respectivement sur les cellules stimulées avec le PMA et l'ionomycine). La figure **1B** illustre la détermination de cellules *T* auxiliaires produisant l'IL-17, IL-22, TNF- α et IL-10. Les échantillons ont été mesurés avec le cymomètre FACSCanto II et les résultats analysés par FlowJo version 9.8.6 pour MAC.

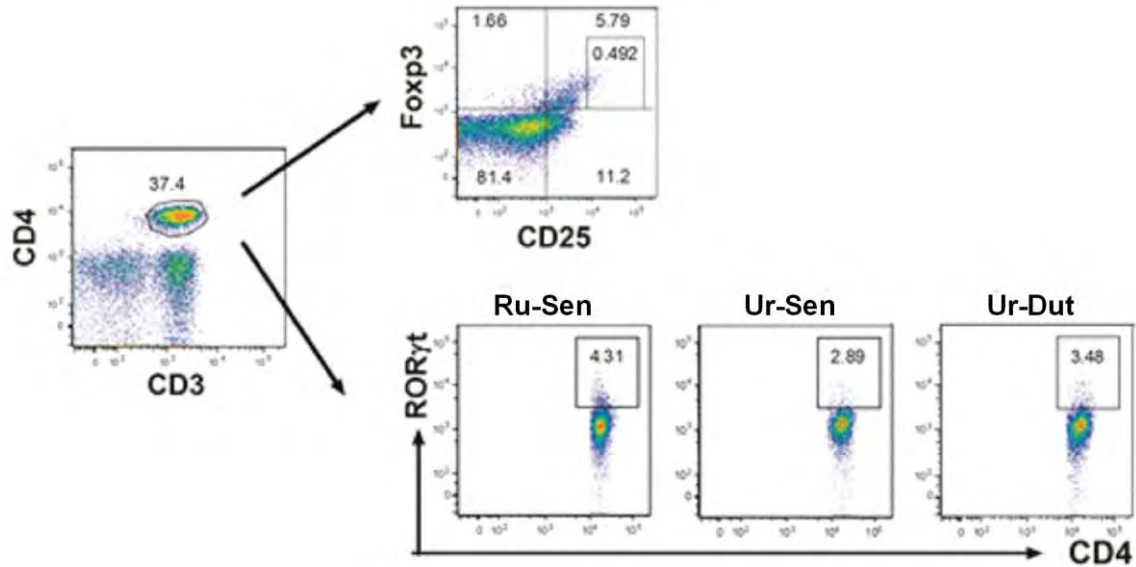


Figure 16 (supplémentaire 2): Analyse des populations de cellules Th17 et T régulatrices. A partir des lymphocytes totaux, les cellules T auxiliaires $CD4^+$ ont été identifiées par l'expression de CD3 et CD4 pour l'analyse de l'expression de $CD25^{hi}FOXP3^+$ (Treg) et ROR- γt (Th17) au niveau des cellules ex-vivo. Les échantillons ont été mesurés avec le cymomètre FACSCanto II et les résultats analysés par FlowJo version 9.8.6 pour MAC.

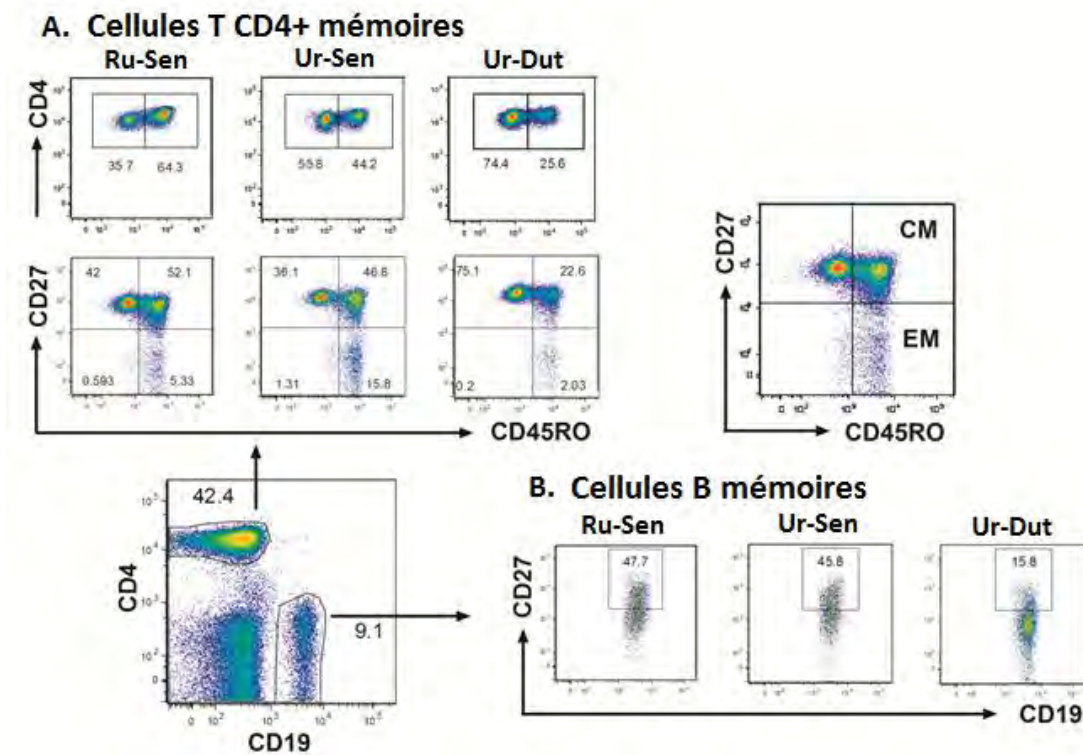


Figure 17 (supplémentaire 3): Analyse des populations de cellules mémoires T et B. *A* partir des lymphocytes totaux, les cellules T auxiliaires (CD4⁺) et les lymphocytes B ont été déterminés par l'expression respective de CD3/CD4 et CD19 pour l'analyse des (A) lymphocytes T mémoires totaux CD45RO⁺ total, mémoires centraux CD45RO⁺CD27⁺ (CM) T et mémoires effecteurs CD45RO⁺CD27⁻ (EM) ainsi que (B) les cellules B mémoires caractérisés par l'expression de CD27⁺. Les échantillons ont été mesurés avec le cymomètre FACSCanto II et les résultats analysés par FlowJo version 9.8.6 pour MAC.

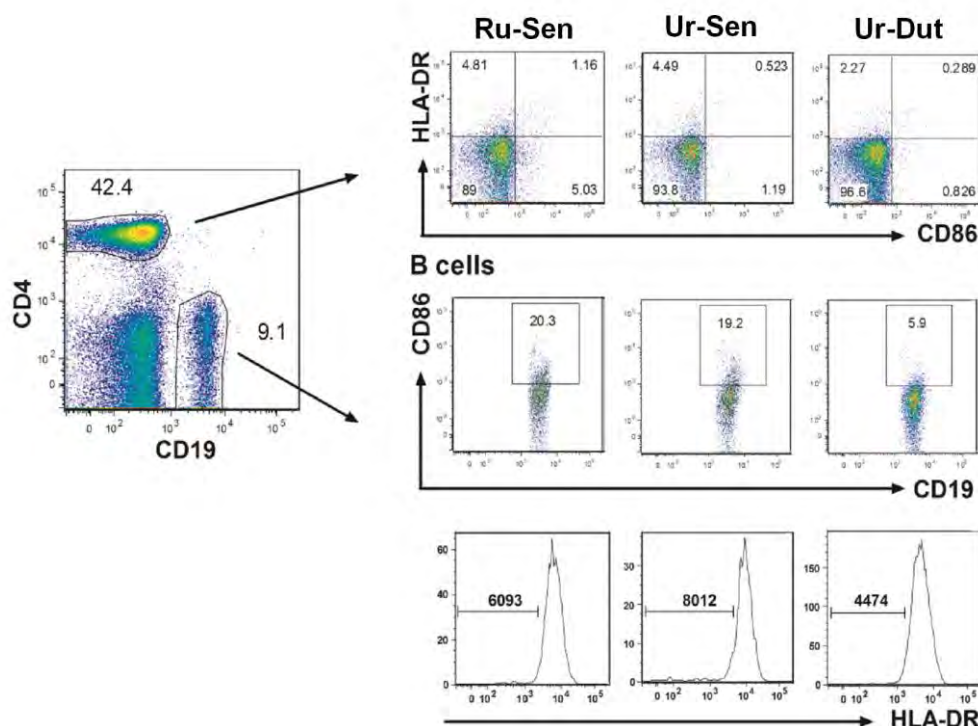


Figure 18 (supplémentaire 4): Analyse des marqueurs d'activation des cellules T et B. A partir des lymphocytes totaux, les cellules T auxiliaires (CD4⁺) et les lymphocytes B ont été déterminés par l'expression respective de CD3/CD4 et CD19 pour l'analyse de l'expression de (A) HLA-DR et CD86 et de (B) CD86. Les échantillons ont été mesurés avec le cymomètre FACSCanto II et les résultats analysés par FlowJo version 9.8.6 pour MAC.

5.2. Article 2

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS | NEGLECTED TROPICAL DISEASES

Cytokine Responses to *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* in Relation to Infection in a Co-endemic Focus in Northern Senegal

Lynn Meurs^{1*}, Moustapha Mbow^{1,2,3}, Nele Boon^{1,4}, Kim Vereecken¹, Abena Serwaa Amoah^{3,5}, Lucja A. Labuda^{3,6,7}, Tandakha Ndiaye Dièye², Souleymane Mboup², Maria Yazdanbakhsh³, Katja Polman¹

¹ Department of Biomedical Sciences, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium, ² Laboratory of Bacteriology and Virology, Aristide Le Dantec Teaching Hospital, Dakar, Senegal, ³ Department of Parasitology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands, ⁴ Laboratory of Biodiversity and Evolutionary Genomics, University of Leuven, Leuven, Belgium, ⁵ Department of Parasitology, Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Legon, Accra, Ghana, ⁶ Centre de Recherches Médicales de Lambaréné (CERMEL), Lambaréné, Gabon, ⁷ Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen, Tübingen, Germany

Réponses cytokine aux *Schistosoma mansoni* et
Schistosoma haematobium en relation à l'infection en zone
Co-endémique au nord du Sénégal

Résumé

Introduction: Beaucoup de régions en Afrique sont co-endémiques pour les deux principales espèces de schistosome : *Schistosoma mansoni* et *S. haematobium*. Des études épidémiologiques ont montré que certains déterminants immunologiques de l'hôte peuvent jouer un important rôle en zone co-endémique. Jusqu'ici, peu de choses sont connues sur les différences dans la réponse immunitaire de l'hôte et d'une possible interaction des réponses effectrices entre *S. mansoni* et *S. haematobium*. Le but de cette étude était d'étudier l'expression des cytokines en réponse à des antigènes de ces différentes espèces de schistosome en zone endémique. **Méthodologie:** Les réponses cytokiniques au niveau du sang total ont été déterminées dans une population au Nord du Sénégal (n=200). Le sang total a été stimulé pendant 72h avec des antigènes d'œufs et de vers adultes des deux espèces de schistosome et la production d'IL-10, IL-5, IFN- γ , TNF- α , et IL-2 mesurée au niveau du surnageant de culture. Une approche d'analyse multivariée a été utilisée pour permettre une analyse globale de toutes les cytokines en relation avec l'infection. **Principaux résultats:** Nos résultats ont montré que les antigènes d'œuf et de ver adulte de *Schistosoma haematobium* induisaient une plus forte réponse cytokine, suggérant que *S. haematobium* pourrait être plus immunogénique que *S. mansoni*. Cependant, les deux types d'infection étaient associés à une modification du profil cytokinique. **Conclusion:** Cette étude est la première du genre comparant les réponses cytokiniques de *S. mansoni* et *S. haematobium* dans une population vivant en zone co-endémique. Ces résultats sont concordants avec ceux d'autres études antérieures montrant que les antigènes d'œuf et de ver adulte de *S. haematobium* étaient plus immunogéniques que ceux de *S. mansoni*.

Introduction

La schistosomiase est une importante maladie parasitaire en terme de santé publique. Les principales espèces chez l'homme sont *Schistosoma mansoni* et *S. haematobium* qui sont endémiques en Afrique et coexistent dans plusieurs régions [156]. Les schistosomes sont connus pour leur capacité à moduler la réponse immunitaire de l'hôte et l'induction d'une réponse Th2. Le phénotype de la réponse induite, dépendant d'interactions immunologiques complexes impliquant des cytokines, peut inclure une réponse immunitaire de type Th2 mais aussi Th1, Th17 et une composante régulatrice [258].

A ce jour, peu de choses sont connues sur les différences dans la réponse immunitaire entre les deux espèces et il serait possible qu'une interaction existe entre les réponses de *S. mansoni* et *S. haematobium* chez l'homme. Les études épidémiologiques menées jusqu'ici suggèrent que des facteurs immunologiques chez l'hôte pourraient jouer un rôle important dans les régions co-endémiques. Cheever et *al.* ont rapporté une plus importante diminution de la charge parasitaire avec l'âge pour *S. haematobium* que pour *S. mansoni* [259]. De même dans une zone co-endémique au nord du Sénégal, nous avons trouvé que la courbe âge-infection pour *S. haematobium* déclinait plus rapidement que celle de *S. mansoni* [260]. Ces résultats indiquent que la protection immunitaire contre *S. haematobium* pourrait se développer plus rapidement. De plus, nous avons trouvé que l'infection mixte par *S. mansoni* et *S. haematobium* avait tendance à atténuer les atteintes du tractus urinaire comparée à l'infection par *S. haematobium* seule [261] ; ceci semblait être principalement lié à la libération d'œufs ectopiques qui serait probablement hybrides [262]. D'autres études ont aussi trouvé que *S. mansoni* affecte la morbidité spécifique de *S. haematobium* et vice versa [263;264], indiquant que les deux infections pourraient avoir des effets différents sur la réponse immunitaire induite par les œufs et qui provoque la morbidité.

Cette présente étude a pour objectif de déterminer les réponses cytokines spécifiques des antigènes des schistosomes en relation avec l'infection dans une population co-endémique au nord du Sénégal. Une approche multivariée (i.e. multi-réponse) a été utilisée pour permettre une analyse globale des réponses cytokiniques (interleukine (IL)-10, IL-5, interféron (IFN)- γ , facteur de nécrose des tumeurs (TNF)- α , et IL-2) [265]. Les différences dans la production de cytokines entre les deux espèces de schistosome mais aussi entre l'infection mixte ou par une seule espèce de schistosome ont été analysées.

Matériels et méthodes

Aspects éthiques

Cette étude fait partie d'un projet multicentrique sur l'épidémiologie et la réponse immunitaire innée contre la schistosomiase (SCHISTOINIR) qui a été approuvé par le comité d'éthique de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers et le Comité National d'Ethique de la Recherche en Santé du Sénégal. Un consentement écrit a été obtenu de tous les participants à l'étude avant leur inclusion. Pour les mineurs, le consentement a été produit par les parents ou les gardiens légaux.

Un traitement par le praziquantel (40 mg/kg) et par le mebendazole (500 mg) ont été délivrés à toute la population à la fin de l'étude selon les recommandations de l'OMS [266].

Sites de l'étude

Cette étude a été conduite à Ndieumeul et Diokhor Tack, deux villages voisins dans la péninsule de Nouk Pomo située sur le lac de Guier. De plus amples détails sur cette zone ont été décrits dans nos précédents travaux [260;261]. Entre Juillet 2009 et Mars 2010, nous avons recueilli des données

parasitologues sur 857 individus [260]. Un échantillonnage de 200 sujets âgés de 5 à 55 ans a été pris au hasard pour l'étude immunologique. Les femmes enceintes, les personnes qui ont séjourné en zone urbaine dans les 5 ans précédant l'étude (n=7), ayant pris du praziquantel dans les deux dernières années (n=2) ou présentant des signes cliniques de paludisme (n=18) ont été exclues de l'étude immunologique.

Parasitologie

Pour chaque participant à l'étude, deux échantillons d'urine et deux de selles ont été recueillis en deux différents jours. Le diagnostic de l'infection par *Schistosoma* spp a été réalisé pour la détermination quantitative des œufs de schistosomes par les tests de Kato-Katz au niveau des selles et de filtration au niveau des urines. De même, d'autres helminthes comme *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* et les douves ont été déterminés sur le test de Kato-Katz comme précédemment décrit [260]. Des aliquotes de selles ont été conservées dans de l'éthanol pour la confirmation ultérieure des tests parasitologues par PCR multiplexe (*A. lumbricoides*, les ankylostomes et *Strongyloides stercoralis*) (n=198) [267]. Quant au paludisme, il a été diagnostiqué par la technique de la goutte épaisse.

Culture cellulaire

Cinq heures après le prélèvement, le sang veineux hépariné a été dilué 1:4 dans du RPMI 1640 (Invitrogen) supplémenté avec 100 U/ml de pénicilline, 100 µg/ml de streptomycine, 1 mM de pyruvate et 2 mM glutamate (provenant tous de Sigma). Pour chaque échantillon, deux cents microlitres de cette préparation a été transférés dans des plaques à fond rond de 96 puits et incubés à 37 °C sous 5% CO₂ pendant 72 h avec 10 µg/ml des antigènes suivants:

- 1) Antigène d'œuf de *Schistosoma mansoni* (*Schistosoma* egg antigen derived from *S. mansoni* (SEAm));
- 2) Antigène d'œuf de *Schistosoma haematobium* (*Schistosoma* egg antigen derived from *S. haematobium* (SEAh));
- 3) Antigène de ver adulte de *S. mansoni* (Adult worm antigen from *S. mansoni* (AWAm)).
- 4) Antigène de ver adulte de *S. haematobium* (Adult worm antigen from *S. haematobium* (AWAh)).

Une condition sans antigène a été utilisée comme contrôle négatif. Au terme de l'incubation, les surnageants de culture ont été conservés à -80° C. Les antigènes d'œufs ou de vers adultes ont été isolés à partir de hamsters infestés par *S. mansoni* ou *S. haematobium* (SEAm, SEAh, AWAm et AWAH) ont été préparés en utilisant la même procédure.

Détermination des cytokines

IL-10, IL-5, IFN- γ , TNF- α , et IL-2 présents au niveau des surnageants de culture ont été simultanément mesurées par la méthode Lumineux (kit de cytokines Luminex Invitrogen) en utilisant la procédure et instructions du fabricant. Les échantillons présentant des concentrations en dessous de la limite de détection se sont vus attribués la moitié de la plus faible valeur détectée. Les plus faibles valeurs détectables étaient de 0.063 pg/ml pour IL-10, 0.044 pg/ml pour IL-5, 0.090 pg/ml pour IFN- γ , 0.051 pg/ml pour TNF- α , et 0.063 pg/ml pour IL-2.

Analyses statistiques

Les différences entre groupes étaient considérées statistiquement significatives pour des valeurs de $p\text{-value} < 0.05$. Des tests non paramétriques ont été utilisés parce que les concentrations des cytokines n'étaient pas normalement distribuées. Des analyses statistiques univariées ont été utilisées pour comparer les réponses cytokine aux antigènes de schistosome entre les individus (IBM SPSS 21.0). La comparaison des fréquences des réponses cytokines induites par les antigènes de *S. mansoni* et *S. haematobium* entre individus (par exemple réponse SEAm versus SEAh) a été faite par le test de McNemar. De même, les tests Wilcoxon Signed Rank ont été utilisés pour comparer les niveaux de réponse cytokine de *S. mansoni* et *S. haematobium* entre les groupes. L'analyse multivariée a été utilisée pour l'analyse globale de la réponse cytokine dans la population d'étude [265]. Nous avons utilisé des tests non paramétrique pour l'analyse non métrique à l'échelles multidimensionnel (nonmetric multidimensional scaling (nMDS)) effectuée par le logiciel 'R' [268;269]. Cette méthode est une variante de l'analyse principal de composant de paramétrique (parametric principal component analysis (PCA)) mais avec de plus faible assumptions sur la nature des données et de l'interrelation des variables [270]. Cette considération est en effet importante car les niveaux de réponse des cytokines n'étaient pas normalement distribués même après transformation logarithmique. Aussi, les niveaux des différentes cytokines étaient corrélés d'un groupe à un autre. Après calcul de niveau des cytokines (i.e. visualisation des réponses multiples de chaque participant), l'association entre les cytokines et l'infection était déterminée. Avant l'analyse par la méthode nMDS, les concentrations de cytokines du contrôle négatif ont été soustraites de la réponse des antigènes pour obtenir des réponses cytokines nettes ; les valeurs négatives étaient ramenées à zéro. Les valeurs nettes ont été rendues normales par transformation logarithmique de base 10 après avoir ajouté 1 pg/ml sur chaque valeur. Les intensités des infections par les schistosomes ont

été normalisées après avoir ajouté la moitié de la limite de détection (i.e. 5 œufs par grammes de selles et 0.5 œufs par 10ml d'urines respectivement). Un test nMDS était effectué pour chacune des quatre conditions de stimulation (SEAm, SEAh, AWAm ou AWAh) utilisant la fonction « metaMDS » [269]. Chaque test nMDS a été répété plusieurs fois pour évaluer la robustesse du résultat [270]. L'index de dissimilarité Euclidien a été utilisé [269] et les profils de réponse cytokine, i.e. les matrix de l'IL-10, IL-5, IFN- γ , TNF- α , et IL-2, ont été regroupés sur un échelle tridimensionnel (3D) afin de représenter de manière adéquate les variations des données [270]. Ainsi, les gradients des réponses cytokines, sur lesquels les tests sont basés, ont été ajustés en utilisant la fonction « envfit » [269]. La même fonction était utilisée pour ajuster les intensités des infections sur l'échelle tridimensionnel 3D nMDS et tester l'association des réponses cytokines avec l'intensité de l'infection ou le statut infectieux (contrôles négatifs, infection par *S. mansoni*, infection par *S. haematobium* et infection mixte par *S. mansoni* et *S. haematobium*). Nous avons utilisé la fonction « ordiellipse » pour ajuster la différence des scores pour les différents statuts infectieux avec un intervalle de confiance de 95% [269].

Résultats

Caractéristiques de la population d'étude

La population d'étude était constituée de 88 sujets de sexe masculin et 112 de sexe féminin avec un âge médian de 16 ans (range 5-53). *Plasmodium falciparum*, *T. trichiura* et les ankylostomes étaient absents de la population d'étude tandis que *A. lumbricoides* et *S. stercoralis* étaient rares (respectivement n=3 et 2, avec 100% de concordance entre la microscopie et la PCR). Par contre 137 (69%) des sujets étaient infectés par *S. mansoni*, 116 (58%) par *S. haematobium*; soixante pourcent (95/158) des sujets infectés présentaient les deux espèces (Table 2).

Tableau 2 : Infections par les schistosomes au niveau de la population d'étude.

	<i>Infection par S. mansoni</i>		<i>Infection par S. haematobium</i>		Prévalence (n)	Code pour le statut infection Sur Figure 20
Sujets	Fèces	Urine ^a	Fèces	Urine		
Positif					158	
Infections par une espèce					63	
	+	-	-	-	42	M (bleu-sombre)
	-	-	-	+	21	H (bleu-clair)
Infections mixtes					95	MH
	+	-	-	+	81	MH (Rose)
	+	+	-	+	13	MH (Jaune)
	-	+	-	+	1	MH (Rouge)
Négatif	-	-	-	-	42	N (Vert)
Total	136	14	0	116	200	

^a Œufs de *Schistosoma mansoni* qui ont été libérés au niveau des urines (ectopiques) avaient des morphologies quelque peu semblables à ceux de *S. mansoni* mais pourraient être des œufs hybrides [260;262].

Les antigènes de *S. haematobium* induisent des niveaux de cytokine plus élevés que ceux de *S. mansoni*

Entre les différents sujets, les niveaux des réponses induites par les antigènes de *S. haematobium* étaient plus élevés que ceux induits par *S. mansoni* (Table 3). A l'exception des réponses IFN- γ et IL-10 au SEA, les différences étaient statistiquement significatives pour toutes les autres réponses aux antigènes SEA et AWA.

Table 3 : Niveau des cytokines en réponse aux antigènes de schistosomes suivant 72h de stimulation (n=200).

