HAL open science

Pertinence des méthodes vaccinales actuelles vis-à-vis de l'immunosénescence et nouvelles stratégies développées

Marc Devarieux

To cite this version:

Marc Devarieux. Pertinence des méthodes vaccinales actuelles vis-à-vis de l'immunosénescence et nouvelles stratégies développées. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02417769

HAL Id: dumas-02417769

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02417769v1

Submitted on 18 Dec 2019

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

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

Université de Bordeaux
UFR des Sciences Pharmaceutiques

Année 2020-5

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 11 octobre 2019 à Bordeaux par

Marc DEVARIEUX

Né le 18/07/1991

Pertinence des méthodes vaccinales actuelles vis-à-vis de l'immunosénescence et nouvelles stratégies développées

---

Directrice de thèse

Madame le Professeur Maria MAMANI - MATSUDA

Membres du Jury

Madame le Docteur Vanessa DESPLAT	Présidente
Madame le Docteur Jacqueline DULIN	Membre
Madame le Docteur Fabienne LUCCHESE	Membre

Remerciements **4**
Abréviations et acronymes **7**
Tables des figures **8**
Tableaux **10**
Introduction **11**

Partie I : La vaccination **13**
I. Introduction : 14
II. Bases immunologiques du fonctionnement d'un vaccin 15
1] Mécanismes de défense non spécifique (Immunité innée) 15
1.a) Reconnaissance et identification des pathogènes 15
1.b) Modulation de la réponse inflammatoire 16
2] Mécanismes de défense spécifique (Immunité adaptative) 17
2.1) CMH et présentation antigénique 17
2.2) Médiation cellulaire 17
2.2.a) Développement et devenir des lymphocytes T 17
2.2.b) Activation des cellules T 18
2.2.c) Sous populations de cellules T CD4, régulation et propriétés 19
2.2.d) Génération et activation des lymphocytes T cytotoxiques 21
2.2.e) Destruction des cellules cibles par les CTL 23
2.2.f) Mémoire lymphocytaire T 26
2.3) Médiation cellulaire 29
2.3.a) Développement et devenir des lymphocytes B 29
2.3.b) Les réponses cellulaires thymo-dépendante 30
2.3.c) Les réponses cellulaires thymo-indépendante 33
2.3.d) Les fonctions effectrices dépendantes des anticorps 33
2.3.e) Mémoire cellulaire B et principe de vaccination 35
III. Les différents types de vaccins 38
1) Vaccins vivants atténués 39
2) Vaccins avec microorganismes tués ou inactivés 40
3) Les vaccins sous-unités 40
4) Les vaccins à vecteurs recombinants 42
5) Vaccins à ADN 44
6) Utilité des vaccins conjugués ou multivalents 45
IV] Les adjuvants 46
1) le rôle d'un adjuvant 46
2) Les premiers adjuvants à base d'aluminium 48
2.1) Fonctionnement général 48
2.2) Adjuvants idéaux ? 49
3) Les nouveaux adjuvants 49
3.1) MF59 50
3.2) AS04 51
V] Conclusion : 52

Partie II : Immunosénescence et vaccination des sujets âgés **54**
I] Introduction 55
II] Vieillissement général et processus de base 56
1] Vue d'ensemble 56
2] Les caractéristiques du vieillissement 57
2.1) L'instabilité génomique 57
2.2) Attrition des télomères 58
2.3) Altérations épigénétiques 60
2.4) Perte de protéostase 62
2.5) Dérégulation de la détection des nutriments 64
2.6) Dysfonctionnement mitochondrial 65
2.7) La sénescence cellulaire 67
2.8) Epuisement des cellules souches 69
2.9) Altération de la communication cellulaire 71

3] Conclusion 71
III] Inflammaging 73
1) Origines de l'Inflammaging 74
1.1) Régulation par les polymorphismes nucléotidiques uniques 74
1.2) Stimulation virale chronique 74
1.3) La sénescence cellulaire 75
1.5) micro-ARN et ADNmt 76
1.6) Microbiote et perméabilité intestinale 77
IV] Immunosénescence 77
1) Conséquences sur l'immunité innée 77
1.1) Les neutrophiles 78
1.2) Les monocytes 78
1.3) Les cellules dendritiques, mastocytes, basophiles et éosinophiles 79
2) Conséquences sur l'immunité adaptative 79
2.1) Lymphocytes T : changements quantitatifs et qualitatifs 80
2.2) Vieillissement de la fonction cellulaire B 82
2.3) Signalisation altérée, modification des fonctions cellulaires 83
V] Nouveaux vaccins et limites actuelles 85
1) Etat des lieux 85
2) Savoir tirer leçon des réussites 86
3) Les 3 techniques actuelles pour renforcer la réponse immunitaire vaccinale chez le SA 87
3.1) Les vaccins à haute dose 87
3.2) La voie intradermique 87
3.3) Les nouveaux vaccins adjuvantés 88
4) AS01 et Zona, une grande réussite à venir ? 89
5) Les nouveaux enjeux 90
VI] Conclusion 91

Partie III: Avenir vaccinal 92
I] Introduction 93
II] L'avènement de la biologie systémique 93
1) Organiser 94
2) Analyser 96
2.1) Conception expérimentale 96
2.2) Sélection et modélisation des variables 97
2.3) Intégration des données 98
2.4) Bioinformatique 99
2.4.1) Réponse immunitaire innée et bioinformatique 100
2.4.2) Réponse immunitaire adaptative et bioinformatique 100
3) Utiliser et immuniser 101
III] Vers une immunité personnalisée ? 103
1) Immunobiographie et plasticité du SI 104
2) Immunobiographie, mémoire du SI et immunité formée 106
2.1) Une frontière entre immunité adaptative et innée de plus en plus floue 106
2.2) L'immunité formée 107
2.3) Acteurs certifiés et potentiels de l'immunité formée 107
2.4) Immunité et épigénétique formée 108
3) L'immunobiographie : une synthèse de l'immunosénescence, l'immunité formée et l'inflammation 110
4) Vaccinomique et vaccinologie personnalisée 112
4.1) Généralités 112
4.2) Polymorphisme du système HLA 114
4.3) Polymorphisme des gènes associés aux réponses immunitaires 116
4.4) Une balance avantage/défaut discutable 118
IV] Conclusion 120
Conclusion 122
Bibliographie 123

Remerciements

Madame le Professeur Maria MAMANI-MATSUDA,

Pour la patience que vous avez eu avec moi durant ces longs mois de préparation de thèse et l'honneur que vous m'avez fait d'accepter d'être mon maître de thèse.

Madame le Docteur Vanessa DESPLAT,

Vous me faîtes l'honneur d'accepter de présider ce jury de thèse. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Madame le Docteur Jacqueline DULIN,

Vous me faîtes l'honneur de siéger dans ce jury. Soyez assurée de ma gratitude et de mon profond respect.

Madame le Docteur Fabienne LUCCHESE,

Vous me faites l'honneur de siéger dans ce jury. Je vous en remercie sincèrement.

Aux pharmacies dans lesquelles j'ai travaillé,

A toute l'équipe de la Pharmacie du Port, particulièrement à Madame CASTAGNET, Monsieur DURAND et Monsieur EROLES pour vos enseignements durant mes premiers stages officinaux.

A Madame DEBLEDS, titulaire de la Pharmacie du Moulleau qui m'a donné ma première opportunité de travail lors de la saison estivale.

A toute l'équipe de la Pharmacie de Moscou, spécialement à Monsieur SUBRA qui a permis la réalisation de mon dernier stage de 6éme année.

A toute l'équipe de la Pharmacie Centrale d'Arcachon. Merci à Monsieur et Madame CONFAITS de m'avoir fait confiance pendant 2 ans et de m'avoir appris les bases du métier sur le terrain.

A mon meilleur ami,

Arthur, ami et frère de toujours, merci pour le courage que tu as eu toutes ces années afin de me supporter. J'espère m'améliorer avec les années et ainsi de rendre la confiance que tu as toujours placé en notre amitié. On va tout casser avec nos différents projets personnels, je n'en doute pas une seconde !

A ma copine,

Salomé ma chérie, pour tout le soutien que tu m'as apporté afin de finir cette thèse. Merci de faire chaque jour de moi un peu plus un homme qu'un adolescent. Je t'aime.

Au meilleur des binômes,

Louis mon ami, je ne sais pas ce que j'aurais fait toutes ces années sans ton aide durant les TP, les ED et les révisions. Ami fidèle, tu mériterais une statue !

A l'ensemble de mes bandes,

A l'ensemble du noyau dur de la KT : Crash, Fost, Teqzy, Gear, KmKz, Padam, Bâton, Wazay, Le Kid, AiirZ, Arrow, DayZ, Flaash, GvT, JageR, LiiGhT, Sayn, NeOs, Wiry, Freeman, Diamond, Klayd, Onex, Ryx, Thayko, Tsuday, Vrux, Xeru, Babar, Ezra, Hazok, Miix, Onex, Reqz, Rivers et WaAnT. Merci pour toutes ces belles années les gars. Grâce à vous, j'ai pu apprendre à construire et manager une équipe. Il y a eu des hauts et des bas mais je n'en retire que du positif ! Je vous aime, portez vous tous bien dans l'avenir quoi que vous fassiez.

A toute la PDG. Un nombre de soirées incalculables et de conneries inimaginables mais surtout de nombreux souvenirs en pagaille. Le temps passe et les PDG s'écriront sûrement d'une autre manière dans le futur mais je ne compte pas perdre ce qui nous lie tous, c'est promis.

Au Crew Nesspa. Spécialement à Tom, Pierre, Robin et Samy. Sans vous rien n'aurait été possible et j'espère toujours quelque part que le meilleur est à venir !

A ma communauté naissante de Beer Pong. Merci à tous les fidèles du projet, j'espère que l'amour du jeu et de la compétition nous permettra de continuer à faire de grandes choses dans le futur !

A toute ma famille,

Mes grands parents, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines, mon parrain et ma marraine, merci de m'avoir soutenu pour cette thèse.

A mes deux frères, PH et VL. On a tous les trois une vision de la vie assez différente, j'espère qu'on réussira tous les trois dans nos projets et que la famille sera ce qui nous réunira régulièrement. Pas le temps de niaiser ni de se disputer !

Merci papa de me laisser la possibilité d'explorer des chemins de traverse sans pour autant oublier de me rappeller à mes obligations. Merci maman pour tes conseils avisés, ils m'aident beaucoup et ont fait ce que je suis aujourd'hui même s'ils sont la majorité du temps en contradiction avec mes envies. La vie est une balance et vous me permettez de garder l'équilibre. Je vous aime.

Abréviations et acronymes

PRR	Récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires
AG	Antigène
PAMP	Motifs moléculaires associés aux pathogènes
TNF	Facteur de nécrose tumorale
IL	Interleukine
CAM	Molécule d'adhésion cellulaire
PNN	Polynucléaire Neutrophile
TLR	Récepteur de type Toll
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigène
CD	Cellule Dendritique
LB	Lymphocyte B
LT	Lymphocyte T
Th	Lymphocyte Auxiliaire
TCR	Récepteur des cellules T
BCR	Récepteur des cellules B
Ig	Immunoglobuline
FDC	Cellules folliculaires
BAAF	Facteur d'activation des cellules B
CSR	Commutation de classe
SHM	Hypermutation Somatique
MZ	Zone Marginale
TI	T-Indépendant
CTL	Lymphocyte T cytotoxique
CTL-P	Précurseur de Lymphocyte T cytotoxique
FADD	Protéine associé à Fas avec un domaine de mort
NK	Tueuse naturelle
ADCC	Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps
WNV	Virus de la fièvre du Nil occidental
Hib	Haemophilus influenzae de type b
VTI	Vaccins trivalents inactivés
CHMP	Comité des médicaments à usage humain
ECR	Essais comparatifs randomisés
VE	Efficacité du vaccin
VLP	Particules de type viral
HPV	Papillomavirus humain
SA	Sujet âgé
SNP	Polymorphismes nucléotidiques simples
ADNmt	ADN mitochondrial
MAVS	protéine mitochondriale de signalisation active
IGFBPs	Insuline-like growth factor binding protein
ROS	Espèces réactives d'oxygène
HSP	Protéines de choc thermique
GH	Hormone de croissance
IGF-1	Facteur de croissance analogue à l'insuline
IIS	Voie de signalisation de l'insuline et de l'IGF-1
ETC	Chaine de transport d'électrons
CSH	Cellules souches hématopoïétiques
CSM	Cellules souches mésenchymateuses
CSEI	Cellules souches épithéliales intestinales
CMV	Cytomégalovirus
HHVS	Virus de l'herpès humain persistant
SASP	Phénotype de sécrétion associée à la sénescence
DT2	Diabète de type 2
VAT	Tissu adipeux viscéral
Treg	Lymphocyte T régulateur
MiRs	Micro-ARNs
DAMP	Modèles moléculaires associés aux lésions
PI3K	Phosphoinositide 3 kinase
pDC	CD plasmocytoïdes
mDC	CD myéloïdes
LC	Cellules de Langerhans
GH	Hormone de croissance
AID	Enzyme de recombinaison de classe et d'hypermutation somatique
NF-AT	Facteur nucléaire des LT activés
SHP-1	Protéine tyrosine phosphatase
DUSP6	Phosphatase 6 spécifique double
GSH	Glutathion réduit
VZV	Virus varicelle zona
PHN	Névralgie post-herpétique
SIV	Virus de l'immunodéficience simienne
RAS	Résistance systémique acquise
CT	Télocytes
HLA	Antigènes des leucocytes humains
VHB	Virus de l'hépatite B
ROR	Vaccin contre la rougeole, oreillons, rubéole
TAP	Transporteur associé au traitement de l'antigène
IDH	L'isocitrate dehydrogenase mitochondrial

Tables des figures

Figure 1 : **Les récepteurs de l'immunité innée**

Figure 2 : **Evènements généraux et facteurs conduisant à la polarisation des sous-populations T_H**

Figure 3 : **Génération des CTL effecteurs**

Figure 4 : **« Baiser de la mort »**

Figure 5 : **Les deux voies d'apoptose des cellules cibles initiées par les CTL**

Figure 6 : **Modèle potentiel du développement des cellules T mémoires centrales et effectrices**

Figure 7 : **Maturation et sélection clonale des lymphocytes B**

Figure 8 : **Activation des cellules B**

Figure 9 : **Les quatre grandes catégories des fonctions effectrices des anticorps**

Figure 10 : **Concentration des isotypes des anticorps sécrétés contre un antigène au cours des réponses primaires et secondaire**

Figure 11 : **Production de vaccin utilisant comme vecteur la vaccine**

Figure 12 : **Un vaccin conjugué protecteur vis-à-vis de *l'Haemophilus influenzae* de type B (Hib)**

Figure 13 : **Les caractéristiques du vieillissement**

Figure 14 : **Modifications génomiques et systèmes de réparation**

Figure 15 : **Altérations épigénétiques**

Figure 16 : **Perte de protéostase**

Figure 17 : **Dérégulation de la détection des nutriments**

Figure 18 : **Dysfonctionnement mitochondrial**

Figure 19 : **La sénescence cellulaire**

Figure 20 : **Epuisement des cellules souches**

Figure 21 : **Interconnexions fonctionnelles entre les caractéristiques du vieillissement**

Figure 22 : **Involution thymique**

Figure 23 : **Une approche itérative de la biologie des systèmes pour le développement de vaccins**

Figure 24 : **Approche à deux volets de la biologie systémique pour comprendre la réponse au vaccin antigrippal chez les personnes âgées**

Figure 25 : **Application de la biologie systémique au développement de vaccins**

Figure 26 : **Immunobiographie individuelle**

Figure 27 : **Vaccinologie, technologies omiques et développement de vaccins**

Tableaux

Tableau 1 : **Régulation et fonction des sous-populations auxiliaires**

Tableau 2 : **Antigènes TD/TI et réponse humorale**

Tableau 3 : **Différences fonctionnelles entre cellules B naïves et cellules B à mémoire**

Tableau 4 : **Vaccins vivants atténués et maladies associées**

Tableau 5 : **Vaccins inactivés ou inertes, à cible virale ou bactérienne, entiers ou sous-unitaires et maladies associés**

Introduction

Les populations humaines de par le monde sont exposées en permanence à une multitude de pathogènes. En réponse à ces agresseurs potentiels la nature a su doter l'homme d'un système de protection très perfectionné permettant de lutter efficacement contre l'ensemble de ces menaces : le système immunitaire. Ce système s'articule autour de 2 organisations distinctes que sont l'immunité innée ; comprenant défense externe et interne ; ainsi qu'une immunité adaptative bien plus spécifique ; regroupant immunité humorale et cellulaire.

C'est la compréhension de l'ensemble de ce système et plus particulièrement de sa partie adaptative qui a permis à l'homme d'élaborer au fil des décennies une méthode toujours plus efficace de prévention des maladies : la vaccination. Pourtant cette méthode qui a plus que fait ses preuves dans l'histoire en fonctionnant pour l'ensemble des catégories de classes d'âge allant du nouveau-né à la personne âgée se retrouve confronté à un problème qui prend de l'importance avec le vieillissement de la population : l'immunosénescence.

La durée de vie est allongée dans les pays développés et on estime qu'au niveau mondial le nombre de personnes âgées de plus de 60 ans devrait plus que doubler d'ici 2050, passant ainsi de 901 millions en 2015 à 2,1 milliards en 2050 et de 125 millions en 2015 à 434 millions en 2050 concernant les personnes âgées de plus de 80 ans selon les Nations Unis.

Le système immunitaire n'a pas été conçu pour supporter une immunité efficace aussi longtemps et l'ensemble des mécanismes de l'immunosénescence ainsi que leurs incidences entrainent une efficacité plus faible des vaccins chez les personnes âgées dans la lutte contre les agents infectieux et les autres maladies.

Ce remodelage complexe et continu du système immunitaire est un véritable obstacle à la mise en place de vaccins efficaces spécifiques aux personnes âgées.

La communauté scientifique est bien consciente du défi qu'impose l'immunosénescence et une attention sans précédent est maintenant accordée au vieillissement associé à la longévité. C'est la compréhension des ces mécanismes, couplée à d'autres domaines d'activités, qui permettra à l'Homme d'identifier, de réparer ou de surmonter les obstacles au développement de réponses immunitaires protectrices qu'impose le vieillissement cellulaire.

La mise en place de nouvelles stratégies vaccinales découlera alors de notre capacité à tirer parti des connaissances intégrées ces dernières décennies et de celles qui seront acquises dans

les prochaines années, ceci afin d'obtenir un maintien optimal des performances immunologiques dans la dernière partie de notre vie.

Dans la première partie de ce travail, nous nous consacrerons à revoir le fonctionnement général du système immunitaire en regard de la vaccination. La bonne compréhension de ces mécanismes fondamentaux et du principe de la vaccination est capitale pour aborder les modifications et enjeux qu'amène l'immunosénescence.

La deuxième partie traitera de la sénescence dans son ensemble et plus particulièrement de l'immunosénescence. Nous verrons en quoi la sénescence est un phénomène global qui imbrique les différentes parties des systèmes biologiques avec un focus sur le système immunitaire. Cette dysrégulation pose alors la question de la pertinence des méthodes vaccinales actuelles mises en place chez le sujet âgé.

Nous terminerons alors par une dernière partie qui traitera de la réponse vaccinale chez le sujet âgé, des limites actuelles imposées par l'immunosénescence et plus largement du futur de la vaccination. Nous le savons, les nombreuses pathologies infectieuses et cancers affectant les personnes âgées demandent l'amélioration des vaccins actuels par l'amélioration des techniques existantes. L'ancien paradigme empirique « isolation, inactivation et injection » qui a permis la mise en place de quasiment tous nos vaccins n'est il pas arrivé à bout de souffle ? L'état actuel de nos connaissances sur l'ensemble des composantes des systèmes biologiques humains ne peut il pas nous permettre de concevoir des vaccins plus ciblés et efficaces ? Les vaccins personnalisés sont ils réellement la réponse adéquate au manque d'efficacité des vaccins actuels pour les personnes âgées ?

Partie I :
La vaccination

I. Introduction :

Les premières études en immunologie ont été menées afin de lutter contre les maladies infectieuses chez les humains. C'est ainsi que les premiers vaccins apparaissent avant même que les mécanismes immunitaires ne soient connus.

Procédé simple, la vaccination consiste à introduire chez un individu une préparation antigénique dérivée ou proche d'un agent infectieux déterminé, de manière à créer une réponse immunitaire capable de protéger l'individu contre la survenue d'une maladie liée à cet agent infectieux.

Historiquement, l'idée de transmettre une infection bénigne de manière à prévenir une infection plus grave est très ancienne. Jenner et Pasteur sont ainsi reconnus comme les immunologistes qui ont introduit la vaccination. L'utilisation de Jenner vers la fin du 18ème siècle de la vaccine afin de prévenir la variole est la première utilisation rationnelle organisée. Pasteur a ensuite l'idée d'atténuer la virulence du pathogène en laboratoire aboutissant ainsi à de nombreuses applications : vaccins contre le choléra des poules (1879), vaccins contre la maladie du charbon (1880), contre la rage (1885) etc.

La vaccination préventive a conduit au contrôle et à l'élimination de nombreuses maladies infectieuses qui auraient décimé des millions de vies. Ce sont les campagnes vaccinales mondiales mises en place par l'OMS qui ont permis le contrôle des 10 maladies infectieuses majeures (rougeole, oreillons, rubéole, typhoïde, tétanos, diphtérie, coqueluche, grippe, fièvre jaune et rage) et l'éradication de la variole.

Malgré ces succès, un travail complémentaire est attendu concernant les vaccins existants afin d'augmenter la sécurité d'emploi et l'efficacité, de diminuer le coût, de simplifier leur distribution et surtout d'améliorer le ciblage de certaines populations comme les personnes âgées.

Jusqu'à présent les vaccins étaient développés dans l'optique de prévenir des maladies infectieuses mais les nouvelles découvertes ouvrent la porte à l'utilisation des vaccins dans la prévention d'autres maladies telles que le cancer, les allergies ou les maladies auto-immunes. Le contexte de l'augmentation générale de l'espérance de vie contribuant à augmenter la susceptibilité infectieuse et à diminuer la réponse immune/vaccinale chez le sujet âgé nous amène à la nécessité de développer de nouveaux vaccins ou de nouvelles méthodes vaccinales plus performantes. C'est un enjeu majeur de santé publique.

Dans cette partie nous allons revoir succinctement le fonctionnement d'une réponse immunitaire en regard de la vaccination, les différents types de vaccins qui existent, les adjuvants existants et ceux en développement etc.
Toutes ces informations nous permettront de bien comprendre les enjeux qu'impliquent l'immunosénescence dans le développement de nouveaux vaccins chez les personnes âgées.

II. Bases immunologiques du fonctionnement d'un vaccin

La vaccination repose sur la notion de mémoire immunitaire ; elle permet la mise en place rapide de moyens de défense spécifique afin de réguler le développement de l'infection le plus rapidement possible.
L'efficacité d'un vaccin va alors dépendre de la réceptivité de l'hôte à l'agent immunogène, de sa capacité à stimuler les moyens de défense de son organisme mais également de l'adaptation de la réponse ainsi produite pour neutraliser l'agent infectieux.

1] Mécanismes de défense non spécifique (Immunité innée)

1.a) Reconnaissance et identification des pathogènes

Les pathogènes et par extension les produits vaccinaux doivent d'abord franchir les barrières naturelles du corps qui l'isolent du milieu extérieur (peau, muqueuse etc.)
Une fois ces obstacles franchis, les leucocytes phagocytaires vont reconnaître ces agents infectieux par l'intermédiaire de récepteurs cellulaires PRR (*récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires*) qui sont capables de reconnaître des motifs moléculaires caractéristiques des pathogènes PAMP (*Motif moléculaire associé aux pathogènes*) (voir figure 1).
A la suite de cette reconnaissance, la pathogène sera alors phagocyté par la cellule et à l'origine du signal danger. Ce signal activera la réponse inflammatoire sur le lieu de la rencontre avec le pathogène qui sera stimulée par l'action de médiateurs tels que les cytokines.

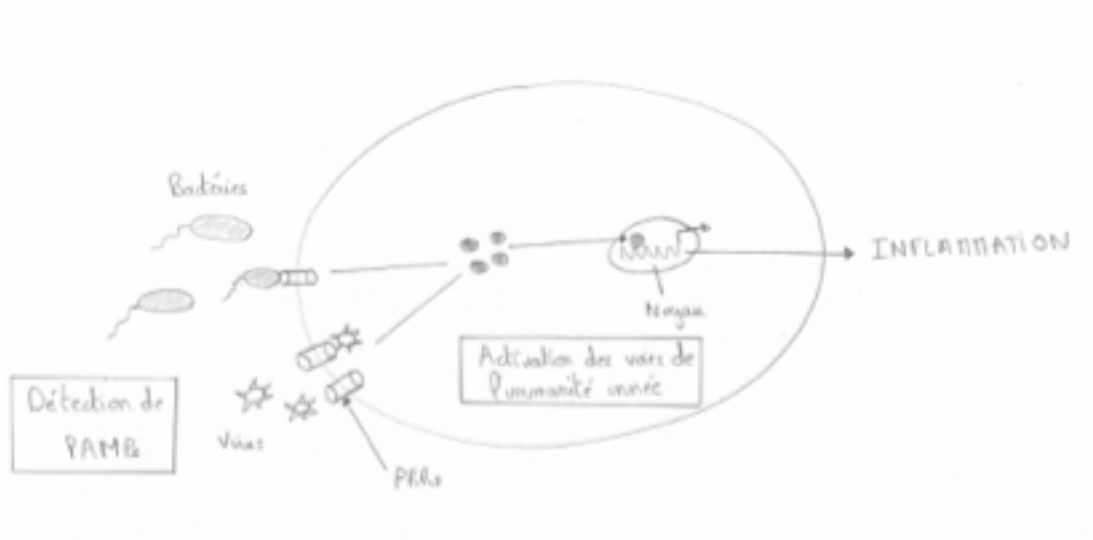

Figure 1 : Les récepteurs de l'immunité innée. Les PAMPs sont reconnus par les cellules du système immunitaire résidant dans les tissus (mastocytes, macrophages et cellules dendritiques (CD) tissulaires) exprimant des récepteurs de type PRR. Ils déclenchent l'activation de ces cellules qui sécrètent alors des médiateurs de l'inflammation (histamine, cytokines pro-inflammatoires, chimiokines, dérivé lipidiques par exemple).

1.b) Modulation de la réponse inflammatoire

La réponse inflammatoire va se caractériser par une augmentation du diamètre vasculaire et de la perméabilité membranaire, entrainant un échauffement et un rougissement du tissu concerné ainsi qu'un œdème.

Tous ces signes généraux vont refléter l'activation d'un signal de danger induit par les interactions PAMP-PRR des cellules résidentes amenant par la suite la libération de différents types de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-12), anti-inflammatoires (IL-10, TNF-β), de chimiokines et IL-8, des prostaglandines, d'histamine et d'autres médiateurs solubles à proximité de la blessure ou de l'infection.

Tous ces facteurs vont agir sur les cellules endothéliales vasculaires des vaisseaux sanguins à proximité en augmentant la perméabilité vasculaire, l'expression de molécules d'adhésion cellulaire CAM (Cell Adhesion Molecules) et de certaines chimiokines. Ainsi les cellules circulantes capillaires vont adhérer aux cellules endothéliales vasculaires de la région enflammée, attirées par des chimioattractants et grâce à l'expression de molécules d'adhésion. Les polynucléaires neutrophiles (PNN) seront les premiers à faire cette extravasation suivis des monocytes qui se différencieront en macrophages et participeront au recrutement des

cellules dendritiques qui permettront par la suite la mise en place de l'immunité adaptative qui est essentielle dans la vaccination.

2] Mécanismes de défense spécifique (Immunité adaptative)

A la suite de la reconnaissance d'agents infectieux par le système immunitaire innée, l'immunité adaptative se déclenche. Ce nouveau mécanisme va permettre d'amplifier la réponse immunitaire en apportant une réponse spécifique à l'antigène ainsi qu'entraîner la mise en place d'une mémoire qui permettra une élimination plus efficace du même pathogène à la suite d'une nouvelle rencontre avec ce dernier.

2.1) CMH et présentation antigénique

La présentation des antigènes extracellulaires et intracellulaires se fait par l'intermédiaire de glycoprotéines présentes au niveau des membranes plasmiques que l'on appelle molécules du CMH ou complexe majeur d'histocompatibilité. Ces glycoprotéines permettent la reconnaissance des marqueurs du soi.
Ainsi les cellules de l'organisme peuvent présenter des antigènes intracellulaires par l'intermédiaire des molécules du CMH de classe I, molécules exprimées par la majorité des cellules de l'organisme.
Les antigènes extracellulaires quant à eux sont présentés seulement par une catégorie bien précise de cellules immunitaires que l'on appelle les cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Les CPA regroupent les cellules dendritiques (CD), les macrophages et les lymphocytes B (LB).
Une fois cette reconnaissance faite, deux médiations vont se mettre en place :
- la médiation humorale par l'intermédiaire des lymphocytes B
- la médiation cellulaire par l'intermédiaire des lymphocytes T

2.2) Médiation cellulaire

2.2.a) Développement et devenir des lymphocytes T

Les lymphocytes T (LT) jouent un rôle primordial dans la réponse immunitaire secondaire. Le « T » provient de l'abréviation de thymus, organe clé dans lequel ils sont produits et qui subit une réduction au cours de la vie comme nous le verrons dans la partie II. Leur développement

commence à l'intérieur de ce dernier à partir d'un petit nombre de précurseurs lymphoïdes ayant migré depuis la moelle osseuse et le sang. Ces précurseurs prolifèrent alors, se différencient et subissent des processus de sélection aboutissant au développement de LT matures.

Les cellules T naïves vont ainsi être réparties en 2 grandes familles :
- **Les cellules T CD8** qui reconnaissent les CMH de classe I complexés au peptide, exprimés par la majorité des cellules du corps humain, deviennent des cellules cytotoxiques ayant la capacité de détruire les cellules infectées.
- **Les cellules T CD4** qui reconnaissent les complexes CMH II-peptide exprimés par les CPA, se différencient en cellules T auxiliaires (T_H pour T *helper*) ou régulatrices (T reg), sécrétrices de cytokines qui régulent positivement ou négativement les cellules impliquées dans l'élimination de l'infection (cellules B, macrophages et autres cellules).

2.2.b) Activation des cellules T

L'activation des LT est un événement primordial dans la mise en place de la réponse immune adaptative. Cela résulte d'une interaction au sein du tissu lymphoïde secondaire entre une cellule T naïve et une CPA, plus particulièrement avec une cellule dendritique (voir figure 2). L'activation de ces cellules T naïves conduit à la différenciation en cellules effectrices qui régulent la réponse au pathogène et en cellules T mémoires persistantes, garantes d'une réponse rapide et forte à la suite d'une future infection engendrée par le même pathogène.
Trois signaux distincts vont être nécessaires pour induire l'activation, la prolifération et la différenciation des cellules T naïves :
- **Le signal 1** généré par l'interaction entre des complexes TCR-CD3 et CMH-peptide présenté par la CPA.
- **Le signal 2** est un signal de costimulation qui provient de l'interaction entre les molécules B7 exprimées par les CPA et les molécules de costimulation positives exprimées par les cellules T telles que CD28 et ICOS (*Inductible COStimulator*)
- **le signal 3** est délivré par des cytokines solubles et joue un rôle déterminant dans l'orientation du type d'effecteur que va devenir une cellule T.

En l'absence de signal de costimulation (signal 2), l'engagement du TCR entraine une inactivité cellulaire ou son anergie clonale.

2.2.c) Sous populations de cellules T CD4, régulation et propriétés

	Cytokines polarisantes	**Régulateur de gène principal**	**Cytokines effectrices**	**Fonctions**
T_H1	IL-12 IFN-γ IL-18	T-Bet	IFN-γ TNF	- Augmente l'activité des CPA - Augmente l'activation des CTL - Protège contre les pathogènes intracellulaires Impliqué dans la réponse d'hypersensibilité retardée, l'auto-immunité
T_H2	IL-4	GATA-3	IL-4 IL-5 IL-13	- Protège contre les pathogènes extracellulaires (surtout la réponse IgE) impliqué dans l'allergie
T_H17	TGF-β IL-6 (IL-23)	RORγt	IL-17A IL-17F IL-22	- Protège contre certaines infections fongiques et bactériennes - Contribue à l'inflammation, à l'auto-immunité
T_{REG}	TGF-β IL-2	FoxP3	IL-10 TGF-β	- Inhibe l'inflammation
T_{FH}	IL-6 IL-21	Bcl-6	IL-4 IL-21	- Aide aux lymphocytes B dans les follicules et les centres germinatifs

Tableau 1 : Régulation et fonction des sous-populations auxiliaires

Ce tableau synthétise une majeure partie de l'information connue à ce jour et les caractéristiques distinctives de la différenciation et de l'activité des sous-populations auxiliaires. Les cytokines polarisantes, les régulateurs transcriptionnels clés, les cytokines

effectrices, et les grandes fonctions dans l'homéostasie et la maladie sont indiquées pour chacune des sous-populations principales.

Les cytokines générées au cours de la réponse vont entraîner la mise en place d'un destin fonctionnel propre à différentes sous populations de cellule T (Tableau 1). Ces cytokines sont nommées cytokines polarisantes dans la mesure où elles sont responsables de l'orientation d'un LT vers l'une des différentes voies effectrices.

Les cytokines polarisantes peuvent être sécrétées par :
- La CPA stimulante
- Les cellules avoisinantes qui ont également été activées par le pathogène

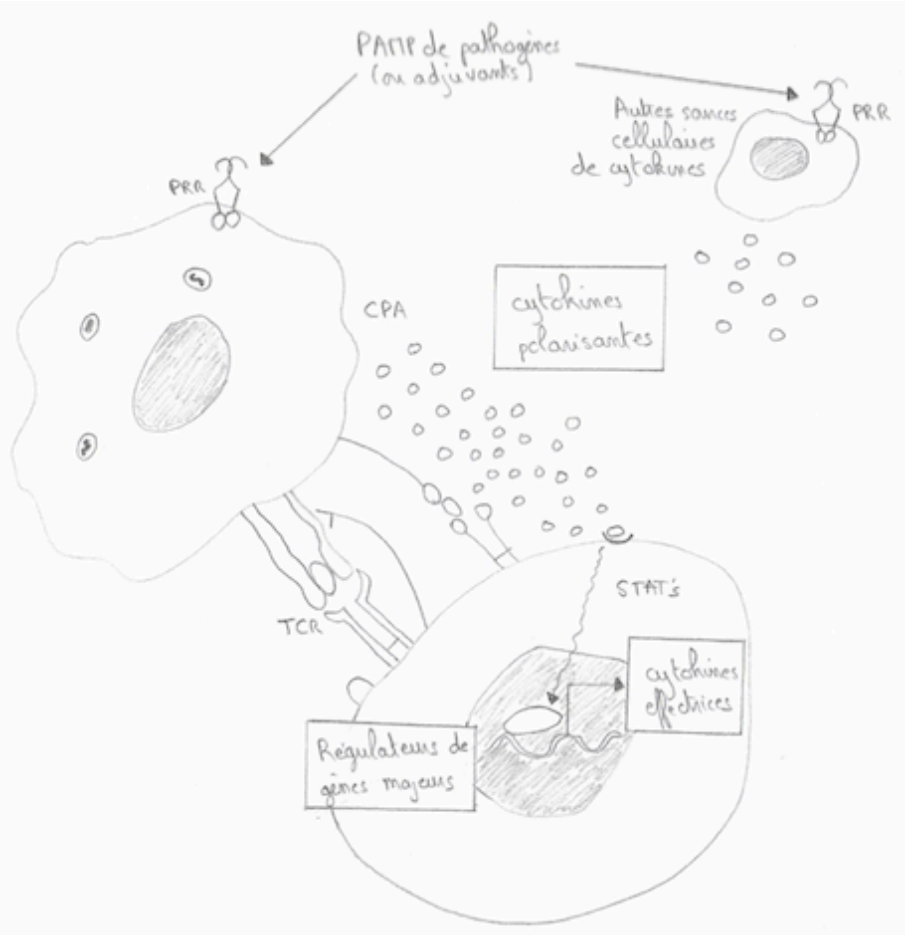

Figure 2. Evènements généraux et facteurs conduisant à la polarisation des sous-populations Th. L'interaction d'un pathogène avec des récepteurs de reconnaissance des signatures (PRRs) sur les cellules dendritiques et d'autres cellules immunitaires à proximité détermine la nature des cytokines produites, et par conséquent, en quelle sous-population auxiliaire une cellule T naïve va se

différencier. En général, les cytokines polarisantes issues des cellules dendritiques ou des cellules avoisinantes interagissent avec leurs récepteurs et induisent un signal qui provoque la transcription d'un régulateur génique clé. Ces régulateurs, en retour, régulent l'expression de divers gènes, incluant ceux des cytokines effectrices, ce qui définira la fonction de chaque sous-population.

A tout cela se rajoute une notion de **régulation croisée** : les sous populations de LT auxiliaires se régulent réciproquement. L'ensemble des cytokines qu'elles sécrètent typiquement augmentent leur propre différenciation, leur expansion et inhibent leur engagement vers les autres lignées auxiliaires T. Les lignées auxiliaires peuvent ne pas être figées, certaines sous-populations peuvent présenter le profil de sécrétion d'autres sous-populations si elles sont exposées à un ensemble différent de cytokines, en particulier tôt dans le processus de différenciation.
Cet équilibre cytokinique est très important et tout bouleversement de ce dernier aurait des répercussions sur l'ensemble de la réponse immunitaire. La bonne compréhension de cet équilibre est donc capitale si on veut essayer de favoriser tel ou tel type de réponse chez la personne âgée dans un cadre vaccinal par exemple.

2.2.d) Génération et activation des lymphocytes T cytotoxiques

Les réponses immunitaires à médiation T peuvent être divisées en 2 catégories majeures en fonction des différentes populations qui sont recrutées : les cellules T auxiliaires que nous avons vu précédemment et les lymphocytes T cytotoxique.
La réponse immunitaire médiée par les CTL ou cellules Tc (lymphocytes T cytotoxiques) peut être divisée en 2 phases :
- Une 1ère phase durant laquelle les cellules Tc naïves s'activent et se différencient en CTL fonctionnels dans les tissus lymphoïdes secondaires (figure 3).
- une 2ème phase durant laquelle les CTL effecteurs reconnaissent les complexes CMH de classe I-antigène sur les cellules cibles spécifiques en périphérie, événement qui provoque finalement la destruction des cellules cibles. Les CTL sont $CD8^+$ et sont donc restreints au CMH de classe I. Etant donné que pratiquement toutes les cellules nucléées de l'organisme expriment des molécules du CMH de classe I, un CTL peut reconnaître et éliminer presque n'importe quelle cellule du corps qui présente un antigène spécifique, reconnu par le CTL, et associé à une molécule au CMH de classe I.

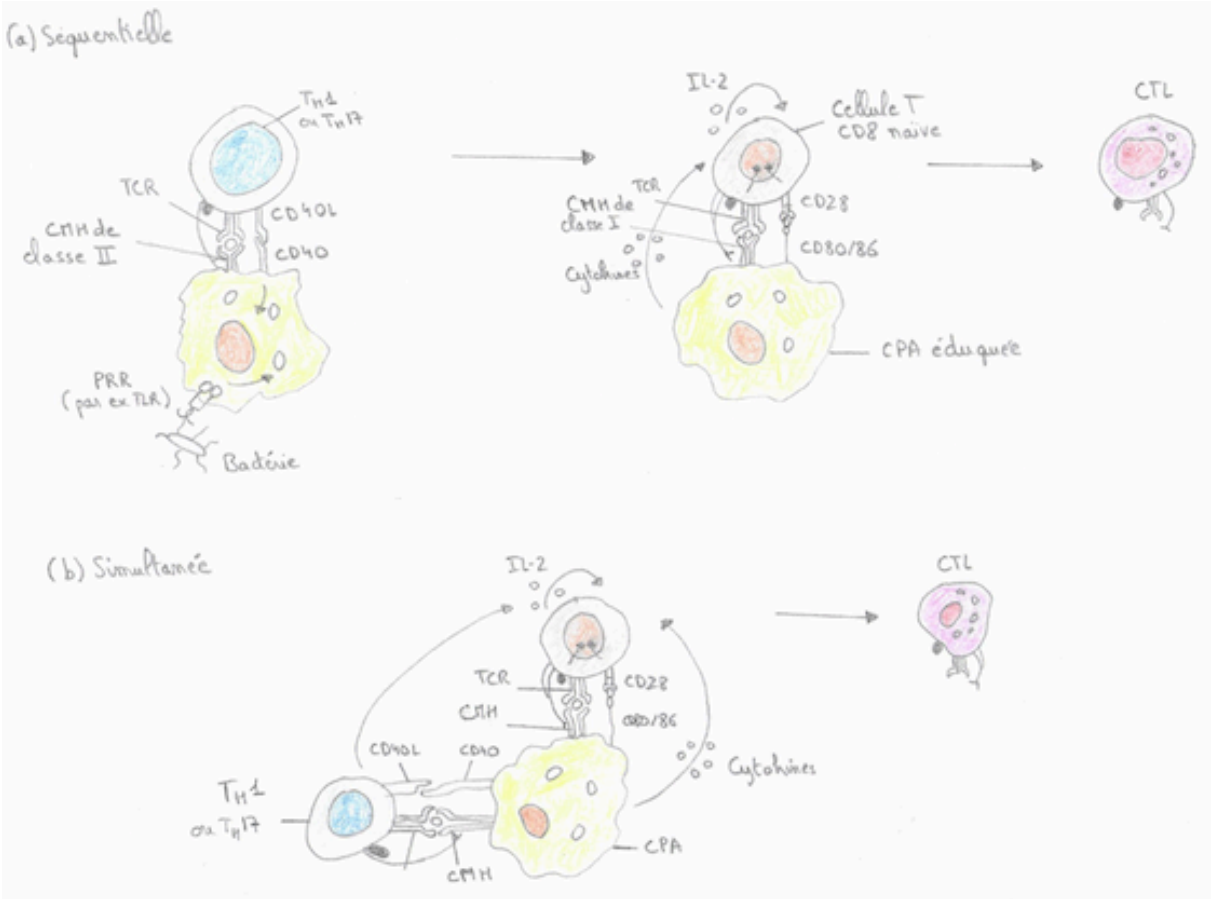

Figure 3. Génération des CTL effecteurs. La différenciation d'un lymphocyte T CD8 naïf (un précurseur de CTL) en un CTL fonctionnel nécessite plusieurs événements. Le précurseur de CTL doit reconnaître les complexes CMH de classe I-peptide et les ligands de costimulation présents sur la cellule présentatrice d'antigène « éduquée » (cellules dendritiques). L'éducation des cellules dendritiques se fait soit par contact avec une cellule T auxiliaire $CD40^+$ activée (T_H1 ou T_H17 par exemple), soit par reconnaissance des agents pathogènes (par exemple, via des TLR). Pour une prolifération optimale et la génération d'une mémoire, l'aide des cellules T CD4 est nécessaire. L'aide des cellules T CD4 peut intervenir avant la reconnaissance de la CD par le CTL, comme représenté en (a). Elle peut également être donnée en même temps que le précurseur de CTL se lie à la CD (b). L'engagement simultané d'une CD par les cellules T CD4 auxiliaires et les précurseurs des cellules CD8 permettrait une production optimale d'IL-2 générée par les cellules T CD4. En réponse à la stimulation du TCR, les précurseurs des CTL augmentent l'expression du récepteur de l'IL-2 à leur surface (produisent de façon plus importante leur propre IL-2). L'IL-2 est essentielle pour la différenciation en CTL fonctionnelle.

2.2.e) Destruction des cellules cibles par les CTL

Le CTL a la capacité de tuer une cible de 2 manières différentes : soit via la libération dirigée du contenu des granules, soit via la cascade de signalisation suite à l'interaction Fas-FasL au niveau de la membrane. Ces deux processus induisent l'apoptose de la cellule cible dans les heures qui suivent le contact avec la cellule cytotoxique.

L'action cytotoxique des CTL implique une séquence d'événements qui commence lorsque la cellule cytotoxique se lie à la cellule cible et forme un conjugué cellule-cellule surnommé le « baiser de la mort » (voir figure 4)

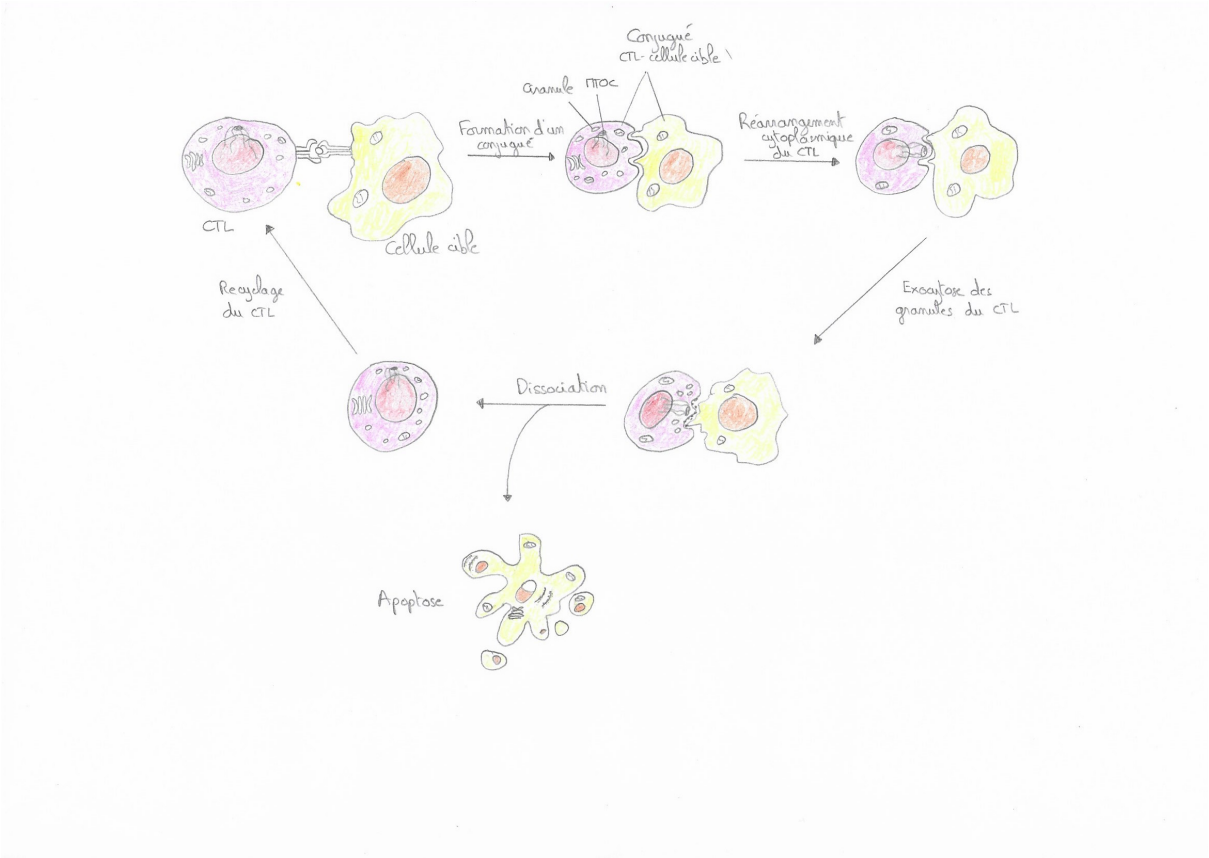

Figure 4. « Baiser de la mort » Les récepteurs des cellules T d'un CTL interagissent avec le complexe antigène-molécule de CMH de classe I d'une cellule cible, ce qui conduit à la formation d'un conjugué CTL-cellule cible. Le centre organisateur des microtubules (MTOC) se déplace au site de l'interaction, repositionnant l'appareil de Golgi et les granules vers le point de contact avec la cellule cible où le contenu des granules est libéré par exocytose. Après dissociation du conjugué, le CTL est recyclé et la cellule cible meurt par apoptose.