Antigène	Espèces	Cytokine	Réponse (%)	Médiane Conc. en pg/ml (IQR)		p-value
SEA	<i>S. mansoni</i>	IL-10	92.0	12.7	(5.2 - 32.4)	0.874
		IL-5	78.5	3.7	(1.0 - 19.0)	<0.001
		IFN- γ	67.5	3.4	(0.05 - 7.8)	0.729
		TNF- α	64.5	0.7	(0.03 - 2.2)	0.046
		IL-2	80.0	6.3	(2.0 - 18.8)	<0.001
	<i>S. haematobium</i>	IL-10	90.5	13.1	(4.7 - 32.2)	
		IL-5	77.0	5.2	(0.9 - 47.4)	
		IFN- γ	63.0	4.2	(0.05 - 7.8)	
		TNF- α	67.5	1.0	(0.03 - 4.3)	
		IL-2	80.5	8.2	(2.1 - 54.7)	
AWA	<i>S. mansoni</i>	IL-10	98.5	25.7	(13.2 - 48.2)	0.008
		IL-5	94.5	69.3	(11.8 - 201.2)	<0.001
		IFN- γ	74.5	5.4	(0.05 - 9.4)	0.002
		TNF- α	90.5	4.6	(1.2 - 10.9)	<0.001
		IL-2	98.0	60.3	(22.4 - 152.1)	<0.001
	<i>S. haematobium</i>	IL-10	99.0	30.0	(17.0 - 50.4)	
		IL-5	96.0	108.6	(25.9 - 237.9)	
		IFN- γ	78.5	6.3	(1.7 - 12.1)	
		TNF- α	96.5	6.0	(2.7 - 15.1)	
		IL-2	98.0	99.5	(42.4 - 224.5)	
Medium		IL-10	59.5	1.7	(0.03 - 4.9)	
		IL-5	57.0	0.9	(0.02 - 2.6)	
		IFN- γ	58.0	2.2	(0.05 - 5.8)	
		TNF- α	63.5	0.4	(0.03 - 1.5)	
		IL-2	45.5	0.03	(0.03 - 2.9)	

L'échantillon de sang de chaque individu a été stimulé en utilisant 5 conditions: 4 antigènes (SEAm, SEAh, AWAm, et AWAh) et une condition sans antigène (contrôle négatifs; voir Matériels et Méthodes).

Profil général des cytokines

Des analyses multivariées ont été utilisées pour déterminer les différentes réponses cytokines induites par les antigènes. Les figures 19 et 20 montrent la variation des réponses cytokine dans la population d'étude avec chaque point représentant un individu. Les distances entre les points évaluent la dissimilarité interindividuelle de la réponse cytokine avec des valeurs de contraintes de 0.051 pour SEAm, 0.041 pour SEAh, 0.058 pour AWAm et 0.061 pour AWAh. Les flèches indiquent respectivement l'augmentation des gradients des réponses d'IL-10, IL-5, IFN- γ , TNF- α et IL-2. Cela signifie en somme que les niveaux de cytokines sont plus élevées chez les sujets (points) plus proches situés en position orthogonale par rapport aux bouts des flèches que pour ceux situés du côté opposée. La longueur de la flèche de cytokine est proportionnelle au degré d'ajustement (*goodness of fit*) de ce gradient de cytokine en graphique bidimensionnel.

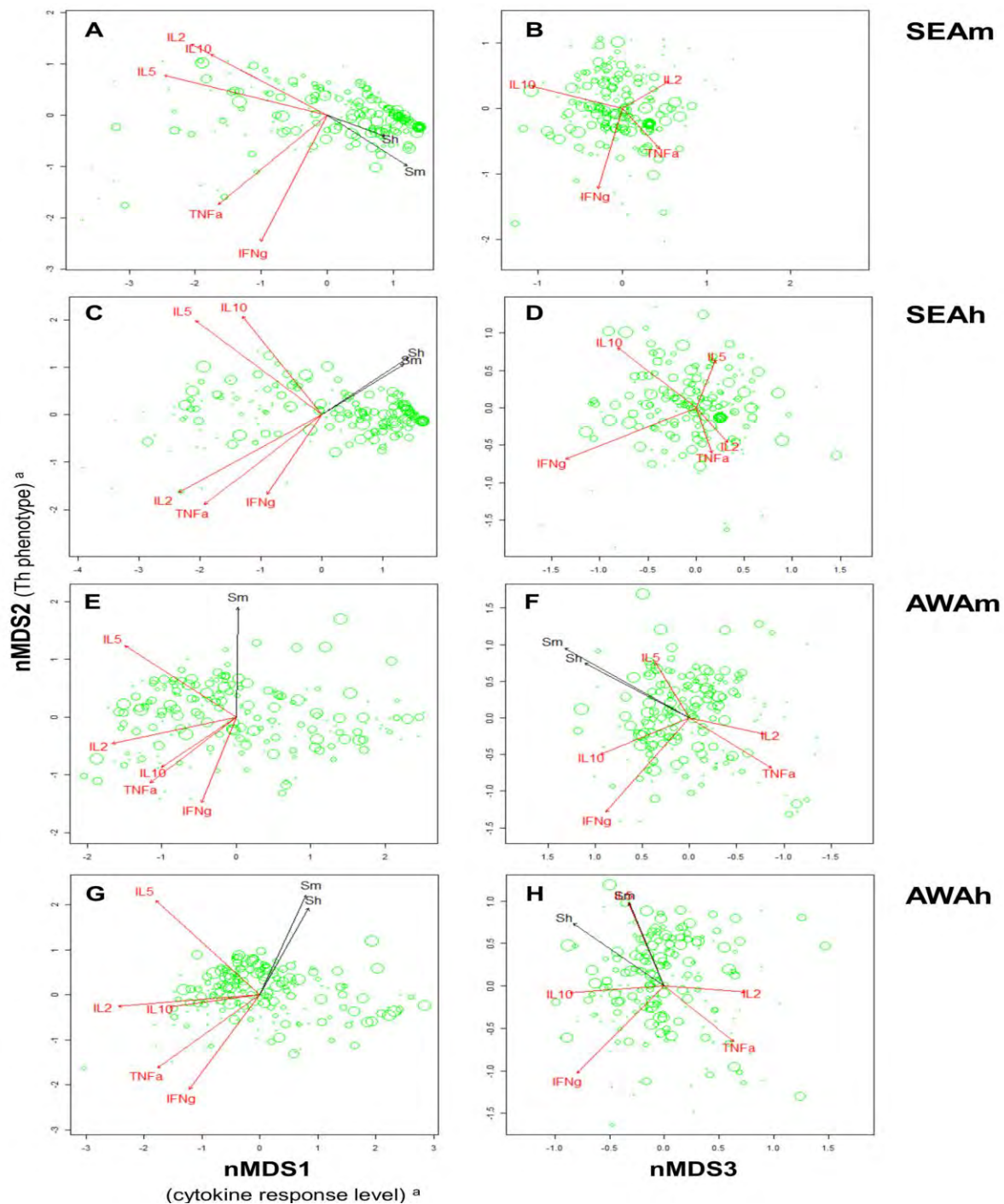


Figure 19 : Variation des réponses cytokines induites par les antigènes de schistosome en relation avec l'intensité de l'infection. Chaque nMDS tridimensionnel (3D) est représentée en 2 plans (2D). Les panels gauches et droits représentent respectivement la première et deuxième, et deuxième et troisième dimension. Les **panels A et B** montrent le profil des cytokines induites par les antigènes d'œufs de *S. mansoni* (SEAm), les **panels C et D** celui des antigènes d'œufs de *S. haematobium* SEAh), les **panels E et F** celui des antigènes de ver adulte de *S. mansoni* (AWAm), et les **panels G et H** montrent le profil des cytokines induites par les antigènes de ver adulte de *S. haematobium* AWA(h). Chaque point vert représente un

individu. Les distances entre les points estiment l'ordre du rang des dissimilarité dans le profil des cytokines entre les individus respectifs avec des valeurs de stress de 0.051 pour SEAm, 0.041 pour SEAh, 0.058 pour AWAm, et 0.061 pour AWAh. Les flèches rouges indiquent les gradients linéaires des réponses nettes des cytokines normalisées sur lesquelles le nMDS est basé. Les points sont proportionnels aux valeurs individuelles de l'intensité de l'infection normalisée de *S. mansoni*. Les flèches noires indiquent les gradients linéaires des post hoc ajustés des intensités de l'infection normalisées de *S. mansoni* („Sn") et *S. haematobium* („Sh"). La longueur de la flèche est proportionnelle au « goodness of fit » de l'intensité de l'infection au niveau du profil des cytokines dans le plan 2D mais les longueurs ne peuvent pas être comparées entre les flèches des cytokines et intensités de l'infection. Les flèches sont dépeintes seulement si leur pente est significative dans le plan 3D (voir Tableau 4) et dans les plans 2D respectifs. Au niveau du panel H, les flèches indiquant la réponse IL-5 et l'intensité de l'infection par *S. mansoni* se chevauchent et leur niveau est ainsi illisible.

^a L'interprétation biologique du nMDS1 (à gauche de l'axe x) et nMDS2 (axe y) sont ajoutées entre parenthèse sur les unités de l'axe mais le nMDS3 (axe x droit) ne pourrait pas être interprété.

Les paramètres nMDS du premier axe (nMDS1) montrent que pour chacun des 4 antigènes, toutes les réponses cytokines sont dirigées vers la gauche. Les individus situés sur la gauche produisent des quantités plus élevées de cytokines par rapport à ceux situés sur la droite. En d'autres termes, le nMDS1 indique un gradient vers des valeurs de réponse cytokine du plus grand (gauche) au plus petit (droite). Par analogie, le deuxième axe, nMDS2, indique un gradient du phénotype Th1-like (IFN- γ et NF- α , en dessous) vers Th2-like (IL-5, au sommet) pour chaque antigène. A l'opposé, IL-5 en réponse au SEA et AWA n'est pas accompagnée d'une production d'IL-10. Les niveaux d'IL-2 augmentaient avec la production de cytokine Th1 à l'exception de SEA de SEM. Le troisième axe (nMDS3) indique un gradient IFN- γ et IL-10 (gauche) vers TNF- α et IL-2 (droite).

A l'opposé des cytokines induites par les antigènes, les niveaux de cytokines spontanément induites au niveau du contrôle ne montraient pas d'évolution significative à l'exception de l'IL-5 au niveau du troisième axe.

Relation entre les profils de cytokine et l'infection par les schistosomes

Comme il a été indiqué précédemment, nous avons aussi évalué la variation des réponses cytokines à travers la population d'étude en rapport avec l'intensité de l'infection. Le tableau 4 montre que toutes les associations entre les cytokines induites par les antigènes et l'intensité de l'infection étaient statistiquement significatives. Au niveau de la figure 19, la direction des flèches noires représente respectivement l'augmentation du gradient de l'intensité des infections de *S. mansoni* et *S. haematobium* ; ces axes étaient généralement en direction opposée des réponses cytokines. Ceci indique que l'intensité de l'infection et les réponses cytokines sont négativement associées; en d'autres termes, les sujets présentant des intensités d'infection élevées ont des productions de cytokine plus faible. Sur le second axe, l'intensité de l'infection augmente avec l'IL-5 et diminue avec les cytokines Th1 (TNF- α , IFN- γ , et IL-2) à l'exception de l'IL-5 en réponse au SEAm qui augmente avec l'intensité de l'infection. Ainsi, quand l'intensité de l'infection augmente, les réponses cytokines diminuent et le phénotype Th2 devient prédominant. L'association entre l'intensité de l'infection et la diminution de la réponse cytokine était plus prononcée avec les réponses aux antigènes SEA et AWA. L'intensité de l'infection augmente avec la production d'IL-5 induite par AWA mais diminue avec celle induite par SEA, indiquant que cette association entre l'infection et le phénotype Th2 était plus prononcée pour AWA. Ainsi les sujets présentant de fortes intensités de l'infection induisent une réponse Th2 plus prononcée à l'antigène AWA et une plus forte réponse suppressive contre SEA que pour les sujets ayant une faible intensité de l'infection.

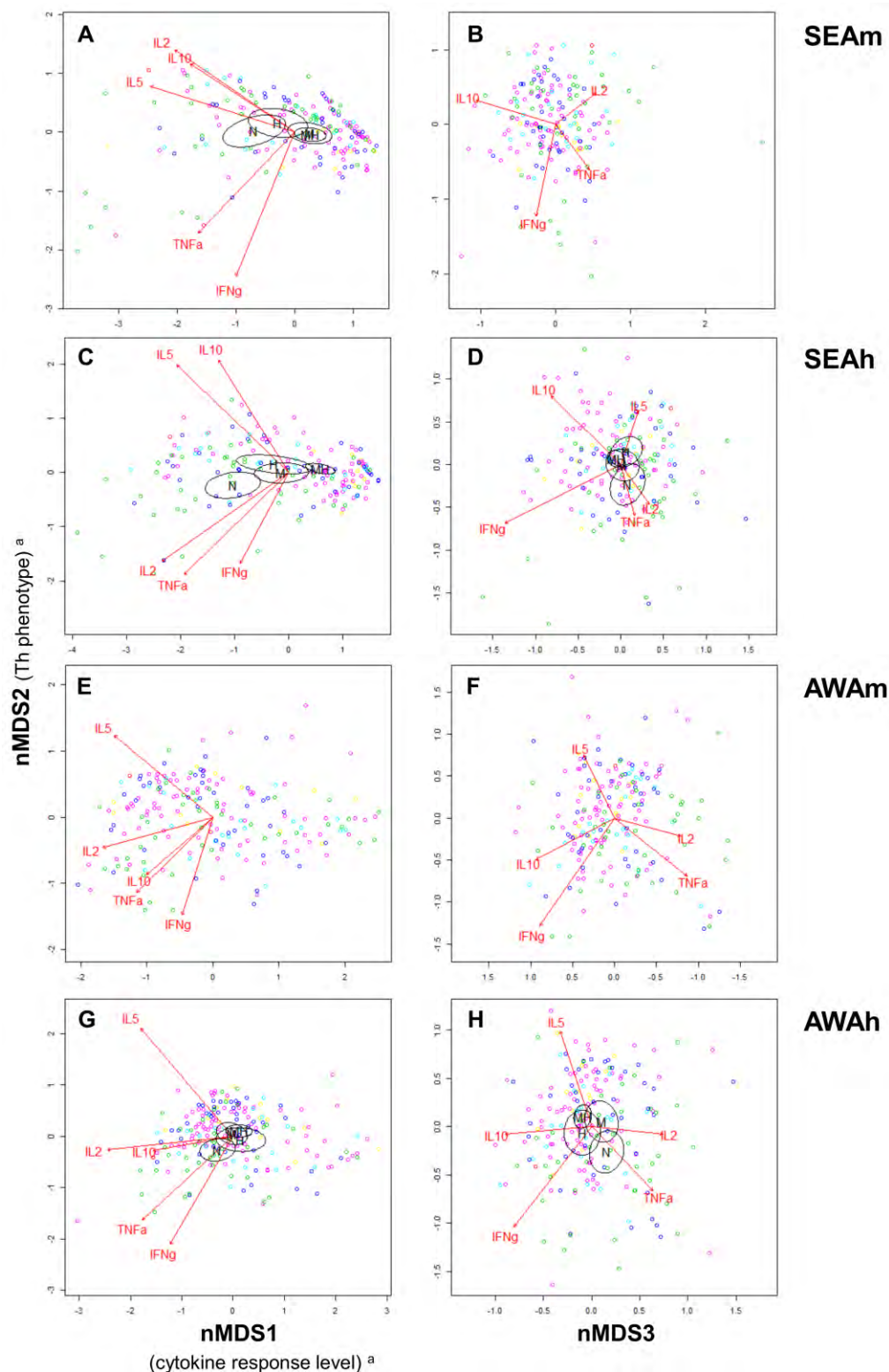


Figure 20 : Variation des réponses cytokines induites par les antigènes de schistosome en relation avec le statut infectieux. Les marquages des points et tests post hoc sont différents mais les profils des cytokines sont les même que dans la figure 1: Les panels de gauche et de droite représentent respectivement la première et deuxième, et deuxième et troisième dimension. Les **panels A et B** montrent le profil des cytokines induites par les antigènes d'œufs de *S. mansoni* (SEAm), les **panels C et D** celui des antigènes d'œufs de *S.*

haematobium SEA(h), les **panels E et F** celui des antigènes de ver adulte de *S. mansoni* (AWAm), et les **panels G et H** montrent le profil des cytokines induites par les antigènes de ver adulte de *S. haematobium* AWA(h) (voir la légende de la figure 19 pour plus de détails). Dans cette figure, les points verts représentent les contrôles (sujets non infectés), les points bleu-sombres ceux infectés par *S. mansoni* seuls, les points bleu-clairs ceux infectés par *S. haematobium* et les autres couleurs indiquent les individus présentant une infection mixte: rose pour infections mixtes sans élimination ectopique d'œufs, jaune pour infections mixtes avec élimination ectopique d'œufs de *S. mansoni* et *S. haematobium* et rouge pour les individus présentant les œufs de *S. mansoni* et *S. haematobium* au niveau des urines (possibles espèces hybrides [260-262]; voir aussi tableau 2). Les Ellipsoïdes représentent les intervalles de confiance à 95% pour la moyenne des scores du groupe, pour les différents statuts infectieux: contrôles („N”), infection par *S. mansoni* seul („M”), infection par *S. haematobium* seul („H”), infection mixte („MH”). Les Ellipsoïdes sont réalisés en utilisant la fonction „ordiellipse” et sont dépeintes seulement si la pente (fit) du statut infectieux au niveau du profile des cytokines était significatif au niveau $p=0.05$ sur le plan 3D (voir tableau 3), mais aussi au niveau des plans 2D respectifs. Sur les panels A et G, les labels pour infection par *S. mansoni* seul („M”) infection mixte („MH”) se chevauchent.

^a L'interprétation biologique du nMDS1 (à gauche de l'axe x) et nMDS2 (axe y) est ajoutées entre parenthèse sur les labels de l'axe mais le nMDS3 (axe x droit) ne pourrait pas être interprété.

Pour les antigènes des deux espèces, nous n'avons pas observé de différence significative des réponses cytokines. L'association entre la production de cytokines et l'intensité de l'infection était donc comparable entre les infections à *S. mansoni* et *S. haematobium* et entre les stimulations par les antigènes de *S. mansoni* et *S. haematobium* (Figure 19). Le tableau 4 montre une corrélation significative entre les profils de cytokines et l'intensité de l'infection par les schistosomes pour les combinaisons homologues (i.e. intensité d'infection et stimulation par un antigène de la même espèce) mais aussi hétérologues (i.e. intensité de l'infection par une espèce et stimulation par l'antigène de l'autre espèce).

Relation entre les profils de cytokine et le statut infectieux

Les profils des cytokines en réponses aux antigènes étaient significativement associés au statut infectieux à l'exception de la réponse vis-à-

vis de l'IFN- γ et de l'IL-10 (Tableau 4). La figure 20 montre comment les profils de cytokines diffèrent en fonction du statut infectieux, avec un intervalle de confiance ellipsoïde de 95%, indiquant que la différence des scores nMDS par groupe d'infection (non infectée ('N'), infection par *S. mansoni* seul ('M') et infection par *S. haematobium* seul ('H')) par rapport l'infection mixte par les deux espèces de schistosome ('MH'). Par analogie à la figure 19, les sujets non infectés présentaient des réponses cytokines plus élevées comparés aux sujets infectés par *S. haematobium*; et leur profil cytokine évoluait vers une réponse Th1. Globalement, on assiste à un gradient du profil cytokine des sujets non infectés vers les individus infectés par une espèce puis les sujets co-infectés (Figure 20); ces profils étaient de la même direction que le gradient observé avec l'intensité de l'infection (Figure 19). Ainsi, les individus avec une faible réponse cytokine Th2 tendaient à avoir une infection mixte ou sévère tandis que ceux ayant une forte réponse Th1 tendaient à être non infectés ; ceux avec un profil intermédiaire avaient une infection simple ou une faible intensité de l'infection.

Pour les cytokines en réponse à SEAm, on assistait à une séparation nette entre les ellipsoïdes pour les individus infectés par *S. mansoni* d'un part (infection simple ou mixte) et d'autre part ceux non infectés par *S. mansoni* (non infectés du tout ou infection simple par *S. haematobium*; Figure 20). Ceci signifie que le profil de cytokines induit par SEAm différait entre les individus avec et sans *S. mansoni*.

Il n'y avait pas de différence significative de la production de cytokines entre les infections simples et mixtes (illustrée par un large chevauchement des ellipsoïdes), ou entre les sujets non infectés et ceux présentant une infection par une seule espèce. Ceci indique que, contrairement au *S. mansoni*, l'infection par *S. haematobium* n'était pas associée à une production de cytokine en réponse au

SEAm. Les cytokines en réponse au *Schistosoma haematobium* étaient, de manière similaire, associées à l'infection par *S. mansoni* et par *S. haematobium*. Les ellipsoïdes pour les groups avec une infection simple ou mixte montraient une séparation nette avec ceux du groupe des contrôles ; le profil des cytokines ne montrait pas de différence entre les infections simples à *S. mansoni* et *S. haematobium*.

Tableau 4. « Goodness of fit » des intensités d'infection et statuts infectieux des profils de cytokines

Infection		Cytokine induite par l'antigène			
		SEAm	SEAh	AWAm	AWAh
Intensité de l'infection par <i>S. mansoni</i>	R ²	0.14	0.17	0.10	0.13
	p-value	0.001	0.001	0.001	0.001
Intensité de l'infection par <i>S. haematobium</i>	R ²	0.05	0.18	0.07	0.15
	p-value	0.02	0.001	0.003	0.001
Statut infectieux	R ²	0.09	0.18	0.02	0.04
	p-value	0.001	0.001	0.2	0.01

La figure 19 ci-dessus montre le fit (obtenu par es fonction „metaMDS” et „envfit”) [268;269] des intensités des infection et figure celui des statuts infectieux (non infectés, infection par *S. mansoni*, infection par *S. haematobium* et co-infection par *S. mansoni* et *S. haematobium*) par rapport aux cytokines en réponse à chacun des quatre antigènes d'œuf ou de ver adulte de schistosome (SEAm, SEAh, AWAm et AWAh). Ce tableau illustre les “goodness of fit” qui représentent les carrés des coefficients de corrélation (R²). Les significativités statistiques ont été évaluées par des tests de permutation (n=999).

5.3. Article 3

MAJOR ARTICLE

T-Helper 17 Cells Are Associated With Pathology in Human Schistosomiasis

Moustapha Mbow,^{1,2,3} Bridget M. Larkin,⁴ Lynn Meurs,³ Linda J. Wammes,² Sanne E. de Jong,² Lucja A. Labuda,² Makhtar Camara,¹ Hermelijn H. Smits,² Katja Polman,³ Tandakha N. Dieye,¹ Souleymane Mboup,¹ Miguel J. Stadecker,⁴ and Maria Yazdanbakhsh²

¹Immunology Unit, Laboratory of Bacteriology and Virology, Aristide Le Dantec Teaching Hospital, Dakar, Senegal; ²Leiden University Medical Center, the Netherlands; ³Institute of Tropical Medicine of Antwerp, Belgium; and ⁴Department of Pathology, Tufts University School of Medicine, Boston, Massachusetts

Les cellules Th17 sont associées à la pathologie au cours de la schistosomiase humaine

Résumé

Introduction: Les infections par les schistosomes sont souvent cliniquement latentes bien que certains sujets puissent développer des réactions pathologiques sévères. Dans beaucoup de processus infectieux, les cellules Th17 ont été associées à des atteintes tissulaires tandis que les cellules T régulatrices seraient associées à une modulation des réactions inflammatoires. C'est ainsi que nous nous proposons d'explorer comment l'équilibre entre les cellules Tregs et Th17 évolue chez les patients présentant des atteintes du tractus urinaire au cours de la schistosomiase à *Schistosoma haematobium*. En utilisant différents phénotypes de souris infectées par *Schistosoma mansoni*, nous avons aussi essayé de comprendre si le profil immunitaire observé au niveau périphérique se reflète au niveau des tissus. **Méthodologie:** Les différentes sous-populations de cellules T auxiliaires ont été caractérisées au niveau périphérique chez des enfants vivant en zone endémique aux schistosomes, mais aussi au niveau périphérique, hépatique et splénique sur les phénotypes CBA et C57BL/6 de souris présentant respectivement une pathologie sévère et modérée. **Résultats:** Les enfants atteints de schistosomiase urinaire avec des atteintes vésicales présentaient des pourcentages de cellules Th17 significativement plus élevées comparés à ceux sans signe pathologique. De plus, le rapport Th17/Treg était significativement plus élevé chez ceux présentant une pathologie. Au niveau du sang périphérique, de la rate et du granulome hépatique des souris CBA présentant une pathologie sévère, les cellules T productrices d'IL-17 étaient plus élevées par rapport aux souris C57BL/6 de pathologie modérée. **Conclusion:** Ces résultats indiquent pour la première fois que les cellules Th17 pourraient être impliquées dans la pathogenèse de schistosomiase humaine.

Introduction

Il est estimé à plus de 200 million le nombre de personnes infectées par les schistosomes à travers le monde [30] dont la majorité se trouvent en Afrique [271]. Bien que la schistosomiase soit souvent cliniquement latente, des cas de morbidité sévère peuvent être notés. La pathologie est principalement induite par les réactions immunitaires au niveau du granulome tissulaire contre les œufs des parasites [17;156;272].

Les mécanismes sous-jacents du développement de la pathologie ne sont pas encore bien compris. Même si ces manifestations pathologiques peuvent être liées à l'intensité de l'infection [156;199], il a été montré que certaines différences immunologiques sont associées à leur survenue [72;273]. La compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans l'immunopathologie de la schistosomiase pourrait avoir d'importantes implications dans les stratégies d'intervention, pas seulement pour la schistosomiase mais aussi pour d'autres maladies [17;274].