Granzyme et perforine

De nombreux CTL initient la mort de leurs cibles via la sécrétion de molécules pro-apoptotiques. Ces molécules sont contenues dans les granules et peuvent être visualisées par microscopie. Les granules des CTL contiennent donc des protéines formant des pores appelés **perforines** et des protéases à sérines appelées **granzymes** (ou **fragmentines**). Les précurseurs des CTL (CTL-P) ne possèdent pas de granules cytoplasmiques de perforine ; cependant on remarque qu'après activation, ils commencent à fabriquer des granules cytoplasmiques qui contiennent des monomères de perforine et des molécules de granzyme. Quasiment immédiatement après la formation de conjugués, les granules des CTL qui contiennent des molécules de granzyme et de perforine sont transportés au niveau du site d'interaction entre la cellule tueuse et la cible par l'action du MTOC. La fusion des vésicules va amener la libération des monomères de perforine et des granzymes dans l'espace de jonction des deux cellules.

Une fois que les perforines entrent en contact avec la membrane de la cellule cible, ils subissent un changement de conformation qui expose un domaine amphipatique (à la fois hydrophile et hydrophobe) qui s'insère dans la membrane de la cellule cible. Ces monomères vont alors se polymériser grâce à la présence du Ca^{2+} afin de former des pores cylindriques d'un diamètre intérieur de 5 à 20 nm.

D'un autre côté il est admis maintenant que les granzymes pénètrent dans la cellule cible par un mécanisme d'endocytose et non pas par l'intermédiaire des perforines. Les vésicules endocytées portent ainsi en elles des perforines qui permettront la libération du granzyme B dans le cytoplasme de la cellule cible. Une fois dans le cytoplasme, le granzyme déclenche une cascade de réactions qui aboutit à la fragmentation de l'ADN des cellules cibles entraînant l'apoptose.

Cytotoxicité effectuée par Fas

Certaines lignées de CTL n'ont ni perforines ni granzymes. Dans ces cas la cytotoxicité est effectuée par Fas (CD95). Cette protéine transmembranaire, membre de la famille des récepteurs du TNF, peut délivrer un signal de mort lorsqu'elle se lie à son ligand naturel, qui est un membre de la famille des facteurs de nécrose tissulaire appelé ligand du Fas (FasL). FasL est rencontré sur la membrane des CTL et l'interaction de FasL et de Fas sur la cellule cible déclenche l'apoptose (voir figure 5).

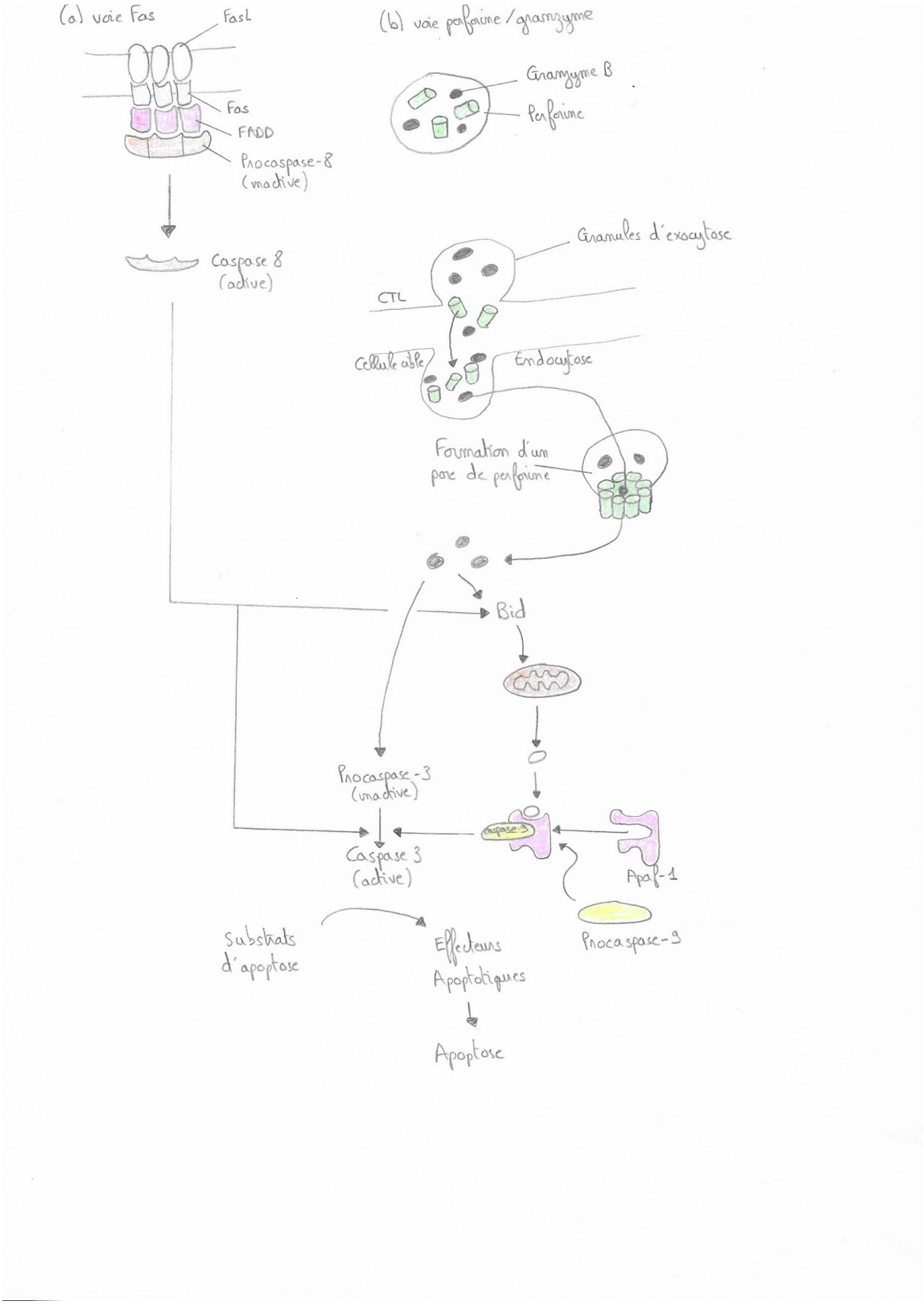

Figure 5. Les deux voies d'apoptose des cellules cibles initiées par les CTL. La liaison des unités trimériques de Fas des CTL par Fas ligand entraine l'association de Fas avec la molécule adaptatrice

FADD (Fas-Associated Protein with Death Domain), qui à son tour induit une série de réactions qui activent une cascade de caspases aboutissant à l'apoptose de la cellule cible. Le granzyme B clive et active bid, membre pro-apoptotique de la famille de bcl-2, stimule le relargage du cytochrome c par la mitochondrie ce qui active les voies de mort ; il peut également cliver et activer partiellement la caspase-3. Le relargage du cytochrome c et l'activation de la caspase 3 sont requis tous les deux pour initier une cascade de caspases résultant en la mort de la cellule.

2.2.f) Mémoire lymphocytaire T

L'activation des lymphocytes T induit la prolifération des lymphocytes et la génération de cellules effectrices, puis le nombre de cellules T se contracte grandement. 90% des cellules effectrices meurent par apoptose après élimination du pathogène laissant une population de lymphocytes T mémoires spécifiques. Ces Lymphocytes mémoires survivent longtemps dans un état quiescent mais ils répondent plus fortement à une nouvelle stimulation par le même antigène. La réponse immunitaire mémoire engendrée sera donc plus rapide, plus intense et donc plus efficace que la réponse primaire.
Sur une base de localisation, phénotypage et fonction, on peut distinguer 2 sous populations mémoires :
- Les lymphocytes T centraux mémoires (T_{CM})
- Les lymphocytes T effecteurs mémoires (T_{EM})

<u>Localisation et engagement vers des fonctions effectrices des T_{CM} et T_{EM} :</u>

Quand un lymphocyte T naïf prolifère suite à sa rencontre avec un antigène dont il est spécifique, seul 10% des cellules ainsi produites se différencient en T_{CM} ou T_{EM}.
Les T_{CM} ainsi générées migrent vers les tissus lymphoïdes secondaires et y résident. Leur survie et leur capacité de prolifération sont alors plus importantes que les T_{EM}. A la suite de la deuxième rencontre avec le pathogène, l'activation et la différentiation en différents sous types de lymphocytes T effecteurs en fonction de l'environnement cytokinique est rapide.
Les T_{EM} migrent et circulent entre les tissus tertiaires (dont la peau, poumons, foie et intestin). L'avantage d'être déjà engagé dans une voie effectrice lors de la réponse primaire va leur permettre, selon leur localisation, de constituer une première ligne de défense en cas de réinfection, exerçant ainsi rapidement leurs fonctions effectrices après réactivation par le pathogène reconnu.

L'étude de la diversité et des variations entre ces deux sous-types cellulaires permettra à terme une meilleure compréhension de la mémoire lymphocytaire T. Ces études sur les cellules mémoires sont un enjeu crucial vis à vis de notre capacité à développer des vaccins plus efficaces.

Origine et apparition des cellules mémoires :

Les seules certitudes concernent le fait que ces cellules apparaissent très précocement dans une réponse immunitaire (dans les 3 jours par exemple) mais la cellule originelle de cette mémoire reste controversée.
Plusieurs possibilités sont étudiées (voir figure 6) :
- Les cellules mémoires apparaissent dès l'activation de cellules naïves.
- Les cellules mémoires dérivent de cellules naïves plus différenciées.
- L'activation d'un lymphocyte T naïf génère une « cellule mémoire souche » qui va s'auto-renouveler et donner naissance aux populations effectrices mémoires.

La relation entre T_{CM} et T_{EM} est également discutée. Elles pourraient respectivement provenir des cellules naïves et effectrices ou provenir les unes des autres.

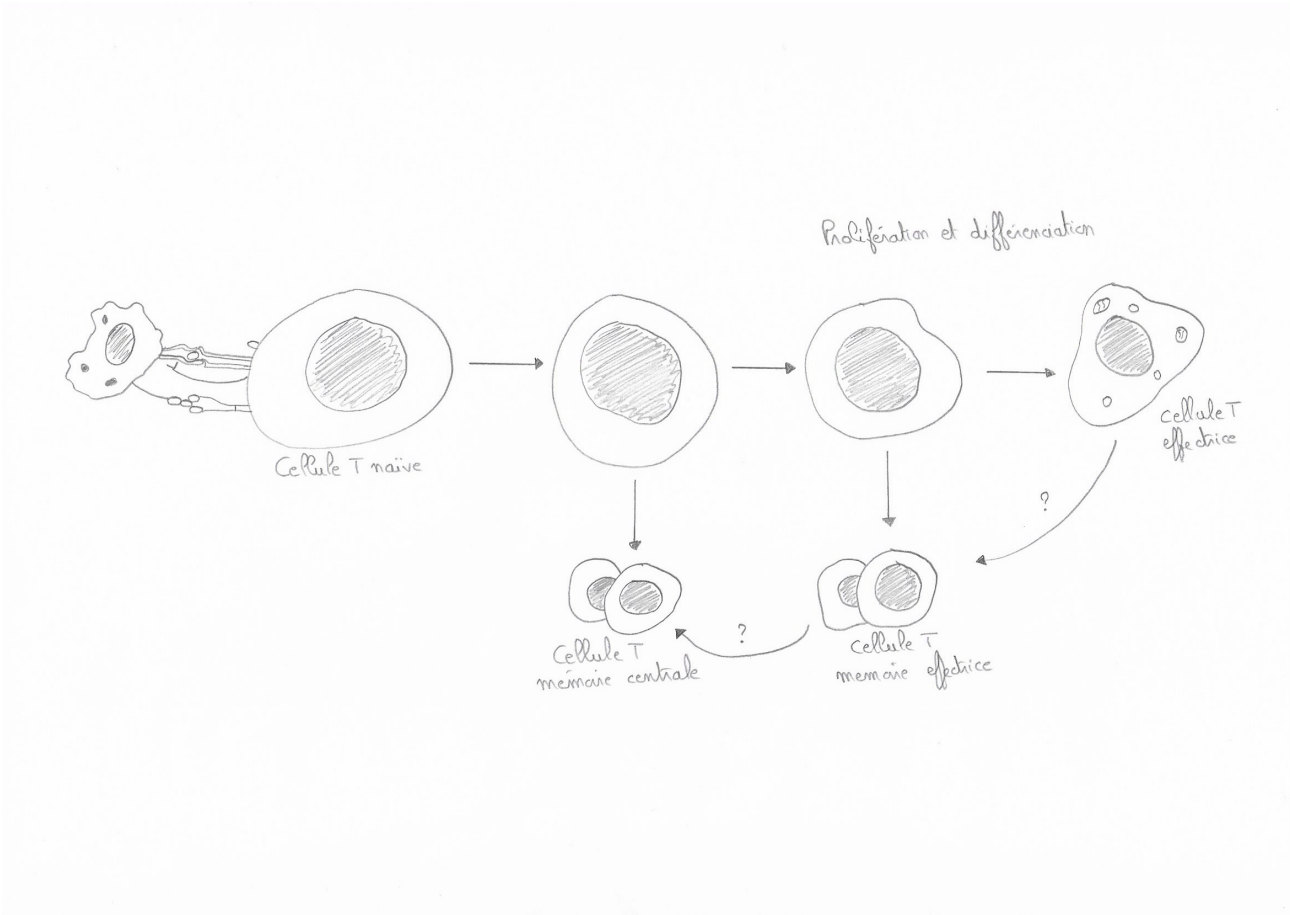

Figure 6. Modèle potentiel du développement des cellules T mémoires centrales et effectrices. Ce modèle, un de ceux avancés parmi d'autres suggère que les cellules mémoires centrales se développent juste après l'activation des cellules naïves, peut être dès les premières divisions. Les cellules T mémoires effectrices apparaitraient à un stade plus tardif, après des divisions successives des progénitures et l'acquisition par ces dernières de caractéristiques de cellules effectrices. Ce modèle n'exclut pas les possibilités que quelques cellules mémoires effectrices complètement différenciées et que les cellules T mémoires effectrices puisent se développer au sein des cellules T mémoires centrales[1].

Survie des cellules mémoires :

La survie des cellules mémoires s'étend sur plusieurs années et dépend de la présence de cytokines qui induiraient des divisions basales en un processus nommé prolifération homéostatique. Il maintiendrait ainsi la taille du pool de cellules mémoires en compensant les événements apoptotiques par des divisions cellulaires.

On sait aujourd'hui que l'IL-7 et IL-15 sont importantes pour déclencher une prolifération homéostatique mais leur action au niveau des populations lymphocytaires T CD4 et CD8 n'est pas encore bien établie.

2.3) Médiation cellulaire

2.3.a) Développement et devenir des lymphocytes B

Les lymphocytes B, ou cellules B, sont des cellules produites dans la moelle osseuse (voir figure 7), et qui circulent dans le sang et la lymphe pour participer aux défenses naturelles de l'organisme.
Ils participent à la réponse adaptative, entrainant donc une réponse spécifique. Cette spécificité leur est conférée par l'intermédiaire de récepteurs membranaires que l'on nomme BCR (*B-cell receptor*) qui à l'instar des récepteurs TCR des LT permet une reconnaissance des antigènes.

Une fois activées, les cellules B sont responsables de l'immunité humorale et fabriquent des immunoglobulines que l'on appelle anticorps. Les anticorps appartiennent à la superfamille des immunoglobulines qui, une fois sécrétés, peuvent protéger l'hôte de différentes manières contre les effets délétères des infections virales, bactériennes ou parasitaires.

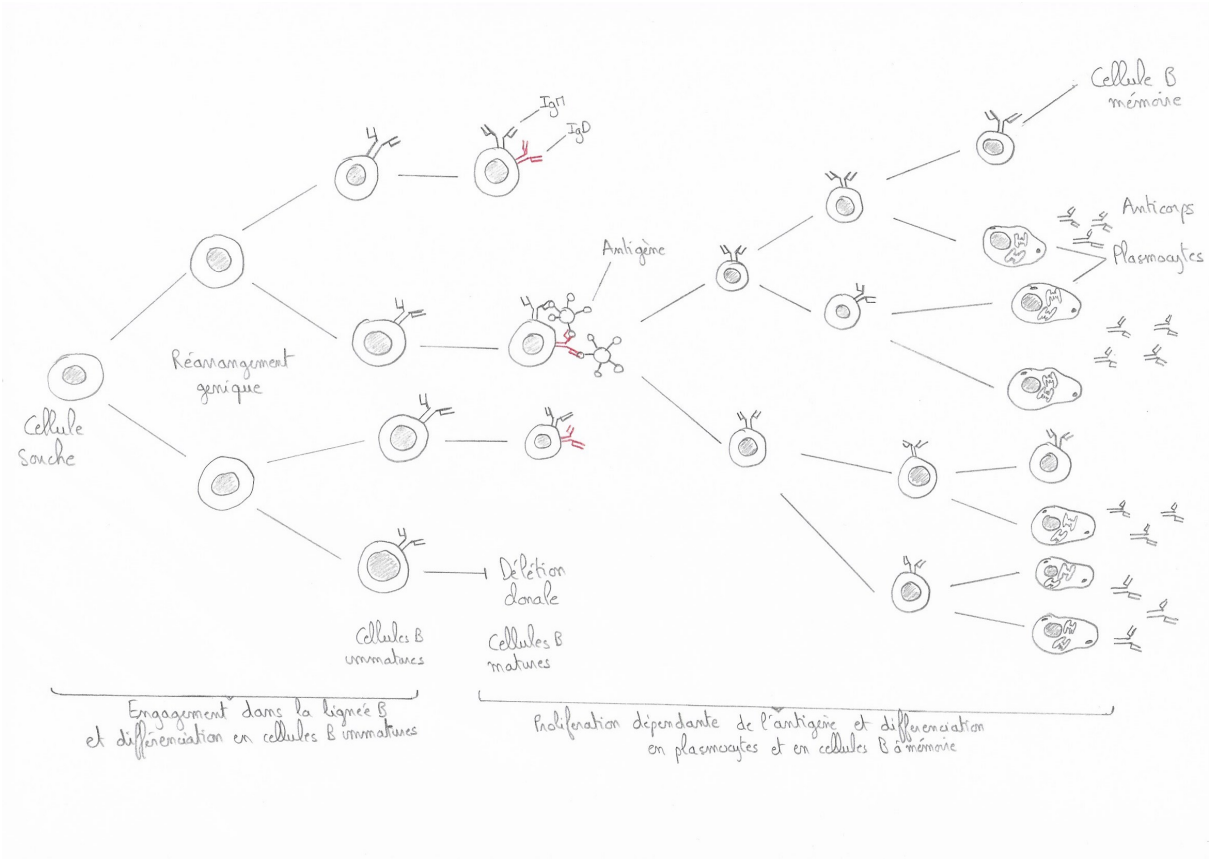

Figure 7. Maturation et sélection clonale des lymphocytes B. Le développement des lymphocytes B, qui se produit en l'absence de l'antigène, aboutit d'abord à des cellules B immatures portant un récepteur de classe IgM. Chaque cellule B arbore un récepteur de spécificité unique. Toute cellule B dont le récepteur reconnaît un auto-antigène exprimé dans la moelle osseuse est éliminée au stade immature. Les cellules B dont le récepteur n'est pas auto réactif deviennent matures et expriment en parallèle un récepteur de classe IgM et de classe IgD, avant d'être envoyés à la périphérie où elles recirculent à travers les compartiments sanguin et lymphatique, et les organes lymphoïdes. La sélection clonale se produit lorsqu'un antigène se lie à une cellule B portant un récepteur spécifique de celui-ci. L'expansion clonale d'une cellule B activée par l'antigène conduit à un clone de cellule B effectrices et de cellules B à mémoire qui sont toutes spécifiques de l'antigène d'origine. La cellule effectrice, appelée plasmocyte, sécrète un anticorps qui interagit avec cet antigène.

2.3.b) Les réponses cellulaires thymo-dépendante

Une fois la maturation des cellules B terminée, ces cellules vont gagner les follicules lymphoïdes attirées par l'interaction entre la chimiokine CXCL13 (sécrétée par les cellules folliculaires (FDC)), et son récepteur CXCR5 exprimé à la surface des cellules B.

La survie de ces cellules B dans les follicules va dépendre de l'accès au BAFF (*Facteur d'activation des cellules B*) sécrétée par les FDC et également par de nombreuses autres

cellules immunitaires comme les neutrophiles, macrophages, monocytes et les cellules dendritiques. Les cellules B matures qui ne peuvent se procurer en quantité assez importante de BAAF meurent par apoptose.

Au départ d'une réponse humorale thymo-dépendante, une cellule B se lie à un antigène grâce à son BCR. Une partie des molécules d'antigène est internalisée par les cellules B au sein de vésicules spécialisées ; elles y sont apprêtées pour être réexposées en surface sous forme de peptides présentés dans le sillon des molécules du CMH de classe II. Les cellules T précédemment activées par des cellules dendritiques présentant le même antigène se lient aux complexes CMH-peptide portés par la cellule B. Cela va induire une polarisation de l'appareil sécrétoire des cellules T, de telle sorte qu'elles délivrent leurs cytokines activatrices directement à l'interface entre les cellules T et B. De nombreuses autres interactions vont se mettre en place entre molécules accessoires à la surface des deux cellules, ce qui renforce leur liaison et produit des signaux supplémentaires.
Une fois la cellule B ayant intégré les signaux d'activation de par son BCR (avec également ceux provenant de ses différents récepteurs de cytokines et autres co-récepteurs), elle va migrer vers des régions spécialisées des ganglions lymphatiques ou de la rate pour s'y différencier en plasmocyte. Une partie des cellules B activées migre alors à la frontière des zones T et B, où elles forment des grappes appelées foyers primaires (voir figure 8).

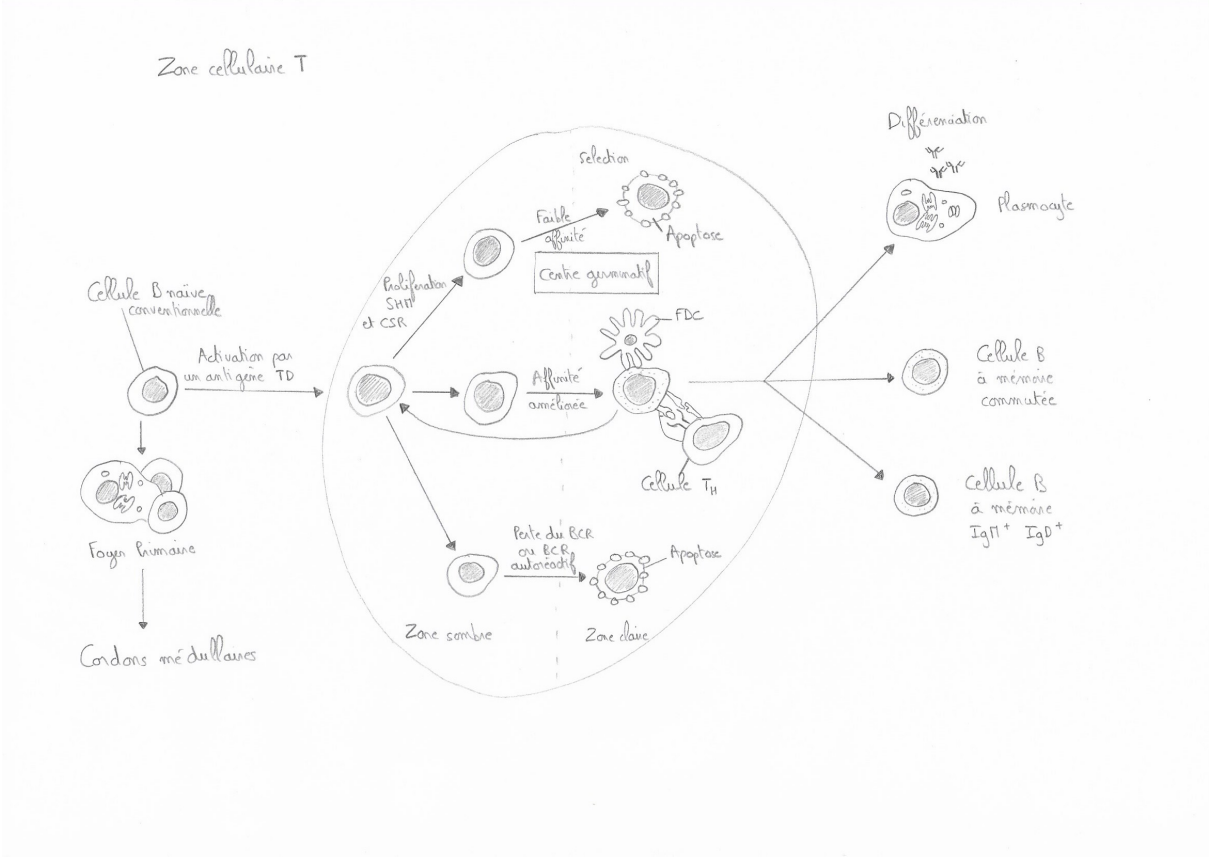

Figure 8. Activation des cellules B. Les cellules B engagées dans une réponse thymo-dépendante rencontrent d'abord les cellules T spécifiques de l'antigène en dehors des follicules B. Une partie des cellules activées se différencient en plasmocytes qui sécrètent des anticorps dans les foyers primaires situés en dehors des follicules, puis migrent vers les cordons médullaires des ganglions lymphatiques ou de la moelle osseuse où ils poursuivent la sécrétion d'anticorps spécifiques de l'antigène. D'autres cellules B activées par l'antigène pénètrent les follicules pour s'y diviser et s'y différencier. Lorsque le follicule se remplit de cellules B en prolifération, il se forme un centre germinatif caractérisé par une zone claire, dans laquelle résident les FDC, et une zone sombre dans laquelle la densité cellulaire est particulièrement élevée. Au sein du centre germinatif, les gènes d'immunoglobulines subissent la commutation de classe (CSR), ou commutation isotypique, au cours de laquelle la région constante μ est remplacé par un autre isotype. Les régions variables sont soumises à l'hypermutation somatique (SMH), suivie d'une sélection par l'antigène dans la zone claire. Les cellules B qui portent un BCR de faible affinité ou un BCR autoréactif meurent, tandis que celles dont l'affinité s'est améliorée quittent les centres germinatifs pour rejoindre la périphérie.

Au terme de cette réponse primaire, les cellules B mémoire qui persistent sont les cellules filles des premiers lymphocytes stimulés. Ces cellules B mémoire portent majoritairement un BCR muté et sélectionné. Ainsi lors d'une prochaine rencontre avec le même antigène, elles réagiront plus rapidement et sécréteront des anticorps de plus haute affinité et d'isotypes autres que l'IgM, ce qui accélèrera et améliorera l'élimination d'agents pathogènes.

2.3.c) Les réponses cellulaires thymo-indépendante

Toutes les réponses humorales ne requièrent pas la participation de cellules T et certaines sous-populations de cellules B ont développé des mécanismes qui leur permettent de sécréter des anticorps en réponse à des classes particulières d'antigènes en l'absence d'aide des cellules T. Ces réponses thymo-indépendantes vont prendre une place de plus en plus importante dans un organisme vieillissant comme nous allons le voir par la suite.
Une part considérable de ces antigènes est reconnue par les populations de cellules B-1 (cellules B présentes dans les séreuses) et de la zone marginale (MZ B). La MZ B étant la région située à l'interface entre la pulpe rouge non lymphoïde de la rate et sa pulpe blanche lymphoïde. Les cellules B-1 sécrètent surtout des anticorps d'isotype IgM. Comme les antigènes qu'elles reconnaissent sont communs à de nombreux pathogènes et que leurs réponses anticorps sont oligoclonales, les cellules B-1 peuvent être considérées comme une catégorie de lymphocytes proche du système immunitaire inné.

Ces antigènes T-indépendants (TI) élicitent essentiellement la sécrétion d'IgM de faible affinité et se répartissent en 2 sous-classes.

		Antigène TI	
Propriété	Antigènes TD	Type 1	Type 2
Nature chimique	Protéine	Composants des parois bactériennes (comme le LPS)	Antigènes protéiques polymériques ; polysaccharides de capsule
Réponse humorale			
Commutation isotypique	oui	non	limitée
Affinité de maturation	oui	non	non
Mémoire immunologique	oui	non	non
Activation polyclonale	non	Oui (à dose élevée)	non

Tableau 2 : Antigènes TD/TI et réponse humorale

2.3.d) Les fonctions effectrices dépendantes des anticorps

Les cellules B une fois activées se différencient en plasmocytes qui sont des cellules productrices d'anticorps. Ces anticorps produits par les plasmocytes se lient aux pathogènes et protègent l'organisme de plusieurs manières : ils neutralisent le pathogène ou bloquent les

récepteurs qu'ils utilisent pour rentrer dans la cellule ; ils opsonisent le pathogène et recrutent des cellules phagocytaires ; ils fixent le complément et initient la cascade de celui-ci qui perfore les membranes cellulaires. En outre, ils peuvent recruter des cellules cytotoxiques, spécifiquement des cellules natural killer (NK), et activer un processus appelé cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). La capacité des anticorps à effectuer ces réponses dépend de leur isotype qui détermine si un anticorps va lier le complément, à quel récepteurs FC il se fixe, et, quelles en sont les conséquences. Ainsi les cellules B sécrètent 4 grandes classes d'anticorps (voir figure 9) :

Les **IgM** : Anticorps produits lors de la réponse immunitaire primaire. Ils sont de faible affinité (les cellules B les produisant n'ont pas encore subi la maturation d'affinité) mais forment des pentamères ce qui augmente leur avidité pour l'antigène et s'avèrent ainsi être très efficaces. Les IgM sont particulièrement performants pour fixer le complément et induire la lyse des pathogènes auxquels ils se lient et permettent également la formation d'agrégats de complexes anticorps-pathogène qui sont capturés par les macrophages. A noter que la majorité des IgM circulants sont produits par les cellules B-1.

Les **IgG** : Ces anticorps représentent l'isotype d'anticorps le plus courant dans le sérum. Ils sont aussi les plus diversifiés et comprennent plusieurs sous-classes avec chacune des capacités effectrices distinctes. Chacune de ces sous-classes se lie aux récepteurs Fc et peut accroître la phagocytose par les macrophages. La bonne connaissance des fonctions effectrices de ces différents anticorps igG permet d'améliorer l'effet thérapeutique de certains médicaments et offrent des voies d'études intéressantes pour lutter contre de nombreux processus pathologiques ou auto-immuns.

Les **IgA** : Ces anticorps représentent l'isotype le plus présent dans les sécrétions, notamment le mucus du tube digestif, le lait des glandes mammaires, les larmes et la salive. Dans ces sécrétions, les IgA neutralisent les toxines, les pathogènes et interagissent continuellement avec les bactéries résidentes qui colonisent nos muqueuses et les empêchent ainsi d'entrer dans la circulation sanguine. Les IgA ne peuvent pas fixer le complément et donc ne peuvent pas induire d'inflammation. Il existe deux types d'IgA chez l'Homme qui peuvent chacune médier l'ADCC par liaison aux FcR sur les cellules NK et induire la dégranulation des granulocytes.

Les **IgE** : Ces anticorps sont surtout connus pour leur rôle dans l'allergie, l'asthme, les helminthes et les protozoaires. Produits en très petites quantités, ils ont un effet très puissant, induisant la dégranulation des éosinophiles, des basophiles et la libération de molécules telles que l'histamine capable de tuer de grands pathogènes.

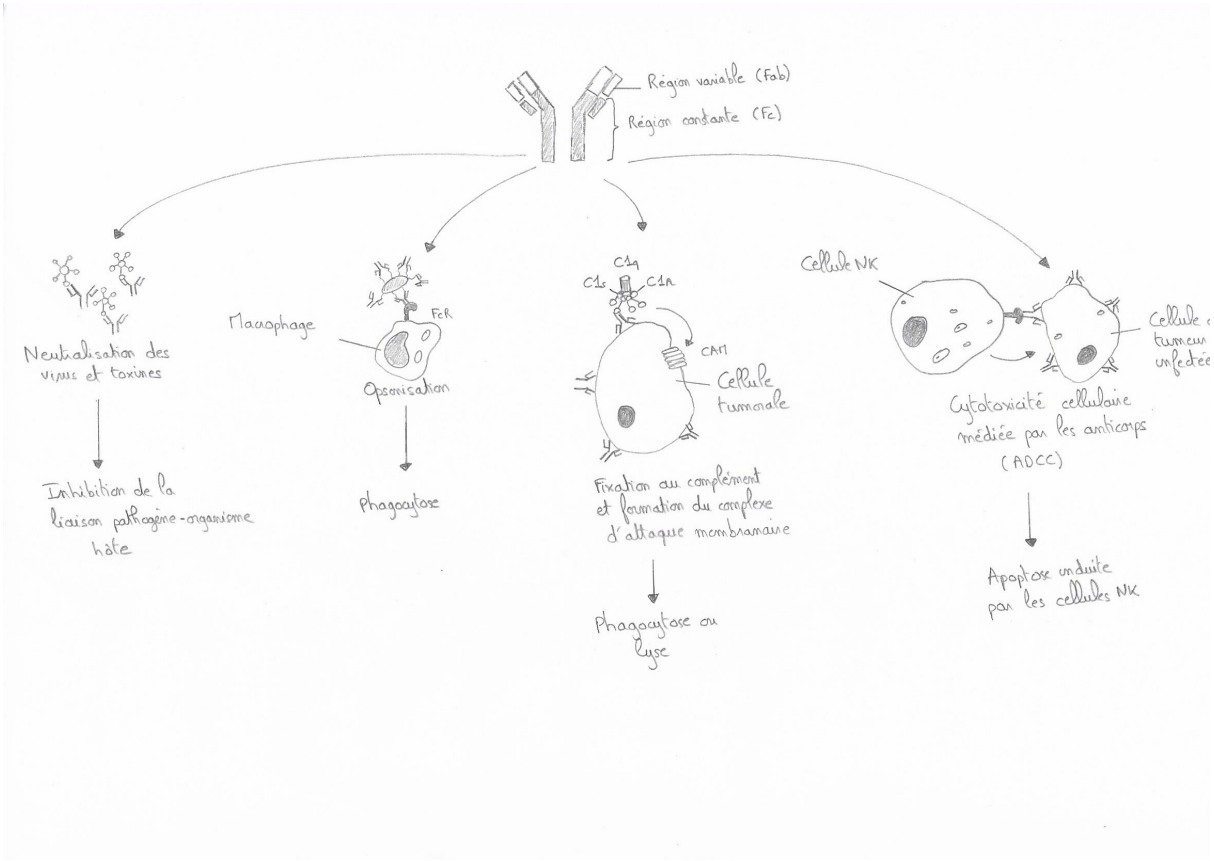

Figure 9. Les quatre grandes catégories des fonctions effectrices des anticorps. La liaison d'un anticorps accroit la clairance des pathogènes par liaison aux protéines utilisées par ce dernier pour infecter les cellules (neutralisation), en interagissant avec des récepteurs Fc à la surface des cellules phagocytaires induisant l'internalisation et la dégradation (opsonisation). Il y a également le recrutement des protéines du complément qui peuvent directement tuer le pathogène ou accroitre sa phagocytose ainsi que la liaison au FcR sur les cellules cytotoxiques (les NK par exemple) qui va entraîner la concentration de leur activité sur les cellules infectées ou les cellules tumorales (système ADCC).

2.3.e) Mémoire cellulaire B et principe de vaccination

Les premières traces écrites du concept de mémoire immunologique remontent aux écrits de Thucydide vers l'an 430 avant J.-C. Sa description de la peste de l'époque à Athènes était la suivante : « Seuls ceux qui avaient guéri de la peste pouvaient prendre soin des malades,

parce qu'ils ne contractaient plus la maladie. » Phrase évoquant implicitement une notion de réponse plus rapide et plus forte en cas de réinfection car ceux qui s'étaient remis de la peste possédaient une immunité contre la maladie.

Le concept classique de réponse immunitaire peut être résumé en 2 phases correspondant chacune à une réponse immune (voir figure 10) :

- La **réponse primaire** caractérisée par une période de latence qui reflète le temps nécessaire à la division et à la différenciation des cellules B au sein des foyers primaires et au développement des centres germinatifs. Les cellules B des foyers primaires produisent des IgM et après un court délai, les cellules B qui ont migré dans les centres germinatifs se joignent à la réponse et sécrètent parallèlement des IgM et des IgG. Une fois que la réponse primaire touche à sa fin les récepteurs modifiés par hypermutation somatique font leur apparition et une sous-population sélectionnée de cellules B quitte les centres germinatifs pour entrer dans le compartiment des cellules B à mémoire.

- La **réponse secondaire** est à la fois plus rapide et plus forte que la réponse primaire. La division des cellules B spécifiques de l'antigène a déjà eu lieu et un groupe étendu de cellules B mémoire portant des BCR de haute affinité est immédiatement disponible pour se différencier en plasmocytes sécréteurs d'IgG de haute affinité. Il est intéressant de noter qu'après une réexposition à l'antigène, des cellules B déjà mutées peuvent subir de nouveaux cycles d'hypermutation, de telle sorte que l'affinité des anticorps spécifiques de l'antigène peut augmenter au cours de la troisième, voire de la quatrième immunisation avec le même antigène.

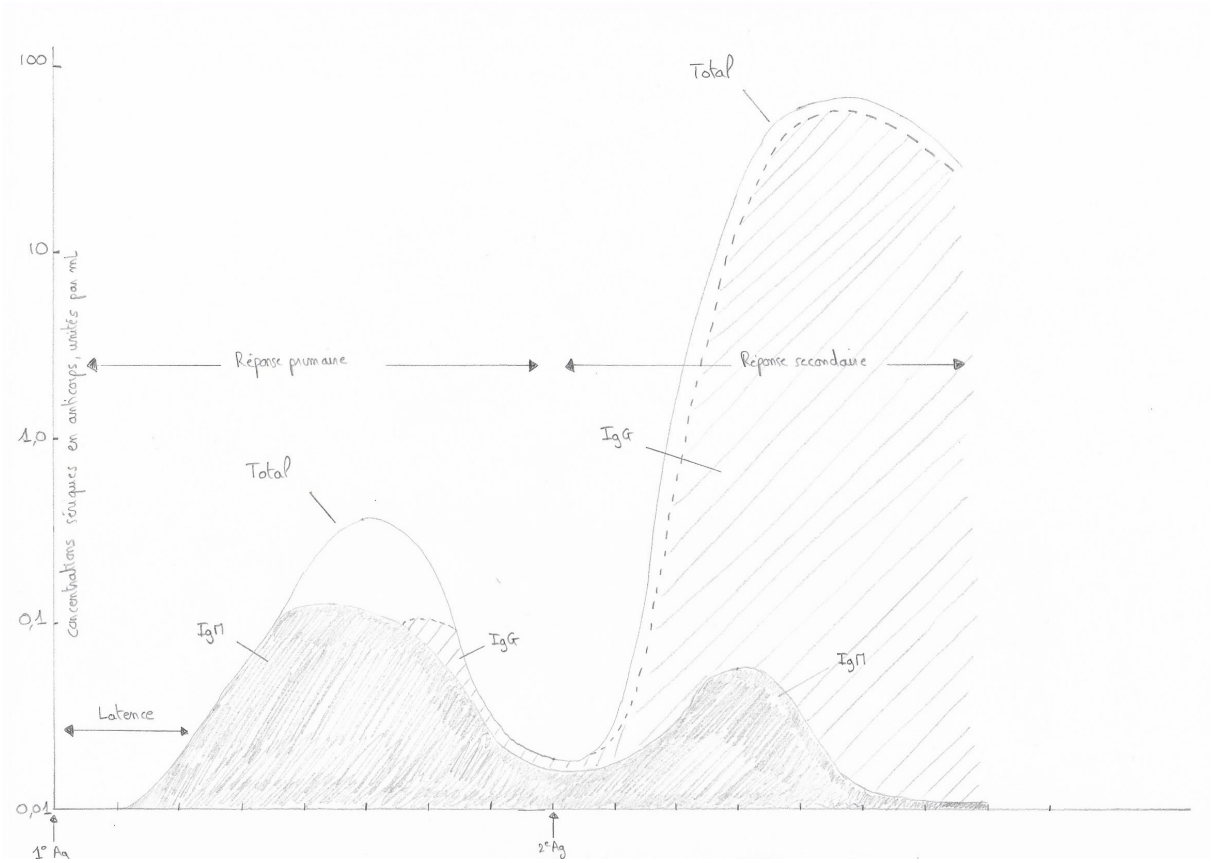

Figure 10. Concentration des isotypes des anticorps sécrétés contre un antigène au cours des réponses primaires et secondaire. On peut observer qu'après une période de latence, une réponse primaire se met en place avec une sécrétion d'IgM plus importante que la sécrétion d'IgG. Lors de la réponse secondaire, la sécrétion d'IgM chute par rapport à la réponse primaire tandis que la sécrétion d'IgG explose dépassant de manière importante la sécrétion d'IgM de la réponse primaire. Les unités de temps ne sont pas spécifiées car elles différent quelque peu en fonction du type d'antigène, de la voie d'administration, de la présence ou non d'un adjuvant et de l'espèce ou de la lignée. Les concentrations sériques en AC sont représentées sur une échelle logarithmique.

Les deux populations de cellules B (naïves et à mémoire) ont en commun le fait de ne pas sécréter d'anticorps (leur prolifération et leur différenciation en plasmocytes requièrent une stimulation préalable par l'antigène) mais ont surtout de nombreuses différences (Tableau 3).

	Cellule B naïve	Cellule B mémoire
Période de latence après administration de l'antigène	4-7 jours (dépend de l'antigène)	1-3 jours (dépend de l'antigène)
Pic de la réponse	7-10 jours	3-5 jours
Amplitude de la réponse anticorps à son apogée	Variable selon l'antigène	Généralement 10) 1000 fois plus élevée
Isotype produit	IgM prédominant lors de la réponse primaire	IgG prédominant (IgA dans les muqueuses)
Antigènes	T-indépendants et T-dépendants	Essentiellement T-dépendants
Affinité des anticorps	Faible	Elevée
Durée de vie des cellules	Courte (en jours ou en semaines)	Très longue, jusqu'à la mort de l'hôte
Recirculation	oui	oui

Tableau 3 : Différences fonctionnelles entre cellules B naïves et cellules B mémoire

Le principe de la vaccination s'appuie donc sur cette mémoire immunologique qui engendre une immunité acquise afin de protéger l'individu contre un agent infectieux.
Cela consiste à injecter dans le corps un pathogène sous une forme inoffensive mais stimulant la réponse immunitaire de l'organisme. Grâce à la mémoire, l'exposition ultérieure à l'agent infectieux déclenchera une réponse rapide et plus efficace.
Depuis leur création jusqu'à aujourd'hui, l'homme s'efforce sans cesse d'améliorer cette technique. Ainsi de nombreux vaccins ont été et sont encore en développement afin de lutter contre des maladies infectieuses qui font encore de nombreux morts (435 000 décès en 2017 imputés au seul paludisme[2]), mais également pour des populations plus ciblées telles que les personnes âgées.

III. Les différents types de vaccins

L'Homme a développé au cours de ces dernières décennies un arsenal vaccinal conséquent. Aujourd'hui plusieurs types de vaccins existent avec leurs avantages et leurs défauts que nous allons voir dans cette partie. Cet état des lieux est important car il permettra de comprendre où nous en sommes afin de développer de nouvelles approches et méthodes vaccinales chez des populations spécifiques comme celle des personnes âgées soumises au phénomène d'immunosénescence.

1) Vaccins vivants atténués

Il existe des cas où les microorganismes peuvent être atténués de telle façon qu'ils perdent alors leur capacité à provoquer une maladie (pathogénicité) mais conservent leur capacité de croissance transitoire au sein d'un hôte inoculé (Tableau 4). L'atténuation peut souvent être obtenue en faisant croître une bactérie ou un virus pathogène pendant des périodes prolongées dans des conditions de cultures anormales. On sélectionne ainsi les mutants les mieux équipés pour une croissance dans des conditions de culture anormales et, par conséquent, perdent en capacité de multiplication et/ ou de dissémination au sein d'un hôte naturel.

Grâce à leurs capacités de croissance transitoire, les vaccins atténués entraînent une exposition prolongée des différents épitopes des pathogènes atténués au système immunitaire à et reproduisent quasiment à l'identique la croissance du pathogène réel. En résulte alors une immunogénicité accrue et une induction de cellules mémoires. Une seule immunisation peut suffire donc pour ces vaccins. La capacité de ces vaccins atténués à se répliquer au sein de cellules hôtes les rend particulièrement adaptés à l'induction d'une réponse à médiation cellulaire.

Le risque majeur de ces vaccins est la possibilité d'un retour phénotypique vers une forme virulente (réversion). On peut ainsi citer le taux de réversion du vaccin Sabin contre la poliomyélite (VOP) conduisant à une maladie paralysante ultérieure qui est de 1 cas pour 2,4 millions de doses[3].

Cela implique que des formes pathogènes du virus s'échappent de quelques individus immunisés et se retrouvent dans les réseaux de distribution d'eaux, particulièrement dans des zones où les normes sanitaires ne sont pas rigoureuses et où les eaux usées doivent être recyclées. C'est pour cela que dans ces pays on n'utilise que la forme inactivée de ce vaccin (SALK).

Vaccins vivants atténués	
Vaccins à cible virale	**Vaccin à cible bactérienne**
- Dengue (Dengvaxia) - Fièvre Jaune (Stamaril) - Rougeole, oreillons, rubéole (Priorix) - Rotavirus (Rotarix) - Vaccin oral contre la poliomyélite (Sabin) - Varicelle (Varivax) - Zona (Zostavax)	- Tuberculose (BCG)

Tableau 4 : Vaccins vivants atténués et maladies associées

2) Vaccins avec microorganismes tués ou inactivés

Une autre approche consiste à inactiver le pathogène par la chaleur ou par des moyens chimiques, de telle façon qu'il ne soit plus capable de se répliquer chez l'hôte. Dans ce procédé, il est capital de maintenir la structure des épitopes des antigènes de surface au cours de l'inactivation. A noter que l'inactivation par la chaleur n'est généralement pas satisfaisante parce qu'elle provoque une dénaturation importante des protéines. Etant donné que de nombreux épitopes dépendent de la structure conformationelle des protéines, ils sont alors modifiés de façon significative.

Malgré le fait que les vaccins atténués ne nécessitent qu'une seule dose pour induire une immunité de longue durée, des rappels répétés de vaccins tués sont souvent nécessaires pour maintenir l'état immun de l'hôte. Les vaccins tués induisent préférentiellement une réponse humorale car ils ne répliquent pas chez l'hôte. Ils sont donc moins efficaces que les vaccins atténués dans l'induction d'une immunité à médiation cellulaire. De façon générale, les vaccins inactivés ont une meilleure innocuité, c'est à dire qu'ils ont moins de défauts, que des vaccins vivants atténués (Tableau 5). Le vaccin grippal annuel est un vaccin inactivé. Outre leur faible toxicité, ils sont stables, faciles à stocker et à transporter.

3) Les vaccins sous-unités

Ces vaccins sont constitués de macromolécules spécifiques purifiées dérivées des pathogènes. Il existe 3 formes générales de tels vaccins qui sont d'un usage courant :

- Les exotoxines inactivées
- Les polysaccharides capsulaires ou les glycoprotéines de surface

- Les antigènes sous forme de protéines recombinantes

Ces vaccins présentent certains avantages comme celui de sensibiliser le corps à la reconnaissance de toxines bactériennes. Les pathogènes bactériens comme celui de la diphtérie ou du tétanos produisent des exotoxines qui sont responsables de la plupart des symptômes secondaires liés à l'infection. Ainsi on prépare des vaccins en purifiant l'exotoxine avant de l'inactiver afin de former un toxoïde. Une vaccination avec ce toxoïde entraine la formation d'anticorps antitoxoïdes qui sont alors capables de ce lier à la toxine et de neutraliser ses effets (Tableau 5).