Des études chez des souris déficientes en IL-13 et IL-4 ont montré que les cytokines de type Th2 sont impliqués dans la fibrose et les réactions au niveau du granulome [211]. Cependant, du fait que les cellules Th2 peuvent moduler l'inflammation et participer à la réparation des tissus [20], force est de se demander s'il n'y aurait pas l'implication d'autres sous-populations cellulaires dans le développement de l'immunopathologie sévère.

De récentes études ont mis en évidence le rôle crucial des cellules T auxiliaires CD4⁺ productrices d'IL-17 (Th17) dans la pathogenèse de la schistosomiase chez la souris [21;274]. En ce qui concerne les cellules T régulatrices, il est connu que les helminthes peuvent induire une réponse régulatrice pour la survie des parasites [275;276] et le contrôle des

manifestations pathologiques [224;226]. Des études sur la différenciation des cellules Treg et Th17 ont montré une possible relation entre ces sous-populations. En effet de récents travaux chez la souris suggèrent que les cellules Th17 exacerbent le développement de la pathologie tandis que les cellule Treg contrôlent ces manifestations [17]. Dans cette étude, nous nous proposons d'étudier le rôle des cellules Th17 chez des sujets infectés par les *S. haematobium* avec ou sans lésions pathologiques et de déterminer comment l'équilibre entre les cellules Treg et Th17 est associée à la pathologie chez l'homme. Ainsi, nous avons déterminé l'expression des facteurs de transcription des cellules T auxiliaires FOXP3, ROR- γ t, T-bet et GATA3 mais aussi évalué les sous-populations de cellules T en fonction de leur signature cytokinique IL-10, IL-17, IL-22, IFN- γ et IL-4. Il faut noter que chez l'homme, le sang périphérique est le seul compartiment dont nous pouvions avoir accès et cela ne nous permettait pas de voir si le profil immunitaire observé au niveau périphérique se reflétait au niveau des organes. Vu qu'il est particulièrement difficile d'infecter des souris avec le *S. haematobium* [277], nous avons utilisé des souches de souris CBA (phénotype pathologie sévère) et C57BL/6 (phénotypes pathologie faible) pour déterminer le profil des cellules T auxiliaires au niveau tissulaire.

Matériels et méthodes

Population d'étude

Notre étude s'est déroulée dans le village de Pakh, au nord du Sénégal, où *S. mansoni* et *S. haematobium* sont endémiques. Deux cent treize sujets âgés de 5 à 55 ans ont participé dans cette étude ; cependant 87 d'entre eux n'avaient pas eux de données parasitologiques complètes. Des examens radiologiques (échographies) ont été réalisés sur 200 des 213 participants et des données parasitologiques et radiologiques complètes ont été obtenues pour 126 sujets sur lesquels nous nous proposons de déterminer la morbidité associée à l'infection

par une des espèces de schistosome. Vu que la prévalence de *S. haematobium* était plus élevée que celles de *S. mansoni* et que les enfants présentaient une plus grande prévalence de l'infection par *S. haematobium* associée aux signes pathologiques correspondants, nous avons ainsi pris les enfants pour les investigations immunologiques. Ces enfants âgés de 5 à 14 ans ont été défini en 3 groupes : 1) les enfants négatifs pour *S. haematobium* et *S. mansoni* et ne présentant pas de signe radiologique de morbidité (S-P-, n = 10), les enfants atteints seulement de *S. haematobium* sans aucun signe de morbidité spécifique aux deux espèces de schistosome (S+P-, n = 6) et les enfant atteints de *S. haematobium* avec des signes radiologiques spécifiques de bilharziose urinaire (S+P+, n = 10). Cette étude a été approuvée par Le Comité National d’Ethique de la Recherche en Santé (CNER) du Sénégal sous le permis numéro 0044MSPHP/DS/CNER. Un consentement libre éclairé a été obtenu de tous les participants à l’étude. Pour les enfants, le consentement a été obtenu des parents ou de leur gardien légal.

Examens parasitologiques et radiologiques

Tous les participants ont été testés pour *S. mansoni* et *S. haematobium*. Pour *S. mansoni*, la numération des œufs a été faite par un double test de Kato-Katz utilisant 25 mg de selles réalisés en deux jours différents. Pour *S. haematobium*, les œufs ont été déterminés au niveau des urines en deux jours distincts par la technique de filtration utilisant des filtres millipores de 12-µm de diamètre.

Nous avons, selon le guide de Niamey, utilisé l’échographie pour évaluer les atteintes tissulaires au niveau de l’appareil urinaire qui sont des lésions spécifiques associées à l’infection par le *S. haematobium* [278]; ces différentes lésions ont été traduites en scores utilisés pour classifier le type et le degré des lésions. Les signes radiologiques spécifiques de l’infection par *S. mansoni* ont

quant à eux ont été évalués au niveau hépatique, mettant en évidence les images caractéristiques évocatrices du type de lésion.

Le diagnostic du paludisme a aussi été effectué par la technique de la goutte épaisse. Tous les participants ont subi une consultation médicale afin d'évaluer leurs antécédents médicaux et d'éventuels signes d'infection ou de syndromes inflammatoire non liés à la schistosomiase. La numération formule sanguine a été réalisée en utilisant l'hématocymomètre AcT 5 Diff[®] des laboratoires Beckmann Coulter.

Séparation et fixation des cellules

Les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) ont été isolées dans les quatre heures qui ont suivi le prélèvement par différence de densité en utilisant le Ficoll (GE Healthcare Bio-Sciences AB). Pour la détermination des facteurs de transcription, un million de cellules ont alors été fixées pendant une heure par une solution de fixation (eBioscience) puis conservées à -80°C dans du RPMI (Roswell Park Memorial Institute) enrichi avec 100UI/ml pénicilline (Gibco), 100UI/ml streptomycine (Sigma-Aldrich), 1 mM pyruvate (Sigma-Aldrich), 2 mM glutamate (Sigma-Aldrich), 10%FBS (Invitrogen), 10% diméthyle sulfoxyde (DMSO) (Merk).

Stimulation cellulaire

Pour la détermination des cytokines intracellulaires des cellules T, 1×10^6 PBMC ont été stimulées pendant au total 6 heures avec 100 ng/ml de phorbol-myristate-acetate (PMA) (Sigma-Aldrich) et 1 μ g/ml d'ionomycine (Sigma-Aldrich). La Brefeldine A (BFA, 10 μ g) (Sigma-Aldrich) a été ajoutée après deux heures de stimulation et les cellules incubées pour quatre heures supplémentaires à 37°C sous 5% CO₂. Les cellules ainsi stimulées ont été fixées

avec du Paraformaldehyde (PFA) 2% (Sigma Aldrich) pendant 15 minutes puis conservées à 80°C dans du RPMI-1640 contenant 10%FCS et 10%DMSO.

Analyse par cytométrie de flux

Les PBMC fixées (dans une solution de fixation de eBioscience pour la détermination des facteurs de transcription et avec du PFA pour mesurer les cytokines intracellulaires) ont été décongelées, lavées une fois avec du RPMI-1640 contenant 10% de FBS, une fois avec du PBS PBS (Fresenius Kabi). Les cellules ont ensuite été perméabilisées à la température ambiante et marquées avec des anticorps spécifiques pendant 30 minutes à 4°C dans une solution contenant un inhibiteur des fragments FcγR du complément (eBioscience) afin d'empêcher les fixations non spécifiques. Pour les facteurs de transcription, 2.5×10^5 cellules ont été marquées à partir de différents panels. Panel 1: AmCyan anti-CD3 (BD Biosciences), PECy7 anti-CD4 (BD Biosciences), PE anti-RORγt (eBioscience), PerCPCy5.5 anti-T-bet (eBioscience), et eFluor660 anti-GATA3 (eBioscience); panel 2: APC anti-CD3 (BD Biosciences), PerCP anti-CD4 (BD Biosciences), PECy7 anti-CD25 (BD Biosciences) et FITC anti-FOXP3 (eBioscience). Pour la détermination des cytokines, 2.5×10^5 cellules ont été utilisées pour deux différents panels. Panel 1: AmCyan anti-CD3 (BD Biosciences), PerCP anti-CD4 (BD Biosciences), Alexa Fluor-488 anti-IL17 (eBioscience), PE anti-IL-22 (R and D systems), PECy7 anti-IL-4 (eBioscience) et APC anti-IFN-γ (BD Biosciences); panel 2: AmCyan anti-CD3 (BD Biosciences), PerCP anti-CD4 (BD Biosciences) et PE anti-IL-10 (BD Biosciences). Les cellules marquées ont été lavées et suspendues dans du PBS contenant 0.5% de BSA et 2mM d'EDTA et analysées par le cymomètre FACSCanto (BD Biosciences). Les résultats obtenus ont été analyses par le logiciel FlowJo version 8.8.6 (Tree Star Inc.).

Les différentes souches de souris

Des souris femelles de souche CBA/J et C57BL/6 fournies par « The Jackson Laboratory» (Bar Harbor, ME) ont été maintenues en laboratoire à l'Université Médicale de Tufts selon les normes du guide de l'Association Américaine d'Evaluation et d'Accréditation des Laboratoires Animaux. Les souris ont ensuite été infectées par injection intrapéritonéale de 85 cercaires de *S. mansoni* (Puerto Rico strain) obtenus à partir de mollusque *Biomphalaria glabrata* fournis par le docteur Fred Lewis (Biomedical Research Institute, Rockville MD) de l'Institut National de Santé et l'Institut National des Allergies et Maladies infectieuses (N01AI-55270). Les souris ont été sacrifiées huit semaines après infestation. Toutes les expériences sur les animaux ont été réalisées en accord avec le Guide pour la Prise en Charge et l'Utilisation des Animaux de Laboratoire de l'Institut National de Santé, avec l'autorisation de l'Association Américaine d'Evaluation et d'Accréditation des Laboratoires Animaux (permit numéro B2009-88).

Préparation des cellules animales et stimulation cellulaire

Pour obtenir les cellules du granulome hépatique, les foies de trois souris ont été associés et broyés. Le broyat a ensuite été sédimenté à 1 x g, lavé de manière intensive et traité par digestion enzymatique avec 1 mg/ml de collagénase H de *Clostridium histolyticum* (Sigma Chemical Co). Les cellules mortes et les érythrocytes ont été retirés de la suspension de granulomes par centrifugation avec du Lympholyte-M (Cedarlane) selon la procédure du fabricant. Les cellules de la rate ont été extraites et la disruption mécanique des tissus utilisée pour obtenir une seule suspension cellulaire avec du RPMI-1640 contenant 10% FBS (Aiken Biologicals), 4 mM L-glutamine, 80 U/ml pénicilline, 80 µg/ml streptomycine, 1 mM pyruvate de sodium, 10 mM HEPES, 1x d'acide aminé non essentiel (tous provenant de BioWhittaker) et 0.1% 2-mercaptoéthanol. Les PBMC ont été isolées du sang rétro-orbital et les

érythrocytes lysés par incubation avec une solution de chlorure ammonium Tris de pH 7.2 (Sigma) pendant 15 min dans de la glace. Les cellules ont ensuite été lavées, comptées et suspendues dans RPMI-1640.

Deux millions de cellules par ml ont été stimulées avec 50 ng/ml de PMA (Sigma) et 500 ng/ml d'ionomycin (Sigma) pendant 6 heures à 37°C sous 5% CO₂. Dix µg/ml de BFA (Sigma) ont été ajoutés dans les quatre dernières heures.

Analyse des cellules murines par cytométrie

Pour déterminer l'expression de l'IL-17, l'IFN-γ et l'IL-4, les cellules ont été lavées avec du FACS buffer (PBS avec 0.1% BSA (Sigma) et 0.01% azide de sodium (Sigma)) contenant 10 µg/ml de BFA et bloquées avec 0.3 mg/ml d'IgG de rat (Sigma) pendant 10 minute dans de la glace. Les cellules ont ensuite été marquées avec APC anti-CD4 (BD Biosciences) pendant 25 min, lavées une fois avec du BFA-FACS buffer, fixées pendant 15 minutes à la température ambiante avec 4% PFA et lavées avec du FACS buffer. Après lavage, les cellules ont été perméabilisées pendant 15min avec du FACS buffer contenant 0.1% de Saponine (Sigma) et 0.3 mg/ml d'IgG de rat (Sigma) et marquées pendant 35 minutes à la température ambiante avec PE anti-IL-17 (BD Pharmingen), FITC anti-IFN-γ (BD Pharmingen) et PE anti-IL-4 (BD Pharmingen). Au terme de l'incubation, les cellules ont été lavées une fois avec du FACS buffer contenant 0.1% saponine et deux fois avec du FACS buffer normal avant d'être suspendues 1% de PFA. Pour la détermination de l'expression de FOXP3, les cellules non marquées ont été lavées avec du FACS buffer, bloquées pendant 10 min avec l'IgG de rat et marquées par le CD4 comme précédemment décrit. Les cellules ont ensuite été fixées avec une solution de fixation eBioscience pendant 45 min à 4° C, lavées avec du FACS buffer puis marquées avec APC anti-FOXP3 (eBioscience) pendant 45 minutes à

la température ambiante. Les cellules ont ensuite été lavées une fois avec 0.1% saponine, une fois avec du FACS buffer normal et suspendues dans du FACS buffer pour l'analyse par cytométrie de flux utilisant le FACSCalibur (Becton Dickinson). Les données obtenues ont été analysées en utilisant le logiciel Summit version 4.3 (Dako).

Analyses statistiques

Les analyses statistiques des données obtenues chez l'homme ont été réalisées avec le logiciel SPSS version 17 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA); les différences entre les groupes ont été analysées en utilisant les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis H et Mann-Whitney U. Les données animales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPad Prism pour Window version 5.03 (Graphpad, CA, USA); le test ANOVA one-way a été utilisé pour déterminer les différences statistiques entre groupes. Les valeurs de P -value < 0.05 ont été considérées comme statistiquement significatives pour toute différence.

Résultats

Analyse de la population d'étude

Parmi les différents groupes, il n'y avait pas de différence statistiquement significative pour l'âge, le sexe et l'intensité de l'infection entre les différents groupes malgré une tendance vers un nombre plus élevé des œufs de *S. haematobium* dans le groupe S+P+ par rapport au groupe to S+P-. Parmi les enfants qui avaient des signes de morbidité, 80% d'entre eux présentaient une irrégularité de la paroi vésicale contre 20% qui avaient un épaissement de cette paroi. Le tableau 1 montre les caractéristiques des différents groupes de la population d'étude.

Tableau 5 : Caractéristiques de la population d'étude

	S-P- (n = 10)	S+P- (n = 6)	S+P+ (n = 10)	P
Age, median [min-max]	10[5-14]	8[7-14]	9[5-14]	0.913
Sex, male, n (%)	4(40%)	2(33.3%)	7(70%)	0.166
<i>S. mansoni</i> egg/25mg of stool	0	0	0	-
<i>S. haematobium</i> egg/10ml, median[IQR]	0	30.5[10.0-70.1]	81.2[29.2-197.7]	0.159
Liver Morbidity	No	No	No	-
Urinary bladder morbidity	No	No	Yes	-

P: Comparaison entre S+P- and S+P+

Vingt-six enfants âgés de 5 à 16 ans ont été divisés en trois groupes en fonction de la morbidité et du statut infectieux: 10 enfants contrôles, non infectés et ne présentant pas de pathologie spécifique de la schistosomiase (S-P-), 6 enfants infectés par *S. haematobium* sans morbidité (S+P-) et 10 enfant infectés par *S. haematobium* avec morbidité (S+P+). La morbidité spécifique au *S. haematobium* a été déterminée par échographie; en effet, les images radiologiques évocatrices d'irrégularité ou épaissement de la paroi vésicale, ou la présence de masse ou de pseudopolypes ont été traduits en scores. La valeur de *P* pour la comparaison du sexe entre les groupes a été effectuée par le test Chi-Square tandis que les comparaisons pour l'âge et de l'intensité de l'infection ont été faite par le test non paramétrique de Mann-Whitney U. L'âge le sexe et les œufs de *S. haematobium* ne montraient pas de différence statistiquement significative entre les groupes. Abréviations: *S*: *Schistosoma haematobium*, *P*: pathogène, -: négatif, +: positif.

Les sujets avec des atteintes du tractus urinaire présentaient des proportions plus importantes de cellules Th17 au niveau du sang périphérique

Les cellules Th17 ont été définies par le phénotype CD3⁺CD4⁺RORγt⁺ comme indiqué sur de la figure 21A. Nous avons trouvé une augmentation significative de la proportion des cellules T CD4⁺RORγt⁺ T au niveau du groupe S+P+ (4.9% [Interquartile Range (IQR):4.1-5.7]) par rapport aux groupes S+P- (2.3% [IQR:1.9-3.9]) (*P*=.03) et S-P- (2.8% [IQR:2.5-4.0]) (*P*=.003) (overall

$P=.008$) (Figure 1B). De même, le pourcentage des cellules T CD4⁺IL-17⁺ T (stratégie de gating indiquée sur la figure 22A) était significativement plus élevé pour le groupe S+P+ (2.8% [IQR:2.2-3.5]) comparé au groupe S+P- (1.5% [IQR:1.2-2.3]) ($P=.009$) (Figure 2B) (overall $P=.025$). Cependant, la proportion des cellules T CD4⁺ productrice d'IL-17 ne différait pas statistiquement entre les groupes S+P- et S-P- ($P=.065$).

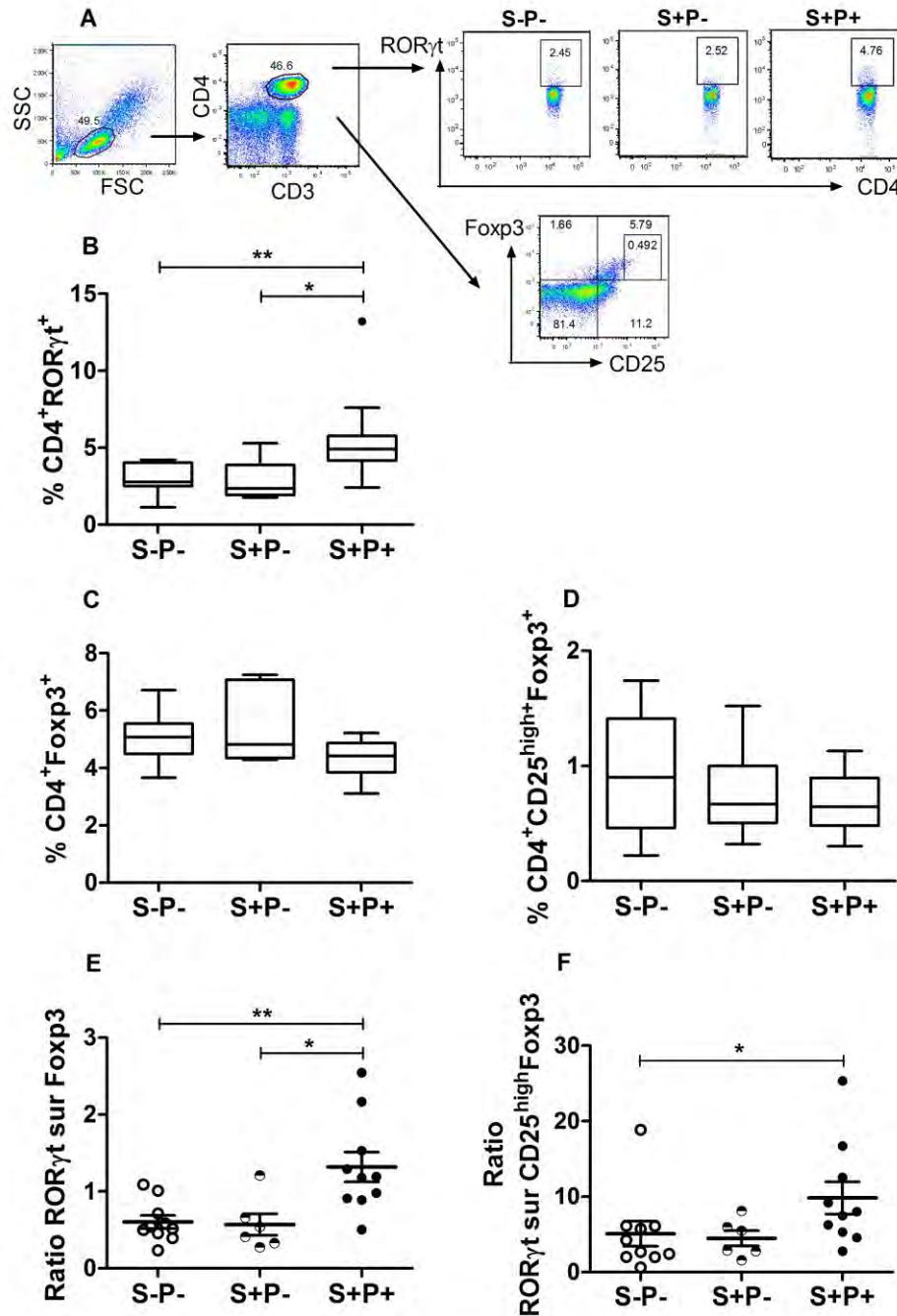


Figure 21 : Augmentation de l'expression de RORγt chez les patients présentant une morbidité. La stratégie de gating pour la détermination de la fréquence des cellules T RORγt⁺, FOXP3⁺ et CD25^{high}FOXP3⁺ CD4⁺ est illustrée au niveau de cette figure (A). Les lymphocytes totaux ont été identifiés par la population des cellules T CD3⁺CD4⁺ pour l'analyse de l'expression de RORγt, FOXP3 ou CD25^{high}FOXP3. Les box plots représentant les pourcentages des cellules T (B) CD4⁺RORγt⁺, (C) CD4⁺FOXP3⁺, et (D) CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ et les scatter plots (E) du ratio CD4⁺RORγt⁺ sur CD4⁺FOXP3⁺ (F) et du ratio CD4⁺RORγt⁺ sur CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ pour les groupes S-P- (n = 10), S+P- (n

= 6) et S+P+ ($n = 10$) sont illustrées. Les données sont exprimées en médiane et interquartile range. Les P -values ont été calculés en utilisant le test non paramétrique de Mann-Whitney U test. Seuls les P -values statistiquement significatifs sont indiqués au niveau des figures. Abréviations: S: *S. haematobium*, P: pathologie, -: négatif, +: positif. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Les cellules T CD4⁺ productrices d'IL-22⁺, qui auraient un rôle dans les réactions pathologiques, ont aussi été analysées. Nous avons trouvé que leur proportion était plus élevée chez les enfants qui présentaient une pathologie (3.06% [IQR:2.5-4.1]) par rapport à ceux qui n'en avaient pas (2.4% [IQR:1.8-2.8]) bien que la différence n'était pas significative ($P = .065$) (Figure 22C).

Pour les cellules T régulatrices, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes aussi bien dans l'expression de CD4⁺FOXP3⁺ (figure 21C) que celle de CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ (Figure 21D). Cependant en calculant le rapport des cellules Th17/Treg, nous avons trouvé que le ratio CD4⁺RORγt⁺ sur CD4⁺FOXP3⁺ était significativement plus élevé pour le groupe S+P+ (1.2 [IQR:0.9-1.7]) comparé aux groupes S+P- (0.5 [IQR:0.3-0.8]) ($P = .017$) et S-P-groups (0.5 [IQR:0.4-0.8]) ($P = .004$) (overall $P = .007$) (Figure 21E). Le ratio CD4⁺RORγt⁺ sur CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ était aussi significativement plus élevé chez les enfants présentant une pathologie (7.7 [IQR:2.1-13.6]) par rapport aux témoins ; cependant il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les enfants infectés avec ou sans signes pathologiques (4.19 [IQR:2.5-6.5]) ($P = .083$) (overall $P = .044$) (Figure 21F). De même, la production d'IL-10 ne montrait pas de différence significative entre les groupes (Figure 22D) mais le rapport des cellules T CD4⁺IL-17⁺ sur T CD4⁺IL-10⁺ était significativement plus élevé chez les sujets présentant une pathologie (1.2 [IQR:0.9-1.7]) par rapport au ceux qui n'en avaient pas (0.5 [IQR:0.3-0.8]) ($P = .009$) (overall $P = .028$) (Figure 2E), indiquant qu'en situation de pathologie, la proportion des cellules T productrices d'IL-17 est plus importante que celle productrices d'IL-10.

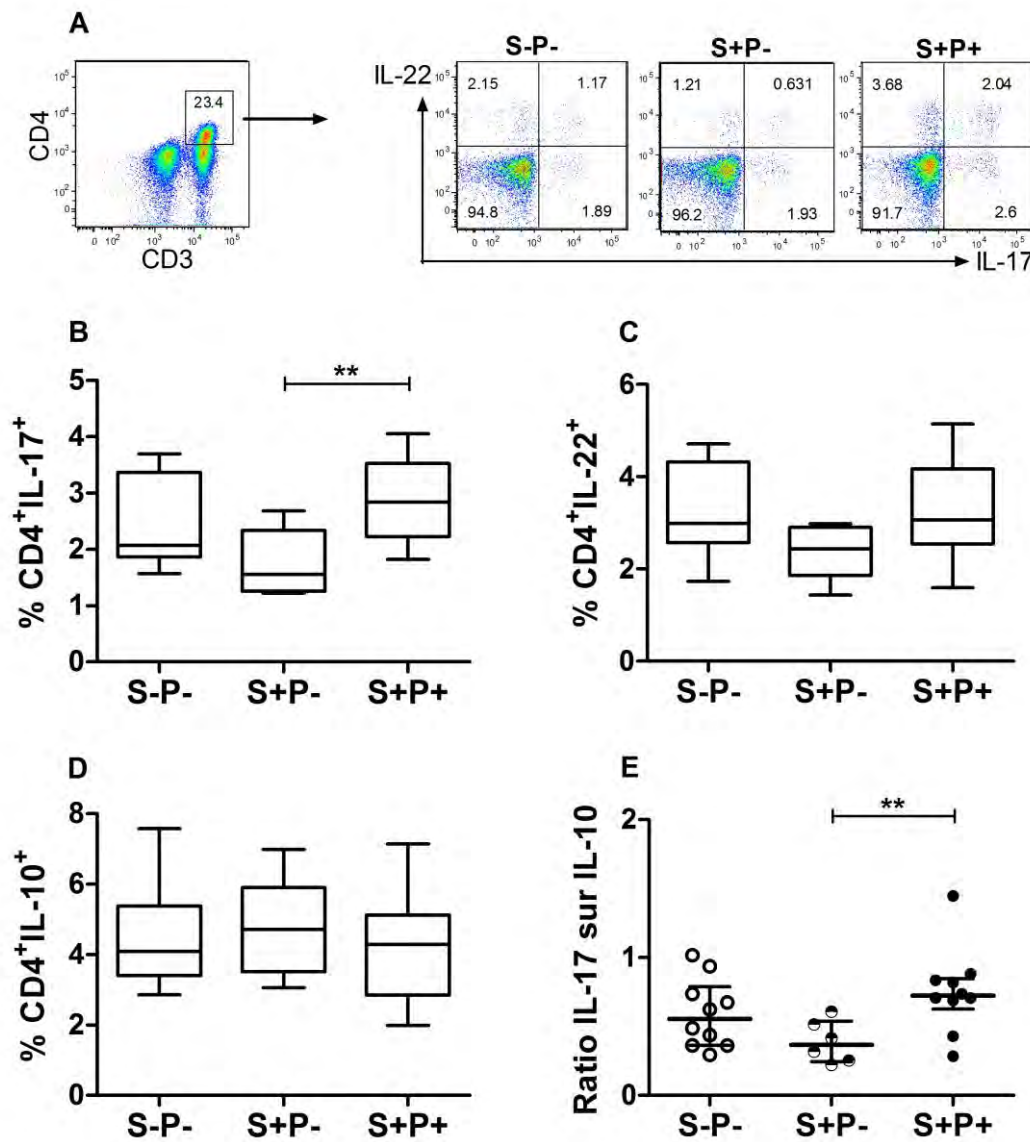


Figure 22: Augmentation de la production d'IL-17 chez les patients présentant une morbidité. La stratégie de gating pour la détermination de la fréquence des cellules productrices T CD4⁺ IL-17, IL-22 et IL-10 est illustrée au niveau de la figure (A). Les lymphocytes totaux ont été identifiés pour l'analyse de l'expression de l'IL-17, IL-22 et IL-10. Les box plots représentant les médianes et interquartiles ranges (IQR) des pourcentages des cellules T (B) CD4⁺IL-17⁺, (C) CD4⁺IL-22⁺, (D) CD4⁺IL-10⁺ et les scatter plots (médiane et IQR), (E) du ratio IL-17⁺ sur IL-10⁺ au niveau des groupes S-P- (n = 10), S+P- (n = 6) et S+P+ (n = 10) sont illustrés. Les P-values comparant les groupes ont été calculés en utilisant le test non paramétrique de Mann-Whitney U test. Seuls les P-values statistiquement significatives sont indiqués au niveau des figures. **p<0.01. Abréviations: S: *S. haematobium*, P: pathologie, -: négatif, +: positif.

Les proportions des cellules Th1 et Th2 ne montrent pas de différence significative entre sujets avec ou sans signes pathologiques

Les cellules Th1 ont été définies par le phénotype $T\ CD4^{+}T\text{-bet}^{+}$ ou $T\ CD4^{+}IFN\text{-}\gamma^{+}$ T et les cellules Th2 par $T\ CD4^{+}GATA3^{+}$ ou $T\ CD4^{+}IL\text{-}4^{+}$ T ; la stratégie de gating est indiquée sur la figure 23A. Aucune différence significative des fréquences des cellules Th1 et Th2 n'a été trouvée entre les différents groupes, que ce soit par l'expression des facteurs de transcription T-bet et GATA3 (Figures 23B et 23C), ou la production de cytokines IL-4 et IFN- γ (Figures 23E et 23F). De plus, les ratios $CD4^{+}T\text{-bet}^{+}/CD4^{+}GATA3^{+}$ (Figure 23D) et $CD4^{+}IFN\text{-}\gamma^{+}/CD4^{+}IL\text{-}4^{+}$ (Figure 23G) ne montraient aucune différence significative entre les groupes.

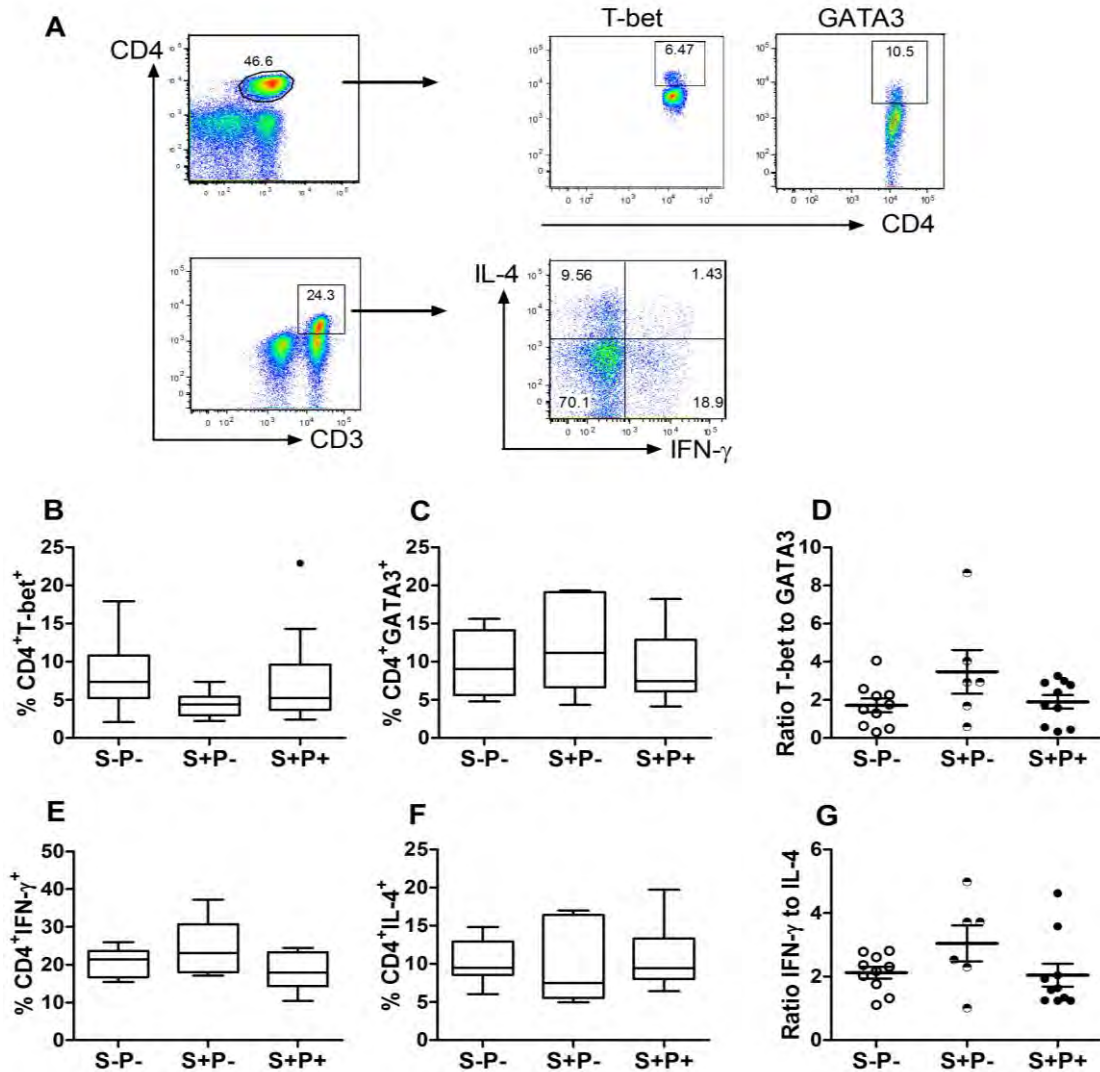


Figure 23 : Les cellules Th1 et Th2 ne montrent pas différence significative entre les groupes. La stratégie de gating pour la détermination de la fréquence des cellules T CD4⁺ productrices d'IFN-γ ou IL-4 est illustrée au niveau de la figure (A). Les lymphocytes totaux ont été identifiés par la population de cellules T CD3⁺CD4⁺ pour l'analyse de l'expression de T-bet, GATA3, IFN-γ ou IL-4. Les box plots représentant les pourcentages des cellules T (B) CD4⁺T-bet⁺, (C) CD4⁺GATA3⁺ T et les scatter plots du ratio (D) CD4⁺T-bet⁺ sur CD4⁺GATA3⁺, les box plots des cellules T (E) CD4⁺IFN-γ⁺, (F) CD4⁺IL-4⁺ T et les scatter plots du (G) ratio IFN-γ⁺CD4⁺ sur IL-4⁺CD4⁺ T pour les groupes S-P- (n = 10), S+P- (n = 6), et S+P+ (n = 10) sont illustrées. Les données sont exprimées en médiane et interquartile range. Les P-values comparant les groupes ont été calculés en utilisant le test non paramétrique de Mann-Whitney U test. Seules les P-values statistiquement significatives sont indiqués au niveau des figures. Abréviations: S: *S. haematobium*, P: pathologie, -: négatif, +: positif.

Les granulocytes du sang périphérique sont plus élevés chez patients présentant des signes de morbidité

La numération formule sanguine a montré que la valeur absolue des granulocytes étaient plus élevée chez les enfants avec des lésions tissulaires ($5.48 \times 10^3/\mu\text{l}$ [IQR:4.4-9.5]) comparés aux groupes S+P- ($3.5 \times 10^3/\mu\text{l}$ [IQR:1.6-4.6]) ($P=.049$) et S-P- ($4.2 \times 10^3/\mu\text{l}$ [IQR:2.8-5.0]) ($P=.039$) (overall $P=.044$) (Figure 24A). Les sujets qui présentaient des signes pathologiques tendaient à avoir des pourcentages de neutrophiles plus élevés ($3.0 \times 10^3/\mu\text{l}$ [IQR:2.0-4.5]) par rapports aux patients infecté sans signe pathologique ($1.99 \times 10^3/\mu\text{l}$ [IQR:1.1-3.6]) mais la différence n'était pas statistiquement significative (Figure 24B), contrairement aux éosinophiles qui étaient significativement plus élevés chez enfants avec pathologie ($P=.03$) (Figure 24C).

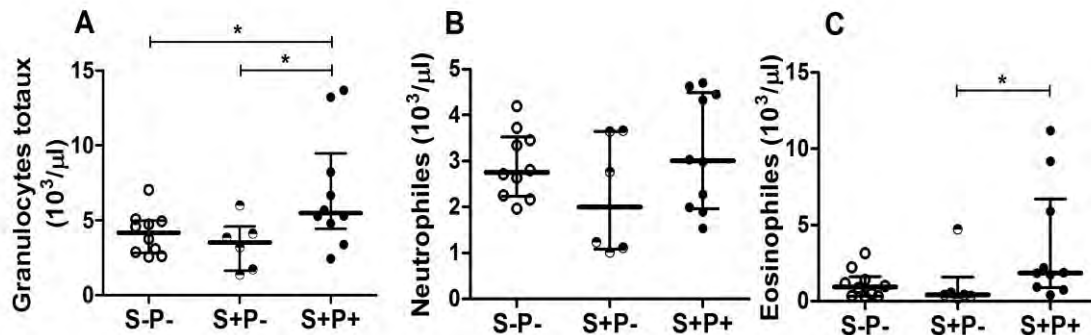


Figure 24 : Augmentation des granulocytes chez les patients présentant une morbidité. Les scatter plots des valeurs médianes et les interquartiles des (A) granulocyte totaux, (B) des neutrophiles et (C) des éosinophiles dans les groupes S-P- ($n = 10$), S+P- ($n = 6$) et S+P+ ($n = 10$) sont illustres. Les P -values comparant les groups ont été calculés en utilisant le test non paramétrique de Mann-Whitney U test. Seules les P -values statistiquement significatives sont indiqués au niveau des figures. * $p < 0.05$. Abréviations: S: *S. haematobium*, P: pathologie, -: négatif, +: positif.

La proportion des cellules Th17 au niveau du sang périphérique, de la rate et du foie était plus élevées chez les souris CBA

Pour déterminer si les réponses effectrices observées au niveau périphérique se reflètent aussi au niveau des organes cibles, nous avons déterminé l'expression de l'IL-17, l'IFN- γ , et l'IL-4 by au niveau splénique et du granulome hépatique de souris infectées par *S. mansoni* avec (CBA) ou sans (C57BL/6) pathologie sévère. Parallèlement aux résultats trouvées chez l'homme, les souris CBA présentant une pathologie sévère montraient des proportions de cellules T CD4⁺IL-17⁺ significativement plus élevées au niveau périphérique (mean \pm SD: 0.7 \pm 0.008%) par rapport aux souches C57BL/6 présentant une pathologie modérée (0.2 \pm 0.1%) ($P<0.0005$) (Figure 25A). De plus, les souris CBA présentaient aussi des pourcentages de cellules T CD4⁺IL-17⁺ au niveau de la rate (1.0 \pm 0.3%) ($P<0.0005$) et du granulome hépatique (8.1 \pm 0.2%) ($P=.044$) plus élevées par rapport aux souches C57BL/6 (0.2 \pm 0.05% et 1.7 \pm 0.9% respectivement pour la rate et le granulome hépatique) (Figure 25B, 25C). Concernant les cellules Th1, il n'y avait pas de différence significative entre les deux souches de souris dans la production d'IFN- γ , aussi bien au niveau du sang périphérique que la rate et le granulome hépatique. Cependant, les souris CBA avaient des taux de cellules Th2 plus élevés au niveau de la rate ($P<0.05$) (Figure 5A, B) mais pas au niveau du granulome hépatique (Figure 25C).

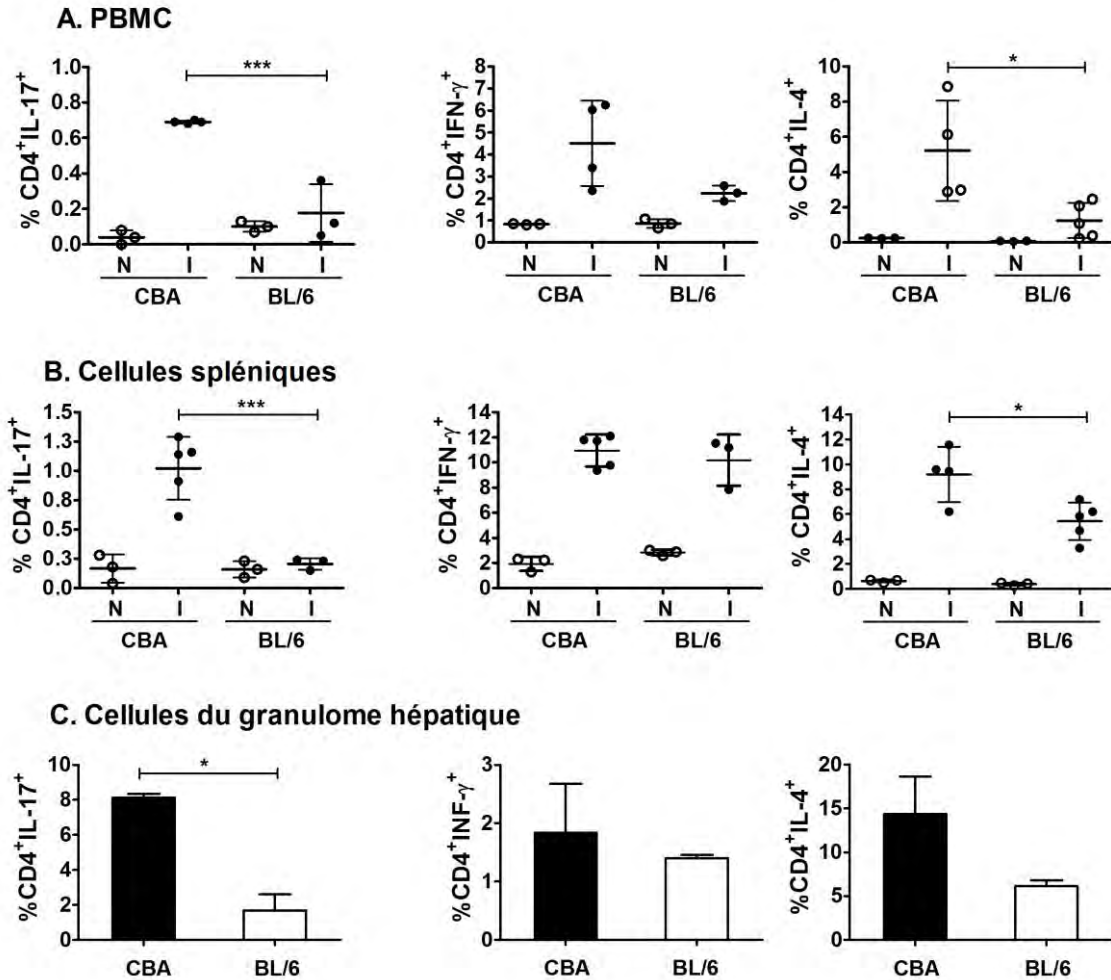


Figure 25 : Augmentation de la proportion des cellules Th17 au niveau du sang périphérique, de la rate du granulome hépatique des souris CBA. Les pourcentages des cellules T CD4⁺ productrices d'IL-17⁺, IFN-γ⁺ et IL-4⁺ au niveau (A) des PBMC, (B) des cellules de rate de souris CBA et BL/6 infectées par le *S. mansoni* sont illustrés. En (C) les pourcentages des cellules T CD4⁺ productrices d'IL-17⁺, IFNγ⁺ et IL-4⁺ au niveau des cellules du granulome hépatique sont illustrés. Pour les PBMC et les cellules spléniques, les données représentent trois expériences indépendantes. Les cellules du granulome représentent la moyenne à partir de deux groupes. Les données sont illustrées et moyenne ± SD. Les P-values ont été calculés par la méthode ANOVA one-way. Seules les valeurs de P illustrant une différence statistiquement significative sont indiquées au niveau des figures. *p<0.05, ***p<0.005. Abréviation: N: naïve, I: infection par *S. mansoni*, SD: Standard Déviation.

Enfin, l'expression de Foxp3 n'était pas statiquement différente entre les souris CBA et C57BL/6 au niveau périphérique (Figure 26A) ; il est cependant intéressant de noter les cellules T CD4⁺Foxp3⁺ T était plus faible chez les souris infectées comparées à celles non infectées. Au niveau splénique, les souris C57BL/6 présentaient des pourcentages de cellules T CD4⁺Foxp3⁺ significativement plus élevés (15.3±1.9%) comparées aux souches CBA (12.1±1.2%) ($P<0.005$) (Figure 26B). La même tendance a été observée au niveau du granulome hépatique bien que cette différence n'était pas statistiquement significative (Figure 26C).

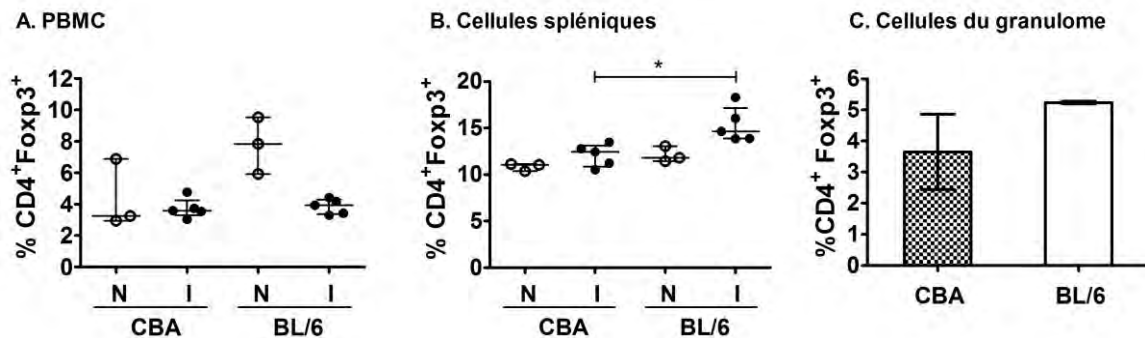


Figure 26 : Expression de Foxp3⁺ au niveau du sang périphérique, de la rate et du granulome hépatique de souris BL/6. Les Scatter plots du pourcentage de Foxp3⁺CD4⁺ au niveau (A) des PBMC et (B) des cellules de la rate de souris CBA et BL/6 infectées ou non infectées et le pourcentage de Foxp3⁺CD4⁺ par les cellules du granulome hépatique (C) de souris CBA et BL/6 infectées sont illustrés. Pour les PBMC et les cellules de la rate, les données sont représentatives de trois expériences indépendantes. Pour les cellules du granulome hépatique, les données constituent la moyenne de deux pools de granulomes. Les données sont illustrées et moyenne ± SD. Les P-values ont été calculés par la méthode ANOVA one-way. Seules les valeurs de P illustrant une différence statistiquement significative entre les souris CBA et BL/6 sont indiquées au niveau des figures. * $p<0.05$. Abréviation: N: naïve, I: infection par *S. mansoni*, SD: Standard Déviation.

6. Discussion

Nous nous sommes proposés dans ce travail d'évaluer le profil immunitaire de population rurale vivant en zone endémique aux schistosomes et d'étudier la réponse immunitaire induite par les antigènes de schistosomes au cours des schistosomiasis à *Schistosoma haematobium* et *S. manoni* en zone co-endémique mais les réponses cellulaires associées aux manifestations pathologiques. Les sous-populations de cellules T auxiliaires, les cytokines pro- et anti-inflammatoires ainsi que l'activation et les phénotypes mémoires des cellules T et B ont été déterminés chez des sujets sains vivant en zone rurale endémique aux schistosomes et en zone urbaine du Sénégal et des Pays-Bas. Chez les sujets infectés, l'expression des cytokines effectrices en réponse aux antigènes de schistosomes ainsi que l'association entre les cellules T auxiliaires et les atteintes tissulaires chez l'homme et chez la souris ont été déterminées. À la lumière de nos résultats, différents points de discussion ont été soulevés.

6.1. Spécificités « environnementales » du profil immunitaire

La survenue des infections et des signes de morbidité associés peuvent parfois être très variables car la réaction de l'hôte vis-à-vis des pathogènes peut grandement dépendre du milieu. En effet, les différents environnements résultant des changements de mode de vie ou de la fréquence des microorganismes ont un impact non négligeable sur le système immunitaire et peuvent par conséquent conditionner les mécanismes effecteurs vis-à-vis d'un des pathogènes. Nous avons déterminé le profil immunitaire de sujets adultes sains habitant en zones rurale et urbaine en Afrique (Sénégal) et en zone urbaine en Europe (les Pays Bas). Tous les individus vivant en zone rurale et 9 des 10 des sénégalais vivant en zone urbaine étaient d'ethnie Wolof ; l'individu restant de la population urbaine sénégalaise était sérère, communauté la plus proche des Wolof en termes de descendance [279]. Au niveau des différents groupes,

les profils immunologiques ont été déterminés sur les cellules *ex-vivo* et les cellules stimulées. Nos résultats ont montré une importante différence géographique du profil immunologique.