Vaccins inactivés ou inertes			
Vaccins à cible virale		**Vaccins à cible bactérienne**	
Entiers	**Sous-unitaires**	**Entiers**	**Sous-unitaires**
- Encéphalite japonaise (IXIARO) - Encéphalite à tique (Encepur) - Grippe (Vaxigrip Tetra) - Hépatite A (Tyavax) - Poliomyélite (Hexyon) - Rage (vaccin rabique Pasteur)	- Hépatite B - HPV	- Choléra - leptospirose	**Toxine inactivée** - Diphtérie - Tétanos **Polysaccharides capsulaires non conjugués** - Méningocoques A-C et A-C-Y-W135 - Pneumocoques 23 valences - Typhoïde **Polysaccharides capsulaires conjugués** - Haemophilus influenzae b - Méningocoques C et A-C-Y-W135 - Pneumocoques 13 valences **Protéines** - Coqueluche acellulaire -Méningocoque B

Tableau 5 : Vaccins inactivés ou inertes, à cible virale ou bactérienne, entiers ou sous-unitaires et maladies associés[4,5]

4) Les vaccins à vecteurs recombinants

Les gènes individuels qui codent les principaux antigènes vaccinaux particulièrement virulents peuvent être introduits dans des virus ou des bactéries atténués. L'organisme atténué sert alors de vecteur, en se répliquant au sein de l'hôte et en exprimant le gène du pathogène. De nombreux vaccins vecteurs recombinants (vaccin contre la shigellose, vaccin contre la fièvre de la vallée du Rift etc.) ont été préparés en utilisant des virus vivants atténués de vaccins déjà commercialisés et en leur ajoutant des gènes codants pour des antigènes dérivés de pathogènes émergents, ces vaccins chimériques peuvent alors être agréés et testés plus rapidement qu'un produit vaccinal entièrement.

Le virus de la vaccine, utilisé sous forme atténuée pour éradiquer la variole, a été largement employé comme vecteur de vaccins. Ce gros virus complexe, avec un génome d'environ 200 gènes, peut être manipulé pour porter plusieurs douzaines de gènes étrangers tout en conservant sa capacité d'infecter les cellules hôte et de se répliquer (voie figure 11).

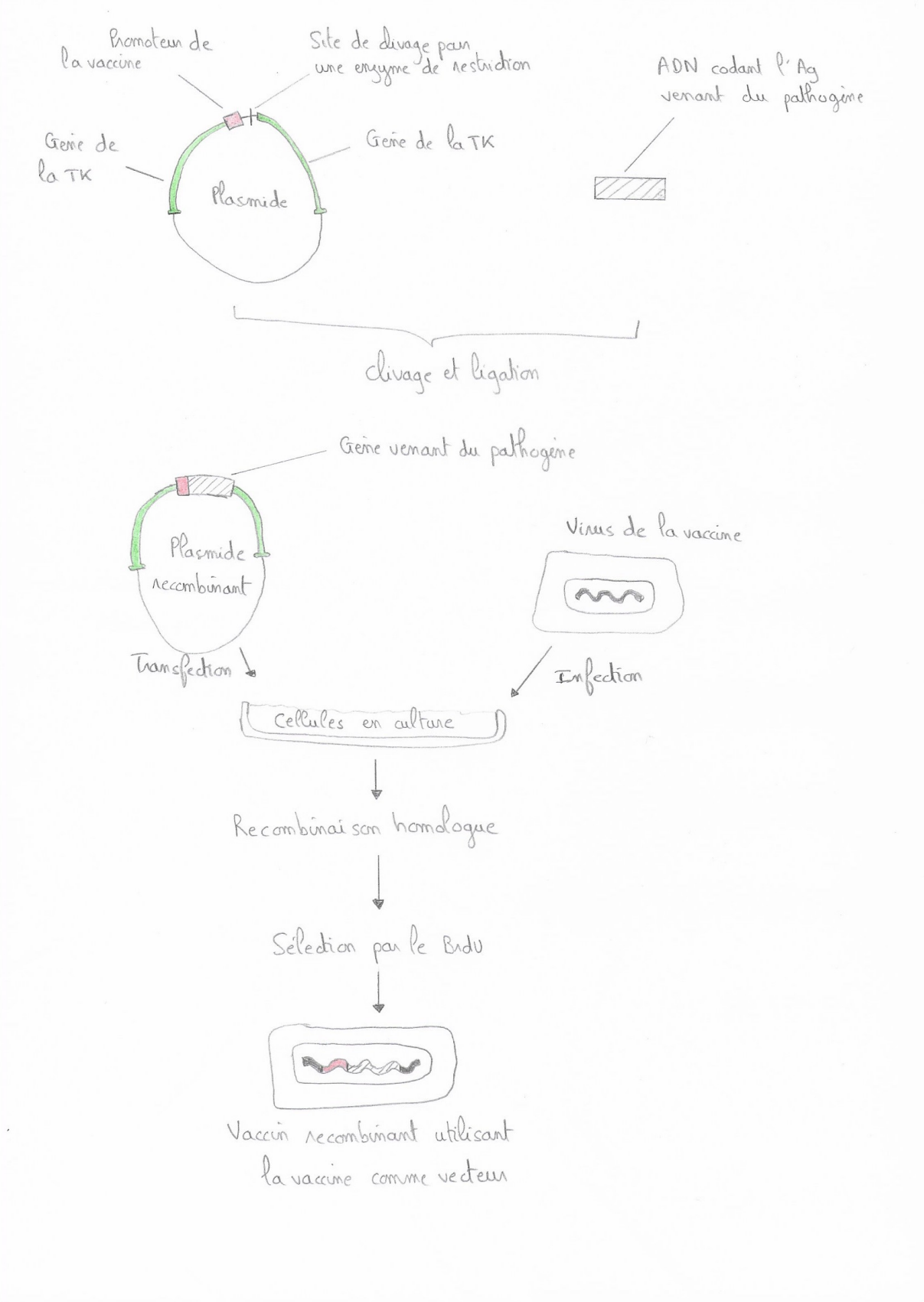

Figure 11. Production de vaccin utilisant comme vecteur la vaccine. (En haut) Le gène qui code l'antigène recherché (rayé) est inséré dans un vecteur plasmidique à côté du promoteur de la vaccine

(rouge) et flanqué de chaque côté par le gène de la thymidine kinase (TK) de la vaccine (vert). (En bas) Lorsque des cellules en culture sont incubées simultanément avec le virus de la vaccine et le plasmide recombinant, le gène de l'antigène et le promoteur sont insérés dans le génome du virus de la vaccine par recombinaison homologue au niveau du gène non essentiel TK, ce dont il résulte un virus recombinant TK^-. Les cellules contenant le virus recombinant de la vaccine sont sélectionnées par addition de bromodésoxyuridine (BrdU), qui tue les cellules TK^+.[6]

5) Vaccins à ADN

Les vaccins à ADN constituent une stratégie vaccinale plus récente appelée vaccination ADN. Cela consiste à utiliser un ADN plasmidique qui code pour des protéines antigéniques injectées directement dans le muscle du receveur. Cette stratégie repose sur la capacité des cellules à internaliser l'ADN et produire la protéine immunogène in vivo. Suite à cela va se produire la présentation de l'antigène par le CMH de classe I (voie endogène) pourvoyeuse d'une activation des CTL.

L'ADN une fois dans le tissu musculaire, va soit s'intégrer à l'ADN chromosomique soit se maintenir durant une longue période sous une forme épisomale. Il est souvent internalisé dans des cellules dendritiques ou des cellules musculaires au niveau du site d'injection.

Le but est d'avoir une bonne distribution au niveau des cellules dendritiques locales plutôt qu'au niveau des cellules musculaires qui expriment de faibles niveaux de molécules de CMH de classe I afin d'avoir une réponse antigénique aux vaccins ADN.

Les vaccins à ADN présentent une multitude d'avantages par rapport aux vaccins existants. La protéine codée est exprimée par l'hôte sous sa forme naturelle, sans dénaturation ni modification. La réponse immunitaire sera alors dirigée contre l'antigène exactement comme s'il était exprimé par le pathogène induisant à la fois une immunité humorale et cellulaire. Pour obtenir une stimulation similaire des deux bras de la réponse immunitaire, l'immunisation requiert l'utilisation de vaccins atténués exposant à un risque potentiel.

Au niveau pratique, il existe de nombreux avantages dont les deux suivants :

- La réfrigération de l'ADN plasmidique n'est pas nécessaire, permettant de s'affranchir de la problématique de la conservation à long terme.

Le vecteur plasmidique peut être manipulé à la demande pour fabriquer toute sorte de protéine, de telle façon que les mêmes techniques de préparation peuvent être utilisés pour différents vaccins utilisant l'ADN pour des pathogènes différents, optimisant sécurité et coût.

A ce jour il n'existe aucun vaccin à ADN à usage humain sur le marché mais trois vaccins de la sorte ont été autorisés pour un usage vétérinaire dont un contre WNV (West Nile Virus) qui a un effet chez les chevaux. Ces vaccins ne sont toujours pas utilisés chez l'homme mais présentent des essais concluants.

6) Utilité des vaccins conjugués ou multivalents

Les techniques n'utilisant pas de vaccins atténués présentent un inconvénient majeur : celui d'entraîner une réponse adaptative faible ou limité. Ainsi lorsque les antigènes de l'agent infectieux présents dans un vaccin ne suffisent pas à eux seuls pour produire la réaction immunitaire attendue, ils sont couplés à une protéine porteuse qui va accentuer les effets attendus. On parle de vaccin conjugué. Ceci revient donc à la fusion entre une protéine hautement immunogène et un vaccin faiblement immunogène.

Ce type de vaccin est utilisé quand le recours aux vaccins polysaccharidiques risque d'être inefficace. En effet, les polysaccharides, des sucres présents dans la capsule bactérienne, ne provoquent l'immunité qu'à partir de l'âge de deux ans chez l'enfant. Or certaines infections comme les méningites à méningocoques ou à pneumocoques sont particulièrement fréquentes tôt dans l'enfance. De ce fait un vaccin conjugué, associant des sucres de capsule bactérienne à une protéine porteuse peut conférer un pouvoir protecteur plus élevé même chez les jeunes de moins de deux ans.

Le vaccin anti-Hib (Anti-Haemophilus influenzae de type b) est un excellent exemple de ce qui est expliqué précédemment. L'Haemophilus influenzae de type b est responsable de méningite bactérienne et de surdité chez les enfants. Le vaccin anti-Hib a été mis au point pour pallier à ce problème. La formulation de ce dernier consiste en la conjugaison entre un polysaccharide capsulaire de type B lié de façon covalente à un toxoïde tétanique (voie figure 12). Ce polysaccharide conjugué est alors bien plus immunogène que le polysaccharide simple en rendant possible l'activation de cellules T auxiliaires avec la commutation isotypique IgM-IgG et la mise en place d'une mémoire B ciblant l'antigène polysaccharidique.

On peut également citer le vaccin MCV4 (anti-méningocoque) qui utilise une stratégie similaire.

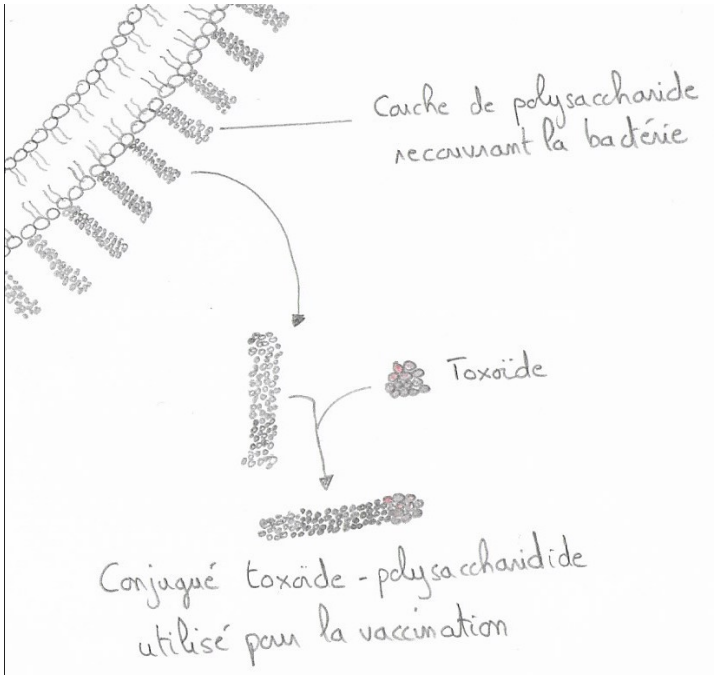

Figure 12. Un vaccin conjugué protecteur vis-à-vis de *l'Haemophilus influenzae* de type B (Hib). Le vaccin est préparé par un procédé de conjugaison d'un polysaccharide de surface de Hib à une molécule protéique, rendant ce vaccin plus immunogène que s'il n'était pas conjugué.[7]

IV] Les adjuvants

Les adjuvants sont des substances ajoutées aux préparations vaccinales afin d'améliorer la réponse immunitaire aux antigènes vaccinaux avec lesquels ils sont mélangés. Ces additifs aux vaccins peuvent améliorer la réponse immunitaire et aider la délivrance du vaccin au système immunitaire. On place de grands espoirs dans leur développement afin de répondre à une demande de plus en plus importante de vaccins spécifiques et efficaces pour les personnes âgées. En France, une vingtaine de vaccins pour enfants et adultes (environ 13 ,3 millions de doses administrées par an) sans adjuvant et une trentaine de vaccins pour enfants et adultes (environ 12,4 millions de doses par an) avec adjuvants (vaccins combinés) sont vendus.[8]

1) le rôle d'un adjuvant

Les adjuvants sont utilisés pour augmenter l'ampleur de la réponse immunitaire à un vaccin en fonction du titre d'anticorps ou de la capacité de prévenir de l'infection. Pourtant à l'heure actuelle on cherche surtout à orienter le type de réponse adaptative afin de produire les formes les plus efficaces de l'immunité pour chaque agent pathogène spécifique.

On peut donc distinguer deux grandes catégories d'études distinctes concernant l'incorporation d'un adjuvant dans un vaccin.

Dans la première catégorie d'études, les adjuvants sont utilisés cliniquement pour les raisons suivantes :

- Faciliter l'utilisation de doses plus faibles d'antigène (la capacité d'un adjuvant de permettre des réactions comparables avec des quantités d'AG plus faibles pourrait se révéler capitale dans des circonstances où la vaccination à grande échelle est urgente et les installations de production limitées, comme pour une pandémie de grippe par exemple)[12,13,14]
- Permettre une vaccination avec des doses moins fortes de vaccins et ainsi résoudre l'exigence d'injections multiples pour de nombreux vaccins qui pose des problèmes de conformité ainsi que des problèmes logistiques.
- Augmenter les taux de séroconversion dans les populations où la réponse est réduite en raison de l'âge (nourrissons ou personnes âgées), de la maladie ou des interventions thérapeutiques. Le cas de l'adjuvant MF59 pour améliorer les réponses des personnes âgées au vaccin contre la grippe est intéressant et nous verrons cela par la suite.[12,14,15]

Dans la deuxième catégorie on va chercher à incorporer un adjuvant dans un vaccin afin d'obtenir une altération qualitative de la réponse immunitaire. Concernant les vaccins en cours de développement, les adjuvants sont de plus en plus utilisés pour promouvoir des types d'immunité qui ne sont pas efficacement générés par les antigènes sans adjuvant. On peut ainsi citer des adjuvants qui sont utilisés dans des études précliniques et cliniques pour :

- Apporter des types de réponses immunitaires appropriées sur le plan fonctionnel (ex favoriser T_H1 plutôt que T_H2, $CD8^+$ plutôt que $CD4^+$, des isotypes d'anticorps spécifiques etc.)
- Augmenter la génération de mémoire ; en particulier la mémoire des LT[16,17,18]
- Accélérer la réponse initiale, qui peut être critique dans une épidémie d'infection[19,20,21]
- modifier la portée, la spécificité ou l'affinité de la réponse[20,22]

2) Les premiers adjuvants à base d'aluminium

2.1) Fonctionnement général

Pendant près de 80 ans la majorité des adjuvants utilisés dans les vaccins humains et animaux étaient ceux à base d'aluminium. L'hydroxyde d'aluminium, le phosphate d'aluminium et l'alun constituent les principales formes d'aluminium utilisées comme adjuvants.

Parmi ceux-ci, l'hydroxyde l'aluminium est le produit chimique le plus couramment utilisé.

Malgré leur utilisation répandue, le mécanisme par lequel les adjuvants à base d'hydroxyde d'aluminium exercent leurs effets bénéfiques n'est pas encore entièrement compris.

L'adjuvant à base d'aluminium est mélangé dans une émulsion avec l'immunogène et il était tout d'abord considéré qu'il fonctionnait principalement en créant une libération progressive de l'immunogène au site d'injection, aidant la stimulation soutenue de la réponse immunitaire. Il a ensuite été observé qu'il pouvait aider au recrutement de CPA et favoriser ainsi la formation de gros complexes antigéniques qui seront probablement phagocytés par ces cellules[23]. Des études ont montré aussi que malgré le fait que l'aluminium soit connu pour induire la production de cytokines pro-inflammatoires in vitro, il n'avait pas besoin d'un signal Toll-like intact pour activer le système immunitaire.[24,25]

Une découverte majeure a également été réalisée en 2008 par un groupe de chercheurs qui identifient l'inflammasome Nalp3 comme un élément crucial dans l'effet adjuvant de l'aluminium. L'étude montre ainsi que les adjuvants de l'aluminium activent un système de réponse immunitaire innée appelée Nalp3 (cryopyrine, CIAS1 ou NLRP3) inflammasome.

La production de cytokines pro-inflammatoires IL-1β et IL-18 par des macrophages en réponse à l'alun a nécessité une signalisation inflammasome intacte. Cet inflammasome Nalp3 est un élément crucial dans l'effet adjuvant de l'aluminium car il peut également diriger une réponse immune adaptative humorale.[26]

Tous ces éléments stimulent collectivement les réponses immunitaires tant innées qu'acquises et activent le système du complément.

Les réponses engendrées par ces adjuvants à base d'aluminium sont ensuite influencées par des facteurs tels que le taux d'adsorption, la force de l'adsorption, la taille et l'uniformité des particules d'hydroxyde d'aluminium, la dose de l'adjuvant et la nature des antigènes.

2.2) Adjuvants idéaux ?

Depuis sa première utilisation en 1932, des milliards de doses de vaccins contenant des adjuvants à base d'aluminium ont été administrées avec succès chez l'Homme, entraînant une diminution de la morbidité et de la mortalité des maladies infectieuses. L'utilisation répandue d'adjuvants contenant de l'aluminium peut être attribuée à leur coût relativement moindre et à leur excellente innocuité. Malgré le fait qu'ils puissent causer de temps en temps une inflammation au point d'injection, ils peuvent aussi réduire la gravité des réactions systémiques et locales en liant des molécules biologiquement actives dans les vaccins.

Leur excellent dossier d'innocuité fondé sur 70 ans d'utilisation ne doit pourtant pas masquer d'autres problèmes que posent ces vaccins. En effet ils ne peuvent pas être conservés congelés et ils sont connus pour entraîner une réponse immunitaire de type T_H2. Ils favorisent l'activation des cellules T CD8 mais ces cellules ne subissent pas de différenciation terminale en cellules T cytotoxiques.[27]
Des études plus récentes montrent que, selon la voie de vaccination, les adjuvants à base d'hydroxyde d'aluminium peuvent améliorer à la fois les réponses cellulaires T_H1 et T_H2.[28] Ce sont les progrès de la biologie systémique que nous verrons dans la troisième partie qui ont ouvert des nouvelles voies pour l'étude des mécanismes des adjuvants à base d'hydroxyde d'aluminium.

3) Les nouveaux adjuvants

Le développement de nouveaux adjuvants est un axe de recherche fondamental pour améliorer les vaccins à venir. De puissants adjuvants peuvent améliorer l'efficacité des vaccins en accélérant la production de réponses immunitaires robustes, en soutenant les réponses pendant une plus longue période, en induisant des réponses immunitaires muqueuses locales, en produisant des AC avec une avidité/affinité et une capacité de neutralisation accrues, en stimulant les CTL, etc.
La partie qui nous intéresse est surtout l'augmentation de la réponse chez les individus ayant un système immunitaire affaibli comme les personnes âgées.

Les adjuvants actuellement autorisés ont été mis au point à l'aide de méthodes empiriques, de sorte qu'ils ne sont pas optimaux pour bon nombre de défis actuels de la vaccination. L'importance historique accordée aux réponses immunitaires humorales a conduit au

développement d'adjuvants capables d'améliorer plus particulièrement ce type de réponse immunitaire. La conséquence de cela est que les adjuvants les plus couramment utilisés sont ceux qui sont efficaces pour augmenter les titres d'anticorps sériques mais qui ne provoquent pas de réponses T_H1 ou de CTL significatives.
La capacité d'un adjuvant d'influer qualitativement sur l'issue de la réponse immunitaire devient une considération de plus en plus importante suite à la nécessité de développer des vaccins contre les infections chroniques virales (VIH, VHC, VHS) et toutes formes de cancers auxquels sont confrontés les personnes âgées. Ainsi le développement des adjuvants sur la production de réponses immunitaires cellulaires et d'adjuvants spécifiquement conçus pour provoquer cet effet devient une necessité.[29,12,30]
La meilleure compréhension de l'immunobiologie des TLR et autres PRR, des cellules immunorégulatrices, des cellules dendritiques et de l'importance des réponses spécifiques auxiliaires T (T_H1 versus T_H2) permettra de développer à l'avenir des solutions contres des maladies particulières.[31,32]

Ainsi des nombreuses formulations d'adjuvants sont à l'essai dans divers essais précliniques et cliniques. Certains ont été autorisés récemment chez l'Homme et ont des résultats intéressants.

3.1) MF59

Les personnes âgées sont particulièrement vulnérables à l'épidémie annuelle de grippe; en effet 90% de tous les décès liés à la grippe surviennent chez ces derniers[33].
La vaccination étant la mesure de santé publique la plus efficace pour réduire l'impact de la grippe saisonnière[34,35], le conseil de l'Union Européenne encourage les différents pays à atteindre un taux de couverture vaccinale d'au moins 75% chez les personnes âgées.[36]
Malheureusement les vaccins traditionnels inactivés trivalents (VTI) n'induisent souvent qu'une réponse immunitaire modeste chez les personnes âgées, en raison de leur immunosénescence[37] comme nous le verrons par la suite.

Le premier adjuvant utilisé contre la grippe saisonnière est le MF59. C'est une émulsion microfluidifiée à base de squalène 59, une émulsion d'huile dans l'eau. Ses propriétés imuno-stimulantes ayant été largement démontrées ; il active les cellules immunitaires locales au point d'injection et favorise la transition des monocytes aux cellules dendritiques et le

recrutement de CPA et l'absorption des AG[38] ; il a été adopté pour lutter contre la grippe saisonnière en premier en Italie en 1997 devenant ainsi le premier VTI adjuvanté.[39]

Le premier article de Podda[40] indiquait que comparativement aux VTI sans adjuvant, le MF59-VTI induisait des niveaux significativement plus élevés d'immunogénicité en terme de taux de séroconversion et de taux de séroprotection pour les immunisations primaires et ultérieures. Cette même étude a jugé que le MF59-VTI est bien toléré malgré le fait que plusieurs réactions locales et systémiques aient été plus fréquentes chez les receveurs du vaccin adjuvanté[40], résultat confirmé par la suite par une analyse intégrée des résultats en matière d'innocuité dans laquelle les sujets vaccinés avec le MF59-VTI présentaient un risque plus élevé que ceux ayant reçu le vaccin sans adjuvant en termes de réactions locales et systémiques dans les trois jours suivants la vaccination[41]. En plus d'études regroupant plusieurs analyses[41,42], une recherche plus récente de Camilloni *et al* a suggéré que l'immunogénicité du MF59-VTI était élevée chez les personnes âgées et répondait dans la plupart des cas aux critères du comité des médicaments à usage humain CHMP[42].

Pour évaluer l'efficacité d'un vaccin on réalise des essais cliniques randomisés (ECR) dont les principaux critères d'évaluation sont l'immunogénicité et/ou l'efficacité. Ces ECR sont avantageux en termes de contrôle rigoureux des biais et de la surveillance prospective des taux d'attaques de la maladie mais ils restent limités s'ils ne sont pas complétés par des études observationnelles sur l'efficacité (VE) d'un vaccin sur le terrain. Ces études apportent des renseignements sur les effets que l'on peut qualifier de réels d'un vaccin sur le terrain[43].
Les données disponibles à l'heure actuelle suggèrent que le MF59-TIV est efficace dans des conditions « réelles », en particulier pour prévenir les hospitalisations pour diverses complications grippales, et qu'il est supérieur aux vaccins classiques sans adjuvant[44].

3.2) AS04

Comme nous l'avons vu précédemment l'induction d'une réponse immunitaire innée optimale est associée à une réponse immunitaire adaptative accrue. Les progrès récents dans la compréhension des récepteurs et des agonistes associés responsables de l'induction de la réponse immunitaire (comme les TLR par exemple) ont permis l'émergence d'une nouvelle génération d'adjuvants intégrant ces agonistes pour créer de nouveaux vaccins prophylactiques et thérapeutiques.[45]

Le système adjuvant 04(AS04) composé de MPL (3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipide A) adsorbé sur une forme particulaire de sel d'aluminium est l'un de ces adjuvants de nouvelle génération dont l'utilisation est maintenant autorisée chez l'homme[46].
AS04 se retrouve actuellement dans deux vaccins homologués, l'un contre les lésions précancéreuses cervicales et les particules de type viral (VLP) contenant la protéine L1 du papillomavirus humain (HPV)-16 et des souches oncogènes du HPV-18 (Cervarix)[47,48,49] et le deuxième contre l'hépatite B (Fendrix)[50]. Un troisième vaccin contre le virus de l'herpès simplex 2 est en essai clinique de phase III.

Le MPL qui compose le AS04 est un dérivé détoxifié du LPS isolé de la souche R595[51,52,53] de *Salmonella minnesota*, bactérie Gram négatif. On a découvert que le LPS fonctionne comme un agoniste spécifique du TLR4[54,55]. Le MPL déclenche donc une signalisation via TLR4[56,57,58]. La stimulation du TLR4 peut contribuer à l'activation de la réponse immunitaire innée, en activant l'activité transcriptionnelle NF-κB et l'expression subséquente de cytokines pro-inflammatoires, telles que TNF-α et IL-6[59]. Ces cytokines peuvent alors à leur tour renforcer la réponse immunitaire adaptative en stimulant la maturation des CPA tout en réprimant la réponse de tolérance par l'inhibition de l'activité régulatrice des cellules T[60]. On dit généralement que MPL biaise la réponse immunitaire vers un profil T_H1 en favorisant la production d'IFN-γ par les LT CD4+ spécifiques de l'AG[53]. Une bonne réponse T_H1 est capitale pour avoir une protection efficace contre les pathogènes intracellulaires.

V] Conclusion :

Le système immunitaire est un agrégat de fonctions complexes interconnectées que l'Homme s'efforce de comprendre depuis des décennies. Des vaccins atténués aux vaccins à ADN, les vaccins restent une des meilleures protections immunologiques que l'ingénierie humaine ait pu produire avec les antibiotiques. Les progrès réalisés au cours de la dernière décennie concernant l'immunité innée ont permis de mieux comprendre comment fonctionnent les adjuvants existants et comment on pourrait en développer de nouveaux afin de favoriser la réponse cellulaire plutôt qu'humorale pour participer à la résolution des maladies qui restent incurables. Même si les vaccins restent une solution performante, il semble que nous soyons au bout d'un long processus d'amélioration d'une technique qui a fait ses preuves. Il est temps

de développer de nouvelles stratégies vaccinales et de remettre en question celles qui sont appliquées actuellement.

C'est tout l'enjeu des recherches sur les nouveaux adjuvants et vaccins vis-à-vis de l'immunosenescence. Ce remodelage complexe et continu du système immunitaire avec l'âge demande un nouveau regard pour permettre la mise en place de vaccins efficaces.

Partie II : Immunosénescence et vaccination des sujets âgés

I] Introduction

Une longue vie humaine, supérieure à 8 décennies ou plus, est de plus en plus accessible dans les pays développés. Dans une large mesure, cela est dû aux progrès majeurs dans la prévention, le retardement ou la guérison de pathologies individuelles telles que les infections, l'hypertension, le diabète de type 2 et même certaines formes de cancer[61]. Malheureusement, une espérance de vie tout aussi longue avec des années de vie en bonne santé, sans maladie et sans vigueur diminuée accuse un retard important par rapport aux gains de l'espérance de vie[62].

Comme nous l'avons vu précédemment, le fonctionnement général du système immunitaire est une mécanique bien complexe capable de lutter efficacement contre la majorité des pathogènes auxquels il va devoir faire face. Il va s'enrichir au fil des années d'une mémoire de plus en plus large permettant ainsi de faire face à des adversaires de plus en plus variés avec une meilleure efficacité. Seulement cette capacité à acquérir une mémoire toujours plus large a des défauts à la hauteur de ses qualités et de nombreux remodelages du système immunitaire au cours des années vont apparaître. Ces remodelages vont avoir tendance à fragiliser le sujet âgé (SA) face aux infections. Véritable phénomène de société, le vieillissement de la population devient un enjeu majeur de santé publique. Avec l'âge, les épidémies deviennent de plus en plus létales et des politiques vaccinales sont mises en place régulièrement pour essayer de pallier à ce problème.

Pourtant, on vaccine encore la majorité des individus avec les mêmes vaccins malgré des tranches d'âges très différentes. La mise en place d'une immunité efficace est donc abordée de la même manière chez les SA et chez le sujet jeune alors que le système immunitaire subit des modifications conséquentes avec les années qui passent.

C'est dans cette optique que l'un des principaux défis de la recherche actuelle sur le vieillissement est d'identifier les processus fondamentaux du vieillissement qui sont à l'origine des multiples pathologies et de la perte de fonction qui affligent les personnes âgées. Ceci afin d'élaborer des stratégie vaccinales novatrices et efficaces pour les SA.

II] Vieillissement général et processus de base

1] Vue d'ensemble

De nombreuses données expérimentales ont fini par suggérer qu'il existe au moins 9 caractéristiques du vieillissement qui seraient conservées au cours de l'évolution et qui proviennent d'une petite poignée de processus fondamentaux du vieillissement[63] (voir figure 13).

Les caractéristiques du vieillissement comprennent :

- La sénescence cellulaire
- la dysfonction mitochondriale
- l'altération des nutriments et des facteurs de croissance
- la perte de l'homéostasie protéique (protéostase)
- les altérations épigénétiques
- l'attrition des télomères
- l'instabilité génomique
- l'altération des communications intercellulaires
- l'épuisement des cellules souches

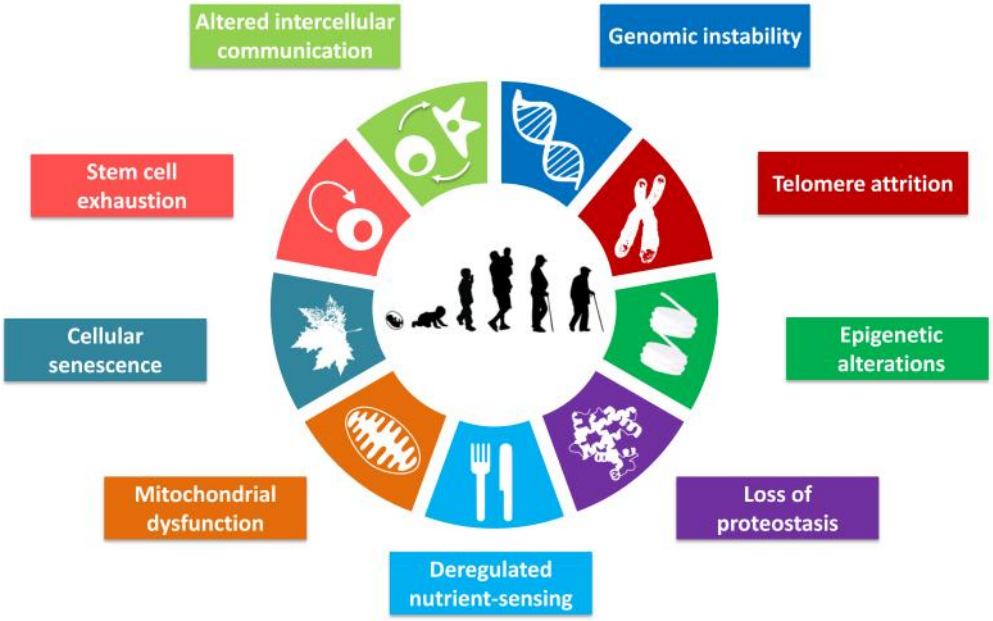

Figure 13. Les caractéristiques du vieillissement. Les 9 caractéristiques que nous allons voir dans cette partie : instabilité génomique, attrition des télomères, altérations épigénétiques, perte de

protéostase, détection dérégulée des nutriments, dysfonctionnement mitochondrial, sénescence cellulaire, épuisement des cellules souches et communications intercellulaires modifiées[63].

On cherche aujourd'hui à savoir quelles sont les causes premières et les effets ultimes de ces événements. Un des points communs à ces événements a été lié au système immunitaire : de faibles niveaux d'inflammation chronique, aussi connue sous le nom de vieillissement inflammatoire ou « inflamm-ageing »[64]

2] Les caractéristiques du vieillissement

2.1) L'instabilité génomique

L'accumulation de dommages génétiques tout au long de la vie est un des dénominateurs communs du vieillissement[65]. L'intégralité et la stabilité de l'ADN sont continuellement remises en question par des agents physiques, chimiques et biologiques exogènes, ainsi que par des menaces endogènes, notamment des erreurs de réplication de l'ADN, des réactions hydrolytiques spontanées et des espèces réactives d'oxygène (ROS)[66].
Les lésions génétiques résultant de lésions extrinsèques ou intrinsèques sont très diverses et comprennent la perturbation génétique causée par l'intégration de virus ou de transposons, le raccourcissement des télomères, des pertes et des gains chromosomiques, des translocations et des mutations ponctuelles. Pour minimiser ces lésions, les organismes ont développé un réseau complexe de mécanismes de réparation de l'ADN nucléaire[67](voir figure 14). Les systèmes de stabilité génomique comprennent également des mécanismes spécifiques pour maintenir la longueur et la fonctionnalité appropriées des télomères que nous verrons plus tard, et pour assurer l'intégrité de l'ADN mitochondrial (ADNmt)[68]. En plus de ces lésions directes de l'ADN, des laminopathies qui sont des défauts de l'architecture nucléaires peuvent provoquer une instabilité du génome et entraîner des syndromes de vieillissement prématuré[69].

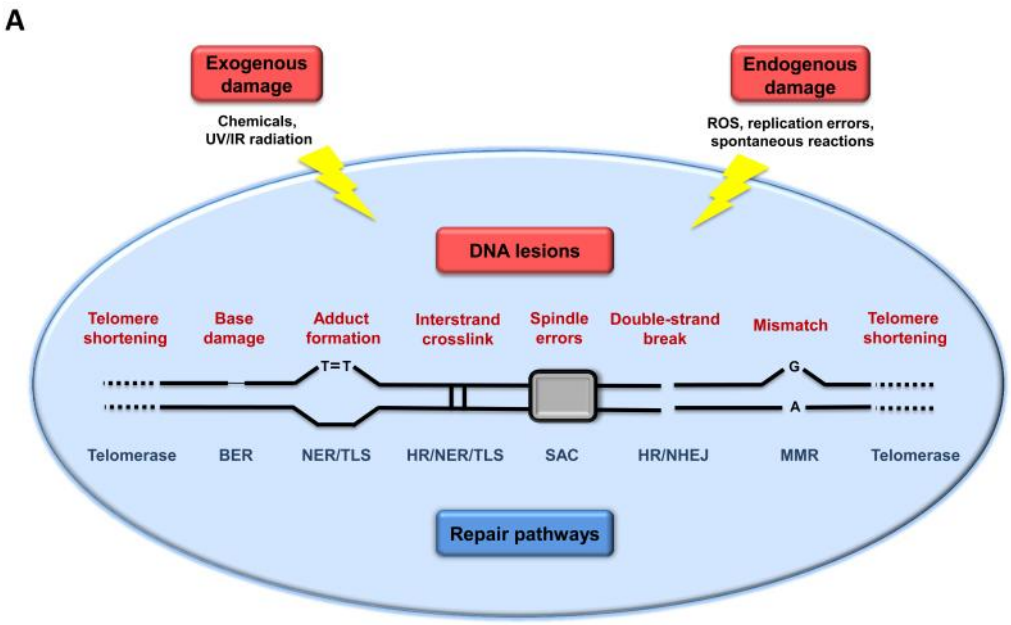

Figure 14. Modifications génomiques et systèmes de réparation. Sur ce chromosome sont représentés les agents endogènes et exogènes qui peuvent stimuler une variété de lésions d'ADN ainsi que les mécanismes de réparation associés. Les dommages excessifs à l'ADN ou une réparation insuffisante de l'ADN favorisent le processus de vieillissement[63].

Il existe aujourd'hui de nombreuses preuves que les dommages génomiques accompagnent le vieillissement et que son induction artificielle peut provoquer certains aspects du vieillissement accéléré. Vis-à-vis de la machinerie qui assure la ségrégation chromosomique fidèle, il a été prouvé que son amélioration peut prolonger la longévité des mammifères[70]. On retrouve le même genre de preuves génétiques dans les cas particuliers des progéries associés à des défauts d'architecture nucléaire, des traitements pourraient retarder le vieillissement prématuré.

Cette instabilité génomique a également un lien direct avec l'immunité vu qu'elle affecte la recombinaison VDJ. Exercice à haut risque puisqu'il nécessite la formation de cassures double-brin de l'ADN, une des lésions de l'ADN les plus dangereuses pouvant conduire à des réarrangements oncogéniques comme certaines inversions, délétions et translocations chromosomiques.

2.2) Attrition des télomères

L'accumulation des dommages à l'ADN semble affecter le génome de façon quasi aléatoire mais pourtant certaines régions chromosomiques comme les télomères sont particulièrement

sensibles à la détérioration liée à l'âge[71]. Les ADN polymérases réplicatives n'ont pas la capacité de répliquer complètement les extrémités terminales des molécules d'ADN linéaires, une fonction qui est la propriété d'une ADN polymérase spécialisée : la télomérase. La plupart des cellules somatiques de mammifères n'exprimant pas la télomérase, on assiste à une perte progressive et cumulative des séquences de protection des télomères à partir des extrémités chromosomiques. Il a été démontré sur des cultures in vitro que l'épuisement des télomères expliquait la capacité proliférative limitée de certains types de cellules, ce qu'on appelle la sénescence réplicative ou la limite de Hayflick[72,73]. L'expression ectopique de la télomérase est alors suffisante pour conférer l'immortalité à des cellules autrement mortelles sans pour autant provoquer de transformation oncogène[74].

On peut considérer les télomères comme des cassures d'ADN qui sont rendues invisibles aux machines de réparation de l'ADN par la formation d'un complexe nucléoprotéique spécialisé appelé shelterin[75]. Cela rajoute une particularité aux télomères qui vont raccourcir progressivement en l'absence de télomérase mais également en leur présence car l'infliction de dommages exogènes de l'ADN aux télomères devient invisible aux machines de réparation de l'ADN en raison de la présence de ces shelterins. La conséquence est que les dommages causés à l'ADN des télomères entrainent un type persistant de dommages amenant à des effets cellulaires délétères notamment la sénescence et/ou l'apoptose[76].

Des modèles animaux génétiquement modifiés ont établi des liens de causalité entre la perte de télomère, la sénescence cellulaire et le vieillissement de l'organisme. Des souris dont les télomères ont été raccourcis ou allongés ont présenté respectivement une diminution ou une augmentation de la durée de vie[77,78,79]. Des données récentes indiquent également que le vieillissement peut être inversé par l'activation de la télomérase. On a ainsi montré que le vieillissement prématuré des souris déficientes en télomérase peut être inversé lorsque la télomérase est réactivée génétiquement chez ces souris âgées[80]. On a également constaté que le vieillissement physiologique normal peut être retardé sans augmenter l'incidence du cancer chez les souris adultes de type sauvage par activation pharmacologique ou transduction physiologique virale systémique de la télomérase[81,82]. Des méta-analyses récentes ont montré chez l'Homme une forte relation entre les télomères courts et le risque de mortalité en particulier chez les plus jeunes[83].

Concernant le système immunitaire des études sur les anomalies génétiques associées à la déficience des télomères démontrent le rôle crucial des télomères dans la prolifération des cellules souches. Il est concevable que des télomères raccourcis dans les lymphocytes aient un impact négatif sur leur capacité à combattre les pathogènes, ce qui nécessite leur prolifération robuste. Des études sur l'infection virale chronique montrent que les lymphocytes T réactifs viraux épuisés ont des télomères très courts alors que les autres lymphocytes T ont une longueur de télomère normale, ce qui suggère que le raccourcissement du télomère peut limiter la fonction des lymphocytes T en fonction des antigènes et des antigènes spécifiques. Ainsi, les lymphocytes dotés de télomères courts auront une capacité réduite de monter une réponse immunitaire forte et soutenue[84].

2.3) Altérations épigénétiques

Tout au long de la vie, de nombreuses et diverses altérations épigénétiques affectent toutes les cellules et tous les tissus[85]. Globalement les changements épigénétiques impliquent des altérations dans les modèles de méthylation de l'ADN, le remodelage de la chromatine et la modification post-traductionnelle des histones. C'est ainsi que l'augmentation de l'acétylation de l'histone H4K16, la triméthylation H4K20 et de H3K4, ainsi que la diminution de la méthylation H3K9 ou de la triméthylation H3K27 constituent des marques épigénétiques liées au vieillissement[86,87]. Afin d'assurer la génération et le maintien des modèles épigénétiques, il existe de multiples systèmes enzymatiques qui comprennent, les histones acétylases, les ADN-méthyltransférases, les méthylases, déméthylases, les désacétylases et les complexes protéiques impliqués dans le remodelage de la chromatine (voir figure 15).

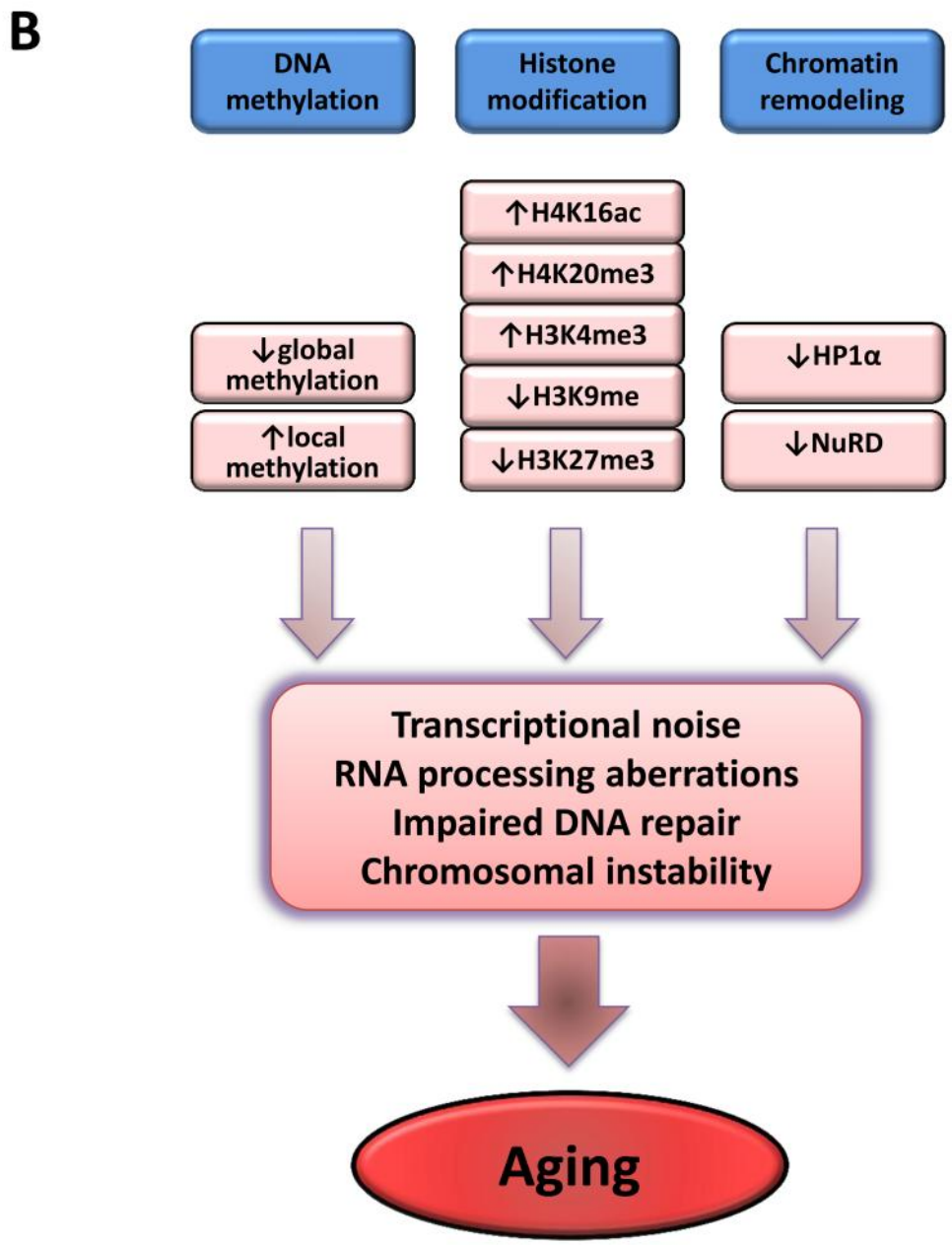

Figure 15. Altérations épigénétiques. Les processus de vieillissement peuvent être induits par des altérations de l'acétylation et de la méthylation de l'ADN ou des histones ainsi que par d'autres protéines associées à la chromatine[63].

Contrairement aux mutations de l'ADN, les altérations épigénétiques sont réversibles, du moins en théorie, ce qui pourrait offrir des opportunités pour la conception de nouveaux traitements anti-âge[88,89]. Pour exemple la restauration de l'acétylation physiologique H4 par l'administration d'inhibiteurs d'histone désacétylases permet d'éviter l'apparition de troubles de la mémoire associés à l'âge chez la souris[90], indiquant ainsi que le blocage des changements épigénétiques peut avoir des effets neuroprotecteurs. Les inhibiteurs des histones acétyltransférases améliorent également le phénotype de vieillissement prématuré et

prolongent la longévité des souris progéroides[91]. Une découverte assez récente a montré que l'héritage épigénétique transgénérationnel de la longévité chez *C.elegans* suggère que la manipulation de modifications chromatiniques spécifiques chez les parents peut induire une mémoire épigénétique de longévité chez leurs descendants[92].

Au final de multiples données suggèrent que le vieillissement s'accompagne de changements épigénétiques et que les perturbations épigénétiques peuvent provoquer des syndromes progéroïdes chez les organismes modèles. Ces travaux pris dans leur ensemble, amènent à penser que la compréhension et la manipulation de l'épigénome sont prometteuses pour améliorer les pathologies liées à l'âge et prolonger la durée de vie en bonne santé.

2.4) Perte de protéostase

Le vieillissement et certaines maladies liées au vieillissement sont liés à une altération de l'homéostasie des protéines appelée aussi protéostase[93](voir figure 16) L'ensemble des cellules profitent d'une multitude de mécanismes de stabilisation et de contrôle de la qualité afin de préserver la stabilité ainsi que la fonctionnalité de leurs protéomes. La protéostase implique donc des mécanismes de stabilisation des protéines correctement repliées, en particulier la famille des protéines à choc thermique, et des mécanismes de dégradation des protéines par le protéasome ou le lysosome[94,95,96]. On a découvert qu'il existait également des régulateurs de la protéotoxicité liée à l'âge, comme le MOAG-4, qui agissent par une voie alternative distincte des chaperons et des protéases moléculaires[97]. L'ensemble de ces systèmes fonctionnent de manière coordonnée pour restaurer la structure des polypeptides mal pliés ou pour les éliminer et des dégrader complètement, empêchant ainsi l'accumulation de composants endommagées et assurant le renouvellement continu des protéines intracellulaires. A la suite de ces découvertes, de nombreuses études ont démontré que la protéostase est altérée par le vieillissement[95]. On a aussi remarqué que l'expression chronique de protéines dépliées, mal pliées ou agrégées contribuait au développement de certaines pathologies liées à l'âge comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou encore la cataracte[93].