En effet, les fréquences des cellules Th1 ($CD4^+T\text{-bet}^+ T$ ou $CD4^+IFN-\gamma^+$) et Th2 ($CD4^+GATA-3^+ T$ ou $CD4^+IL-4^+$), mais aussi le profil pro-inflammatoire (niveaux élevée de $TNF-\alpha$, IL-17, du ratio $TNF-\alpha:IL-10$ et IL-17:IL-10) étaient plus importants chez les sénégalais d'origine rurale suivi de la population urbaine sénégalaise puis des européens. Ce gradient rural/urbain de la réponse pro-inflammatoire concorde avec une étude montrant que les populations habitant dans un environnement tropical hostile présentaient des réponses pro-inflammatoires plus importantes par rapport à ceux vivant en milieu tempéré [280]. Nos résultats sont aussi conformes avec ceux de Roetynck *et al.* qui ont montré que des communautés Kenyans vivant en zone rurale présentaient une plus grande proportion de cellules T auxiliaires effectrices (productrices de cytokines) comparées à des africains et européens résidant en zone urbaine [281]. Le fait que les sénégalais en zone urbaine montrent des réponses pro-inflammatoires plus faibles par rapport à la population rurale suggère que les changements du profil immunitaire pourrait être associés aux défenses de mode de vie et une exposition de moins en moins faible aux microorganismes. D'autres études ont en effet rapporté des changements du profil immunitaire de migrants africains vivant en Europe [282;283]. Plus récemment, Smolen *et al.* ont montré chez des enfants âgés de 2 ans que la production de cytokines et de chémokines en réponse à des ligands des récepteurs de l'immunité innée était plus faible chez des enfants sud-africains par rapport à des enfants nord et sud-américains [284]. Ces résultats sont différents des nôtres en terme de réponse immunitaire entre zones de haut et faible revenus ; cette différence pourrait être due à l'âge des sujets de la population d'étude qui était de 2 ans alors que nous avons travaillé avec sur adultes. En effet, il a été rapporté que la différence dans

la réponse immunitaire entre africains et européens était âge-dépendante [285]; de plus, les enfants sud-africains avaient tous été vaccinés contre la rougeole à l'âge de 18 mois, ce qui n'a pas été le cas dans les autres pays qui avaient des calendriers vaccinaux différents. Effet, la vaccination, à moyen ou à long terme, a un grand impact sur la réponse immunitaire globale [286].

Il est connu que les réponses Th2 et Th17 ainsi qu'une forte réponse pro-inflammatoire sont associées aux allergies et aux syndromes inflammatoires [250;251]. La question est alors pourquoi les maladies inflammatoires et auto-immunes restent relativement rares en zone rurale où nous avons trouvé des profils Th2, Th17 et pro-inflammatoire plus élevés. Ceci pourrait être expliqué par le fait que l'IL-10 est significativement corrélée à l'IFN- γ , l'IL-17 et l'IL-4 en zone rurale alors que ceci n'est pas le cas dans les populations urbaines du Sénégal et des Pays-Bas. Ceci indique que les niveaux élevés des cytokines Th2 et Th17 observés dans la population rurale sont accompagnés d'une augmentation de la production de cytokines régulatrice IL-10, confirmant ainsi une modulation des réponses immunitaires en zone rurale [287]. Il faut cependant noter que l'absence de corrélation significative dans les populations urbaines pourrait être due à leur plus faible production de cytokine par rapport à la population rurale. Les pourcentages des cellules IL-17⁺ CD4⁺ diminuent graduellement de la population rurale vers les populations urbaines du Sénégal puis des Pays Bas. Cependant, cette tendance n'a pas été observée avec l'expression de ROR- γ t. Cette différence entre le profil de ROR- γ t et IL-17 doit être étudiée de manière plus approfondie.

HLA-DR et les molécules de co-stimulation B7-2 sont constitutivement exprimées par les cellules présentatrices d'antigènes mais aussi par les cellules T activées [129;247;288] et les cellules B [135;136] à la suite d'exposition répétée aux microbes. A l'instar de la plupart des marqueurs cellulaires, l'expression de

HLA-DR et CD86 au niveau des cellules T et B était plus importante dans la population rurale sénégalaise suivi des sujets en zone urbaine du Sénégal puis des Pays-Bas, mettant en évidence une plus grande activation immunitaire des sujets vivant en zone rurale par rapport à ceux en milieu urbain. Ceci concorde avec l'étude de Kemp *et al.* comparant des ghanéens (habitant en zone de forte prévalence de *plasmodium*, *mycobacterium* et du virus d'Epstein-Barr) et des européens et qui a montré des fréquences plus élevées de cellules productrices de cytokines chez les ghanéens corrélées à une modulation de la réponse immunitaire [289]. Cependant à la lumière de la plus grande magnitude de la réponse effectrice que nous avons observé dans la population rurale, nos résultats ne sont pas conformes à l'idée que la persistance de l'activation immunitaire conduit à une répression de la réponse immunitaire [290;291]. Cependant, la plupart des études sur la modulation de la réponse immunitaire a été faite à suite de stimulation par un antigène spécifique et non en condition *ex-vivo* ou après stimulation avec un mitogène comme c'est le cas dans notre étude.

En plus du profil cytokinique et de l'activation immunitaire, nous avons aussi déterminé les cellules mémoires et avons trouvé que les sénégalais, particulièrement les sujets en zone rurale, présentaient des proportions plus importantes de cellules T CD4⁺ et B mémoires par rapport aux néerlandais. Ce plus grand niveau d'activation et d'expression des cellules mémoires dans la population rurale est conforme à l'hypothèse selon laquelle l'environnement aurait un impact sur le système immunitaire [282;292]. Nous avons aussi défini les cellules T CD4⁺ mémoires centrales (CD45RO⁺CD27⁺) et effectrices (CD45RO⁺CD27⁻) [293] et comme pour les cellules mémoires totales, l'expression des cellules mémoires centrales et effectrices était plus faible chez les européens comparés aux populations urbaine et rurale du Sénégal. Il a été montré que des populations hautement différenciées de cellules mémoires effectrices étaient fortement exprimées chez les individus présentant une hyper-

activation chronique du système immunitaire comme au cours d'infections virales persistantes [294] et des syndromes inflammatoires chroniques [295;296]. Ce qui pourrait expliquer l'activation immunitaire et la forte magnitude de la fonction mémoire en zone rurale où règne un environnement plus hostile.

A la lumière de ces différences dans le profil immunologique entre sénégalais et néerlandais d'une part, et d'autre part entre populations sénégalaises vivant en zone rurale et urbaine, nos résultats semblent suggérer que les différences géographiques pourraient définir notre « empreinte immunologique ». Cette idée a été confirmée par Idaghdour *et al.* qui ont montré chez des marocains appartenant au même tribut et vivant dans des zones géographiques différentes (zone urbaine, zone rurale montagneuse, et zone désertique) que plus 30% des transcriptomes des leucocytes étaient associés à une différence géographique [297]. La variation du profil immunitaire tribulaire d'une zone géographique spécifique pourrait avoir un impact, au moins partiellement, sur la pathogenèse et la distribution spéciale de certaines infections et de leur pathogenèse. Puisque l'efficacité vaccinale dépend de la réponse immunitaire, nos résultats et ceux d'autres études allant dans ce sens, suggèrent l'importance de tenir en compte les spécificités géographiques pour l'exploration de la réponse immunitaire en général et le développement de vaccin en particulier.

Bien que les différences géographiques puissent avoir un impact sur le système immunitaire, des investigations additionnelles tenant en compte des aspects nutritionnels, génétiques et des infections courantes pourrait aider à mieux comprendre les effets adverses associés aux variations du système immunitaire et à la susceptibilité des infections.

6.2. Réponse immunitaire au cours de la schistosomiase

Malgré les multiples investigations sur les déterminants de la réponse immunitaire au cours de la schistosomiase, à ce jour peu de choses sont connues sur les différences dans la réponse immunitaire entre les deux espèces car la plupart de ces études concerne une seule espèce de schistosome. Les différences ou interactions éventuelles dans les réponses immunitaires entre *S. mansoni* et *S. haematobium* chez l'homme pourraient être déterminantes dans la survenue et dans la morbidité de la schistosomiase en zone co-endémique.

En stimulant les cellules par des antigènes de schistosome chez des sujets infectés en zone co-endémique, nous avons trouvé que les antigènes de *S. haematobium* induisent une plus forte réponse cytokine que les antigènes de *S. mansoni*. Une tendance très similaire a été observée dans une étude au Ghana dans une population qui, contrairement à la nôtre, a été d'abord exposée à *S. haematobium* puis aux deux espèces *S. mansoni* et *S. haematobium*, avec cependant une plus faible prévalence de *S. mansoni* (données non publiées, Amoah et al). Ceci suggère que la différence d'immunogénicité entre les deux espèces ne semble pas dépendre du niveau de transmission ou de l'historique d'exposition. Cette hypothèse est conforme avec les observations de Van Remoortere et al. qui ont trouvé *S. mansoni* induire principalement une réponse humorale IgM susceptible d'inhiber les réponses protectrices de l'hôte [298] tandis que *S. haematobium* induisait des réponses IgM et IgG contre les épitopes de carbohydrate [299]. Ainsi, il serait possible que les faibles réponses cytokines préviennent la commutation de classe des IgM vers IgG pour ces épitopes au cours de l'infection par *S. mansoni* alors que les fortes réponses cytokines induisent une commutation de classe au cours de l'infection par *S. haematobium*. Alternativement, les différences de composition en glycane pourraient sous-tendre des différences inter-espèces dans l'immunogénicité en général et les réponses humores en particulier. Plusieurs études ont montré

une décroissance progressive de la courbe âge-infection de *S. haematobium* contrairement à celle de *S. mansoni*, indiquant que la réponse immunitaire protectrice contre *S. haematobium* pourrait se développer plus rapidement [259;260]. Secondairement, des niveaux élevés de morbidité spécifique de *S. haematobium*, par rapport à celle de *S. mansoni*, ont été observés en zone co-endémiques [261;263;264], suggérant que la réponse immunitaire induite par les antigènes d'œufs de *S. haematobium* pourrait être plus pathogénique. Il faut cependant noter que d'autres facteurs pourraient expliquer ces observations et que d'autres études s'avérèrent nécessaires pour une meilleure compréhension de ces mécanismes.

Cette étude nous a aussi permis de montrer que le nMDS pourrait être utilisée pour une analyse convenable des réponses multiples. Avec cette méthode, il a été possible d'analyser les réponses cytokines entre elles ou en relation avec d'autres facteurs comme l'infection ou son intensité. Le nMDS est une méthode non paramétrique, multivariée et visuel. C'est un outil robuste et puissant car permet d'éviter les problèmes liés aux multiples tests statistiques et à la violation de certaines assomptions [270]. De plus, le nMDS permet une interprétation plus simple des données complexes par rapport aux tests traditionnels. Nous avons montré qu'au moment où l'intensité de l'infection par les schistosomes augmente, les réponses cytokines diminuent et le phénotype Th2 devient prédominant. Ceci a été illustré par les niveaux relativement élevés de l'IL-5 (et IL-10) et faibles pour l'IFN- γ , de TNF- α et de l'IL-2. Les sujets présentant de faibles intensités de l'infection de même que les contrôles négatifs présentaient des réponses cytokines et un phénotype Th2 qui concordent avec la polarisation de la réponse Th2 caractéristique de la schistosomiase [258]. Le nMDS indique aussi que l'association entre le statut infectieux et le phénotype Th2 était plus prononcé pour AWA, tandis qu'entre l'infection et les réponses

cytokines (réduites), cette association était plus forte pour SEA. Ces observations concordent avec l'étude de Joseph et *al.* qui avait décrit, en utilisant des analyses plus conventionnelles, des différences immunologiques similaires dans une population vivant en zone endémique pour *S. mansoni* [300].

Nous avons démontré que l'augmentation de l'intensité de l'infection mixte était associée à une réponse Th2 et des profils de cytokine similaires. Ceci est probablement dû au fait que les sujets co-infectés présentent des intensités de l'infection plus fortes que ceux infectés par une seule espèce [260]. De même, des profils similaires étaient observés avec les intensités d'infection par *S. mansoni* et *S. haematobium*, que ce soit avec une stimulation homologue ou hétérologue. Ceci pourrait suggérer l'existence de réactivité croisée entre les deux espèces. Cependant pour les cytokines en réponse aux antigènes de *S. mansoni*, les profils cytokiniques ne montraient pas de différence significative entre la co-infection par les deux espèces de schistosome et l'infection par une seule espèce. Alors que les réponses cytokines induites par les antigènes de *S. haematobium* ne montraient pas de différence significative entre l'infection par *S. haematobium* et l'infection mixte, nous n'avons pas pu déterminer si ces différences étaient dues à l'infection mixte ou à la forte intensité de l'infection par *S. haematobium*. D'autres facteurs pourraient aussi être impliqués [260] et des investigations additionnelles doivent être menées afin de déterminer leur rôle dans la réponse cytokine. Pour plus de certitudes sur l'existence de réactivités croisées entre les deux principales espèces de schistosomes, il est important de comparer les réponses immunitaires entre des zones mono- et co-endémique en intégrant d'autres aspects tels que la réponse humorale ou la cytologie. A notre connaissance, une seule étude a rapporté une cross-réactivité fonctionnelle entre *S. mansoni* et *S. haematobium*. Cette étude datant de 1974 avait montré une activité létale *in vitro* des sérums de sujets infectés par une des espèces, sur les parasites du même espèce mais pas de l'autre espèce [301]. En

effet, *S. mansoni* et *S. haematobium* pourrait partager certains épitopes (s'il en existe) qui pourraient être impliqués dans l'immunité protectrice puisqu'ils appartiennent à deux groupes génétiques distincts. L'existence de cross-réactivité mérite d'être mieux étudiée car pourrait avoir d'importantes implications dans la compréhension de l'épidémiologie de la schistosomiase mais aussi dans le développement de vaccin contre les infections par les schistosomes.

6.3. Rôle des cellules T régulatrices et Th17 dans la pathologie au cours de la schistosomiase

Les helminthes sont caractérisés par une réponse immunitaire classique de type Th2 dont les fonctions effectrices sont souvent décrites dans la physiopathologie. Cependant, vu que les cellules Th2 peuvent elles-mêmes moduler l'inflammation chronique au cours de la schistosomiase et participer à la réparation des tissus, d'autres mécanismes seraient alors impliqués dans le développement de l'immunopathologie sévère. Chez la souris, le rôle crucial des cellules T auxiliaires CD4⁺ productrices d'IL-17 (Th17) a été décrit dans la pathogenèse de la schistosomiase tandis que les cellules T régulatrices moduleraient la pathologie. Nous avons montré que l'expression des cellules Th17 étaient significativement plus élevée chez les sujets infectés par *S. haematobium* et présentant des signes de morbidité comparés à ceux infectés avec ou sans pathologie. Cependant, contrairement à ce qui a été décrit chez le modèle animal, l'expression des cellules T régulatrices était similaire entre les différents groupes. De même, les souris CBA infectées avec des atteintes tissulaires sévères montraient au niveau périphérique des pourcentages de cellules T CD4⁺ productrices d'IL-17 plus élevés par rapport aux souris BL/6 de pathologie modérée. Ces proportions élevées de cellules Th17 se sont aussi retrouvées au niveau du granulome hépatique et de la rate des souris CBA. Ces

résultats sont en concordance avec de précédentes études qui avaient montré que des souris infectées par *S. mansoni* produisaient de fort taux d'IL-17 qui étaient corrélés à la pathologie et que la neutralisation *in vivo* de l'IL-17 entraînait une réduction significative des signes inflammatoires au niveau hépatique [222]. Chez l'homme, de fortes réponses Th17 ont été associées à des atteintes tissulaires au cours de l'athérosclérose [302], de la cirrhose hépatique [303], de la sclérose multiple [304] et du lupus érythémateux systémique [305]. Des études chez le model expérimental d'encéphalomyélite auto-immune [306] et d'arthrite induite par le collagène [307] ont montré le rôle crucial de l'IL-17 dans l'induction de la pathologie. Nos résultats suggèrent que le développement ou la progression des mécanismes inflammatoires au cours de la schistosomiase à *S. haematobium* pourrait être médié par les cellules Th17.

A côté des cellules Th17 impliquées dans la pathologie, les cellules T régulatrices pourraient jouer un rôle crucial dans la suppression de l'hyper-activation des cellules T [253] à travers l'IL-10 et/ou TGF- β [100]. Chez des souris infectées par les schistosomes, les cellules CD4⁺CD25⁺ ont été identifiées comme principale source l'IL-10 [308] ; et les souris infectées par *S. mansoni* et traitées par des anticorps monoclonaux anti-IL-10R et anti-TGF- β ont montré une plus grande mortalité accompagnée d'une augmentation de la production d'IL-17 [309]. Ceci montre que l'équilibre entre les cellules Treg et Th17 pourrait être crucial dans la survenue des formes pathologiques au cours de certaines maladies.

Alors qu'aucune différence statistiquement significative dans l'expression des cellules T régulatrices n'a été trouvée entre les différents groupes avec ou sans pathologie, une augmentation du ratio des cellules T CD4⁺IL-17⁺ sur T CD4⁺IL-10⁺ ainsi que celui des cellules T CD4⁺ROR γ t⁺ sur les cellules T CD4⁺FOXP3⁺ a été observée chez les patients présentant une pathologie

comparés à ceux sans pathologie. L'augmentation du ratio des cellules Th17 sur Treg chez les patients présentant une pathologie semble être principalement due à la forte expression des cellules Th17. Cependant, nous avons noté une tendance vers une diminution de l'expression des cellules T $CD4^+CD25^{high+}FOXP3^+$ chez les patients présentant une pathologie mais la différence n'était pas statistiquement significative. Au vu de la réduction des cellules Treg que nous avons observée au niveau du granulome chez la souris, force est de se demander si cette différence ne serait pas plus franche au niveau au niveau tissulaire. Bien que le développement des cellules Treg et Th17 soit mutuellement exclusive chez l'homme, l'expansion des cellules Th17 pourrait survenir sans rétraction de celle des cellules T régulatrices. Ceci pourrait expliquer le fait que l'augmentation des cellules Th17 observée ne s'est pas accompagnée d'une diminution de l'expression des cellules Treg.

Contrairement aux cellules Th17, l'expression des cellules Th1 et Th2 ne montrait pas de différence significative chez les sujets infectées par *S. haematobium* avec ou sans signe pathologique et de manière plus surprenante, entre ceux infectés et non infectés. Cependant, l'exposition antérieure des enfants aux schistosomes dans cette zone rurale endémique pourrait expliquer la quasi uniformité de la réponse Th2 observée même en l'absence d'infection courante [310].

Nous avons aussi trouvé une différence significative de la valeur absolue des granulocytes totaux et des polynucléaires éosinophiles. Cependant cette différence n'était pas significative pour neutrophiles malgré une tendance vers des valeurs plus enlevées chez les patients présentant des signes pathologiques. Selon de précédentes études qui avaient montré une relation entre le recrutement des neutrophiles et la réponse Th17 [311] et une infiltration de neutrophiles au niveau hépatique suite à la production d'IL-17 au cours de la schistosomiase

[309], nos résultats semblent suggérer que les neutrophiles périphériques ne sont pas corrélés aux neutrophiles recrutés au niveau des tissus lors du processus inflammatoire. Bien que nous n'ayons pas trouvé de travaux évaluant la relation entre les neutrophiles au niveau périphérique et tissulaire au cours des infections, une étude a montré qu'au niveau mucosal, les neutrophiles peuvent être détectés chez les patients neutroniques même quand ils ne sont pas présents au niveau du sang périphérique [312]. L'augmentation du nombre d'éosinophiles pourrait ainsi refléter une forte activation du système immunitaire chez les patients présentant une pathologie [313].

Un aspect qui mérite une considération particulière est comment le profile immunitaire trouvé au niveau du sang périphérique reflète celui des tissus cibles. Puisque que les taux élevés des cellules Th17 circulant pourraient refléter leur flux continu au niveau de la paroi vésicale, on pourrait directement en déduire que la réponse Th17 périphérique se reflète dans les tissus au niveau du site de l'inflammation. Le modèle animal utilisé conforte le fait que le profile immunologique au niveau périphérique est corrélé à la réponse au niveau tissulaire puisque seules les souris CBA de pathologie sévère présentaient une augmentation significative des cellules T CD4⁺IL-17⁺ périphériques, mais aussi au niveau de la rate et du granulome.

Une importante question est dans quelle mesure l'extrapolation de nos résultats de la souris à l'homme d'une part, et d'autre part de l'infection par *S. mansoni* à celle par *S. haematobium* est-elle appropriée. Les études les plus fréquentes concernent la recherche expérimentale utilisant la schistosomiase murine. Cependant, les infections induites de souris qui se font presque toujours avec un seul microorganisme par rapport à l'exposition à de multiples microorganismes chez l'homme, l'intensité de l'infection plus élevée chez la souris par rapport à l'homme et le début de l'infestation très souvent indéfini

chez l'homme par rapport à la souris où il est bien contrôlée constituent des limites à l'extrapolation de résultats du modèle animal à l'homme [314;315].

En somme, l'augmentation des cellules Th17 périphériques chez les sujets présentant des atteintes du tractus urinaire montre que les cellules Th17 jouent un rôle dans le développement de l'immunopathologie au cours de la schistosomiase. En utilisant le modèle animal, on a pu montrer que le profil pro-inflammatoire à travers les cellules Th17 observée au niveau périphérique se reflète aussi au niveau des tissus. Il serait ainsi important de procéder à des investigations additionnelles par des études fonctionnelles telles que la détermination des mécanismes de polarisation qui conditionnent la différenciation des cellules T auxiliaires, en l'occurrence Th17 et Treg, chez les sujets infectés avec ou sans pathologie.

7. Conclusions

L'infection par les schistosomes, qui concerne plus de 207 million de personne à travers le monde, constitue un réel problème de santé publique car pouvant être associée à des réactions immunopathologiques sévères avec parfois des atteintes tissulaires invalidantes. Au nord du Sénégal, *Schistosoma haematobium* et *S. mansoni* y sont co-endémiques depuis plus de deux décennies et certains foyers à l'est et au sud ne sont pas épargnés. Malgré de nombreuses études sur les déterminants de la réponse immunitaire au cours de la schistosomiase, peu de choses sont connues sur les différences dans la réponse immunitaire entre les deux espèces car la quasi-totalité des études concernent une seule espèce de schistosome. La réaction immunitaire de l'hôte peut cependant dépendre de facteurs environnementaux qui peuvent conditionner les mécanismes effecteurs. Des études expérimentales ont montré que le développement de la pathologie sévère était lié aux cellules Th17 alors que les cellules T régulatrices contrôlent les mécanismes inflammatoires. C'est ainsi que nous nous sommes proposés d'évaluer le profil immunologique de population rurale vivant en zone endémique aux schistosomes par rapport à des populations vivant en zone urbaine, d'étudier la réponse immunitaire aux antigènes de schistosomes en zone co-endémique et de déterminer comment les cellules T pro- et anti-inflammatoires sont associées aux manifestations pathologiques au cours de la schistosomiase.

Ainsi chez des sujets sains vivant en zone rurale et urbaine au Sénégal et en zone urbaine de pays développé (les Pays-Bas), nous avons évalué les différentes sous-populations de cellules T auxiliaires (Th1, Th2, Th17, Th22, Treg) à travers leur facteur de transcription et leur cytokine effectrice, mesuré les cytokines pro- et anti-inflammatoires et déterminé l'activation et les phénotypes mémoires des cellules T et B. Pour étudier la réponse immunitaire contre les schistosomes en zone endémique et identifier de possibles interactions

entre les deux espèces, l'expression des cytokines IL-10, IL-5, IFN- γ , TNF- α et IL-2 en réponse aux antigènes d'œuf et de ver adulte de *Schistosoma haematobium* et *S. mansoni* a été déterminée. Les mécanismes impliqués dans l'immunopathologie de la schistosomiase ont aussi été étudiés chez l'homme et chez la souris à travers les différentes sous-populations de cellules T auxiliaires (Th1, Th2, Th17, Th22, Treg) caractérisées par leur facteur de transcription et leur cytokine effectrice afin d'identifier celles en relation avec les atteintes tissulaires.

Au vu de nos résultats, les déterminants environnementaux se sont avérés importants dans la réponse immunitaire car les sujets vivant en zone rurale endémique aux schistosomes présentaient des réponses T effectrices et mémoires plus importantes, ainsi qu'une plus grande magnitude du profil inflammatoire et de l'activation immunitaire. L'étude de la réponse immunitaire chez les sujets en zone endémique a montré que l'infection par *Schistosoma haematobium* s'accompagne de réponse immunitaire plus forte, suggérant une meilleure immunogénicité des antigènes de *Schistosoma haematobium* par rapport à ceux de *S. mansoni* et dont résulte probablement la persistance moins longue avec l'âge des signes de morbidité associée à la schistosomiase à *S. haematobium*; les sujets infectés par *S. haematobium* avec des atteintes du tractus urinaire présentaient des taux de cellules Th17 au niveau périphérique plus élevés par rapport aux sujets sans signe de morbidité ; et ce profil inflammatoire semble aussi se refléter au niveau tissulaire car les cellules Th17 étaient plus élevées au niveau du sang périphérique, de la rate et du granulome hépatique des souches CBA (phénotype pathologie sévère) par rapport aux souris C57BL/6 (phénotypes pathologie modérée).

La différence d'immunogénicité entre les antigènes de *S. haematobium* et de *S. mansoni* que nous avons observée pourrait être déterminante dans la

survenue et/ou la persistance des infections aux schistosomes en zone co-endémique. Cette étude montre aussi pour la première fois que les cellules Th17 sont impliquées dans les manifestations immunopathologiques induites au cours de la schistosomiase. La compréhension ces mécanismes impliqués dans la réponse immunitaire et le contrôle ou l'exacerbation de l'immunopathologie de la schistosomiase pourrait avoir d'importantes implications dans les stratégies d'intervention, pas seulement pour la schistosomiase, mais aussi pour d'autres maladies. L'étude de la réponse immunitaire contre les pathogènes devrait cependant tenir en compte les spécificités environnementales qui pourraient avoir des conséquences dans la survenue et la réponse immunitaire contre certaines pathologies en général et dans la réponse vaccinale en particulier.