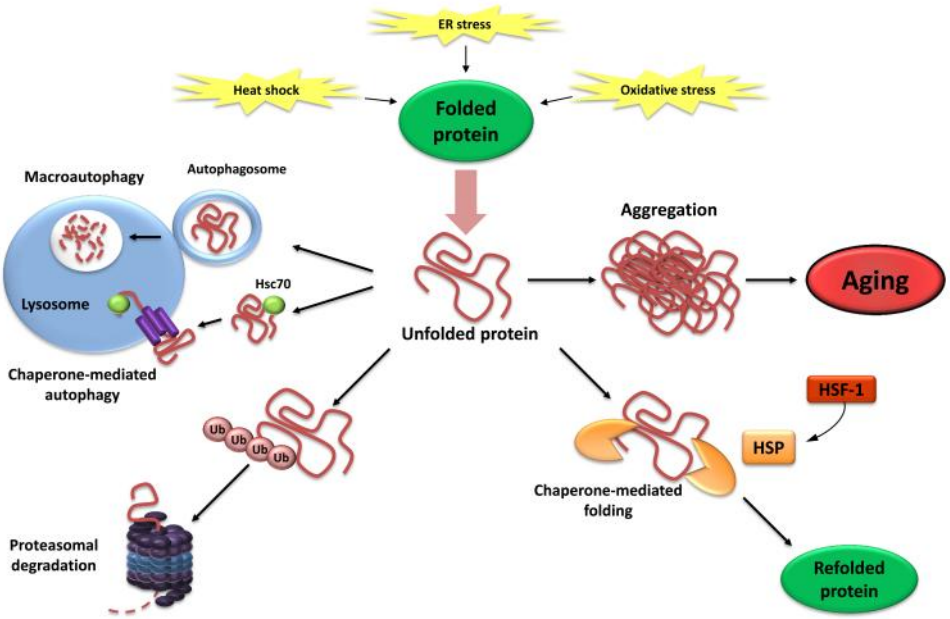

Figure 16. Perte de protéostase. Le stress exogène et endogène provoque le dépliage des protéines (ou altère le bon repliement pendant la synthèse des protéines). Généralement les protéines non repliées sont de nouveau pliées par des protéines de choc thermique (HSP) ou ciblées pour être détruites par les voies ubiquitine-protéasome ou lysosomale (autophagique). Ces voies autophagiques comprennent la reconnaissance des protéines dépliées par la chaperone Hsc70 et leur importation qui suit dans les lysosomes (autophagie médiée par les chaperones) ou la séquestration des protéines et organites endommagées dans les autophagosomes qui fusionnent ensuite avec les lysosomes (macroautophagie). C'est donc l'incapacité de replier ou de dégrader les protéines non repliées qui peut entraîner leur accumulation et leur agrégation amenant à des effets protéotoxiques[63].

Il est ainsi prouvé que le vieillissement est associé à une protéostase perturbée ; et la perturbation expérimentale de la protéostase peut précipiter des pathologies liées à l'âge. Des exemples prometteurs de manipulations génétiques ont ainsi montré qu'améliorer la protéostase retarder le vieillissement chez les mammifères[98].

Sur le plan immunologique, la protéostase joue par exemple un rôle dans le cadre d'infections virales. Pour prédire et limiter l'évolution de virus à ARN, il faut comprendre les facteurs moléculaires qui définissent le paysage mutationnel accessible à ces agents pathogènes. Les virus à ARN ont généralement des taux de mutation élevés, ce qui entraîne la production fréquente de variantes protéiques dont les propriétés biophysiques sont compromises. Leur évolution est nécessairement limitée par le défi que représentent le repliement et la fonction des protéines. Une hypothèse a été émise selon laquelle les mécanismes de protéostase de

l'hôte peuvent être des déterminants importants de l'aptitude des variants des protéines virales, servant de force critique dans l'évolution virale. Cette hypothèse a été testée en propageant la grippe dans des cellules hôtes présentant des environnements protéostasiques divergents et contrôlés chimiquement. Il a été constaté que la nature de la sélection sur le génome de la grippe et l'accessibilité de trajectoires mutations spécifiques sont grandement influencées par la protéostase de l'hôte. Ces résultats fournissent de nouvelles perspectives sur les caractéristiques des interactions hôte-pathogène qui façonnent l'évolution virale et sur la conception potentielle de thérapies antivirales ciblées sur la protéostase de l'hôte[99].

2.5) Dérégulation de la détection des nutriments

L'axe somatotrophique chez les mammifères comprend l'hormone de croissance (GH) qui est produite par l'hypophyse antérieure, et son médiateur secondaire, le facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF-1), qui est produit en réponse à la GH par plusieurs types de cellules. La voie de signalisation IGF-1 est la même que celle de l'insuline, qui informe les cellules de la présence de glucose. C'est pour cette raison que l'IGF-1 et la signalisation de l'insuline sont connus sous le nom de IIS (voie de signalisation de l'insuline et de l'IGF-1).

La voie IIS est la voie du contrôle du vieillissement la mieux conservée de l'évolution et parmi ses multiples cibles figurent la famille des facteurs de transcription FOXO et les complexes mTOR qui sont également impliqués dans le vieillissement et conservés par l'évolution[100,101,102]. Des polymorphismes ou des mutations génétiques qui réduisent les fonctions des récepteurs GH et IGF-1, des récepteurs de l'insuline ou des effecteurs intracellulaires en aval tels que Akt, mTOR et FOXO ont donc été reliés à la longévité tant chez les humains que chez les organismes modèles, illustrant davantage l'impact majeur des voies trophiques et bioénergétiques sur la longévité[100,101,102](voir figure 17).

En plus de la voie IIS, trois autres systèmes de détection des nutriments connexes et interconnectés font l'objet d'études approfondies[103] :
- mTOR pour la détection de concentrations élevées d'acides aminés
- AMPK, qui détecte les états de faible énergie en détectant les niveaux élevés de PGA
- Sirtuines qui détectent les états de faible énergie en détectant les niveaux élevés de NAD^+

Prises dans leur ensemble, les données probantes actuellement disponibles appuient fortement non seulement l'idée que la diminution de la signalisation des nutriments prolongent la

longévité mais également que c'est la signalisation anabolique qui accélère le vieillissement[100]. A noter également que des études pharmacologiques utilisant la rapamycine qui imite un état de disponibilité limité en nutriments a prolongé la longévité de souris[104].

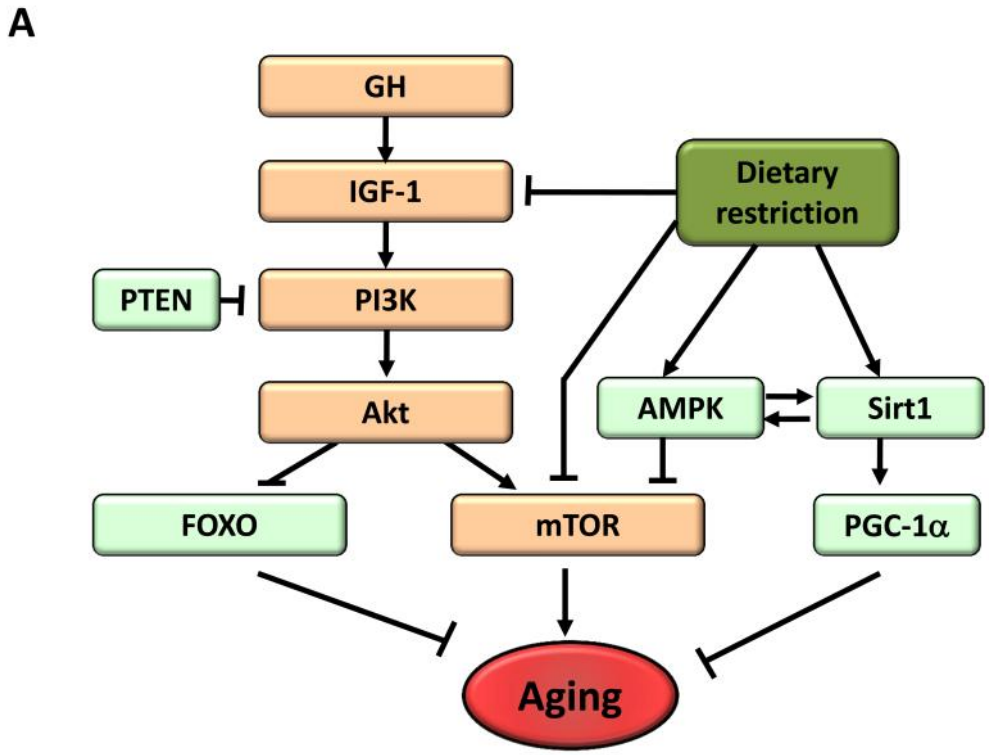

Figure 17. Dérégulation de la détection des nutriments. Aperçu de l'axe somatrophique impliquant la GH et IGF-1 ainsi que sa relation avec les restrictions alimentaires et le vieillissement. Les molécules qui favorisent le vieillissement sont indiquées en orange tandis que celles qui sont caractérisées comme anti-âge sont indiquées en vert clair[63].

2.6) Dysfonctionnement mitochondrial

Le vieillissement des organismes et des cellules affecte l'efficacité de la chaîne respiratoire qui tend à diminuer, ce qui augmente alors les fuites d'électrons et réduit la production d'ATP[105](voir figure 18). Cela fait des années que la relation entre le dysfonctionnement mitochondrial et le vieillissement est soupçonnée mais la dissection de ses détails demeure un défi majeur pour la recherche sur la sénescence.

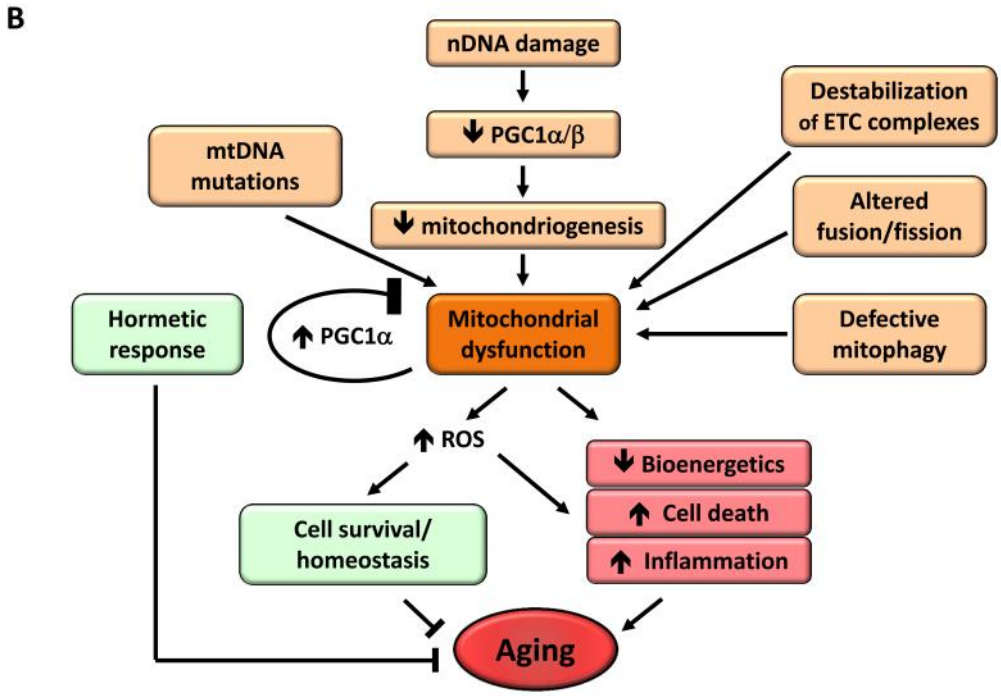

Figure 18. Dysfonctionnement mitochondrial. La fonction mitochondriale est perturbée par des mutations de l'ADNmt associées au vieillissement, une réduction de la mitochondriogénése, la déstabilisation des complexes de la chaine de transport d'électrons (ETC), une dynamique mitochondriale modifiée ou un contrôle de qualité défectueux par mitophagie. Les signaux de stress et une fonction mitochondriale défectueuse génèrent des ROS qui, en dessous d'un certain seuil, induisent des signaux de survie pour restaurer l'homéostasie cellulaire, mais à des niveaux supérieurs ou continus peuvent contribuer au vieillissement. De même de légers dommages mitochondriaux peuvent induire une réponse hormétique (mitohormésis) qui déclenche des processus compensatoires adaptatifs[63].

Au cours du vieillissement les dysfonctionnements mitochondriaux sont également liés à l'hormèse[106]. Selon ce concept, les traitement toxiques doux déclenchent des réponses compensatoires bénéfiques qui surpassent la réparation des dommages déclencheurs et produisent de ce fait une amélioration de la condition physique cellulaire par rapport aux conditions initiales pré-dommages. Ainsi, bien que de la dysfonction mitochondriale grave soit pathogène, de légères déficiences respiratoires peuvent augmenter la durée de vie, peut être en raison d'une réponse hormétique[107]. De telles réactions hormétiques peuvent induire une réponse de stress mitochondrial soit dans le même tissu dans lequel les mitochondries sont défectueuses, soit même dans les tissus distants, comme le montre *C.elegans*[108]. La

dysfonction mitochondriale peut accélérer le vieillissement des mammifères[109,110,111] mais il est moins clair si l'amélioration de la fonction mitochondriale, par exemple par la mitohormesis que nous avons définie avant, peut prolonger la vie des mammifères bien que des preuves suggestives aillent dans ce sens.

En regard de tout cela, l'importance des mitochondries dans l'immunité est devenue plus claire, ce qui fait que leurs affections doivent être prises en compte dans un cadre plus large. En plus de contrôler le sort des cellules, les mitochondries fournissent des plates-formes de signalisation générées par MAVS, ROS et ADNmt. Les mitochondries équilibrent l'état redox pour affiner l'activation inflammasomique du NLRP3. Le maintien de la fidélité mitochondriale par la mitophagie est important pour le sort et l'immunité des cellules. Le rôle protecteur de la mitophagie a le potentiel de traiter les maladies inflammatoires avec excès de ROS et dysfonctionnement mitochondrial. Cette idée est appuyée par l'observation selon laquelle les antioxydants mitochondriaux aident à atténuer les symptômes[112,113]. De plus, le ciblage de cette voie peut être une stratégie thérapeutique parce que la mitophagie défectueuse a été impliquée dans la maladie de Parkinson. En plus de tout cela, les mutations des protéines mitochondriales ont gagné en importance clinique avec par exemple le facteur inducteur d'apoptose mitochondrial associé-1 (AIFM-1) qui a été lié à la régulation du système immunitaire. Il a été démontré que des mutations de l'AIFM-1 étaient liées à l'encéphalomyopathie mortelle chez les nourrissons[114]. On peut également citer les mutations récurrentes de l'IDH-2 qui ont été associées au lymphome angio-immunoblastique à cellules T[115]. Les travaux futurs se poursuivront pour révéler l'ensemble des fonctions des mitochondries dans l'immunité.

2.7) La sénescence cellulaire

La sénescence cellulaire peut être définie comme un arrêt stable du cycle cellulaire couplé à des changements phénotypiques stéréotypés[116,117,118] (voir figure 19). Ce phénomène a été décrit à l'origine par Hayflick dans les fibroblastes humains passés en série en culture[72]. Aujourd'hui nous savons que la sénescence observée par Hayflick est causée par le raccourcissement du télomère comme nous avons vu précédemment[74] mais il existe d'autres stimuli liés au vieillissement qui déclenchent la sénescence indépendamment de ce processus télomérique. Les lésions non télomères de l'ADN et dé-répression du locus INK4/ARF, qui se produisent progressivement avec le vieillissement chronologique, sont également capables

d'induire la sénescence[117]. L'accumulation de cellules sénescentes dans les tissus âgés a souvent été déduite à l'aide de marqueurs de substitution comme pour les dommages causés par l'ADN. Des études ont donc utilisé la β-galactosidase (SABG) comme biomarqueur pour identifier la sénescence dans les tissus[119]. On peut noter qu'une quantification détaillée et parallèle des dommages causés par le SABG et l'ADN dans le foie a produit des données quantitatives comparables, donnant un total d'environ 8% de cellules sénescentes chez de jeunes souris et environ 17% chez de très vieilles souris[120]. Des résultats similaires ont été obtenus sur la peau, les poumons et la rate, mais aucun changement n'a été observé au niveau du cœur, des muscles squelettiques et des reins[120]. Ces données montrent une chose, c'est que la sénescence cellulaire n'est pas une propriété généralisée de tous les tissus des organismes âgés. Concernant les cellules tumorales sénescentes, il existe de bonnes preuves qu'elles sont soumises à une surveillance immunitaire stricte et sont efficacement éliminés par phagocytose[121,122,123].

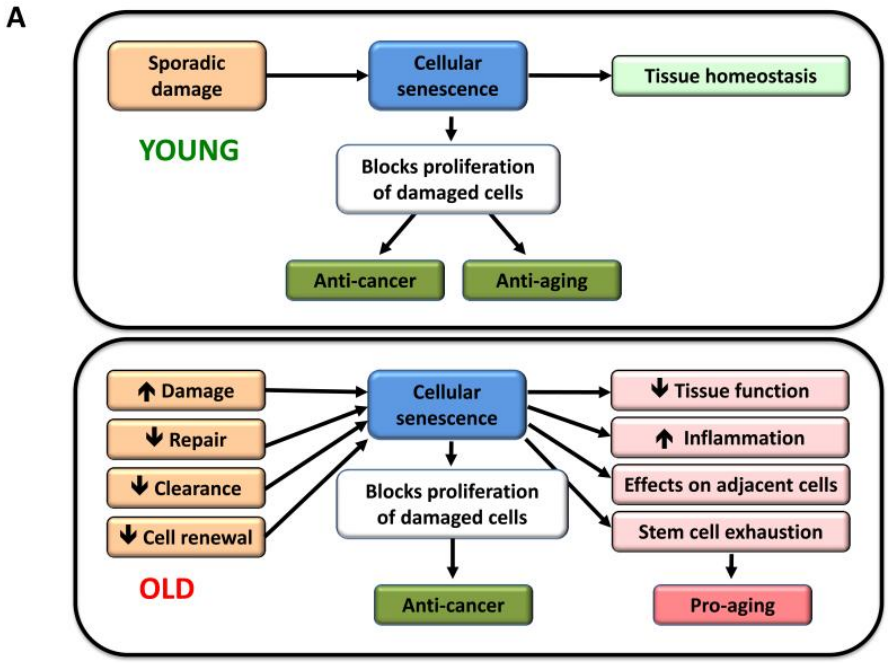

Figure 19. La sénescence cellulaire. Chez les jeunes organismes, la sénescence cellulaire prévient la prolifération des cellules endommagées, les protégeant ainsi du cancer et contribuant à l'homéostasie tissulaire. Chez les vieux organismes, les dommages omniprésents et le manque de clairance et de régénération des cellules sénescentes entraînent leur accumulation, ce qui a un certain nombre d'effets délétères sur l'homéostasie tissulaire. Ils contribuent ainsi au vieillissement[63].

La sénescence cellulaire est une réponse compensatoire bénéfique aux dommages qui deviennent délétères et accélèrent le vieillissement lorsque les tissus épuisent leur capacité

régénératrice. Mais compte tenu des complexités inhérentes aux mécanismes de la sénescence , il n'est pas possible d'affirmer avec certitude que la sénescence cellulaire est marqueur de vieillissement au même titre que les autres qui pourrait être soit stimulé soit bloqué pour retarder le vieillissement de l'organisme. En effet une amélioration modérée des voies suppressives des tumeurs induisant la sénescence peut prolonger la longévité[124,125] mais en même temps l'élimination des cellules sénescentes dans un modèle expérimental de progéria retarde les pathologies liées au vieillissement[126]. Cela montre que 2 approches conceptuellement opposées permettent de lutter contre le vieillissement. Il y a donc encore beaucoup de recherches à faire sur le sujet.

Pou reprendre à la fois l'alchimiste Paracelse et le paragraphe précédent, "la dose fait le poison." Des taux élevés d'un certain oncogène, comme le Ras, peuvent favoriser la sénescence au lieu de pousser ces cellules à devenir des précurseurs de tumeurs vigoureuses. Au début, les cellules sénescentes, en raison de leur arrêt durable du cycle cellulaire, peuvent agir comme suppresseurs de tumeurs pour arrêter la prolifération des cellules. Cependant, les cellules qui subissent la sénescence par expression oncogène libèrent une variété de facteurs SASP dont plusieurs ILs, IGFBPs (insulin-like growth factor binding protein), et TGF- β . Par la suite, les facteurs SASP peuvent agir de façon paracrine pour induire la sénescence dans les cellules adjacentes et de façon autocrine afin de recruter des cellules pro-inflammatoires qui peuvent favoriser la croissance tumorale. Des efforts continus sont déployés pour déchiffrer l'interaction entre les cellules cancéreuses, les cellules sénescentes et les cellules immunitaires. De plus, il est important d'établir quelle est l'implication de la sénescence dans certaines cellules immunitaires, y compris les macrophages. Pour cela, de nouveaux outils sont nécessaires pour étudier ce phénomène de sénescence et les comportements cellulaires dans différents contextes tels que la tumorogenèse. À l'avenir, les cellules qui éliminent sélectivement les cellules sénescentes d'une manière localisée pourraient offrir de nouvelles possibilités d'intervention dans le cancer[127].

2.8) Epuisement des cellules souches

Une des caractéristiques du vieillissement les plus évidentes est le déclin du potentiel de régénération des tissus (voir figure 20). L'hématopoïèse par exemple diminue avec l'âge, ce qui entraine une diminution de la production de cellules immunitaires adaptatives sur lesquelles nous reviendrons plus tard et une incidence accrue d'anémie et de malignités

myéloïde[128]. On a observé une attrition fonctionnelle similaire des cellules souches dans pratiquement tous les compartiments de cellules souches adultes, comprenant également le cerveau antérieur de la souris[129], l'os[130] ou encore les fibres musculaires[131]. Des études sur des souris âgées ont également révélé une diminution globale de l'activité du cycle cellulaire des cellules souches hématopoïétiques (CSH), les anciennes CSH subissant moins de divisions cellulaires que les plus jeunes CSH[132]. Ceci est à mettre en corrélation avec une accumulation de dommages à l'ADN[132] et avec la surexpression de protéines inhibitrices du cycle cellulaire telles que p16INK4a[133]. Le raccourcissement des télomères avec le vieillissement que nous avons vu précédemment joue un rôle important dans le déclin des cellules souches dans de multiples tissus[134,135].

Bien qu'une prolifération déficiente des cellules souches et progénitrices soit évidemment préjudiciable au maintien à long terme de l'organisme, une prolifération excessive de ces dernières peut également être délétère en accélérant l'épuisement des niches de cellules souches. L'importance de la quiescence des cellules souches pour la fonctionnalité à long terme des cellules souches a été démontrée de façon convaincante dans le cas des cellules souches intestinales de drosophile, où une prolifération excessive entraîne d'épuisement et le vieillissement prématuré[136]. A cet égard, l'induction d'INK4a au cours du vieillissement et la diminution de l'IGF-1 sérique peuvent tous les deux refléter une tentative de l'organisme pour préserver la quiescence des cellules souches. De plus, des études récentes ont montré qu'une augmentation de la signalisation du FGF2 dans la niche de cellule souches musculaires âgées entraine une perte de la quiescence, et éventuellement une diminution de la capacité de régénération des cellules souches, alors que la suppression de cette voie de signalisation sauve ces défauts[137]. Cela ouvre la possibilité à la conception de stratégies visant à inhiber la signalisation du FGF2 afin de réduire l'épuisement des cellules souches au cours du vieillissement.

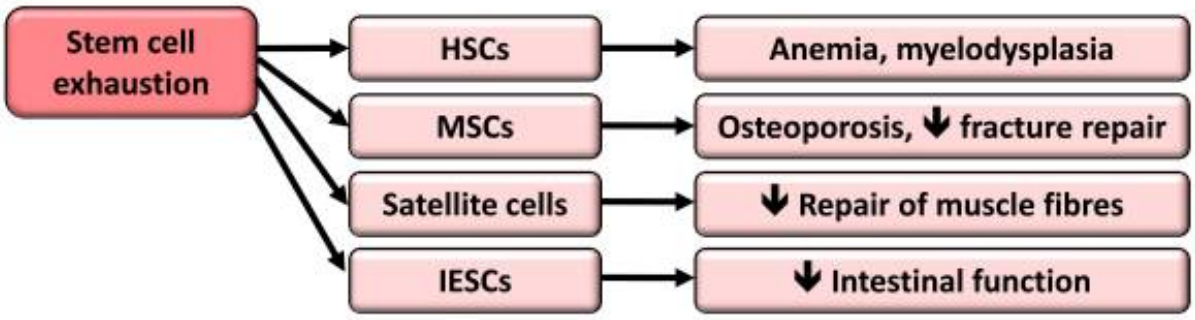

Figure 20. Epuisement des cellules souches. Illustration des conséquences de l'épuisement des CSH, des cellules mésenchymateuses (CSM), des cellules satellites et des cellules souches épithéliales intestinales (CSEI)[63]

2.9) Altération de la communication cellulaire

En plus des altérations autonomes, le vieillissement implique aussi des changements au niveau de la communication intercellulaire, qu'elle soit endocrinienne, neuroendocrinienne ou neuronale[138,139,140,141] (voir figure 21). La signalisation neuro-hormonale comme par exemple la signalisation rénine-angiotensine, adrénergique et insulinique avec IGF1 comme nous avons vu auparavant tend à être dérégulée au cours du vieillissement à mesure que les réactions inflammatoire augmentent, que l'immunosurveillance contre les pathogènes et les cellules prémalignes augmentent et que la composition du milieu péri et extracellulaire change affectant ainsi les propriétés mécaniques et fonctionnelles de tous les tissus.

3] Conclusion

Au final des chercheurs ont essayé de compiler les neufs caractéristiques candidates du vieillissement en 3 catégories[63]:

- Les marqueurs primaires
- les marqueurs antagonistes
- Les marqueurs intégratifs

Les marqueurs primaires ont en commun d'être tous négatifs sans équivoque. C'est le cas par exemple des dommages à l'ADN, des mutations de l'ADN mitochondrial et la perte de télomère, la dérive épigénétique et la protéostase défectueuse.

Les marqueurs antagonistes contrairement aux marqueurs primaires ont des effets opposés en fonction de leur intensité. C'est à dire qu'à de faibles concentrations, ils ont des effets bénéfiques mais à des concentrations élevées, ils deviennent nocifs. On peut citer alors la sénescence qui protège l'organisme du cancer, mais en excès peut favoriser le vieillissement ; de même pour les ROS qui médient la signalisation cellulaire et la survie mais à des niveau élevés chroniques peuvent produire des dommages cellulaires. La détection optimale des nutriments et un anabolisme sont également importants pour la survie mais en excès peuvent devenir pathologiques.
Les marqueurs intégratifs concernent l'épuisement des cellules souches et l'altération des communications intercellulaires qui affectent directement l'homéostasie et la fonction des tissus.

Malgré l'interdépendance qui existe entre ces marqueurs, un certain degré de relation hiérarchique pourrait être proposé (voir figure 21). Les marqueurs primaires dont les événements dommageables s'accumulent progressivement avec le temps pourraient être les déclencheurs. Viennent ensuite les marqueurs antagonistes qui étant en principe bénéfiques, deviennent progressivement négatifs dans un processus qui est en parti promu ou accéléré par les caractéristiques primaires. Enfin les marqueurs d'intégration apparaissent lorsque les dommages accumulés causés par les marqueurs primaires et antagonistes ne peuvent plus être compensés par les mécanismes homéostatiques des tissus.
L'interconnexion de ces caractéristiques est primordiale. Ce sont des approches combinées qui permettront une compréhension plus globale des mécanismes qui sous-tendent les caractéristiques du vieillissement et faciliteront les interventions futures telles que les vaccins visant à améliorer l'espérance de vie et la longévité des êtres humains.

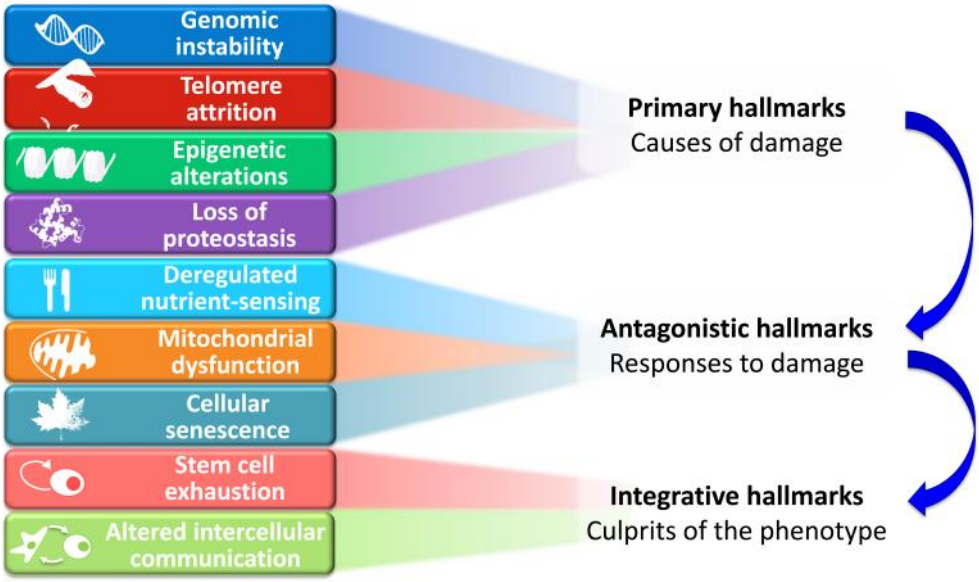

Figure 21. Interconnexions fonctionnelles entre les caractéristiques du vieillissement. Les neuf caractéristiques du vieillissement sont regroupées en trois catégories. Dans la partie supérieure, ces marqueurs sont considérés comme les principales causes de dommages cellulaires. Au milieu, ceux considérés comme faisant parti des réponses compensatoires ou antagonistes aux dommages. Ces réactions atténuent d'abord les dommages, mais finalement, si elles sont chroniques ou exacerbées, elles deviennent elles-mêmes nuisibles. En bas, il y a des marqueurs intégratifs qui sont le résultat final des deux groupes de marqueurs précédents et qui sont ultimement responsables du déclin fonctionnel associé au vieillissement[63].

III] Inflammaging

Le vieillissement se caractérise par une augmentation de l'inflammation chronique de bas grade appelée « inflammaging[142] » mesurée par les taux circulants de TNF-α, IL-6 et CRP, ainsi que par des infections latentes tel que le cytomégalovirus (CMV). L'inflammation aigüe est une réponse protectrice bénéfique aux conditions nocives telles que les infections et se révèle donc cruciale pour la survie[143]. Tandis que cette réponse inflammatoire aigüe contre les agents pathogènes diminue au cours du processus de vieillissement, entraînant une susceptibilité accrue aux infections, une inflammation chronique de bas grade se met en place. Cet « inflammaging » est un facteur de risque important de morbidité et de mortalité chez le SA puisqu'il est impliqué dans la pathogénèse de plusieurs maladies invalidantes comme le diabète de type 2, l'ostéoporose, la maladie d'Alzheimer, la polyarthrite rhumatoïde et les maladies coronariennes[144,145,146,147,148]. Les médiateurs inflammatoires circulants tels que les

cytokines et les protéines en phase aigüe, par exemple la protéine C-réactive (CRP) et la lectine de liaison au mannose (MBL), sont les marqueurs de cet état inflammatoire de bas grade.

1) Origines de l'Inflammaging

1.1) Régulation par les polymorphismes nucléotidiques uniques

L'augmentation de l'inflammation est au moins en partie déterminée génétiquement par des polymorphismes dans les régions promotrices des gènes pro-inflammatoires. Les polymorphismes nucléotidiques uniques (SNP) C/G-174 du promoteur du gène IL-6 modifient de façon significative les concentrations sériques d'IL-6. L'augmentation des taux d'IL-6 étant associée au génotype GG[149,150,151]. De ce fait, les SA ayant un génotype GG sont désavantagés sur le plan de la longévité en raison de taux sériques d'IL-6 plus élevés que les hommes âgés ayant un génotype CG ou CC[152] et présentent un risque de décès plus élevé après un syndrome coronarien aigu[153]. On peut citer un autre exemple avec le SNP +874 T/A dans le gène codant pour l'IFN-γ. L'allèle +874 A qui est associé à une faible production d'IFN-γ a été relié positivement à la longévité chez les centenaires masculins et féminins[154,155]. Ce polymorphisme T/A coïncide avec un site de liaison NF-κB impliqué dans la transcription du gène IFN-γ[156]. D'autres études sur le SNP -1082 G/A dans le gène de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 ont conduit à l'identification de trois haplotypes héréditaires différents : -1082 G/A, -819 (C/T) et -592(C/A) nucléotides dans la région proximale du promoteur et montré que la présence du génotype -1082 GG, qui est associé à une production élevée d'IL-10 était nettement plus élevée chez les centenaires comparativement aux contrôles adultes[157]. Toutes ces données suggèrent que la longévité est associée négativement aux génotypes codant pour les phénotypes pro-inflammatoires alors qu'elle est associée positivement aux génotypes codant pour les phénotypes anti-inflammatoires.

1.2) Stimulation virale chronique

Une des forces motrices de l'inflammation serait la stimulation chronique des cellules du système immunitaire par des virus comme le cytomégalovirus (CMV) ou le virus de l'herpès humain persistant (HHV5). Le CMV infecte les fibroblastes, les cellules épithéliales, endothéliales, stromales et les cellules musculaires lisses[158] qui présentent des antigènes CMV

de classe I. Les virus de l'hépatite B ou C peuvent également causer des inflammations locales mais elles sont principalement situées au niveau du foie et ne contribuent pas de façon significative à une inflammation systémique. La réponse inflammatoire initiée par des cellules innées stimulées de façon chronique provoque la libération de cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les cellules du système immunitaire inné et adaptatif et crée alors un cercle vicieux qui entraîne un remodelage du système immunitaire. En résumé le CMV induit la production d'une variété de médiateurs pro-inflammatoires qui à leur tour induisent la réactivation du CMV[159]. Des études *in vitro* ont montré que le CMV induit une translocation rapide de NF-kB dans les cellules HeLa du cytoplasme vers le noyau favorisant ainsi la production de TNF-α qui conduit à une activation supplémentaire du CMV latent et une régulation accrue de la réponse inflammatoire[160].

1.3) La sénescence cellulaire

Le processus de sénescence cellulaire pourrait être un contributeur de plus au maintien de l'inflammation en raison de l'acquisition du phénotype de sécrétion associée à la sénescence (SASP) par les cellules immunitaires[161], les fibroblastes[162] et les cellules endothéliales[163], caractérisé par une sécrétion accrue de médiateurs pro-inflammatoires tels que des cytokines, chimiokines, facteurs de croissance et protéases[164]. L'accumulation de cellules sénescentes en fonction de l'âge représente un environnement favorable au développement de maladies inflammatoires liées au vieillissement, dont le cancer. Plusieurs causes de sénescence cellulaire ont été proposées, qui peuvent être chacune intégrée dans un processus visant à réduire le cancer, la prolifération élevée, le raccourcissement des télomères, les mutations de l'ADN, les dommages à l'ADN, l'agrégation des protéines et la production de ROS. L'ensemble de ces substances active les voies de suppression des tumeurs (p53 et P16INK4) et la signalisation intracellulaire par NF-kB, TGF-β, IL-1, IL-6, CCAAT enhancer binding protein-β (C/EBP-β), qui conduit à un arrêt de croissance irréversible, à la formation d'hétérochromatine et à l'activation du SASP[165].

1.4) L'adiposité

Comme cause de l'inflammation, l'adiposité augmentant avec l'âge, a un rôle important[166]. Considérée comme une prédisposition inflammatoire puisqu'elle est associée à l'activation chronique des cellules du système immunitaire innée et à l'inflammation locale et systémique

qui en résulte, l'obésité est responsable de pathologies telles que le diabète de type 2 (DT2)[167,168,169], le cancer[170], le psoriasis[171], l'athérosclérose[172], et les maladies inflammatoires de l'intestin[173]. L'inflammation des tissus adipeux se caractérise par l'infiltration et l'activation de cellules immunitaires productrices de cytokines et de chimiokines qui contribuent à l'inflammation chronique continue favorisant ainsi la dégradation des voies métaboliques de l'obésité. Il a été démontré que dans l'obésité, les cellules T CD8 et T_H1 CD4 productrices d'IFN-γ infiltrent le tissu adipeux viscéral (VAT)[174] et favorisent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages M1 contribuant ainsi à la résistance locale et générale à l'insuline[175]. A l'inverse chez les personnes maigres, les LT T_H2 CD4 producteurs d'IL-4/5/13, les LT régulateurs CD4 (Tregs) et iNKT sont prédominants dans le VAT et favorisent la sécrétion d'IL-10 et autres cytokines anti-inflammatoires des macrophages M2 et maintiennent ainsi leur sensibilité à l'insuline.

1.5) micro-ARN et ADNmt

Les micro-ARN (miRs), petits ARN non codants impliqués dans la régulation des gènes agissant au niveau post-transcriptionnel ont été récemment proposés comme biomarqueurs pronostiques du vieillissement et des maladies inflammatoires liées à l'âge. De cette proposition est sorti le nom « inflamma-miRs » qui est attribué aux miRs présents dans la circulation sanguine et qui sont régulés à la hausse dans le vieillissement augmentant ainsi la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, agissant comme agonistes des TLRs de liaison à l'ARN simple brin et induisant une activation NF-kB[176,177,178]. Ces inflamma-miRs circulants peuvent faire partie de la signature SASP, car ils peuvent être libérés passivement par les cellules sénescentes, mortes ou apoptotiques et rester dans l'espace extracellulaire jusqu'à ce qu'ils soient détectés par une cellule distante agissant alors comme médiateurs de la communication intercellulaire.

Concernant l'ADN mitochondrial il peut être libéré dans l'espace extracellulaire et fonctionner comme un agent de modèle moléculaire associé aux lésions (DAMP) causant une inflammation[179]. Avec l'âge les taux d'ADNmt circulant augmentent, et sont en corrélation positive avec les taux plasmatiques de médiateurs pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6, antagoniste des récepteurs IL-1)[180]. Cela suggère un rôle de l'ADNmt dans le maintien de l'inflammation chronique de bas grade observée chez le SA.

1.6) Microbiote et perméabilité intestinale

Il a été aussi démontré que la composition et la diversité microbienne de l'écosystème intestinal des personnes âgées sont différentes de celles des témoins plus jeunes[181]. Cette composition microbiotique modifiée est associée à des taux sériques accrus de médiateurs pro-inflammatoires comme Il-6 et IL-8[182,183]. Les bactéries favorables (bifidobactéries) diminuent avec l'âge[184,185] tandis que les anaérobies facultatives (y compris les streptocoques, staphylocoques, entérocoques et enterobactéries) augmentent dans l'intestin en vieillissant[186,187]. Le vieillissement a également été associé à une perméabilité intestinale accrue, principalement en raison d'une barrière épithéliale intestinale altérée[188]. L'augmentation de la perméabilité permet aux produits bactériens pro-inflammatoires d'être libérés dans le sang contribuant à l'inflammation chronique. Ce domaine de recherche est très important pour mieux comprendre les maladies typiques de la vieillesse, comme l'obésité et les maladies métaboliques. Déterminer si la modulation du microbiome intestinal par la nutrition peut représenter un moyen plus facile d'améliorer la qualité de vie du SA que les interventions pharmacologiques classiques, devient un enjeu important.

IV] Immunosénescence

L'augmentation de l'inflammation liée à l'âge est généralement attribuable à l'activation systémique et locale du système immunitaire adaptatif qui, avec l'âge, présente des changements fonctionnels intrinsèques. Pendant de nombreuses années, les altérations fonctionnelles des LT ont été considérées comme les caractéristiques les plus importantes de l'immunosénescence, et suffisantes en soi pour expliquer la diminution liée à l'âge des réponses anticorps aux antigènes et vaccins observée chez les SA. Cependant, de nombreux travaux réalisés plus récemment ont démontré que les anomalies d'autres composantes du système immunitaire inné et adaptatif se produisent également avec l'âge et contribuent à l'augmentation de la fréquence et de la gravité des maladies infectieuses chez les personnes âgées.

1) Conséquences sur l'immunité innée

Pendant de nombreuses années, les études sur l'immunosénescence se sont concentrées sur l'immunité adaptative à cause des effets clairs et facilement détectables de l'involution thymique sur les LT naïfs et les LT périphériques. Pourtant, après la naissance du concept

d'inflammation, de nombreuses études ont démontré que des composantes cruciales du système immunitaire inné subissaient également des changements profonds liés à un risque accru d'infections et à une mortalité liés à ces infections accrue également.

1.1) Les neutrophiles

Au cours des années, le nombre de neutrophiles ne varient pas mais des altérations fonctionnelles profondes ont été observées[189,190]. Chez le SA, les neutrophiles sont caractérisés par une capacité réduite à migrer vers un signal chimiotactique probablement en raison d'une activation constitutive de lipide kinase phosphoinositide 3-kinase (PI3K)[191]. Cette capacité chimiotactique réduite pourrait également entraîner une diminution de l'échappement des neutrophiles des tissus enflammés contribuant ainsi à une inflammation locale encore plus élevée comme cela a été observé chez des souris âgés après une blessure pulmonaire associée à une brûlure[192]. Concernant la phagocytose et l'élimination des microorganismes ingérés, les neutrophiles conservent leur capacité à ingérer des particules non ionisés[193] mais ont une capacité réduite pour absorber les particules opsonisées ou des pathogènes tels que *Escherichia Coli*[189,194]. On peut noter que chez les centenaires, on observe des fonctions des neutrophiles bien préservées telles que la phagocytose bactérienne, la chimiotaxie et la production de superoxyde qui sont alors comparables à celles des sujets jeunes[194].

1.2) Les monocytes

Schématiquement on pourrait diviser les monocytes en 3 sous-ensembles en fonction de leur phénotype[195] :

- classique CD4++CD16-
- non classique CD14+CD16++
- intermédiaire CD14++CD16+

Le vieillissement ne modifie pas de façon significative le nombre absolu et la fréquence des monocytes totaux[196] mais en revanche il détermine des changements significatifs dans la distribution relative de leurs sous-ensembles. On observe ainsi une réduction marquée du sous-ensemble classique et une augmentation du nombre de monocytes intermédiaires et non classiques[197]. Vis-à-vis de la fonctionnalité, il y a une production diminuée de ROS et de la capacité de phagocytose[197,198], ainsi qu'une dérégulation profonde dans la libération de

différentes cytokines après activation des monocytes par des récepteurs TLR. La synthèse du TNF-α et de l'IL-6 après l'engagement du TLR1/2 est par exemple fortement réduite dans les monocytes tandis que la libération du TNF-α par stimulation de TLR4 est augmentée[199]. Les monocytes des SA libèrent également des taux plus élevés d'IL-8 après stimulation de TLR1/2, TLR2/6, TLR4 ou TLR5[200]. Ces dérèglements semblent être causés à la fois par une altération de l'expression de TLR en surface mais aussi par une altération de la signalisation en aval : alors que l'expression de TLR2 est constante, l'expression de TLR1 diminue avec l'âge et l'activation des voies MAPK et ERK1/1/1 après activation des TLR1/2 est fortement réduite dans les cellules des SA[200]. En revanche la signalisation en aval de TLR5 augmente avec l'âge[200]. La majorité de ces données ont été obtenues dans des monocytes isolés et traités *in vitro* et certains des résultats contrastés pourraient être dus à une meilleure réactivité des cellules à différenciation progressive *in vitro*[201]. Certaines données ont également été collectées sur des modèles de rongeurs et chez l'homme, les conséquences fonctionnelles d'altération similaires et possibles sont bien moins connues.

1.3) Les cellules dendritiques, mastocytes, basophiles et éosinophiles

Les études abordant le sujet des changements dans la fréquence et le nombre absolu de CD plasmacytoïdes (pDC) et de CD myéloïdes (mDC) avec l'âge ont donné des résultats discordants[196]. En revanche il est bien établi que les cellules de Langerhans (LC) diminuent sensiblement avec l'âge[202,203]. Une telle réduction pourrait contribuer à augmenter le risque d'infection cutanée chez les SA[204]. Vis-à-vis des capacités de sécrétion, les études et les données collectées sur les mDC sont mitigées : certaines études montrent une sécrétion accrue de cytokines pro-inflammatoires, d'autres n'ont montré aucun changement ou alors une production réduite[205,206]. Les pDC quant à elles sont caractérisées par une altération marquée de la libération de cytokines pro-inflammatoires avec l'âge : elles présentent une réduction des taux intracellulaires de TNF-α, IL-6 et IL-12 ainsi que d'IFN-α, IFN-β et IFN-γ sur une stimulation virale via des TLR[207,208]. Cependant la phagocytose semble bien préservée[209]. Comme l'expression des TLRs dans les pDCs est constante sur la durée de vie[210], il est probable que cette dégradation soit causée par des défauts dans la transduction du signal.

2) Conséquences sur l'immunité adaptative

2.1) Lymphocytes T : changements quantitatifs et qualitatifs

Dans le thymus sont générées les cellules T à l'origine des LT. Cet organe lymphoïde primaire va pourtant se dégrader progressivement avec l'âge dans un processus que l'on nomme involution thymique (voir figure 22). Il se caractérise par la détérioration et la disparition progressive des compartiments thymiques fonctionnels et l'accumulation de tissu adipeux, de sorte que seules des traces de tissus thymiques fonctionnels se retrouvent à 70 ans ou plus[211]. Les causes de l'involution thymique ne sont cependant pas entièrement comprises. On soupçonne que les changements liés à l'âge dans les taux d'hormone de croissance thymostimulatrices (ex : diminution des taux de GH (Growth hormone) et d'IGF-1) ou d'hormones stéroïdes, de cytokines potentiellement thymosuppressives et inflammatoires (ex : augmentation d'IL-6) ainsi que les dommages causés par le stress oxydant puissent jouer un rôle dans ce processus[211,212].

Chez le SA, la répétition des stimuli antigéniques évoquée dans la partie sur la sénescence, en particulier ceux infectieux va aboutir à l'expansion des cellules mémoires au détriment des lymphocytes naïfs. Cette accumulation de LT mémoire va remplir l'espace immunologique et le renouvellement de plus en plus faible des cellules T naïves va restreindre les réponses immunes possibles pour de nouveaux antigènes. On considère que la diversité du répertoire immunologique va rester efficace jusqu'à 65 ans avant de chuter brutalement d'un facteur 100 entre 65 ans et 75 ans. L'infection au CMV est un excellent exemple de perturbation de la diversité du répertoire immunologique car après 65 ans, 70% des sujets en sont immunisés. Le CMV est l'antigène le plus immuno-dominant c'est à dire qu'il entraîne une nécessité de maintenir un répertoire antiviral large tout au long de la vie pour le contrôle de l'infection. Les LT CD8 mémoires effectrices du CMV peuvent représenter jusqu'à 50 des LT CD8 du SA de plus de 85 ans. Une séropositivité au CMV est de ce fait associé à une mortalité élevée chez le SA, à une réponse vaccinale contre la grippe diminuée et un profil pro-inflammatoire. La réduction de fréquence des LT naïfs, la proportion croissante des LT différenciés en phase terminale et la diminution des cellules exprimant les cercles d'excision de réarrangement des récepteurs des cellules T (molécules d'ADN issus de la recombinaison somatique de la chaine α TCR, présentes uniquement dans les cellules T récemment issues du thymus) ont été caractérisées depuis longtemps comme des signes de vieillissement immunitaire[213]. Ces changements cellulaires sont couramment signalés dans la circulation sanguine[214] mais peuvent aussi s'étendre aux tissus et organes lymphoïdes (ex : rate, ganglions lymphatiques, poumons et intestin) des SA[215].

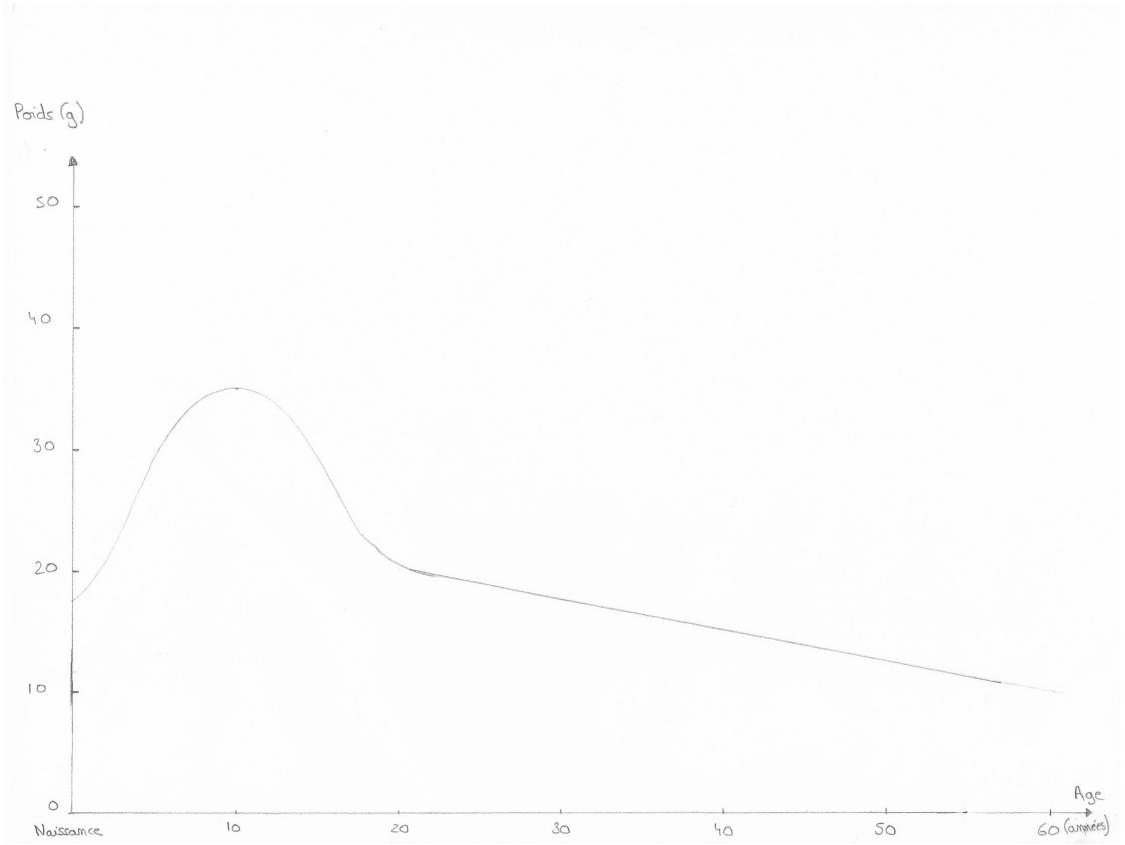

Figure 22. Involution thymique. Vers 50 ans, 80% du thymus est composé de tissu adipeux non fonctionnel. Cette involution a des conséquences néfastes sur l'immunité car cela entraîne une diminution de la production de LT naïfs. Malgré cette forte diminution de production il n'y a pas de déficit sévère de l'immunité cellulaire chez le SA car des mécanismes homéostatiques thymo-indépendants que nous avons évoqués précédemment maintiennent le pool de LT périphériques. Ainsi 40% de la production des LT est assurée de manière thymo-indépendante à 20 ans et cette proportion passe à 90% à 80 ans.

En plus de ces changements quantitatifs, des défauts fonctionnels apparaissent sur les LT naïfs à un âge avancé. On a signalé chez des cellules T naïves CD4 et CD8 de personnes âgées une signalisation TCR altérée amenant à une activation émoussée[216,217]. On observe donc une diminution de la capacité des SA à induire des réponses cellulaires T spécifiques à un antigène *de novo*. Grâce à un modèle *in vitro* d'amorçage des LT, il a en effet été démontré que les LT CD8 provenant de personnes âgées montraient systématiquement des réponses affaiblies spécifiques à un néoantigène modèle, tel que Mela-A/MART[218]. Des études chez la souris âgé ont également révélé une diminution de la capacité de trafic et de motilité des LT CD4 naïfs dans les ganglions lymphatiques avant la rencontre avec l'antigène, ce qui indique

un retard dans le recrutement des cellules immunitaires et dans la reconnaissance des antigènes[218].On a démontré cette réduction de la capacité d'amorçage des LT (c'est à dire une diminution de la réponse des LT CD4 et de CD8 spécifiques des néoantigènes) avec l'âge avancé, lors d'une infection virale primaire induite expérimentalement chez des SA par immunisation avec un vaccin atténué contre la fièvre jaune[219].

L'ensemble de ces déficits compromet l'amorçage des réponses immunitaires adaptatives précoces chez les personnes âgées, contribuant ainsi à leur vulnérabilité à l'infection ou à des cancers.

2.2) Vieillissement de la fonction cellulaire B

Le nombre de cellules B en circulation diminue considérablement avec l'âge, et des changements dans les fréquences relatives des différentes sous-populations de cellules B ont été signalés. L'évaluation de sous-ensembles spécifiques est compliquée non seulement par les variations entre individus, mais aussi par l'utilisation de différents protocoles de phénotypage. Toutefois, il existe un consensus général selon lequel l'utilisation des AC anti-CD19,-CD27 et IgD permet d'identifier quatre sous-populations majeures de cellules B en circulation[220] :

- Naïfs [IgD^+ $CD27^-$]
- Mémoire IgM [IgD^+ $CD27^+$]
- Mémoire commutée [IgD^- $CD27^+$]
- Mémoire en retard ou épuisée [IgD^- $CD27^-$]

Grâce à ces marqueurs il a été démontré que le pourcentage de cellules B mémoire commutées, prédicteurs d'une réponse anticorps optimale[221], diminue avec l'âge[222,223]. Inversement, le pourcentage de cellules B de la mémoire en retard, qui est la sous-population de cellules B antigénique et pro-inflammatoires, augmente avec l'âge[224,225].

Des anomalies intrinsèques des cellules B liées à l'âge, responsables de réponses anticorps sous-optimales chez les SA aux infections et aux vaccins ont été identifiées[226,227,228], et comprennent une diminution de l'expression et de la fonction du facteur de transcription clé E47 ainsi qu'une réduction de la cytidine désaminase (AID), l'enzyme de recombinaison de classe de l'hypermutation somatique. L'AID est une mesure de la réponse optimale des LB et il a été démontré que la diminution de son expression dans les LB chez les SA entraîne une diminution de la capacité à produire des anticorps protecteurs à affinité élevée[229]. La

transcription de l'AID est régulée par la protéine E47, une protéine de classe I codée par le gène E2A. Il a été démontré une diminution de l'ARNm E47 dans les cellules B des personnes âgées[230] due à une stabilité réduite de l'ARNm, elle même due à l'expression plus élevée des miRs 16 et 155, qui se lient à la région 3'-non traduite des ARNm E47 et AID, induisant ainsi leur dégradation[230]. Non seulement l'inflammation induit une expression plus élevée des miRs inflammatoires, mais il a également été démontré qu'elle induit l'expression de TNF-α dans les cellules B des personnes âgées, et ces taux sont positivement corrélés au TNF-α sérique et négativement corrélés avec la réponse des mêmes cellules B après stimulation *in vitro*, qui est mesurée par l'AID[231]. Les taux plus élevés de TNF-α sériques et intrinsèques des cellules B observés chez les personnages âgés ont été associés à l'augmentation de la séropositivité au CMV liée à l'âge comme on a pu le voir auparavant. TNF-α active le promoteur précoce et immédiat du CMV, créant ainsi un cercle vicieux dans lequel la production de cytokines pro-inflammatoires est accrue. Au final le CMV peut réguler à la baisse les réponses des LB soit directement par l'intermédiaire du TNF-α[232], soit indirectement par l'induction de LT en phase terminale différenciés et de LT sénescents[233] et par une génération réduite de LT mémoire[234].

2.3) Signalisation altérée, modification des fonctions cellulaires

Comme vu précédemment, l'un des changements les plus importants du vieillissement concerne la signalisation, c'est à dire l'intégration de tous les événements moléculaires convergents des récepteurs de surface vers une réponse cellulaire adéquate[235]. Cette signalisation est capitale au niveau des cellules immunitaires. Des études montrent ainsi que les voies de signalisation sont généralement altérées soit dans leurs éléments proximaux (tels que MyD88, PI3K, Lyn) soit dans les éléments distaux (tels que NFkB)[236]. JAK, Erk et PI3K qui représentent les trois voies les plus importantes sont strictement interconnectées. Leur dérégulation peut entraîner une altération de la chimiotaxie, la production de radicaux libres, la destruction des neutrophiles et des monocytes/macrophages, une réduction de la chimiotaxie et de la présentation des antigènes dans les CPA[237]. Par exemple, il a été démontré récemment que l'inhibition de PI3K, dont la signalisation des neutrophiles humains au repos est constitutivement accrue chez les SA, améliore significativement leurs fonctions en rétablissant la précision migratoire des neutrophiles[238]. Les causes de ces altérations sont nombreuses, allant du milieu inflammatoire hostile imposé par l'Inflammaging qui conduit à une augmentation du niveau basal d'activation cellulaire, à des raisons intrinsèques, telles que

des altérations membranaires ou du déséquilibre entre les voies de rétrocontrôle et les boucles inhbitrices[239].

Afin d'obtenir une réponse optimale des LT, l'action coordonnée des récepteurs de surface et des diverses voies de signalisation, y compris les voies métaboliques, est nécessaire. Des études ont montré des altérations liées à l'âge dans les voies de signalisation des LT[240], y compris une altération de la phosphorylation de la PTK, une diminution de la mobilisation du Ca^{2+} et une diminution de la PKC, PI3K et MAPK[241]. La densité du TCR reste inchangée, mais le CD28 diminue de 20 à 30% au cours du vieillissement, probablement en raison de l'augmentation des concentrations de TNF-α. Ces altérations entrainent une diminution de l'activité des facteurs de transcription de NF-kB et NF-AT (facteur nucléaire des LT activés)[242].

PTK Lck est obligatoire pour le déclenchement de la signalisation TCR. Son activité est affinée par un module à composantes multiples, composé de PTPase CD45 et de PTK Csk lié à la protéine d'échafaudage PAG (CBP). L'activité du Lck oscille entre les états amorcés, actifs et inactifs. La dérégulation de la boucle Csk/PAG/CD45 dans les LT âgés favorise la forme inactive de Lck[243], fournissant un indice moléculaire des réponses modifiées des LT au cours du vieillissement. Par exemple, l'activité de la protéine tyrosine phosphatase SHP-1 s'est avérée plus élevée chez les SA en bonne santé que chez les jeunes, ce qui correspond à la diminution de la réponse des LT. Fait important qui en découle, l'inhibition pharmacologique de SHP-1 a entraîné la récupération de la prolifération des lymphocytes TCR/CD28-dépendants et la production d'IL-2, ce qui suggère la possibilité d'améliorer les réponses des LT chez les personnes âgées en bonne santé[243]. Li *et al*[216] ont identifié un défaut associé à l'âge dans la phosphorylation ERK induite par le TCR dans les LT $CD4^+$ naïfs. La signalisation ERK défectueuse a été causée par la phosphatase 6 spécifique double (DUSP6), dont l'expression protéique augmentait avec l'âge en raison d'une diminution de la répression par miR-181a. La répression de DUSP6 à l'aide de miR-181a ou de siRNA spécifiques de DUSP6 a amélioré les réponses des LT auxiliaires de type 1. Des altérations intrinsèques ont été démontrées au niveau de la membrane des LT, car on a constaté que la teneur en cholestérol de la membrane augmentait, interférant avec coalescence des radeaux lipidiques qui sont nécessaires à une signalisation adéquate[244].

L'état d'oxydo-réduction de la cellule influence aussi fortement la signalisation des cellules T. Il a été démontré que l'activation du CD28 entraîne une diminution des niveaux de

glutathion réduit (GSH) et une augmentation des niveaux de ROS cytosoliques[245]. Dans les LT des SA, les ROS restent élevés[246]. Des niveaux élevés de ROS dans les LT peuvent inhiber la signalisation TCR en diminuant l'expression de TCR/CD3, en diminuant la phosphorylation de ZAP70 et en modifiant la mobilisation du Ca^{2+}[241]. La persistance de faibles quantités de cytokines pro-inflammatoires, concomitantes à une production accrue de ROS, deux caractéristiques de l'inflammation, convergent pour diminuer la fonction de LT chez les personnes âgées, sous la forme d'une production réduite d'IL-2 et d'une diminution de l'expansion/prolifération clonale[247].

V] Nouveaux vaccins et limites actuelles

1) Etat des lieux

Le fait que les vaccins soient la mesure la plus efficace pour prévenir les maladies infectieuses est largement accepté dans le milieu pédiatrique, et des progrès considérables ont été réalisés ces dernières années dans le développement de vaccins nouveaux et améliorés pour les enfants. Cependant il existe également un grand besoin de vaccins adaptés pour stimuler de façon optimale le système immunitaire des personnes âgées, car elles souffrent plus fréquemment d'infections et en supportent moins bien les conséquences que les adultes plus jeunes[248]. Actuellement les recommandations en matière de vaccins pour les personnes âgées varient d'un pays à l'autre et comprennent la vaccination contre la grippe, contre le *Streptococcus Pneumoniae*, contre le zona ainsi que des vaccins de rappel contre le tétanos/ la diphtérie et dans certains cas, la coqueluche et la poliomyélite. Des efforts considérables sont attendus et consacrés à la mise au point de vaccins contre d'autres agents pathogènes importants pour le SA. Les personnes atteintes de maladies sous-jacentes et les personnes âgées fragiles présentent par exemple un risque de maladie grave causée par le virus respiratoire syncitial (VRS). Rien qu'au Royaume-Uni, on estime à 18000 le nombre d'hospitalisations et à 8400 le nombre de décès causés par le VRS par saison, soit 79% des hospitalisations et 93% des décès chez les personnes de plus de 64 ans[249]. Plusieurs vaccins candidats contre le VRS en sont actuellement aux premiers stades de développement clinique[250]. Les vaccins contre les agents pathogènes nosocomiaux tels que *Staphylococcus Aureus*, *Clostridium Difficile*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae* et *Candida spp* pourraient être très bénéfiques pour les personnes âgées car ce groupe d'âge est très exposé aux hospitalisations. Le développement clinique de plusieurs vaccins candidats est en cours[251].

Concernant les vaccins actuellement administrés aux personnes âges, les méta-analyses ont estimé que l'efficacité du vaccin antigrippal chez les personnes âgées entraînait une réponse plus faible que chez les jeunes adultes[252,253]. Vis-à-vis du tétanos et de la diphtérie, les taux d'anticorps spécifiques sont souvent inférieurs à ceux qui sont considérés comme protecteurs[254] et il a été démontré que des injections de rappels uniques tard dans la vie n'induisaient pas de réponses anticorps durables contre la diphtérie chez une proportion importante de personnes âgées[255]. Quant à la coqueluche, l'immunogénicité du vaccin est plus faible chez les personnes âgées que chez les adultes plus jeunes[256]. Il devient donc primordial d'améliorer l'efficacité des vaccins actuels chez les personnes âgées et d'en développer des nouveaux.

2) Savoir tirer leçon des réussites

Compte tenu de la nature pléiotropique de l'immunosénescence et de son expression variable chez les personnes âgées, il n'est pas surprenant que malgré la dégradation physiologique de la réponse immunitaire avec l'âge la vaccination reste une intervention vitale chez le SA. Plusieurs études pharmacoéconomiques ont souligné les avantages des vaccins antigrippaux en termes de vies sauvées et de réduction des coûts directs et sociétaux liés à la réduction de la mortalité due à la grippe[257]. De plus l'échec de la vaccination est associé à une mortalité excessive due à l'infection et ses complications[258]. Cependant il a été démontré que certains vaccins présentaient une efficacité sub-optimale chez les receveurs d'âge avancé ou présentant une fragilité significative, comme avec le vaccin vivant atténué contre le zona[259] ou le vaccin conjugué contre le pneumocoque chez les sujets âgés de plus de 75 ans[260].

On estime que l'efficacité du vaccin antigrippal trivalent saisonnier inactivé diminue de façon significative chez les sujets âgés de plus de 75 ans[261], et encore plus pendant les saisons grippales, période pendant laquelle les souches virales en circulation présentent une dérive antigénique comparativement aux souches vaccinales[262]. Il convient de noter que la réponse immunitaire contre le vaccin de la grippe pandémique H1N1 était semblable chez les adultes âgés et les jeunes[263], peut être en raison de l'empreinte potentielle des expériences antérieures avec des vagues de souches du virus H1N1 en circulation continue[264]. Cette observation appuie l'hypothèse qu'il serait plus facile de bâtir sur la mémoire immunologique préexistante que de provoquer une nouvelle amorce authentique chez les adultes âgées, notion intéressante que l'on abordera plus loin avec des concepts comme l'immunobiographie ou l'immunité

formée. On peut aussi se demander si la vaccination pédiatrique influence de façon significative le niveau de réponse immunitaire à l'infection et la vaccination à un âge plus avancé. Cela deviendra certainement un domaine de recherche très pertinent lorsque la majorité de nos populations vaccinées atteindront un âge avancé.

Jusqu'à présent, trois grandes directions ont été suivies pour améliorer la performance des vaccins chez les personnes âgées :
- Augmenter la dose du vaccin
- Privilégier la voie intradermique
- Modifier les adjuvants du vaccin

3) Les 3 techniques actuelles pour renforcer la réponse immunitaire vaccinale chez le SA

3.1) Les vaccins à haute dose

L'augmentation de la dose d'antigène a considérablement amélioré les réponses immunitaires et l'efficacité du VTI et du VZV atténué vivant dans les essais de phase III[259,265]. Cependant, cette approche a donné des résultats sub-optimaux lorsqu'elle a été appliquée au vaccin contre la grippe aviaire H5N1[266]. Ces résultats indiquent que des doses élevées d'antigène vaccinant pourraient fonctionner mieux lorsqu'il existe déjà un priming immunologique et moins bien lorsque le vaccin est nécessaire pour déclencher une nouvelle réponse. Cela n'est pas surprenant, en raison du nombre réduit de LT $CD4^+$ naïfs et de LB chez les adultes âgés, comparativement aux jeunes adultes entièrement immunocompétents.

3.2) La voie intradermique

L'administration intradermique de vaccins présente l'avantage de favoriser la migration des antigènes vaccinaux vers les ganglions lymphatiques drainants avec activation des cellules dendritiques résidentes qui peuvent ensuite être induites à migrer. Ces événements impliquant des CPA peuvent conduire à l'activation de cellules T spécifiques de l'antigène et à la génération de cellules auxiliaires folliculaires T dans le ganglion lymphatique, avec activation ultérieure et maturation par affinité des cellules B spécifiques de l'antigène et leur maturation en plasmocytes. Cette voie d'administration permet d'économiser beaucoup de doses, comme en témoignent les nombreuses années d'expérience avec le vaccin antirabique[267]. Néanmoins il a fallu attendre les années 1950 pour que l'administration intradermique de VTI se révèle

efficace, particulièrement chez les sujets âgés de plus de 60 ans[268]. Il est important de noter que l'anatomie et la physiologie de la peau varient avec l'âge et que la quantité et la qualité des CD présentes dans la peau des personnes âgées diffèrent parfois de celles observées chez les adultes sains et jeunes[269]. Ces différences peuvent entraîner des variations dans l'efficacité inter-individuelle d'un vaccin intradermique.

A noter aussi que les vaccins ne produisent pas nécessairement tous une réponse plus importante lorsqu'administrés par voie intradermique. Par exemple la vaccination intradermique avec le vaccin H5N1 inactivé a donné des réponses sub-optimales par rapport aux vaccins intramusculaires[270]. L'efficacité du vaccin peut dépendre des caractéristiques intrinsèques du vaccin et de son interaction avec le microenvironnement du site d'injection. Enfin les événements réactifs locaux sont plus fréquents après l'administration intradermique que l'administration intramusculaire de VTI[271,272]. Il convient de noter que ces réactions locales ont été observées moins fréquemment chez les patients immunodéprimés, ce qui suggère un mécanisme immunologique derrière ces réactions[273]. Une dernière chose est que notre connaissance des événements immunologiques suivant la vaccination dans le sang demeure incertaine, et nos connaissances des événements se produisant dans la peau et dans les autres sites anatomiques des personnes âgées sont beaucoup plus limités.

3.3) Les nouveaux vaccins adjuvantés

Comme nous avons pu le voir dans la partie I, le domaine des adjuvants de vaccins a grandement évolué[274], à la suite de l'identification de récepteurs PRR sur des cellules innées, par exemple les TLR, et de l'identification de composants microbiens ou autres composants externes comme ligands de ces récepteurs, activateurs de l'immunité innée. Plusieurs de ces agonistes des PRR en sont maintenant à différents stades de développement en tant qu'adjuvants de vaccins[275]. Certains adjuvants comme le MPL ont été combinés à d'autres composants adjuvants pour stimuler des types spécifiques de réponse immunitaire. Il a été utilisé avec AS04 dans des vaccins à sous-unités pour produire des AC puissants et des réponses à médiation cellulaire contre le papillomavirus humain et sont maintenant largement utilisés[276]. Le MPL, avec la saponine A et le QS21 dans une formulation liposomique (avec un système adjuvant appelé AS01) ont quant à eux été utilisés dans un vaccin contre le paludisme à *Plasmodium falciparum*, qui a démontré son efficacité chez les enfants en Afrique[277]. Nous allons voir qu'AS01 est utilisé dans un nouveau vaccin sous-unitaire en

cours de développement contre le zona, une des maladies qui affecte particulièrement les personnes âgées.

4) AS01 et Zona, une grande réussite à venir ?

Le zona survient à la suite d'une réactivation du VZV qui a établi une infection latente dans les ganglions nerveux périphériques. Elle peut être affaiblissante et grave, et potentiellement dévastatrice sur le plan clinique dans les cas de névralgie post-herpétique (PHN). Son incidence augmente avec l'âge et avec la diminution de la réponse immunitaire, que ce soit à cause de l'immunosénescence, de l'immunosuppression ou d'infections comme le VIH[278]. Le vaccin vivant atténué contre le zona est efficace, mais son efficacité est moindre chez les personnes âgées, et diminue rapidement avec le temps après la vaccination[279].

Un vaccin capable de conférer une protection durable contre le zona et la PHN a été rendu possible grâce à l'utilisation d'une protéine recombinante, la gE ; la protéine de surface VZV la plus abondante ; et de l'adjuvant AS01. Deux doses de ce vaccin à sous-unité avec adjuvant se sont révélées hautement immunogènes dans les essais de phase I et II chez l'adulte, y compris l'adulte âgé, induisant des taux élevés et persistants d'AC spécifiques et de cellules T CD4[280,281]. Dans les essais de phase III à grande échelle, deux doses de ce vaccin de sous-unité avec adjuvant à base de gE se sont révélés très efficaces (>90%) contre le zona et l'efficacité n'a pas varié de façon significative entre les sujets de plus de 50 ans et ceux de plus de 70 ans[282]. L'efficacité a été maintenue à plus de 90% chez les sujets âgés de 80 ans et a persisté sans diminution significative pendant au moins 4 ans. De plus, la vaccination a permis d'éviter les PHN avec une très grande efficacité dans les cohortes plus âgées vaccinées[283].

Les résultats exceptionnels de ce vaccin semblent être attribuables, du moins en partie, à la capacité de l'adjuvant AS01 d'activer de façon coordonnée le système immunitaire inné et adaptatif. Les résultats chez la souris et les primates non humains ont montré qu'après une injection intramusculaire, les composants de l'AS01 sont rapidement transportés vers les ganglions lymphatiques drainants par les CPA, puis rapidement éliminés. La migration induite et l'activation des cellules innées (par exemple monocytes $CD14^+$ $CD16^+$) dans les ganglions lymphatiques drainants se produisent dès 24h après l'injection. On constate 4h après l'injection que la production d'IFN-γ est due aux cellules NK[284], ce qui semble essentiel

à l'activation des CD et au développement de l'immunité de type T_H1 observée après la vaccination[285]. En résumé l'adjuvant AS01 semble agir très fortement au stade très précoce post-vaccination sur divers éléments de l'immunité innée. Une activation innée précoce peut entraîner une activation plus forte des LT T_H1 $CD4^+$ spécifiques de l'antigène et une activation ultérieure des LB capables de produire des AC anti-gE. De nombreuses études utilisant des méthodes et techniques modernes que nous verrons par la suite sont actuellement en cours afin de disséquer les mécanismes fins déclenchés par l'adjuvant AS01 chez les personnes âgées qui conduisent à cette efficacité très élevée et soutenue contre le zona et ses complications, dont la PHN.

5) Les nouveaux enjeux

La recherche actuelle est axée sur des cibles spécifiques et étroites, tandis qu'une approche plus intégrée est souhaitable. La recherche fondamentale est nécessaire pour comprendre les mécanismes qui sous-tendent les événements immunologiques qui surviennent au cours du vieillissement, et en particulier l'hétérogénéité observée chez les personnes âgées. Ce ne sont pas tous les résultats chez les adultes en pleine santé qui sont nécessairement transférables aux personnes âgées. Comme nous l'avons vu auparavant, des adjuvants comme AS01 peuvent fortement activer des éléments de l'immunité innée. Ces effets peuvent être à la base de l'efficacité forte et durable démontrée contre le zona, même chez des sujets très âgés.

Comprendre comment les personnes âgées diffèrent les unes des autres non seulement en fonction de leur constitution génétique, mais aussi de leur environnement et de leurs antécédents en matière d'infections/maladies, d'alimentation, d'activité physique, de comorbidités et de traitements pharmacologiques peut influencer le résultat des analyses immunologiques que nous faisons. Par exemple, la plupart des renseignements sur la réponse immunitaire des personnes âgées aux vaccins proviennent d'études portant sur le VTI saisonnier, un vaccin qu'elles peuvent recevoir chaque année, contre un virus qu'elles ont fréquemment rencontré depuis leur enfance. Cette exposition continue aide à établir une mémoire importante capable de répondre à des rencontres ultérieures avec le virus et/ou le vaccin, comme le suggèrent des rapports récents[264].

En conclusion une approche intégrée visant à mieux comprendre le vieillissement et la santé ainsi que la façon dont les vaccins peuvent aider à surmonter certains problèmes de l'immunosénescence est à la base du vieillissement en santé et d'une meilleure qualité de vie.

VI] Conclusion

Grâce à tout ce que nous venons de voir on pourrait définir l'immunosénescence comme le phénomène de perte marquée d'efficacité du système immunitaire, induite par le vieillissement de l'individu. Ce remodelage complexe et continu de l'immunité concomitant d'une diminution de volume de tous les organes lymphoïdes avec l'âge va entraîner la réduction de certaines fonctions immunitaires et l'augmentation/conservations de certaines autres. Cette dysrégulation explique comme nous l'avons vu en partie la plus grande vulnérabilité des personnes âgées aux nombreuses infections et épidémies. Bien que des progrès importants aient été réalisés dans la compréhension des mécanismes qui sous-tendent le déclin lié à l'âge de la réponse immunitaire vis-à-vis des infections, une approche plus globale devient plus que pertinente. Grâce à l'avancée permanente de nos connaissances dans les divers systèmes physiologiques vieillissant, l'immunosénescence doit pouvoir s'intégrer dans un modèle plus global de sénescence qui parvient à traiter de manière transversale l'ensemble des données que nous avons acquises au cours des dernières décennies. Il est maintenant possible de développer des approches efficaces ciblant les personnes âgées et si les vaccins restent aujourd'hui une des interventions médicales les plus pertinentes chez les SA pour les prévenir d'infections ou de complications ; il va pourtant falloir les rendre plus efficace et plus spécifique.

Partie III :
Avenir vaccinal

I] Introduction

La stratégie qui a permis le développement de vaccins s'appuyant sur le paradigme « isoler, inactiver, injecter » a bien servi le domaine de la vaccinologie ces 2 derniers siècles. Ce développement empirique de vaccins candidats a même permis d'obtenir de très belles victoires contre des infections excessivement létales comme la variole. Cependant, une telle approche présente des limites et, en tant qu'approche empirique, elle n'utilise pas l'ensemble de nos nouvelles connaissances en immunologie et génétique. Une compréhension plus complète des processus biologiques qui aboutissent à la résistance ou l'anéantissement des maladies est nécessaire. L'avènement des technologies d'essais, de la biologie des systèmes de haute dimension ainsi que d'une approche vaccinomique ouvre une nouvelle ère dans la science du développement des vaccins. Même si les vaccins comptent parmi les interventions de santé publique les plus efficaces à ce jour (la plupart des maladies évitables par la vaccination ayant diminué de 95 à 99% aux Etats Unis[286]), de nombreux défis attendent les immunologues concernant les personnes âgées et les maladies qui les touchent.

Nous allons voir quels sont progrès qui ont été réalisés ces dernières années concernant les vaccins adressés aux personnes âgées ainsi que les limites auxquels ils sont confrontés. Nous aborderons ensuite les nouvelles stratégies qui sont et vont être mises en place avec les années afin de répondre au défi d'une vaccination efficace chez les personnes âgées. La biologie et la vaccinologie systémique, l'analyse omique, l'immunobiographie, l'immunité formée ou encore l'immunologie personnalisée représentent toutes une partie de la solution au problème posée par l'immunosénescence vis-à-vis de la vaccination des personnes âgées.

II] L'avènement de la biologie systémique

La biologie systémique a été définie comme « une approche interdisciplinaire qui décrit systématiquement les interactions complexes entre toutes les parties d'un système biologique, en vue d'élucider de nouvelles règles biologiques capables de prévoir le comportement du système biologique »[287](voir figure 23). Les systèmes biologiques sont plus que de simples collections de gènes/protéines ; ce sont des ensembles complexes de voies fonctionnelles et parfois redondantes qui, ensemble, produisent des comportements cohérents[288], dont les réponses immunitaires innées et adaptatives sont de parfaits exemples. C'est pourquoi les vaccinologues doivent non seulement utiliser une technologie à haut débit pour comprendre le

profilage immunitaire après la vaccination, mais aussi concevoir des stratégies conçues pour comprendre comment ces données peuvent être exploitées en vue du développement de nouveaux vaccins. Compte tenu des progrès remarquables de la technologie, il convient d'examiner comment les nouvelles technologies, la biologie systémique et les approches analytiques et bioinformatiques utilisés pour comprendre les données produites peuvent être utilisées au mieux pour atteindre l'objectif du développement de nouveaux vaccins. Cela doit s'articuler autour d'un nouveau paradigme de développement de vaccins mis en place autour de 4 phases : organiser, analyser, utiliser et immuniser.

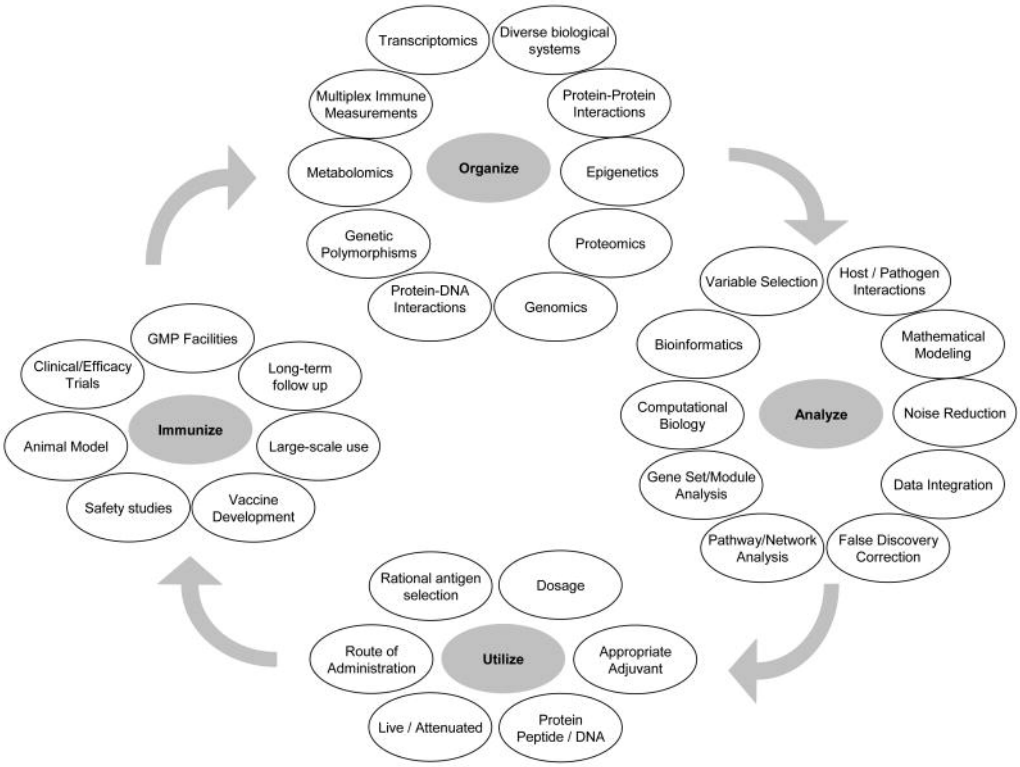

Figure 23. Une approche itérative de la biologie des systèmes pour le développement de vaccins. Le passage d'une phase à l'autre implique la mise à jour des connaissances biologiques connues avec des implications pour la conception de l'étude, les stratégies analytiques, les paramètres de l'étude et les techniques de laboratoire[289].

1) Organiser

Organiser : Comprend la sélection des « technologies omiques » à haute dimension appropriées pour interroger les systèmes biologiques appropriés ainsi que l'organisation et l'intégration *a priori* des connaissances connues sur les voies et les réseaux.

Au cours de la dernière décennie, de nombreux essais de grande dimension ont été mis à la disposition des chercheurs, ce qui a permis d'interroger des milliers, voire des millions de paramètre d'évaluation. Ceux-ci peuvent être organisés en fonction du système biologique ou d'un réseau au sein d'un organisme. Il est important de noter que ces technologies dites « omiques » sont disponibles pour la caractérisation à grande échelle d'un grand nombre des composants essentiels des systèmes biologiques tels que :

- l'ADN (comprenant SNP, insertions et délétions génétiques, variation du nombre de copies chromosomiques (CNV) et méthylation de l'ADN)
- ARN (comprenant expression d'ARNm, expression de microARN, détection différentielle de transcription, criblage par interférence ARN)
- Protéine (comprenant expression et localisation de la protéine, interaction protéine-protéine utilisant le criblage y2h (yeast two-hybrid))

C'est évidemment une liste qui s'allonge avec d'autres domaines tels que la lipidomique, la métabolomique, l'interactomique, la localisomique, la phoshoprotéomique et la cytométrie en flux polychromatique, rendus possibles par les nouvelles technologies à haut débit et à haute dimension disponibles[290,291].

Les résultats de ces analyses peuvent être organisés en fonction de la connaissance des sentiers ou du réseau. On peut ainsi aborder le profilage immunitaire des réponses immunitaires induites par le vaccin à travers la « théorie du réseau de la réponse immunitaire ». Selon cette théorie, les réponses immunitaires des vaccins sont le résultat cumulatif d'interactions induites par une multitude de gènes. De plus, ces interactions sont théoriquement prévisibles. Les éléments de base du réseau comprennent :

- Les gènes qui activent ou suppriment les réponses immunitaires
- Le profil de dominance d'un gène donné ou le polymorphisme par rapport à un antigène spécifique
- Les modifications épigénétiques des gènes
- L'influence de la signalisation et autres gènes de réponses innés
- Les interactions gènes-gènes
- Les gènes pour les autres facteurs de réponses hôte

En surveillant les réponses immunitaires au fil du temps à l'aide de ce cadre conceptuel, nous pouvons commencer à comprendre et à « organiser » les moteurs des réponses immunitaires protectrices et non protectrices aux antigènes vaccinaux et, en retour, utiliser cette information

pour élaborer de nouvelles stratégies vaccinales. On peut citer comme exemple la découverte de la façon dont un polymorphisme spécifique d'une récepteur viral conduit à des réponses immunitaires hétérogènes, innées, humorales et/ou à médiation cellulaire, mesurables et quantifiables, ce qui permet non seulement de mieux comprendre le fonctionnement des vaccins, mais aussi d'élaborer de nouvelles stratégies de développement de ces derniers vis-à-vis d'une population cible comme par exemple celle des SA[292].

2) Analyser

Analyser comprend des stratégies de conception d'études et des méthodes de modélisation pour intégrer véritablement les données couvrant chacun des systèmes biologiques analysés. Cette étape comprend également des techniques statistiques pour maximiser la puissance et minimiser les faux positifs tout en modélisant les interactions complexes et en développant une meilleure compréhension de la biologie de l'hôte et des pathogènes sous-jacents au processus immunitaire.

2.1) Conception expérimentale

La plupart des analyses de haute dimension produisent des mesures d'abondance qui sont relatives plutôt qu'absolues, ce qui rend les principes fondamentaux de randomisation, de réplication et de blocage d'une importance critique lors de l'élaboration des plans d'études expérimentales statistiques. L'application directe de ces principes afin de minimiser les effets expérimentaux tels que les effets de lot et de maximiser l'utilisation des ressources patients et du temps dans les plateformes à haut débit a récemment été décrite[293,294]. Les considérations relatives à la sélection des sujets, les sources potentielles de biais et les méthodes permettant d'éviter les fausses découvertes de marqueurs ont fait l'objet de longues discussions et des lignes directrices ont été fournies pour s'assurer que les conclusions des études ne sont pas influencées par des facteurs systématiques étrangers[294,295]. De nouvelles stratégies d'essai et de conception devraient être élaborées pour la vaccinologie afin d'obtenir des échantillons suffisamment grands pour assurer la généralisation des résultats à la population. Par exemple, Thomas *et al.* ont récemment étudié les SNP associées au risque de cancer du sein dans 9770 cas et 10799 témoins par une stratégie de dépistage en trois étapes[296]. L'application de ces concepts aux études de biologie systémique dans la mise au point de vaccins devrait

contribuer à minimiser les faux positifs et à accroître la puissance, la généralisation et la reproductibilité.

2.2) Sélection et modélisation des variables

Les ensembles de données de grande dimension produisent une énorme quantité de variables prédictrices potentielles (par exemple des milliers d'ARNm), et rendent la modélisation appropriée des données une tâche complexe. Des outils de modélisation statistique sont mis au point et continuellement améliorés pour filtrer les données non informatives, sélectionner les caractéristiques les plus informatives à des fins de modélisation, intégrer les connaissances biologiques connues *a priori* dans le but de minimiser les fausses pistes et effectuer une certaine forme de validation du modèle statistique comme la validation croisée[297,298]. Par exemple, les méthodes de test des ensembles de gènes deviennent courantes et Witten *et al.* étendent la régression des crêtes et du lasso à une famille complète de méthode utilisant des estimations réduites pour améliorer la prédiction[299].

A titre d'exemple le NIH (National Institutes of Health) a récemment financé l'utilisation d'une approche de biologie systémique pour définir des profils immunitaires contenant les principaux facteurs de la réponse immunitaire au vaccin contre la grippe saisonnière chez les sujets âgés. Dans la phase d'organisation, ont été choisis des mesures de l'immunité humorale et cellulaire, des marqueurs d'immunosénescence ainsi que des tests épigénétiques, transcriptomiques et protéomiques de haute dimension. Deux stratégies d'analyses complémentaires ont été appliquées afin de maximiser la puissance et de minimiser les fausses découvertes (voir figure 24). Le plan d'étude comprenait une cohorte de réplication en plus de la validation du modèle statistique puisqu'il est important de vérifier que les résultats découverts dans une étude initiale peuvent être répétés chez un ensemble de sujets complètement indépendants. La réplication formelle est une tâche complexe, et il existe des lignes directrices pour effectuer la réplication et pour aider les cliniciens à évaluer l'état de préparation d'un modèle[300,301].

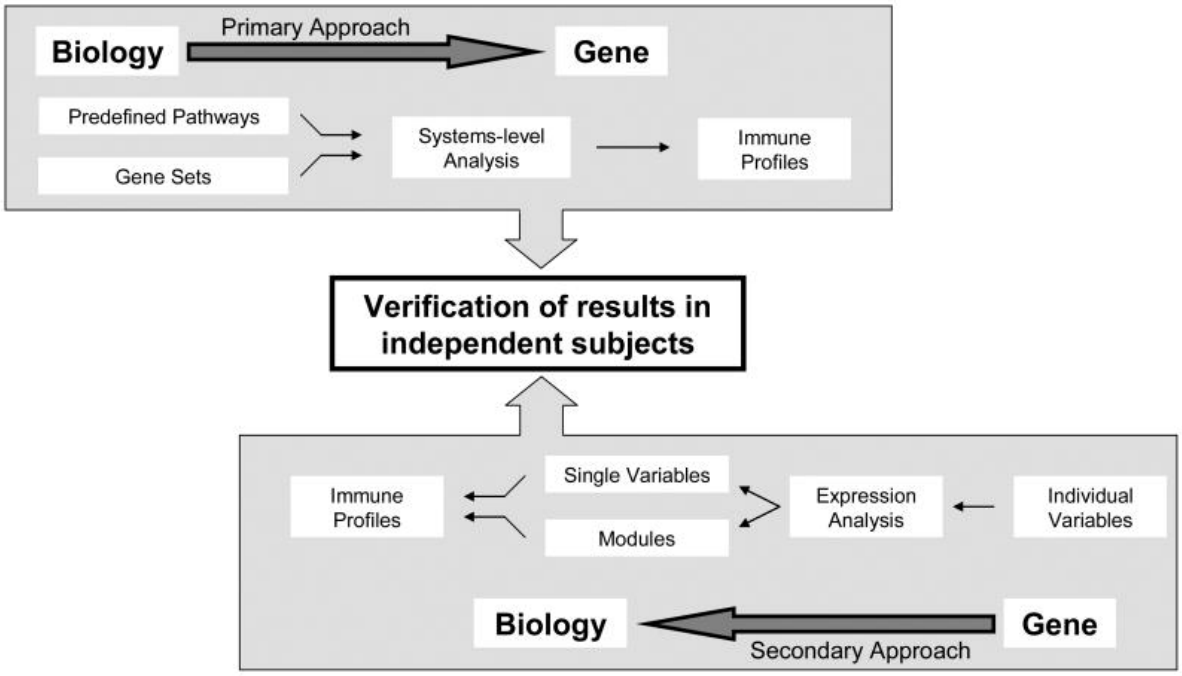

Figure 24. Approche à deux volets de la biologie systémique pour comprendre la réponse au vaccin antigrippal chez les personnes âgées. L'approche primaire de la biologie au gène est une approche déductive qui s'appuie sur des informations biologiques connues pour construire des ensembles de gènes dont on sait qu'ils sont impliqués dans des processus immunitaires clés. Les données transcriptomiques/protéomiques/cellulaires intégrées des tests de profilage seront utilisées pour élaborer des profils immunologiques liés aux résultats définis de la réponse immunitaire tels que décrits. L'approche secondaire du gène à la biologie est une approche inductive, fondée sur des données probantes, qui repose sur des variables individuelles. Les modules de cette approche sont des gènes dont l'expression génétique est corégulée. Il s'agit là de la principale approche analytique utilisée dans la littérature sur l'expression des gènes[289].

2.3) Intégration des données

Le plus grand obstacle analytique aux approches de biologie systémique est peut-être l'intégration logique de divers types de données afin de bien comprendre et interconnecter les relations entre les gènes, les transcrits, les protéines, les métabolites et les régulateurs épigénétiques. Pour y remédier, les outils d'analyse et de modélisation nécessaires pour donner un sens à l'immense volume de données générées deviennent de plus en plus sophistiqués. On peut citer comme exemple l'utilisation de l'analyse basée sur un modèle concernant les données de cytométrie en flux afin de compléter l'analyse traditionnelle basée sur les points de contrôle[302]. Une autre est l'utilisation de dépôts de données « omiques » comme l'Omnibus d'expression génétique, la base de données de protéomique ouverte ou la

base de données de réseaux biomoléculaires, et la mise en œuvre accrue d'algorithmes et progiciels conçus pour fusionner des types de données hétérogènes[290,303].

On commence ainsi à élaborer des stratégies statistiques pour modéliser ces divers types de données de grande dimension d'une manière véritablement intégrée, mais il faudra en faire beaucoup plus dans les années qui viennent.

2.4) Bioinformatique

Les progrès de la bioinformatique dans la mise au point de vaccins peuvent être regroupés en 3 grands domaines :

- La biologie des pathogènes
- La biologie de l'hôte
- L'interaction entre les deux

Au fur et à mesure que la bioinformatique est passée d'un paradigme gène unique/cible unique à la biologie systémique, l'approche de la mise au point de vaccins a évolué en conséquence. De la vaccinologie inverse classique (c'est à dire du génome viral aux cibles), nous construisons aujourd'hui des approches ciblées et un dépistage *in silico* étendu. Dans cette partie, nous allons décrire quelques avancées récentes associées à cette évolution.

En biologie des pathogènes, les analyses bioinformatiques approfondies de *Brucella*[304], et des flavivirus[305] ont identifié de nouveaux candidats pour la conception rationnelle des vaccins. Ces approches commencent par l'identification d'un ensemble de gènes hautement immunogènes à partir de données vaccinales antérieures, de prédictions structurelles et de localisation ainsi que d'une virulence interspécifique/souche comparative. Des sous-séquences de protéines immunogènes sélectionnées sont ensuite fabriquées et validées expérimentalement. Les techniques de prédiction et d'identification des épitopes de la prochaine génération deviennent de plus en plus sophistiquées, tirant parti des ensembles croissants de données génomiques et protéomiques[306]. Une meilleure prédiction de l'épitope basée sur l'immunogénicité dans le contexte de la réponse de l'hôte a été mise au point avec comme exemples l'amarrage in silico[307], la prédiction d'épitope par consensus[308] et la couverture épitopique multiple[309]. Ces méthodes s'appuient sur de nouveaux algorithmes, ainsi que sur des méthodes d'agrégation et des bases de données conservées. Actuellement,

elles sont limitées par la quantité et la qualité de références conservées en raison de l'utilisation d'algorithmes d'apprentissage machine ou de reconnaissance de formes.

Bien que l'évolution des agents pathogènes à partir de la vaccination ait été décrite il y a plus d'une décennie, des données récentes sur le séquençage et l'analyse bioinformatique, comme des diagrammes dynamiques des allèles, peuvent cartographier les dérives de populations des gènes en évolution rapide[310,311], et s'avéreront probablement utiles lorsque nous ajusterons systématiquement notre développement en réponses aux défis spécifiques tels que le ciblage des SA.

Afin d'améliorer notre compréhension de l'interaction entre pathogène et hôte, la modélisation des interactions protéine-protéine à grande échelle et les techniques de dépistage par knock-down de l'ARNi sont de plus en plus utilisées pour identifier les facteurs de virulence, les voies critiques de l'hôte impliquées dans la pathogénèse et les gènes candidats essentiels aux infections productives[312,313]. Pour presque toutes ces méthodes, la capacité d'utiliser des bases de données partagées pour former des algorithmes d'apprentissage avancées est essentielle à la réussite.

2.4.1) Réponse immunitaire innée et bioinformatique

Les voies innées de la réponse immunitaire qui impliquent les PRR et ses sous-familles, par exemple les TLR, ont été considérablement développées ces dernières années comme on a pu le voir auparavant. Ces nouvelles découvertes combinées à des études détaillées sur l'expression des gènes, ont permis de créer des modèles de systèmes qui sont prédictifs de la réponse immunitaire innée. En fait, les analyses de biologie systémique ont apporté un nouvel éclairage sur le rôle important que jouent les voies innées dans l'immunité adaptative subséquente[314,315]. L'amélioration de ces approches permettrait de créer des profils immunitaires individualisés qui ont le potentiel de personnaliser les adjuvants et d'explorer la possibilité de développer des vaccins contre les maladies auto-immunes avec réponse adaptative par exemple[316].

2.4.2) Réponse immunitaire adaptative et bioinformatique

La réponse immunitaire adaptative a également fait l'objet d'une approche de modélisation des systèmes[317] pour améliorer notre compréhension de la biologie de l'hôte. En plus des prédictions de liaison aux épitopes que l'on a vu juste avant, Love et al. ont utilisé un

séquençage profond d'épitopes du SIV (virus de l'immunodéficience simienne) susceptibles de s'échapper pour modéliser l'effet sur la réponse des cellules T CD8[318]. Un élément important en amont de la mise au point d'un vaccin consiste à surveiller les différentes sources pathogènes en circulation afin de sélectionner celles qui sont appropriées pour le ciblage vaccinal. L'application de la bioinformatique et des microréseaux à la surveillance des souches est de plus en plus répandue[319]. La modélisation de la population hôte avec des structures sociales a permis de mieux comprendre la transmission des pathogènes[320,321]. Enfin la compréhension des différences alléliques entre les individus et de leurs effets sur la réponse immunitaire a gagné beaucoup de terrain du point de vie de la pharmacogénomique et du développement des vaccins[322,323].