8. Perspectives

Pour mieux comprendre les effets adverses (ou bénéfiques) associés aux variations du système immunitaire dont pourraient résulter la susceptibilité à certaines infections et à l'immunopathologie associée, des investigations additionnelles tenant compte des aspects nutritionnels et diététiques, des différences génétiques entre les populations et des microorganismes présents dans le milieu seraient importantes. La comparaison du profil immunitaire entre les populations devrait aussi être inclure certains aspects de l'immunité humorale et de l'immunité innée mais aussi l'investigation des transcriptomes leucocytaires dont les variations semblent être liées aux conditions environnementales.

En plus de la différence que nous avons observée dans l'immunogénicité entre les antigènes de *Schistosoma haematobium* et de *S. mansoni*, nos résultats suggèrent aussi une réaction croisée entre les deux espèces de schistosome. Pour mieux comprendre cette possible interaction qui serait déterminante dans la co-évolution des espèces chez le l'hôte, il est serait important de comparer les réponses immunitaires entre des zones mono- et co-endémique en incluant l'aspect humoral.

Il est apparu à la suite de nos résultats que les cellules Th17 jouent un rôle important dans la survenue des manifestations pathologiques au cours de la schistosomiase. Des tests de polarisation et d'exploration des voies de signalisation, en permettraient de comprendre les conditions de différenciation des cellules impliquées dans la pathogenèse afin d'identifier d'éventuels facteurs pouvant contrôler les réponses pro- et anti-inflammatoires des cellules T auxiliaires.

9. Références bibliographiques

- (1) OMS. Schistosomose : nombre de personnes traitées en 2011. REH, 2013 ; 88:81-88.
- (2) Talla I, Kongs A, Verle P, Belot J, Sarr S, Coll AM. Outbreak of intestinal schistosomiasis in the Senegal River Basin. Ann Soc Belg Med Trop 1990 Sep;70(3):173-80.
- (3) Verle P, Stelma F, Desreumaux P, et al. Preliminary study of urinary schistosomiasis in a village in the delta of the Senegal river basin, Senegal. Trans R Soc Trop Med Hyg 1994 Jul;88(4):401-5.
- (4) Vercruysse J, Southgate VR, Rollinson D, et al. Studies on transmission and schistosome interactions in Senegal, Mali and Zambia. Trop Geogr Med 1994;46(4 Spec No):220-6.
- (5) Sow S, de Vlas SJ, Engels D, Gryseels B. Water-related disease patterns before and after the construction of the Diama dam in northern Senegal. Ann Trop Med Parasitol 2002 Sep;96(6):575-86.
- (6) Picquet M, Ernould JC, Vercruysse J, et al. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene meeting at Manson House, London, 18 May 1995. The epidemiology of human schistosomiasis in the Senegal river basin. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996 Jul;90(4):340-6.
- (7) Steinmann P, Keiser J, Bos R, Tanner M, Utzinger J. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. Lancet Infect Dis 2006 Jul;6(7):411-25.
- (8) Jia TW, Zhou XN, Wang XH, Utzinger J, Steinmann P, Wu XH. Assessment of the age-specific disability weight of chronic schistosomiasis japonica. Bull World Health Organ 2007 Jun;85(6):458-65.
- (9) Finkelstein JL, Schleinitz MD, Carabin H, McGarvey ST. Decision-model estimation of the age-specific disability weight for schistosomiasis japonica: a systematic review of the literature. PLoS Negl Trop Dis 2008;2(3):e158.
- (10) Gryseels B, Polman K, Clerinx J, Kestens L. Human schistosomiasis. Lancet 2006 Sep 23;368(9541):1106-18.
- (11) Ross AG, Bartley PB, Sleight AC, et al. Schistosomiasis. N Engl J Med 2002 Apr 18;346(16):1212-20.
- (12) Hayashi M. Clinical features of cerebral schistosomiasis, especially in cerebral and hepatosplenomegaly type. Parasitol Int 2003 Dec;52(4):375-83.
- (13) King CH. Lifting the burden of schistosomiasis--defining elements of infection-associated disease and the benefits of antiparasite treatment. J Infect Dis 2007 Sep 1;196(5):653-5.

- (14) Blandizzi C, Doda M, Tarkovacs G, Del TM, Vizi ES. Functional evidence that acetylcholine release from Auerbach's plexus of guinea-pig ileum is modulated by alpha 2A-adrenoceptor subtype. *Eur J Pharmacol* 1991 Dec 3;205(3):311-3.
- (15) Budke CM, Jiamin Q, Qian W, Torgerson PR. Economic effects of echinococcosis in a disease-endemic region of the Tibetan Plateau. *Am J Trop Med Hyg* 2005 Jul;73(1):2-10.
- (16) Gryseels B, Polman K, Clerinx J, Kestens L. Human schistosomiasis. *Lancet* 2006 Sep 23;368(9541):1106-18.
- (17) Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R, Wynn TA. Immunopathology of schistosomiasis. *Immunol Cell Biol* 2007 Feb;85(2):148-54.
- (18) Pearce EJ, MacDonald AS. The immunobiology of schistosomiasis. *Nat Rev Immunol* 2002 Jul;2(7):499-511.
- (19) Wynn TA, Thompson RW, Cheever AW, Mentink-Kane MM. Immunopathogenesis of schistosomiasis. *Immunol Rev* 2004 Oct;201:156-67.
- (20) Allen JE, Wynn TA. Evolution of Th2 immunity: a rapid repair response to tissue destructive pathogens. *PLoS Pathog* 2011 May;7(5):e1002003.
- (21) Rutitzky LI, Bazzone L, Shainheit MG, Joyce-Shaikh B, Cua DJ, Stadecker MJ. IL-23 is required for the development of severe egg-induced immunopathology in schistosomiasis and for lesional expression of IL-17. *J Immunol* 2008 Feb 15;180(4):2486-95.
- (22) Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003 Mar;3(3):253-7.
- (23) Elliott DE, Summers RW, Weinstock JV. Helminths and the modulation of mucosal inflammation. *Curr Opin Gastroenterol* 2005 Jan;21(1):51-8.
- (24) Faust EC, Russell PF, and Jung RC. 1970. Craig and Faust's clinical parasitology. 8th edition. Philadelphia, Lea & Febiger. p. 251
- (25) Hotez P, Ottesen E, Fenwick A, Molyneux D. The neglected tropical diseases: the ancient afflictions of stigma and poverty and the prospects for their control and elimination. *Adv Exp Med Biol* 2006;582:23-33.
- (26) Cox FE. History of human parasitology. *Clin Microbiol Rev* 2002 Oct;15(4):595-612.
- (27) Kernan FAJ. 1959 April. The blood fluke that saved Formosa. *Harper's Magazine*.
- (28) Farley J. 1991. *Bilharzia, a history of imperial tropical medicine*. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom. 359 pp.

- (29) Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R, Wynn TA. Immunopathology of schistosomiasis. *Immunol Cell Biol* 2007 Feb;85(2):148-54.
- (30) Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest* 2008 Apr;118(4):1311-21.
- (31) Stoll NR. This wormy world. 1947. *J Parasitol* 1999 Jun;85(3):392-6.
- (32) Steinmann P, Keiser J, Bos R, Tanner M, Utzinger J. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infect Dis* 2006 Jul;6(7):411-25.
- (33) Dunn PM, Gardiner HM. Screening for congenital dislocation of the hip. *Lancet* 1991 May 4;337(8749):1096-7.
- (34) Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, Ottesen E, Ehrlich SS, Sachs JD. Incorporating a rapid-impact package for neglected tropical diseases with programs for HIV/AIDS, tuberculosis, and malaria. *PLoS Med* 2006 Jan;3(5):e102.
- (35) OMS. Schistosomose : nombre de personnes traitées en 2011. *REH*, 2013 ; 88:81-88.
- (36) Wang W, Hong QB, Liang YS. [Discovery and biology of *Schistosoma haematobium*]. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi* 2014 Apr;26(2):215-8.
- (37) Jenkins-Holick DS, Kaul TL. Schistosomiasis. *Urol Nurs* 2013 Jul;33(4):163-70.
- (38) Bethony J, Brooker S, Albonico M, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet* 2006 May 6;367(9521):1521-32.
- (39) Li YS, McManus DP, Lin DD, et al. The *Schistosoma japonicum* self-cure phenomenon in water buffaloes: potential impact on the control and elimination of schistosomiasis in China. *Int J Parasitol* 2014 Mar;44(3-4):167-71.
- (40) Campa P, Develoux M, Belkadi G, et al. Chronic *Schistosoma mekongi* in a Traveler-A Case Report and Review of the Literature. *J Travel Med* 2014 Sep;21(5):361-3.
- (41) Colley DG, Bustinduy AL, Secor WE, King CH. Human schistosomiasis. *Lancet* 2014 Jun 28;383(9936):2253-64.
- (42) Sobhon P, Upatham ES. Snail hosts, life-cycle, and tegumental structure of oriental schistosomes. 1990 pp. viii + 321 pp.
- (43) Collins JJ, III, King RS, Cogswell A, Williams DL, Newmark PA. An atlas for *Schistosoma mansoni* organs and life-cycle stages using cell type-specific markers and confocal microscopy. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5(3):e1009.

- (44) Quack T, Beckmann S, Grevelding CG. Schistosomiasis and the molecular biology of the male-female interaction of *S. mansoni*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2006 Sep;119(9-10):365-72.
- (45) Centers for Disease Control and Prevention. 800-CDC-INFO (800-232-4636) TTY: (888) 232-6348
- (46) Ottesen EA. Lymphatic filariasis: Treatment, control and elimination. *Adv Parasitol* 2006;61:395-441.
- (47) Bethony J, Brooker S, Albonico M, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet* 2006 May 6;367(9521):1521-32.
- (48) WHO Media Centre. Schistosomiasis.Fact sheet N°115; Feb 2014.
- (49) Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest* 2008 Apr;118(4):1311-21.
- (50) Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, et al. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med* 2007 Sep 6;357(10):1018-27.
- (51) Perera M, Whitehead M, Molyneux D, Weerasooriya M, Gunatilleke G. Neglected patients with a neglected disease? A qualitative study of lymphatic filariasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2007;1(2):e128.
- (52) Hotez PJ, Ferris MT. The antipoverty vaccines. *Vaccine* 2006 Jul 26;24(31-32):5787-99.
- (53) Druilhe P, Tall A, Sokhna C. Worms can worsen malaria: towards a new means to roll back malaria? *Trends Parasitol* 2005 Aug;21(8):359-62.
- (54) OMS,
http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Schistosomiasis_2012.png
- (55) Atlas de la répartition des Schistosomiasés, OMS, 1987.
- (56) Rapport étude d'évaluation de la schistosomiase urinaire en Mauritanie, 2003 INRSP.
- (57) Urbani C, Toure A, Hamed AO, et al. [Intestinal parasitic infections and schistosomiasis in the valley of the Senegal river in the Islamic Republic of Mauritania]. *Med Trop (Mars)* 1997;57(2):157-60.
- (58) Meurs L, Mbow M, Vereecken K, Menten J, Mboup S, Polman K. Epidemiology of mixed *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infections in northern Senegal. *Int J Parasitol* 2012;42(3):305-11.
- (59) Brooker S, Akhwale W, Pullan R, et al. Epidemiology of plasmodium-helminth co-infection in Africa: populations at risk, potential impact on anemia, and prospects for combining control. *Am J Trop Med Hyg* 2007 Dec;77(6 Suppl):88-98.

- (60) Borkow G, Bentwich Z. HIV and helminth co-infection: is deworming necessary? *Parasite Immunol* 2006 Nov;28(11):605-12.
- (61) Ciclitira PJ, Ellis HJ. Determination of the gluten content of foods. *Panminerva Med* 1991 Apr;33(2):75-82.
- (62) Elliott DE, Summers RW, Weinstock JV. Helminths and the modulation of mucosal inflammation. *Curr Opin Gastroenterol* 2005 Jan;21(1):51-8.
- (63) King CH, Dangerfield-Cha M. The unacknowledged impact of chronic schistosomiasis. *Chronic Illn* 2008 Mar;4(1):65-79.
- (64) Chan MS, Guyatt HL, Bundy DA, Medley GF. Dynamic models of schistosomiasis morbidity. *Am J Trop Med Hyg* 1996 Jul;55(1):52-62.
- (65) Woolhouse ME, Taylor P, Matanhire D, Chandiwana SK. Acquired immunity and epidemiology of *Schistosoma haematobium*. *Nature* 1991 Jun 27;351(6329):757-9.
- (66) Crompton DW, Nesheim MC. Nutritional impact of intestinal helminthiasis during the human life cycle. *Annu Rev Nutr* 2002;22:35-59.
- (67) Caldas IR, Campi-Azevedo AC, Oliveira LF, Silveira AM, Oliveira RC, Gazzinelli G. Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. *Acta Trop* 2008 Nov;108(2-3):109-17.
- (68) Ross AG, Sleight AC, Li Y, et al. Schistosomiasis in the People's Republic of China: prospects and challenges for the 21st century. *Clin Microbiol Rev* 2001 Apr;14(2):270-95.
- (69) Kamal SM, El Sayed KK. Immune modulation by helminthic infections: worms and viral infections. *Parasite Immunol* 2006 Oct;28(10):483-96.
- (70) Vennervald BJ, Dunne DW. Morbidity in schistosomiasis: an update. *Curr Opin Infect Dis* 2004 Oct;17(5):439-47.
- (71) Friedman JF, Kanzaria HK, McGarvey ST. Human schistosomiasis and anemia: the relationship and potential mechanisms. *Trends Parasitol* 2005 Aug;21(8):386-92.
- (72) de Jesus AR, Magalhaes A, Miranda DG, et al. Association of type 2 cytokines with hepatic fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection. *Infect Immun* 2004 Jun;72(6):3391-7.
- (73) Rodrigues V, Jr., Piper K, Couissinier-Paris P, Bacelar O, Dessein H, Dessein AJ. Genetic control of schistosome infections by the SM1 locus of the 5q31-q33 region is linked to differentiation of type 2 helper T lymphocytes. *Infect Immun* 1999 Sep;67(9):4689-92.
- (74) Dessein AJ, Hillaire D, Elwali NE, et al. Severe hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infection is controlled by a major locus that is closely linked to the interferon-gamma receptor gene. *Am J Hum Genet* 1999 Sep;65(3):709-21.

- (75) Muller-Myhsok B, Stelma FF, Guisse-Sow F, et al. Further evidence suggesting the presence of a locus, on human chromosome 5q31-q33, influencing the intensity of infection with *Schistosoma mansoni*. *Am J Hum Genet* 1997 Aug;61(2):452-4.
- (76) Rutitzky LI, Hernandez HJ, Yim YS, et al. Enhanced egg-induced immunopathology correlates with high IFN-gamma in murine schistosomiasis: identification of two epistatic genetic intervals. *J Immunol* 2005 Jan 1;174(1):435-40.
- (77) Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-73.
- (78) Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008 Apr;28(4):454-67.
- (79) Song X, Gao H, Qian Y. Th17 Differentiation and Their Pro-inflammation Function. *Adv Exp Med Biol* 2014;841:99-151.
- (80) Nistala K, Wedderburn LR. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro- and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2009 Jun;48(6):602-6.
- (81) Piccioni M, Chen Z, Tsun A, Li B. Regulatory T-cell differentiation and their function in immune regulation. *Adv Exp Med Biol* 2014;841:67-97.
- (82) Zhang Y, Zhang Y, Gu W, He L, Sun B. Th1/Th2 Cell's Function in Immune System. *Adv Exp Med Biol* 2014;841:45-65.
- (83) Sellge G, Barkowsky M, Kramer S, et al. Interferon-gamma regulates growth and controls Fcgamma receptor expression and activation in human intestinal mast cells. *BMC Immunol* 2014;15:27.
- (84) Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996 Oct 31;383(6603):787-93.
- (85) Pesce J, Kaviratne M, Ramalingam TR, et al. The IL-21 receptor augments Th2 effector function and alternative macrophage activation. *J Clin Invest* 2006 Jul;116(7):2044-55.
- (86) Fallon PG, Ballantyne SJ, Mangan NE, et al. Identification of an interleukin (IL)-25-dependent cell population that provides IL-4, IL-5, and IL-13 at the onset of helminth expulsion. *J Exp Med* 2006 Apr 17;203(4):1105-16.
- (87) Kudo M, Ishigatsubo Y, Aoki I. Pathology of asthma. *Front Microbiol* 2013;4:263.
- (88) Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med* 2012 May;18(5):693-704.
- (89) Zhang Y, Zhang Y, Gu W, He L, Sun B. Th1/Th2 Cell's Function in Immune System. *Adv Exp Med Biol* 2014;841:45-65.
- (90) Zhang Y, Zhang Y, Gu W, Sun B. TH1/TH2 cell differentiation and molecular signals. *Adv Exp Med Biol* 2014;841:15-44.

- (91) Luger D, Silver PB, Tang J, et al. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category. *J Exp Med* 2008 Apr 14;205(4):799-810.
- (92) Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med* 2007 Feb;13(2):139-45.
- (93) Winkler I, Gogacz M, Rechberger T. [Do Th17 cells play an important role in the pathogenesis and prognosis of ovarian cancer?]. *Ginekol Pol* 2012 Apr;83(4):295-300.
- (94) Araujo-Pires AC, Francisconi CF, Bigueti CC, et al. Simultaneous analysis of T helper subsets (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, Tr1 and Tregs) markers expression in periapical lesions reveals multiple cytokine clusters accountable for lesions activity and inactivity status. *J Appl Oral Sci* 2014 Jul;22(4):336-46.
- (95) Griffin GK, Newton G, Tarrio ML, et al. IL-17 and TNF-alpha sustain neutrophil recruitment during inflammation through synergistic effects on endothelial activation. *J Immunol* 2012 Jun 15;188(12):6287-99.
- (96) Ghannam S, Dejou C, Pedretti N, et al. CCL20 and beta-defensin-2 induce arrest of human Th17 cells on inflamed endothelium in vitro under flow conditions. *J Immunol* 2011 Feb 1;186(3):1411-20.
- (97) Curtis MM, Way SS. Interleukin-17 in host defence against bacterial, mycobacterial and fungal pathogens. *Immunology* 2009 Feb;126(2):177-85.
- (98) Yang J, Sundrud MS, Skepner J, Yamagata T. Targeting Th17 cells in autoimmune diseases. *Trends Pharmacol Sci* 2014 Oct;35(10):493-500.
- (99) Dubin PJ, Kolls JK. Th17 cytokines and mucosal immunity. *Immunol Rev* 2008 Dec;226:160-71.
- (100) Lin MT, Storer B, Martin PJ, et al. Genetic variation in the IL-10 pathway modulates severity of acute graft-versus-host disease following hematopoietic cell transplantation: synergism between IL-10 genotype of patient and IL-10 receptor beta genotype of donor. *Blood* 2005 Dec 1;106(12):3995-4001.
- (101) Steinbrink K, Graulich E, Kubsch S, Knop J, Enk AH. CD4(+) and CD8(+) anergic T cells induced by interleukin-10-treated human dendritic cells display antigen-specific suppressor activity. *Blood* 2002 Apr 1;99(7):2468-76.
- (102) Groux H, O'Garra A, Bigler M, et al. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997 Oct 16;389(6652):737-42.
- (103) Shevach EM. From vanilla to 28 flavors: multiple varieties of T regulatory cells. *Immunity* 2006 Aug;25(2):195-201.
- (104) Fontenot JD, Dooley JL, Farr AG, Rudensky AY. Developmental regulation of Foxp3 expression during ontogeny. *J Exp Med* 2005 Oct 3;202(7):901-6.

- (105) Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006 May 11;441(7090):235-8.
- (106) Andersson J, Tran DQ, Pesu M, et al. CD4⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells confer infectious tolerance in a TGF-beta-dependent manner. *J Exp Med* 2008 Sep 1;205(9):1975-81.
- (107) Tran DQ, Ramsey H, Shevach EM. Induction of FOXP3 expression in naive human CD4⁺FOXP3⁺ T cells by T-cell receptor stimulation is transforming growth factor-beta dependent but does not confer a regulatory phenotype. *Blood* 2007 Oct 15;110(8):2983-90.
- (108) Grossman WJ, Verbsky JW, Barchet W, Colonna M, Atkinson JP, Ley TJ. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity* 2004 Oct;21(4):589-601.
- (109) Sun B, Zhang Y. Overview of Orchestration of CD4⁺ T Cell Subsets in Immune Responses. *Adv Exp Med Biol* 2014;841:1-13.
- (110) Brand S, Beigel F, Olszak T, et al. IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006 Apr;290(4):G827-G838.
- (111) Geboes L, Dumoutier L, Kelchtermans H, et al. Proinflammatory role of the Th17 cytokine interleukin-22 in collagen-induced arthritis in C57BL/6 mice. *Arthritis Rheum* 2009 Feb;60(2):390-5.
- (112) Ma HL, Liang S, Li J, et al. IL-22 is required for Th17 cell-mediated pathology in a mouse model of psoriasis-like skin inflammation. *J Clin Invest* 2008 Feb;118(2):597-607.
- (113) Zhao P, Xiao X, Ghobrial RM, Li XC. IL-9 and Th9 cells: progress and challenges. *Int Immunol* 2013 Oct;25(10):547-51.
- (114) Schmitt E, Klein M, Bopp T. Th9 cells, new players in adaptive immunity. *Trends Immunol* 2014 Feb;35(2):61-8.
- (115) Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3⁺ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9⁺ IL-10⁺ Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol* 2008 Dec;9(12):1347-55.
- (116) Veldhoen M, Uyttenhove C, van SJ, et al. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol* 2008 Dec;9(12):1341-6.
- (117) Kerzerho J, Maazi H, Speak AO, et al. Programmed cell death ligand 2 regulates TH9 differentiation and induction of chronic airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 2013 Apr;131(4):1048-57, 1057.
- (118) Purwar R, Schlapbach C, Xiao S, et al. Robust tumor immunity to melanoma mediated by interleukin-9-producing T cells. *Nat Med* 2012 Aug;18(8):1248-53.

- (119) Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgammat function. *Nature* 2008 May 8;453(7192):236-40.
- (120) Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* 2007 Sep;8(9):942-9.
- (121) Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, et al. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF-beta signalling. *Nature* 2010 Oct 21;467(7318):967-71.
- (122) Carbo A, Hontecillas R, Andrew T, Eden K, Mei Y, Hoops S, Bassaganya-Riera J. Computational modeling of heterogeneity and function of CD4+ T cells. *Front. Cell Dev Biol* 2014; doi: 10.3389.
- (123) Herrick CA, Bottomly K. To respond or not to respond: T cells in allergic asthma. *Nat Rev Immunol* 2003 May;3(5):405-12.
- (124) Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Nat Rev Immunol* 2002 Apr;2(4):251-62.
- (125) Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, Fox DA. Th17 cells in human disease. *Immunol Rev* 2008 Jun;223:87-113.
- (126) Janssen EM, Lemmens EE, Wolfe T, Christen U, von Herrath MG, Schoenberger SP. CD4+ T cells are required for secondary expansion and memory in CD8+ T lymphocytes. *Nature* 2003 Feb 20;421(6925):852-6.
- (127) Bruckner GK, Vosloo W, Du Plessis BJ, et al. Foot and mouth disease: the experience of South Africa. *Rev Sci Tech* 2002 Dec;21(3):751-64.
- (128) Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat Immunol* 2009 Aug;10(8):864-71.
- (129) Azuma M, Yssel H, Phillips JH, Spits H, Lanier LL. Functional expression of B7/BB1 on activated T lymphocytes. *J Exp Med* 1993 Mar 1;177(3):845-50.
- (130) Roed H, Frederiksen J, Langkilde A, Sorensen TL, Lauritzen M, Sellebjerg F. Systemic T-cell activation in acute clinically isolated optic neuritis. *J Neuroimmunol* 2005 May;162(1-2):165-72.
- (131) Cheron A, Monneret G, Landelle C, Floccard B, Allaouchiche B. [Low monocytic HLA-DR expression and risk of secondary infection]. *Ann Fr Anesth Reanim* 2010 May;29(5):368-76.
- (132) van den Berk JM, Oldenburger RH, van den Berg AP, et al. Low HLA-DR expression on monocytes as a prognostic marker for bacterial sepsis after liver transplantation. *Transplantation* 1997 Jun 27;63(12):1846-8.