Le développement des approches bioinformatiques que nous venons de voir est le résultat direct de l'accumulation de données de haute dimension disponibles fournies par la biotechnologie et l'analyse statistique. Sans une transversalité entre ces compétences, l'expansion de l'analyse bioinformatique, du simple ciblage génétique à la modélisation des pathogènes hôtes, sera limitée.

3) Utiliser et immuniser

L'objectif ultime de la vaccinologie est de mettre au point des vaccins sûr et efficaces pour protéger les populations sensibles et *a fortiori* les personnes âgées. Par conséquent, l'approche de la biologie systémique doit avoir pour but de fournir une compréhension globale des processus biologiques nécessaires au développement de réponses immunitaires efficaces, lesquelles doivent à leur tour être adaptées au développement de meilleurs vaccins (voir figure 25). Des études immunogénétiques ont démontré qu'en comprenant les déterminants génétiques critiques de la réponse immunitaire, il est possible de révéler le fondement d'une faible réponse ou d'une non-réponse vaccinale ou d'une susceptibilité à des événements indésirables[290,324,325]. Cette information peut permettre une approche plus individualisée de la vaccination afin d'améliorer la réponse immunitaire chez les non-répondants au vaccin ou d'obtenir une immunité protectrice sans complications. Par exemple, des études récentes en biologie systémique et en bioinformatique du vaccin contre la fièvre jaune ont grandement amélioré notre compréhension de l'immunité innée et ont fourni des modèles prédictifs des réponses des LT CD8[291,326,327]. A cet égard, la biologie systémique (et la vaccinomique) peut fournir des renseignements essentiels sur les facteurs clés de l'immunité, des connaissances

qui peuvent être exploitées dans le choix approprié de l'adjuvant, de la dose d'antigène et même de la voie d'administration afin de susciter une immunité optimale comme on a pu le voir précédemment. De même, l'identification d'épitopes immunitaires critiques peut stimuler la mise au point de vaccins sûrs et efficaces à base de sous-unités, comme les vaccins à base de protéines contre le VHB et le papillomavirus[328,329], ou même de vaccins à base de peptides, qui, combinés aux nouvelles connaissances sur les haplotypes et supertypes HLA, peuvent viser largement ou une population spécifique plus à risque[330,331]. Un autre avantage potentiel de la biologie systémique est la mise au point de modèles prédictifs qui pourraient nous permettre d'identifier les biomarqueurs précoces de l'efficacité des vaccins ou même de prévenir des effets indésirables imminents. Les biomarqueurs prédictifs peuvent également rationaliser les tests d'efficacité des vaccins, permettant ainsi un développement préclinique moins coûteux et plus rapide.

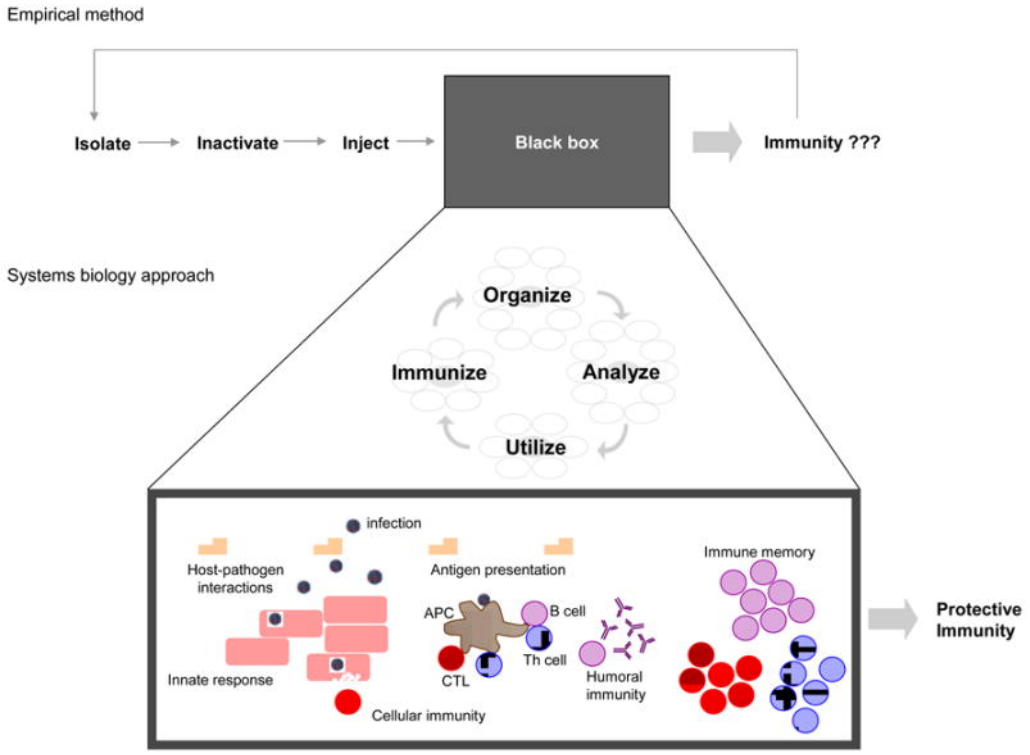

Figure 25. Application de la biologie systémique au développement de vaccins. Depuis les premiers travaux de Jenner sur la variole bovine, le développement d'un vaccin était une science empirique fondée sur une compréhension incomplète des processus immunitaires menant à la protection. Les organismes pathogènes ont été atténués, inactivés ou tués, puis injectés. Le succès a conduit à l'utilisation à grande échelle du vaccin, tandis que l'échec signifiait la répétition du processus avec une nouvelle souche pathogène ou une procédure d'inactivation différente. Les facteurs contrôlant le succès ou l'échec étaient en grande partie inconnus. Grâce à une approche de

biologie systémique, les techniques modernes d'acquisition de données à haute dimension permettent aux chercheurs de caractériser de façon exhaustive les caractéristiques épigénétiques, transcriptomiques, protéomiques, métabolomiques et autres caractéristiques essentielles des interactions hôte-pathogène et des réseaux et processus de régulation immunitaire afin de mieux comprendre les règles biologiques régissant « l'immunité » et de mieux comprendre la « boîte noire ». Des algorithmes bioinformatiques et des méthodes statistiques de pointe sont utilisés pour mieux analyser les données, qui sont ensuite utilisées pour mettre au point des vaccins de prochaine génération qui stimulent de façon appropriée les principaux moteurs de la réponse immunitaire[289].

Nous sommes actuellement dans une période que l'on pourrait qualifier de « 2éme âge d'or de la vaccinologie ». Les défis actuels de la vaccinologie sont importants, car les vaccins représentent la seule intervention médicale offerte à presque tous les humains sur terre. Le passage d'une stratégie empirique à une stratégie de vaccinomique en biologie systémique nécessitera des équipes multidisciplinaires comprenant des cliniciens et des scientifiques de laboratoire ayant des connaissances en biologie, des épidémiologistes ayant une compréhension des biais et des populations, des statisticiens ayant une compréhension de la conception expérimentale et de la modélisation, des bio informaticiens ayant une compréhension de la biologie, des outils informatiques et des bases de données publiques.

III] Vers une immunité personnalisée ?

Grâce à sa mémoire et à sa plasticité, le SI est capable d'enregistrer toutes les expériences immunologiques et les stimuli auxquels il a été exposé. La combinaison du type, de la dose, de l'intensité et de la séquence temporelle des stimuli antigéniques auxquels chaque individu est exposé a été appelée « immunobiographie ». Cette histoire immunologique induit une adaptation continue du SI tout au long de la vie, qui est responsable de la capacité de monter une réponse forte, faible ou nulle à des antigènes spécifiques, déterminant ainsi une grande hétérogénéité des réponses immunologiques. Au cours des dernières années, il est devenu clair que la mémoire n'est pas seulement une caractéristique de l'immunité adaptative puisqu'il a été observé que les cellules immunitaires innées sont également dotées d'une sorte de mémoire appelée « immunité formée ». Nous allons voir dans cette partie quelles sont les principales caractéristiques de cette immunité et quelles sont les cellules qui sont impliquées. L'immunobiographie pourrait aider à comprendre et à interpréter l'hétérogénéité individuelle des réponses immunitaires aux infections et aux vaccinations qui devient particulièrement

évidente à un âge avancé. En parallèle de tout ça, la production de grandes quantités de données et le traitement informatique vont permettre à la médecine d'arriver à une stratification et à un traitement précis des patients.

1) Immunobiographie et plasticité du SI

Une des caractéristiques fondamentales de l'ensemble du SI est sa plasticité[332], ce qui signifie que les cellules du SI sont non seulement capables de reconnaître les facteurs de stress externes et internes, mais aussi de s'adapter et de se modifier en fonction de la variété des stimuli auxquels elles sont exposées. A cet égard, un grand nombre d'études[332] suggère que non seulement le type de stimuli moléculaires et leurs doses sont critiques, mais aussi leur séquence temporelle. La combinaison de ces facteurs est intégrée et cette intégration se produit à chaque contact avec un antigène ou un stresseur. Toute l'histoire des rencontres antigéniques ou l'immunobiographie peut être représentée comme un paysage de Waddinggton[332] (voir figure 26). L'immunobiographie commence *in utéro* et se poursuit tout au long de la vie dès le premier jour de vie et est donc fortement influencée par les événements du début de la vie. Dans ce cas, les réponses immunitaires de chaque individu seront uniques, en raison de ses antécédents immunologiques, c'est à dire de la somme et de l'interaction de toutes expériences/stimuli immunologiques. Les dimensions temporelles et géographiques, ainsi que le statut socio-économique et psychologique, la nutrition (tolérance orale et microbiote intestinal) font partie intégrante de l'immunobiographie et pourraient affecter le SI, entrainant ainsi son remodelage continu.

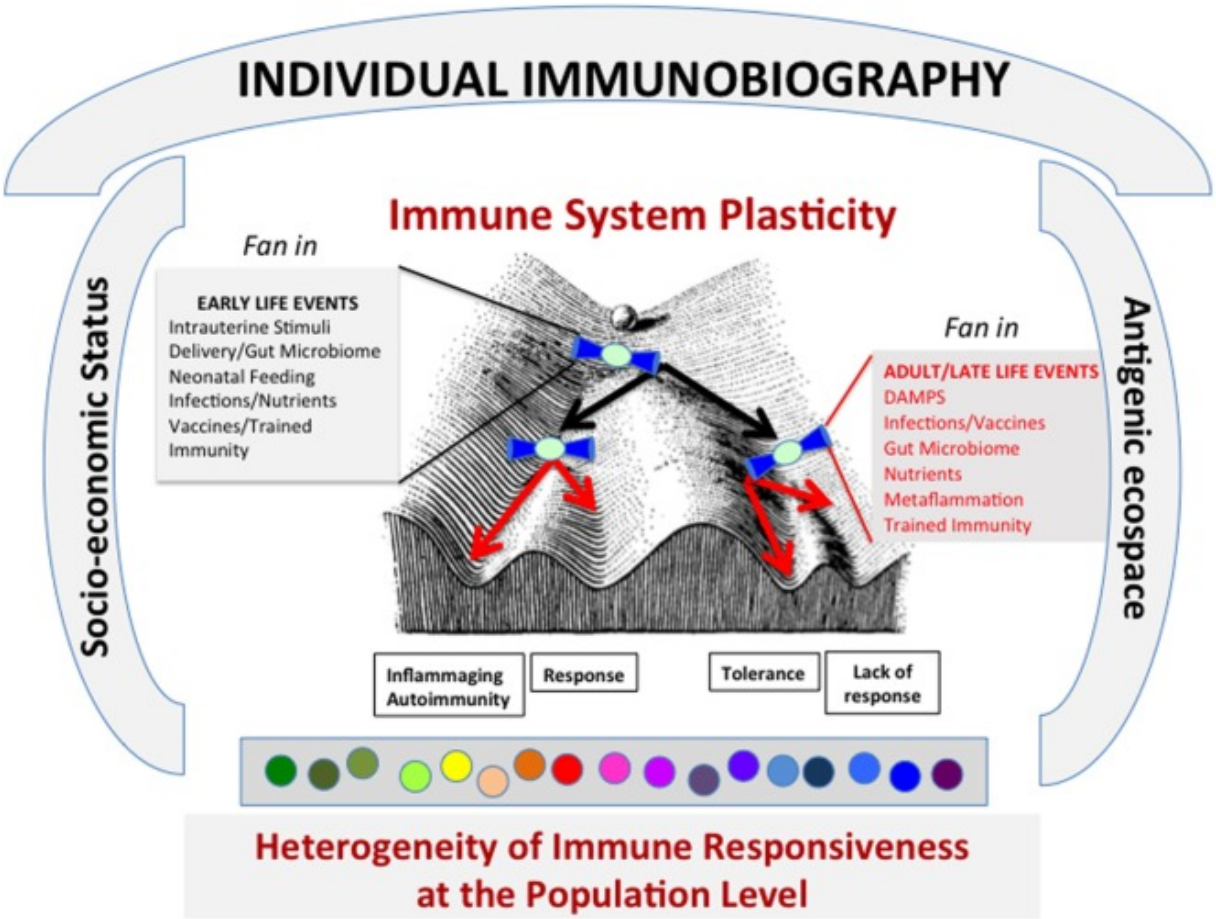

Figure 26. Immunobiographie individuelle. Les antécédents personnels d'exposition antigénique à vie, représentés comme un paysage de Waddington, modulent la réponse immunitaire à des antigènes spécifiques. La réponse à chaque molécule antigénique dépend des conditions du système immunitaire lorsqu'il rencontre l'antigène. Diverses conditions, y compris le statut socio-économique, ont une incidence sur le SI. Les antigènes peuvent être rencontrés au cours de la vie dans différentes conditions environnementales qui peuvent façonner la réponse immunitaire. On suppose que ces conditions environnementales agissent et sont intégrées en tant que signal « fan in » par un module d'éléments conservés en forme de nœud papillon. Ces conditions comprennent les événements survenus au début de la vie et à la fin de la vie adulte. Dans l'ensemble, ce processus peut conduire à la création au nouveau de la population d'une grande hétérogénéité de la réponse immunitaire à des antigènes spécifiques[333].

En conclusion, diverses prédictions vérifiables découlent de ce cadre conceptuel, les plus simples suggèrent que les réponses immunitaires aux antigènes potentiels, y compris les pathogènes, les aliments et en ce qui nous concernent les vaccins, seront quantitativement et qualitativement différentes selon le contexte immunobiographique global de l'hôte,

notamment en fonction de l'âge, du sexe, du mode de vie, du statut socio-économique et psychologique, et la géographie/génétique.

2) Immunobiographie, mémoire du SI et immunité formée

2.1) Une frontière entre immunité adaptative et innée de plus en plus floue

Une caractéristique primordiale du SI (et de l'immunobiographie) est la mémoire. La mémoire est comme nous l'avons vu précédemment la capacité de donner lieu à une réponse plus rapide et plus efficace au second contact avec un antigène préalablement rencontré. Jusqu'à il y a quelques années encore, un principe de l'immunologie était que la mémoire était une caractéristique exclusive du SI adaptatif des vertébrés. En fait plusieurs observations ont remis en question ce principe, car des exemples de mémoire impliquant la branche innée du SI ont déjà été rapportés depuis de nombreuses décennies[334]. A cet égard on sait depuis longtemps que chez les plantes et les invertébrés, qui ne présentent que des mécanismes d'immunité innée, des caractéristiques de mémoire sont présentes dans la réponse aux agents pathogènes. Chez les plantes, un phénomène appelé résistance systémique acquise (RAS) est bien documenté[335,336]. Ce type d'immunisation primitive protège les plantes pendant de longues périodes contre des infections différentes de celle qui a provoqué la RAS, notamment les virus, les bactéries, les champignons et les oomycètes. Chez les invertébrés, l'existence d'une forme de mémoire où l'information sur une première rencontre avec un pathogène est stockée et rapidement utilisée à la demande a été démontrée chez un large éventail d'espèces[337,338]. Curieusement, ce type de réponses peut varier en degré et en spécificité par rapport à différents amorçages. Un phénomène similaire au rejet d'allogreffe après transplantation tissulaire a été démontré chez certains invertébrés[339,340]. Dans les deuxièmes expériences de greffe, les réactions des sangsues à la deuxième greffe ont toujours été plus rapides et plus fortes que dans les premières expériences de greffe. Dans l'ensemble ces données soutiennent l'idée que chez les invertébrés, il existe une sorte de mémoire immunologique, même si elle présente des caractéristiques différentes de la mémoire classique de l'immunité adaptative présente chez les vertébrés.

2.2) L'immunité formée

En regard ce que nous avons vu juste avant, il semble que chez les invertébrés et les vertébrés, les cellules de l'immunité innée aient la capacité de réagir plus rapidement à un deuxième défi, une caractéristique qui ressemble aux réactions de mémoires typiques de l'immunité adaptative, avec la différence cruciale que cette mémoire ne semble pas être limitée à l'antigène spécifique qui a déclenché la première réponse. Pour décrire ce type de mémoire innée, le groupe de Mihai Netea a proposé le terme « d'immunité formée » (trained immunity) [341,342]. Des études réalisées dans le passé ont indiqué l'existence d'une mémoire innée également chez la souris. En fait la vaccination au BCG protégerait les souris contre les infections secondaires à *Candida albicans* ou *Schistosoma mansoni* par des mécanismes indépendants des cellules T[343], impliquant des macrophages tissulaires activées[344]. De plus on a observé que l'infection par des souches atténuées de Candida induisait une protection non seulement contre la réinfection par Candida lui-même mais aussi contre d'autres pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*, et ce phénomène était également présent chez les animaux athymiques[345]. Plus récemment, il a été démontré que la provocation des souris par le CpG confère une protection contre l'infection à *Listeria monocytogenes*[346]. L'immunité formée est provoquée non seulement par les défis microbiens, viraux ou fongiques (par ex. β-glucans, LPS), mais aussi par les molécules qui sont contenues dans les adjuvants des vaccins. En fait, les adjuvants comprennent les agonistes TLR tels que les monophosphoryl lipides A, les oligonucléotides CpG, le phosphate d'aluminium ou les sels hydroxyde. Ces adjuvants agissent principalement en induisant de légères réactions inflammatoires locales qui peuvent stimuler la réponse immunitaire adaptative contre le ou les antigènes mis en cause[3427]. Il a été démontré que l'immunité formée est responsable des effets non spécifiques des vaccins comme le BCG, le VPO et le ROR[348,349]. On sait en effet que ces vaccins offrent une protection contre la mortalité globale qui ne s'explique pas seulement par la protection contre les agents pathogènes ciblés[350]. Il est possible que cette protection non spécifique puisse s'expliquer par la capacité des adjuvants à induire des réponses immunitaires formées[351].

2.3) Acteurs certifiés et potentiels de l'immunité formée

A l'heure actuelle, il est prouvé que les macrophages et les cellules NK sont les principales cellules immunitaires pourvues de cette mémoire[352,353]. Cependant, d'autres types de cellules des lignées myéloïdes et lymphoïdes (comme les cellules T γδ) semblent présenter des caractéristiques similaires[354,355], notamment les cellules CD8 T de type NK, les cellules NKT

invariantes et les cellules lymphoïdes innées (ILCs), même si des informations complémentaires sont nécessaires à clarifier pour comprendre les mécanismes à leur origine.

Les mécanismes moléculaires de base impliqués et responsables de la mémoire d'immunité formée semblent être de nature épigénétique. En fait, l'un des mécanismes responsables de l'immunité formée des macrophages et des CD est la capacité de subir des modifications épigénétiques après exposition aux PAMP ou aux DAMP[356]. Ces modifications épigénétiques induisent des concentrations élevées de cytokines inflammatoires, y compris IL-1, IL-12, IL-18 et IL-23 qui favorisent la production d'IL-17 et IFN-γ par les lymphocytes innés, dont les LT γδ, les cellules lymphoïdes innées (ILCs) et NKT, qui exercent un effet protecteur contre second pathogène[342,357].

2.4) Immunité et épigénétique formée

Il est prouvé que l'immunité formée, contrairement à l'immunité adaptative, n'implique pas une recombinaison génétique, mais repose sur un remodelage épigénétique qui influence le profil d'expression génétique sans modifier la séquence ADN des cellules. La première preuve que l'immunité formée est largement dépendante du mécanisme épigénétique provient d'études sur les plantes[358].

Même si les changements épigénétiques ont tendance à se maintenir dans le temps, ils sont moins stables que le réarrangement génétique qui se produit dans l'immunité adaptative, et pour cette raison, la durée de l'immunité formée est plus courte que l'immunité adaptative (qui repose sur l'expansion clonale des lymphocytes mémoire avec récepteurs spécifiques issus d'une recombinaison génétique). En général, le mécanisme derrière l'immunité formée peut être récapitulé comme suit : les cellules de l'immunité innée, comme les monocytes, les macrophages et les cellules NK, répondent aux stimuli antigéniques en subissant un changement du métabolisme énergétique, ce qui entraîne une réécriture épigénétique qui reste stable dans le temps et a le potentiel d'être transmise pendant la différenciation cellulaire. En particulier on a observé qu'un passage du métabolisme du glucose de la phosphorylation oxydative à la glycolyse aérobie, une augmentation du métabolisme de la glutamine et la synthèse du cholestérol jouent un rôle crucial dans l'établissement des modifications épigénétiques typiques du phénomène immunitaire formée[355]. De telles modifications épigénétiques conduisent à des programmes transcriptionnels qui recâblent la signalisation

intracellulaire de cellules immunitaires innées et induisent une augmentation de la capacité à répondre aux stimuli. Un passage de la phosphorylation à la glycolyse a été observé dans les monocytes stimulés par β-glucan[357]. Il existe différents mécanismes par lesquels un changement dans le métabolisme énergétique peut affecter le cadre épigénétique. Par exemple, la glycolyse entraîne des rapports NAD^+/NADH plus élevés, ce qui a permis d'activer Sirtuin 1 et 6[359,360]. En outre, il a été démontré que les produits finaux de la glycolyse peuvent inhiber les histones désacétylases, rendant ainsi les gènes plus accessibles[361].

Selon la nature des stimuli et le type de modifications épigénétiques, les cellules maintiennent un phénotype hyperactivé pendant des semaines ou des mois. En conséquence, la spécificité de l'hyperactivation en réponse au signal/agent d'activation est corrélée avec la modification épigénétique impliquée dans la première réponse[342]. Les données obtenues sur les monocytes indiquent que lors de la vaccination au BCG, l'immunité formée a été induite par le récepteur NOD2 et médiée par une augmentation de la triméthylation de l'histone 3 lysine 4[362]. Des modifications épigénétiques peuvent être déclenchées même dans les précurseurs de la moelle osseuse des cellules immunitaires. A cet égard, une étude sur des souris a montré que le remodelage épigénétique de la moelle osseuse des progéniteurs de CD peut également être stimulé par le microbiote intestinal[363]. Ces données sont d'un grand intérêt car elles ouvrent une nouvelle perspective sur la relation entre l'immunité formée, l'inflammation chronique et un large éventail de conditions physiologiques et pathologiques telles que le vieillissement, l'obésité et le diabète de type 2, où des changements constants dans la composition du microbiote intestinal ont été rapportés[364,365,366].

Outre la modification des histones, c'est à dire le mécanisme épigénétique prédominant impliqué dans l'acquisition de l'immunité formée, d'autres mécanismes sont impliqués, tels que la méthylation de l'ADN et de l'expression du miARN. La méthylation de l'ADN a été corrélée à une immunité formée après une infection à CMV[367,368]. Dans ces études, les cellules NK ont subi d'importants changements dans le profil de méthylation global, ce qui a profondément modifié leur capacité sécrétoire[369,370]. Ce résultat est particulièrement intéressant lorsqu'on considère l'immunité formée dans la perspective du vieillissement, puisqu'on sait que la structure de méthylation de l'ADN subit des changements profonds avec l'âge dans tous les tissus et organes[369]. Par conséquent, il sera intéressant d'étudier l'effet de ces modifications liées à l'âge sur l'efficacité et la plasticité de l'immunité formée.

Une contribution spécifique est également apportée par les microARNs. Il s'agit d'ARN courts qui jouent un rôle critique dans l'influence de l'expression des gènes en réduisant au silence les gènes hiérarchiquement élevés dans la cascade d'expression de voies spécifiques. Une caractéristique critique des microARNs est leur longue durée de vie dans les cellules, apportant ainsi une contribution concrète au système immunitaire formé[371]. Parmi tous les microARN, miR-155 présente un intérêt particulier, car sa régulation à la hausse en réponse à des agents externes a été corrélée avec l'activation des cellules myéloïdes[372]. De plus, miR-155 constitue un lien direct entre l'immunité formée et l'inflammation puisqu'il s'agit d'un des microARN impliqués dans la régulation de l'inflammation (l'inflammation-mir) active dans le processus du vieillissement[373,374].

La distinction nette de l'immunité innée et de l'immunité adaptative basée sur la présence de la mémoire est maintenant beaucoup plus floue, et la mémoire semble être une propriété partagée des deux branches du SI, même si la mémoire de l'immunité innée (immunité formée) a des caractéristiques différentes. Par conséquent, le SI a au moins deux façons de se souvenir des antigènes déjà rencontrés. On ne sait toujours pas si et comment ces deux « souvenirs » interagissent entre eux. Ils pourraient agir en synergie ou, au contraire, l'immunité formée pourrait atténuer l'immunité adaptative. Cette interaction pourrait expliquer au moins en partie l'hétérogénéité des réponses immunitaires observées chez les personnes âgées. Des études urgentes sont donc nécessaires pour essayer de clarifier ce point. On ne sait pas non plus dans quelles proportions l'immunité formée pourrait changer pendant le vieillissement et quelle contribution ces changements possibles pourraient apporter à l'immunosénescence et l'inflammation chronique qui en résulte.

3) L'immunobiographie : une synthèse de l'immunosénescence, l'immunité formée et l'inflammation

Les connaissances sur l'immunité formée dans le vieillissement sont encore très limitées ; par conséquent de nouvelles données expérimentales sont nécessaires pour clarifier le rôle possible de l'immunité formée dans l'immunosénescence et l'inflammation chronique de bas grade. Actuellement, les données disponibles sont compatibles avec différents scénarii possibles. Avec l'âge l'immunité formée pourrait subir une altération ou un déclin fonctionnel, ce qui contribuerait à l'immunosénescence. Cependant il est également possible que l'immunité formée soit hyperactivée avec l'âge, contribuant ainsi à l'inflammation et

exerçant des effets délétères sur l'apparition de maladies chroniques liées au vieillissement[375,376]. En effet, la principale caractéristique des cellules de l'immunité formée est une production accrue de cytokines pro-inflammatoires, telles que TNF-α, IFN-γ et IL-1β en réponse à un stimulus ultérieur[377], et les récepteurs des cellules immunitaires innées peuvent lier non seulement les composants pathogènes mais aussi les composants intrinséques (DAMPs)[378]. Les LPS et autres PAMP peuvent entraîner les monocytes/macrophages à devenir plus pro-inflammatoires lorsqu'ils sont exposés à un second stimulus, mais ils peuvent aussi devenir moins sensibles aux pathogènes ou aux PAMP par induction de la tolérance ou immunosuppression. Les facteurs qui déterminent si un pathogène ou un PAMP induit un état d'immunité formée ou de tolérance / immunosuppression ne sont pas clairs, mais peuvent être influencés par la dose, le moment et la nature de l'exposition au pathogène ou au PAMP. De plus, des facteurs liés aux antécédents immunologiques et aux expériences de vie pourraient influencer l'immunité formée favorisant l'une ou l'autre réponse.

L'immunobiographie intègre ainsi l'immunosénescence, l'inflammation et l'immunité formée. L'hétérogénéité inhérente à toute population est à la base d'une variété d'aspects immunologiques importants, en grande partie imprécis, comme les différentes réactions des individus à divers stimuli antigéniques (bactéries, virus, parasites et vaccins). Cette hétérogénéité augmente également avec l'âge, devenant ainsi particulièrement importante non seulement en immunologie mais aussi en gérontologie et en gériatrie, car elle affecte le risque de développer des maladies liées au vieillissement. Nous devrions donc accorder une attention particulière à l'anamnèse immunologique de chaque individu pour reconstruire aussi précisément que possible sa propre immunobiographie. Cela va au-delà de la simple mesure erratique des paramètres immunologiques (par exemple le taux d'Ig et sous-ensembles de lymphocytes ou titres d'anticorps dans le sang à un moment donné). Un effort est nécessaire pour rassembler toutes les informations immunologiques concernant une seule personne, de manière standardisée et facilement accessible (une puce peut être ?). Cette perspective intégrée est actuellement largement négligée, probablement en raison d'un manque d'outils normalisés pour recueillir l'information nécessaire à la description de l'immunobiographie de chaque individu. Des manques qui pourraient être comblés par l'emploi de la biologie systémique et enrichis par la mise en place de système informatiques compilant également des données plus prosaïques comme le type d'accouchement (naturel ou césarien), la nutrition précoce (allaitement maternel ou au biberon), l'alimentation, l'utilisation d'antibiotiques, la composition du microbiote, les vaccins injectés au cours de la vie etc. Une bonne

compréhension de l'immunobiographie et la compilation de grandes quantités de données associées à des traitements informatiques efficaces nous amène donc à réfléchir au développement de vaccins de plus en plus personnalisés.

4) Vaccinomique et vaccinologie personnalisée

4.1) Généralités

L'objectif de la vaccinologie est de découvrir, de mettre au point et de déployer des vaccins hautement immunogènes et sûrs qui protègent contre les maladies infectieuses et non infectieuses (comme les cancers) dans presque 100% de la population. Bien qu'admirable, un tel objectif, à ce jour, échoue en raison de la variabilité des pathogènes et de l'hôte. Comme nous l'avons vu précédemment, la mise au point d'un vaccin s'est principalement caractérisée par une approche empirique. Bien qu'elle réussisse à mettre au point la plupart des vaccins que nous utilisons aujourd'hui, elle échoue face à des pathogènes hypervariables et très complexe et constitue une approche maintenant limitée par un manque d'innovation, un mode d'administration unique prédominant (injection) et un manque d'adjuvants ciblés pour surmonter la faible immunogénicité de l'antigène identifié. Les vaccins d'aujourd'hui sont administrés à tout le monde à la même dose comme une approche de santé publique qui suppose que tout le monde est à risque pour chaque agent pathogène avec des risques de complications aussi dévastateurs. Notre approche passée et actuelle en matière de vaccins n'est que prophylactique (nous n'avons pas de vaccins thérapeutiques), elle vise essentiellement les maladies infantiles alors que la population mondiale des pays développés vieillit. De plus c'est souvent une approche de fabrication du secteur privé et des grandes entreprises pharmaceutiques (comme aux Etats Unis par exemple).

La vaccinomique et la vaccinologie personnalisée s'appuient sur le paradigme « analyser, organiser, utiliser et immuniser » vu précédemment. Cette approche s'éloigne de l'accent mis sur les petits détails de la fonction immunitaire et préconise une meilleure compréhension du système immunitaire dans son ensemble afin d'améliorer et de développer la science empirique des vaccins[379,380]. De plus, l'approche est personnalisée dans le sens où elle met l'accent sur une approche progressive du risque pour les nouveaux vaccins, sur l'étude des multiples voies d'administration du vaccin qui tirent parti des nouvelles découvertes (par exemple en immunologie des muqueuses permettant l'administration orale, transcutanée, dépôt et mucosale), sur l'utilisation de plusieurs adjuvants vaccinaux hautement spécifiques,

sur le développement dirigé de vaccins utilisant la biologie des systèmes comme on l'a vu auparavant avec également les approches informatiques, mais aussi en permettant la collaborations avec des partenaires privés et publics. L'ensemble permettra ainsi la conception de nouveaux vaccins. Un premier aspect de cette nouvelle approche évoquée plus tôt dans cette thèse est le concept de la vaccinologie inverse, qui utilise les antigènes pathogènes et éliminent ceux ayant une homologie humaine. Ensuite les antigènes restants font l'objet d'un examen minutieux visant à déterminer leur immunogénicité et leur utilisation éventuelle dans de nouveaux vaccins[381,382]. L'immunologie inverse a par exemple été utilisée pour améliorer le vaccin oligosaccharidique contre l'hémophilus influenza de type b[383]. Un grand nombre d'études d'immunologie inverse ont porté sur la caractérisation des réponses des LT au virus de la vaccine et ont identifié des centaines d'épitopes des LT CD4 et CD8. D'autres études ont examiné attentivement le transcriptome de la vaccine[384]. La vaccinomique cherche à mieux intégrer ces résultats, en corrélant les mesures immunitaires humorales et cellulaires avec les données transcriptomiques, génomiques et protéomiques pour mieux comprendre l'immunité virale.

La figure 27 présente quelques-unes des caractéristiques importantes qui pourraient être utilisées par une approche vaccinomique. Il est à noter que toutes ces caractéristiques ne sont pas nécessaires pour un vaccin donné, et que les priorités peuvent varier selon les contraintes particulières imposées par la maladie, le produit vaccinal et/ou la population à protéger. Par exemple, les vaccins contre le cancer ont grandement bénéficié de la bioinformatique de pointe, de l'immunologie inverse et de la découverte d'épitopes pour développer des produits très personnalisés. D'autre part, de nouveaux vaccins contre la leishmaniose ou l'encéphalite japonaise destinés à être utilisés dans les pays en développement où la distribution et l'inoculation sont gérés par des organisations publiques/privés ayant accès aux population à risque et connaissant la culture et la société locale peuvent exiger la mise au point d'un produit stable ne nécessitant ni chaine du froid ni application transdermique, de sorte que l'administration ne nécessite aucune formation avancée.

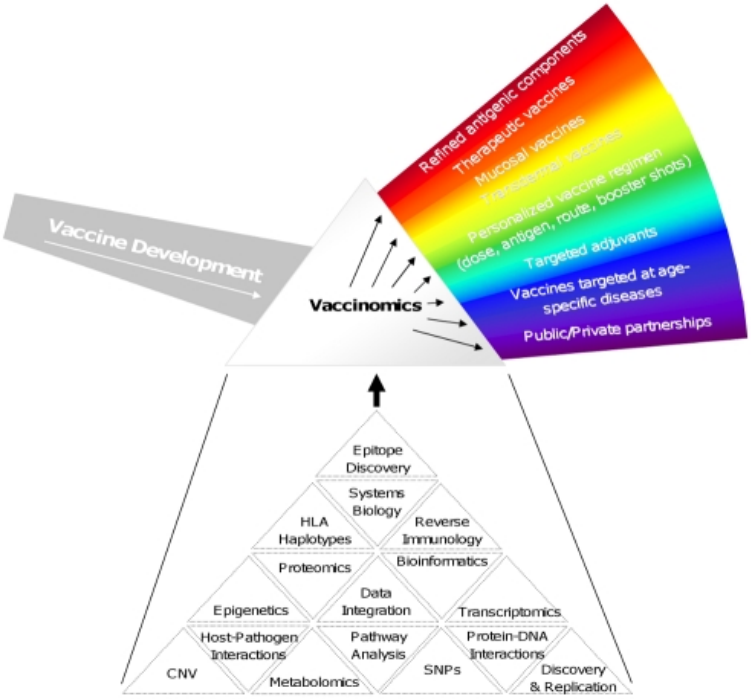

Figure 27. Vaccinologie, technologies omiques et développement de vaccins. Cette figure illustre les différences entre l'approche unique du développement empirique d'un vaccin et une approche plus ciblée et plus personnelle qui repose sur la vaccinomique et les technologies omiques à haute dimension. Par analogie, le développement empirique d'un vaccin représente la lumière indifférenciée qui entre dans le prisme par la gauche. Les aspects individuels du développement ciblé d'un vaccin peuvent être vus à travers le prisme de la vaccinomique. Plusieurs exemples de ces composants sont illustrés dans l'arc-en-ciel sur le côté droit de la figure. Ces aspects peuvent être appropriés ou non pour tous les vaccins et sont utilisés ici pour illustrer le large éventail de possibilités qu'une approche « organiser, analyser, utiliser immuniser » permet d'étudier, d'optimiser et d'utiliser de façon indépendante. Sous le prisme de la vaccinomique figurent quelques exemples (loin d'être complets ou définitifs) représentant une gamme de composants potentiels qui peuvent être assemblés en un examen complet, au niveau des systèmes, de l'infection/vaccination d'un agent pathogène donné[385].

4.2) Polymorphisme du système HLA

Le concept de vaccins personnalisés est né d'une compréhension détaillée de la façon dont les LT reconnaissent les antigènes pathogènes (peptides) dans le système de l'antigène leucocytaire humain (HLA) qui est le CMH humain. Le complexe HLA comprend les gènes les plus polymorphes du génome humain avec > 1000 variants alléliques HLA-An –B et –C déjà décrits[386,387]. On suppose que la région HLA contribue de façon significative à la susceptibilité génétique aux maladies infectieuses et aux variations des réponses immunitaires aux vaccins[388,389]. Comme la production d'anticorps après la vaccination est soutenue par des

réponses LT CD4 limitées à HLA de classe II, les allèles HLA de classe II influencent la réponse humorale après la vaccination. Par exemple, l'allèle HLA-DRB1*03 a été associé à une séronégativité ou à une faible réponse anticorps à la suite d'une hépatite B et de vaccins antirougeoleux[390,391]. D'autres allèles candidats qui ont été trouvés en association avec la non-réponse à la vaccination par le virus de l'hépatite b (VHB) recombinant à dose complète comprennent les allèles HLA-DRB1*07 et DQB1*03[392]. Bien que cette constatation doive être reproduite, elle soulève la possibilité que les personnes qui ne répondent pas au vaccin contre le VHB soient plus vulnérables à une infection persistante à VHB[393,394].

Les études HLA des réponses immunitaires induites par le vaccin contre la rougeole, les oreillons et la rubéole (ROR) ont révélé des associations entre la réponse immunitaire du vaccin et les molécules HLA des classes I et II[395,396]. L'analyse des gènes HLA a permis d'identifier des haplotypes HLA particuliers significativement associés à une diminution des taux d'anticorps IgG (haplotype A*26-Cw*16-B*44) et à une augmentation des réponses immunitaires cellulaires (haplotype A*26-Cw*12-B*38) aux antigènes viraux rougeoleux et oreillons[397]. Plusieurs associations ont été observées entre les supertypes HLA de classe I et les résultats du vaccin ROR[398]. La découverte la plus intéressante concerne peut-être l'association des supertypes B44 et B58 de HLA de classe I et des anticorps antirougeoleux spécifiques inférieurs après deux doses du vaccin ROR[399]. Ces connaissances permettent d'expliquer la régulation génétique des réponses immunitaires du vaccin ROR, qui pourrait être mise à profit dans la conception de vaccins personnalisés en concevant des peptides antigéniques qui peuvent se lier à plusieurs allèles ou supertypes HLA.

Par exemple, le vaccin ROR actuel (non personnalisé) est limité par plusieurs facteurs tels que l'interférence des anticorps maternels, les exigences de la chaîne du froid, l'échec du vaccin et l'incapacité d'administrer le vaccin aux personnes immunodéprimées. C'est pourquoi d'importants travaux de recherche visant à mettre au point de nouveaux vaccins sont en cours. Un vaccin à base de protéines ou de peptides (personnalisé) pourrait surmonter ces limites. En fait, il a été identifié 13 peptides immunogènes contre la rougeole qui pourraient être utilisés dans le développement d'un vaccin de deuxième génération, et ces peptides ont été sélectionnés pour contourner les restrictions polymorphes HLA qui avaient été identifiées[400,401]. D'autres ont également démontré l'immunogénicité des peptides de la rougeole *in vitro* chez l'homme[402]. De nouvelles méthodes pour des vaccins personnalisés sont en cours de développement, basées sur la fréquence des allèles HLA dans les populations

humaines et le nombre croissant de peptides dérivés de pathogènes, qui ont été récemment identifiés[403,404].

Normalement, les vaccins confèrent une immunité en simulant une infection naturelle ; ainsi, les polymorphismes des gènes qui jouent un rôle dans la pathogenèse de l'infection pourraient également influencer ou réguler la réponse immunitaire du vaccin. Par exemple, il a été démontré que la probabilité de développer un cancer du col de l'utérus augmente chez les personnes présentant certains allèles HLA. Les gènes impliqués dans le traitement de l'antigène pour la présentation HLA de classe I, tels que le transporteur associé au traitement de l'antigène (TAP)1, TAP2, les sous-unités protéasomiques LMP2, LMP7 et Tapassin, ont été suggérés pour contribuer à la sensibilité au cancer du col associé au papillomavirus humain de type16[405]. Il a déjà été démontré une association significative entre les gènes de réponses immunitaires (TAP1,TAP2 et HLA-DR2) et le risque de cancer du col[406]. Récemment, des polymorphismes du gène IL-10 ont été associés à la clairance de l'infection par des types de HPV à haut risque chez les adolescentes immunodéprimées présentant divers degrés d'immunosuppression CD4 induite par le VIH-1[407]. De telles informations créent un argument convaincant en faveur de l'importance des régions géniques des cytokines et/ou d'un groupe de gènes dans la région HLA qui régule les réponses immunitaires de l'hôte à l'infection par le VPH d'une manière qui entraine une prédisposition ou un résistance aux propriétés transformatrices des papillomavirus oncogènes[406].

4.3) Polymorphisme des gènes associés aux réponses immunitaires

Les preuves à l'appui des déterminants génétiques de la réponse immunitaire variable aux vaccins pour la prévention des infections se multiplient. Les SNP, que nous avons vu comme étant des facteurs importants de la sénescence, ont logiquement un rôle important à jouer à ce niveau-là. Ces variations à un seul site dans la séquence d'ADN d'un hôte, sont le type de variations le plus fréquent dans le génome humain, environ 90% de toutes les variations génétiques étant attribués aux SNP[408]. Le Projet du génome humain a estimé que 1,42 millions de SNP sont répartis dans le génome humain avec environ 60 000 SNP dans les régions codantes[409]. Les SNP dans les régions codantes qui causent des changements d'acides aminés, comme les SNP non synonymes (SNP qui modifient la séquence des protéines), ainsi que les SNP dans les régions régulatrices, sont susceptibles d'avoir le plus grand impact sur le phénotype car ils peuvent avoir un effet direct sur la structure et la fonction des protéines[410].

Comme l'a déclaré un enquêteur : « Tout comme la pharmacogénétique a suggéré des façons de concevoir des médicaments pour minimiser la variabilité de la population, la compréhension des mécanismes de variation immunogénétique peut mener à la mise au point de nouveaux vaccins conçus spécifiquement pour minimiser l'échec immunogénétique des vaccins »[411]. Ce concept résume l'orientation de l'immunogénétique de la réponse vaccinale et sa relation avec le domaine du développement des vaccins. Vandenbroeck et Goris ont récemment publié un article soulignant que les « polymorphismes des gènes des cytokines peuvent être des portes d'entrée vers de nouvelles cibles d'immunothérapie »[412]. Jin et Wang commentent ainsi que " la leçon tirée du HLA est que les polymorphismes peuvent se produire préférentiellement dans les domaines fonctionnels d'une molécule donnée avec des effets dramatiques sur la sélection et la présentation des épitopes "[413]. À titre d'exemple de ces concepts, HLA-DRB1*07 et les SNP de cytokines aux loci IL-2 et IL-4 ainsi que les variantes d'insertion/suppression au locus IL-12B ont été associés indépendamment à la non-réponse au vaccin contre l'hépatite B[414]. La mise au point d'un nouveau vaccin contre le VHB consistant en un " cocktail " de peptides (nouveaux épitopes identifiés à partir de porteurs chroniques) avec des adjuvants cytokines (par exemple, GM-CSF) pourrait alors contourner ces restrictions immunogénétiques. Actuellement, le développement de tels vaccins se poursuit[415,416].

Des études génomiques ont également révélé des associations entre la réponse immunitaire induite par le vaccin contre les oreillons et les SNP dans les gènes récepteurs des cytokines IL-12RB1 et IL-12RB2. Par exemple, la présence de l'allèle mineur T pour le SNP intronique rs2201584 dans le gène IL-12RB2 a été associée à une diminution significative des titres d'anticorps anti-oreillons liée à la dose de l'allèle chez les enfants en santé (âgés de 12 à 18 ans) qui avaient reçu deux doses du vaccin contre les oreillons vivants. Inversement, l'allèle mineur A de rs372889 dans le gène IL-12RB1 a été associé à des réponses lymphoprolifératives cellulaires induites par le vaccin contre les oreillons beaucoup plus faibles[398]. De même, on a identifié des SNP (rs3796504 et rs164288) dans le gène SLAM (également connu sous le nom de CDw150) de la molécule d'activation des lymphocytes signal associée à une diminution liée à la dose de l'allèle (~ 70%) des niveaux d'anticorps induits par le vaccin antirougeoleux[417]. On admet alors l'hypothèse que ces SNP ont un impact négatif sur la capacité du virus du vaccin antirougeoleux de se lier à son récepteur, et donc de prévenir l'induction de l'immunité. Un virus candidat du vaccin antirougeoleux doté de propriétés permettant la liaison en présence et en l'absence d'un tel polymorphisme des

récepteurs pourrait rétablir l'immunogénicité du vaccin. Ceci est similaire à l'identification de la mutation de délétion du récepteur 5 de la chimiokine CC (CCR5) dans la région codante du récepteur du VIH CCR5, qui est maintenant exploitée dans le développement de nouveaux médicaments et vaccins thérapeutiques contre le VIH[418]. De plus, des adjuvants tels que six séquences d'ADN longues de désoxynucléotides avec un dinucléotide CpG central ou un lipide monophosphoryl-A pourraient activer de façon différentielle des récepteurs de type péage (TLR9 ou TLR4, respectivement) pour contourner les restrictions dans les autres récepteurs[419,420]. Les variations génétiques des TLR qui jouent un rôle important dans la reconnaissance du virus de la rougeole pourraient entraîner des réponses immunitaires variables à la vaccination contre la rougeole. Des données préliminaires suggèrent que les variants hétérozygotes du gène SNPS rs3775291 et rs5743305 du gène TLR3 sont associés à de faibles réponses anticorps et lymproliératives à la vaccination contre la rougeole[421]. Enfin, la sécrétion de cytokines est fortement régulée par les taux de transcription de leurs gènes : Les SNP dans ces gènes peuvent perturber la liaison des facteurs de transcription ou affecter l'expression et la fonction des gènes en altérant la stabilité des molécules d'ARN[391]. Par conséquent, la connaissance d'un tel polymorphisme pourrait faciliter la mise au point de vaccins candidats qui incorporent des cytokines pour " remplacer " celles qui ne sont pas fabriquées de façon naturelle (c.-à-d. un plasmide de cytokines ou des adjuvants de cytokines) et rétablir un équilibre Th1/Th2 optimal qui permettrait une réponse immune protectrice chez le personnes âgées[422,423]. Ainsi, la compréhension et la définition des associations entre les principaux polymorphismes des gènes de réponse immunitaire et la réponse immunitaire subséquente peuvent aider à concevoir de nouveaux vaccins personnalisés.

4.4) Une balance avantage/défaut discutable

Les vaccins personnalisés sont-ils alors la solution pour cibler des sous catégories de populations comme les personnes âgées ?

Les vaccins personnalisés présentent plusieurs soucis. Ils peuvent entrer en conflit avec notre modèle actuel de vaccination préventive en santé publique. Le modèle actuel de vaccination préventive contre les maladies infectieuses dépend de l'acceptabilité universelle et de la distribution du vaccin. Les normes proposées pour la première fois en 1992 préconisaient l'identification et la réduction au minimum des obstacles à la vaccination systématique[424]. Parmi les obstacles particuliers mentionnés dans ces normes, mentionnons les retards dans la

prise de rendez-vous et l'obligation d'une visite chez l'enfant bien portant ou d'un examen physique. Ainsi des tentatives d'individualisation de la vaccination peuvent s'éloigner des recommandations visant à réduire au minimum les obstacles et à faciliter la vaccination accélérée. De plus, le succès de la vaccination en santé publique dépend en grande partie de la création d'une immunité collective, une immunité dans de vastes segments de la population. Pour avoir cette immunité de groupe, certains de nos vaccins doivent être délivrés à 80-90 % de la population[425,426].

Notre taux d'adoption, que nous célébrons aujourd'hui comme étant le plus élevé jamais atteint dans l'histoire de la santé publique, dépend de notre approche unique de la vaccination. A quelques exceptions près, on n'ajuste pas la dose en fonction de l'âge ou de la masse corporelle et on ne modifie pas le nombre de doses en fonction de l'exposition à la maladie du moment où les vaccins ont été administrés. De plus, cette approche facilite les ordres permanents et les vaccinations de masse pour répondre aux besoins d'un grand nombre de personnes qui cherchent à se faire vacciner rapidement et en temps opportun.

Des questions pratiques peuvent également s'y opposer. L'utilisation de vaccins différents pour différents groupes de personnes en fonction de leurs caractéristiques personnelles ou de leur constitution génétique pourrait exiger plus d'efforts et de temps dans le processus de vaccination. Le fait d'avoir à dépister des facteurs individuels pour vacciner différemment pourrait imposer des coûts substantiels à la vaccination qui sont plus facilement perceptibles que les économies qu'ils pourraient engendrer. Au final, le concept de vaccins personnalisés dépendrait grandement de la connaissance préalable de l'influence génétique sur la réponse immunitaire qui se traduirait par des tests performants que nous n'avons pas encore. Nous ne varions même pas la vaccination en fonction de la race et de l'origine ethnique et, dans le passé, nous ne l'avons fait que de façon transitoire, en nous rapprochant inévitablement dans chaque cas de la vaccination universelle (p. ex. vaccin conjugué contre l'hépatite B, l'hépatite A et le pneumocoque). Le dépistage pré-vaccin pour le statut immunitaire a été envisagé évidemment, mais dans de nombreux cas, à l'exception de l'adulte non vacciné contre la varicelle, la vaccination actuelle est bien moins coûteuse qu'un dépistage génétique[427].

En outre, on pourrait également se pencher sur la question pratique du bénéfice marginal. La plupart des vaccins que nous utilisons actuellement ont un taux de réponse immunitaire élevé. Imposerions-nous vraiment le dépistage génétique à l'ensemble de la population pour améliorer la réponse immunitaire de 5% de la population ? On pourrait toutefois envisager

certaines situations où les vaccins ne parviendraient pas à atteindre des taux aussi élevés. Seraient alors concernés des populations spécifiques comme les travailleurs de la santé en surpoids qui présentent des taux plus élevés de non-réponse au vaccin contre l'hépatite B, les enfants autochtones américains avec le vaccin contre Haemophilus influenzae type b[428,429]. Dans ces cas-là, ces groupes sont facilement identifiables et, à ce stade, rien n'indique que ces groupes devraient recevoir un calendrier de vaccination différent. Si on se penche ensuite sur d'autres populations particulières comme les immunodéprimés ou les personnes âgées, là aussi la balance entre efficacité/rentabilité/praticité des vaccins personnalisés se posent.

Dans la continuité d'une idée de praticité, on doit également tenir compte de la difficulté pratique d'homologation des vaccins personnalisés. Pour les patients atteints de cancer par exemple, il est possible de mettre au point des vaccins individuels sans les problèmes auxquels sont confrontés les fabricants de produits biologiques qui doivent obtenir une licence de production et de distribution en série. Avec la vaccination de la population de manière plus générale et à fortiori si on vise des sous catégories de plus en plus précises comme les personnes âgées, les organismes de réglementation continueront d'exiger des essais avant l'homologation chez les animaux et les humains pour chaque espèce de vaccin, pour chaque dose et voudront une organisation calendaire contraignante.

IV] Conclusion

En supposant que ces obstacles puissent être surmontés ou minimisés, les nouvelles approches de biologie systémique, combinées à l'augmentation de la connaissance du génotype et du phénotype et à la diminution du coût du dépistage génétique à haut rendement, nous mettent sur le chemin d'une approche plus personnalisée des vaccins, tout comme dans le cas des produits pharmaceutiques. En outre, une perspective sociétale " zéro défaut " sur le risque pourrait également orienter des approches individualisées en matière de vaccins. Ainsi, bien qu'il subsiste des obstacles importants, on peut prévoir une augmentation de l'approche de la vaccinomique en matière de protection contre les maladies évitables par la vaccination, et une accélération du développement dirigé de nouvelles approches vaccinales visant des sous catégories de personnes comme les sujets âgés. Cet ensemble fournira également des modèles qui permettront de mieux comprendre les fondements mécanistes de l'interface entre l'antigène et la réponse immunitaire, et mènera à de nouvelles découvertes en immunologie génétique.

Malgré le travail qu'il reste à accomplir et les obstacles importants dont il a été question ci-dessus, il est évident que nous nous dirigeons vers une nouvelle frontière scientifique et une nouvelle ère de vaccinologie personnalisée. La vaccinomique permettra et accélérera le développement de vaccins dirigés, et la vaccinologie prédictive permettra éventuellement aux médecins de déterminer si un vaccin nécessite d'être administré (par exemple on saura si un patient est génétiquement sensible à une maladie et à ses effets indésirables), quelle dose administrer, combien de doses administrer, si un EI important risque de se produire etc. Ce " deuxième âge d'or de la vaccinologie " est en cours de route. Ainsi de nombreuses connaissances sur l'immunogénétique des réponses immunitaires aux antigènes et sur les méthodes accélérées et ciblées de développement de vaccins deviendront apparentes[430].

Conclusion

L'avantage premier de la vaccination est que cela reste une réponse relativement simple à un problème complexe. Nous avons vu au cours de cette thèse que les anciennes méthodes empiriques ont eu leur lot de réussites mais qu'actuellement nous sommes confrontés à des maladies et des pathogènes plus complexes qui nécessitent de nouvelles approches plus complexes elles aussi. Les progrès en biologie systémique vont permettre de mieux cibler les réponses que l'on souhaite provoquer. La clé de la vaccination du futur pourrait se résumer ainsi, il faudra mieux comprendre les mécanismes globaux, de leur écriture génétique jusqu'à leur expression afin d'entraîner des réponses de plus en plus pertinentes. Le véritable enjeu de demain concernant la vaccinologie sera la capacité à traiter les informations qui s'accumulent dans les différents domaines de la génétique et de l'immunologie pour arriver à proposer des traitements de plus en plus ciblés envers des pathologies ou des populations même si par le passé les tentatives de vaccination pour des populations spéciales se sont surtout soldées par la création de vaccins plus inclusifs. La force de la vaccination actuelle, c'est donc cette capacité à englober toutes les couches de la population et l'ensemble des politiques vaccinales a été construite autour de cette vaccination globale permettant une grande efficacité, une harmonisation des calendriers, des coûts de production réduits etc. Pourtant il semble que l'on ait atteint une limite à cette inclusion. Car c'est la prise en compte de l'hétérogénéité de la population qui est le facteur clé de la vaccination du futur et l'immunosénescence fera alors partie d'un tout. Ce n'est finalement qu'une composante de plus que l'on devra réussir à intégrer dans des approches de plus en plus complexes de création vaccinale par l'intermédiaire de biomarqueurs et de nombreux domaines affiliés à la génétique. Les dépistages génétiques de demain, en plus d'être beaucoup moins chers, devront être capables de définir un profil génétique précis vis à vis de la réponse immunitaire d'un individu quelque soit son immunobiographie. C'est ainsi qu'on se dirigera peut-être vers des vaccins par tranche d'âge ou dans l'absolu des vaccins adaptés à chaque personne produits par des laboratoires privés. Les possibilités sont énormes et l'avenir vaccinal, incertain.

Bibliographie

1. A role for antigen in the maintenance of immunogenical memory. *Adapté de D ;Gray, 2002, Nature Reviews Immunology **2**:60.*

2. Site de l'OMS : https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria

3. Activation, différenciation et mémoire des lymphocytes B. *Immunologie, Le cours de Janis Kuby 7éme édition.*

4. VACCINATION-INFO-SERVICE.fr. *Vaccins vivants atténués*. 2018 Disponible à l'adresse suivante https://professionnels.vaccination-info-service.fr/Aspects-scientifiques/Compositions-des-vaccins/Vaccins-vivants-attenues

5. VACCINATION-INFO-SERVICE.fr. *Vaccins inactivés ou inertes*. 2018 Disponible à l'adresse suivante https://professionnels.vaccination-info-service.fr/Aspects-scientifiques/Compositions-des-vaccins/Vaccins-inactives

6. PARTIE VI. Le système immunitaire chez l'Homme sain et l'Homme malade. CHAPITRE 17. Maladies infectieuses et vaccination. *Immunologie, Le cours de Janis Kurby 7éme édition.*

7. PARTIE VI. Le système immunitaire chez l'Homme sain et l'Homme malade. CHAPITRE 17. Maladies infectieuses et vaccination. *Immunologie, Le cours de Janis Kurby 7éme édition. p**584***

8. Site de l'ANSM. Dossier : Les adjuvants. Disponible à l'adresse suivante : https://www.ansm.sante.fr/Dossiers/Vaccins/Les-adjuvants/(offset)/1

12. MF59-adjuvanted H5N1 vaccine induces immunologic memory and heterotypic antibody responses in non-elderly and elderly adults. *Banzhoff A, Gasparini R, Laghi-Pasini F, Staniscia T, Durando P, Montomoli E, et al. Plos One. 2009;4:e4384.*

13. The utility of ISCOMATRIX adjuvant for dose reduction of antigen for vaccines requiring antibody responses. *Boyle J, Eastman D, Millar C, Camuglia S, Cox J, Pearse M, et al. Vaccine. 2007;25:2541–4.*

14. Single dose vaccination with AS03-adjuvanted H5N1 vaccines in a randomized trial induces strong and broad immune responsiveness to booster vaccination in adults. *Schwarz TF, Horacek T, Knuf M, Damman HG, Roman F, Drame M, et al. Vaccine. 2009;27:6284–90.*

15. Adjuvant formulations and delivery systems for DNA vaccines. *Sasaki S, Takeshita F, Xin KQ, Ishiii N, Okuda K. Methods. 2003;31:243–54.*

16. Adjuvanted H5N1 vaccine induces early CD4+ T-cell response that predicts long-term persistence of protective antibody levels. *Galli G, Medini D, Borgogni E, Zedda L, Bardelli M, Malzone C, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2009b;106:3877–82.*

17. Priming with AS03 A-adjuvanted H5N1 influenza vaccine improves the kinetics, magnitude and durability of the immune response after a heterologous booster vaccination: An open non-randomised extension of a double-blind randomised primary study. *Leroux-Roels I, Roman F, Forgus S, Maes C, De Boever F, Drame M, et al. Vaccine. 2010;28:849–57.*

18. Vaccine adjuvant systems containing monophosphoryl lipid A and QS21 induce strong and persistent humoral and T-cell responses against hepatitis B surface antigen in healthy adult volunteers. *Vandepapeliere P, Horsmans Y, Moris P, Van Mechelen M, Janssens M, Koutsoukos M, et al. Vaccine. 2008;26:1375–86.*

19. Fast rise of broadly cross-reactive antibodies after boosting long-lived human memory B cells primed by an MF59 adjuvanted prepandemic vaccine. *Galli G, Hancock K, Hoschler K, DeVos J, Praus M, Bardelli M, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2009a;106:7962–7.*

20. Vaccines with MF59 adjuvant expand the antibody repertoire to target protective sites of pandemic avian H5N1 influenza virus. *Khurana S, Chearwae W, Castellino F, Manischewitz J, King LR, Honorkiewicz A, et al. Sci Transl Med. 2010;2:15ra5.*

21. Vaccination with recombinant fusion proteins incorporating Toll-like receptor ligands induces rapid cellular and humoral immunity. *Huleatt JW, Jacobs AR, Tang J, Desai P, Kopp EB, Huang Y, et al. Vaccine. 2007;25:763–75.*

22. Vaccine adjuvants alters TCR-based selection thresholds. *Malherbe L, Mark L, Fazilleau N, McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG. Immunity. 2008;28:698–709.*

23. PARTIE VI. Le système immunitaire chez l'Homme sain et l'Homme malade. CHAPITRE 17. Maladies infectieuses et vaccination. *Immunologie, Le cours de Janis Kurby 7éme édition. p**585***

24. Adjuvant-enhanced antibody responses in the absence of toll-like receptor signaling. *Gavin AL, Hoebe K, Duong B, Ota T, Martin C, Beutler B, Nemazee D. Science. 2006 Dec 22; 314(5807):1936-8.*

25. MyD88-dependent induction of allergic Th2 responses to intranasal antigen. *Piggott DA, Eisenbarth SC, Xu L, Constant SL, Huleatt JW, Herrick CA, et al. J Clin Invest. 2005 Feb; 115(2):459-67.*

26. Crucial role for the Nalp3inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Stephanie C. Eisenbarth, Oscar R. Colegio, William O'Connor, Jr, Fayyaz S. Sutterwala, et al. Nature. 2008 Jun 19;453(7198):1122-6.*

27. Mechanism of Immunopotentiation and Safety of Aluminum Adjuvants. *Harm HogenEsch. Front Immunol. 2012; 3: 406.*

28. Advances in aluminium hydroxyde-based adjuvant research and its mechanism. *Peng He, Yening Zou, Zhongyu Hu. Hum Vaccin Immunother. 2015 Feb; 11(2): 477–488.*

29. The adjuvanted influenza vaccines with novel adjuvants: Experience with the MF59-adjuvanted vaccine. *Podda A. Vaccine. 2001;19:2673–80.*

30. Comparison of the safety and immunogenicity of hepatitis B virus surface antigen co-administered with an immunostimulatory phosphorothioate oligonucleotide and a licensed hepatitis B vaccine in healthy young adults. *Halperin SA, Dobson S, McNeil S, Langley JM, Smith B, McCall-Sani R, et al. Vaccine. 2006;24:20–6.*

31. TLR-based immune adjuvants. *Steinhagen F, Kinjo T, Bode C, Klinman DM. Vaccine. 2011;29:3341–55.*

32. Adjuvanted H5N1 vaccine induces early CD4+ T-cell response that predicts long-term persistence of protective antibody levels. *Galli G, Medini D, Borgogni E, Zedda L, Bardelli M, Malzone C, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2009b;106:3877–82.*

33. Mortality benefits of influenza vaccination in elderly people: an ongoing controversy. *L. Simonsen, R.J. Taylor, C. Viboud, M.A. Miller, L.A. Jackson. Lancet Infect Dis, 7 (2007), pp. 658-666.*

34. World Health Organization (WHO)Vaccines against influenza WHO position paper – November 2012. Wkly Epidemiol Rec, 87 (2012), pp. 461-476

35. Cost-benefit evaluation of influenza vaccination in the elderly in the Italian region of Liguria. *R. Gasparini, C. Lucioni, P. Lai, P. Maggioni, L. Sticchi, P. Durando, et al. Vaccine, 20 (Suppl 5) (2002), pp. B50-B54*

36. Official Journal of the European Union. Council recommendation of 22 December 2009 on seasonal influenza vaccination. Disponible à l'adresse : http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:348:0071:0072:EN:PDF

37. Selection of an adjuvant for seasonal influenza vaccine in elderly people: modelling immunogenicity from a randomized trial *H.C. Rümke, J.H. Richardus, L. Rombo, K. Pauksens, G. Plaßmann, C. Durand, et al. BMC Infect Dis, 13 (2013), p. 348,*

38. MF59-adjuvanted vaccines for seasonal and pandemic influenza prophylaxis. *A. Banzhoff, M. Pellegrini, G. Del Giudice, E. Fragapane, N. Groth, A. Podda. Influenza Other Respir Viruses, 2 (2008), pp. 243-249,*

39. Fluad®-MF59®-adjuvanted influenza vaccine in older adults. *Tsai TF. Infect Chemother, 45 (2013), pp. 159-174,*

40. The adjuvanted influenza vaccines with novel adjuvants: experience with the MF59-adjuvanted vaccine. *A. Podda. Vaccine, 19 (2001), pp. 2673-2680*

41. MF59-adjuvanted versus non-adjuvanted influenza vaccines: integrated analysis from a large safety database. *M. Pellegrini, U. Nicolay, K. Lindert, N. Groth, G. Della Cioppa. Vaccine, 27 (2009), pp. 6959-6965,*

42 Immunogenicity of intramuscular MF59-adjuvanted and intradermal administered influenza enhanced vaccines in subjects aged over 60: a literature review. *B. Camilloni, M. Basileo, S. Valente, E. Nunzi, A.M. Iorio. Hum Vaccin Immunother, 11 (2015), pp. 553-563,*

43. Vaccine epidemiology: efficacy, effectiveness, and the translational research roadmap. G.A. Weinberg, P.G. Szilagyi. J Infect Dis, 201 (2010), pp. 1607-1610,

44. Effectiveness of MF59-adjuvanted seasonal influenza vaccine in the elderly : A systematic review and meta-analysis. *Alexander Domnich, Lucia Arata, Daniela Amiciza, Joan Puig-barbera, Roberto Gasparini, Donatella Panatto. Vaccine. 2017 Jan 23;35(4):513-520.*

45. The perfect mix: recent progress in adjuvant research. *Guy, B.. 2007. Nat. Rev. Microbiol.* ***5****: 505-517.*

46. Adjuvant Systems in vaccines: concepts, achievements and perspectives. *Garçon, N., P. Chomez, M. Van Mechelen. 2007. GlaxoSmithKline. Expert. Rev. Vaccines* ***6****: 723-739.*

47. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomised controlled trial. *Paavonen, J., D. Jenkins, F. X. Bosch, P. Naud, J. Salmerón, C. M. Wheeler, S.-N. Chow, D. L. Apter, H. C. Kitchener, X. Castellsagué, et al 2007. Lancet* ***369****: 2161-2170.*

48. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Harper, D. M., E. L. Franco, C. Wheeler, D. G. Ferris, D. Jenkins, A. Schuind, T. Zahaf, B. Innis, P. Naud, N. S. De Carvalho, et al 2004. Lancet* ***364****:1757-1765.*

49. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Harper, D. M., E. L. Franco, C. M. Wheeler, A. B. Moscicki, B. Romanowski, C. M. Roteli-Martins, D. Jenkins, A. Schuind, S. A. Costa Clemens, G. Dubin, on behalf of the HPV Vaccine Study group 2006. Lancet* ***367****: 1247-1255.*

50. New hepatitis B vaccine formulated with an improved adjuvant system. *Kundi, M.. 2007. Expert. Rev. Vaccines* ***6****: 133-140.*

51. Purification and structural determination of nontoxic lipid A obtained from the lipopolysaccharide of *Salmonella typhimurium*. *Qureshi, N., K. Takayama, E. Ribi. 1982. J. Biol. Chem.* ***257****: 11808-11815.*

52. Taking a Toll on human disease: Toll-like receptor 4 agonists as vaccine adjuvants and monotherapeutic agents. *Baldridge, J. R., P. McGowan, J. T. Evans, C. Cluff, S. Mossman, D. Johnson, D. Persing. 2004. Expert Opin. Biol. Ther.* ***4****: 1129-1138.*

53. Putting endotoxin to work for us: monophosphoryl lipid A as a safe and effective vaccine adjuvant. *Casella, C. R., T. C. Mitchell. 2008. Cell Mol. Life Sci.* ***65****: 3231-3240.*

54. Cutting edge: repurification of lipopolysaccharide eliminates signaling through both human and murine. *Hirschfeld, M., Y. Ma, J. H. Weis, S. N. Vogel, J. J. Weis. 2000. J. Immunol.****165****: 618-622.*

55. Toll-like receptor 4, but not Toll-like receptor 2, is a signaling receptor for *Escherichia* and *Salmonella* lipopolysaccharides. *Tapping, R. I., S. Akashi, K. Miyake, P. J. Godowski, P. S. Tobias. 2000. J. Immunol.**165**: 5780-5787.*

56. Enhancement of antigen-specific immunity via the TLR4 ligands MPL adjuvant and Ribi. *Evans, J. T., C. W. Cluff, D. A. Johnson, M. J. Lacy, D. H. Persing, J. R. Baldridge. 2003. 529. Expert Rev. Vaccines **2**: 219-229.*

57. Role of innate immune factors in the adjuvant activity of monophosphoryl lipid A. *Martin, M., S. M. Michalek, J. Katz. 2003. Infect. Immun. **71**: 2498-2507.*

58. Host factors impacting the innate response in humans to the candidate adjuvants RC529 and monophosphoryl lipid A. *Tiberio, L., L. Fletcher, J. H. Eldridge, D. D. Duncan. 2004. Vaccine **22**: 1515-1523.*

59. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Iwasaki, A., R. Medzhitov. 2004. Nat. Immunol. **5**: 987-995.*

60. Toll pathway-dependent blockade of $CD4^{+}CD25^{+}$ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Pasare, C., R. Medzhitov. 2003. Science **299**: 1033-1036.*

61. Pursuing the longevity dividend: scientific goals for an aging world. *Olshansky SJ, Perry D, Miller RA, Butler RN. Ann NY Acad Sci. 2007;1114:11–13.*

62. Chronic disease and medical innovation in an aging nation. *The Silver Book. Published by the Alliance for Aging Research; Updated May, 2011*

63. The hallmarks of aging. *López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. Cell. 2013;153:1194–1217.*

64. Inflamm-ageing. *Cevenini E, Monti D, Franceschi C. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2013;18:14–20.*

65. The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. *Moskalev AA, Shaposhnikov MV, Plyusnina EN, Zhavoronkov A, Budovsky A, Yanai H, et al. Ageing Res Rev. 2013 Mar; 12(2):661-84.*

66. DNA damage, aging, and cancer. *Hoeijmakers JH. N Engl J Med. 2009 Oct 8; 361(15):1475-85.*

67. The DNA damage response and cancer therapy. *Lord CJ, Ashworth A. Nature. 2012 Jan 18; 481(7381):287-94.*

68. Minimizing the damage: repair pathways keep mitochondrial DNA intact. *Kazak L, Reyes A, Holt IJ. Nat Rev Mol Cell Biol. 2012 Oct; 13(10):659-71.*

69. Nuclear lamins and laminopathies.*Worman HJ J Pathol. 2012 Jan; 226(2):316-25.*

70. Increased expression of BubR1 protects against aneuploidy and cancer and extends healthy lifespan. *Baker DJ, Dawlaty MM, Wijshake T, Jeganathan KB, Malureanu L, van Ree JH, et al. Nat Cell Biol. 2013 Jan; 15(1):96-102.*

71. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Nat Med. 2006 Oct; 12(10):1133-8.*

72. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Hayflick L, Moorheads PS. Exp Cell Res. 1961 Dec; 25():585-621.*

73. Telomeres, telomerase, and aging: origin of the theory. *Olovnikov AM. Exp Gerontol. 1996 Jul-Aug; 31(4):443-8.*

74. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, et al. Science. 1998 Jan 16; 279(5349):349-52.*

75. How shelterin protects mammalian telomeres. *Palm W, de Lange T. Annu Rev Genet. 2008; 42():301-34.*

76. Telomeres are favoured targets of a persistent DNA damage response in ageing and stress-induced senescence. *Hewitt G, Jurk D, Marques FD, Correia-Melo C, Hardy T, Gackowska A, et al. Nat Commun. 2012 Feb 28; 3():708.*

77. Short telomeres are sufficient to cause the degenerative defects associated with aging. *Armanios M, Alder JK, Parry EM, Karim B, Strong MA, Greider CW. Am J Hum Genet. 2009 Dec; 85(6):823-32.*

78. Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Rudolph KL, Chang S, Lee HW, Blasco M, Gottlieb GJ, Greider C, et al. Cell. 1999 Mar 5; 96(5):701-12.*

79. Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice. *Tomás-Loba A, Flores I, Fernández-Marcos PJ, Cayuela ML, Maraver A, Tejera A, et al. Cell. 2008 Nov 14; 135(4):609-22.*

80. Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Jaskelioff M, Muller FL, Paik JH, Thomas E, Jiang S, Adams AC, Sahin E, et al. Nature. 2011 Jan 6; 469(7328):102-6.*

81. Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer. *Bernardes de Jesus B, Vera E, Schneeberger K, Tejera AM, Ayuso E, Bosch F, et al. EMBO Mol Med. 2012 Aug; 4(8):691-704.*

82. The telomerase activator TA-65 elongates short telomeres and increases health span of adult/old mice without increasing cancer incidence. *Bernardes de Jesus B, Schneeberger K, Vera E, Tejera A, Harley CB, Blasco MA. Aging Cell. 2011 Aug; 10(4):604-21.*

83. Telomere length behaves as biomarker of somatic redundancy rather than biological age. *Boonekamp JJ, Simons MJ, Hemerik L, Verhulst S. Aging Cell. 2013 Apr; 12(2):330-2.*

84. Telomeres and immune competency. *Nan-ping Weng, 2012 Aug ; 24(4) : 470-475.*

85. Epigenetic variation during the adult lifespan: cross-sectional and longitudinal data on monozygotic twin pairs. *Talens RP, Christensen K, Putter H, Willemsen G, Christiansen L, Kremer D, et al. Aging Cell. 2012 Aug; 11(4):694-703.*

86. Epigenetics and aging: the targets and the marks. *Fraga MF, Esteller M. Trends Genet. 2007 Aug; 23(8):413-8.*

87. Histone methylation makes its mark on longevity. *Han S, Brunet A. Trends Cell Biol. 2012 Jan; 22(1):42-9.*

88. Reprogramming aging and progeria. *Freije JM, López-Otín C. Curr Opin Cell Biol. 2012 Dec; 24(6):757-64.*

89. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock. *Rando TA, Chang HY. Cell. 2012 Jan 20; 148(1-2):46-57.*

90. Altered histone acetylation is associated with age-dependent memory impairment in mice. *Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, Agis-Balboa RC, et al. Science. 2010 May 7; 328(5979):753-6.*

91. Histone H4 lysine 16 hypoacetylation is associated with defective DNA repair and premature senescence in Zmpste24-deficient mice. *Krishnan V, Chow MZ, Wang Z, Zhang L, Liu B, Liu X, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Jul 26; 108(30):12325-30.*

92. Transgenerational epigenetic inheritance of longevity in Caenorhabditis elegans. *Greer EL, Maures TJ, Ucar D, Hauswirth AG, Mancini E, Lim JP, et al. Nature. 2011 Oct 19; 479(7373):365-71.*

93. Biological and chemical approaches to diseases of proteostasis deficiency. *Powers ET, Morimoto RI, Dillin A, Kelly JW, Balch WE. Annu Rev Biochem. 2009; 78():959-91.*

94. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Nature. 2011 Jul 20; 475(7356):324-32.*

95. Protein homeostasis and aging: The importance of exquisite quality control. *Koga H, Kaushik S, Cuervo AM. Ageing Res Rev. 2011 Apr; 10(2):205-15.*

96. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Nature. 2008 Feb 28; 451(7182):1069-75.*

97. Identification of MOAG-4/SERF as a regulator of age-related proteotoxicity. *van Ham TJ, Holmberg MA, van der Goot AT, Teuling E, Garcia-Arencibia M, Kim HE, et al. Cell. 2010 Aug 20; 142(4):601-12.*

98. Restoration of chaperone-mediated autophagy in aging liver improves cellular maintenance and hepatic function. *Zhang C, Cuervo AM. Nat Med. 2008 Sep; 14(9):959-65.*

99. Host proteostasis modulates inflenza evolution. *Angela M phillips, Luna O Gonzalez, Emmanuel E Nekongo, Anna I Ponomarenko, Sean M McHugh, Vicent L Butty, et al. 2017, Sep 26.*

100. The critical role of metabolic pathways in aging. *Barzilai N, Huffman DM, Muzumdar RH, Bartke A. Diabetes. 2012 Jun; 61(6):1315-22.*

101. Extending healthy life span--from yeast to humans. *Fontana L, Partridge L, Longo VD. Science. 2010 Apr 16; 328(5976):321-6.*

102. The genetics of ageing. *Kenyon CJ. Nature. 2010 Mar 25; 464(7288):504-12.*

103. Metabolic networks of longevity. *Houtkooper RH, Williams RW, Auwerx J. Cell. 2010 Jul 9; 142(1):9-14.*

104. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, et al. Nature. 2009 Jul 16; 460(7253):392-5.*

105. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Science. 2011 Aug 26; 333(6046):1109-12.*

106. Hormesis, cellular stress response and vitagenes as critical determinants in aging and longevity. *Calabrese V, Cornelius C, Cuzzocrea S, Iavicoli I, Rizzarelli E, Calabrese EJ. Mol Aspects Med. 2011 Aug; 32(4-6):279-304.*

107. The aging stress response. *Haigis MC, Yankner BA. Mol Cell. 2010 Oct 22; 40(2):333-44.*

108. The cell-non-autonomous nature of electron transport chain-mediated longevity. *Durieux J, Wolff S, Dillin A. Cell. 2011 Jan 7; 144(1):79-91.*

109. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, et al. Science. 2005 Jul 15; 309(5733):481-4.*

110. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder CE, et al. Nature. 2004 May 27; 429(6990):417-23.*

111. DNA deletions and clonal mutations drive premature aging in mitochondrial mutator mice. *Vermulst M, Wanagat J, Kujoth GC, Bielas JH, Rabinovitch PS, Prolla TA, et al. Nat Genet. 2008 Apr; 40(4):392-4.*

112. Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorates experimental mouse colitis by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory cytokines. *Dashdorj A, Jyothi KR, Lim S, Jo A, Nguyen MN, Ha J, et al. BMC Med. 2013 Aug 6; 11():178.*

113. NLRP3 inflammasome is activated in fibromyalgia: the effect of coenzyme Q10. *Cordero MD, Alcocer-Gómez E, Culic O, Carrión AM, de Miguel M, Díaz-Parrado E, et al. Antioxid Redox Signal. 2014 Mar 10; 20(8):1169-80.*

114. « AIFM1 »mutation presenting with fatal encephalomyopathy and mitochondrial disease in an infant. *Morton SU, Prabhu SP, Lidov HGW, Shi J, Anselm I, Brownstein CA, et al. Cold Spring Harb Mol Case Stud. 2017 Mar; 3(2):a001560.*

115. Review of the biologic and clinical significance of genetic mutations in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Fukumoto K, Nguyen TB, Chiba S, Sakata-Yanagimoto M. Cancer Sci. 2018 Mar; 109(3):490-496.*

116. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007 Sep; 8(9):729-40.*

117. Cellular senescence in cancer and aging. *Collado M, Blasco MA, Serrano M. Cell. 2007 Jul 27; 130(2):223-33.*

118. The essence of senescence. *Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, Peeper DS. Genes Dev. 2010 Nov 15; 24(22):2463-79.*

119. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995 Sep 26; 92(20):9363-7.*

120. DNA damage response and cellular senescence in tissues of aging mice. *Wang C, Jurk D, Maddick M, Nelson G, Martin-Ruiz C, von Zglinicki T. Aging Cell. 2009 Jun; 8(3):311-23.*

121. Immune surveillance of senescent cells--biological significance in cancer- and non-cancer pathologies. *Hoenicke L, Zender L. Carcinogenesis. 2012 Jun;33(6):1123-6*

122. Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development. *Kang TW, Yevsa T, Woller N, Hoenicke L, Wuestefeld T, Dauch D, et al. Nature. 2011 Nov 9; 479(7374):547-51.*

123. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Xue W, Zender L, Miething C, Dickins RA, Hernando E, Krizhanovsky V, et al. Nature. 2007 Feb 8; 445(7128):656-60.*

124. Anti-aging activity of the Ink4/Arf locus. *Matheu A, Maraver A, Collado M, Garcia-Cao I, Cañamero M, Borras C, et al. Aging Cell. 2009 Apr; 8(2):152-61.*

125. Delayed ageing through damage protection by the Arf/p53 pathway. *Matheu A, Maraver A, Klatt P, Flores I, Garcia-Cao I, Borras C, et al. Nature. 2007 Jul 19; 448(7151):375-9.*

126. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Baker DJ, Wijshake T, Tchkonia T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, et al. Nature. 2011 Nov 2; 479(7372):232-6.*

127. Cellular Senecence and the Immune System in Cancer. *Prieto L.I, Baker D.J. 2019 ; 65 :505-512*

128. Aging of the innate immune system. *Shaw AC, Joshi S, Greenwood H, Panda A, Lord JM. Curr Opin Immunol. 2010 Aug; 22(4):507-13.*

129. Increasing p16INK4a expression decreases forebrain progenitors and neurogenesis during ageing. *Molofsky AV, Slutsky SG, Joseph NM, He S, Pardal R, Krishnamurthy J, et al. Nature. 2006 Sep 28; 443(7110):448-52.*

130. Fracture healing in the elderly patient. *Gruber R, Koch H, Doll BA, Tegtmeier F, Einhorn TA, Hollinger JO. Exp Gerontol. 2006 Nov; 41(11):1080-93.*

131. Heterochronic parabiosis for the study of the effects of aging on stem cells and their niches. *Conboy IM, Rando TA. Cell Cycle. 2012 Jun 15; 11(12):2260-7.*

132. Deficiencies in DNA damage repair limit the function of haematopoietic stem cells with age. *Rossi DJ, Bryder D, Seita J, Nussenzweig A, Hoeijmakers J, Weissman IL. Nature. 2007 Jun 7; 447(7145):725-9.*

133. Stem-cell ageing modified by the cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a. *Janzen V, Forkert R, Fleming HE, Saito Y, Waring MT, Dombkowski DM, et al. Nature. 2006 Sep 28; 443(7110):421-6.*

134. The role of telomeres and telomerase in stem cell aging. *Flores I, Blasco MA. FEBS Lett. 2010 Sep 10; 584(17):3826-30.*

135. How stem cells age and why this makes us grow old. *Sharpless NE, DePinho RA. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007 Sep; 8(9):703-13.*

136. Modulation of longevity and tissue homeostasis by the Drosophila PGC-1 homolog. *Rera M, Bahadorani S, Cho J, Koehler CL, Ulgherait M, Hur JH, et al. Cell Metab. 2011 Nov 2; 14(5):623-34.*

137. The aged niche disrupts muscle stem cell quiescence. *Chakkalakal JV, Jones KM, Basson MA, Brack AS. Nature. 2012 Oct 18; 490(7420):355-60.*

138. mTOR signaling in growth control and disease. *Laplante M, Sabatini DM. Cell. 2012 Apr 13; 149(2):274-93.*

139. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock. *Rando TA, Chang HY. Cell. 2012 Jan 20; 148(1-2):46-57.*

140. Endocrine regulation of ageing. *Russell SJ, Kahn CR. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007 Sep; 8(9):681-91.*

141. Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK-β, NF-κB and GnRH. *Zhang G, Li J, Purkayastha S, Tang Y, Zhang H, Yin Y, et al. Nature. 2013 May 9; 497(7448):211-6.*

142. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Ann N Y Acad Sci. 2000 Jun; 908():244-54.*

143. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, et al. Mech Ageing Dev. 2007 Jan; 128(1):92-105.*

144. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. *Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Woolford J, Dean C, Kerr S, et al. Neurology. 2009 Sep 8; 73(10):768-74.*

145. Therapeutic agents for patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to tumour necrosis factor-alpha antagonists. *Isaacs JD. Expert Opin Biol Ther. 2009 Dec; 9(12):1463-75.*

146. Association between LTA, TNF and AGER polymorphisms and late diabetic complications. *Lindholm E, Bakhtadze E, Cilio C, Agardh E, Groop L, Agardh CD. PLoS One. 2008 Jun 25; 3(6):e2546.*

147. Osteoporosis and inflammation. *Lacativa PG, Farias ML. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2010 Mar;54(2):123-32.*

148. Tumor necrosis factor-alpha, biologic agents and cardiovascular risk. *Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Doria A, Iaccarino L, Turiel M. Lupus. 2005; 14(9):780-4.*

149. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, et al. J Clin Invest. 1998 Oct 1; 102(7):1369-76.*

150. The -174G/C polymorphism of IL-6 is useful to screen old subjects at risk for atherosclerosis or to reach successful ageing. *Giacconi R, Cipriano C, Albanese F, Boccoli G, Saba V, Olivieri F, et al. Exp Gerontol. 2004 Apr; 39(4):621-8.*

151. The -174 C/G locus affects in vitro/in vivo IL-6 production during aging. *Olivieri F, Bonafè M, Cavallone L, Giovagnetti S, Marchegiani F, Cardelli M, et al. Exp Gerontol. 2002 Jan-Mar; 37(2-3):309-14.*

152. The -174G/C polymorphism of IL-6 is useful to screen old subjects at risk for atherosclerosis or to reach successful ageing. *Giacconi R, Cipriano C, Albanese F, Boccoli G, Saba V, Olivieri F, et al. Exp Gerontol. 2004 Apr; 39(4):621-8.*

153. The interleukin-6 -174 G>C promoter polymorphism is associated with a higher risk of death after an acute coronary syndrome in male elderly patients. *Antonicelli R, Olivieri F, Bonafè M, Cavallone L, Spazzafumo L, Marchegiani F, et al. Int J Cardiol. 2005 Sep 1; 103(3):266-71.*

154. Genotype frequencies of the +874T-->A single nucleotide polymorphism in the first intron of the interferon-gamma gene in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis. *Lio D, Marino V, Serauto A, Gioia V, Scola L, Crivello A, et al. Eur J Immunogenet. 2002 Oct; 29(5):371-4.*

155. Allele frequencies of +874T-->A single nucleotide polymorphism at the first intron of interferon-gamma gene in a group of Italian centenarians. *Lio D, Scola L, Crivello A, Bonafè M, Franceschi C, Olivieri F, et al. Exp Gerontol. 2002 Jan-Mar; 37(2-3):315-9.*

156. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. Hum Immunol. 2000 Sep; 61(9):863-6.*

157. Gender-specific association between -1082 IL-10 promoter polymorphism and longevity. *Lio D, Scola L, Crivello A, Colonna-Romano G, Candore G, Bonafè M, et al. Genes Immun. 2002 Feb; 3(1):30-3.*

158. Human cytomegalovirus entry into dendritic cells occurs via a macropinocytosis-like pathway in a pH-independent and cholesterol-dependent manner. *Haspot F, Lavault A, Sinzger C, Laib Sampaio K, Stierhof YD, Pilet P, et al. PLoS One. 2012; 7(4):e34795.*

159. The 'indirect' effects of cytomegalovirus infection. *Freeman RB Jr. Am J Transplant. 2009 Nov; 9(11):2453-8.*

160. Stimulation of the human cytomegalovirus IE enhancer/promoter in HL-60 cells by TNFalpha is mediated via induction of NF-kappaB. *Prösch S, Staak K, Stein J, Liebenthal C, Stamminger T, Volk HD, et al. Virology. 1995 Apr 1; 208(1):197-206.*

161. Impact of cellular senescence signature on ageing research. *Sikora E, Arendt T, Bennett M, Narita M. Ageing Res Rev. 2011 Jan; 10(1):146-52.*

162. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Freund A, Orjalo AV, Desprez PY, Campisi J. Trends Mol Med. 2010 May; 16(5):238-46.*

163. MiR-146a as marker of senescence-associated pro-inflammatory status in cells involved in vascular remodelling. *Olivieri F, Lazzarini R, Recchioni R, Marcheselli F, Rippo MR, Di Nuzzo S, et al. Age (Dordr). 2013 Aug; 35(4):1157-72.*

164. Cellular senescence: putting the paradoxes in perspective. *Campisi J. Curr Opin Genet Dev. 2011 Feb; 21(1):107-12.*

165. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *Tchkonia T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL J Clin Invest. 2013 Mar; 123(3):966-72.*

166. Obesity and inflammation: the effects of weight loss. *Forsythe LK, Wallace JM, Livingstone MB. Nutr Res Rev. 2008 Dec; 21(2):117-33.*

167. Inflammation and metabolic disorders. *Hotamisligil GS. Nature. 2006 Dec 14; 444(7121):860-7.*

168. The origins and drivers of insulin resistance. *Johnson AM, Olefsky JM. Cell. 2013 Feb 14; 152(4):673-84.*

169. Inflammation and insulin resistance. *Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. J Clin Invest. 2006 Jul; 116(7):1793-801.*

170. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M Lancet. 2008 Feb 16; 371(9612):569-78.*

171. Obesity, waist circumference, weight change, and the risk of psoriasis in women: Nurses' Health Study II. *Setty AR, Curhan G, Choi HK. Arch Intern Med. 2007 Aug 13-27; 167(15):1670-5.*

172. The immune protective effect of the Mediterranean diet against chronic low-grade inflammatory diseases. *Casas R, Sacanella E, Estruch R. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2014; 14(4):245-54.*

173. The impact of increased body mass index on the clinical course of Crohn's disease. *Hass DJ, Brensinger CM, Lewis JD, Lichtenstein GR. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006 Apr; 4(4):482-8.*

174. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, et al. Nat Med. 2009 Aug; 15(8):914-20.*

175. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. J Clin Invest. 2007 Jan; 117(1):175-84.*

176. A new role for microRNAs, as ligands of Toll-like receptors. *Fabbri M, Paone A, Calore F, Galli R, Croce CM. RNA Biol. 2013 Feb; 10(2):169-74.*

177. MiR-146a as marker of senescence-associated pro-inflammatory status in cells involved in vascular remodelling. *Olivieri F, Lazzarini R, Recchioni R, Marcheselli F, Rippo MR, Di Nuzzo S, e tal. Age (Dordr). 2013 Aug; 35(4):1157-72.*

178. Circulating inflamma-miRs in aging and age-related diseases. *Olivieri F, Rippo MR, Procopio AD, Fazioli F. Front Genet. 2013; 4():121.*

179. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, et al. Nature. 2010 Mar 4; 464(7285):104-7.*

180. Circulating mitochondrial DNA increases with age and is a familiar trait: Implications for "inflamm-aging". *Pinti M, Cevenini E, Nasi M, De Biasi S, Salvioli S, Monti D, et al. Eur J Immunol. 2014 May; 44(5):1552-62.*

181. You are what you host: microbiome modulation of the aging process. *Heintz C, Mair W. Cell. 2014 Jan 30; 156(3):408-11.*

182. Ageing and gut microbes: perspectives for health maintenance and longevity. *Biagi E, Candela M, Turroni S, Garagnani P, Franceschi C, Brigidi P. Pharmacol Res. 2013 Mar; 69(1):11-20.*

183. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *Biagi E, Nylund L, Candela M, Ostan R, Bucci L, Pini E, et al. PLoS One. 2010 May 17; 5(5):e10667.*

184. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. *Mueller S, Saunier K, Hanisch C, Norin E, Alm L, Midtvedt T, et al. Appl Environ Microbiol. 2006 Feb; 72(2):1027-33.*

185. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects. *Woodmansey EJ, McMurdo ME, Macfarlane GT, Macfarlane S. Appl Environ Microbiol. 2004 Oct; 70(10):6113-22.*

186. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *Biagi E, Nylund L, Candela M, Ostan R, Bucci L, Pini E, et al. PLoS One. 2010 May 17; 5(5):e10667.*

187. Development and application of the human intestinal tract chip, a phylogenetic microarray: analysis of universally conserved phylotypes in the abundant microbiota of young and elderly adults. *Rajilić-Stojanović M, Heilig HG, Molenaar D, Kajander K, Surakka A, Smidt H, de Vos WM. Environ Microbiol. 2009 Jul; 11(7):1736-51.*

188. The intestinal epithelial barrier: does it become impaired with age? *Meier J, Sturm A. Dig Dis. 2009; 27(3):240-5.*

189. Senescence in innate immune responses: reduced neutrophil phagocytic capacity and CD16 expression in elderly humans. *Butcher SK, Chahal H, Nayak L, Sinclair A, Henriquez NV, Sapey E, et al. J Leukoc Biol. 2001 Dec; 70(6):881-6.*

190. Reduced neutrophil chemotaxis and infiltration contributes to delayed resolution of cutaneous wound infection with advanced age. *Brubaker AL, Rendon JL, Ramirez L, Choudhry MA, Kovacs EJ J Immunol. 2013 Feb 15; 190(4):1746-57.*

191. Phosphoinositide 3-kinase inhibition restores neutrophil accuracy in the elderly: toward targeted treatments for immunosenescence. *Sapey E, Greenwood H, Walton G, Mann E, Love A, Aaronson N, et al. Blood. 2014 Jan 9; 123(2):239-48.*

192. Dysregulation of neutrophil CXCR2 and pulmonary endothelial icam-1 promotes age-related pulmonary inflammation. *Nomellini V, Brubaker AL, Mahbub S, Palmer JL, Gomez CR, Kovacs EJ. Aging Dis. 2012 Jun; 3(3):234-47.*

193. Mitochondrial Dysfunction Induces Senescence with a Distinct Secretory Phenotype. *Wiley CD, Velarde MC, Lecot P, Liu S, Sarnoski EA, Freund A, et al. Cell Metab. 2016 Feb 9; 23(2):303-14.*

194. Neutrophils of centenarians show function levels similar to those of young adults. *Alonso-Fernández P, Puerto M, Maté I, Ribera JM, de la Fuente M. J Am Geriatr Soc. 2008 Dec; 56(12):2244-51.*

195. Blood Monocytes and Their Subsets: Established Features and Open Questions. *Ziegler-Heitbrock L. Front Immunol. 2015; 6():423.*

196. Global analyses revealed age-related alterations in innate immune responses after stimulation of pathogen recognition receptors. *Metcalf TU, Cubas RA, Ghneim K, Cartwright MJ, Grevenynghe JV, Richner JM, et al. Aging Cell. 2015 Jun;14(3):421-32*

197. Aging is associated with chronic innate immune activation and dysregulation of monocyte phenotype and function. *Hearps AC, Martin GE, Angelovich TA, Cheng WJ, Maisa A, Landay AL, et al. Aging Cell. 2012 Oct; 11(5):867-75.*

198. Antitumoral properties of aged human monocytes. *McLachlan JA, Serkin CD, Morrey KM, Bakouche O. J Immunol. 1995 Jan 15; 154(2):832-43.*

199. Age-associated defect in human TLR-1/2 function. *van Duin D, Mohanty S, Thomas V, Ginter S, Montgomery RR, Fikrig E, et al. J Immunol. 2007 Jan 15; 178(2):970-5.*

200. Age-associated elevation in TLR5 leads to increased inflammatory responses in the elderly. *Qian F, Wang X, Zhang L, Chen S, Piecychna M, Allore H, et al. Aging Cell. 2012 Feb; 11(1):104-10.*

201. Flagellin as an adjuvant: cellular mechanisms and potential. *Mizel SB, Bates JT. J Immunol. 2010 Nov 15; 185(10):5677-82.*

202. Tumour necrosis factor-alpha-induced migration of human Langerhans cells: the influence of ageing. *Bhushan M, Cumberbatch M, Dearman RJ, Andrew SM, Kimber I, Griffiths CE. Br J Dermatol. 2002 Jan; 146(1):32-40.*

203. Deterioration of the Langerhans cell network of the human gingival epithelium with aging. *Zavala WD, Cavicchia JC. Arch Oral Biol. 2006 Dec; 51(12):1150-5.*

204. Skin infections and ageing. *Laube S. Ageing Res Rev. 2004 Jan; 3(1):69-89.*

205. Altered innate immune functioning of dendritic cells in elderly humans: a role of phosphoinositide 3-kinase-signaling pathway. *Agrawal A, Agrawal S, Cao JN, Su H, Osann K, Gupta S. J Immunol. 2007 Jun 1; 178(11):6912-22.*

206. Responses of Dendritic Cells to TLR-4 Stimulation Are Maintained in the Elderly and Resist the Effects of CMV Infection Seen in the Young. *Janssen N, Derhovanessian E, Demuth I, Arnaout F, Steinhagen-Thiessen E, Pawelec G. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2016 Sep; 71(9):1117-23.*

207. Age-associated decrease in TLR function in primary human dendritic cells predicts influenza vaccine response. *Panda A, Qian F, Mohanty S, van Duin D, Newman FK, Zhang L, et al. J Immunol. 2010 Mar 1; 184(5):2518-27.*

208. Aging is associated with a numerical and functional decline in plasmacytoid dendritic cells, whereas myeloid dendritic cells are relatively unaltered in human peripheral blood. *Jing Y, Shaheen E, Drake RR, Chen N, Gravenstein S, Deng Y. Hum Immunol. 2009 Oct; 70(10):777-84.*

209. Influence of age on polymorphonuclear leukocytes in vitro: phagocytic activity in healthy human subjects. *Emanuelli G, Lanzio M, Anfossi T, Romano S, Anfossi G, Calcamuggi G. Gerontology. 1986; 32(6):308-16.*

210. Aging does not affect the ability of human monocyte-derived dendritic cells to phagocytose Candida albicans. *do Nascimento MP, Pinke KH, Penitenti M, Ikoma MR, Lara VS. Aging Clin Exp Res. 2015 Dec; 27(6):785-9.*

211. Immunosenescence of ageing. *Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. J Pathol. 2007 Jan; 211(2):144-56.*

212. T cell homeostasis in centenarians: from the thymus to the periphery. *Pinti M, Nasi M, Lugli E, Gibellini L, Bertoncelli L, Roat E, et al. Curr Pharm Des. 2010; 16(6):597-603.*

213. Thymic output and functionality of the IL-7/IL-7 receptor system in centenarians: implications for the neolymphogenesis at the limit of human life. *Nasi M, Troiano L, Lugli E, Pinti M, Ferraresi R, Monterastelli E, et al. Aging Cell. 2006 Apr; 5(2):167-75.*

214. Subject classification obtained by cluster analysis and principal component analysis applied to flow cytometric data. *Lugli E, Pinti M, Nasi M, Troiano L, Ferraresi R, Mussi C, et al. Cytometry A. 2007 May; 71(5):334-44.*

215. Spatial map of human T cell compartmentalization and maintenance over decades of life. *Thome JJ, Yudanin N, Ohmura Y, Kubota M, Grinshpun B, Sathaliyawala T, et al. Cell. 2014 Nov 6; 159(4):814-28.*

216. Decline in miR-181a expression with age impairs T cell receptor sensitivity by increasing DUSP6 activity. *Li G, Yu M, Lee WW, Tsang M, Krishnan E, Weyand CM, et al. Nat Med. 2012 Oct; 18(10):1518-24.*

217. Reduced naïve CD8(+) T-cell priming efficacy in elderly adults. *Briceño O, Lissina A, Wanke K, Afonso G, von Braun A, Ragon K, et al. Aging Cell. 2016 Feb; 15(1):14-21.*

218. Age-Dependent Cell Trafficking Defects in Draining Lymph Nodes Impair Adaptive Immunity and Control of West Nile Virus Infection. *Richner JM, Gmyrek GB, Govero J, Tu Y, van der Windt GJ, Metcalf TU, et al. PLoS Pathog. 2015 Jul; 11(7):e1005027.*

219. Low Thymic Activity and Dendritic Cell Numbers Are Associated with the Immune Response to Primary Viral Infection in Elderly Humans. *Schulz AR, Mälzer JN, Domingo C, Jürchott K, Grützkau A, Babel N, et al. J Immunol. 2015 Nov 15; 195(10):4699-711.*

220. The ageing B cell population: composition and function. *Ademokun A, Wu YC, Dunn-Walters D. Biogerontology. 2010 Apr*

221. Unique biomarkers for B-cell function predict the serum response to pandemic H1N1 influenza vaccine. *Frasca D, Diaz A, Romero M, Phillips M, Mendez NV, Landin AM, Blomberg BB. Int Immunol. 2012 Mar; 24(3):175-82.*

222. Aging down-regulates the transcription factor E2A, activation-induced cytidine deaminase, and Ig class switch in human B cells. *Frasca D, Landin AM, Lechner SC, Ryan JG, Schwartz R, Riley RL, Blomberg BB. J Immunol. 2008 Apr 15; 180(8):5283-90.*

223. Regulation of aged humoral immune defense against pneumococcal bacteria by IgM memory B cell. *Shi Y, Yamazaki T, Okubo Y, Uehara Y, Sugane K, Agematsu K. J Immunol. 2005 Sep 1; 175(5):3262-7.*

224. A new memory CD27-IgG+ B cell population in peripheral blood expressing VH genes with low frequency of somatic mutation. *Fecteau JF, Côté G, Néron S. J Immunol. 2006 Sep 15; 177(6):3728-36.*

225. A double-negative (IgD-CD27-) B cell population is increased in the peripheral blood of elderly people. *Colonna-Romano G, Bulati M, Aquino A, Pellicanò M, Vitello S, Lio D, et al. Mech Ageing Dev. 2009 Oct; 130(10):681-90.*

226. Age-associated alterations in γδ T-cells are present predominantly in individuals infected with Cytomegalovirus. *Wistuba-Hamprecht K, Frasca D, Blomberg B, Pawelec G, Derhovanessian E. Immun Ageing. 2013 Jul 3; 10(1):26.*

227. High TNF-α levels in resting B cells negatively correlate with their response. *Frasca D, Diaz A, Romero M, Landin AM, Blomberg BB. Exp Gerontol. 2014 Jun; 54():116-22.*

228. Effects of age on H1N1-specific serum IgG1 and IgG3 levels evaluated during the 2011-2012 influenza vaccine season. *Frasca D, Diaz A, Romero M, Mendez NV, Landin AM, Blomberg BB. Immun Ageing. 2013 Apr 22; 10(1):14.*

229. AID activity in B cells strongly correlates with polyclonal antibody affinity maturation in-vivo following pandemic 2009-H1N1 vaccination in humans. *Khurana S, Frasca D, Blomberg B, Golding H. PLoS Pathog. 2012 Sep; 8(9):e1002920.*

230. Aging down-regulates the transcription factor E2A, activation-induced cytidine deaminase, and Ig class switch in human B cells. *Frasca D, Landin AM, Lechner SC, Ryan JG, Schwartz R, Riley RL, et al. J Immunol. 2008 Apr 15; 180(8):5283-90.*

231. High TNF-α levels in resting B cells negatively correlate with their response. *Frasca D, Diaz A, Romero M, Landin AM, Blomberg BB. Exp Gerontol. 2014 Jun; 54():116-22.*

232. A double-negative (IgD-CD27-) B cell population is increased in the peripheral blood of elderly people. *Colonna-Romano G, Bulati M, Aquino A, Pellicanò M, Vitello S, Lio D, et al. Mech Ageing Dev. 2009 Oct; 130(10):681-90.*

233. Cytomegalovirus-associated accumulation of late-differentiated CD4 T-cells correlates with poor humoral response to influenza vaccination. *Derhovanessian E, Theeten H, Hähnel K, Van Damme P, Cools N, Pawelec G. Vaccine. 2013 Jan 11; 31(4):685-90.*

234. The unmet need in the elderly: how immunosenescence, CMV infection, co-morbidities and frailty are a challenge for the development of more effective influenza vaccines. *McElhaney JE, Zhou X, Talbot HK, Soethout E, Bleackley RC, Granville DJ, Pawelec G. Vaccine. 2012 Mar 9; 30(12):2060-7.*

235. Cellular signaling in the aging immune system. *Fulop T, Le Page A, Fortin C, Witkowski JM, Dupuis G, Larbi A. Curr Opin Immunol. 2014 Aug; 29():105-11.*

236. Paradoxical changes in innate immunity in aging: recent progress and new directions. *Montgomery RR, Shaw AC. J Leukoc Biol. 2015 Dec; 98(6):937-43.*

237. Innate immunosenescence: effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans. *Solana R, Tarazona R, Gayoso I, Lesur O, Dupuis G, Fulop T. Semin Immunol. 2012 Oct; 24(5):331-41.*

238. Phosphoinositide 3-kinase inhibition restores neutrophil accuracy in the elderly: toward targeted treatments for immunosenescence. *Sapey E, Greenwood H, Walton G, Mann E, Love A, Aaronson N, et al. Blood. 2014 Jan 9; 123(2):239-48.*

239. Impairment of SHP-1 down-regulation in the lipid rafts of human neutrophils under GM-CSF stimulation contributes to their age-related, altered functions. *Fortin CF, Larbi A, Lesur O, Douziech N, Fulop T Jr. J Leukoc Biol. 2006 May; 79(5):1061-72.*

240. Cellular signalling pathways in immune aging and regeneration. *Aspinall R, Lapenna A, B-Lynch C, Lang PO. Biochem Soc Trans. 2014 Jun; 42(3):651-6.*

241. Signaling pathways in aged T cells - a reflection of T cell differentiation, cell senescence and host environment. *Goronzy JJ, Li G, Yu M, Weyand CM. Semin Immunol. 2012 Oct; 24(5):365-72.*

242. Studies into the effect of tyrosine phosphatase inhibitor phenylarsine oxide on NFkappaB activation in T lymphocytes during aging: evidence for altered IkappaB-alpha phosphorylation and degradation. *Ponnappan U, Trebilcock GU, Zheng MZ. Exp Gerontol. 1999 Jan; 34(1):95-107.*

243. Downregulation of inhibitory SRC homology 2 domain-containing phosphatase-1 (SHP-1) leads to recovery of T cell responses in elderly. *Le Page A, Fortin C, Garneau H, Allard N, Tsvetkova K, Tan CT, Larbi A, Dupuis G, Fülöp T. Cell Commun Signal. 2014 Jan 9; 12():2.*

244. Differential role of lipid rafts in the functions of CD4+ and CD8+ human T lymphocytes with aging. *Larbi A, Dupuis G, Khalil A, Douziech N, Fortin C, Fülöp T Jr. Cell Signal. 2006 Jul; 18(7):1017-30.*

245. Oxidative stress modulation and T cell activation. *Larbi A, Kempf J, Pawelec G. Exp Gerontol. 2007 Sep; 42(9):852-8.*

246. Direct correlation of glutathione and ascorbate and their dependence on age and season in human lymphocytes. *Lenton KJ, Therriault H, Cantin AM, Fülöp T, Payette H, Wagner JR. Am J Clin Nutr. 2000 May; 71(5):1194-200.*

247. Free radicals and redox signalling in T-cells during chronic inflammation and ageing. *Griffiths HR, Dunston CR, Bennett SJ, Grant MM, Phillips DC, Kitas GD. Biochem Soc Trans. 2011 Oct; 39(5):1273-8.*

248. Ageing and infection. *Gavazzi G, Krause KH. Lancet Infect Dis. 2002 Nov; 2(11):659-66.*

249. Modelling estimates of the burden of Respiratory Syncytial virus infection in adults and the elderly in the United Kingdom. *Fleming DM, Taylor RJ, Lustig RL, Schuck-Paim C, Haguinet F, Webb DJ, et al. BMC Infect Dis. 2015 Oct 23; 15():443.*

250. The path to an RSV vaccine. *Shaw CA, Ciarlet M, Cooper BW, Dionigi L, Keith P, O'Brien KB, Rafie-Kolpin M, Dormitzer PR. Curr Opin Virol. 2013 Jun; 3(3):332-42.*

251. A case for immunization against nosocomial infections. *Cross AS, Chen WH, Levine MM. J Leukoc Biol. 2008 Mar; 83(3):483-8.*

252. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Osterholm MT, Kelley NS, Sommer A, Belongia EA. Lancet Infect Dis. 2012 Jan; 12(1):36-44.*

253. Cochrane re-arranged: support for policies to vaccinate elderly people against influenza. *Beyer WE, McElhaney J, Smith DJ, Monto AS, Nguyen-Van-Tam JS, Osterhaus AD. Vaccine. 2013 Dec 5; 31(50):6030-3.*

254. Recall responses to tetanus and diphtheria vaccination are frequently insufficient in elderly persons. *Weinberger B, Schirmer M, Matteucci Gothe R, Siebert U, Fuchs D, Grubeck-Loebenstein B. PLoS One. 2013; 8(12):e82967.*

255. The importance of pertussis in older adults: a growing case for reviewing vaccination strategy in the elderly. *Ridda I, Yin JK, King C, Raina MacIntyre C, McIntyre P. Vaccine. 2012 Nov 6; 30(48):6745-52.*

256. Booster vaccination in the elderly: their success depends on the vaccine type applied earlier in life as well as on pre-vaccination antibody titers. *Kaml M, Weiskirchner I, Keller M, Luft T, Hoster E, Hasford J, et al. Vaccine. 2006 Nov 17; 24(47-48):6808-11.*

257. Economic value of influenza vaccination. *de Waure C, Veneziano MA, Cadeddu C, Capizzi S, Specchia ML, Capri S, et al. Hum Vaccin Immunother. 2012 Jan; 8(1):119-29.*

258. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Cox N, Anderson LJ, et al. JAMA. 2003 Jan 8; 289(2):179-86.*

259. A vaccine to prevent herpes zoster and postherpetic neuralgia in older adults. *Oxman MN, Levin MJ, Johnson GR, Schmader KE, Straus SE, Gelb LD, et al. N Engl J Med. 2005 Jun 2; 352(22):2271-84.*

260. Polysaccharide conjugate vaccine against pneumococcal pneumonia in adults. *Bonten MJ, Huijts SM, Bolkenbaas M, Webber C, Patterson S, Gault S, et al. N Engl J Med. 2015 Mar 19; 372(12):1114-25.*

261. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Vaccine. 2006 Feb 20; 24(8):1159-69.*

262. Influenza vaccine: the challenge of antigenic drift. *Carrat F, Flahault A. Vaccine. 2007 Sep 28; 25(39-40):6852-62.*

263. Immunogenicity and safety of pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine: systematic review and meta-analysis. *Yin JK, Khandaker G, Rashid H, Heron L, Ridda I, Booy R. Influenza Other Respir Viruses. 2011 Sep; 5(5):299-305.*

264. Potent protection against H5N1 and H7N9 influenza via childhood hemagglutinin imprinting. *Gostic KM, Ambrose M, Worobey M, Lloyd-Smith JO. Science. 2016 Nov 11; 354(6313):722-726.*

265. Efficacy of high-dose versus standard-dose influenza vaccine in older adults. *DiazGranados CA, Dunning AJ, Kimmel M, Kirby D, Treanor J, Collins A, et al. N Engl J Med. 2014 Aug 14; 371(7):635-45.*

266. Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A (H5N1) vaccine. *Treanor JJ, Campbell JD, Zangwill KM, Rowe T, Wolff M. N Engl J Med. 2006 Mar 30; 354(13):1343-51.*

267. 76. Rupprecht, C. E. & Plotkin, S. A. in *Vaccines*. 6th edn, (eds Plotkin, S. A. et al.) Ch. 29 (Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2013).

268. Inactivated and adjuvanted influenza vaccines. *Del Giudice G, Rappuoli R. Curr Top Microbiol Immunol. 2015; 386():151-80.*

269. Immune responses in the skin in old age. *Vukmanovic-Stejic M, Rustin MH, Nikolich-Zugich J, Akbar AN. Curr Opin Immunol. 2011 Aug; 23(4):525-31.*

270. Direct comparison of an inactivated subvirion influenza A virus subtype H5N1 vaccine administered by the intradermal and intramuscular routes. *Patel SM, Atmar RL, El Sahly HM, Guo K, Hill H, Keitel WA. J Infect Dis. 2012 Oct 1; 206(7):1069-77.*

271. Serum antibody responses after intradermal vaccination against influenza. *Belshe RB, Newman FK, Cannon J, Duane C, Treanor J, Van Hoecke C, et al. N Engl J Med. 2004 Nov 25; 351(22):2286-94.*

272. Evaluation of non-inferiority of intradermal versus adjuvanted seasonal influenza vaccine using two serological techniques: a randomised comparative study. *Van Damme P, Arnou R, Kafeja F, Fiquet A, Richard P, Thomas S, et al. BMC Infect Dis. 2010 May 26; 10():134.*

273. Intradermal influenza vaccination in immunocompromized patients is immunogenic and feasible. *Gelinck LB, van den Bemt BJ, Marijt WA, van der Bijl AE, Visser LG, Cats HA, et al. Vaccine. 2009 Apr 21; 27(18):2469-74.*

274. Alum adjuvanticity: unraveling a century old mystery. *De Gregorio E, Tritto E, Rappuoli R. Eur J Immunol. 2008 Aug; 38(8):2068-71.*

275. Key roles of adjuvants in modern vaccines. *Reed SG, Orr MT, Fox CB. Nat Med. 2013 Dec; 19(12):1597-608.*

276. Development of an AS04-adjuvanted HPV vaccine with the adjuvant system approach. *Garçon N, Morel S, Didierlaurent A, Descamps D, Wettendorff M, Van Mechelen M. BioDrugs. 2011 Aug 1; 25(4):217-26.*

277. Efficacy and safety of RTS,S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomised, controlled trial. *RTS,S Clinical Trials Partnership. Lancet. 2015 Jul 4; 386(9988):31-45.*

278. Clinical practice: Herpes zoster. *Cohen JI. N Engl J Med. 2013 Jul 18; 369(3):255-63.*

279. Merck & Co. Inc. Zostavax Prescribing. Information https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/z/zostavax/zostavax_pi2. pdf. Accessed 22 Nov 2017.

280. A phase 1/2 clinical trial evaluating safety and immunogenicity of a varicella zoster glycoprotein e subunit vaccine candidate in young and older adults. *Leroux-Roels I, Leroux-Roels G, Clement F, Vandepapelière P, Vassilev V, Ledent E, et al. J Infect Dis. 2012 Oct; 206(8):1280-90.*

281. Safety and immunogenicity of three different formulations of an adjuvanted varicella-zoster virus subunit candidate vaccine in older adults: a phase II, randomized, controlled study. *Chlibek R, Smetana J, Pauksens K, Rombo L, Van den Hoek JA, Richardus JH, et al. Vaccine. 2014 Mar 26; 32(15):1745-53.*

282. Efficacy of an adjuvanted herpes zoster subunit vaccine in older adults. *Lal H, Cunningham AL, Godeaux O, Chlibek R, Diez-Domingo J, Hwang SJ, et al. N Engl J Med. 2015 May 28; 372(22):2087-96.*

283. Efficacy of the Herpes Zoster Subunit Vaccine in Adults 70 Years of Age or Older. *Cunningham AL, Lal H, Kovac M, Chlibek R, Hwang SJ, Díez-Domingo J, et al. N Engl J Med. 2016 Sep 15; 375(11):1019-32.*

284. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Didierlaurent AM, Laupèze B, Di Pasquale A, Hergli N, Collignon C, Garçon N. Expert Rev Vaccines. 2017 Jan; 16(1):55-63.*

285. Cellular and molecular synergy in AS01-adjuvanted vaccines results in an early IFNγ response promoting vaccine immunogenicity. *Coccia M, Collignon C, Hervé C, Chalon A, Welsby I, Detienne S, et al. NPJ Vaccines. 2017; 2():25.*

286. Reported vaccine-preventable diseases--United States, 1993, and the childhood immunization initiative. *Centers for Disease Control and Prevention (CDC). MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1994 Feb 4; 43(4):57-60.*

287. Systems vaccinology. *Pulendran B, Li S, Nakaya HI. Immunity. 2010 Oct 29; 33(4):516-29.*

288. Computational systems biology. *Kitano H. Nature. 2002 Nov 14; 420(6912):206-10.*

289. Systems biology approaches to new vaccine development. *Ann L. Oberg, Richard B. Kennedy, Peter Li, Inna G. Ovsyannikova, et al. Curr Opin Immunol. 2011 Jun; 23(3): 436–443.*

290. The model organism as a system: integrating 'omics' data sets. *Joyce AR, Palsson BØ. Nat Rev Mol Cell Biol. 2006 Mar; 7(3):198-210.*

291. ChIPing away at the genome: the new frontier travel guide. *Aleksic J, Russell S. Mol Biosyst. 2009 Dec; 5(12):1421-8.*

292. Application of pharmacogenomics to vaccines. *Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Pharmacogenomics. 2009 May; 10(5):837-52.*

293. Statistical design of quantitative mass spectrometry-based proteomic experiments. *Oberg AL, Vitek O. J Proteome Res. 2009 May; 8(5):2144-56.*

294. Tackling the widespread and critical impact of batch effects in high-throughput data. *Leek JT, Scharpf RB, Bravo HC, Simcha D, Langmead B, Johnson WE, et al. Nat Rev Genet. 2010 Oct; 11(10):733-9.*

295. Gene expression-based prognostic signatures in lung cancer: ready for clinical use? *Subramanian J, Simon R. J Natl Cancer Inst. 2010 Apr 7; 102(7):464-74.*

296. A multistage genome-wide association study in breast cancer identifies two new risk alleles at 1p11.2 and 14q24.1 (RAD51L1). *Thomas G, Jacobs KB, Kraft P, Yeager M, Wacholder S, Cox DG, et al. Nat Genet. 2009 May; 41(5):579-84.*

297. Covariance-regularized regression and classification for high-dimensional problems. *Witten DM, Tibshirani R. J R Stat Soc Series B Stat Methodol. 2009 Feb 20; 71(3):615-636.*

298. The MicroArray Quality Control (MAQC)-II study of common practices for the development and validation of microarray-based predictive models. *Shi L, Campbell G, Jones WD, Campagne F, Wen Z, Walker SJ, et al. Nat Biotechnol. 2010 Aug; 28(8):827-38.*

299. Covariance-regularized regression and classification for high-dimensional problems. *Witten DM, Tibshirani R. J R Stat Soc Series B Stat Methodol. 2009 Feb 20; 71(3):615-636.*

300. What should physicians look for in evaluating prognostic gene-expression signatures? *Subramanian J, Simon R. Nat Rev Clin Oncol. 2010 Jun; 7(6):327-34.*

301. Prognosis and prognostic research: validating a prognostic model. *Altman DG, Vergouwe Y, Royston P, Moons KG. BMJ. 2009 May 28; 338():b605.*

302. Modeling flow cytometry data for cancer vaccine immune monitoring. *Frelinger J, Ottinger J, Gouttefangeas C, Chan C. Cancer Immunol Immunother. 2010 Sep; 59(9):1435-41.*

303. ChIPing away at the genome: the new frontier travel guide. *Aleksic J, Russell S. Mol Biosyst. 2009 Dec; 5(12):1421-8.*

304. Bioinformatics analysis of Brucella vaccines and vaccine targets using VIOLIN. *He Y, Xiang Z. Immunome Res. 2010 Sep 27; 6 Suppl 1():S5.*

305. Bioinformatics in new generation flavivirus vaccines. *Koraka P, Martina BE, Osterhaus AD. J Biomed Biotechnol. 2010; 2010():864029.*

306. Comprehensive in silico prediction and analysis of chlamydial outer membrane proteins reflects evolution and life style of the Chlamydiae. *Heinz E, Tischler P, Rattei T, Myers G, Wagner M, Horn M. BMC Genomics. 2009 Dec 29; 10():634.*

307. pDOCK: a new technique for rapid and accurate docking of peptide ligands to Major Histocompatibility Complexes. *Khan JM, Ranganathan S. Immunome Res. 2010 Sep 27; 6 Suppl 1():S2.*

308. Immunogenicity of novel Dengue virus epitopes identified by bioinformatic analysis. *Sánchez-Burgos G, Ramos-Castañeda J, Cedillo-Rivera R, Dumonteil E. Virus Res. 2010 Oct; 153(1):113-20.*

309. Identification of CD8+ T cell epitopes in the West Nile virus polyprotein by reverse-immunology using NetCTL. *Larsen MV, Lelic A, Parsons R, Nielsen M, Hoof I, Lamberth K, et al. PLoS One. 2010 Sep 14; 5(9):e12697.*

310. Allele dynamics plots for the study of evolutionary dynamics in viral populations. *Steinbrück L, McHardy AC. Nucleic Acids Res. 2011 Jan; 39(1):e4.*

311. The effect of vaccination on the evolution and population dynamics of avian paramyxovirus-1. *Chong YL, Padhi A, Hudson PJ, Poss M. PLoS Pathog. 2010 Apr 22; 6(4):e1000872.*

312. A systemic network for Chlamydia pneumoniae entry into human cells. *Wang A, Johnston SC, Chou J, Dean D. J Bacteriol. 2010 Jun; 192(11):2809-15.*

313. Response of the mosquito protein interaction network to dengue infection. *Guo X, Xu Y, Bian G, Pike AD, Xie Y, Xi Z. BMC Genomics. 2010 Jun 16; 11():380.*

314. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Querec TD, Akondy RS, Lee EK, Cao W, Nakaya HI, Teuwen D, et al. Nat Immunol. 2009 Jan; 10(1):116-125.*

315. Identification and functions of pattern-recognition receptors. *Kumagai Y, Akira S. J Allergy Clin Immunol. 2010 May; 125(5):985-92.*

316. Inflammatory and autoimmune reactions in atherosclerosis and vaccine design informatics. *Jan M, Meng S, Chen NC, Mai J, Wang H, Yang XF. J Biomed Biotechnol. 2010; 2010():459798.*

317. New paradigms for generating effective CD8+ T cell responses against HIV-1/AIDS. *Ahlers JD, Belyakov IM. Discov Med. 2010 Jun; 9(49):528-37.*

318. Mathematical modeling of ultradeep sequencing data reveals that acute CD8+ T-lymphocyte responses exert strong selective pressure in simian immunodeficiency virus-infected macaques but still fail to clear founder epitope sequences. *Love TM, Thurston SW, Keefer MC, Dewhurst S, Lee HY. J Virol. 2010 Jun; 84(11):5802-14.*

319. An integrated bioinformatics approach to the characterization of influenza A/H5N1 viral sequences by microarray data: Implication for monitoring H5N1 emerging strains and designing appropriate influenza vaccines. *Kaewpongsri S, Sukasem C, Srichunrusami C, Pasomsub E, Zwang J, Pairoj W, et al. Mol Cell Probes. 2010 Dec; 24(6):387-95.*

320. Social networks shape the transmission dynamics of hepatitis C virus. *Romano CM, de Carvalho-Mello IM, Jamal LF, de Melo FL, Iamarino A, Motoki M, et al. PLoS One. 2010 Jun 23; 5(6):e11170.*

321. Dynamics and control of diseases in networks with community structure. *Salathé M, Jones JH. PLoS Comput Biol. 2010 Apr 8; 6(4):e1000736.*

322. 49. Pappalrado F, Zhang P, Halling-Brown M, Basford K, Scalia A, Shepherd A, Moss D, Motta S, Brusic V. Computational Simulations of the Immune systems for personalized medicine: State of the art and challenges. Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine. 2008;6:260–271

323. Immunoinformatics and systems biology methods for personalized medicine. *Yan Q. Methods Mol Biol. 2010; 662():203-20.*

324. Identification of an association between HLA class II alleles and low antibody levels after measles immunization. *Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Vierkant RA, Jacobsen SJ, Pankratz VS, et al. Vaccine. 2001 Nov 12; 20(3-4):430-8.*

325. Cytokine expression patterns associated with systemic adverse events following smallpox immunization. *McKinney BA, Reif DM, Rock MT, Edwards KM, Kingsmore SF, Moore JH, Crowe JE Jr. J Infect Dis. 2006 Aug 15; 194(4):444-53.*

326. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. *Pulendran B. Nat Rev Immunol. 2009 Oct; 9(10):741-7.*

327. Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune responses.*Gaucher D, Therrien R, Kettaf N, Angermann BR, Boucher G, Filali-Mouhim A, et al. J Exp Med. 2008 Dec 22; 205(13):3119-31.*

328. Safety and immunogenicity of a purified hepatitis B virus vaccine prepared by using recombinant DNA technology. *Zahradnik JM, Couch RB, Gerin JL. J Infect Dis. 1987 May; 155(5):903-8.*

329. Prophylactic human papillomavirus vaccines. *Lowy DR, Schiller JT. J Clin Invest. 2006 May; 116(5):1167-73.*

330. Mass spectrometry and peptide-based vaccine development. *Ovsyannikova IG, Johnson KL, Bergen HR 3rd, Poland GA. Clin Pharmacol Ther. 2007 Dec; 82(6):644-52.*

331. HLA supertypes and immune responses to measles-mumps-rubella viral vaccine: findings and implications for vaccine design. *Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Vierkant RA, Pankratz VS, Poland GA. Vaccine. 2007 Apr 20; 25(16):3090-100.*

332. Towards a liquid self: how time, geography, and life experiences reshape the biological identity. *Grignolio A, Mishto M, Faria AM, Garagnani P, Franceschi C, Tieri P Front Immunol. 2014; 5():153.*

333. Immunobiography and the Heterogeneity of Immune Responses in the Elderly: A Focus on Inflammaging and Trained Immunity. *Claudio Franceschi, Stefano Salvioli, Paolo Garagnani, Magda de Eguileor, Daniela Monti, and Miriam Capri.*

334. MicroRNAs miR-155 and miR-16 Decrease AID and E47 in B Cells from Elderly Individuals. *Frasca D, Diaz A, Romero M, Ferracci F, Blomberg BB. J Immunol. 2015 Sep 1; 195(5):2134-40.*

335. Trained Immunity: An Ancient Way of Remembering. *Netea MG, van der Meer JW Cell Host Microbe. 2017 Mar 8; 21(3):297-300.*

336. Systemic Acquired Resistance. *Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG, Molina A, Steiner HY, Hunt MD. Plant Cell. 1996 Oct; 8(10):1809-1819.*

337. Systemic acquired resistance. *Durrant WE, Dong X. Annu Rev Phytopathol. 2004; 42():185-209.*

338. Schmid-Hempel P, Ebert D. Evolutionary parasitology: the integrated study of infections, immunology. Ecology and Genetics. New York: Oxford University Press; (2013).

339. Immune priming in arthropods: an update focusing on the red flour beetle. *Milutinović B, Peuß R, Ferro K, Kurtz J. Zoology (Jena). 2016 Aug; 119(4):254-61.*

340. Leech responses to tissue transplantation. *Tettamanti G, Grimaldi A, Ferrarese R, Palazzi M, Perletti G, Valvassori R et al. Tissue Cell. 2003 Jun; 35(3):199-212.*

341. Specific memory within innate immune systems. *Kurtz J. Trends Immunol. 2005 Apr; 26(4):186-92.*

342. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Netea MG, Quintin J, van der Meer JW. Cell Host Microbe. 2011 May 19; 9(5):355-61.*

343. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Netea MG, Joosten LA, Latz E, Mills KH, Natoli G, Stunnenberg HG, et al. Science. 2016 Apr 22; 352(6284):aaf1098.*

344. [Effect of Bacillus Callmette Guerin (BCG) on the receptivity of nude mice to Schistosoma mansoni]. *Tribouley J, Tribouley-Duret J, Appriou M. C R Seances Soc Biol Fil. 1978; 172(5):902-4.*

345. The role of BCG/PPD-activated macrophages in resistance against systemic candidiasis in mice. *van 't Wout JW, Poell R, van Furth R. Scand J Immunol. 1992 Nov; 36(5):713-9.*

346. Immunomodulation by a low-virulence, agerminative variant of Candida albicans. Further evidence for macrophage activation as one of the effector mechanisms of nonspecific anti-infectious protection. *Bistoni F, Verducci G, Perito S, Vecchiarelli A, Puccetti P, Marconi P, et al. J Med Vet Mycol. 1988; 26(5):285-99.*

347. Repeated administration of synthetic oligodeoxynucleotides expressing CpG motifs provides long-term protection against bacterial infection. *Klinman DM, Conover J, Coban C. Infect Immun. 1999 Nov; 67(11):5658-63.*

348. New adjuvants for human vaccines. *Mbow ML, De Gregorio E, Valiante NM, Rappuoli R. Curr Opin Immunol. 2010 Jun; 22(3):411-6.*

349. No one is naive: the significance of heterologous T-cell immunity. *Welsh RM, Selin LK. Nat Rev Immunol. 2002 Jun; 2(6):417-26.*

350. A small jab - a big effect: nonspecific immunomodulation by vaccines. *Benn CS, Netea MG, Selin LK, Aaby P. Trends Immunol. 2013 Sep; 34(9):431-9.*

351. Nonspecific effects of neonatal and infant vaccination: public-health, immunological and conceptual challenges. *Aaby P, Kollmann TR, Benn CS. Nat Immunol. 2014 Oct; 15(10):895-9.*

352. Innate Immune Memory: The Latest Frontier of Adjuvanticity. *Töpfer E, Boraschi D, Italiani P. J Immunol Res. 2015; 2015():478408.*

353. Candida albicans infection affords protection against reinfection via functional reprogramming of monocytes. *Quintin J, Saeed S, Martens JHA, Giamarellos-Bourboulis EJ, Ifrim DC, Logie C, et al. Cell Host Microbe. 2012 Aug 16; 12(2):223-32.*

354. Influenza vaccine induces intracellular immune memory of human NK cells. *Dou Y, Fu B, Sun R, Li W, Hu W, Tian Z, et al. PLoS One. 2015; 10(3):e0121258.*

355. IL-17 production by γδ T cells is important for the antitumor effect of Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin treatment against bladder cancer. *Takeuchi A, Dejima T, Yamada H, Shibata K, Nakamura R, Eto M, et al. Eur J Immunol. 2011 Jan; 41(1):246-51.*

356. Mycobacteria activate γδ T-cell anti-tumour responses via cytokines from type 1 myeloid dendritic cells: a mechanism of action for cancer immunotherapy. *Fowler DW, Copier J, Wilson N, Dalgleish AG, Bodman-Smith MD. Cancer Immunol Immunother. 2012 Apr; 61(4):535-47.*

357. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Saeed S, Quintin J, Kerstens HH, Rao NA, Aghajanirefah A, Matarese F, et al. Science. 2014 Sep 26; 345(6204):1251086.*

358. mTOR- and HIF-1α-mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for trained immunity. *Cheng SC, Quintin J, Cramer RA, Shepardson KM, Saeed S, Kumar V, Giamarellos-Bourboulis EJ, et al. Science. 2014 Sep 26; 345(6204):1250684.*

359. The epigenetic machinery controlling transgenerational systemic acquired resistance. *Luna E, Ton J. Plant Signal Behav. 2012 Jun; 7(6):615-8.*

360. Immunometabolic circuits in trained immunity. *Arts RJ, Joosten LA, Netea MG. Semin Immunol. 2016 Oct; 28(5):425-430.*

361. NAD+-dependent sirtuin 1 and 6 proteins coordinate a switch from glucose to fatty acid oxidation during the acute inflammatory response. *Liu TF, Vachharajani VT, Yoza BK, McCall CE. J Biol Chem. 2012 Jul 27; 287(31):25758-69.*

362. Lactate, a product of glycolytic metabolism, inhibits histone deacetylase activity and promotes changes in gene expression. *Latham T, Mackay L, Sproul D, Karim M, Culley J, Harrison DJ, et al. Nucleic Acids Res. 2012 Jun; 40(11):4794-803.*

363. Bacille Calmette-Guerin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, Joosten LA, Ifrim DC, Saeed S, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Oct 23; 109(43):17537-42.*

364. Bone marrow dendritic cells from mice with an altered microbiota provide interleukin 17A-dependent protection against Entamoeba histolytica colitis. *Burgess SL, Buonomo E, Carey M, Cowardin C, Naylor C, Noor Z, et al. MBio. 2014 Nov 4; 5(6):e01817.*

365. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians.*Biagi E, Nylund L, Candela M, Ostan R, Bucci L, Pini E, et al. PLoS One. 2010 May 17; 5(5):e10667.*

366. Gut Microbiota and Extreme Longevity. *Biagi E, Franceschi C, Rampelli S, Severgnini M, Ostan R, Turroni S, et al. Curr Biol. 2016 Jun 6; 26(11):1480-5.*

367. Factors Influencing the Gut Microbiota, Inflammation, and Type 2 Diabetes. *Wen L, Duffy A. J Nutr. 2017 Jul; 147(7):1468S-1475S.*

368. Cytomegalovirus infection drives adaptive epigenetic diversification of NK cells with altered signaling and effector function. *Schlums H, Cichocki F, Tesi B, Theorell J, Beziat V, Holmes TD, et al. Immunity. 2015 Mar 17; 42(3):443-56.*

369. Epigenetic modification and antibody-dependent expansion of memory-like NK cells in human cytomegalovirus-infected individuals. *Lee J, Zhang T, Hwang I, Kim A, Nitschke L, Kim M, Scott JM, et al. Immunity. 2015 Mar 17; 42(3):431-42.*

370. Cytomegalovirus infection drives adaptive epigenetic diversification of NK cells with altered signaling and effector function. *Schlums H, Cichocki F, Tesi B, Theorell J, Beziat V, Holmes TD, et al. Immunity. 2015 Mar 17; 42(3):443-56.*

371. The epigenetic landscape of age-related diseases: the geroscience perspective.

Gensous N, Bacalini MG, Pirazzini C, Marasco E, Giuliani C, Ravaioli F, Mengozzi G, et al. Biogerontology. 2017 Aug; 18(4):549-559.

372. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Krol J, Loedige I, Filipowicz W. Nat Rev Genet. 2010 Sep; 11(9):597-610.*

373. Inositol phosphatase SHIP1 is a primary target of miR-155. *O'Connell RM, Chaudhuri AA, Rao DS, Baltimore D. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Apr 28; 106(17):7113-8.*

374. DNA damage response (DDR) and senescence: shuttled inflamma-miRNAs on the stage of inflamm-aging. *Olivieri F, Albertini MC, Orciani M, Ceka A, Cricca M, Procopio AD, e tal. Oncotarget. 2015 Nov 3; 6(34):35509-21.*

375. MicroRNAs miR-155 and miR-16 Decrease AID and E47 in B Cells from Elderly Individuals. *Frasca D, Diaz A, Romero M, Ferracci F, Blomberg BB. J Immunol. 2015 Sep 1; 195(5):2134-40.*

376. From inflamm-aging to immune-paralysis: a slippery slope during aging for immune-adaptation.. *Fulop T, Dupuis G, Baehl S, Le Page A, Bourgade K, Frost E, Witkowski JM, Pawelec G, Larbi A, Cunnane S. Biogerontology. 2016 Feb; 17(1):147-57.*

377. Long-term activation of the innate immune system in atherosclerosis. *Christ A, Bekkering S, Latz E, Riksen NP. Semin Immunol. 2016 Aug; 28(4):384-93.*

378. The cells that mediate innate immune memory and their functional significance in inflammatory and infectious diseases. *Gardiner CM, Mills KH. Semin Immunol. 2016 Aug; 28(4):343-50.*

379. Inflammaging and 'Garb-aging'. *Franceschi C, Garagnani P, Vitale G, Capri M, Salvioli S. Trends Endocrinol Metab. 2017 Mar; 28(3):199-212.*

380. Heterogeneity in vaccine immune response: the role of immunogenetics and the emerging field of vaccinomics. *Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Smith DI. Clin Pharmacol Ther. 2007 Dec; 82(6):653-64.*

381. Pharmacology, vaccinomics, and the second golden age of vaccinology. *Poland GA. Clin Pharmacol Ther. 2007 Dec; 82(6):623-6.*

382. Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. *Sette A, Rappuoli R. Immunity. 2010 Oct 29; 33(4):530-41.*

383. Emerging vaccine informatics. *He Y, Rappuoli R, De Groot AS, Chen RT. J Biomed Biotechnol. 2010; 2010():218590.*

384. Rationally designed strings of promiscuous CD4(+) T cell epitopes provide help to Haemophilus influenzae type b oligosaccharide: a model for new conjugate vaccines.
Falugi F, Petracca R, Mariani M, Luzzi E, Mancianti S, Carinci V, et al. Eur J Immunol. 2001 Dec; 31(12):3816-24.

385. Kinetic analysis of a complete poxvirus transcriptome reveals an immediate-early class of genes. *Assarsson E, Greenbaum JA, Sundström M, Schaffer L, Hammond JA, Pasquetto V,et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Feb 12; 105(6):2140-5.*

386. Heterogeneity in vaccine immune response: the role of immunogenetics and the emerging field of vaccinomics. *Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Smith DI. Clin Pharmacol Ther. 2007 Dec; 82(6):653-64.*

387. Application of pharmacogenomics to vaccines. *Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Pharmacogenomics. 2009 May; 10(5):837-52.*

388. The HLA system. First of two parts. *Klein J, Sato A. N Engl J Med. 2000 Sep 7; 343(10):702-9.*

389. Polymorphism in clinical immunology - From HLA typing to immunogenetic profiling. *Jin P, Wang E. J Transl Med. 2003 Nov 18; 1(1):8.*

390. Genetic susceptibility to infectious diseases: big is beautiful, but will bigger be even better? *Burgner D, Jamieson SE, Blackwell JM. Lancet Infect Dis. 2006 Oct; 6(10):653-63.*

391. Response to hepatitis B vaccine: multiple HLA genes are involved. *Desombere I, Willems A, Leroux-Roels G. Tissue Antigens. 1998 Jun; 51(6):593-604.*

392. Identification of an association between HLA class II alleles and low antibody levels after measles immunization.
Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Vierkant RA, Jacobsen SJ, Pankratz VS, et al. Vaccine. 2001 Nov 12; 20(3-4):430-8.

393. HLA and cytokine gene polymorphisms are independently associated with responses to hepatitis B vaccination. *Wang C, Tang J, Song W, Lobashevsky E, Wilson CM, Kaslow RA. Hepatology. 2004 Apr; 39(4):978-88.*

394. Class II HLA alleles and hepatitis B virus persistence in African Americans.
Thio CL, Carrington M, Marti D, O'Brien SJ, Vlahov D, Nelson KE, et al. J Infect Dis. 1999 Apr; 179(4):1004-6.

395. Pros and cons of genetic association studies in hepatitis B. *Thursz M. Hepatology. 2004 Aug; 40(2):284-6.*

396. Associations between human leukocyte antigen (HLA) alleles and very high levels of measles antibody following vaccination. *Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Vierkant RA, Shane Pankratz V, Jacobsen SJ, Poland GA. Vaccine. 2004 May 7; 22(15-16):1914-20.*

397. Human leukocyte antigen and cytokine receptor gene polymorphisms associated with heterogeneous immune responses to mumps viral vaccine. *Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Dhiman N, Vierkant RA, Pankratz VS, Poland GA. Pediatrics. 2008 May; 121(5):e1091-9.*

398. Human leukocyte antigen haplotypes in the genetic control of immune response to measles-mumps-rubella vaccine. *Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Vierkant RA, Jacobson RM, Poland GA. J Infect Dis. 2006 Mar 1; 193(5):655-63.*

399. HLA supertypes and immune responses to measles-mumps-rubella viral vaccine: findings and implications for vaccine design. *Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Vierkant RA, Pankratz VS, Poland GA. Vaccine. 2007 Apr 20; 25(16):3090-100.*

400. Identification of class II HLA-DRB1*03-bound measles virus peptides by 2D-liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Johnson KL, Ovsyannikova IG, Poland GA, Muddiman DC. J Proteome Res. 2005 Nov-Dec; 4(6):2243-9.*

401. Identification and characterization of novel, naturally processed measles virus class II HLA-DRB1 peptides. *Ovsyannikova IG, Johnson KL, Muddiman DC, Vierkant RA, Poland GA. J Virol. 2004 Jan; 78(1):42-51.*

402. Hemagglutinin protein is a primary target of the measles virus-specific HLA-A2-restricted CD8+ T cell response during measles and after vaccination. *Ota MO, Ndhlovu Z, Oh S, Piyasirisilp S, Berzofsky JA, Moss WJ, et al. J Infect Dis. 2007 Jun 15; 195(12):1799-807.*

403. Epitope-based vaccines: an update on epitope identification, vaccine design and delivery. *Sette A, Fikes J. Curr Opin Immunol. 2003 Aug; 15(4):461-70.*

404. Ab and T cell epitopes of influenza A virus, knowledge and opportunities. *Bui HH, Peters B, Assarsson E, Mbawuike I, Sette A. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jan 2; 104(1):246-51.*

405. Variation in HLA class I antigen-processing genes and susceptibility to human papillomavirus type 16-associated cervical cancer. *Deshpande A, Wheeler CM, Hunt WC, Peyton CL, White PS, Valdez YE, et al. J Infect Dis. 2008 Feb 1; 197(3):371-81.*

406. TAP1, TAP2, and HLA-DR2 alleles are predictors of cervical cancer risk. *Gostout BS, Poland GA, Calhoun ES, Sohni YR, Giuntoli RL 2nd, McGovern RM, et al. Gynecol Oncol. 2003 Mar; 88(3):326-32.*

407. Interleukin-10 gene (IL10) polymorphisms and human papillomavirus clearance among immunosuppressed adolescents. *Shrestha S, Wang C, Aissani B, Wilson CM, Tang J, Kaslow RA. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2007 Aug; 16(8):1626-32.*

408. Genetic epidemiology of single-nucleotide polymorphisms. *Collins A, Lonjou C, Morton NE. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Dec 21; 96(26):15173-7.*

409. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G et al, International SNP Map Working Group. Nature. 2001 Feb 15; 409(6822):928-33.*

410. Implications of the Human Genome Project for medical science. *Collins FS, McKusick VA. JAMA. 2001 Feb 7; 285(5):540-4.*

411. Therapeutics and toxicology. *Spielberg SP. Curr Opin Pediatr. 1998 Apr; 10(2):201-2.*

412. Cytokine gene polymorphisms in multifactorial diseases: gateways to novel targets for immunotherapy? *Vandenbroeck K, Goris A. Trends Pharmacol Sci. 2003 Jun; 24(6):284-9.*

413. Polymorphism in clinical immunology - From HLA typing to immunogenetic profiling. *Jin P, Wang E. J Transl Med. 2003 Nov 18; 1(1):8.*

414. HLA and cytokine gene polymorphisms are independently associated with responses to hepatitis B vaccination.
Wang C, Tang J, Song W, Lobashevsky E, Wilson CM, Kaslow RA
Hepatology. 2004 Apr; 39(4):978-88.

415. Revaccination of healthy nonresponders with hepatitis B vaccine and prediction of seroprotection response. *Kim MJ, Nafziger AN, Harro CD, Keyserling HL, Ramsey KM, Drusano GL, et al. Vaccine. 2003 Mar 7; 21(11-12):1174-9.*

416. Peptide-specific CTL induction in HBV-seropositive PBMC by stimulation with peptides in vitro: novel epitopes identified from chronic carriers. *Lee HG, Lim JS, Lee KY, Choi YK, Choe IS, Chung TW, et al. Virus Res. 1997 Aug; 50(2):185-94.*

417. Variations in measles vaccine-specific humoral immunity by polymorphisms in SLAM and CD46 measles virus receptors. *Dhiman N, Poland GA, Cunningham JM, Jacobson RM, Ovsyannikova IG, Vierkant RA, et al. J Allergy Clin Immunol. 2007 Sep; 120(3):666-72.*

418. Balanced polymorphism selected by genetic versus infectious human disease. *Dean M, Carrington M, O'Brien SJ. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2002; 3():263-92.*

419. Immunology. The shape of things to come. *Fitzgerald KA, Golenbock DT. Science. 2007 Jun 15; 316(5831):1574-6.*

420. The vaccine adjuvant monophosphoryl lipid A as a TRIF-biased agonist of TLR4. *Mata-Haro V, Cekic C, Martin M, Chilton PM, Casella CR, Mitchell TC. Science. 2007 Jun 15; 316(5831):1628-32.*

421. Associations between SNPs in toll-like receptors and related intracellular signaling molecules and immune responses to measles vaccine: preliminary results. *Dhiman N, Ovsyannikova IG, Vierkant RA, Ryan JE, Pankratz VS, Jacobson RM, Poland GA*
Vaccine. 2008 Mar 25; 26(14):1731-6.

422. Development of smallpox vaccine candidates with integrated interleukin-15 that demonstrate superior immunogenicity, efficacy, and safety in mice. *Perera LP, Waldmann TA, Mosca JD, Baldwin N, Berzofsky JA, Oh S. J Virol. 2007 Aug; 81(16):8774-83.*

423. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism.
Keen LJ. Transpl Immunol. 2002 Aug; 10(2-3):143-6.

424. Standards for child and adolescent immunization practices. National Vaccine Advisory Committee. *National Vaccine Advisory Committee. Pediatrics. 2003 Oct; 112(4):958-63.*

425. A measles epidemic threshold in a highly vaccinated population. *Wallinga J, Heijne JC, Kretzschmar M. PLoS Med. 2005 Nov; 2(11):e316.*

426. Declining population immunity to mumps among Israeli military recruits. *Huerta M, Davidovitch N, Aboudy Y, Ankol OE, Balicer RD, Zarka S, et al. Vaccine. 2006 Sep 11; 24(37-39):6300-3.*

427. Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Marin M, Güris D, Chaves SS, Schmid S, Seward JF, Advisory Committee on Immunization Practices, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). MMWR Recomm Rep. 2007 Jun 22; 56(RR-4):1-40.*

428. Impaired antibody response to Haemophilus influenzae type b polysaccharide and low IgG2 and IgG4 concentrations in Apache children. *Siber GR, Santosham M, Reid GR, Thompson C, Almeido-Hill J, Morell A, et al. N Engl J Med. 1990 Nov 15; 323(20):1387-92.*

429. Prevention of Haemophilus influenzae type b infections in Apache and Navajo children. *Santosham M, Rivin B, Wolff M, Reid R, Newcomer W, Letson GW et al. J Infect Dis. 1992 Jun; 165 Suppl 1():S144-51.*

430. Poland GA. Pharmacology, vaccinomics, and the 2nd golden age of vaccinology. Clin Pharmacol Ther. 2007;82(6):623–6.