- (133) Satoh A, Miura T, Satoh K, et al. Human leukocyte antigen-DR expression on peripheral monocytes as a predictive marker of sepsis during acute pancreatitis. *Pancreas* 2002 Oct;25(3):245-50.
- (134) Jeannin P, Herbault N, Delneste Y, et al. Human effector memory T cells express CD86: a functional role in naive T cell priming. *J Immunol* 1999 Feb 15;162(4):2044-8.
- (135) Mongini PK, Tolani S, Fattah RJ, Inman JK. Antigen receptor triggered upregulation of CD86 and CD80 in human B cells: augmenting role of the CD21/CD19 co-stimulatory complex and IL-4. *Cell Immunol* 2002 Mar;216(1-2):50-64.
- (136) Good KL, Avery DT, Tangye SG. Resting human memory B cells are intrinsically programmed for enhanced survival and responsiveness to diverse stimuli compared to naive B cells. *J Immunol* 2009 Jan 15;182(2):890-901.
- (137) Watts TH. TNF/TNFR family members in costimulation of T cell responses. *Annu Rev Immunol* 2005;23:23-68.
- (138) Hintzen RQ, de JR, Lens SM, Brouwer M, Baars P, van Lier RA. Regulation of CD27 expression on subsets of mature T-lymphocytes. *J Immunol* 1993 Sep 1;151(5):2426-35.
- (139) Di MD, Azevedo RI, Henson SM, et al. Reversible senescence in human CD4+CD45RA+. *J Immunol* 2011 Sep 1;187(5):2093-100.
- (140) Agematsu K, Nagumo H, Yang FC, et al. B cell subpopulations separated by CD27 and crucial collaboration of CD27+ B cells and helper T cells in immunoglobulin production. *Eur J Immunol* 1997 Aug;27(8):2073-9.
- (141) Nagumo H, Agematsu K. Synergistic augmentative effect of interleukin-10 and CD27/CD70 interactions on B-cell immunoglobulin synthesis. *Immunology* 1998 Jul;94(3):388-94.
- (142) Appay V, van Lier RA, Sallusto F, Roederer M. Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues. *Cytometry A* 2008 Nov;73(11):975-83.
- (143) Sprent J, Surh CD. T cell memory. *Annu Rev Immunol* 2002;20:551-79.
- (144) Zinkernagel RM, Hengartner H. Regulation of the immune response by antigen. *Science* 2001 Jul 13;293(5528):251-3.
- (145) Harari A, Vallelian F, Meylan PR, Pantaleo G. Functional heterogeneity of memory CD4 T cell responses in different conditions of antigen exposure and persistence. *J Immunol* 2005 Jan 15;174(2):1037-45.
- (146) Seder RA, Darrah PA, Roederer M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat Rev Immunol* 2008 Apr;8(4):247-58.
- (147) Pantaleo G, Harari A. Functional signatures in antiviral T-cell immunity for monitoring virus-associated diseases. *Nat Rev Immunol* 2006 May;6(5):417-23.

- (148) Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 2002 Sep 19;347(12):911-20.
- (149) Cooper PJ. Intestinal worms and human allergy. *Parasite Immunol* 2004 Nov;26(11-12):455-67.
- (150) Nicolaou N, Siddique N, Custovic A. Allergic disease in urban and rural populations: increasing prevalence with increasing urbanization. *Allergy* 2005 Nov;60(11):1357-60.
- (151) Blumenthal MN. The role of genetics in the development of asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005 Apr;5(2):141-5.
- (152) Bussmann C, Weidinger S, Novak N. Genetics of atopic dermatitis. *J Dtsch Dermatol Ges* 2011 Sep;9(9):670-6.
- (153) Ober C, Hoffjan S. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immun* 2006 Mar;7(2):95-100.
- (154) Borchers AT, Keen CL, Gershwin ME. Hope for the hygiene hypothesis: when the dirt hits the fan. *J Asthma* 2005 May;42(4):225-47.
- (155) Renz H, Blumer N, Virna S, Sel S, Garn H. The immunological basis of the hygiene hypothesis. *Chem Immunol Allergy* 2006;91:30-48.
- (156) Gryseels B, Polman K, Clerinx J, Kestens L. Human schistosomiasis. *Lancet* 2006 Sep 23;368(9541):1106-18.
- (157) Ross AG, Bartley PB, Sleight AC, et al. Schistosomiasis. *N Engl J Med* 2002 Apr 18;346(16):1212-20.
- (158) Kane CM, Cervi L, Sun J, et al. Helminth antigens modulate TLR-initiated dendritic cell activation. *J Immunol* 2004 Dec 15;173(12):7454-61.
- (159) Semnani RT, Venugopal PG, Leifer CA, Mostbock S, Sabzevari H, Nutman TB. Inhibition of TLR3 and TLR4 function and expression in human dendritic cells by helminth parasites. *Blood* 2008 Aug 15;112(4):1290-8.
- (160) MacDonald AS, Maizels RM. Alarming dendritic cells for Th2 induction. *J Exp Med* 2008 Jan 21;205(1):13-7.
- (161) Jankovic D, Kullberg MC, Caspar P, Sher A. Parasite-induced Th2 polarization is associated with down-regulated dendritic cell responsiveness to Th1 stimuli and a transient delay in T lymphocyte cycling. *J Immunol* 2004 Aug 15;173(4):2419-27.
- (162) Jenkins SJ, Mountford AP. Dendritic cells activated with products released by schistosome larvae drive Th2-type immune responses, which can be inhibited by manipulation of CD40 costimulation. *Infect Immun* 2005 Jan;73(1):395-402.
- (163) Jenkins SJ, Hewitson JP, Jenkins GR, Mountford AP. Modulation of the host's immune response by schistosome larvae. *Parasite Immunol* 2005 Oct;27(10-11):385-93.

- (164) Perrigoue JG, Marshall FA, Artis D. On the hunt for helminths: innate immune cells in the recognition and response to helminth parasites. *Cell Microbiol* 2008 Sep;10(9):1757-64.
- (165) Thomas PG, Carter MR, Atochina O, et al. Maturation of dendritic cell 2 phenotype by a helminth glycan uses a Toll-like receptor 4-dependent mechanism. *J Immunol* 2003 Dec 1;171(11):5837-41.
- (166) van der Kleij D, Latz E, Brouwers JF, et al. A novel host-parasite lipid cross-talk. Schistosomal lyso-phosphatidylserine activates toll-like receptor 2 and affects immune polarization. *J Biol Chem* 2002 Dec 13;277(50):48122-9.
- (167) Goodridge HS, Wilson EH, Harnett W, Campbell CC, Harnett MM, Liew FY. Modulation of macrophage cytokine production by ES-62, a secreted product of the filarial nematode *Acanthocheilonema viteae*. *J Immunol* 2001 Jul 15;167(2):940-5.
- (168) Whelan M, Harnett MM, Houston KM, Patel V, Harnett W, Rigley KP. A filarial nematode-secreted product signals dendritic cells to acquire a phenotype that drives development of Th2 cells. *J Immunol* 2000 Jun 15;164(12):6453-60.
- (169) Goodridge HS, Marshall FA, Else KJ, et al. Immunomodulation via novel use of TLR4 by the filarial nematode phosphorylcholine-containing secreted product, ES-62. *J Immunol* 2005 Jan 1;174(1):284-93.
- (170) Melendez AJ, Harnett MM, Pushparaj PN, et al. Inhibition of Fc epsilon RI-mediated mast cell responses by ES-62, a product of parasitic filarial nematodes. *Nat Med* 2007 Nov;13(11):1375-81.
- (171) Kane CM, Jung E, Pearce EJ. *Schistosoma mansoni* egg antigen-mediated modulation of Toll-like receptor (TLR)-induced activation occurs independently of TLR2, TLR4, and MyD88. *Infect Immun* 2008 Dec;76(12):5754-9.
- (172) Phillips C, Coward WR, Pritchard DI, Hewitt CR. Basophils express a type 2 cytokine profile on exposure to proteases from helminths and house dust mites. *J Leukoc Biol* 2003 Jan;73(1):165-71.
- (173) Sokol CL, Barton GM, Farr AG, Medzhitov R. A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol* 2008 Mar;9(3):310-8.
- (174) Yang D, Chen Q, Su SB, et al. Eosinophil-derived neurotoxin acts as an alarmin to activate the TLR2-MyD88 signal pathway in dendritic cells and enhances Th2 immune responses. *J Exp Med* 2008 Jan 21;205(1):79-90.
- (175) Urban JF, Jr., Noben-Trauth N, Donaldson DD, et al. IL-13, IL-4Ralpha, and Stat6 are required for the expulsion of the gastrointestinal nematode parasite *Nippostrongylus brasiliensis*. *Immunity* 1998 Feb;8(2):255-64.
- (176) Finkelman FD, Shea-Donohue T, Goldhill J, et al. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. *Annu Rev Immunol* 1997;15:505-33.

- (177) Faulkner H, Renauld JC, Van SJ, Grecis RK. Interleukin-9 enhances resistance to the intestinal nematode *Trichuris muris*. *Infect Immun* 1998 Aug;66(8):3832-40.
- (178) Bancroft AJ, McKenzie AN, Grecis RK. A critical role for IL-13 in resistance to intestinal nematode infection. *J Immunol* 1998 Apr 1;160(7):3453-61.
- (179) Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005 Nov;23(5):479-90.
- (180) Cliffe LJ, Humphreys NE, Lane TE, Potten CS, Booth C, Grecis RK. Accelerated intestinal epithelial cell turnover: a new mechanism of parasite expulsion. *Science* 2005 Jun 3;308(5727):1463-5.
- (181) Artis D, Wang ML, Keilbaugh SA, et al. RELMbeta/FIZZ2 is a goblet cell-specific immune-effector molecule in the gastrointestinal tract. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Sep 14;101(37):13596-600.
- (182) Newlands GF, Miller HR, MacKellar A, Galli SJ. Stem cell factor contributes to intestinal mucosal mast cell hyperplasia in rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis* or *Trichinella spiralis*, but anti-stem cell factor treatment decreases parasite egg production during *N. brasiliensis* infection. *Blood* 1995 Sep 1;86(5):1968-76.
- (183) Knight PA, Wright SH, Lawrence CE, Paterson YY, Miller HR. Delayed expulsion of the nematode *Trichinella spiralis* in mice lacking the mucosal mast cell-specific granule chymase, mouse mast cell protease-1. *J Exp Med* 2000 Dec 18;192(12):1849-56.
- (184) Hoffmann KF, Wynn TA, Dunne DW. Cytokine-mediated host responses during schistosome infections; walking the fine line between immunological control and immunopathology. *Adv Parasitol* 2002;52:265-307.
- (185) Joseph S, Jones FM, Kimani G, et al. Cytokine production in whole blood cultures from a fishing community in an area of high endemicity for *Schistosoma mansoni* in Uganda: the differential effect of parasite worm and egg antigens. *Infect Immun* 2004 Feb;72(2):728-34.
- (186) Booth M, Shaw MA, Carpenter D, et al. Carriage of DRB1*13 is associated with increased posttreatment IgE levels against *Schistosoma mansoni* antigens and lower long-term reinfection levels. *J Immunol* 2006 Jun 1;176(11):7112-8.
- (187) Jackson JA, Friberg IM, Little S, Bradley JE. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: immunity against helminths and immunological phenomena in modern human populations: coevolutionary legacies? *Immunology* 2009 Jan;126(1):18-27.
- (188) Morais CN, Souza JR, Melo WG, et al. Cytokine profile associated with chronic and acute human schistosomiasis *mansoni*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2008 Sep;103(6):561-8.

- (189) Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, Peruhype-Magalhaes V, et al. Cytokines, chemokine receptors, CD4+CD25HIGH+ T-cells and clinical forms of human schistosomiasis. *Acta Trop* 2008 Nov;108(2-3):139-49.
- (190) Bartley PB, Ramm GA, Jones MK, Ruddell RG, Li Y, McManus DP. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of *Schistosoma japonicum* egg-induced fibrosis. *Int J Parasitol* 2006 Aug;36(9):993-1001.
- (191) Chensue SW, Warmington KS, Ruth J, Lincoln PM, Kunkel SL. Cross-regulatory role of interferon-gamma (IFN-gamma), IL-4 and IL-10 in schistosome egg granuloma formation: in vivo regulation of Th activity and inflammation. *Clin Exp Immunol* 1994 Dec;98(3):395-400.
- (192) Hirata M, Kage M, Hara T, Yoneda Y, Zhang M, Fukuma T. *Schistosoma japonicum* egg granuloma formation in the interleukin-4 or interferon-gamma deficient host. *Parasite Immunol* 2001 Jun;23(6):271-80.
- (193) Fort MM, Cheung J, Yen D, et al. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity* 2001 Dec;15(6):985-95.
- (194) Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nat Immunol* 2004 Jul;5(7):752-60.
- (195) Finkelman FD, Shea-Donohue T, Morris SC, et al. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated host protection against intestinal nematode parasites. *Immunol Rev* 2004 Oct;201:139-55.
- (196) Herbert DR, Holscher C, Mohrs M, et al. Alternative macrophage activation is essential for survival during schistosomiasis and downmodulates T helper 1 responses and immunopathology. *Immunity* 2004 May;20(5):623-35.
- (197) Voehringer D, Reese TA, Huang X, Shinkai K, Locksley RM. Type 2 immunity is controlled by IL-4/IL-13 expression in hematopoietic non-eosinophil cells of the innate immune system. *J Exp Med* 2006 Jun 12;203(6):1435-46.
- (198) Silveira AM, Gazzinelli G, Alves-Oliveira LF, et al. Human schistosomiasis *mansoni*: intensity of infection differentially affects the production of interleukin-10, interferon-gamma and interleukin-13 by soluble egg antigen or adult worm antigen stimulated cultures. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2004 Sep;98(9):514-9.
- (199) Lehman JS, Jr., Mott KE, Morrow RH, Jr., Muniz TM, Boyer MH. The intensity and effects of infection with *Schistosoma mansoni* in a rural community in northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1976 Mar;25(2):285-94.
- (200) de Jesus AR, Magalhaes A, Miranda DG, et al. Association of type 2 cytokines with hepatic fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection. *Infect Immun* 2004 Jun;72(6):3391-7.
- (201) Baumgart M, Tompkins F, Leng J, Hesse M. Naturally occurring CD4+Foxp3+ regulatory T cells are an essential, IL-10-independent part of the immunoregulatory network in *Schistosoma mansoni* egg-induced inflammation. *J Immunol* 2006 May 1;176(9):5374-87.

- (202) Burke ML, Jones MK, Gobert GN, Li YS, Ellis MK, McManus DP. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. *Parasite Immunol* 2009 Apr;31(4):163-76.
- (203) Ovington KS, McKie K, Matthaei KI, Young IG, Behm CA. Regulation of primary *Strongyloides ratti* infections in mice: a role for interleukin-5. *Immunology* 1998 Nov;95(3):488-93.
- (204) Owyang AM, Zaph C, Wilson EH, et al. Interleukin 25 regulates type 2 cytokine-dependent immunity and limits chronic inflammation in the gastrointestinal tract. *J Exp Med* 2006 Apr 17;203(4):843-9.
- (205) Perrigoue JG, Li J, Zaph C, et al. IL-31-IL-31R interactions negatively regulate type 2 inflammation in the lung. *J Exp Med* 2007 Mar 19;204(3):481-7.
- (206) Loke P, Gallagher I, Nair MG, et al. Alternative activation is an innate response to injury that requires CD4⁺ T cells to be sustained during chronic infection. *J Immunol* 2007 Sep 15;179(6):3926-36.
- (207) Zaph C, Troy AE, Taylor BC, et al. Epithelial-cell-intrinsic IKK-beta expression regulates intestinal immune homeostasis. *Nature* 2007 Mar 29;446(7135):552-6.
- (208) Booth M, Mwatha JK, Joseph S, et al. Periportal fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection is associated with low IL-10, low IFN-gamma, high TNF-alpha, or low RANTES, depending on age and gender. *J Immunol* 2004 Jan 15;172(2):1295-303.
- (209) Coutinho HM, Acosta LP, Wu HW, et al. Th2 cytokines are associated with persistent hepatic fibrosis in human *Schistosoma japonicum* infection. *J Infect Dis* 2007 Jan 15;195(2):288-95.
- (210) Silveira-Lemos D, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, et al. Eosinophil activation status, cytokines and liver fibrosis in *Schistosoma mansoni* infected patients. *Acta Trop* 2008 Nov;108(2-3):150-9.
- (211) Fallon PG, Richardson EJ, McKenzie GJ, McKenzie AN. Schistosome infection of transgenic mice defines distinct and contrasting pathogenic roles for IL-4 and IL-13: IL-13 is a profibrotic agent. *J Immunol* 2000 Mar 1;164(5):2585-91.
- (212) Chiamonte MG, Cheever AW, Malley JD, Donaldson DD, Wynn TA. Studies of murine schistosomiasis reveal interleukin-13 blockade as a treatment for established and progressive liver fibrosis. *Hepatology* 2001 Aug;34(2):273-82.
- (213) Cheever AW, Williams ME, Wynn TA, et al. Anti-IL-4 treatment of *Schistosoma mansoni*-infected mice inhibits development of T cells and non-B, non-T cells expressing Th2 cytokines while decreasing egg-induced hepatic fibrosis. *J Immunol* 1994 Jul 15;153(2):753-9.
- (214) Kaviratne M, Hesse M, Leusink M, et al. IL-13 activates a mechanism of tissue fibrosis that is completely TGF-beta independent. *J Immunol* 2004 Sep 15;173(6):4020-9.

- (215) Cheever AW, Xu YH, Sher A, Macedonia JG. Analysis of egg granuloma formation in *Schistosoma japonicum*-infected mice treated with antibodies to interleukin-5 and gamma interferon. *Infect Immun* 1991 Nov;59(11):4071-4.
- (216) Reiman RM, Thompson RW, Feng CG, et al. Interleukin-5 (IL-5) augments the progression of liver fibrosis by regulating IL-13 activity. *Infect Immun* 2006 Mar;74(3):1471-9.
- (217) Rutitzky LI, Stadecker MJ. CD4 T cells producing pro-inflammatory interleukin-17 mediate high pathology in schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006 Sep;101 Suppl 1:327-30.
- (218) Stadecker MJ, Asahi H, Finger E, Hernandez HJ, Rutitzky LI, Sun J. The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis. *Immunol Rev* 2004 Oct;201:168-79.
- (219) Rutitzky LI, Lopes da Rosa JR, Stadecker MJ. Severe CD4 T cell-mediated immunopathology in murine schistosomiasis is dependent on IL-12p40 and correlates with high levels of IL-17. *J Immunol* 2005 Sep 15;175(6):3920-6.
- (220) Kelly MN, Kolls JK, Happel K, et al. Interleukin-17/interleukin-17 receptor-mediated signaling is important for generation of an optimal polymorphonuclear response against *Toxoplasma gondii* infection. *Infect Immun* 2005 Jan;73(1):617-21.
- (221) Rutitzky LI, Smith PM, Stadecker MJ. T-bet protects against exacerbation of schistosome egg-induced immunopathology by regulating Th17-mediated inflammation. *Eur J Immunol* 2009 Sep;39(9):2470-81.
- (222) Rutitzky LI, Stadecker MJ. CD4 T cells producing pro-inflammatory interleukin-17 mediate high pathology in schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006 Sep;101 Suppl 1:327-30.
- (223) Wan YY, Flavell RA. 'Yin-Yang' functions of transforming growth factor-beta and T regulatory cells in immune regulation. *Immunol Rev* 2007 Dec;220:199-213.
- (224) Hesse M, Piccirillo CA, Belkaid Y, et al. The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. *J Immunol* 2004 Mar 1;172(5):3157-66.
- (225) Taylor JJ, Mohrs M, Pearce EJ. Regulatory T cell responses develop in parallel to Th responses and control the magnitude and phenotype of the Th effector population. *J Immunol* 2006 May 15;176(10):5839-47.
- (226) Baumgart M, Tompkins F, Leng J, Hesse M. Naturally occurring CD4⁺Foxp3⁺ regulatory T cells are an essential, IL-10-independent part of the immunoregulatory network in *Schistosoma mansoni* egg-induced inflammation. *J Immunol* 2006 May 1;176(9):5374-87.
- (227) Walsh CM, Smith P, Fallon PG. Role for CTLA-4 but not CD25⁺ T cells during *Schistosoma mansoni* infection of mice. *Parasite Immunol* 2007 Jun;29(6):293-308.

- (228) Mo HM, Liu WQ, Lei JH, Cheng YL, Wang CZ, Li YL. *Schistosoma japonicum* eggs modulate the activity of CD4⁺ CD25⁺ Tregs and prevent development of colitis in mice. *Exp Parasitol* 2007 Aug;116(4):385-9.
- (229) Chen W, Jin W, Hardegen N, et al. Conversion of peripheral CD4⁺. *J Exp Med* 2003 Dec 15;198(12):1875-86.
- (230) Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Carcamo CV, et al. A functionally specialized population of mucosal CD103⁺ DCs induces Foxp3⁺ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. *J Exp Med* 2007 Aug 6;204(8):1757-64.
- (231) Floess S, Freyer J, Siewert C, et al. Epigenetic control of the foxp3 locus in regulatory T cells. *PLoS Biol* 2007 Feb;5(2):e38.
- (232) Nistala K, Moncrieffe H, Newton KR, Varsani H, Hunter P, Wedderburn LR. Interleukin-17-producing T cells are enriched in the joints of children with arthritis, but have a reciprocal relationship to regulatory T cell numbers. *Arthritis Rheum* 2008 Mar;58(3):875-87.
- (233) Eastaff-Leung N, Mabarrack N, Barbour A, Cummins A, Barry S. Foxp3⁺ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 2010 Jan;30(1):80-9.
- (234) Nistala K, Wedderburn LR. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro- and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2009 Jun;48(6):602-6.
- (235) Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006 Feb;24(2):179-89.
- (236) Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006 May 11;441(7090):235-8.
- (237) Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function. *Nature* 2008 May 8;453(7192):236-40.
- (238) Lim HW, Broxmeyer HE, Kim CH. Regulation of trafficking receptor expression in human forkhead box P3⁺ regulatory T cells. *J Immunol* 2006 Jul 15;177(2):840-51.
- (239) Allan SE, Passerini L, Bacchetta R, et al. The role of 2 FOXP3 isoforms in the generation of human CD4⁺ Tregs. *J Clin Invest* 2005 Nov;115(11):3276-84.
- (240) Shen H, Goodall JC, Hill Gaston JS. Frequency and phenotype of peripheral blood Th17 cells in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009 Jun;60(6):1647-56.
- (241) Wan YY, Flavell RA. 'Yin-Yang' functions of transforming growth factor-beta and T regulatory cells in immune regulation. *Immunol Rev* 2007 Dec;220:199-213.

- (242) Yu JJ, Ruddy MJ, Wong GC, et al. An essential role for IL-17 in preventing pathogen-initiated bone destruction: recruitment of neutrophils to inflamed bone requires IL-17 receptor-dependent signals. *Blood* 2007 May 1;109(9):3794-802.
- (243) Eder W, Ege MJ, von ME. The asthma epidemic. *N Engl J Med* 2006 Nov 23;355(21):2226-35.
- (244) Jie Y, Isa ZM, Jie X, Ju ZL, Ismail NH. Urban vs. rural factors that affect adult asthma. *Rev Environ Contam Toxicol* 2013;226:33-63.
- (245) Djuardi Y, Wammes LJ, Supali T, Sartono E, Yazdanbakhsh M. Immunological footprint: the development of a child's immune system in environments rich in microorganisms and parasites. *Parasitology* 2011 Oct;138(12):1508-18.
- (246) Osada Y, Kanazawa T. Parasitic helminths: new weapons against immunological disorders. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:743758.
- (247) Van Gool SW, Vandenberghe P, de BM, Ceuppens JL. CD80, CD86 and CD40 provide accessory signals in a multiple-step T-cell activation model. *Immunol Rev* 1996 Oct;153:47-83.
- (248) Jeannin P, Herbault N, Delneste Y, et al. Human effector memory T cells express CD86: a functional role in naive T cell priming. *J Immunol* 1999 Feb 15;162(4):2044-8.
- (249) Fraser JD, Newton ME, Weiss A. CD28 and T cell antigen receptor signal transduction coordinately regulate interleukin 2 gene expression in response to superantigen stimulation. *J Exp Med* 1992 Apr 1;175(4):1131-4.
- (250) Waite JC, Skokos D. Th17 response and inflammatory autoimmune diseases. *Int J Inflam* 2012;2012:819467.
- (251) Orihara K, Nakae S, Pawankar R, Saito H. Role of regulatory and proinflammatory T-cell populations in allergic diseases. *World Allergy Organ J* 2008 Jan;1(1):9-14.
- (252) Diamant Z, Tufvesson E, Bjermer L. Which Biomarkers Are Effective for Identifying Th2-Driven Inflammation in Asthma? *Curr Allergy Asthma Rep* 2013 Aug 7.
- (253) Sakaguchi S, Setoguchi R, Yagi H, Nomura T. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006;305:51-66.
- (254) Seder RA, Darrah PA, Roederer M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat Rev Immunol* 2008 Apr;8(4):247-58.
- (255) Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol* 2004;22:745-63.
- (256) Mbow M, Larkin BM, Meurs L, et al. T-helper 17 cells are associated with pathology in human schistosomiasis. *J Infect Dis* 2013 Jan 1;207(1):186-95.

- (257) Paine A, Kirchner H, Immenschuh S, Oelke M, Blasczyk R, Eiz-Vesper B. IL-2 upregulates CD86 expression on human CD4(+) and CD8(+) T cells. *J Immunol* 2012 Feb 15;188(4):1620-9.
- (258) Allen JE, Maizels RM. Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nat Rev Immunol* 2011 Jun;11(6):375-88.
- (259) Cheever AW, Kamel IA, Elwi AM, Mosimann JE, Danner R. *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infections in Egypt. II. Quantitative parasitological findings at necropsy. *Am J Trop Med Hyg* 1977 Jul;26(4):702-16.
- (260) Meurs L, Mbow M, Vereecken K, Menten J, Mboup S, Polman K. Epidemiology of mixed *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infections in northern Senegal. *Int J Parasitol* 2012 Mar;42(3):305-11.
- (261) Meurs L, Mbow M, Vereecken K, Menten J, Mboup S, Polman K. Bladder Morbidity and Hepatic Fibrosis in Mixed *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* Infections: A Population-Wide Study in Northern Senegal. *PLoS Negl Trop Dis* 2012 Sep;6(9):e1829.
- (262) Huyse T, Van den Broeck F, Hellemans B, Volckaert FA, Polman K. Hybridisation between the two major African schistosome species of humans. *Int J Parasitol* 2013 Jul;43(8):687-9.
- (263) Koukounari A, Donnelly CA, Sacko M, et al. The impact of single versus mixed schistosome species infections on liver, spleen and bladder morbidity within Malian children pre- and post-praziquantel treatment. *BMC Infect Dis* 2010;10:227.
- (264) Gouvras AN, Kariuki C, Koukounari A, et al. The impact of single versus mixed *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* infections on morbidity profiles amongst school-children in Taveta, Kenya. *Acta Trop* 2013 Nov;128(2):309-17.
- (265) Bourke CD, Nausch N, Rujeni N, et al. Integrated analysis of innate, Th1, Th2, Th17, and regulatory cytokines identifies changes in immune polarisation following treatment of human schistosomiasis. *J Infect Dis* 2013 Jul;208(1):159-69.
- (266) WHO. Preventive chemotherapy in human helminthiasis - Coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers. France: WHO Press; 2006.
- (267) Wiria AE, Prasetyani MA, Hamid F, et al. Does treatment of intestinal helminth infections influence malaria? Background and methodology of a longitudinal study of clinical, parasitological and immunological parameters in Nangapanda, Flores, Indonesia (ImmunoSPIN Study). *BMC Infect Dis* 2010;10:77.
- (268) R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2012.
- (269) Vegan: Community ecology package. R package [computer program]. Version 2.0-7; <http://CRAN.R-project.org/package=vegan> 2013.

- (270) Clarke KR, Warwick RM. Ordination of samples by multi-dimensional scaling (MDS). Cange in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation. 2nd ed. Plymouth: Primer-E Ltd, 2001.
- (271) 2. World Health Organization. Schistosomiasis fact sheet. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/index.html>. Accessed February 2010
- (272) Wynn TA, Thompson RW, Cheever AW, Mentink-Kane MM. Immunopathogenesis of schistosomiasis. *Immunol Rev* 2004 Oct;201:156-67.
- (273) Caldas IR, Campi-Azevedo AC, Oliveira LF, Silveira AM, Oliveira RC, Gazzinelli G. Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. *Acta Trop* 2008 Nov;108(2-3):109-17.
- (274) Rutitzky LI, Lopes da Rosa JR, Stadecker MJ. Severe CD4 T cell-mediated immunopathology in murine schistosomiasis is dependent on IL-12p40 and correlates with high levels of IL-17. *J Immunol* 2005 Sep 15;175(6):3920-6.
- (275) D'Elia R, Behnke JM, Bradley JE, Else KJ. Regulatory T cells: a role in the control of helminth-driven intestinal pathology and worm survival. *J Immunol* 2009 Feb 15;182(4):2340-8.
- (276) Wilson MS, Maizels RM. Regulatory T cells induced by parasites and the modulation of allergic responses. *Chem Immunol Allergy* 2006;90:176-95.
- (277) Warren KS. Schistosomiasis: host-pathogen biology. *Rev Infect Dis* 1982 Jul;4(4):771-5.
- (278) Richter J. Evolution of schistosomiasis-induced pathology after therapy and interruption of exposure to schistosomes: a review of ultrasonographic studies. *Acta Trop* 2000 Oct 23;77(1):111-31.
- (279) Encyclopedia of the Nations. Senegal: Ethnic groups. Available at : <http://www.nationsencyclopedia.com>. Retrieved 9 March 2014.
- (280) Le Souef PN, Goldblatt J, Lynch NR. Evolutionary adaptation of inflammatory immune responses in human beings. *Lancet* 2000 Jul 15;356(9225):242-4.
- (281) Roetynck S, Olotu A, Simam J, et al. Phenotypic and functional profiling of CD4 T cell compartment in distinct populations of healthy adults with different antigenic exposure. *PLoS One* 2013;8(1):e55195.
- (282) COLBOURNE MJ. Malaria in Gold Coast students on their return from the United Kingdom. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1955 Sep;49(5):483-7.
- (283) Moncunill G, Mayor A, Bardaji A, et al. Cytokine profiling in immigrants with clinical malaria after extended periods of interrupted exposure to *Plasmodium falciparum*. *PLoS One* 2013;8(8):e73360.

- (284) Smolen KK, Ruck CE, Fortuno ES, III, et al. Pattern recognition receptor-mediated cytokine response in infants across 4 continents. *J Allergy Clin Immunol* 2014 Mar;133(3):818-26.
- (285) Wilfing A, Winkler S, Schratlbauer K, et al. African-European differences in the capacity of T-cell cytokine production. *Am J Trop Med Hyg* 2001 Nov;65(5):504-9.
- (286) Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, et al. Long-Lasting Effects of BCG Vaccination on Both Heterologous Th1/Th17 Responses and Innate Trained Immunity. *J Innate Immun* 2013 Oct 30.
- (287) Maizels RM, Yazdanbakhsh M. T-cell regulation in helminth parasite infections: implications for inflammatory diseases. *Chem Immunol Allergy* 2008;94:112-23.
- (288) Bijl M, Horst G, Limburg PC, Kallenberg CG. Expression of costimulatory molecules on peripheral blood lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2001 May;60(5):523-6.
- (289) Kemp K, Akanmori BD, Hviid L. West African donors have high percentages of activated cytokine producing T cells that are prone to apoptosis. *Clin Exp Immunol* 2001 Oct;126(1):69-75.
- (290) Borkow G, Leng Q, Weisman Z, et al. Chronic immune activation associated with intestinal helminth infections results in impaired signal transduction and anergy. *J Clin Invest* 2000 Oct;106(8):1053-60.
- (291) Bentwich Z, Kalinkovich A, Weisman Z, Grossman Z. Immune activation in the context of HIV infection. *Clin Exp Immunol* 1998 Jan;111(1):1-2.
- (292) Martinez J, Ibanez L, Llanos O. [Spontaneous esophageal rupture: a report of 2 cases and a review of the literature]. *Rev Med Chil* 1988 Dec;116(12):1288-94.
- (293) Kovacs JA, Lempicki RA, Sidorov IA, et al. Induction of prolonged survival of CD4+ T lymphocytes by intermittent IL-2 therapy in HIV-infected patients. *J Clin Invest* 2005 Aug;115(8):2139-48.
- (294) Hislop AD, Taylor GS, Sauce D, Rickinson AB. Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein-Barr virus. *Annu Rev Immunol* 2007;25:587-617.
- (295) Faint JM, Annels NE, Curnow SJ, et al. Memory T cells constitute a subset of the human CD8+CD45RA+ pool with distinct phenotypic and migratory characteristics. *J Immunol* 2001 Jul 1;167(1):212-20.
- (296) Ponchel F, Verburg RJ, Bingham SJ, et al. Interleukin-7 deficiency in rheumatoid arthritis: consequences for therapy-induced lymphopenia. *Arthritis Res Ther* 2005;7(1):R80-R92.
- (297) Idaghdour Y, Storey JD, Jadallah SJ, Gibson G. A genome-wide gene expression signature of environmental geography in leukocytes of Moroccan Amazighs. *PLoS Genet* 2008 Apr;4(4):e1000052.

- (298) Butterworth AE, Bensted-Smith R, Capron A, et al. Immunity in human schistosomiasis mansoni: prevention by blocking antibodies of the expression of immunity in young children. *Parasitology* 1987 Apr;94 (Pt 2):281-300.
- (299) van Remoortere A, van Dam GJ, Hokke CH, van den Eijnden DH, van D, I, Deelder AM. Profiles of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies against defined carbohydrate epitopes in sera of Schistosoma-infected individuals determined by surface plasmon resonance. *Infect Immun* 2001 Apr;69(4):2396-401.
- (300) Joseph S, Jones FM, Kimani G, et al. Cytokine production in whole blood cultures from a fishing community in an area of high endemicity for Schistosoma mansoni in Uganda: the differential effect of parasite worm and egg antigens. *Infect Immun* 2004 Feb;72(2):728-34.
- (301) Smith M, Webbe G. Letter: Damage to schistosomula of Schistosoma haematobium in vitro by immune baboon and human sera and absence of cross-reaction with Schistosoma mansoni. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1974;68(1):70-1.
- (302) Eid RE, Rao DA, Zhou J, et al. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2009 Mar 17;119(10):1424-32.
- (303) Rong G, Zhou Y, Xiong Y, et al. Imbalance between T helper type 17 and T regulatory cells in patients with primary biliary cirrhosis: the serum cytokine profile and peripheral cell population. *Clin Exp Immunol* 2009 May;156(2):217-25.
- (304) Matuszevicius D, Kivisakk P, He B, et al. Interleukin-17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis. *Mult Scler* 1999 Apr;5(2):101-4.
- (305) Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2000;9(8):589-93.
- (306) Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2006 Jul 1;177(1):566-73.
- (307) Nakae S, Nambu A, Sudo K, Iwakura Y. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J Immunol* 2003 Dec 1;171(11):6173-7.
- (308) McKee AS, Pearce EJ. CD25+CD4+ cells contribute to Th2 polarization during helminth infection by suppressing Th1 response development. *J Immunol* 2004 Jul 15;173(2):1224-31.
- (309) Herbert DR, Orekov T, Perkins C, Finkelman FD. IL-10 and TGF-beta redundantly protect against severe liver injury and mortality during acute schistosomiasis. *J Immunol* 2008 Nov 15;181(10):7214-20.

- (310) Araujo MI, de Jesus AR, Bacellar O, Sabin E, Pearce E, Carvalho EM. Evidence of a T helper type 2 activation in human schistosomiasis. *Eur J Immunol* 1996 Jun;26(6):1399-403.
- (311) Boaventura VS, Santos CS, Cardoso CR, et al. Human mucosal leishmaniasis: neutrophils infiltrate areas of tissue damage that express high levels of Th17-related cytokines. *Eur J Immunol* 2010 Oct;40(10):2830-6.
- (312) Wright DG, Meierovics AI, Foxley JM. Assessing the delivery of neutrophils to tissues in neutropenia. *Blood* 1986 Apr;67(4):1023-30.
- (313) Butterworth AE, Dalton PR, Dunne DW, et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis mansoni. I. Study design, pretreatment observations and the results of treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984;78(1):108-23.
- (314) Abath FG, Morais CN, Montenegro CE, Wynn TA, Montenegro SM. Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies? *Trends Parasitol* 2006 Feb;22(2):85-91.
- (315) Abdul-Ghani RA, Hassan AA. Murine schistosomiasis as a model for human schistosomiasis mansoni: similarities and discrepancies. *Parasitol Res* 2010 Jun;107(1):1-8.

ANNEXES

ANNEXE 1:

TIRÉS-À-PART DES ARTICLES UTILISÉS POUR LA THÈSE

ARTICLE 1

Changes in immunological profile as function of urbanization and lifestyle

ARTICLE 2

**Cytokine responses to *Schistosoma mansoni* and
Schistosoma haematobium in relation to infection in a
co-endemic focus in northern Senegal**

ARTICLE 3

Th17 cells are associated with pathology in human schistosomiasis

ANNEXE 2: BIO-SKETCH

Bio-sketch

Moustapha Mbow, MSc, PhDs

Docteur en Pharmacie; Ancien interne des hôpitaux de Dakar ; Assistant de recherche à l'unité d'immunologie du laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'Hôpital Arstide le Datec.

Education/diplômes

- ✓ **1999** : Baccalauréat option Mathématiques et Physique-Chimie (Série S1)
- ✓ **2004** : Internat des Hôpitaux des Dakar
- ✓ **2005** : Diplôme de Doctorat d'Etat en Pharmacie, option Biologie Médicale (UCAD)
- ✓ **2008** : Diplôme Universitaire de Rétrovirologie Biologique (UCAD)
- ✓ **2009** : Master d'Immunologie (UCAD)
- ✓ **2011**: Master de Microbiologie Fondamentale Appliquée (UCADA)

Formations et ateliers

- ✓ **2004** : Formation sur les « techniques alternatives de comptage des CD4 (AAVP, Dakar, Sénégal)
- ✓ **2007** : Formation sur la technique ELISPOT -interféron gamma (AAVP, Dakar, Sénégal)
- ✓ **2007**: Formation sur les techniques d'étude de l'immunité innée et de l'immunorégulation (LUMC, Leiden, Pays-Bas)
- ✓ **2009**: Atelier de formation sur les méthodes d'étude de l'immunité cellulaire et des techniques de cryopréservation de matériel biologique pour l'exploration de la réponse immunitaire dans le cadre la recherche vaccinale anti-HIV (CAVD/GHRC, Université de Stellenbosch, Cape Town, South Africa).
- ✓ **2010**: Formation sur la séparation des sous-populations lymphocytaires, la cytométrie de flux multiparamétrique et les techniques d'étude de la polarisation cellulaire et de la transduction des signaux (LUMC, Leiden, Pays-Bas)
- ✓ **2011**: Atelier de formation sur la rédaction Projet d'étude (Grant) et sur l'analyse de données (WANETAM/ EDCTP - Dakar, Sénégal).
- ✓ **2011: 29 Avril – 31 Mai**: Formation sur les techniques immunologiques de séparation des sous populations cellulaires et sur les techniques de prolifération cellulaire (incorporation de BrdU et marquage par le CFSE) - Hôpital Albert Schweitzer, Lambaréné, Gabon.

- ✓ **2012:** Atelier de formation sur la rédaction d'article scientifique (AJLM/WANETAM, Saly, Sénégal).
- ✓ **2012:** Formation sur l'étude fonctionnelle des cellules NK et le typage du récepteur KIR des NK (HIV Research Trust - London School of Hygiene and Tropical Medicine, Londres, Royaume Uni).
- ✓ **2013:** Formation sur les postes de sécurité microbiologiques (PSM) (MRC, Londres, Royaume Unis).
- ✓ **2013: Février:** Formation sur les aspects de sécurité pour l'utilisation de l'azote liquide (Gas Safe System, Londres, Royaume Uni).
- ✓ **2013:** Formation sur l'Utilisation et la maintenance des cymomètres de flux (MRC, Fajara, Gambie).
- ✓ **2013:** Atelier sur l'exploitation des bases de données et de l'Analyses statistique de données (LBV/ITMA, Dakar, Sénégal).
- ✓ **2013:** Cours de « Writing Research Proposals for Peer Review » (MRC, Fajara, The Gambia).
- ✓ **2014:** Formation sur Ethique de la Recherche en Santé (WANETM/LBV, Sénégal).

Conférences et congrès scientifiques

- ✓ **2004 :** Conférence internationale sur les Bonnes Pratiques de Laboratoire (ASSITEB, Dakar, Sénégal)
- ✓ **2008 :** Conférence Internationale sur le Sida et les IST (ICASA, Dakar, Sénégal).
- ✓ **2010 :** Conférence Annuelle d'Immunologie de la Société Néerlandaise d'Immunologie (Noordwijkerhout, Pays-Bas).
- ✓ **2012:** Conférence Internationale de la Société Africaine de Médecine de Laboratoire (Cape Town, Afrique du Sud).
- ✓ **2013:** Forum « Afri-Can » de «Canada's Global Health Research Initiative et «Canada's HIV Vaccine Initiative» (Entebbe, Ouganda).
- ✓ **2013:** 14ieme Conférence de « The Society for Natural Immunity » (Heidelberg, Allemagne)
- ✓ **2013:** 17^{ieme} Conférence International sur le SIDA et les IST en Afrique (ICASA) (Cape Town, Afrique du Sud).
- ✓ **2014:** Septième Forum d'EDCTP (Berlin, Germany).

Activités de recherches

- ✓ **2008-2010: Responsable scientifique de l'étude :** « L'Immunité innée et de l'Immunorégulation de la schistosomiase humaine » - Projet LBV/Union Européenne.
- ✓ **Depuis 2010: Project de thèse de troisième cycle :** « Rôle des cellules Th17 et T régulatrices dans le développement de la pathologie au cours de la schistosomiase au Sénégal » - Projet LBV/Institut de Médecine Tropical d'Anvers/Coopération belge.
- ✓ **Depuis 2012: Responsable scientifique de l'étude:** « Impact de la tuberculose active et du traitement antirétroviral sur l'équilibre Treg/Th17 au cours de l'infection par le VIH-1 » - Projet LBV / Dantec et Institut de Médecine Tropical d'Anvers / Coopération belge.
- ✓ **Depuis 2012: Responsable scientifique de l'étude :** « Comparaison des caractéristiques fonctionnels des cellules NK mémoire et effectrices avec la réponse cellulaire T chez des populations vaccinées contre le VIH et des sujets à risques de contracter le VIH-1 » Projet LBV / EDCTP/WAPHIR / MRC.

Prix et nominations

- ✓ Prix du meilleur jeune chercheur Africain 2013 en Science Fondamentale de la Société pour le SIDA en Afrique. Cap Town, Afrique du Sud.

Outils linguistiques

- ✓ **Anglais:** **Ecrit:** Excellent; **Lecture:** Excellent; **Compréhension:** Excellent; **Parlé:** Bien

ANNEXE 3:

LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS ORALES

Liste de publications

- ✓ **Mbow M**, Larkin BM, Meurs L, Wammes LJ, de Jong SE, Labuda LA, Camara M, Smits HH, Polman K, Dieye TN, Mboup S, Stadecker MJ, Yazdanbakhsh M. **T-helper 17 cells are associated with pathology in human schistosomiasis.** *J Infect Dis.* 2013 Jan 1;207(1):186-95.
- ✓ Meurs L, **Mbow M**, Vereecken K, Menten J, Mboup S, Polman K. **Epidemiology of mixed *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infections in northern Senegal.** *Int J Parasitol.* 2012;42(3):305-11.
- ✓ Lynn Meurs, **Moustapha Mbow**, Kim Vereecken, Joris Menten, Souleymane Mboup, Katja Polman. **Bladder morbidity and hepatic fibrosis in mixed *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* Infections: a population-wide study in Northern Senegal.** *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(9):e1829.
- ✓ Meurs L, Labuda L, Amoah AS, **Mbow M**, Ngoa UA, Boakye DA, Mboup S, Dièye TN, Mountford AP, Turner JD, Kreamsner PG, Polman K, Yazdanbakhsh M, Adegnika AA. **Enhanced pro-inflammatory cytokine responses following Toll-like-receptor ligation in *Schistosoma haematobium*-infected schoolchildren from rural Gabon.** *PLoS One.* 2011;6(9):e24393.
- ✓ Turner JD, Meurs L, Dool P, Bourke CD, **Mbow M**, Dièye TN, Mboup S, Polman K, Mountford AP. **Schistosome infection is associated with enhanced whole blood IL-10 secretion in response to cercarial excretory/secretory products.** *Parasite Immunol.* 2013 May-Jun;35(5-6):147-56. doi: 10.1111/pim.12028.
- ✓ **Mbow M**, Santos N.S.S., Camara M., Niang A., Daneau G., Wade D., Diallo A.A., Ba A., Toupane M., Diakhaté M, Lèye N., Diaw P.A., Mboup S., Kestens L., Dieye T.N. **HIV/TB co-infection impacts T cell activation markers but not the numbers sub-set of regulatory T cells in HIV-1 infected patients.** *African Journal of Laboratory Medicine; Vol 2, No 1 (2013), 8 pages.* doi: 10.4102/ajlm.v2i1.76
- ✓ Lynn Meurs, **Moustapha Mbow**, Nele Boon, Frederik van den Broeck, Kim Vereecken, Emmanuel Abatih, Tine Huyse, Souleymane Mboup, Katja Polman. **Micro-Geographical Heterogeneity in *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* Infection and Morbidity in a Co-Endemic Community in Northern Senegal.** *PLoS Negl Trop Dis.* 2013 Dec 26;7(12):e2608.
- ✓ Lynn Meurs, **Moustapha Mbow**, Nele Boon, Kim Vereecken, Abena Serwaa Amoah, Tandakha Ndiaye Dièye, Souleymane Mboup, Maria Yazdanbakhsh, Katja Polman. **Cytokine Responses to *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* in Relation to Infection in a Co-Endemic Focus in Northern Senegal.** *PLOS NTDs* 2014.
- ✓ A. Labuda Lucja, Sanne E. de Jong, Lynn Meurs, Abena S. Amoah, **Moustapha Mbow**, Ulysse Ateba-Ngoa, Alwin J. van der Ham, Andre' C. Knulst, Maria Yazdanbakhsh,

- Ayola A. Adegnik. **Differences in Innate Cytokine Responses between European and African Children.** *Plos One*, April 2014. 9: 4 e95241.
- ✓ Joseph D. Turner, Claire D. Bourke, Lynn Meurs, **Moustapha Mbow**, Tandakha Ndiaye Dieye, Souleymane Mboup, Katja Polman, Adrian P. Mountford. **Circulating CD14brightCD16+ 'Intermediate' Monocytes Exhibit Enhanced Parasite Pattern Recognition in Human Helminth Infection.** *PLOS Neglected Tropical Diseases*, April 2014. 8:4 e2817.
 - ✓ **Mbow M**, de Jong SE, Meurs L, Mboup S, Dieye TN, Polman K, Yazdanbakhsh M. **Changes in immunological profile as a function of urbanization and life style.** *Immunology*. 2014 Jun 12. doi: 10.1111/imm.12335
 - ✓ Ulysse Ateba Ngoa, Jeannot Fréjus Zinsou, Roland Fabrice Kassa Kassa, Eliane Ngoune Feugap, Josiane Honkpehedji, Marguerite Massinga-Loembe, Kenguele MH, Anne Marie Nkoma, Lima Honorine Mbenkep, Linda Wammes, **Mbow Moustapha**, Yvonne Kruize, Ghyslain Mombo-Ngoma, Aurore Larissa Bouyoukou Hounkpatin, Dejon Agobe Jean Claude, Saadou Issifou, Bertrand Lell, Hermelijn Smits, Peter G Kremsner, Maria Yazdanbakhsh, and Ayola Akim Adegnik. **Assessment of the effect of Schistosoma haematobium co infection on malaria parasites and immune responses in rural populations in Gabon: study protocol.** *SpringerPlus* 2014.
 - ✓ Camara M, Diop-Ndiaye H, Ba-Diallo A, Karam F, **Mbow M**, Faye A, Diop-Diop M, Diagne-Samb A, Toupane M, Mbengue AS, Toure Kane NC, Mboup S, Gaye-Diallo A. **Epidémiologie des souches de klebsiella pneumoniae productrices de bêta-lactamase à spectre élargi dans un hôpital universitaire au Sénégal 2011.** rev *CAMES VOL 1 N°2: dec 2013*.

Communications orales et présentations affichées

- ✓ Expression du pourcentage de CD4+CD25^{high} indépendante du taux de CD4 chez les sujets VIH-2. 2008. Dakar, Sénégal
- ✓ **Apport des nouveaux tests immunologiques dans le diagnostic de la tuberculose chez le dialysé.** 2009. Cotonou, Bénin.
- ✓ **Th17 cells are associated with pathology in human schistosomiasis.** Colloquium ITM 2012.
- ✓ **TB impacts T cell activation markers but not regulatory T cells during HIV-1 infection.** ASLM 2012, Cap Town, South Africa.
- ✓ **Changes in immunological profile as function of urbanization and lifestyle.** ASLM 2012, Cap Town, South Africa.

- ✓ **Functional characteristics of effector and recall NK cellular responses and their comparison with adaptive T cell responses in HIV-vaccinated subjects and risk populations.** Afri-Can Forum 2012, Entebbe, Uganda.
- ✓ **Th17 cells are associated with pathology in human schistosomiasis.** Doctoriales UCAD 2013, Dakar, Senegal.
- ✓ **Natural Killer cells of HIV-1 exposed but uninfected subjects exhibit recall responsiveness to HIV-1 peptides.** Conférence de la Société Internationale de l'Immunité Innée 2013, Heidelberg, Allemagne.
- ✓ **Natural Killer cells of HIV-1 exposed but uninfected subjects exhibit recall responsiveness to HIV-1 peptides.** CASA 2013, Cape Town, Afrique du Sud.

PERMIS D'IMPRIMER

VU

LE PRESIDENT DU JURY

VU

LE DOYEN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

LE RECTEUR DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR