

Modélisation mathématique des dynamiques de la réponse immunitaire T CD8, aux échelles cellulaire et moléculaire

Emmanuelle Terry

▶ **To cite this version:**

Emmanuelle Terry. Modélisation mathématique des dynamiques de la réponse immunitaire T CD8, aux échelles cellulaire et moléculaire. Sciences agricoles. Université Claude Bernard - Lyon I, 2012. Français. NNT : 2012LYO10185 . tel-00763897

HAL Id: tel-00763897

https://theses.hal.science/tel-00763897

Submitted on 11 Dec 2012

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.

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1

ÉCOLE DOCTORALE DE MATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Mathématiques Appliquées

par

Emmanuelle TERRY

Titre : Modélisation mathématique des dynamiques de la réponse immunitaire T CD8, aux échelles cellulaire et moléculaire

Directeurs de thèse :

Dr Fabien Crauste

Dr Olivier Gandrillon

soutenue publiquement le 12 octobre 2012

JURY

M. Daniel LE ROUX	Professeur, Université de Lyon 1	*Président*
M. Fabien CRAUSTE	Chargé de recherches au CNRS, Université de Lyon 1	*Directeur de thèse*
M. Olivier GANDRILLON	Directeur de recherches au CNRS, Université de Lyon 1	*Directeur de thèse*
Mme. Véronique THOMAS-VASLIN	Chargée de recherches au CNRS, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière	*Examinateur*
M. Grégoire ALTAN-BONNET	PhD, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center	*Rapporteur*
M. Michel LANGLAIS	Professeur, Université de Bordeaux 2	*Rapporteur*

Remerciements

Ecrire une page de remerciements est toujours un exercice redoutable, tant les personnes aidant à cheminer tout au long d'une thèse sont nombreuses.

Mes remerciements vont en premier lieu à mes directeurs de thèse, Fabien Crauste et Olivier Gandrillon. Ils m'ont accompagnée avec une patience et une attention constante, et se sont toujours montrés très disponibles. Consciencieusement, et avec rigueur, ils m'ont permis de m'initier à la recherche en me poussant toujours à aller plus loin.

Merci à Grégoire Altan-Bonnet et à Michel Langlais d'avoir accepté d'être rapporteurs, et d'avoir consacré ainsi du temps à lire mon travail.

Merci à Véronique Thomas-Vaslin et Daniel Le Roux d'avoir accepté de faire partie du jury.

Je tiens également à remercier Jacqueline Marvel et toute son équipe, avec qui nous avons pu travailler pendant ces trois ans, dans des discussions d'immunologie et de modélisation constructives, et une collaboration nous permettant de travailler avec des données expérimentales.

Je tiens aussi à remercier Alain Trautmann, pour les discussions d'immunologie que nous avons pu échangées.

Merci à Gaël Kaneko, pour son aide technique en informatique lorsqu'il nous a fallu paralléliser nos simulations sur le Centre de Calcul de l'In2p3. Je n'oublie donc pas non plus l'In2p3, et en particulier Pascal Calvat.

Mes remerciements vont aussi aux deux équipes dont j'ai partagé la vie pendant ma thèse, l'équipe Inria Dracula et l'équipe BM2A. Le caractère interdisciplinaire de ma thèse m'a ainsi apporté cet enrichissement de faire partie d'une équipe à dominante mathématiques, et d'une équipe à dominante biologie.

Enfin, toutes mes pensées vont à mes parents, pour leur soutien constant et leurs coups de pouce sur le plan technique, et à Sébastien, pour sa présence quotidienne, et son aide morale et technique.

Table des matières

1 Introduction **13**

1.1 Immunité innée et immunité acquise 14

1.2 Réponse immunitaire T CD8 à l'échelle cellulaire 17

1.2.1 Cinétique de la réponse T CD8 17

1.2.2 Génération de lymphocytes mémoires : deux hypothèses . . . 18

1.3 Réponse immunitaire T CD8 à l'échelle moléculaire 21

1.3.1 Activation des lymphocytes T CD8 21

1.3.2 Différenciation en lymphocytes mémoires 25

1.4 Modèles cellulaires de la réponse T CD8 29

1.4.1 Modèles incluant la réponse T CD8 dans un contexte de réponses plus large 29

1.4.2 Modèles de la réponse T CD8 37

1.4.2.1 Modèle de De Boer *et al.* [2001] 37

1.4.2.2 Modèle de De Boer *et al.* [2003] 40

1.4.2.3 Modèle de Kohler [2007a] 41

1.4.2.4 Modèle de Chao *et al.* [2004] 43

1.4.2.5 Modèle de Rouzine *et al.* [2005] 45

1.4.2.6 Modèles de Antia *et al.* [2003, 2005] 47

1.4.3 Modèles de virologie 52

1.5 Modèles moléculaires de la réponse T CD8 55

1.5.1 Modèles de la synapse immunologique 55

1.5.2 Modèles de signalisation intra-cellulaire 63

1.6 Introduction au travail 69

2 Mathematical Model of the primary CD8 T Cell Immune Response : Stability Analysis of a Nonlinear Age-Structured System **71**

2.1 Préambule 71

2.2 Article 72

2.2.1 Introduction 72

2.2.2 Mathematical Model of the CD8 Immune Response 78
2.2.3 Reduction to a delay differential system 82
2.2.4 Existence, uniqueness of solutions and steady states 85
2.2.5 Local asymptotic stability of steady states 88
2.2.6 Global asymptotic stability 91
2.2.7 Simulations 95
2.2.8 Discussion 100
2.3 Vers le chapitre 3 103

3 Estimating relevant parameters of the CD8 immune response from a systems biology approach 105
3.1 Préambule 105
3.2 Article 106
3.2.1 Introduction 106
3.2.2 Materials and Methods 110
3.2.2.1 Experimental work 110
3.2.2.2 Model 111
3.2.2.3 Simulations 116
3.2.3 Results 120
3.2.3.1 Data 120
3.2.3.2 Tested parameter sets of the model 121
3.2.3.3 Fits on the data 124
3.2.3.4 Parameter range 126
3.2.3.5 Refining parameter values 129
3.2.4 Discussion 132
3.3 Vers le chapitre 4 135

4 Modélisation mathématique d'un réseau d'interactions moléculaires au sein d'un lymphocyte T CD8 137
4.1 Introduction 137
4.2 Modèle d'interactions intra-cellulaires 138
4.2.1 La synapse immunologique 138
4.2.2 Voies de signalisation induisant l'entrée en cycle 141
4.2.3 Voies de signalisation induisant l'apoptose 142
4.3 Représentation d'un réseau moléculaire avec CellDesigner 144
4.4 Etude mathématique et numérique d'un modèle réduit 147
4.4.1 Réduction du réseau aux mécanismes de survie et d'apoptose . 147
4.4.2 Compétition pour bcl2 entre Bim et Bax 148

4.4.3 Description du modèle mathématique 149
4.4.4 Etats d'équilibre 152
4.4.5 Simulations 155
4.5 Discussion 162

5 Conclusions et perspectives **165**

Bibliographie **175**

Table des figures

1.1 Représentation schématique de la leucopoïèse 16
1.2 Cinétique de la population T CD8 au cours de la réponse immunitaire 18
1.3 Les différentes hypothèses de différenciation cellules effectrices/mémoires 19
1.4 Modèles de différenciation en sous-populations de cellules mémoires . 20
1.5 Liaison APC/lymphocyte T CD8 23
1.6 Une partie du modèle de Kim *et al.* [2007] 31
1.7 Modèle de Lee *et al.* [2009] 32
1.8 Modèle de Su *et al.* [2009] 34
1.9 Modèle de Hancioglu *et al.* [2007] 36
1.10 Modèle de De Boer *et al.* [2001] 38
1.11 Modèle de Chao *et al.* [2004] 45
1.12 Modèle de Rouzine *et al.* [2005] 46
1.13 Modèle structuré en âge de Antia *et al.* [2003, 2005] 48
1.14 Allure de la fonction $\rho(\tau) - d(\tau)$, utilisée dans le système structuré en âge, d'après Antia *et al.* [2003, 2005] 49
1.15 Modèle de Antia *et al.* [2003, 2005] tenant compte de la division des cellules 50
1.16 Modèle de base cellules saines/cellules infectées/virus libre 53
1.17 Modèle de Kohler [2007b] 57
1.18 Modèle de « kinetic proofreading » de Mc Keithan [1995] 59
1.19 Modèle de Feinerman *et al.* [2010] 65
1.20 Modèle de Bidot *et al.* [2008] 67

2.1 Schematic representation of the T CD8 immune response mechanisms 74
2.2 Model of the T CD8 cell immune response with a distributed delay . 77
2.3 Simplified model of the T CD8 cell immune response with a discrete delay 91
2.4 CD8 T cell immune response on 400 days postinfection 99
2.5 Simulation of the model in the biological situation we aim at modeling 99

2.6 Proliferation rate of effector cells and death rate of effector cells . . . 100

3.1 Schematic representation of the T CD8 immune response mechanisms after an infection by an intra-cellular pathogen 112
3.2 Method followed to determine the parameter sets of the model 117
3.3 Distribution of error values 118
3.4 Example of a simulation resulting in a flat response 119
3.5 Example of a fit qualitatively not correct 119
3.6 Experimental data : F5 CD8 T cell counts for influenza and vaccinia virus infections, and listeria bacterium infection 120
3.7 Best fit on experimental data for influenza infection 129
3.8 Best fit on experimental data for influenza infection over 250 days . . 130
3.9 Best fit on experimental data for influenza infection, with the constraint that a crossing bewteen effector cell and memory cell population counts is expected 131
3.10 Best fit on experimental data for influenza infection over 250 days, with the constraint that a crossing between effector cell and memory cell population counts is expected 131

4.1 Schéma de signalisation intra-cellulaire conduisant à l'entrée en cycle ou à l'apoptose de la cellule 140
4.2 Schéma de signalisation intra-cellulaire représenté avec le logiciel Cell-Designer 146
4.3 Modèle réduit de signalisation intra-cellulaire conduisant à la survie ou à l'apoptose 148
4.4 Simulation du modèle moléculaire de « choix » survie/apoptose . . . 156
4.5 Simulation du modèle moléculaire de « choix » survie/apoptose, avec modification de deux paramètres 158
4.6 Simulation du modèle moléculaire de « choix » survie/apoptose, avec modification de trois paramètres 160
4.7 Simulation du modèle moléculaire de « choix » survie/apoptose, avec une brève stimulation du TCR 161

Liste des tableaux

2.1 Parameter values for simulations of the model in the biological situation we aim at modeling 98

3.1 Link between the parameters considered and the biological rates of the model 122
3.2 Parameter values tested in simulations 123
3.3 Best fits for the three experiments, and the corresponding parameter values of the model 125
3.4 Percentage of frequency of tested parameter values 128

Chapitre 1

Introduction

Le travail présenté dans ce manuscrit porte sur la modélisation mathématique de la réponse immunitaire d'un type particulier de cellules : les lymphocytes T CD8. Nous souhaitons réaliser une modélisation de ce processus, tenant compte des mécanismes de la réponse immunitaire à deux échelles différentes : à l'échelle cellulaire et à l'échelle moléculaire.

La survie et la bonne santé d'un organisme vivant dépendent d'une défense efficace contre les attaques extérieures par des pathogènes. Les pathogènes sont des agents infectieux, virus, bactéries ou parasites, responsables de maladies très diverses. C'est l'ensemble des mécanismes de défense de l'organisme contre ces pathogènes qui est englobé sous le terme général de réponse immunitaire. Celle-ci peut être innée ou acquise, et est, dans les deux cas, médiée notamment par des cellules dites immunitaires. Nous nous concentrons uniquement sur une réponse primaire, à savoir que ces cellules immunitaires n'ont jamais rencontré le pathogène considéré auparavant. Nous nous plaçons dans le cadre d'une réponse acquise, ou spécifique, à une infection aïgue, dans laquelle l'organisme élimine totalement le pathogène, par opposition à une infection chronique, où une certaine quantité de pathogène demeure sur le long terme dans l'organisme. L'échelle cellulaire et l'échelle moléculaire apportent des informations complémentaires sur le déroulement d'une telle réponse. A l'échelle moléculaire, une cascade de signaux intra-cellulaires conduit à la mort de la cellule immunitaire ou à son entrée en cycle cellulaire. De ce « choix » va dépendre la capacité de la cellule à répondre contre le pathogène. A l'échelle cellulaire, ces mécanismes se traduisent par une cinétique du nombre de cellules immunitaires spécifique, au cours du temps qui suit l'infection. Modéliser et coupler ces deux échelles est donc pertinent pour obtenir une description la plus juste possible d'un point de vue biologique. D'autre part, la compréhension du fonctionnement de la réponse immunitaire est un enjeu essentiel à l'heure actuelle, notamment dans les

recherches sur le développement de vaccins. Ces recherches nécessitent en particulier de comprendre comment se développe, au cours de la réponse, une « mémoire immunitaire ». En effet, une sous-population de cellules dites mémoires est générée pendant une infection, demeure sur le long terme dans l'organisme et permet de « veiller », pour réagir plus efficacement si une seconde infection par le même pathogène se produit. Le fonctionnement des vaccins repose sur la capacité de l'organisme à générer efficacement ces cellules mémoires. D'un point de vue de modélisation, il est donc pertinent de s'attarder sur ce processus particulier de génération des cellules mémoires pendant la réponse immunitaire.

A travers ce premier chapitre, nous décrirons l'essentiel des connaissances biologiques nécessaires à la compréhension du fonctionnement de la réponse immunitaire et à sa modélisation. Nous commencerons par poser le cadre d'étude, c'est-à-dire la réponse immunitaire en général. Ensuite, nous nous focaliserons sur la population de cellules immunitaires qui nous intéressera dans la suite du travail, les lymphocytes T CD8. Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous décrirons comment, à l'échelle cellulaire, la réponse se traduit par une cinétique spécifique de la population de lymphocytes. Par la suite, nous exposerons les modèles biologiques existants concernant la génération des lymphocytes mémoires. Dans une troisième partie, nous verrons cette fois à l'échelle moléculaire les mécanismes par lesquels les lymphocytes T CD8 sont rendus capables de répondre à l'infection détectée, et quelques hypothèses concernant la façon dont est réalisée la différenciation en lymphocytes mémoires. Nous terminerons ce chapitre introductif par une présentation des modèles mathématiques de la littérature, développés pour décrire cette réponse T CD8 aux échelles cellulaire et moléculaire, et par une introduction à nos travaux.

1.1 Immunité innée et immunité acquise

La capacité de l'organisme à se débarrasser des pathogènes les plus divers (virus, bactéries, parasites) repose sur un certain nombre d'acteurs différents, dont nous allons décrire ici brièvement les rôles et modes d'actions. Le bon fonctionnement de la réponse immunitaire dépend avant tout d'une distinction essentielle entre les molécules de l'organisme, le soi, et les molécules étrangères potentiellement pathogènes, le non-soi. C'est déjà par la capacité à faire cette distinction que le système immunitaire peut repérer et détruire les molécules mettant l'organisme en danger.

Lorsqu'on parle de réponse immunitaire, on peut distinguer deux types de mécanismes, l'immunité innée et l'immunité acquise (Campbell *et al.* [1995]).

L'immunité innée est une réponse non spécifique, capable d'agir contre un large

éventail de micro-organismes. Elle se met en place par le biais de la peau, des muqueuses, et des leucocytes phagocytaires, que sont les monocytes ou macrophages, et les granulocytes, cellules non spécifiques, qui ingèrent les bactéries et cellules infectées. Au contraire, l'immunité acquise est une réponse dite adaptative, spécifique, qui n'intervient qu'après exposition à des pathogènes et des auto-antigènes. Pour lutter contre ces infections, l'organisme dispose de réponses suffisamment complexes, mettant en jeu les lymphocytes B et T. L'ensemble de ces cellules immunitaires, les leucocytes ou globules blancs, est produit lors d'un processus appelé leucopoïese (voir Figure 1.1).

Les lymphocytes B tirent leur nom d'un organe présent chez les oiseaux, la bourse de Fabricius, dans lequel les lymphocytes B arrivent à maturité et où ils ont été découverts. En présence d'un pathogène, les lymphocytes B sont activés (d'une façon similaire aux lymphocytes T, voir la section 1.3.1) et se différencient en plasmocytes. Ils sécrètent alors des anticorps dirigés contre le pathogène. Ces anticorps circulent dans les liquides de l'organisme, plasma et lymphe, c'est pourquoi on parle d'immunité humorale.

Les lymphocytes T, quant à eux, migrent et se différencient dans le thymus (d'où le T qui caractérise leur nom), après leur production dans la moelle osseuse. Ils visent à éliminer directement les cellules infectées (voir la section 1.3.1 pour le détail), si bien que l'on parle d'immunité cellulaire. On sait distinguer différentes populations de lymphocytes T, dont les mécanismes d'action sont encore un sujet de recherches actif. On connaît en particulier deux grandes familles de lymphocytes, les lymphocytes T CD4 et les lymphocytes T CD8.

Les lymphocytes T CD4 exercent des fonctions auxiliaires, principalement grâce aux cytokines qu'ils sécrètent. Ils facilitent la mise en place de la réponse innée, stimulent l'activation des macrophages, leur production de cytokines, l'activation et la différenciation de granulocytes (Kindt *et al.* [2007]). Les lymphocytes T CD4 participent également à différents niveaux à la réponse adaptative, dans un rôle de médiation des réponses spécifiques des autres cellules immunitaires (Zhu *et al.* [2008]). Ils assistent la réponse des lymphocytes B, en stimulant leur production d'anticorps. Plus précisément, les lymphocytes T CD4 se différencient en sous-populations que l'on discrimine notamment par la nature des cytokines qu'ils produisent (Zhu *et al.* [2008]). Cette différenciation est un mécanisme permettant aux cellules d'acquérir des fonctions, qui seront différentes entre les sous-populations. Les lymphocytes T CD4 différenciés en Treg auront un rôle de régulation de la réponse. Par exemple, ils permettent de limiter la réponse lymphocytaire, en inhibant l'activation, la prolifération et la production de cytokines des lymphocytes T CD4 et T CD8 (Miyara *et al.*

[2007], Kim *et al.* [2007]). Les lymphocytes T CD4 différenciés en Th1 (Th pour T helper) participent quant à eux à la réponse contre les pathogènes intra-cellulaires (virus, bactéries), et les Th2 contre les parasites extra-cellulaires (Zhu *et al.* [2008], Amsen *et al.* [2009], El Hentati [2009]).

Cependant, nous nous intéresserons ici plus particulièrement aux lymphocytes T CD8, qui ont la capacité d'éliminer les pathogènes, c'est pourquoi ils sont dits cytotoxiques. Dans la section suivante, nous décrivons les mécanismes de réponse immunitaire de ces lymphocytes, à l'échelle cellulaire.

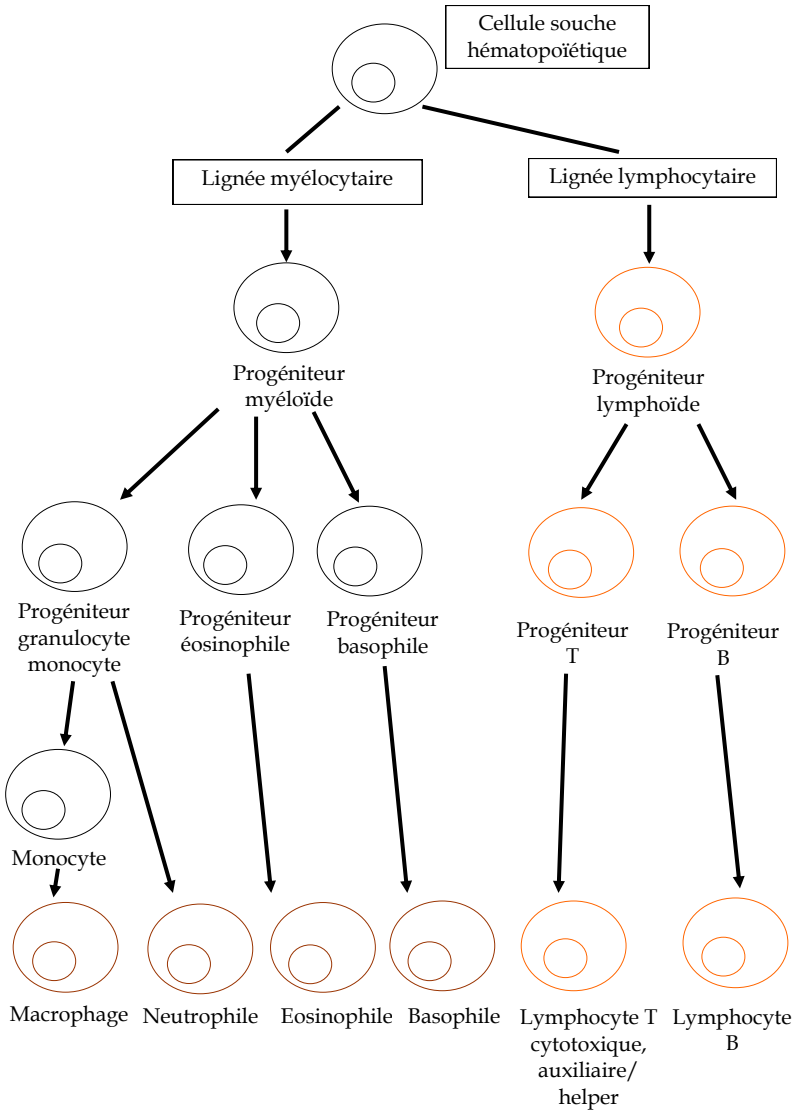


FIGURE 1.1 – Représentation schématique de la leucopoïèse, processus de production des leucocytes ou globules blancs. D'après Kindt *et al.* [2007].

1.2 Réponse immunitaire T CD8 à l'échelle cellulaire

Dans cette section, nous nous intéressons à la réponse des lymphocytes T CD8 à l'échelle cellulaire. Nous décrivons la cinétique de la population caractéristique de cette réponse, puis nous discutons des modèles biologiques existants de génération de lymphocytes T CD8 mémoires. Ce dernier point est en effet particulièrement important d'un point de vue de biologie et de modélisation, comme nous l'avons dit au début de ce chapitre.

1.2.1 Cinétique de la réponse T CD8

La production de lymphocytes à partir des cellules souches n'augmente pas particulièrement en cas d'infection, comme cela peut être le cas pour les autres types de cellules sanguines (globules rouges, plaquettes...) en réponse à un stress. La capacité des lymphocytes à débarrasser l'organisme des infections réside donc dans un autre mécanisme correspondant à une succession de phases caractéristiques de la réponse lymphocytaire (Campbell *et al.* [1995], Murali-Krishna *et al.* [1998], Appay *et al.* [2004], Abbas *et al.* [2008]). Produits à partir des cellules souches, les lymphocytes T sont dits naïfs, ce qui désigne un état au repos, de cellules qui ne sont pas encore capables d'éliminer un pathogène. En revanche, après rencontre du pathogène, ces lymphocytes naïfs sont activés (voir Section 1.3.1, pour une description des mécanismes moléculaires caractérisant cette activation).

Cette activation des lymphocytes conduit à une phase de prolifération, ou expansion clonale, permettant de passer d'un millier à un million de cellules en quelques jours, jusqu'à un pic du nombre de cellules. Les cellules activées subissent dans le même temps une phase de différenciation en lymphocytes dits effecteurs, que nous appellerons plus simplement cellules effectrices. La différenciation est un mécanisme permettant aux lymphocytes T CD8 d'acquérir des fonctions cytotoxiques, ce qui signifie que le lymphocyte devient capable d'éliminer le pathogène, en détruisant les cellules infectées (Hermans *et al.* [2000], Appay *et al.* [2004], voir 1.3.1 pour le détail à l'échelle moléculaire). Dans une infection aïgue (par opposition aux maladies chroniques), la génération de cette population de cellules effectrices permet de résoudre l'infection en éliminant complètement le pathogène. La quantité extrêmement importante de lymphocytes générés doit cependant être contrôlée. Les cellules qui ne se sont pas différenciées en cellules mémoires partent donc en apoptose, une mort programmée qui permet une sélection et une régulation des populations cellulaires. C'est la phase de contraction (De Boer *et al.* [2001]). Cette cinétique caractéristique

de la réponse immunitaire qui nous intéresse est schématisée sur la Figure 1.2.

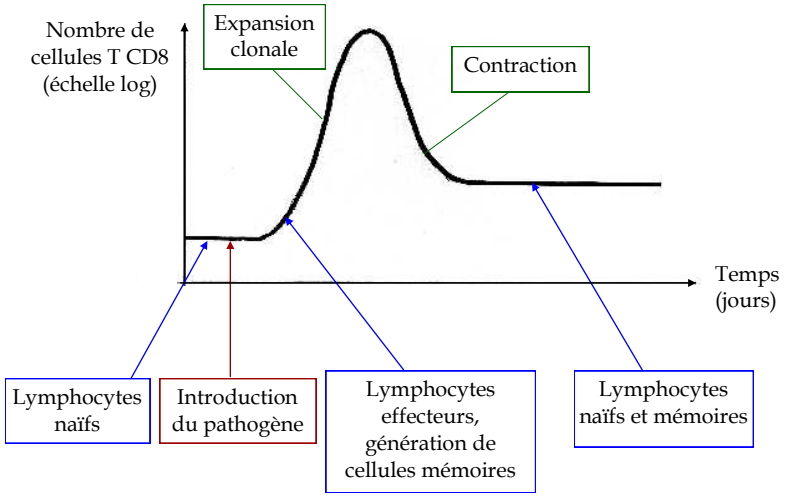


FIGURE 1.2 – Représentation schématique de la cinétique de la population totale de lymphocytes T CD8 au cours de la réponse immunitaire.

1.2.2 Génération de lymphocytes mémoires : deux hypothèses

La génération d'une population de cellules mémoires demeure un point crucial dans les mécanismes de la réponse immunitaire. Lors d'une infection dite primaire, dans laquelle le pathogène mis en cause n'a jamais été rencontré par l'organisme, la réponse des lymphocytes ne permet pas seulement de l'éliminer, mais prépare également une meilleure défense pour une éventuelle future infection par le même pathogène (Murali-Krishna *et al.* [1998], Veiga-Fernandes *et al.* [2000], Wodarz *et al.* [2000], De Boer *et al.* [2001], Arpin *et al.* [2002], Antia *et al.* [2003]). En effet, une population de lymphocytes mémoires est générée, ces cellules possèdent des marqueurs spécifiques (voir Section 1.3.2), et pourront reconnaître le pathogène rencontré plus rapidement lors d'une future infection, et/ou se différencier et proliférer ainsi plus efficacement afin de l'éliminer. Pendant l'infection en cours, il semble par contre que

ces lymphocytes mémoires n'interviennent pas comme les cellules effectrices. Les cellules mémoires sont simplement stockées en prévention d'une future infection par le même pathogène, dotées en attendant d'un « phénotype de repos » (Wherry *et al.* [2004]).

Ces cellules mémoires représentent un enjeu particulier pour le développement de vaccins. En effet, le vaccin consiste à injecter dans l'organisme l'antigène contre lequel on souhaite le protéger. Cette action déclenche une réponse atténuée, et permet de générer une population de lymphocytes mémoires, spécifiques à l'antigène du vaccin. Si par la suite, l'organisme est infecté par ce même pathogène, la réaction des lymphocytes T CD8 sera l'équivalent d'une réponse secondaire, avec une réponse mémoire effective permettant de résoudre l'infection plus efficacement. La façon dont sont générés ces lymphocytes demeure un sujet de discussion (Manjunath *et al.* [2001]), et différentes thèses sont avancées (voir Figure 1.3).

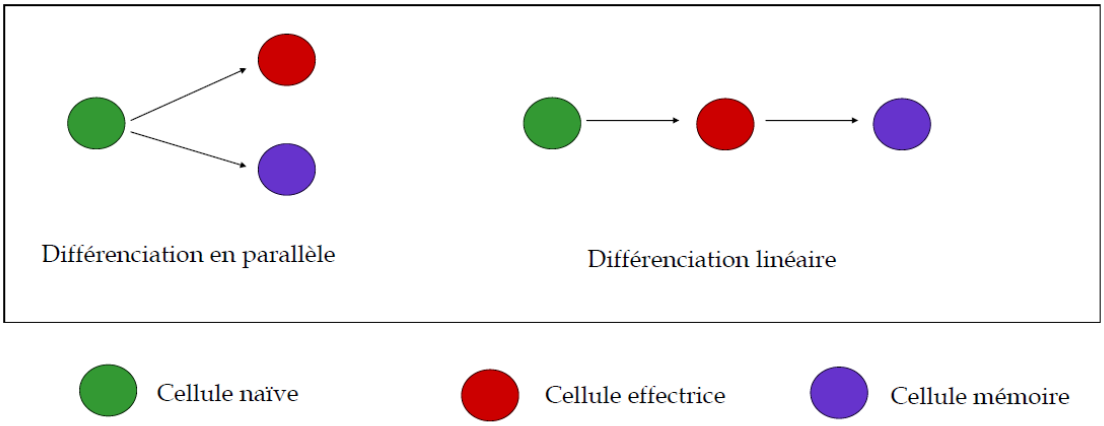


FIGURE 1.3 – Représentation schématique des différentes hypothèses de différenciation entre lymphocytes T CD8 effecteurs et mémoires, chez la souris. D'après Kaech *et al.* [2002], Appay *et al.* [2004].

Une thèse privilégie la différenciation en parallèle (Kaech *et al.* [2002], Appay *et al.* [2004]). Les lymphocytes mémoires seraient générés sans passer par un stade effecteur, ils se différencieraient directement à partir de lymphocytes naïfs.

Cependant, la thèse la plus répandue reste celle d'une différenciation linéaire, où les lymphocytes naïfs peuvent exclusivement se différencier en cellules effectrices. A leur tour, tout en luttant contre le pathogène, ces cellules effectrices pourront se différencier en cellules mémoires (Sprent *et al.* [2001], Appay *et al.* [2004], Jenkins *et al.* [2008], Bannard *et al.* [2009]). C'est cette dernière thèse que nous retiendrons ici. Des études montrent que la différenciation des cellules effectrices en cellules mémoires peut se faire très tôt, sans attendre la résolution de l'infection. Cela rejoint

la notion de cellules effectrices précurseurs de mémoires que l'on trouve dans différents travaux (Sprent *et al.* [2001], Kaech *et al.* [2002], Appay *et al.* [2004], Jenkins *et al.* [2008], Kalia *et al.* [2010]). La différenciation en cellules mémoires serait progressive, correspondant à l'apparition de marqueurs caractéristiques à chaque sous-population, de « mémoire effectrice » à « mémoire centrale » (voir Figure 1.4). Nous n'irons cependant pas jusqu'à ce détail sur les cellules mémoires effectrices ou centrales, dans notre travail, mais considérerons simplement que les cellules effectrices se différencient en cellules mémoires.

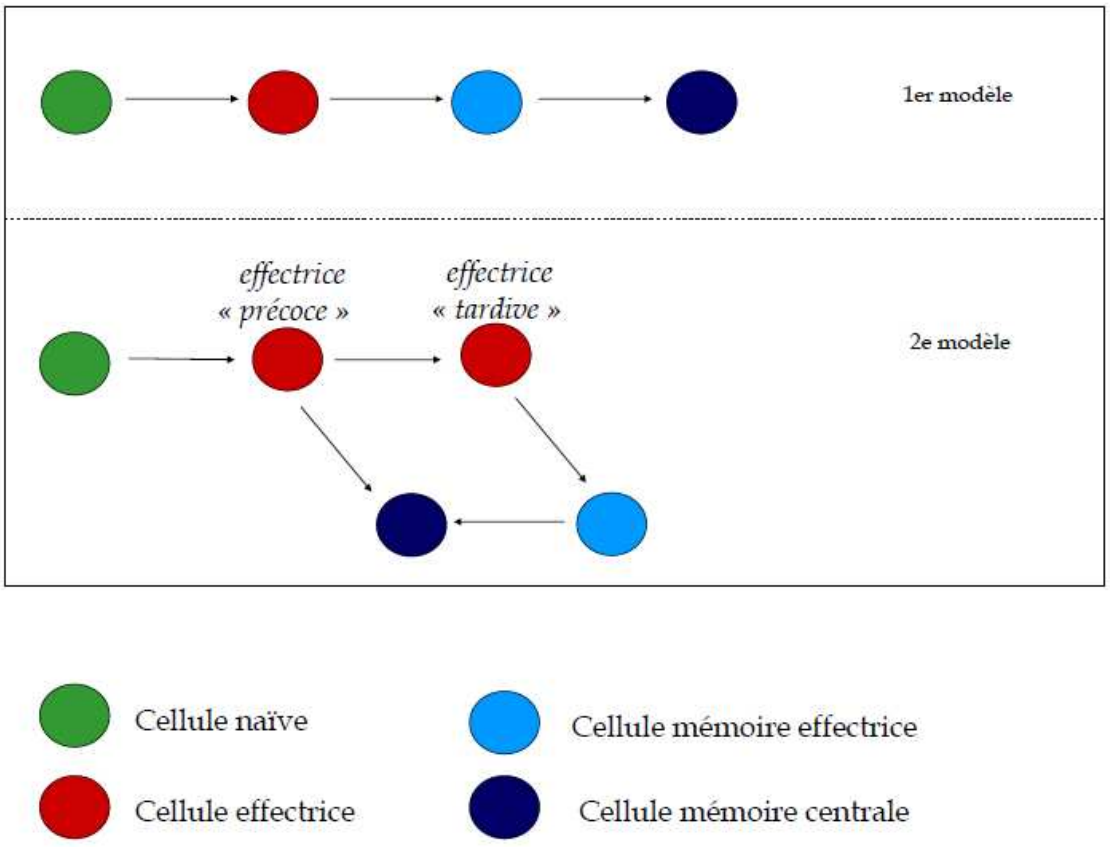


FIGURE 1.4 – Représentation schématique de deux modèles différents de différenciation linéaire en cellules mémoires. Ces modèles ont en commun l'hypothèse d'une différenciation progressive en cellules mémoires, de « mémoire effectrice » à « mémoire centrale ». D'après Kaech *et al.* [2002], Appay *et al.* [2004].

Nous nous intéressons à présent à la description des processus de la réponse immunitaire intervenant à l'échelle moléculaire.

1.3 Réponse immunitaire T CD8 à l'échelle moléculaire

Dans cette section, nous décrivons les mécanismes de la réponse T CD8, cette fois à l'échelle moléculaire, au sein d'un lymphocyte T CD8. Nous nous intéressons d'abord à l'activation des lymphocytes suite à la rencontre avec un pathogène. Nous discuterons ensuite plus spécifiquement des mécanismes moléculaires de différenciation en lymphocytes mémoires.

1.3.1 Activation des lymphocytes T CD8

Une fois le pathogène introduit dans l'organisme, il est repéré par les cellules présentatrices d'antigènes, un antigène étant une fraction d'une macro-molécule marqueur du pathogène. Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA, ou APC en anglais) peuvent être des cellules dendritiques, des macrophages ou des lymphocytes B (Campbell *et al.* [1995]). Ces APC circulent en permanence dans l'organisme, comme des sentinelles, et phagocytent le pathogène rencontré, avant de migrer dans les organes lymphoïdes secondaires (ganglions, rate et tissus lymphoïdes) pour se lier aux lymphocytes T CD8 (Abbas *et al.* [2008]). Cette liaison permet, comme le nom des APC l'indique, de présenter aux lymphocytes un antigène.

Si un lymphocyte présente un type de récepteurs spécifiques en particulier à l'antigène rencontré, il sera activé. Ceci signifie qu'une série de stimulations au niveau moléculaire se met en place. Cet ensemble de mécanismes, qui seront détaillés dans le chapitre 4, permet de faire entrer le lymphocyte en cycle cellulaire, et d'initier ainsi sa phase de prolifération et de différenciation.

Les récepteurs antigéniques des lymphocytes sont formés pendant leur différenciation, constituant un répertoire permettant de reconnaître différents antigènes (Zinkernagel [2005], Mehr [2005], Chan *et al.* [2005]). Une fraction seulement de ce répertoire est conservée. En effet, certains lymphocytes ont un répertoire trop restreint, et sont éliminés pendant la maturation des cellules, afin de ne pas garder de lymphocytes inefficaces dans la reconnaissance antigénique. D'autres ont un répertoire trop vaste, car ils peuvent reconnaître des antigènes du soi : ces lymphocytes sont supprimés afin d'éviter d'éventuelles réactions auto-immunes.

Après la maturation des lymphocytes, il semble qu'il existe encore des mécanismes rendant possible une régulation de la population lymphocytaire, pour en ajuster la réponse : on parle alors d'anergie (Chan *et al.* [2005]).

On peut distinguer deux types d'anergie :

- une qui serait *a priori* à relier aux réponses de type abortif, qui intervient lorsque des molécules étrangères inoffensives sont capturées par les APC et présentées aux lymphocytes T. Ces molécules ne nécessitant pas de réponse, les lymphocytes deviennent non fonctionnels provisoirement : leur activation suite à la rencontre d'une quelconque APC n'est plus possible pendant un certain temps.
- une autre qui semble cependant plus lourde de conséquences, et serait liée à la régulation anti-auto-immunité. Ce type d'anergie se produit pour des lymphocytes ayant rencontré un antigène donné de façon répétée : ils sont rendus eux aussi non fonctionnels, parce que trop réactifs, donc en particulier réactifs aux peptides du soi, qui sont justement rencontrés fréquemment. Ce type d'anergie a sans doute des conséquences dans les pathologies chroniques, où des lymphocytes ayant rencontrés trop souvent l'antigène impliqué dans l'infection, sont rendus non fonctionnels. Pourtant, dans ce cas, une réponse lymphocytaire serait nécessaire.

Lors de la présentation de l'antigène, une liaison s'établit entre l'APC et le lymphocyte (voir Figure 1.5). Cette liaison s'effectue au moyen de complexes moléculaires présents à la surface des deux cellules : le CMH (ou MHC en anglais, Complexe Majeur d'Histocompatibilité) sur l'APC, et le TCR (T Cell Receptor) sur le lymphocyte.

Le CMH est souvent noté pCMH lorsqu'il présente le peptide d'antigène. Il semble que la présence du CMH permette en outre un contrôle du bon fonctionnement des APCs : si un pathogène les infecte et parvient à inhiber l'expression du CMH, les APCs incapables de présenter ce complexe seront éliminées par des cellules du système immunitaire inné.

La liaison pCMH/TCR conduit à l'activation du TCR. On parle aussi d'engagement du TCR. Au sein du lymphocyte, une cascade de signalisations conduisant à l'activation de ce dernier est initiée par l'engagement du TCR (Campbell *et al.* [1995], Coombs *et al.* [2005], Zheng *et al.* [2005], Abbas *et al.* [2008]).

La protéine CD8, qui caractérise le nom des lymphocytes qui nous intéressent, se lie quant à elle à un peptide propre au CMH, dit peptide du soi (Campbell *et al.* [1995], Wong *et al.* [2003], Abbas *et al.* [2008], Lorenz [2009]), en assurant ainsi un rôle de co-stimulation. Cet ensemble de liaisons forme ce qu'on appelle la synapse immunologique (Coombs *et al.* [2005]). Il semble que des molécules complémentaires, comme la protéine CD28, qui se lie aux protéines CD80-86 de l'APC, assurent une co-stimulation permettant de stabiliser la synapse, en renforçant et en amplifiant le signal reçu par le lymphocyte lors de sa liaison avec l'APC (Gett *et al.* [2000],

Altan-Bonnet *et al.* [2005], Roethoeft *et al.* [2006], Abbas *et al.* [2008], Lorenz [2009]).

Remarquons que les adjuvants utilisés dans les vaccins stimuleraient l'expression des molécules de co-stimulation situées sur les APCs (Kindt *et al.* [2007]). Ces adjuvants sont des substances qui, injectées avec un antigène, augmentent sa capacité à déclencher une réponse immunitaire.

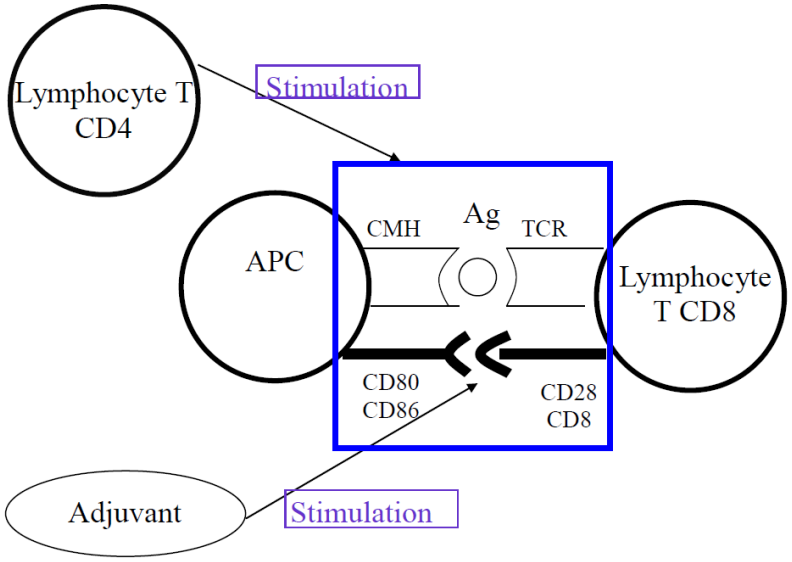


FIGURE 1.5 – Représentation schématique d'une liaison APC/lymphocyte T CD8, assurée par les complexes moléculaires CMH/TCR.

La question de la réelle nécessité de ces mécanismes de co-stimulation, pour engager la cascade de signalisation qui conduira à l'activation du lymphocyte, reste cependant controversée. L'hypothèse prônant la nécessité de co-stimulations s'appuie sur l'argument suivant : seules les molécules pathogènes font réagir non seulement le complexe du TCR, mais aussi les molécules de co-stimulation, et permettent de conduire à une réponse du lymphocyte. Au contraire, des molécules inoffensives (donc ne nécessitant pas de réponse) font réagir le complexe du TCR, mais pas les molécules de co-stimulation : à cause de cette absence, il y a anergie, ce qui évite une réponse inutile (Gett *et al.* [2000], El Hentati [2009], Bjorgo *et al.* [2010]).

L'efficacité de la liaison APC/TCR, c'est-à-dire sa capacité à assurer une activation du lymphocyte, semble dépendre de plusieurs facteurs. Elle peut ainsi varier selon l'affinité entre le pCMH et le TCR mis en jeu (Bidot *et al.* [2008], Jenkins *et al.* [2009]), l'affinité et l'engagement des molécules de co-stimulation de l'APC et du lymphocyte entre elles (Gett *et al.* [2000]), le nombre de TCRs présents sur le lymphocyte — conditionnant ainsi le nombre possible de liaisons avec un pCMH — puis le nombre de TCRs engagés, c'est-à-dire formant une liaison avec le CMH

(Chan *et al.* [2005], Bidot *et al.* [2008], Jenkins *et al.* [2009]), et enfin le temps que dure chaque liaison (Altan-Bonnet *et al.* [2005], Chan *et al.* [2005], Coombs *et al.* [2005], Zheng *et al.* [2005], Bidot *et al.* [2008], El Hentati [2009]).

L'intensité de la réponse à l'échelle cellulaire en sera d'autant modifiée, même s'il semble difficile de conclure à une relation linéaire, de proportionnalité directe entre activation du TCR et réponse du lymphocyte (Chan *et al.* [2005], Zinkernagel [2005], Bidot *et al.* [2008]).

Il faut d'ailleurs noter à ce sujet que des travaux (Kaech *et al.* [2001], Stipdonk *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003]) exposent l'idée que la réponse à l'échelle cellulaire n'est pas strictement dépendante de la quantité de pathogène, c'est-à-dire qu'elle ne s'arrête pas dès qu'il n'y a plus de pathogène. Il a en effet été observé que même suite à une brève rencontre avec le pathogène, les lymphocytes T CD8 entament une réponse qu'on appelle « réponse programmée ». Cette réponse est complète, avec la prolifération et la différenciation en cellules effectrices et la génération de cellules mémoires. Cette capacité de « réponse programmée » semble pertinente pour générer efficacement une population de cellules mémoires, notamment dans une stratégie vaccinale où une seule injection d'antigènes est souvent préconisée.

La « réponse programmée » serait également plus robuste qu'une réponse complètement dépendante du pathogène. En effet, si une réponse très dépendante du pathogène paraît plus efficace car plus adaptable, elle ne permet pas d'anticiper selon le pathogène rencontré, qui peut être très variable et donc imprévisible. Assurer une réponse programmée quel que soit l'environnement pathogénique rencontré permet d'assurer une production de lymphocytes effecteurs plus que nécessaire pour éliminer l'infection. C'est ce qui peut conduire à une prolifération des lymphocytes même après élimination du pathogène (Antia *et al.* [2003]).

Après l'activation du lymphocyte et le lancement de la phase de prolifération, la réponse est caractérisée aussi par la différenciation en lymphocytes effecteurs. Cette différenciation se produit par l'acquisition de capacités cytotoxiques par la cellule. Les fonctions cytotoxiques des lymphocytes T CD8 sont exprimées par différentes voies (Barry *et al.* [2002]). La plus utilisée est la voie perforine/granzyme. Une protéine, la perforine, est libérée par le lymphocyte et permet de percer la membrane des cellules infectées. Les protéases appelées granzymes peuvent alors pénétrer dans la cellule et induire son apoptose. Une autre voie apoptotique utilisée contre les cellules infectées est la voie Fas/Fas-ligand. Enfin, des cytokines telles que TNF ou IFNγ, également libérées par les lymphocytes, peuvent aussi induire la mort des cellules infectées.

1.3.2 Différenciation en lymphocytes mémoires

Nous avons vu que la réponse immunitaire T CD8 permet la génération d'une population de cellules mémoires, capables de répondre plus efficacement à une future infection par le même pathogène. Nous recensons ici quelques hypothèses concernant la façon dont la différenciation en cellules mémoires est réalisée. Cette discussion montre la difficulté de comprendre les mécanismes inhérents à la différenciation en cellules mémoires.

Influence de la sensibilité des lymphocytes aux cytokines, de la quantité et de la durée de production de cytokines, sur la différenciation en lymphocytes mémoires

Des travaux ont permis de mettre en évidence le rôle dans la différenciation en cellules mémoires d'une cytokine, l'IL-2 (interleukine 2), synthétisée par les lymphocytes eux-mêmes (Kalia *et al.* [2010]). Les lymphocytes possèdent des récepteurs, notés CD25, pour cette cytokine. On qualifie ainsi de $CD25^{hi}$ les lymphocytes T présentant une forte expression de CD25, et de $CD25^{lo}$ les lymphocytes T présentant une faible expression de CD25. Cette différence dans l'expression du récepteur à l'IL-2 selon les cellules vient de la nature stochastique de la rencontre entre le lymphocyte et l'antigène, et donc finalement de la combinaison des signaux reçus par la cellule, depuis le TCR jusqu'aux mécanismes faisant intervenir l'IL-2 (que nous détaillerons davantage dans le chapitre 4). L'IL2 est ainsi relarguée dans le milieu extra-cellulaire, puis se fixe aux récepteurs CD25 présents à la membrane des lymphocytes de l'environnement. C'est un fonctionnement que l'on peut définir comme paracrine (Feinerman *et al.* [2010]) : le signal d'IL2 produit par une cellule est intégré par elle-même mais aussi échangé avec les cellules voisines.

Premièrement, les lymphocytes $CD25^{hi}$ sont plus sensibles que les $CD25^{lo}$ au signal IL-2 qu'ils reçoivent. Cela promeut plutôt une différenciation en effectrices avant de mourir assez rapidement. Au contraire, les lymphocytes $CD25^{lo}$ sont moins sensibles au signal IL-2 qu'ils reçoivent et cela promeut plutôt une différenciation en cellules mémoires (Kalia *et al.* [2010]). Cependant, les auteurs remarquent que malgré des différences de marqueurs, les lymphocytes $CD25^{hi}$ et $CD25^{lo}$ expriment les mêmes activités cytotoxiques (perforine-granzyme), ce qui va dans le sens du modèle de différenciation linéaire des cellules mémoires à partir des cellules effectrices (voir Section 1.2.2), et non d'une différenciation en parallèle, auquel cas les cellules disposant de marqueurs favorisant leur différenciation en mémoires n'exprimeraient pas d'activité cytotoxique.

Deuxièmement, les lymphocytes T $CD25^{hi}$ produisent moins d'IL-2 que les lym-

phocytes T CD25^{lo} (Kalia *et al.* [2010]). Cela permet apparemment une différenciation en cellules effectrices plus avancée chez les lymphocytes CD25^{hi} (même si, nous l'avons vu, tout lymphocyte va présenter les caractéristiques cytotoxiques).

Un dernier élément (à part la sensibilité à l'IL-2 et la quantité de production) influe sur la différenciation des lymphocytes, c'est la durée de production d'IL-2. Les CD25^{hi} soutiennent une production d'IL-2 plus longue, alors que les CD25^{lo} inhibent l'expression de l'IL-2 plus tôt. Cela semble aussi jouer sur leur tendance à se différencier plutôt en cellules effectrices ou plutôt en cellules mémoires.

Au niveau de l'expression génique, les lymphocytes CD25^{hi} surexpriment les gènes effecteurs, ceux pour les protéines de stress et pour le cycle cellulaire. Les lymphocytes CD25^{lo} surexpriment les gènes effecteurs eux aussi, mais également ceux de répression de la différenciation terminale (720 gènes environ sont exprimés différemment dans les 2 sous-populations).

Pour Prlic *et al.* [2008], toute cellule effectrice présente au pic de la réponse peut potentiellement devenir une cellule mémoire. Il n'y a pas de sélection pendant la phase de contraction, mais le devenir d'une cellule effectrice serait défini avant le début de cette phase, par la notion de deux sous-populations mémoires différentes dont parlaient aussi Kalia *et al.* [2010]. Ici, on parle de cellules effectrices « mémoires précurseurs », ou « KLRG-1^{lo} » (les CD25^{lo} de Kalia *et al.* [2010]), et de cellules effectrices « terminally differenciated » (les CD25^{hi}).

On retrouve pour ces deux sous-populations les caractéristiques énoncées par Kalia *et al.* [2010] : les « mémoires précurseurs » survivent préférentiellement à la phase de contraction, tandis que les « terminally differenciated » sont plus prédisposées à l'apoptose. D'Cruz *et al.* [2009] résument ainsi que les cellules T « KLRG-1^{hi} » sont des effectrices, produites rapidement pendant l'infection et pouvant occuper de façon transitoire le compartiment mémoire. Au contraire, les cellules T « KLRG-1^{lo} » sont des mémoires, générées plus tard et survivant à plus long terme.

Cette discussion sur l'existence de sous-populations de cellules mémoires rejoint la notion de modèles de différenciation que nous avons évoquée à la section 1.2.2 (Sprent *et al.* [2001], Kaech *et al.* [2002], Appay *et al.* [2004], Jenkins *et al.* [2008], Kalia *et al.* [2010], et voir Figure 1.4).

Influence de la phase de la réponse immunitaire, pendant laquelle les cytokines sont produites, sur la différenciation en lymphocytes mémoires

Les cytokines jouent un rôle sur la différenciation selon la phase de réponse où elles interviennent. Augmenter le signal IL-2 pendant l'expansion conduit à une contraction plus forte, alors qu'augmenter le signal IL-2 pendant la contraction

conduit à une survie plus longue des cellules T (Kalia *et al.* [2010]). La production d'IL-2 est importante chez les cellules naïves et mémoires, mais disparaît progressivement avec la différenciation en cellules effectrices (Kalia *et al.* [2010]). Le milieu de cytokines dans lequel se trouvent les cellules effectrices au moment de la contraction joue beaucoup pour déterminer si elles se différencient en cellules mémoires ou partent en apoptose. Dans les premiers jours de la réponse, ce sont les mécanismes de prolifération/survie qui sont les plus cytokine-dépendants. Ensuite, c'est plutôt la différenciation en cellules mémoires qui est cytokine-dépendante. L'IL-2 et l'IL-15 sont associées à la promotion de la survie des cellules effectrices et mémoires à courte vie, tandis que l'IL-7 est associée à la promotion de la survie des cellules mémoires à long terme (D'Cruz *et al.* [2009]).

L'IL-15 est promoteur de survie des cellules pendant la contraction, d'où le maintien d'une population mémoire. Il semble que l'IL-15 protège de l'apoptose (rôle peut-être partagé dans la contraction par IL-2), en induisant une régulation positive de bcl2, protéine promouvant la survie (nous en reparlerons plus en détail à la section 4). L'importance de l'IL-15 pour la survie des futures cellules mémoires pendant la contraction serait expliquée par le fait que les lymphocytes capables de produire de l'IL-2 disparaissent rapidement durant la phase de contraction, alors que l'IL-15 pourrait être produite pendant cette phase par d'autres cellules que les lymphocytes (Yajima *et al.* [2006]). En effet, il semblerait que l'IL-2 ne soit produite que par les cellules activées, alors que l'IL-15 l'est plus largement (y compris spatialement) : les cellules se trouvent donc plus facilement en contact avec l'IL-15 (Manjunath *et al.* [2001]). Ces derniers auteurs ont en effet observé que des cellules cultivées en présence d'IL-2 et d'IL-15 conduisent à une prolifération durant 3 jours puis un plateau pour les cellules avec IL-2, et une prolifération continue pour les cellules avec IL-15. La mesure des fonctions effectrices des cellules est faite par la mesure de production d'IFN-γ (interferon-γ) et des propriétés cytotoxiques. Les 2 lots de cellules en milieux IL-2/IL-15 produisent de l'IFN-γ de la même façon, mais seules les cellules en milieu IL-2 ont des propriétés cytotoxiques.

Une dose-seuil d'IL-2 semble nécessaire pour avoir différenciation en effectrices (Manjunath *et al.* [2001]). Si on met des cellules qui ont été exposées à l'IL-2 (et sont donc devenues effectrices) dans de l'IL-15, on constate qu'elles perdent leurs propriétés cytotoxiques mais acquièrent des propriétés mémoires (ce qui ne se passe pas si on maintient les cellules seulement dans IL-2). On vérifie aussi que les cellules qui ont été exposées à l'IL-15 réagissent plus rapidement que les autres lors d'une réponse secondaire. Le ratio IL-2/IL-15 jouerait donc un rôle pour définir une différenciation en effectrices/mémoires.

Nous pouvons finalement constater que distinguer clairement au cours d'une réponse les différentes sous-populations de lymphocytes T CD8 n'est pas chose facile. En particulier, le rôle des cytokines qui forment le milieu dans lequel se trouvent les cellules est complexe, tant un grand nombre de facteurs semble se combiner pour influer sur la différenciation des cellules (sensibilité aux cytokines, moment de la réponse où elles sont produites, en quelles quantités et avec quelle durée). La détermination des marqueurs caractéristiques permettant de distinguer strictement une population de lymphocytes T CD8 d'une autre est une tâche difficile, en particulier lorsqu'il s'agit de définir pour quelles expressions de marqueurs nous pouvons considérer qu'une cellule n'est plus effectrice mais mémoire. Dans la discussion que nous venons de mener, regroupant les différents travaux effectués sur ce problème de marqueurs, les combinaisons sont subtiles et ne tranchent pas nettement entre les populations.

Les modèles mathématiques permettent de suivre explicitement les cinétiques des différentes sous-populations, et pourraient fournir quelques outils d'aide à leur détermination expérimentale, ou bien tout simplement en fournir un complément lorsqu'une expérience est trop difficile à mettre en oeuvre. Des modèles à l'échelle moléculaire peuvent venir en appui de l'étude des cinétiques de populations à l'échelle cellulaire.

A travers la description de la réponse immunitaire aux niveaux moléculaire et cellulaire faite dans les sections 1.2 et 1.3, nous avons pu voir que ces deux échelles présentaient des caractéristiques spécifiques et complémentaires dans la lutte contre une infection. Chaque échelle peut faire l'objet d'un modèle à part entière, et les modèles ne tiennent en général compte que des mécanismes spécifiques à l'une des deux échelles. Dans les sections suivantes, nous présentons ainsi des travaux de la littérature modélisant la réponse T CD8, que l'on peut classer selon qu'ils se concentrent sur une modélisation à l'échelle cellulaire ou sur une modélisation à l'échelle moléculaire. Seuls quelques modèles (Chao *et al.* [2004], Kohler [2007b]) prennent à la fois en compte des mécanismes à l'échelle cellulaire et à l'échelle moléculaire, mais ces modèles ne couplent pas explicitement deux modèles à deux échelles différentes. Pour ces travaux, le modèle développé pour décrire les dynamiques d'une population de lymphocytes dépend simplement de la liaison TCR/CMH. Ensuite, le modèle s'attache à décrire plus finement les mécanismes présents à une échelle que les mécanismes présents à l'autre. Ces modèles délaissent ainsi l'idée d'un véritable couplage, où les mécanismes de prolifération, de différenciation et d'apoptose à l'échelle cel-

lulaire dépendent de la signalisation intra-cellulaire qui fait suite à l'activation du TCR. Ces modèles seront présentés dans la section 1.4 (Chao *et al.* [2004]) ou 1.5 (Kohler [2007b]) selon qu'ils présentent un degré de détail plus grand à l'échelle cellulaire ou à l'échelle moléculaire.

1.4 Modèles cellulaires de la réponse T CD8

Au niveau cellulaire, de nombreux modèles ont été développés pour décrire la réponse immunitaire des lymphocytes T CD8. Certains modèles, présentés dans la section 1.4.1, l'englobent dans une modélisation qui prend également en compte d'autres acteurs de la réponse immunitaire, lymphocytes T CD4, B, macrophages, cellules présentatrices d'antigène. Ces modèles cherchent à décrire le plus de mécanismes possibles intervenant lors d'une infection par un pathogène. La réponse T CD8 ne représente donc qu'une petite partie de ces modèles.

D'autres modèles au contraire (voir Section 1.4.2), s'attachent à modéliser uniquement la réponse T CD8 : les mécanismes y sont ainsi plus détaillés, notamment la différenciation entre sous-populations de cellules naïves, effectrices, mémoires. Ces travaux s'intéressent en particulier à reproduire les cinétiques de la population T CD8 au cours d'une réponse, telle qu'on l'a décrite à la section 1.2.1. Notre travail est plus proche de ces modèles, puisque nous nous concentrons sur les dynamiques des lymphocytes T CD8 au cours de la réponse immunitaire.

Enfin, une série de modèles s'intéresse davantage aux mécanismes d'infection des cellules, qui sont explicitement modélisés (voir Section 1.4.3). La réponse T CD8 n'est alors pas le cœur du modèle, mais peut y intervenir sous la forme d'une simple action sur les cellules infectées et le virus, ou d'un compartiment explicite pour les cellules T. Dans ces modèles, on parle simplement de cellules T cytotoxiques, sans distinguer d'activation ou de différenciation de ces cellules.

1.4.1 Modèles incluant la réponse T CD8 dans un contexte de réponses plus large

Certains modèles ont pour objectif de décrire un maximum de mécanismes intervenant lors d'une réponse immunitaire. Ils tiennent compte de différentes populations de cellules immunitaires, et pas seulement des lymphocytes T CD8, puis des interactions de ces cellules avec le pathogène, et même des aspects spatiaux. Nous présentons dans cette section cinq modèles essentiels remplissant ces critères.

Kim *et al.* [2007] présentent un modèle d'équations différentielles ordinaires et à retard, non linéaire. Les auteurs modélisent la dynamique des populations de lymphocytes T CD8, qui peuvent être naïfs, précurseurs, activés ou réprimés (voir Figure 1.6), et T CD4, matures ou non. Par contre, les lymphocytes T CD8 mémoires ne sont pas décrits. Les antigènes sont pris en compte, ainsi que les APC, dont le niveau de maturité peut varier au même titre que celui des lymphocytes. Deux compartiments permettent de prendre aussi en compte les sites de la réponse : ganglions lymphatiques et tissu. Les APC deviennent matures lors de leur migration des ganglions lymphatiques vers le tissu, site d'infection. Dans une première phase, les lymphocytes T CD8 restent dans les ganglions lymphatiques et y prolifèrent. Dans une seconde phase, ils migrent vers le tissu pour y éliminer les cellules infectées puis subir une phase de contraction. La réponse est ainsi dirigée contre une population de cellules infectées, qui remplace au cours du temps une population initiale de cellules normales. L'activation et la prolifération des lymphocytes T CD4 et T CD8 dépend des APCs. Sans interaction avec les APCs pendant un certain temps σ, le lymphocyte retourne à l'état naïf, et peut être restimulé ultérieurement. Ce temps σ est écrit sous la forme d'un retard dans l'équation décrivant l'évolution des lymphocytes précurseurs. Si des lymphocytes rencontrent des APCs immatures, ils deviennent inactifs. Le mécanisme d'anergie est ainsi pris en compte. L'augmentation ou la suppression de l'activité des lymphocytes est gérée par des cytokines. Elles envoient des signaux positifs : les T CD8 prolifèrent, se divisent, et des signaux négatifs : les T CD4 inhibent la réponse T CD8. Un retard τ est introduit dans le modèle pour représenter le temps moyen nécessaire pour faire un cycle complet de division cellulaire, pour les lymphocytes T CD4 et T CD8. Le modèle tient compte de la probabilité qu'une cellule cible soit éliminée par les lymphocytes T CD8 effecteurs. Il suit ainsi l'évolution des deux populations de cellules infectées et normales au cours du temps.

Kim *et al.* [2007] s'intéressent aussi à la tolérance du soi dans ces mécanismes de réponse immunitaire. Ils testent ainsi dans leur modèle deux types d'antigènes, un antigène étranger, du non-soi, pouvant correspondre à un virus, et un antigène du soi, provenant de cellules saines de l'organisme. La régulation des lymphocytes T CD8 permettant d'ignorer les cellules du soi se fait selon une certaine probabilité. Cette probabilité est modifiée afin d'ajuster les paramètres du modèle, de façon à obtenir une réponse correctement régulée, c'est-à-dire éliminant les antigènes du non-soi mais ignorant les antigènes du soi.

Les auteurs procèdent ensuite à une analyse numérique du modèle. Les valeurs de paramètres du modèle sont estimées, ou déterminées à partir de données de la

littérature chez l'homme et la souris.

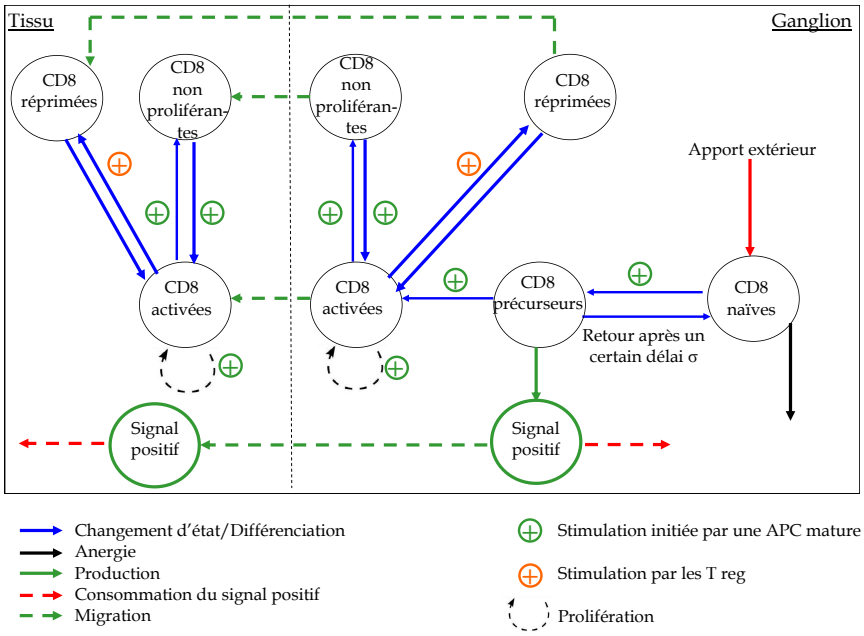


FIGURE 1.6 – Représentation schématique de la partie du modèle de Kim *et al.* [2007] décrivant les mécanismes de différenciation et de prolifération des lymphocytes T CD8.

Kim *et al.* [2007] proposent ainsi un modèle complet, son objectif étant de décrire un maximum de mécanismes mis en jeu suite à une infection. En particulier, la partie du modèle (voir Figure 1.6) présentant les processus de différenciation et de prolifération des lymphocytes T CD8 prend en compte un grand nombre d'interactions détaillées, médiées par les APCs et les lymphocytes régulateurs. L'introduction d'équations différentielles à retard permet également une modélisation plus fine des processus demandant un laps de temps et ne sont donc pas instantanés dans la réalité (retour à un stade de cellule naïve en l'absence de stimulation, temps de cycle cellulaire lors de la division d'une cellule). La complexité de ce modèle est cependant obtenue au prix d'un nombre important d'équations et de paramètres (environ 60 équations et plus de 100 paramètres), qui rend difficile toute analyse du modèle, mathématique et numérique, notamment une estimation systématique des paramètres. En particulier, il n'y a pas de confrontation à des données expérimentales.

Lee *et al.* [2009] s'intéressent à la réponse à une infection par le virus de la grippe A. Deux compartiments sont modélisés, le poumon et un compartiment lymphoïde qui représente indifféremment ganglions lymphatiques et rate. Dans ce modèle sont

pris en compte les nombres de cellules dendritiques, de cellules saines et infectées, de lymphocytes T CD4, T CD8, et B (voir Figure 1.7). Les lymphocytes T CD8 assurent l'élimination des cellules infectées, tandis que les CD4 stimulent l'activation des cellules dendritiques et des lymphocytes B. Les lymphocytes B éliminent les particules de virus libre, produites par les cellules infectées. Le modèle proposé est basé sur un système d'équations différentielles ordinaires et à retard, non linéaire. Les retards décrivent les temps nécessaires à la migration, pour les lymphocytes T des ganglions au poumon, et pour les cellules dendritiques porteuses d'antigène, du poumon aux ganglions. Enfin, le modèle est également testé avec l'ajout d'un traitement antiviral.

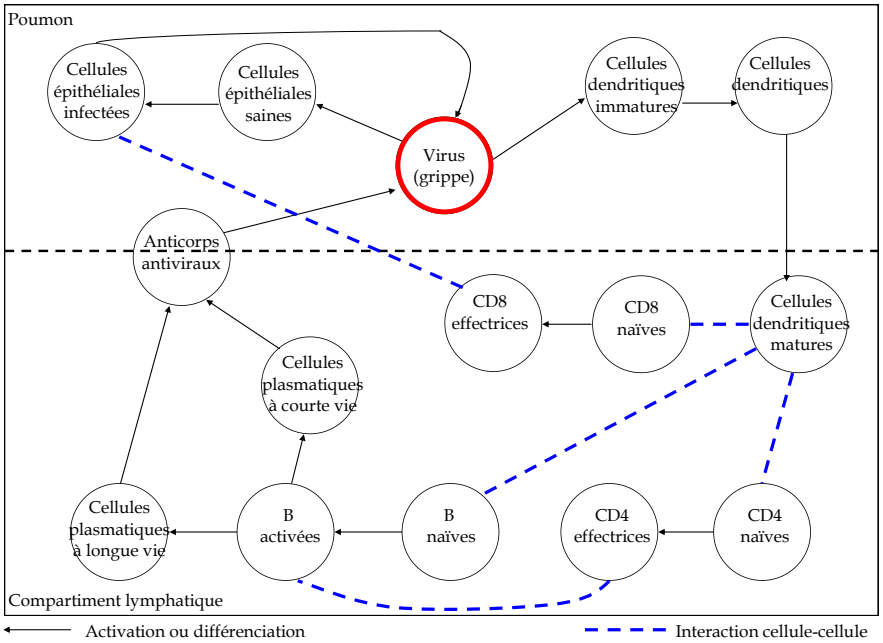


FIGURE 1.7 – Représentation schématique du modèle de Lee *et al.* [2009]. Les flèches réfèrent à une différenciation ou une activation, et les pointillés bleus à une interaction cellule-cellule.

Une analyse mathématique rapide est faite pour donner l'évolution du nombre de cellules infectées de charge virale en fonction des conditions initiales, mais l'analyse du modèle est surtout réalisée à l'aide de simulations. Lee *et al.* [2009] choisissent les valeurs de paramètres de leur modèle de façon à obtenir le nombre de lymphocytes T CD4 et T CD8 au pic de la réponse trouvé dans la littérature. Ils testent ensuite des valeurs moitié plus grandes ou moitié plus petites pour observer à quels paramètres le modèle est plus sensible.

Le modèle de Lee *et al.* [2009] présente l'avantage de tenir compte d'un grand

nombre de mécanismes mis en jeu dans la réponse immunitaire, et en particulier dans la réponse T CD8, mais d'une façon plus réduite que dans le modèle de Kim *et al.* [2007]. Le nombre d'équations, de 60 pour le modèle de Kim *et al.* [2007], est réduit ici à 15. Ce nombre est déjà important, mais il permet cependant d'utiliser le modèle avec plus de facilité. En particulier, les auteurs peuvent ébaucher une analyse de sensibilité des paramètres. Ceux-ci sont au nombre de 48, l'estimation de leurs valeurs reste donc complexe, et le modèle n'est pas confronté à des données expérimentales.

Su *et al.* [2009] proposent un modèle non linéaire à base d'équations de réaction-diffusion, permettant de se concentrer sur l'aspect spatial de la réponse. Sont décrites les dynamiques des antigènes, cellules dendritiques immatures et matures, lymphocytes T effecteurs et régulateurs, macrophages au repos ou activés, neutrophiles et neutrophiles en apoptose (voir Figure 1.8). Pour chaque population de cellules immunitaires et pour l'antigène, un terme de diffusion est pris en compte. Les migrations de cellules du tissu sain au tissu infecté, à travers les vaisseaux sanguins, sont régulées par la présence d'un type de cytokine, les chémokines. Les APCs migrent ainsi en direction du gradient de chémokines, produites sur le lieu de l'infection. Une autre chémokine, produite par les macrophages, implique que le nombre de neutrophiles au bord du domaine soit nul lorsque la chémokine atteint un certain seuil. Cela assure, par le biais des macrophages, une régulation de la quantité de neutrophiles éliminant l'antigène, et évite qu'ils n'endommagent les tissus sains par excès de réponse. Ici, les lymphocytes T n'éliminent pas directement l'antigène. Leur réponse se fait par l'intermédiaire des cytokines, qui stimulent l'activation des macrophages. Les antigènes sont ensuite éliminés par les macrophages, neutrophiles et cellules dendritiques. Le modèle, décrit ainsi spatialement, permet en particulier de réaliser des simulations en 2D, montrant l'évolution de la densité des populations de cellules considérées. Une importante analyse numérique est ainsi réalisée.

Le modèle contient environ 13 équations, 60 paramètres, dont 21 déterminés à partir de la littérature. Pour les autres paramètres, estimés, les auteurs choisissent des valeurs raisonnables de leur point de vue, et déterminées à partir de modèles d'immunologie disponibles dans la littérature.

Su *et al.* [2009] proposent ici un modèle original du point de vue mathématique, avec des équations de réaction-diffusion permettant de mettre en avant la modélisation spatiale de la réponse, de façon détaillée : ce n'est pas un point de vue couramment utilisé dans la modélisation de la réponse immunitaire. Ce choix de

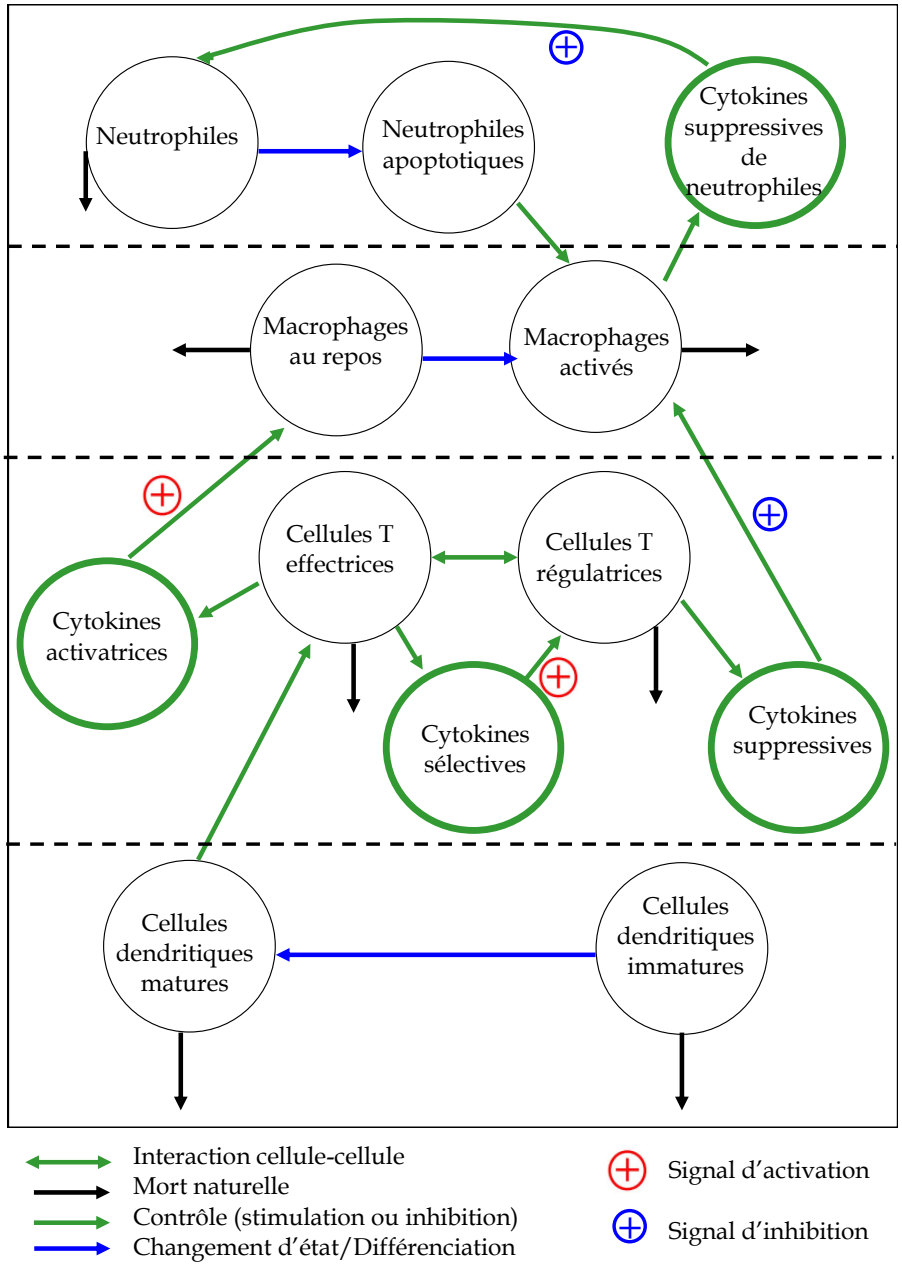


FIGURE 1.8 – Représentation schématique du modèle de Su *et al.* [2009].

modélisation permet également de prendre explicitement en compte l'influence sur la réponse des diverses cytokines impliquées. Une fois de plus, modéliser le plus de mécanismes possibles conduit à un modèle au nombre d'équations et de paramètres assez grand, et donc à une analyse restreinte surtout à des simulations, et sans estimation systématique des paramètres. Comparer le modèle avec des données expérimentales est aussi compliqué, notamment à cause de la variété des données qui seraient nécessaires (concentrations en cytokines, nombre de lymphocytes, de

macrophages...) et parce qu'il faudrait suivre ces cellules et cytokines spatialement.

Bocharov *et al.* [1994] s'intéressent à une infection de grippe, dans un modèle non linéaire d'équations différentielles à retard. Les retards permettent de tenir compte de la division et de la différenciation des lymphocytes. Les auteurs décrivent la dynamique des cellules infectées, des cellules protégées par l'interferon, des lymphocytes régulateurs, des lymphocytes cytotoxiques, des lymphocytes B, et des anticorps. Les sous-populations de lymphocytes T CD8 ne sont pas modélisées. La prolifération des lymphocytes dépend du taux de réplication du virus. Les auteurs étudient particulièrement le rôle de l'interferon. Une étude mathématique rapide est faite, et le modèle est surtout étudié numériquement.

Comme dans le modèle de Kim *et al.* [2007], le modèle de Bocharov *et al.* [1994] a pour objectif d'être le plus complet possible pour décrire les dynamiques de la réponse immunitaire. Ce modèle utilise également des équations différentielles à retard pour tenir compte des délais de division et de différenciation cellulaires. Ce modèle ajoute aussi la description du rôle protecteur de l'interferon sur les lymphocytes. Le problème majeur, expliqué comme tel par les auteurs eux-mêmes, provient du manque de données homogènes, faciles à relier aux variables et paramètres du modèle. Les 60 paramètres pourraient ainsi être classés en deux groupes : les paramètres estimables à partir de données comme des demi-vies, et les paramètres caractérisant des taux d'interaction entre cellules qu'il n'est pas possible d'estimer directement à partir de données. Le nombre important de paramètres reste, là encore, une difficulté pour une estimation systématique de leurs valeurs et une comparaison à des données expérimentales.

Hancioglu *et al.* [2007] s'inspirent du modèle de Bocharov *et al.* [1994]. Ils décrivent, dans un système d'équations différentielles ordinaires, les dynamiques des populations de cellules saines, infectées, mortes ou résistantes à l'infection, les cellules effectrices, les cellules plasmatiques, les anticorps, les lymphocytes T CD4, les APCs, ainsi que l'interferon (voir Figure 1.9). Leur modèle, non linéaire, compte 27 paramètres, et est étudié numériquement, y compris pour l'analyse des états d'équilibre. Les auteurs s'intéressent, dans une analyse de sensibilité, à l'influence respective des paramètres sur le démarrage, la durée et la sévérité de l'infection. Les mêmes questions sur la durée et la sévérité de l'infection sont traitées selon la charge virale initiale dans le modèle.

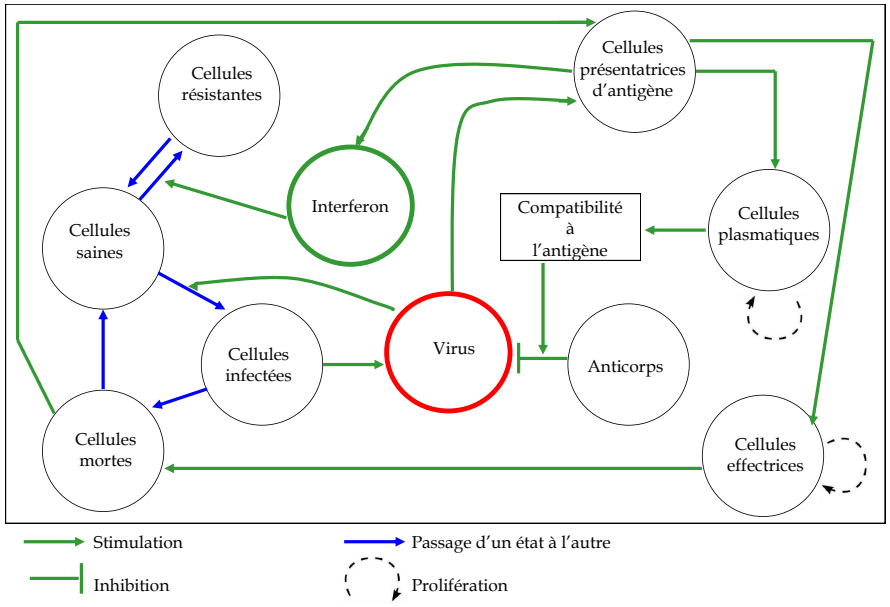


FIGURE 1.9 – Représentation schématique du modèle de Hancioglu *et al.* [2007].

Un peu plus simple que le modèle de Bocharov *et al.* [1994], celui de Hancioglu *et al.* [2007] permet, avec un nombre un peu plus restreint de paramètres, une analyse de sensibilité permettant de suivre les dynamiques de l'infection selon les valeurs de paramètres fixées et la charge virale initiale. Cependant, ce travail n'apporte pas vraiment d'estimation des paramètres supplémentaire par rapport à Bocharov *et al.* [1994] , puisque la plupart des valeurs de paramètres en sont reprises, ou extraites de la littérature.

Les modèles précédents forment des systèmes très complexes, de par leur volonté de prendre en compte le plus d'acteurs et de mécanismes connus de la réponse immunitaire. Ils réussissent ainsi à décrire beaucoup d'interactions entre les différents types de cellules immunitaires, en ajoutant même éventuellement des signaux du milieu tels que les cytokines. Ils prennent également parfois en compte l'aspect spatial de la réponse, avec la migration des cellules d'un compartiment à l'autre.

Cependant, cette description la plus complète possible se fait au prix de processus non modélisés dans la réponse T CD8 : les étapes de différenciation complètes naïve/effectrice/mémoire ne sont pas prises en compte. Même si Kim *et al.* [2007] modélisent les dynamiques de cellules T CD8 activées, précurseurs, naïves, Lee *et al.* [2009] celles des cellules naïves et effectrices, les contrôles régissant ces différenciations sont peu ou pas pris en compte. La différenciation en cellules mémoires n'est en particulier pas décrite. De plus, le nombre d'équations et de paramètres qui découlent

de ces modèles est très important, et rend difficile une confrontation à des données expérimentales (généralement non réalisée) et une estimation des paramètres (partiellement réalisée).

Dans la section suivante, nous proposons une description de modèles qui, au contraire, s'attachent à décrire plus précisément les dynamiques des sous-populations de lymphocytes T CD8 intervenant dans la réponse immunitaire.

1.4.2 Modèles de la réponse T CD8

Les modèles les plus proches de notre travail sont ceux qui se concentrent uniquement sur la réponse des lymphocytes T CD8 à un pathogène. Dans ces modèles, les dynamiques des sous-populations naïve/effectrice/mémoire qui sont caractéristiques de cette réponse sont largement décrites. La plupart de ces modèles cherche à reproduire la cinétique « classique » de réponse avec phases d'expansion et de contraction cellulaires. Nous présentons dans la suite six modèles de la réponse T CD8, dont celui de Antia *et al.* [2003] à la base de notre travail.

1.4.2.1 Modèle de De Boer *et al.* [2001]

De Boer *et al.* [2001] considèrent un modèle (voir Figure 1.10) où les cellules naïves se différencient en cellules activées, qui correspondent ici à un amalgame entre cellules activées telles que décrites à la section 1.2.1 et cellules effectrices cytotoxiques. Les cellules activées se différencient ensuite en cellules mémoires, qui peuvent être réactivées. La réponse des lymphocytes T CD8 est décrite ici uniquement dépendante du virus. Les auteurs proposent deux systèmes d'équations différentielles ordinaires où cette dépendance est traitée différemment. Dans le premier système, la réponse se produit entre deux temps T_{on} et T_{off}. Le paramètre T_{on} correspond à un temps de recrutement, permettant de ne pas considérer explicitement les cellules naïves, qui sont activées au temps T_{on}. De même, après le temps T_{off}, la stimulation antigénique est considérée comme insuffisante pour maintenir la prolifération des cellules effectrices, c'est la fin de la réponse. La stimulation antigénique est ainsi modélisée par une fonction f telle que :

$$f(t) = \begin{cases} 1, & \text{si} \quad T_{on} \leq t \leq T_{off}, \\ 0, & \text{sinon.} \end{cases}$$

Dans ce modèle, les cellules activées, dont le nombre est noté A, prolifèrent avec un taux ρ, se différencient avec un taux r en cellules mémoires, dont le nombre est noté M, et meurent par apoptose avec un taux α. Les cellules mémoires peuvent

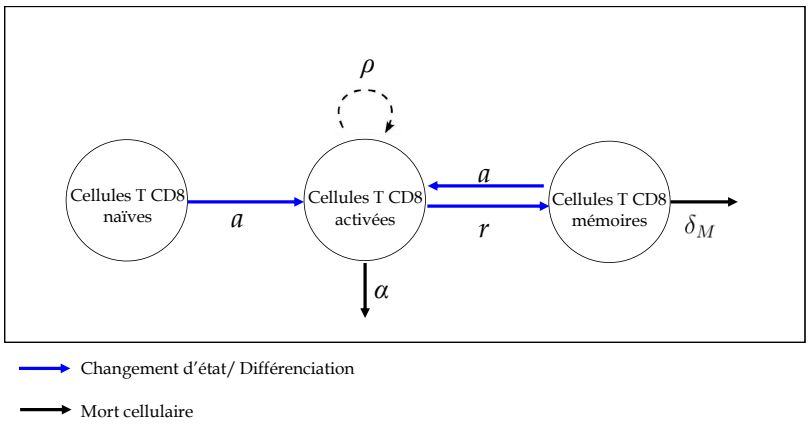


FIGURE 1.10 – Représentation schématique du modèle de De Boer *et al.* [2001].

être réactivées avec un taux a et meurent avec un taux δ_M. Le système s'écrit :

$$\begin{cases} \dfrac{dA}{dt}(t) = f(t)(aM + \rho A) - (1 - f(t))(r + \alpha)A, \\ \dfrac{dM}{dt}(t) = r(1 - f(t))A - af(t)M - \delta_M M. \end{cases}$$

Les conditions initiales sont telles qu'il n'y a pas de cellules mémoires ($M(0) = 0$), ni activées ($A(0) = 0$). Les cellules naïves, dont on peut noter le nombre N, sont activées entre $t = 0$ et $t = T_{on}$, et $A(T_{on}) = N$. Ainsi, le nombre de cellules naïves n'est pas explicitement considéré dans le système précédent.

Le modèle étant linéaire par morceaux, les solutions peuvent être obtenues explicitement en fonction des paramètres (ce sont des exponentielles, ou sommes d'exponentielles), en particulier T_{on} et T_{off}.

Dans le second modèle, la différenciation des cellules T dépend d'une fonction de saturation de la charge virale V. Cette fonction F est telle que :

$$F(V) = \frac{V}{K + V},$$

où le paramètre K détermine quelle quantité d'antigène est nécessaire pour générer une stimulation des cellules activées égale à la moitié de son maximum. L'évolution au cours du temps de la charge virale V est imposée, à partir de données de la littérature. Le système s'écrit alors :

$$\begin{cases} \dfrac{dN}{dt}(t) = -F(V)aN, \\ \dfrac{dA}{dt}(t) = F(V)(a(M+N)+\rho A) - (1-F(V))(r+\alpha)A, \\ \dfrac{dM}{dt}(t) = r(1-F(V))A - aF(V)M - \delta_M M. \end{cases}$$

La dynamique des cellules naïves est cette fois modélisée, mais seulement pour les cinétiques d'activation. Le modèle est comparé à deux séries de données expérimentales, correspondant à deux épitopes du même virus, LCMV (Lymphocytic Choriomeningitis Virus). Les épitopes sont des peptides dérivés du virus, exprimés à la surface des cellules infectées.

Ces deux modèles sont les plus anciens de ceux que nous recensons proposant une modélisation explicite des dynamiques spécifiques aux lymphocytes T CD8 durant une réponse immunitaire. Les auteurs tiennent compte des différenciations entre les trois sous-populations majeures des lymphocytes, naïfs, activés/effecteurs et mémoires. La dernière des trois, la population de cellules mémoires, est rarement prise en compte dans les modélisations plus générales de la réponse immunitaire (voir Section 1.4.1), alors que c'est sa génération qui est essentielle dans une infection future, en réagissant plus efficacement que des lymphocytes naïfs. Le modèle est comparé à des données expérimentales, ce qui conforte sa validation. Les paramètres sont par contre simplement choisis pour reproduire correctement les données, et non estimés plus systématiquement.

Notons qu'il manque dans ces modèles l'action des cellules T sur la charge virale. On pourra également remarquer que l'hypothèse principale de ces modèles, à savoir que tout au long de la réalisation de la réponse immunitaire, celle-ci est entièrement dépendante de la quantité de pathogène, est mise à mal par des travaux de Kaech *et al.* [2001], Stipdonk *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003], plus récents. Ceux-ci montrent que la réponse ne dépend pas uniquement de la quantité de pathogène, et que sa fin ne correspond pas exactement à l'élimination du pathogène. Nous avons exposé cette idée dans la section 1.3.1, avec l'expression de « réponse programmée ». L'intérêt d'une telle réponse serait de générer efficacement une population de cellules mémoires, même après une brève exposition au pathogène. Un programme serait également plus robuste face au pathogène, qui peut être très variable et donc imprévisible.

1.4.2.2 Modèle de De Boer *et al.* [2003]

Dans De Boer *et al.* [2003], les auteurs modélisent en parallèle les réponses T CD8 et T CD4, en particulier pour observer les différences de cinétiques entre les deux. Le modèle utilisé est très similaire à celui développé par De Boer *et al.* [2001]. Les auteurs utilisent un temps limite T servant à définir la période où les cellules activées (dont le nombre est noté A) prolifèrent, avant de devenir des cellules mémoires (dont le nombre est noté M) quand $t > T$. Comme dans De Boer *et al.* [2001], les cellules activées correspondent ici à un amalgame entre cellules activées telles que décrites à la section 1.2.1 et cellules effectrices cytotoxiques. Le modèle d'équations différentielles ordinaires linéaires est différent selon si $t < T$ ou $t > T$, T correspondant au pic de la réponse.

Si $t < T$, c'est la phase d'expansion, où les cellules activées prolifèrent avec un taux ρ. Dans cette phase, comme dans le modèle de De Boer *et al.* [2001], il n'y a pas de cellules mémoires :

$$\frac{dA}{dt}(t) = \rho A.$$

Si $T < t < T + \Delta$, les cellules sont dans une phase de contraction d'une durée de Δ jours où elles meurent rapidement avec un taux α, et plus lentement avec un taux « de base » δ_A. Elles se différencient en cellules mémoires avec un taux r. Les cellules mémoires meurent avec un taux δ_M :

$$\begin{cases} \dfrac{dA}{dt}(t) = -(r + \alpha + \delta_A)A, \\ \dfrac{dM}{dt}(t) = rA - \delta_M M. \end{cases}$$

Enfin, si $t > T + \Delta$, les cellules sont dans une phase de contraction lente, si bien que $\alpha = 0$ dans le système ci-dessus.

L'étude menée est ensuite essentiellement numérique, avec une comparaison à des données obtenues par l'un des auteurs (Homann *et al.* [2001]) sur les réponses T CD4 et T CD8 dans une infection LCMV chez la souris. La confrontation aux données est faite selon deux versions du modèle, avec contractions rapide et lente, ou seulement lente (cette dernière version correspondant au modèle de De Boer *et al.* [2001]). Finalement, les auteurs concluent que le modèle avec deux régimes de contraction convient davantage à la réponse T CD4, tandis que le modèle avec simple contraction lente convient mieux à la réponse T CD8. Il semble que le déclin de la population totale T CD8 dans cette phase ralentisse au court du temps, c'est-

à-dire que la demi-vie moyenne des lymphocytes augmente. Mais cela n'est plus vrai à l'échelle des sous-populations, activées d'un côté et mémoires de l'autre, où les demi-vies sont invariantes. Cela serait dû à la différenciation progressive des cellules activées, à durée de vie courte, en mémoires à durée de vie longue. Par rapport aux valeurs estimées dans De Boer *et al.* [2001] concernant la réponse T CD8, les paramètres estimés dans De Boer *et al.* [2003] donnent des valeurs similaires (taux d'apoptose δ_A, taux de différenciation en cellules mémoires r) ou correspondent à des dynamiques un peu plus lentes (jour du pic plus grand, taux de prolifération ρ plus faible). D'après les auteurs, la différence entre les deux modèles peut provenir des données expérimentales utilisées pour estimer les paramètres, car les souris utilisées dans les expériences ne sont pas les mêmes (BALB/c pour De Boer *et al.* [2001] et C57BL/6 pour De Boer *et al.* [2003]). En effet, il semble que les souris BALB/c réagissent contre l'infection LCMV plus vigoureusement, avec une division des cellules plus rapide, que les souris C57BL/6. Ainsi, les cellules des souris BALB/c cesseraient de proliférer plus tôt que les cellules des souris C57BL/6.

Nous avons vu qu'un temps limite T permet de définir la période pendant laquelle les cellules activées prolifèrent, avant de devenir des cellules mémoires quand $t > T$. L'emploi de ce système on/off est cette fois justifié par l'idée que modélisée ainsi, la réponse est indépendante de l'antigène, et va donc dans le sens d'une réponse « programmée », que le modèle de De Boer *et al.* [2001] ne prenait pas en compte. Cependant, les durées de la période de réponse et de la phase mémoire restent fixées arbitrairement. Le modèle, reprenant celui de De Boer *et al.* [2001], ajoute une distinction entre les vitesses des dynamiques de mort cellulaire dans la phase de contraction. Cet ajout permet de comparer les cinétiques de populations de lymphocytes à des données expérimentales avec plus de précision, puisqu'on peut en particulier jouer plus finement sur les dynamiques de la phase de contraction. Ces comparaisons sont faites avec des données de réponse T CD4 et T CD8, ce qui permet aussi d'obtenir des informations sur les différences de dynamiques entre les deux types de réponse. Enfin, les données expérimentales étant obtenues sur des souris différentes de celles utilisées pour générer les données de De Boer *et al.* [2001], le modèle de De Boer *et al.* [2003] apporte des informations sur les différences possibles existant entre les réponses à une même infection (LCMV) selon le type de souris.

1.4.2.3 Modèle de Kohler [2007a]

Le modèle de Kohler [2007a] s'intéresse particulièrement à la génération de lymphocytes T mémoires. Les auteurs partent de l'hypothèse de départ que les cellules

mémoires forment un état intermédiaire, et qu'elles sont vouées à se différencier en cellules effectrices s'il y a stimulation suffisante par l'antigène. Kohler [2007a] cherche à estimer un taux de différenciation de cellules mémoires en effectrices. Il discute aussi de la méthode permettant de discriminer entre différents modèles de réponse T en calculant le ratio entre le nombre de cellules mémoires à long terme, et le nombre de cellules T au pic qui suit la phase d'expansion. Dans le modèle, deux populations de cellules T sont considérées. La première, dont le nombre de cellules est noté M, est formée de cellules ayant brièvement rencontré l'antigène et s'étant différenciées en cellules mémoires. La deuxième, dont le nombre de cellules est noté E, est formée de cellules ayant davantage été en contact avec l'antigène et s'étant différenciées en cellules effectrices. Le pathogène et les cellules naïves ne sont pas représentées. Les deux populations prolifèrent avec un taux ρ et la population de cellules mémoires peut devenir effectrice avec un taux r. Les taux de mort des deux populations sont δ_M et δ_E. La possibilité d'une cause de mort supplémentaire des cellules effectrices est ajoutée avec le taux de mort par apoptose α. Cette apoptose représente plutôt une régulation de la population parfois appelée AICD : Activation-Induced-Cell-Death (voir Section 4.2 pour des détails sur les aspects moléculaires de ce mécanisme). Le modèle est ainsi décrit par le système linéaire d'équations différentielles ordinaires suivant :

$$\begin{cases} \dfrac{dM}{dt}(t) = \rho M - rM - \delta_M M, \\ \dfrac{dE}{dt}(t) = \rho E + rM - \delta_E E - \alpha E, \end{cases}$$

pour $t \leq T$, et pour $t \geq T$, $\rho = 0$ et $r = 0$, et pour $t \geq T + \Delta$, $\alpha = 0$.

Le temps maximum T est fixé pour limiter le temps pendant lequel les cellules peuvent proliférer et se différencier. L'intervalle $[0, T]$ décrit la période pendant laquelle la stimulation des cellules T par l'antigène est assez forte pour enclencher une réponse. Les conditions initiales sont telles qu'il n'y a pas de cellules effectrices ($E(0) = 0$), et il y a un certain nombre de cellules mémoires ($M(0) = M_0$). Ceci décrit l'idée de l'existence de cellules mémoires « précurseurs », pouvant se différencier de façon terminale en mémoires, ou se différencier en effectrices. Ce modèle simple permet une étude mathématique et numérique. Le modèle de De Boer *et al.* [2001, 2003] est le modèle de base de l'auteur, modifié ici pour tester l'hypothèse d'une différenciation d'effectrices en mémoires pendant la phase d'expansion. Le modèle est comparé aux mêmes données que le modèle de De Boer *et al.* [2001, 2003].

L'intérêt de ce modèle réside dans le fait que la différenciation en cellules mémoires se produit pendant la phase d'expansion, et non après la réponse, contrairement au modèle de De Boer *et al.* [2001, 2003]. Le modèle de Kohler [2007a] se concentre donc sur une population (celle des cellules mémoires) qui est rarement le cœur des modèles de réponse immunitaire que nous avons vus jusqu'à présent. Cependant, cette description dépasse quelque peu le cadre de la réponse immunitaire que nous souhaitons modéliser dans ce travail. En effet, nous nous intéressons à une réponse primaire, dans laquelle le pathogène n'a jamais été rencontré auparavant par l'organisme. Dans ce cadre, ce sont les cellules naïves qui sont amenées à se différencier en cellules effectrices, et non pas les cellules mémoires comme dans le modèle de Kohler [2007a]. Ces aspects de la réponse primaire ne sont donc pas pris en compte par les auteurs. Leur modèle pourrait davantage s'inscrire dans la modélisation d'une réponse secondaire, dans laquelle le pathogène, déjà rencontré par l'organisme, stimule particulièrement les cellules mémoires spécifiques au pathogène.

Nous pouvons finalement remarquer que dans ces trois modèles (De Boer *et al.* [2001, 2003], Kohler [2007a]), un temps limite T est introduit pour délimiter les périodes décrivant des phases différentes de la réponse immunitaire : expansion, contraction, prolifération, possibilité de se différencier de cellules effectrices en cellules mémoires ou de cellules mémoires en cellules effectrices. Alors que le pathogène n'est pas explicitement modélisé, la dynamique virale est imposée. Avec l'introduction de ce temps T, celle-ci contraint l'ensemble des autres dynamiques du modèle, qui ne sont pas contrôlées par les sous-populations de lymphocytes.

1.4.2.4 Modèle de Chao *et al.* [2004]

Chao *et al.* [2004] proposent un modèle en deux parties, constitué d'équations différentielles ordinaires linéaires. La première partie consiste en un modèle d'activation, différenciation et prolifération des cellules T. L'autre partie décrit l'infection virale, avec cellules saines, infectées et particules virales. Les deux modèles sont couplés par le fait que les cellules infectées stimulent les cellules T naïves et sont éliminées par les cellules T effectrices (voir Figure 1.11). Les cellules T effectrices se lient en complexe aux cellules infectées avant de les éliminer. Le modèle tient explicitement compte d'une représentation de la liaison TCR/CMH, selon la variété de l'antigène et du répertoire antigénique des cellules T. A chaque cellule T est assignée une chaîne de chiffres représentant le TCR. L'antigène possède sa propre chaîne de chiffres, et une concaténation de chaînes de chiffres représente le complexe peptide d'antigène-CMH. L'affinité selon l'antigène est ainsi calculée selon une règle de cor-

respondances, qui détermine la distance plus ou moins grande entre les chaînes de chiffres du TCR et du CMH. Le rôle de la liaison TCR/CMH intervient lors de la stimulation des cellules naïves. La probabilité qu'une cellule naïve soit activée par l'antigène dépend ainsi de la distance (calculée par la règle sur les chaînes de chiffres) entre TCR et complexe peptide d'antigène-CMH. Le modèle permet aussi de tenir compte de l'idée de la « réponse programmée indépendante de l'antigène » (Kaech *et al.* [2001], Stipdonk *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003]).

Les auteurs utilisent pour ce modèle une structure en stades : le cycle cellulaire est divisé en périodes de temps correspondant à la différenciation de la cellule, à sa maturité. Les cellules T naïves, effectrices, mémoires peuvent donc être prises en compte à travers cette différenciation. Les probabilités de transition entre stades sont spécifiées, et on peut ajouter de la stochasticité au modèle. Les auteurs le font lors de l'analyse numérique du modèle. Le système d'équations différentielles ordinaires gérant la partie infection virale est transformé en système d'équations aux différences. Les termes des équations sont alors décrits aléatoirement, à partir d'une distribution appropriée, à chaque pas de temps. Ainsi, les variables sont constantes sur un temps court Δt, et remises à jour à la fin de chaque pas de temps. Les taux de production des cellules saines, infectées, et des particules virales sont modélisés par un processus de Poisson, et plus généralement, les taux continus sont remplacés par des probabilités que les événements (proliférer, mourir) se produisent dans un certain laps de temps.

Les deux parties du modèle comprenant cellules T d'une part, cellules infectées d'autre part, sont simulés de façon synchrone. Cela permet aux populations d'interagir entre elles. Ainsi, à chaque pas de temps, les cellules T qui sont au stade effecteur peuvent éliminer les cellules infectées. Le choix de cette modélisation est justifié par les auteurs comme un moyen de décrire le comportement individuel des cellules avec le plus de réalisme possible, sans le coût de calcul d'un modèle agent. Par contre, le modèle ne peut pas être étudié analytiquement. La réponse secondaire, après une deuxième injection du même virus, est aussi étudiée.

Le modèle a été calibré avec des données expérimentales chez la souris, provenant de la littérature sur l'infection LCMV. Mais les paramètres peuvent être modifiés et estimés à partir d'autres données, comme des données chez l'homme.

Le modèle de Chao *et al.* [2004] propose un point de vue original en couplant modèle de réponse immunitaire (dynamiques des cellules T) et modèle de virologie (dynamiques des cellules saines/infectées/particules virales). Ils introduisent également un aspect multi-échelle avec la description de la liaison TCR/CMH, qui permet de

définir une probabilité d'activation d'une cellule naïve selon son affinité à l'antigène. Le modèle est structuré en étapes, qui divisent temporellement le cycle cellulaire de façon à tenir compte du comportement des cellules à un niveau individuel. Le modèle se situe ainsi entre un modèle de populations et un modèle agent. Même si, comme le justifient les auteurs, le choix d'une telle modélisation plutôt qu'une modélisation agent réduit le coût de calcul des simulations, sa complexité reste plus grande que celle d'un modèle de populations. Une analyse mathématique n'est pas possible, et les valeurs de paramètres, au nombre de 20, sont simplement extraites de la littérature. Leur nombre relativement élevé rend difficile une estimation plus poussée de leurs valeurs.

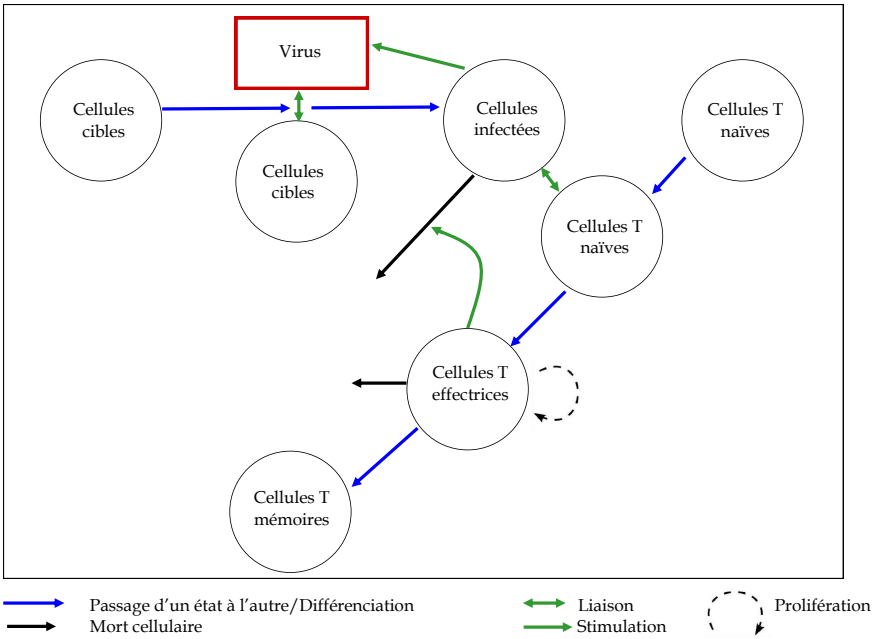


FIGURE 1.11 – Représentation schématique du modèle de Chao *et al.* [2004].

1.4.2.5 Modèle de Rouzine *et al.* [2005]

Rouzine *et al.* [2005] tentent d'inclure un maximum de contrôles, notamment du virus sur les populations de cellules immunitaires, et d'étapes dans la réponse T CD8 à une infection HIV (voir Figure 1.12). Les cellules T CD8 se différencient de naïves à effectrices, puis éventuellement en mémoires. Par contre, elles ne deviennent mémoires qu'après s'être éventuellement différenciées en « transitoires », qui peuvent en plus être rendues anergiques par stimulation du virus. La différenciation de cellules naïves en effectrices se fait par la présence du virus et de celle des APCs activées,

qui est nécessaire pour maintenir la prolifération des cellules effectrices.

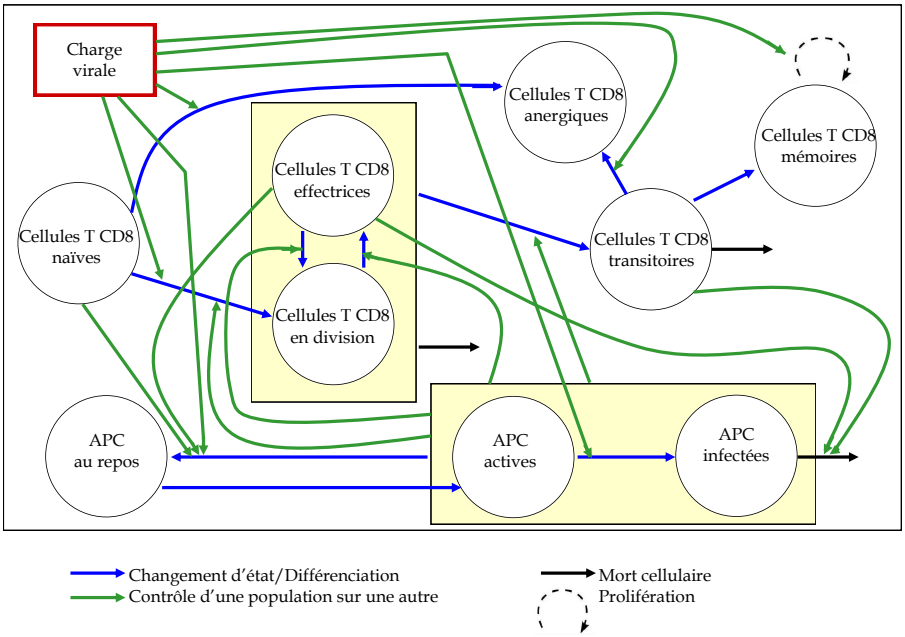


FIGURE 1.12 – Représentation schématique du modèle de Rouzine *et al.* [2005].

Le virus infecte les APCs, qui sont éliminées par les cellules effectrices. Celui-ci n'est cependant pas décrit comme une variable du modèle. Un paramètre de charge virale dépendant du temps, connu par des données expérimentales, modélise les contrôles du virus sur les populations de cellules.

Le modèle linéaire est composé de 9 équations différentielles ordinaires, et de 13 paramètres. De nombreuses modifications de ce modèle sont testées numériquement, comme la possibilité pour une cellule de devenir mémoire à taux constant sans avoir été transitoire auparavant. Certains taux sont choisis constants ou au contraire avec une dépendance nouvelle. Pour chaque quantité dans le modèle, l'écart quadratique moyen est alors calculé et permet de comparer l'impact des modifications du modèle sur sa capacité à reproduire des données expérimentales SIV (virus de l'immunodéficience simienne, proche du virus HIV) et LCMV.

Le modèle de Rouzine *et al.* [2005] décrit en détail la réponse T CD8, notamment la différenciation en cellules mémoires où différentes étapes (à travers les compartiments cellules transitoires et cellules anergiques) peuvent être testées. Les dynamiques des APCs sont modélisées, de même que celles des sous-populations de cellules anergiques, transitoires, et en division, qui correspondent plutôt à des états transitoires entre les trois stades naïf, effecteur, mémoire.

La population de cellules en division est d'ailleurs la population de cellules dites activées au sens que nous avons vu à la section 1.2.1, c'est-à-dire une population qui a été stimulée et donc activée par le pathogène, mais n'a pas encore acquis les propriétés cytotoxiques qui la rendent effectrice. Cependant, le modèle omet tous les contrôles des sous-populations de lymphocytes sur le pathogène, qui seul, dirige les dynamiques des populations de lymphocytes et d'APCs. Le pathogène n'est d'ailleurs pas une variable du modèle, mais là encore une donnée extérieure au modèle.

1.4.2.6 Modèles de Antia *et al.* [2003, 2005]

Antia *et al.* [2003, 2005] s'intéressent au phénomène de « réponse programmée indépendante de l'antigène » (Kaech *et al.* [2001], Stipdonk *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003]) dont nous avons déjà parlé à la section 1.3.1. Même après une brève stimulation par l'antigène, une réponse complète des lymphocytes T CD8 est enclenchée, c'est-à-dire différenciation en cellules effectrices puis en cellules mémoires, phases d'expansion et de contraction. La question posée par les auteurs porte sur la façon dont est lancé ce « programme » de réponse. Est-il défini, modifié par la première rencontre du lymphocyte avec l'antigène, ou bien par la quantité d'antigène ? Les modèles développés dans ces travaux cherchent à donner des éléments de réponse. Ils sont confrontés à des données expérimentales, afin de trouver la meilleure façon de modéliser ce « programme » générant une réponse CD8. Les auteurs s'accordent sur le fait que des modèles de type prédateur-proie doivent être modifiés si l'on veut qu'ils rendent compte correctement de la réponse CD8. En effet, dans les modèles présentés précédemment (Bocharov *et al.* [1994], Wodarz *et al.* [1998], De Boer *et al.* [2001]), le nombre de cellules T CD8 (le prédateur) est sans arrêt mis à jour en fonction de la quantité d'antigène (la proie), ce qui ne permet pas de modéliser une réponse « programmée ».

Dans Antia *et al.* [2003, 2005], les modèles linéaires décrivent les différents stades de différenciation des lymphocytes, naïf, effecteur et mémoire. Ils cherchent à décrire les deux phases d'expansion et de contraction, caractéristiques de la réponse immunitaire. Les auteurs commencent par un programme « strict », la réponse se fait indépendamment de l'exposition à l'antigène. La stimulation dépend d'un taux de rencontre avec l'antigène, et ainsi le recrutement des lymphocytes T CD8 est le seul phénomène dépendant de l'antigène.

Le premier modèle développé est un système formé d'équations différentielles ordinaires et d'une équation aux dérivées partielles structurée en âge. Cette structuration en âge permet de décrire les mécanismes de réponse liés à la différenciation

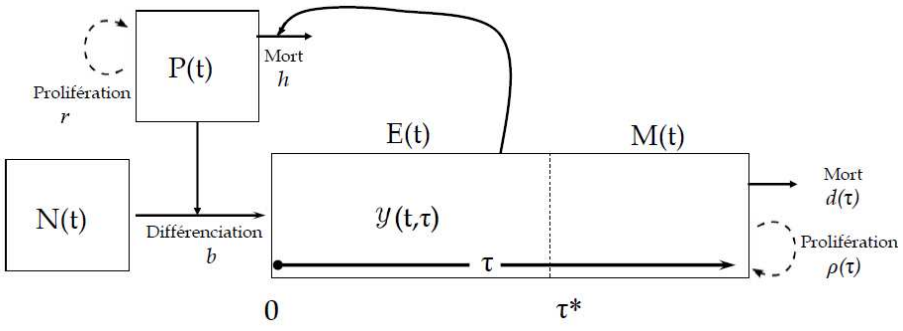


FIGURE 1.13 – Représentation schématique du modèle structuré en âge décrit par le système (1.1), d'après Antia *et al.* [2003, 2005].

progressive des lymphocytes naïfs en lymphocytes effecteurs, l'âge correspondant à celui des cellules effectrices, depuis qu'elles se sont différenciées. Le modèle s'écrit comme suit (voir aussi Figure 1.13) :

$$\begin{cases} \dfrac{dN}{dt}(t) &= -bN(t)P(t), \\ \dfrac{\partial y(t,\tau)}{\partial t} + \dfrac{\partial y(t,\tau)}{\partial \tau} &= [\rho(\tau) - d(\tau)]y(t,\tau), \\ \dfrac{dP}{dt}(t) &= rP(t)\left(1 - \dfrac{P(t)}{c}\right) - hP(t)E(t), \end{cases} \tag{1.1}$$

avec

$$y(t,0) = bN(t)P(t),$$

où $N(t)$ correspond au nombre de cellules naïves au temps t, $P(t)$ à la quantité de pathogène, et $y(t,\tau)$ au nombre de cellules proliférantes (qui sont effectrices ou mémoires) d'âge τ, au temps t. Le nombre total de cellules effectrices $E(t)$ et de cellules mémoires $M(t)$ au temps t sont respectivement données par

$$E(t) = \int_0^{\tau^*} y(t,\tau)\, d\tau \quad \text{et} \quad M(t) = \int_{\tau^*}^{\infty} y(t,\tau)\, d\tau.$$

Le paramètre b décrit la différenciation des cellules naïves en effectrices, suivant une loi d'action de masse, $\rho(\tau)$ est le taux de division des cellules effectrices d'âge τ et $d(\tau)$ leur taux d'apoptose (voir Figure 1.14). La quantité de pathogène augmente avec un taux r, limité par une capacité de charge c. L'élimination du pathogène est proportionnelle à sa propre quantité et au nombre de cellules effectrices, selon un coefficient h.

Il n'y a pas d'apport de cellules naïves. Les cellules mémoires sont produites à

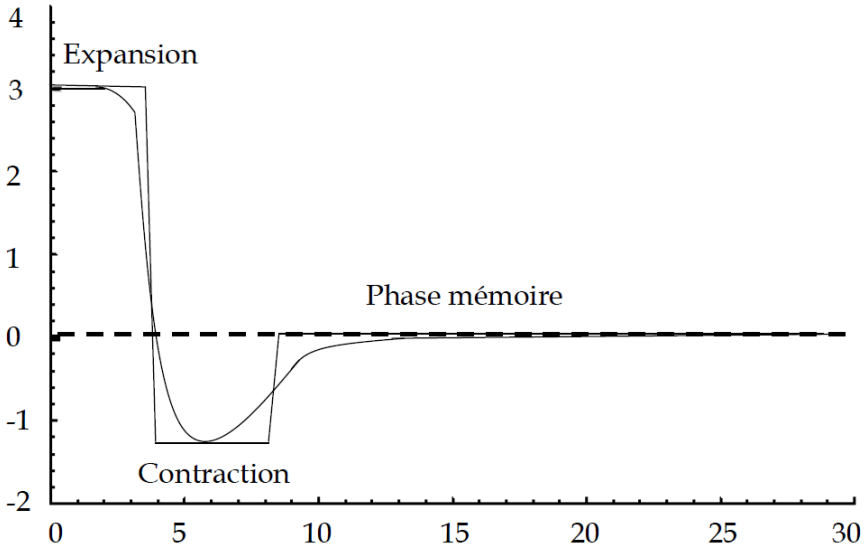


FIGURE 1.14 – Allure de la fonction $\rho(\tau) - d(\tau)$, utilisée dans le système (1.1), en fonction de l'âge τ en jours, d'après Antia *et al.* [2003, 2005]. Cette fonction décrit les dynamiques indépendantes de l'antigène de la population effectrice, avec $\rho(\tau)$ taux de division des cellules effectrices d'âge τ et $d(\tau)$ leur taux d'apoptose. D'après les auteurs, les données disponibles concernant les dynamiques de la réponse ne sont pas assez précises pour savoir si cette fonction est continue ou définie par morceaux

partir des cellules effectrices les plus « âgées », qui ne sont pas parties en apoptose avant d'atteindre l'âge limite $\tau = \tau^*$. Aucune dépendance non linéaire n'apparaît, pour les différents taux considérés dans l'équation structurée en âge. Seul l'âge des cellules agit sur la prolifération et la différenciation des cellules effectrices et mémoires.

Le deuxième modèle, développé dans Antia *et al.* [2003], est un système d'équations différentielles ordinaires (voir Figure 1.15). Le modèle s'écrit :

$$\begin{cases} \dfrac{dN}{dt}(t) = -bN(t)P(t), \\ \dfrac{dy_1}{dt}(t) = bN(t) - k_1 y_1(t) - d_1 y_1(t), \\ \dfrac{dy_n}{dt}(t) = 2k_n y_{n-1}(t) - k_n y_n(t) - d_n y_n(t), \quad \text{pour} \quad n = 2, 3, 4... \\ \dfrac{dP}{dt}(t) = rP(t)\left(1 - \dfrac{P(t)}{c}\right) - hP(t)E(t), \end{cases} \tag{1.2}$$

où $N(t)$ correspond au nombre de cellules naïves au temps t, $P(t)$ à la quantité de pathogène, y_1 au nombre de cellules effectrices recrutées, au temps t, et y_n, $n > 1$, au nombre de cellules effectrices ayant subi n divisions, au temps t. Les cellules naïves

correspondent ainsi à des cellules ayant subi 0 division.

Le nombre total de cellules effectrices $E(t)$ et de cellules mémoires $M(t)$ au temps t sont respectivement donnés par

$$E(t) = \sum_{n=1}^{a+b-1} y_n(t) \quad \text{et} \quad M(t) = \sum_{n=a+b}^{\infty} y_n(t).$$

Ainsi, pendant les a premières divisions, il y a prolifération : le taux de production k_n est plus grand que le taux de mort d_n. Pendant les b divisions suivantes, correspondant à la phase de contraction, k_n est inférieur à d_n. Il y a enfin équilibre ($k_n = d_n$) pour la phase mémoire. La différenciation des cellules est ainsi traduite par le nombre de divisions subies, et les auteurs font l'hypothèse que les cellules sont effectrices quand le nombre de divisions subies est inférieur à $a + b$, puis elles sont mémoires. Les fonctions effectrices sont ainsi rapidement acquises (en terme de nombre de divisions), puis perdues en acquérant les fonctions mémoires.

Ainsi, la mort et la différenciation des lymphocytes sont fonction du temps après recrutement des lymphocytes dans le modèle (1.1), et fonction du nombre de divisions déjà effectuées dans le modèle (1.2).

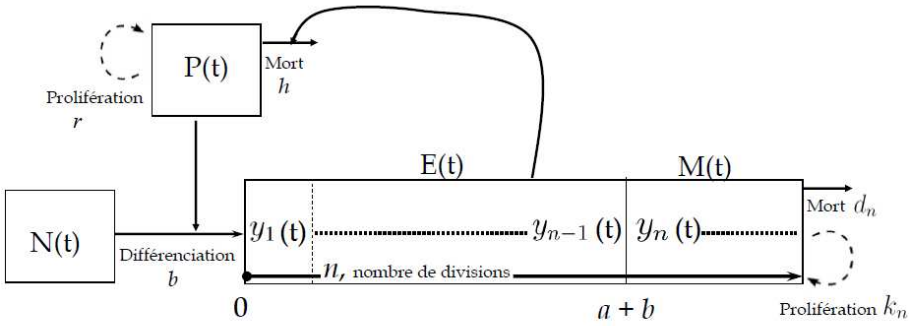


FIGURE 1.15 – Représentation schématique du modèle tenant compte du nombre de divisions subies par les lymphocytes décrit par le système (1.2), d'après Antia *et al.* [2003, 2005].

Cependant, pour mieux capturer les données expérimentales, il semble que des modifications dans la modélisation d'une « réponse programmée » stricte soient nécessaires. En particulier, les auteurs regardent comment l'amplitude de la réponse peut être influencée par la stimulation par l'antigène. Ils considèrent une fenêtre de temps pendant laquelle l'expansion est dépendante de l'antigène, avant la phase de « réponse programmée », qui, elle, est indépendante de l'antigène. La prolifération des cellules est ainsi dépendante de l'antigène, puis indépendante.

La durée de la fenêtre de temps où l'expansion dépend de l'antigène est fixée soit par un signal interne, soit par un signal externe. Dans le premier cas, la durée de prolifération des cellules T dépendante de l'antigène est fixe. Dans le deuxième cas, le signal externe marque la fin de la fenêtre de prolifération dépendante de l'antigène, et correspond par exemple au signal d'une cytokine de l'environnement. Il semble que ce soit ce deuxième type de signal qui convienne. En résumé, le modèle le plus à même de reproduire correctement une réponse CD8 serait, d'après les auteurs, un modèle de « réponse programmée », avec une partie de l'expansion dépendante de l'antigène et régulée par des signaux extérieurs.

Dans ces deux modèles, les auteurs modélisent les dynamiques de différenciation en cellules effectrices avec détail. Dans le modèle (1.1), la structure en âge permet de décrire leur « avancement » dans la phase effectrice, et de tenir compte de la différenciation en cellules mémoires, après un certain âge fixé. Dans le modèle (1.2), c'est le nombre de divisions subies par les cellules en phase effectrice qui joue ce rôle. Le pathogène est explicitement modélisé, et les contrôles des populations de lymphocytes sur ses dynamiques (élimination du pathogène par les cellules effectrices) sont prises en compte. Les auteurs s'intéressent aussi à représenter correctement une « réponse programmée » avec leur modèle. Par contre, les cellules effectrices ne peuvent devenir cellules mémoires qu'après un temps fixé (un âge donné ou un nombre de divisions donné selon le modèle). La différenciation en cellules mémoires reste donc un mécanisme à modéliser plus finement.

Tous ces modèles permettent de décrire les mécanismes de différenciation des lymphocytes T CD8 en présence d'un pathogène, et d'obtenir des cinétiques d'expansion et de contraction de la population T CD8 totale, qui correspondent bien à celles qu'on attend dans une réponse T CD8. Chao *et al.* [2004] obtiennent un modèle assez complexe en tenant compte des cellules saines/infectées. Le nombre élevé de paramètres (plus de 20) rend difficiles leur estimation par une confrontation à des données expérimentales. Kohler [2007a] s'intéresse davantage à modéliser les différenciations effectrices/mémoires qu'à suivre une réponse, le pathogène et les cellules naïves manquent notamment. Dans les travaux de De Boer *et al.* [2001], Rouzine *et al.* [2005], il n'y a pas de contrôle des populations de lymphocytes sur le pathogène. L'idée de « réponse programmée » n'est pas modélisée, sauf à considérer un temps on/off pour fixer la période où les lymphocytes prolifèrent, puis la période où ils se différencient en mémoires. Au contraire, Antia *et al.* [2003, 2005] tiennent compte de façon moins imposée de la « réponse programmée », mais les cellules

mémoires ne sont toujours générées qu'en fin de réponse, après un certain temps fixé : cela ne laisse pas la possibilité à une différenciation en cellules mémoires plus tôt, en même temps que les cellules effectrices éliminent le pathogène. Ces modèles n'apportent donc aucune information sur les mécanismes de la différenciation en cellules mémoires, qui puisse être validée expérimentalement.

Nous terminons cette revue de modèles de la réponse immunitaire à l'échelle cellulaire par quelques modèles incluant la description des dynamiques spécifiquement liées à l'infection des cellules cibles par le pathogène.

1.4.3 Modèles de virologie

Les modèles présentés ici sont moins proches de la modélisation de la réponse T CD8 qui nous intéresse dans ce travail. Ils décrivent cependant les dynamiques virales, par le biais des mécanismes d'infection des cellules, et ces dynamiques font partie de celles que nous modélisons dans notre travail. La réponse cytotoxique qui nous intéresse est également prise en compte dans certains modèles de virologie, même si elle n'est pas décrite de façon détaillée. Un compartiment modélisant explicitement les cellules T, simplement considérées cytotoxiques, est dans ces cas ajouté. Ces modèles ne prennent en général pas en compte les mécanismes d'activation, de différenciation des lymphocytes. Ils se concentrent davantage sur la façon dont des cellules cibles peuvent être infectées par le virus, et produisent ensuite des particules de virus libre.

Un modèle de base pour tous ces travaux est décrit par un système d'équations différentielles ordinaires (Baccam *et al.* [2006], Beauchemin *et al.* [2008]), avec seulement une non-linéarité dans le terme modélisant l'infection des cellules cibles (voir Figure 1.16). Les cellules cibles saines sont infectées avec un taux β sous l'action du virus, les cellules cibles meurent avec un taux δ et le virus avec un taux c. Ces pertes peuvent modéliser une dégradation naturelle, ou l'action de cellules immunitaires. Les cellules infectées produisent des particules de virus avec un taux p.

De nombreux travaux modélisent de cette façon une infection par un pathogène particulier. On peut citer ainsi des modèles de virologie décrivant l'infection par le virus HIV (Wodarz *et al.* [1999, 2000],Bonhoeffer *et al.* [2000], Perelson [2001], Callaway *et al.* [2002], Adams *et al.* [2005], Souza *et al.* [2011]), par le virus de l'hépatite B (Ciupe *et al.* [2007]), ou par le virus de la grippe (Beauchemin *et al.* [2005, 2006, 2008], Wodarz [2005], Baccam *et al.* [2006], Chang *et al.* [2007], Handel *et al.* [2010], Miao *et al.* [2010], Saenz *et al.* [2010], Tridane *et al.* [2010]). Dans la suite de cette partie, nous détaillons quelques points concernant les modèles que

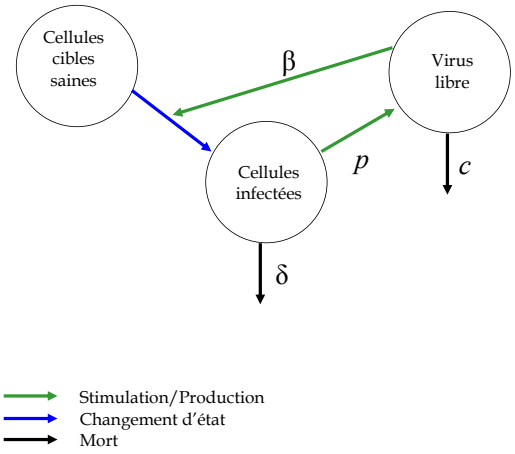


FIGURE 1.16 – Représentation schématique du modèle de base cellules saines/cellules infectées/virus libre, notamment utilisé et modifié par Baccam *et al.* [2006], Beauchemin *et al.* [2008].

nous venons de citer, centrés sur l'infection par la grippe.

L'infection par la grippe fait l'objet de modélisations de la réponse T CD8 plus récentes que l'infection HIV. Pour la grippe, beaucoup de modèles à l'échelle de populations d'individus ont été développés, afin d'étudier la propagation du virus (Alexander *et al.* [2011], Jin *et al.* [2011], Mercer *et al.* [2011]). D'autres modèles décrivent la réponse à une infection de grippe au sein d'un individu (Bocharov *et al.* [1994], Beauchemin *et al.* [2005], Baccam *et al.* [2006], Beauchemin *et al.* [2008], Saenz *et al.* [2010]). La plupart d'entre eux décrivent les compartiments cellules saines/infectées, avec un virus capable de se répliquer, comme cela a été fait pour d'autres infections comme HIV. Différents points précis sont ensuite ajoutés et traités plus spécifiquement selon les travaux.

Baccam *et al.* [2006], Saenz *et al.* [2010] tiennent ainsi compte d'« une phase d'éclipse », qui correspond à un compartiment de cellules infectées I, mais pas encore capables de produire des particules de virus libres V, qui iront ensuite infecter d'autres cellules saines T. Beauchemin *et al.* [2008] ajoutent au modèle précédent l'action d'un traitement (amantadine), modélisée par une fonction ε. Ils développent aussi un modèle d'équations ordinaires, à retard cette fois, toujours en tenant compte

du traitement. Le retard τ joue le rôle de la « phase d'éclipse », les cellules nouvellement infectées quittent immédiatement le compartiment de cellules saines, mais n'entrent dans celui des cellules infectées qu'après un temps τ. Le modèle s'écrit ainsi :

$$\begin{aligned}
\frac{dT}{dt}(t) &= -(1-\varepsilon(t))\beta T(t)V(t),\\
\frac{dI}{dt}(t) &= (1-\varepsilon(t))\beta T(t-\tau)V(t-\tau) - \delta I(t),\\
\frac{dV}{dt}(t) &= pI(t) - cV(t),
\end{aligned}$$

où ε est une fonction de la concentration du traitement au cours du temps.

Comme pour l'infection HIV, l'ajout d'un compartiment pour les cellules T, pour décrire explicitement leur réponse, est traité par certains modèles (Chang *et al.* [2007], Handel *et al.* [2010], Tridane *et al.* [2010]). Cependant, les lymphocytes T sont alors seulement considérés comme cytotoxiques ou activés, ce qui dans ces modèles signifie la même chose : les lymphocytes sont effecteurs, capables d'éliminer le virus, et leur différenciation en effecteurs ou leur activation ne sont pas modélisées. A plus forte raison, les contrôles entre sous-populations de lymphocytes T CD8 ne sont pas représentés.

Pour avoir un point de vue de choix de modélisation différent de ce que nous avons vu jusqu'à présent pour un modèle de virologie, nous pouvons citer le travail de Beauchemin *et al.* [2005]. Les auteurs s'intéressent à la réponse contre une infection de grippe, sans passer par un modèle continu. Ils utilisent un automate cellulaire, décrivant la propagation du virus entre cellules cibles. Le virus est explicitement modélisé. Chaque site du réseau carré 2D considéré représente une cellule cible. Les cellules immunitaires peuvent se déplacer d'un site à l'autre. Cependant, le type de cellules immunitaires n'est pas précisé, leur réponse à l'infection est modélisée de façon générique, si bien que la discussion du modèle, notamment des paramètres, porte aussi bien sur le cas de cellules B que de cellules T, et s'appuie sur des données de la littérature portant sur les deux types de cellules.

Le modèle est utilisé en particulier pour étudier l'impact de la distribution initiale de cellules infectées, de la régénération des cellules mortes et de la prolifération des cellules immunitaires (Beauchemin [2006]). Par exemple, la distribution initiale de cellules mortes peut affecter la propagation de l'infection, puisque dans le modèle, une cellule cible peut uniquement infecter ses voisins dans le réseau.

Dans tous ces modèles, la partie virologie avec les interactions entre cellules cibles/infectées et virus est largement modélisée. La description de la réponse immunitaire y reste cependant limitée : même si certains modèles prennent explicitement en compte les lymphocytes cytotoxiques, leurs dynamiques (activation, différenciation, génération de cellules mémoires...) ne sont pas décrites.

A présent, nous nous intéressons aux travaux se concentrant sur la modélisation de la réponse immunitaire à la deuxième échelle que nous nous proposons d'étudier dans ce manuscrit, l'échelle moléculaire.

1.5 Modèles moléculaires de la réponse T CD8

Les modèles décrivant les mécanismes intervenant dans la réponse T CD8 au niveau moléculaire peuvent être répartis en deux groupes. Le premier, présenté dans la section 1.5.1, propose une description détaillée de la synapse immunologique, sans s'intéresser aux signaux qu'elle induit. Pour rappel, la synapse immunologique est la structure mise en place par l'ensemble de liaisons formées entre cellule T et APC, lors de la présentation de l'antigène par l'APC (voir Section 1.3.1 pour le détail). Le deuxième groupe de modèles, présenté dans la section 1.5.2, prend au contraire en compte les signaux intra-cellulaires en aval de la synapse. En ce sens, ce deuxième groupe de modèles est plus proche de ce que nous souhaitons modéliser à cette échelle. Nous cherchons en effet à décrire une cascade de signalisation intracellulaire suffisamment complète pour y inclure les molécules clés et leurs interactions menant aux choix de la cellule entre survie, apoptose, entrée en cycle cellulaire, et pas seulement les signaux présents au niveau de la synapse.

1.5.1 Modèles de la synapse immunologique

Certains modèles à l'échelle moléculaire se concentrent sur la représentation de la synapse immunologique, basée principalement sur la liaison TCR/CMH. Le fonctionnement de la synapse est en elle-même suffisamment complexe pour faire l'objet d'un modèle à part entière (Mc Keithan [1995], Chan *et al.* [2005], Coombs *et al.* [2005]). Ces modèles décrivent principalement la formation de la liaison, ainsi que l'influence de l'affinité à l'antigène sur cette liaison et sur l'activation de la cellule. Le modèle de Kohler [2007b] que nous présentons en premier, met en jeu plusieurs aspects de la synapse : durée de la liaison, nombre et conformation des sites de liaison disponibles, affinité à l'antigène. Ce modèle présente la particularité de se concentrer au départ sur des dynamiques à l'échelle cellulaire, puisque leur objectif

est de décrire l'évolution des densités de cellules T durant différentes phases (différenciation, prolifération, apoptose, migration). Cependant, cette évolution dépend des aspects moléculaires modélisés par une structure en âge, où l'âge désigne la durée de stimulation du TCR. Ce modèle présente finalement des aspects multi-échelles, avec davantage de détails décrivant les aspects moléculaires que cellulaires.

Kohler [2007b] présente donc un modèle décrivant la différenciation des lymphocytes T suite à une stimulation par une APC (voir Figure 1.17). Une variable a de maturité, ou d'âge, est introduite, de telle sorte que le modèle se présente sous la forme d'un système d'équations aux dérivées partielles structurées en âge. Cette variable a correspond à la durée totale de stimulation du TCR. On prend en compte la stimulation cumulée sur tous les TCRs stimulés d'une cellule T, sans aller dans le détail de la durée des contacts individuels de chaque complexe TCR/CMH.

Les deux populations modélisées sont les cellules T liées aux sites de présentation d'antigène d'une part, dont la densité est notée B, et les cellules T qui ne sont pas liées d'autre part, dont la densité est notée U. A l'instant initial, seule est présente une population de cellules naïves, non liées à l'antigène, d'âge $a = 0$. Une troisième population notée T est ajoutée pour tenir compte des cellules T quittant les ganglions, après stimulation par l'antigène. L'indice i dans chaque population représente la lignée de clones de cellules T suivie. Ces lignées sont distinctes entre elles par leurs affinités différentes à l'antigène. Le modèle est ainsi utilisé pour simuler la compétition entre deux clones, l'un ayant une affinité à l'antigène rencontré plus forte que l'autre. Le système est le suivant :

$$\begin{aligned} \frac{\partial U_i(a,t)}{\partial t} &= \lambda_i B_i(a,t) - \alpha U_i(a,t) - k U_i(a,t) + p U_i(a,t), \\ \frac{\partial B_i(a,t)}{\partial a} + \frac{\partial B_i(a,t)}{\partial t} &= -\lambda_i B_i(a,t) + \alpha U_i(a,t), \\ \frac{\partial T_i(a,t)}{\partial t} &= k U_i(a,t), \end{aligned}$$

avec les conditions initiales $U(a,0) = \delta(a)$, où δ est une fonction de Dirac, et $B(a,0) = 0$.

Les cellules liées à l'APC peuvent ainsi se dissocier avec un taux λ, proliférer avec un taux p, quitter le ganglion avec un taux k. Le processus de liaison à l'antigène est stochastique : les événements d'association/disassociation du TCR et de l'APC, la division des cellules T et leur migration hors des ganglions sont modélisés par des probabilités. Le taux α d'association TCR/APC dépend du nombre de sites de

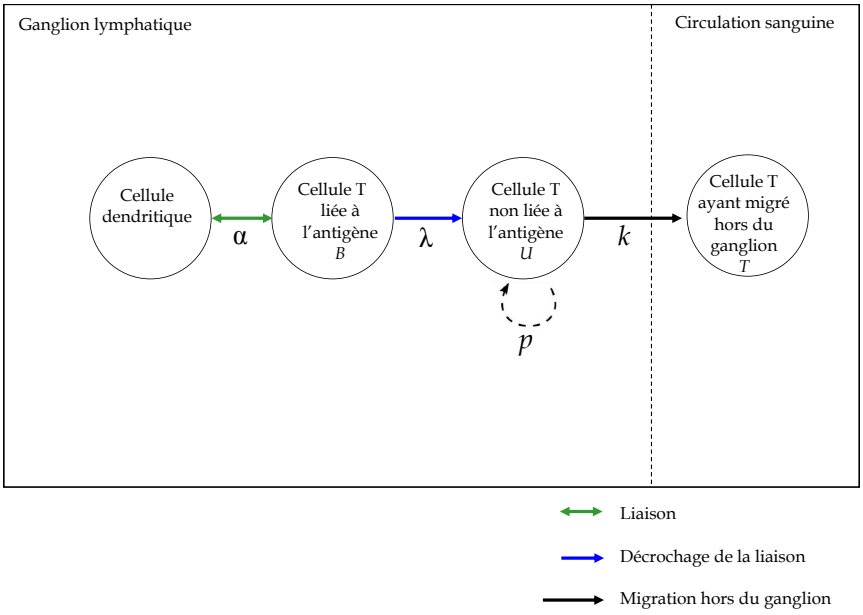


FIGURE 1.17 – Représentation schématique du modèle de Kohler [2007b].

liaison à l'antigène disponibles, dont le nombre total est noté S. Il est exprimé tel que

$$\frac{\hat{\alpha}}{S}\left(S - \int_{-\infty}^{\infty} \sum_i B_i \, da\right)$$

où $\hat{\alpha}$ est le taux de liaison maximal quand le nombre total de sites S est disponible, $\hat{\alpha}/S$ est le taux de liaison par site, et $(S - \int_{-\infty}^{\infty} \sum_i B_i \, da)$ est le nombre de sites de liaison disponibles. Le taux λ de dissociation TCR/APC dépend de l'avidité du TCR pour l'antigène rencontré. Cependant, λ est tout de même pris constant. Les auteurs justifient cette simplification par l'idée de considérer le taux de dissociation comme une propriété de la conformation intrinsèque du TCR, et de son affinité à l'antigène. L'âge a n'est modifié que pour les cellules liées à l'antigène, puisque a représente une maturation due à la stimulation par le TCR. Les cellules filles à leur instant initial héritent de l'âge de leur mère, de sorte que le processus de différenciation est ainsi modélisé, sous le contrôle de la stimulation du TCR.

Au-dessus d'un âge limite a_p, les auteurs considèrent que la cellule est proliférante, ce qui correspond à l'hypothèse que l'IL2 se trouve en quantité suffisante pour promouvoir la prolifération des cellules T. Ceci se traduit par l'expression du taux de prolifération $p(a) = \hat{p}H(a - a_p)$, où $\hat{p}$ est le taux de prolifération maximal et H la fonction de Heaviside. Au contraire, au-dessus d'un certain âge a_d, les cellules meurent rapidement. Ceci se traduit par l'ajout d'un taux de mort important $d = \hat{d}H(a - a_d)$, où $\hat{d}$ est le taux de mort maximal.

Le modèle dépend de la liaison APC/TCR dans la description des deux mécanismes suivants : la différenciation des cellules T, qui est fonction du temps passé engagé dans la synapse, lié à l'antigène, et la distribution des cellules T quittant les ganglions, qui est fonction de la durée de la stimulation du TCR et de l'affinité TCR/antigène.

Le modèle est étudié analytiquement et numériquement. Les simulations du modèle montrent qu'une affinité plus grande du TCR à l'antigène ne signifie pas forcément qu'il y aura davantage de cellules T activées. Par contre, une cellule liée à l'APC avec forte affinité pour l'antigène verra son âge a augmenter plus vite (puisque celui-ci n'augmente que lorsque la cellule est liée), et donc acquérir plus rapidement la capacité à se diviser. Ceci est cependant compensé par le fait que les cellules ayant forte affinité à l'antigène restent longtemps liées à lui, état dans lequel elles ne peuvent proliférer. Ce double phénomène rejoindrait la nécessité d'éviter un problème d'auto-immunité, tout en maintenant une prolifération efficace.

De même, lorsqu'il y a peu d'antigènes, les sites de présentation d'antigène sont vite occupés et le taux de rencontre APC/TCR tend vers 0 : l'âge des cellules T ne peut augmenter rapidement et donc se diviser rapidement. La prolifération n'est pas la plus importante dans ce cas.

Ce modèle permet donc de décrire avec détail (affinité à l'antigène, durée de stimulation...) les mécanismes de la synapse, qui régissent les dynamiques à l'échelle cellulaire. Cet aspect multi-échelle reste cependant concentré sur les dynamiques d'association/dissociation des cellules T avec les APCs, et leurs dynamiques de prolifération et de migration. Ces aspects excluent la modélisation des dynamiques des sous-populations naïve, effectrice, mémoire, et les contrôles de ces populations sur le pathogène et vice-versa. Les modèles suivants s'attachent uniquement à la modélisation de la synapse, sans aspects multi-échelles.

Mc Keithan [1995] se concentre sur la liaison du récepteur de la cellule T, le TCR, avec le récepteur de la cellule présentatrice d'antigène, le CMH. Il évoque le fait qu'un certain nombre de mécanismes est mis en jeu suite à la liaison par le TCR, et avant qu'elle ne conduise à transmettre un signal à la cellule. Il propose ainsi un modèle d'engagement du TCR, mettant en particulier en avant la capacité du TCR à distinguer un antigène du soi d'un antigène du non-soi (voir Section 1.3.1). L'auteur adapte un modèle de « kinetic proofreading », utilisé pour la description de la réplication de l'ADN et de la synthèse de protéines. Ce modèle permet en particulier d'intégrer l'idée qu'il existe des étapes enzymatiques entre la liaison du

TCR et la transmission d'un signal. Le modèle sous sa forme générique est décrit comme suit (voir aussi Figure 1.18).

Le complexe initial ligand/récepteur est noté C_0. Ce complexe est transformé, par une série d'intermédiaires C_i, en un complexe actif C_N. Les étapes peuvent utiliser de l'énergie, se traduire par des phosphorylations de protéines du complexe : ces réactions sont caractérisées par l'ajout d'un groupe phosphate sur la protéine, la rendant active ou inactive. Ces modifications se font à taux k_p. La dissocation d'un complexe à taux k_{-1} mène à l'inversion des modifications subies, en particulier par le biais des phosphatases. Les taux sont pris constants et égaux quelle que soit l'étape du complexe. Cette simplification est justifiée par le fait que les taux vraiment pertinents ne sont pas connus, les protéines impliquées dans la signalisation TCR n'étant elles-mêmes pas toutes connues. On note $\alpha = k_p/(k_p + k_{-1})$ la probabilité qu'une étape de modification se produise avant que le complexe ne se dissocie.

Dans le cadre de la liaison ligand/récepteur qui nous intéresse, CMH/TCR, la constante d'association, notée k_p, est supposée indépendante de la nature du peptide d'antigène rencontré. La constante de dissociation, notée k_{-1}, varie selon l'étape d'activation en cours, telle que k_{-1} soit proportionelle à k_p. Selon le coefficient de proportionnalité entre les deux, la liaison CMH/TCR activée est plus ou moins importante, permettant de décrire l'affinité de liaison selon la spécifité plus ou moins grande du TCR à l'antigène. D'après le modèle, le peptide-CMH avec une constante de dissociation modérée restera lié à une succession rapide de TCRs la plupart du temps. Cela n'empêche pas qu'un grand nombre de complexes CMH/TCR ne soit que partiellement activé. L'activation d'un complexe semble être un phénomène lent, de l'ordre des secondes.

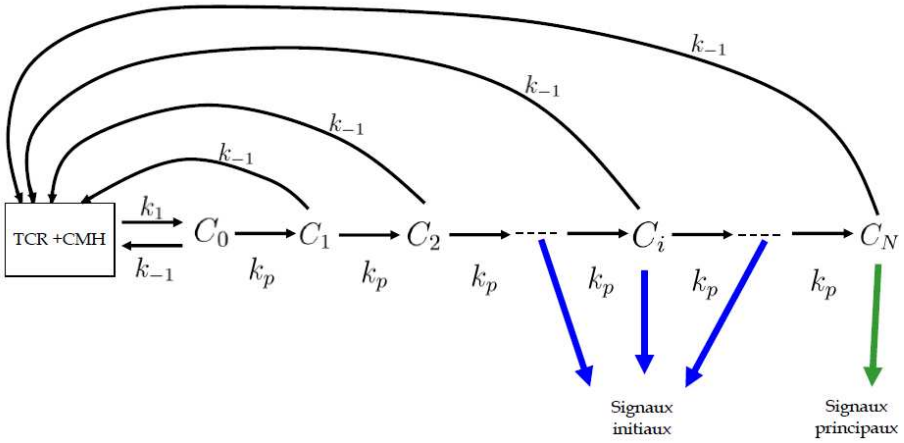


FIGURE 1.18 – Représentation schématique du modèle de « kinetic proofreading », de Mc Keithan [1995].

Le modèle décrit également la capacité des complexes à s'agréger, en particulier selon leur état de stabilité. Le modèle prédit qu'un petit nombre de complexes de forte affinité conduiront à une activation complète suivie d'une cascade de signaux plus facilement qu'un grand nombre de complexes de faible affinité. Ce résultat va dans le sens de l'idée que les mécanismes d'activation de la cellule T permettent de distinguer les peptides du soi des peptides du non-soi, et de ne répondre qu'à une stimulation par un antigène du non-soi.

Coombs *et al.* [2005] exposent une revue des approches de modélisation de la littérature, concernant la synapse immunologique. Ils reprennent le modèle de Mc Keithan [1995], en écrivant notamment le système d'équations différentielles ordinaires correspondant :

$$\begin{aligned}
\frac{dT}{dt} &= -k_1 CT + k_{-1} \sum_i C_i, \\
\frac{dC}{dt} &= -k_1 CT + k_{-1} \sum_i C_i, \\
\frac{dC_0}{dt} &= k_1 CT - k_{-1} C_0 - k_p C_0, \\
\frac{dC_i}{dt} &= k_p (C_{i-1} - C_i) - k_{-1} C_i, \quad i = 1, ..., N-1, \\
\frac{dC_N}{dt} &= k_p C_N - k_{-1} C_N,
\end{aligned}$$

où C, T et C_i pour $i = 1, ..., N$ correspondent respectivement au CMH, au TCR, et au i-ème complexe CMH/TCR, pour un total de N complexes subissant successivement des étapes de modifications. Ainsi, à l'équilibre, la fraction de complexes activés est donnée par

$$\frac{C_N}{\sum_i C_i} = \alpha^N$$

où α correspond à la probabilité qu'à l'étape i (avant la N-ième étape), le complexe soit modifié avant qu'il ne se dissocie. Selon Coombs *et al.* [2005], un élément majeur de ce modèle de la liaison TCR/CMH est de représenter la capacité du complexe à distinguer les peptides d'antigène, sur la base d'un seul paramètre : la constante de dissociation k_{-1}.

Les auteurs évoquent ensuite d'autres aspects de la liaison TCR/CMH, traités dans la littérature : la régulation négative du TCR après engagement, les dynamiques du TCR et du CMH aux surfaces des cellules (modèle de réaction-diffusion), les variations en temps et en espace du nombre de liaisons (modèle d'équations aux

dérivées partielles), la configuration des liaisons et de la membrane cellulaire (réseau et algorithme de Monte-Carlo). De même, Chan *et al.* [2005], en s'inspirant du modèle de « kinetic proofreading » développé par Mc Keithan [1995], proposent encore un autre aspect de modélisation de la liaison TCR/CMH. Les auteurs décrivent l'activation de la cellule T comme stochastique, et donc de probabilité p, fonction de la force du signal s reçu du TCR.

Cette revue de Coombs *et al.* [2005] rappelle en particulier un modèle multi-agent de Lee *et al.* [2003], qui prend en compte des cascades de signaux initiés par la liaison TCR/CMH. La cellule T est représentée par un réseau dont une petite partie correspond à la région de contact avec l'APC : on y place au hasard TCR et CMH. Les protéines modélisées, Lck, ZAP-70, Ras, Erk, SHP-1, GTP, JNK restent en nombre relativement restreint. Elles correspondent aux particules du réseau, et peuvent diffuser, former des complexes, participer à des transformations (catalyse de phosphorylation, échange de nucléotides...). Les auteurs s'attachent particulièrement à étudier l'influence des « clusters de TCRs » formés à la surface de la cellule, et qui semblent influer sur les cascades de signaux.

Altan-Bonnet *et al.* [2005] décrivent la compétition entre Erk et SHP1 pour l'activation de la cellule T, critique pour déterminer un seuil faisant passer le système d'une liaison TCR/CMH trop faible à une liaison menant à une activation. Ces mécanismes sont essentiels pour permettre à la cellule de distinguer antigènes du soi présentés par le CMH et antigènes contre lesquels une réponse immunitaire est nécessaire. Deux modèles de la synapse sont ainsi développés. Le premier se base sur le fait que lorsque le TCR se lie à un CMH porteur d'un antigène capable d'activer la cellule, le complexe TCR/CMH prend une conformation particulière. Le deuxième modèle suggère que des seuils cinétiques basés sur la durée de vie de la liaison TCR/CMH permettent de distinguer si l'antigène rencontré est un antigène du soi ou pas. Ce dernier point de vue est plus proche des modèles que nous avons décrits précédemment, et semble davantage convenir. Les auteurs ajoutent, au modèle de « kinetic proofreading » que nous avons déjà vu, la signalisation dans laquelle la protéine Erk est impliquée, favorisant l'activation de la cellule. Au contraire, SHP1 est introduit comme inhibiteur de cette activation.

Dans Feinerman *et al.* [2008], les auteurs utilisent ainsi le modèle de « kinetic proofreading », en ajoutant des rétro-contrôles sur les étapes de formation du complexe TCR/CMH, positif par Erk, et négatif par SHP1 (voir Section 4.2 pour le détail des mécanismes dans lesquels interviennent ces protéines). Ils s'intéressent à l'influence de la stochasticité sur les variations de l'expression des protéines, impli-

quées dans la signalisation faisant suite à l'activation de la cellule T. En particulier, ces variations sont limitées par la régulation du co-récepteur CD8 et de la protéine SHP1. Le co-récepteur CD8 est ajouté comme contrôle sur la formation du complexe TCR/CMH. Le rétro-contrôle négatif par SHP1 inhibe la stimulation de liaisons où le CMH a peu d'affinité pour le TCR. Au contraire, si l'affinité est forte, Erk maintient un signal positif fort.

Le modèle prédit que des variations de concentration de Erk ne sont pas critiques pour la réponse de la cellule, car l'expression moyenne de Erk est déjà assez excessive. Le co-récepteur CD8 ne semble pas non plus source de variabilité. Augmenter son niveau d'expression fait décroître le nombre de liaisons nécessaires à l'activation de la cellule, mais sans affecter la proportion de cellules capables de répondre, pour une quantité de liaisons maximales. Par contre, SHP1 est beaucoup plus critique dans le modèle. Si on augmente le niveau de SHP1, une fraction de cellules devient anergique. Ces cellules ne complètent pas leur activation. Au contraire, les autres cellules restent sensibles à l'activation comme dans une situation où SHP1 est peu exprimée.

Les deux modèles précédents présentent différentes prédictions qui sont ensuite validées expérimentalement, ce qui ajoute à leur pertinence. Les modèles vont plus loin que les précédents concernant le fonctionnement de la synapse, puisque des rétro-contrôles sur les liaisons TCR/CMH sont ajoutés avec Erk et SHP1, et les résultats obtenus montrent leur importance, puisque la capacité de la liaison à compléter l'activation de la cellule ou à la stopper en dépend.

Cependant, tous ces modèles décrivent les mécanismes traitant de la liaison TCR/CMH, mais pas de la cascade de signalisation qui s'ensuit et conduit à l'activation et la différenciation de la cellule T, ou le cas échéant, à l'apoptose. Coombs *et al.* [2005] remarquent précisément que la description de tous ces mécanismes est un enjeu à développer. Même le modèle de Lee *et al.* [2003], qui prend en compte les dynamiques de protéines situées en aval du signal TCR/CMH dans la cellule, ne décrit qu'un petit nombre de protéines impliquées dans la signalisation. De plus, ces signaux ne sont pas étudiés pour décrire le devenir de la cellule, mais pour voir comment l'organisation spatiale des éléments de la synapse (la densité de TCRs dans la région de contact avec le CMH par exemple) influence ces signaux. Dans la section 1.5.2, nous présentons des travaux qui prennent au contraire en compte la signalisation intra-cellulaire qui suit la mise en place de la liaison TCR/CMH, et l'activation du TCR.

1.5.2 Modèles de signalisation intra-cellulaire

Les modèles que nous présentons ici modélisent moins en détail la synapse immunologique, contrairement aux modèles de la section 1.5.1, mais ils proposent un schéma de régulation de protéines et de leurs interactions faisant suite à l'activation du TCR.

Zheng *et al.* [2005] constatent que les aspects de modélisation de l'activation du TCR sont, comme nous l'avons d'ailleurs vu avec les travaux de la section 1.5.1, assez largement décrits dans la littérature. Au contraire, les mécanismes de régulation dans la cellule T, les premiers événements de signalisation qui suivent l'activation font plus rarement l'objet de modélisation. Les auteurs proposent donc un modèle de signalisation, se concentrant en particulier sur les rétro-contrôles positifs ou négatifs et leurs conséquences sur la réponse cellulaire.

Le schéma de réactions de base est le suivant. L'engagement du TCR conduit à la phosphorylation de ses unités cytoplasmiques : elles servent alors de site de liaison pour Zap70 (tyrosine kinase). L'activité de Zap70 est régulée par Lck et Fyn (famille des Src tyrosine kinases). L'activité des Src tyrosine kinases est elle-même régulée par des protéines tyrosines phosphatases (PTP), dont SHP-1 fait partie.

Le modèle résulte en 16 équations différentielles ordinaires et 36 paramètres. Le niveau de phosphorylation du TCR tient lieu de signal d'entrée. Le modèle décrit associations et dissociations selon la loi d'action de masse (taux de réaction proportionnel au produit des concentrations de réactants).

La validation du modèle se fait par une analyse numérique et un travail expérimental : le pourcentage de phosphorylation de Zap70 est mesuré expérimentalement, sur 120 minutes après engagement du TCR. Le modèle est confronté à ces données. Les valeurs de paramètres choisies pour les simulations sont contraintes par les mesures expérimentales et les valeurs de la littérature. Pour 29 paramètres, la valeur exacte est simplement choisie, sans estimation poussée, pour reproduire les caractéristiques cinétiques expérimentales (pic initial, niveau d'activation maximal puis décroissance). Les auteurs constatent cependant que sur le long terme (après 40 minutes post-engagement du TCR), le modèle ne réussit pas à reproduire correctement les données. En effet, expérimentalement, le pourcentage de phosphorylation de Zap70 se stabilise à environ 5% avant de remonter jusqu'à 15% au delà de 80 minutes. Au contraire, le modèle prédit une stabilisation vers 40 minutes à un pourcentage presque nul. Les auteurs évoquent la possibilité que de nouvelles protéines soient synthétisées, en aval de la cascade qu'ils prennent en compte dans le modèle, et qu'il faudrait donc les rajouter. Les états d'équilibre sont enfin étudiés analyti-

quement et numériquement.

Ce modèle repère les protéines principalement mises en jeu immédiatement en aval de la liaison TCR/CMH. Le schéma ainsi décrit ne va cependant pas jusqu'au bout de la signalisation : la sortie du modèle est simplement le pourcentage de phosphorylation Zap70 au cours du temps. Les auteurs signalent eux-mêmes qu'un certain nombre de protéines intervenant dans la signalisation intra-cellulaire doit manquer dans leur modèle, et conduire à des résultats de simulations qui ne sont pas entièrement satisfaisants. Le modèle est très détaillé sur les mécanismes dans lesquels interviennent les protéines que les auteurs ont choisi de représenter. Ceci conduit à un nombre important de paramètres, dont il est difficile d'estimer exhaustivement les valeurs, en particulier pour obtenir, peut-être, des simulations reproduisant les données de façon plus satisfaisante.

Feinerman *et al.* [2010] développent, à l'échelle d'une cellule, un modèle d'équations différentielles ordinaires de compétition pour l'IL2 entre cellules T effectrices et cellules T régulatrices (Treg) (voir Figure 1.19). Les cellules Treg ont un rôle d'inhibition de la prolifération des cellules T effectrices, nous l'avons vu à la section 1.1. Alors que l'IL2 promeut la prolifération et limite l'apoptose des cellules T effectrices, l'IL2 est aussi consommée par les cellules Treg (qui possèdent les récepteurs IL2R comme chez les cellules T effectrices), et son contrôle positif sur les cellules T effectrices en est donc limité. Les auteurs mettent également en évidence une régulation des Treg sur les cellules T effectrices dépendante de leur niveau d'expression de IL2Rα (chaîne α du récepteur à l'IL2). Ces mécanismes semblent notamment permettre d'éliminer les cellules T effectrices spécifiques à un antigène du soi, et éviter les problèmes d'auto-immunité. Notons que IL2R, le récepteur à l'IL2, est formé de trois chaînes : α, β, γ. La chaîne IL2Rα jouerait un rôle dans les liaisons avec l'IL2 de faible affinité, tandis que l'association des trois chaînes IL2Rα, IL2Rβ et IL2Rγ jouerait un rôle dans les liaisons de forte affinité (Wang *et al.* [1987], Feinerman *et al.* [2010]).

Les auteurs mesurent expérimentalement et modélisent la quantité de liaisons IL2/IL2R, ainsi que les conséquences qui en découlent sur la phosphorylation de la protéine Stat5 : plus il y a de liaisons, plus la quantité de phospho-Stat5 est importante. Le modèle décrit le transport du signal IL2 de l'environnement extérieur à l'intérieur de la cellule. Le travail de modélisation et d'expérimentation mené par Feinerman *et al.* [2010] a permis de mettre en évidence l'action paracrine, et pas seulement autocrine, de l'IL2. Dans une action autocrine, l'IL2 est consommée (c'est-

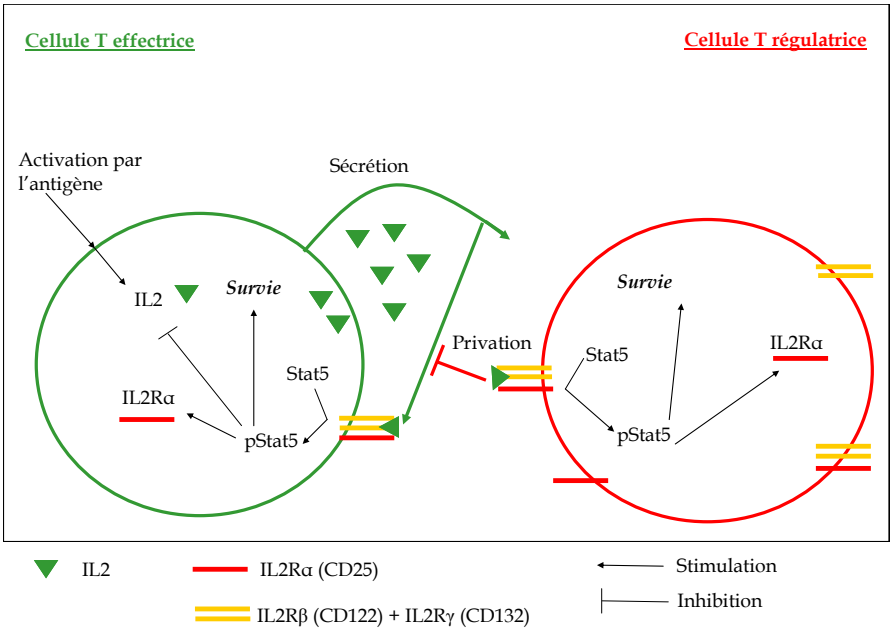


FIGURE 1.19 – Représentation schématique du modèle de Feinerman *et al.* [2010].

à-dire internalisée et dégradée une fois liée à son récepteur) par la cellule T qui l'a produite. Dans une action paracrine, l'IL2 est aussi consommée par les cellules T de l'environnement de la cellule qui l'a produite. Par exemple, l'IL2 sécrétée par les cellules T effectrices semble suffir pour stimuler l'expression du récepteur IL2Rα des cellules Treg voisines.

Les auteurs ont pu à la fois prédire et valider expérimentalement des résultats concernant l'action des Treg selon le niveau d'activation des TCRs des cellules T effectrices. Si l'activation du TCR est faible car le niveau d'antigène est faible, les cellules Treg ont une action suppressive sur les cellules T effectrices. Si au contraire l'activation du TCR est rendue forte par un niveau d'antigène élevé, les cellules Treg n'affectent pas les cellules T effectrices. La présence des cellules Treg induit une baisse d'expression des récepteurs IL2Rα sur les cellules T effectrices activées avec une faible concentration d'antigène, alors que ce n'est pas le cas sur les cellules T effectrices activées avec une forte concentration d'antigène. Notons qu'il semble y avoir un lien de cause à effet entre stimulation du TCR forte, niveau de IL2Rα fort et sensibilité à l'IL2 forte. Les cellules Treg auraient donc une action suppressive sur les cellules T effectrices à la fois par leur consommation d'IL2, et par altération des niveaux d'expression des récepteurs IL2Rα des cellules T effectrices.

Ces résultats tendent à expliquer les observations quelque peu « contradictoires », rapportant que les cellules T effectrices sont plus sensibles à des concentrations d'IL2 faibles. En effet, si les cellules T effectrices ont un niveau d'expression de IL2Rα fort,

elles peuvent être sensibles à de plus faibles concentrations d'IL2, et sont donc moins affectées par la consommation d'IL2 par les Treg.

Cependant, comme un niveau d'expression élevé de IL2Rα chez les Treg leur permet de consommer davantage d'IL2, il existe tout de même un « crossover » critique entre les niveaux de IL2Rα chez les Treg et les cellules T effectrices.

Puisque les cellules T effectrices fortement activées ne sont pas affectées par l'action suppressive des Treg, elles peuvent proliférer en réponse au stimuli de l'IL2, même en faible concentration. Cela assure une réponse immunitaire efficace. Cependant, ces résultats montrent que la sécrétion d'IL2 est un phénomène transitoire, qui n'a vocation à agir précisément que lors d'une infection nécessitant une réponse.

Pour une concentration d'IL2 donnée, seule une certaine fraction de cellules T effectrices recevra un signal de survie, cette fraction de cellules étant déterminée par leur niveau d'expression de IL2Rα. Ces dynamiques sont donc pertinentes à suivre, d'un point de vue de modélisation et d'expérimentation, à un niveau de cellule unique plutôt que de moyenne sur une population. La régulation des cellules T par l'IL2 est de ce fait un mécanisme souple, dépendant de la densité en cellules, et dont des variations pouvant paraître minimes peuvent conduire à une modification importante du système à l'échelle de la population, comme l'apparition de problèmes d'auto-immunité.

Le modèle couple, ce qui n'est pas souvent le cas, modélisation et travail expérimental. Les prédictions du modèle peuvent ainsi être testées au fil de l'étude avec des données expérimentales, ce qui rend plus confiant dans la validation du modèle. Le modèle détaille les mécanismes de consommation de l'IL2 par les cellules T, selon la conformation du récepteur IL2R (en particulier selon le niveau d'expression de la chaîne IL2Rα), et selon la compétition entre cellules T effectrices et Treg. Le modèle se concentre cependant uniquement sur les mécanismes de liaison IL2/IL2R qui promeuvent survie et prolifération des cellules T effectrices, sans décrire la signalisation intra-cellulaire faisant suite à l'activation du TCR.

Bidot *et al.* [2008] modélisent par 22 équations différentielles ordinaires les cinétiques d'activation de la cellule T. L'activation dépend de la présence des molécules de co-stimulation (qui sont là pour pallier l'éventuelle faiblesse de la liaison TCR/CMH). Selon les auteurs, la signalisation qui suit l'activation dépend de l'affinité entre TCR et peptide d'antigène présenté par le CMH, du nombre de TCRs activés, et de la durée de contact entre cellules T et APC, d'autant que ces contacts sont plutôt courts et asynchrones.

Les différentes étapes de l'activation d'une cellule T sont modélisées sur la base d'interactions récepteur/ligand, traduites en équations différentielles ordinaires sur les concentrations des différentes molécules (voir aussi Figure 1.20) : TCR/pCMH, complexe TCR-pCMH/co-récepteurs du TCR (CD4-CD8, renforçant la liaison du complexe), CD28/CD80 (CD28 sur la cellule T, CD80 sur l'APC : molécules de co-activation amplifiant le signal).

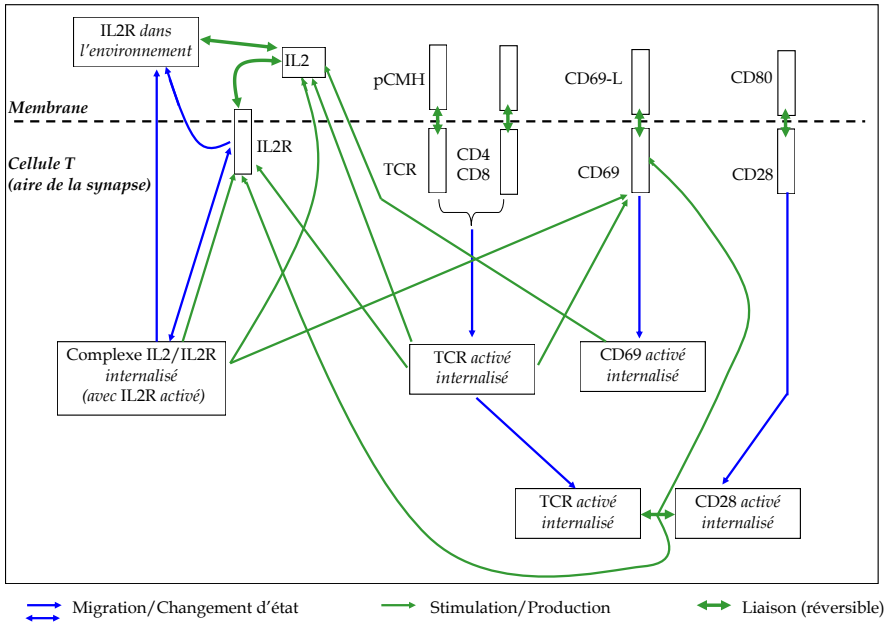


FIGURE 1.20 – Représentation schématique du modèle de Bidot *et al.* [2008].

La notion d'espace est également prise en compte, puisque seuls les TCRs présents dans la synapse immunologique pourront être activés. Le flux de TCRs à travers la synapse est ainsi modélisé par un terme $\varphi([S] - [T])$ ($[S]$: concentration en TCR hors de la synapse, $[T]$: concentration en TCR dans la synapse), où φ est un coefficient de transfert décrivant la vitesse ou la diffusion du TCR. Après son activation, le TCR peut également se dissocier du CMH et être internalisé.

Une fois activé et internalisé, le TCR produit de nouveaux récepteurs, CD69 et le récepteur à l'IL2 (IL2R), ainsi que de l'IL2. La durée de la phase où le TCR est internalisé (et peut produire CD69, IL2R, IL2) dépend de la durée et de la force de son engagement lors de sa liaison avec le CMH. Comme le TCR, les protéines CD28 et CD69 sont activées, internalisées. Lors de leur internalisation, CD28 se lie au TCR (ce qui accroît la production d'IL2R et de CD69), et CD69 produit de l'IL2.

L'IL2, relarguée hors de la cellule, se lie à son récepteur IL2R, sur la membrane de la cellule T. L'IL2R est alors activé et internalisé (ce qui peut être réversible). Une partie d'IL2R se diffuse cependant dans l'environnement de la cellule, et entre

ainsi en compétition pour se lier à l'IL2. Lorsqu'il est internalisé, l'IL2R produit du CD69, de l'IL2, et de l'IL2R. Toutes les molécules ont un taux de dégradation.

Ainsi, le niveau d'internalisation de l'IL2R est critique dans le modèle, pour « décider » de l'activation de la cellule T. Si un seuil de signal est franchi, la cellule entre en cycle, se divise et acquiert de nouvelles fonctions. Le seuil doit être atteint dans un temps limité, puisque l'IL2R internalisé se dégrade progressivement. Sinon, la cellule revient à un état au repos ou meurt.

Le modèle est étudié numériquement. Les paramètres, principalement des constantes d'activation et de dissociation, sont au nombre de 51, 16 valeurs de paramètres sont extraites de la littérature, les autres fixées arbitrairement dans un « ordre de grandeur raisonnable ». Les simulations, sur 5 heures, montrent que la concentration en récepteurs exprimés initialement décroît jusqu'à un plateau. Les protéines induites par l'activation du TCR voient leur concentration augmenter avant de décroître, jusqu'à un plateau également. Une analyse de sensibilité montre que le modèle est stable pour un grand nombre de valeurs de paramètres, de même qu'il est qualitativement sensible aux conditions initiales, mais pas en ce qui concerne le comportement à long terme.

Bidot *et al.* [2008] développent ici un modèle décrivant de façon assez détaillée les dynamiques du TCR et des molécules de co-stimulation, suite à leur activation par la rencontre avec une APC. Ils s'attachent en particulier aux contrôles du TCR et des molécules de co-stimulation sur l'activation du récepteur à l'IL2 et la production d'IL2. Les rôles de l'IL2 et de l'IL2R dans la signalisation intra-cellulaire sont ainsi largement mis en avant. Les auteurs reconnaissent que leur modèle est très simplifié, oubliant un certain nombre de protéines agissant dans la signalisation. La signalisation faisant intervenir l'IL2 et l'IL2R dans ce modèle gère ainsi seule les « décisions » d'entrée en cycle, de division et d'acquisition de nouvelles fonctions, de retour au repos ou d'apoptose de la cellule T. Les auteurs sont également conscients de la nécessité d'aller plus loin dans la validation du modèle, à travers une estimation des paramètres plus rigoureuse, et un travail expérimental qui pourrait permettre d'en mesurer certains. Cependant, cela représente une tâche ardue, avec un total de 50 paramètres dans le modèle.

Un certain nombre de modèles moléculaires décrit ainsi le processus d'activation de la cellule T, à travers la liaison TCR/CMH. Cependant, ces modèles ne vont pas toujours jusqu'à la description de la signalisation en aval, et lorsqu'ils s'y attellent, le nombre de molécules intervenant reste restreint. La question du devenir de la cellule

(prolifération et différenciation, apoptose) en fonction du niveau de concentration de ces molécules est donc d'autant plus délicat à traiter : soit le modèle ne pose pas la question (Zheng *et al.* [2005]), soit il permet d'obtenir le niveau de concentration de deux ou trois protéines, sur lesquelles repose toute la signalisation décrite, ce qui simplifie beaucoup la réalité des processus de signalisation intra-cellulaire (Bidot *et al.* [2008]).

1.6 Introduction au travail

Nous nous proposons dans ce travail de réaliser une modélisation des dynamiques de la réponse immunitaire des lymphocytes T CD8, aux échelles cellulaire et moléculaire. A terme, l'objectif serait de poursuivre le travail présenté dans ce manuscrit par une modélisation multi-échelle des dynamiques de la réponse, intégrant dans un même modèle les deux échelles que nous étudions. Comme nous l'avons vu, ces deux échelles apportent des informations complémentaires sur les dynamiques permettant à l'organisme de détecter et éliminer un pathogène, tout en générant des cellules mémoires capables de répondre plus efficacement lors d'une infection future. Ce dernier point est essentiel dans une stratégie vaccinale.

Les trois prochains chapitres sont organisés comme suit. Le chapitre 2 est consacré au développement à et l'étude d'un modèle mathématique d'équations aux dérivées partielles structurées en âge, de la réponse immunitaire primaire T CD8 à l'échelle cellulaire. Une confrontation à des données expérimentales, avec une recherche exhaustive des valeurs de paramètres, fait l'objet du chapitre 3. Enfin, le chapitre 4 est consacré au développement et à l'étude d'un réseau d'interactions moléculaires, rendant compte des mécanismes de signalisation intra-cellulaire faisant suite à l'activation du lymphocyte par une APC.

Chapitre 2

Mathematical Model of the primary CD8 T Cell Immune Response : Stability Analysis of a Nonlinear Age-Structured System

2.1 Préambule

A l'échelle d'une population de cellules, des modèles d'équations différentielles, ordinaires ou aux dérivées partielles, ont déjà été développés, afin de réaliser une description la plus exhaustive possible des mécanismes de la réponse immunitaire (Kim *et al.* [2007]). D'autres modèles se sont basés sur une approche de virologie, dans laquelle le processus d'infection des cellules est au cœur de la modélisation (Baccam *et al.* [2006]). Cependant, si l'on veut décrire la réponse immunitaire à l'échelle cellulaire, il est pertinent de modéliser plus en détail les dynamiques des lymphocytes T CD8 lors d'une infection primaire, puisque l'on s'intéresse dans ce cas explicitement aux dynamiques qui décrivent comment la population de lymphocytes est capable d'éliminer le pathogène. Il s'agit donc de reproduire les cinétiques caractéristiques d'une réponse, avec une phase d'expansion : prolifération et différenciation des lymphocytes en effecteurs, suivie de la régulation de leur nombre par apoptose dans une phase de contraction. Il s'agit aussi de modéliser la génération de cellules mémoires. Ce sujet a déjà fait l'objet d'un certain nombre de modèles mathématiques (De Boer *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003, 2005], Rouzine *et al.* [2005]). Cependant, ils ne tiennent pas forcément compte des nombreux processus de contrôle et rétro-contrôle de certaines sous-populations de lymphocytes sur d'autres, et ne modélisent pas le pathogène explicitement. De plus, ces modèles prennent seulement

en compte la différenciation en lymphocytes mémoires après un certain temps fixé, qui limite la phase pendant laquelle les lymphocytes sont effecteurs. Ces modèles ne permettent donc pas d'obtenir une information sur les mécanismes de génération des cellules mémoires, validable expérimentalement.

Dans ce chapitre, nous nous proposons de modifier le modèle d'équations aux dérivées partielles structurées en âge de Antia *et al.* [2003, 2005], en considérant que les cellules effectrices peuvent se différencier en cellules mémoires pendant la phase effectrice, dans le même temps que les cellules effectrices éliminent le pathogène, et pas uniquement après un âge limite donné. Le modèle est réduit à un système d'équations différentielles à retard. Ceci permet d'obtenir des équations régissant les dynamiques du nombre total de chaque sous-population de lymphocytes (naïve, effectrice, mémoire), dont nous étudions mathématiquement différentes propriétés : existence et unicité des solutions et détermination des états d'équilibre. Travailler avec des nombres de cellules permet également de simuler le système avec des solutions qui seront exprimées en nombres de cellules, quantités qui sont directement celles que l'on peut obtenir biologiquement. C'est donc un point qui facilite la confrontation du modèle aux données expérimentales.

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans la revue Journal of Mathematical Biology, « Mathematical Model of the primary CD8 T Cell Immune Response : Stability Analysis of a Nonlinear Age-Structured System », auteurs : E. Terry , J. Marvel, C. Arpin, O. Gandrillon et F. Crauste, Volume 65, Issue 2 (2012), pages 263-291 (Terry *et al.* [2012]).

2.2 Article

2.2.1 Introduction

Immune response to an infection by a pathogen is supported by different populations of cells (macrophages, B cells, CD4 T cells, CD8 T cells...). Here we focus on a specific response, the CD8 T cell response.

The T CD8 lymphocytes involved in this response are produced by differentiation from hematopoietic stem cells in the thymus, and are maintained in a naive state in secondary lymphoid organs. T CD8 immune response begins when naive CD8 T cells encounter activated antigen-presenting cells that present antigen derived epitopes, signaling the presence of the pathogen. This process leads to an immune response

characterized by three phases in the response of T CD8 population : cellular expansion, contraction and memory cell generation (Murali-Krishna *et al.* [1998], Appay *et al.* [2004]). Indeed, the encounter with the antigen results in differentiation of naive CD8 T cells into an other state, called effector. In this state, CD8 T cells have acquired cytotoxic capacities allowing to kill infected cells (Hermans *et al.* [2000], Appay *et al.* [2004]). Effector cells proliferate, with a strong and fast increase of T cell count, during the so-called expansion phase. For example, for a lymphocytic choriomeningitis virus infection, effector cell count increases from around 100 cells specific for the epitope encountered in the spleen of a mouse, up to 10^7 cells (Murali-Krishna *et al.* [1998], Antia *et al.* [2003]). With an Influenza A virus infection in humans, a peak of virus is observed at $2-3$ days post-infection, and effector cells are detected at $6-14$ days post-infection (Ennis *et al.* [1981], Baccam *et al.* [2006]). These observations give an idea of the time ranges necessary for the beginning of the response, with pathogen recognition by naive cells, followed by their differentiation in effector cells and expansion phase. The expansion phase is followed by a cellular contraction where most of effector cells, about 90% of the population (Murali-Krishna *et al.* [1998]), die by apoptosis : a programmed cell death. Indeed, contraction phase occurs when infection seems to be controled. For instance, effector cells clear the virus in $7-8$ days for lymphocytic choriomeningitis virus infection (Murali-Krishna *et al.* [1998]). With an Influenza A virus infection, effector cells disappear 21 days post-infection (Ennis *et al.* [1981], Baccam *et al.* [2006]). During the response, there is also generation of memory cells that in numbers amount to $5-10\%$ of the effector population (Murali-Krishna *et al.* [1998], Antia *et al.* [2003]). These cells are specific of the antigenic epitope and will support a faster and stronger response when re-encountering the antigen in the future (Wodarz *et al.* [1999], Veiga-Fernandes *et al.* [2000], Arpin *et al.* [2002]). Different hypotheses are discussed about generation of memory cells. The main hypothesis remains that memory cells are generated from the differentiation of effector cells, previously differentiated from naive cells (Sprent *et al.* [2001], Appay *et al.* [2004], Jenkins *et al.* [2008], Bannard *et al.* [2009]), see Figure 2.1.

Here, we are interested in modelling a primary CD8 immune response to an acute infection, that is to say the pathogen has never been encountered by the organism before, and the infection does not result in a chronic infection. For the last ten years, several models of such an immune response have been proposed. Bidot *et al.* [2008] focused on activation of CD4 and CD8 T cells, with description of the dynamics of the T cell receptor. They modeled the molecular mechanisms involved in activation and proliferation of T cells, such as production of IL2 and kinetics of expression

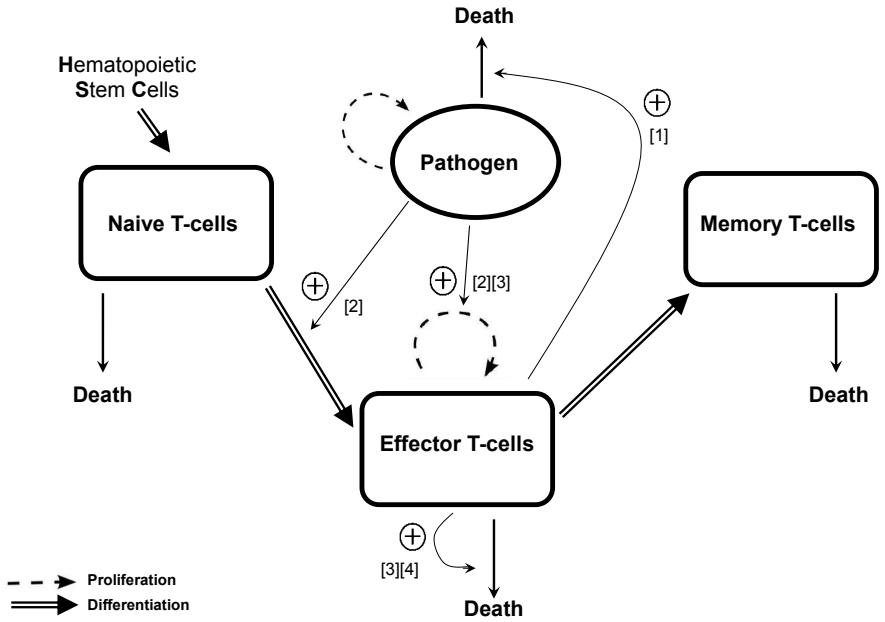


FIGURE 2.1 – Schematic representation of the T CD8 immune response mechanisms. Differentiation (of naive cells into effector cells, and effector cells into memory cells) is represented by thick arrows, proliferation (of pathogen and effector cells) by dashed arrows, and death by straight lines. Positive feedback controls are represented by thin arrows. Biological justifications of this scheme are mentionned in the beginning of Section 2.2.2, and referenced here by numbers ([1] Antia *et al.* [2003], [2] Appay *et al.* [2004], [3] Kemp *et al.* [2004], [4] Su *et al.* [1993]).

of co-receptors on T cells, by ordinary differential equations. Hence, they described the beginning of the response, when a T cell encounters an antigen-presenting cell. Yet they did not consider modelling kinetics of a complete population of T cells on the total duration of the response, with their different states, naive, effector and memory. Other works focused on the modelling of the evolution of infected cells, target cells, and free virus by linear ordinary differential equations. In these models, target cells become infected by the free virus, which is produced in the infected cells (Baccam *et al.* [2006], Saenz *et al.* [2010]). Other mechanims were studied in this type of models, such as interferon response, effects of a drug and influence of an eclipse phase during which cells are infected but the virus cannot replicate in these cells (Baccam *et al.* [2006], Beauchemin *et al.* [2008]). Wodarz *et al.* [1999], Perelson [2001] and Adams *et al.* [2005] considered the same type of mechanisms than Baccam *et al.* [2006], Beauchemin *et al.* [2008] and Saenz *et al.* [2010] but they added equations for immune cells, with either a unique state or two states, resting and activated. These different models focused on the virus titer, so that kinetics of immune cells were not considered in detail. The expansion and contraction phases were not modeled, and there was no study of memory cells. Let us mention an other model which took into account a large amount of actors of the immune response, not only virus, target and infected cells, but also dendritic cells, CD4 and CD8 T cells, and B cells (Lee *et al.* [2009]). CD8 T cells could be naive or effector cells in this model, but there was no memory cell. The model focused in particular on the influence of the presentation of antigen and activation of T cells by antigen-presenting cells, such as dendritic cells. Lee *et al.* [2009] also described migrations of effector cells between tissue and lymphoid compartments with a delay, effects of a drug, and effects of immune cell depletion.

On the contrary, some authors modeled in detail kinetics of different populations of CD8 T cells, naive, effector and memory cells, with linear systems of differential equations. De Boer *et al.* [2001] proposed two systems of ordinary differential equations. In the first one, they assumed that CD8 T cell response was only driven by the pathogen count, hence defining two threshold times, T_{on} and T_{off}. The parameter T_{on} was taken as a recruitment time, which allowed to not consider explicitly naive cell population, supposed to become activated at T_{on}. The period after the time T_{off} corresponds to the end of the response, as antigen stimulation is assumed to be insufficient to maintain proliferation of effector cells after T_{off}. In the second model, differentiation of T cells depends on a saturation function of the viral load. Moreover, CD8 T cells were not supposed to act on the viral load. Naive cells were explicitly modeled, but only their kinetics of activation were taken into account. However, it

seems clear that immune response is not strictly dependent on pathogen amount, since the end of the response does not correspond exactly to the elimination of the pathogen (Kaech *et al.* [2001], Stipdonk *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003]). It has been observed that even with a brief pathogen encounter, T cells begin a complete programmed response, with the different phases of differentiation, proliferation and generation of memory cells. This process seems to be relevant for efficient generation of memory cells, and protection against a future infection by the same pathogen. It is also relevant for vaccinations, for which only one injection may be needed to allow efficient generation of memory cells. Rouzine *et al.* [2005] proposed a system of ordinary differential equations, with a viral load parameter depending on time, given by experimental data. This parameter modeled influence of the pathogen on the immune response, such as proliferation of CD8 T cells or activation of antigen presenting cells. Controls between CD8 T cell differentiation and antigen presenting cell count were also modeled. Kim *et al.* [2007] proposed a more complex model, which is however difficult to study and to confront to experimental data, taking into account CD4 and CD8 T cells, antigen-presenting cells, in the different organs, lymph nodes and tissues, where the response takes place. It can be noticed that none of these models is formed by nonlinear systems, since the different biological rates are taken constant, and do not depend on cell population kinetics.

Here, we will in particular focus on the model of Antia *et al.* [2003, 2005], which has inspired our model with its structure in age for effector cell equation. They modeled a programmed proliferative response of the CD8 T cells after a pathogen encounter, according to the fact that even with a brief pathogen encounter, a complete response is initiated. They proposed the following model,

$$\begin{aligned}
\frac{dN}{dt}(t) &= -bN(t)P(t),\\
\frac{\partial y(t,\tau)}{\partial t} + \frac{\partial y(t,\tau)}{\partial \tau} &= [\rho(\tau) - d(\tau)]y(t,\tau),\\
\frac{dP}{dt}(t) &= rP(t)\left(1 - \frac{P(t)}{c}\right) - hP(t)E(t),
\end{aligned}$$

with

$$y(t,0) = bN(t)P(t),$$

where $N(t)$ corresponds to the naive T cell number at time t, $P(t)$ corresponds to the pathogen count, and $y(t,\tau)$ is the effector cell number at time t and age τ. The total numbers of effector cells $E(t)$ and memory cells $M(t)$ at time t are respectively

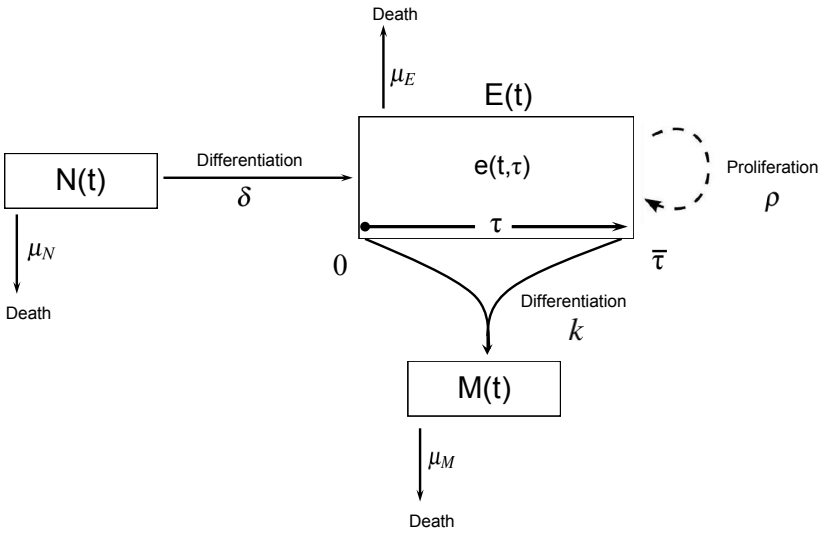


FIGURE 2.2 – Model of the T CD8 cell immune response with a distributed delay. Feedbacks were omitted from the figure for clarity.

given by

$$E(t) = \int_0^{\tau^*} y(t,\tau)\,d\tau \quad \text{and} \quad M(t) = \int_{\tau^*}^{\infty} y(t,\tau)\,d\tau.$$

Parameter b describes the differentiation of naive cells into effector cells, according to the mass action law, $\rho(\tau)$ is the cell division rate and $d(\tau)$ the apoptosis rate of effector cells with age τ. The amount of pathogen increases with a rate r, with a limitation by carrying capacity c, and pathogen is eliminated according to a coefficient of proportionality h such that death is proportional to pathogen and effector cell counts. This system is formed with two ordinary differential equations and a linear age-structured partial differential equation. In this model, one can first notice that the naive cell population is not supplied, neither continuously nor ponctually, by stem cell differentiation. Only a pool of naive cells is considered which is emptied by T cell differentiation under the action of the pathogen $P(t)$. Second, memory cells are produced from "old" effector cells which did not die before reaching the age $\tau = \tau^*$. Finally, no nonlinear dependency of the different rates is considered, only cell age is assumed to act on effector cell proliferation and differentiation.

In our current work, we model kinetics of the immune response for the populations of CD8 T cells described above, naive, effector and memory cells, and kinetics of the pathogen (see Figure 2.1). Inspired by Antia *et al.* [2005], our model is based on a system with an age-structured partial differential equation for effector cell po-

pulation dynamics, and the age represents time since cells have differentiated into effector cells. However, our system is nonlinear since we consider an other mechanism, the regulation of cell dynamics by feedback controls. These controls describe real biological influences of a cell population on differentiation, proliferation and death of the other populations, and on its own fate. For example, the pathogen amount can influence proliferation of effector cells (Appay *et al.* [2004], Kemp *et al.* [2004], Kim *et al.* [2007]), while effector cell population regulates itself by killing not only pathogen, but also immune cells (Su *et al.* [1993], Kemp *et al.* [2004], Guarda *et al.* [2007]). These mechanisms influence the kinetics of the expansion and contraction phases and the switch between these two stages of the response. We consider also that differentiation of effector cells into memory cells is dependent on effector cell age, increasing with cell age, as differentiation of an effector into memory cell is progressive (see Figure 2.2). As a result, the two populations can be present at the same time during the response, which is more realistic than to model a period with only effector cells and then a period with only memory cells.

In the next section, we present the model, which is formed by three nonlinear ordinary differential equations and one age-structured partial differential equation. Then we reduce this age-structured equation to a nonlinear delay differential equation using the method of characteristics. In Section 2.2.4, we study existence and uniqueness of solutions for this system, and we determine steady states of our model. Then, in Section 2.2.5, we analyse the local asymptotic stability of these steady states. Our model can be simplified considering the delay as an average time since effector cells have differentiated. With this modification, we study global asymptotic stability of the system. Finally, we illustrate on some numerical simulations how the model is able to reproduce a CD8 T cell response, before discussing our work in a conclusion.

2.2.2 Mathematical Model of the CD8 Immune Response

This section is devoted to the presentation of a mathematical model of the T CD8 immune response to a primary infection. We consider three types of cells involved in the response, naive T cells, that are resting CD8 T lymphocytes able to react to the stimulation by an antigen ; effector cells, that are antigen-specific cells able to eliminate infected cells ; memory cells, that are resting cells specific of an antigen, generated during the CD8 immune response. We also consider a pathogen amount. These populations interact, so cell fate (here, cell differentiation, proliferation and death) is strongly controled by feedback loops. They appear with dependencies in the different variables for the functions presented below. Hence these dependencies

are based on real biological phenomena, this yields more realistic mechanisms in the model.

We denote by $N(t)$ the naive cell number at time t. These cells are regularly produced by differentiation of hematopoietic stem cells, with a flow H assumed to be constant and positive. Naive cells die with a constant rate μ_N, positive, and differentiate in effector cells with a rate $\delta(P(t))$ which depends on the pathogen amount denoted by $P(t)$ (Appay *et al.* [2004]).

We denote by $e(t,\tau)$ the effector cell number at time t, with age τ. We consider a limit $\bar{\tau}$ for effector cell age, at which cells necessarily become memory cells, so $\tau \in [0,\bar{\tau})$. Effector cells are killer cells which eliminate not only pathogen but also cells of immune system as soon as they express the antigen and are then recognized as targets. Hence effector cells die with a rate μ_E which depends on total effector cell number (Su *et al.* [1993], Kemp *et al.* [2004])

$$E(t) = \int_0^{\bar{\tau}} e(t,\tau)\, d\tau, \tag{2.1}$$

they proliferate with a rate ρ which depends on pathogen amount $P(t)$ (Appay *et al.* [2004], Kemp *et al.* [2004], Kim *et al.* [2007]), and finally, effector cells differentiate into memory cells with a rate $k(\tau)$ which depends on cell age, in agreement with the hypothesis of a linear model of differentiation, in which cells become effector before differentiating into memory cells (Sprent *et al.* [2001], Appay *et al.* [2004], Jenkins *et al.* [2008], Bannard *et al.* [2009]).

We consider the pathogen amount $P(t)$ at time t. As pathogen may reproduce within the organism, we denote by $I(t)$ the production rate of pathogen. Later, we will consider the particular case of a nonproliferating pathogen, as in a vaccine injection for example, so we will no longer consider the parameter I in the system. Pathogen is eliminated with a rate μ_P which depends on the total number of effector cells $E(t)$ (Antia *et al.* [2003]).

We denote by $M(t)$ the memory cell number at time t. These cells die with a rate μ_M assumed to be constant and positive, and are produced by differentiation of effector cells.

Cell population numbers $N(t)$, $e(t,\tau)$, $M(t)$ and pathogen count $P(t)$ satisfy the following system, for $t > 0$ and $\tau \in [0,\bar{\tau})$:

$$\begin{aligned}
\frac{dN}{dt}(t) &= H - \mu_N N(t) - \delta(P(t))N(t), && \text{(2.2a)}\\
\frac{\partial e(t,\tau)}{\partial t} + \frac{\partial e(t,\tau)}{\partial \tau} &= [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t)) - k(\tau)]e(t,\tau), && \text{(2.2b)}\\
\frac{dP}{dt}(t) &= I(t) - \mu_P(E(t))P(t), && \text{(2.2c)}\\
\frac{dM}{dt}(t) &= \int_0^{\bar{\tau}} k(\tau)e(t,\tau)\,d\tau - \mu_M M(t). && \text{(2.2d)}
\end{aligned}$$

One can note that the term $k(\tau)e(t,\tau)$ expresses number of effector cells with age τ that differentiate in memory cells at time t. Hence, the first term in the right hand side of equation (2.2d) corresponds to the total number of cells differentiated from effector to memory cells at time t and these cells supply the memory cell compartment.

System (3.1) is completed with the following initial conditions :

$$\begin{cases}
N(0) &= N_0,\\
e(0,\tau) &= e_0(\tau), \quad \tau \in [0,\bar{\tau}),\\
P(0) &= P_0,\\
M(0) &= M_0,
\end{cases}$$

with $N_0 \geq 0$, $e_0(\tau) \geq 0$, $P_0 \geq 0$, $M_0 \geq 0$, and the following boundary condition :

$$e(t,0) = \delta(P(t))N(t), \quad t > 0. \tag{2.3}$$

Boundary condition (2.3) describes naive cell differentiation into effector cells due to the presence of pathogen.

Let us discuss properties of the functions δ, ρ, μ_E, k and μ_P defined above. First, regarding naive cells, we can assume that the more pathogen, the stronger the differentiation of naive into effector cells (Appay *et al.* [2004]), so the function $\delta(P)$ is assumed to be increasing. As it has been observed that cellular expansion is not completely dependent on pathogen amount (Kaech *et al.* [2001], Stipdonk *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003]), the hypothesis that differentiation is not completely dependent on pathogen is also discussed, but remains a more complex mechanism. Indeed, differentiation of naive cells into effector cells is the main process following the encounter of the pathogen by naive cells, so differentiation is released by pathogen and seems to be greatly dependent on its presence. Hence we assume here that, if there is no pathogen, there is no differentiation of naive into effector cells, so $\delta(0)$

is assumed to vanish.

Second, regarding effector cells, the more pathogen, the more effector cell proliferation (Appay *et al.* [2004], Kemp *et al.* [2004], Kim *et al.* [2007]), so the function $\rho(P)$ is assumed to be increasing. We also suppose $\rho(P)$ nonnegative, for all P. As told above, cellular expansion is not completely dependent on pathogen amount (Kaech *et al.* [2001], Stipdonk *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003]). In particular, the end of the response does not correspond strictly to elimination of pathogen. Hence we can assume that $\rho(0)$ is positive, that is to say proliferation of effector cells can occur even if pathogen has been removed. Regarding effector cell death, the more effector cells, the more important their action of killer cells on their own population (Su *et al.* [1993], Kemp *et al.* [2004], Guarda *et al.* [2007]) and the more important the death rate $\mu_E(E)$, so $\mu_E(E)$ is assumed to be increasing. We also define the natural death rate of effector cells as a positive constant μ_E^0, so that even in absence of cytotoxic activity, effector cells can die, that is to say $\mu_E(0) = \mu_E^0$. This yields $\mu_E(E) \geq \mu_E^0$ for all E. In addition, older cells are more enclined to differentiate in memory cells. This follows the hypothesis of a linear model of differentiation, in which cells become effector before differentiating into memory cells (Sprent *et al.* [2001], Appay *et al.* [2004], Jenkins *et al.* [2008], Bannard *et al.* [2009]). Hence we suppose the function $k : \tau \in [0, \bar{\tau}) \mapsto k(\tau)$ positive and increasing on $[0, \bar{\tau})$. All effector cells should have died or differentiated in memory cells at age $\bar{\tau}$, so we also suppose

$$\int_0^{\bar{\tau}} k(\tau)\, d\tau = +\infty. \tag{2.4}$$

Finally, regarding pathogen amount, the more effector cells, the more important their action of killer cells on pathogen (Antia *et al.* [2003]), so the function $\mu_P(E)$ is increasing. We also define the natural death rate of pathogen as a positive constant μ_P^0, so that even in absence of effector cells, pathogen is eliminated, that is to say $\mu_P(0) = \mu_P^0$. This yields $\mu_P(E) \geq \mu_P^0$ for all E.

System (3.1) is formed with three nonlinear ordinary differential equations and one nonlinear age-structured partial differential equation. Contrary to the model of Antia *et al.* [2005], these nonlinearities model the regulation of cell dynamics by real biological feedback controls. As Antia *et al.* [2005], we consider that differentiation of effector cells into memory cells is dependent on effector cell age, even though the dependency is not completely similar.

In the following, we reduce equation (2.2b) to a delay differential equation with a distributed delay. Thus we will work on a system based on evolution of total number

of cells, in particular for effector cells. Such a reduction is relevant, since total number of cells corresponds to quantities which can be measured experimentally. Hence the reduced model will be better confronted with experimental results. We can also notice that equation (2.2d) describing evolution of memory cells is not coupled with other equations and its dynamics have no influence on dynamics of the other cell populations. Hence we will not consider it in the following study and we will only focus on equations (2.2a), (2.2b) and (2.2c).

2.2.3 Reduction to a delay differential system

We use the method of characteristics (Webb [1985]) to reduce equation (2.2b) to a delay differential equation. We integrate equation (2.2b) over the age, with boundary conditions (2.3), to obtain :

$$\begin{aligned} \frac{dE(t)}{dt} &= [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))]\, E(t) + \delta(P(t))N(t) - \int_0^{\bar{\tau}} k(\tau)e(t,\tau)\, d\tau \\ &\quad -e(t,\bar{\tau}), \end{aligned} \tag{2.5}$$

where $E(t)$ is expressed by (2.1).

We can explicitly write the term $e(t,\tau)$ in (2.5) as a function of $E(t)$, $N(t)$ and $P(t)$, by using the method of characteristics and equation (2.2b). Characteristic curves of equation (2.2b) are given by

$$\begin{cases} \dfrac{d\tau}{dt}(t) = 1, \\ \\ \tau(0) = \tau_0, \quad \tau_0 \in \mathbb{R}. \end{cases}$$

We set

$$v(t) = e(t,\tau(t)) = e(t, t+\tau_0), \qquad \text{for} \quad t \geq t_0 := \max\{0, -\tau_0\}.$$

Then, using equation (2.2b),

$$\frac{dv}{dt}(t) = [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t)) - k(t+\tau_0)]\, v(t).$$

We solve this equation to obtain

$$v(t) = v(t_0) \exp\left(\int_{t_0}^{t} [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s)) - k(s+\tau_0)]\, ds \right),$$

where, when $\tau_0 = \tau - t > 0$,

$$v(t_0) = e_0(\tau_0),$$

and when $\tau_0 = \tau - t \leq 0$, from (2.3),

$$v(t_0) = e(-\tau_0, 0) = \delta(P(-\tau_0))N(-\tau_0).$$

Since $\tau_0 = \tau - t$ and using the change of variable $s \rightsquigarrow s + \tau - t$ in the first integral term, we finally obtain, for $t < \tau$:

$$e(t,\tau) = e_0(\tau - t)\exp\left(\int_0^t [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds - \int_{\tau-t}^{\tau} k(s)\,ds\right),$$

and for $t \geq \tau$:

$$e(t,\tau) = \delta(P(t-\tau))N(t-\tau)\exp\left(\int_{t-\tau}^t [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds - \int_0^{\tau} k(s)\,ds\right). \quad (2.6)$$

It follows, from (2.4), that for all $t > 0$, $e(t,\bar{\tau}) = 0$. We deduce the equation satisfied by $E(t)$ depending only on the total counts of populations $E(t)$, $N(t)$, $P(t)$, from (2.5),

$$\frac{dE(t)}{dt} = [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))]E(t) + \delta(P(t))N(t)$$
$$- \begin{cases} \displaystyle\int_0^t \delta(P(t-\tau))N(t-\tau)\exp\left(\int_{t-\tau}^t [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds\right) f(\tau)\,d\tau \\ \qquad \displaystyle + \exp\left(\int_0^t [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds\right)\int_t^{\bar{\tau}} e_0(\tau - t)K(t,\tau)\,d\tau, \\ \qquad\qquad\qquad\qquad \text{if} \quad 0 \leq t \leq \bar{\tau}, \\ \displaystyle\int_0^{\bar{\tau}} \delta(P(t-\tau))N(t-\tau)\exp\left(\int_{t-\tau}^t [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds\right) f(\tau)\,d\tau, \\ \qquad\qquad\qquad\qquad \text{if} \quad \bar{\tau} \leq t, \end{cases} \quad (2.7)$$

where f is defined for $\tau > 0$ by

$$f(\tau) = k(\tau)\exp\left(-\int_0^{\tau} k(s)\,ds\right),$$

and K is defined by

$$K(t,\tau) = \begin{cases} f(\tau)\exp\left(\displaystyle\int_0^{\tau-t} k(s)\,ds\right), & \text{if} \quad t < \tau, \\ \\ f(\tau), & \text{if} \quad t \geq \tau. \end{cases}$$

One can note that f is a density with support $[0, \bar{\tau}]$.

In equation (2.7), differentiation in memory cells of effector cells with age τ at time t is expressed by the last term on the right hand side. When $t \leq \bar{\tau}$, initial number of cells $e_0(\tau)$ is consumed to generate memory cells, so memory cells are produced both by differentiation of the initial condition $e_0(\tau)$ and differentiation of "new" effector cells at the same time (this latter event produces the delayed term $\delta(P(t-\tau))N(t-\tau)$). However, when $t \geq \bar{\tau}$, initial condition is totally consumed and memory cells can appear only from differentiation of other cells, that is effector cells coming from the differentiation of naive cells. We can also note that the exponential term acts as a survival rate, and effector cells differentiate with a distribution $f(\tau)$.

Finally, $N(t), E(t)$ and $P(t)$ satisfy the following system :

$$\frac{dN}{dt}(t) = H - \mu_N N(t) - \delta(P(t))N(t), \tag{2.8a}$$

$$\begin{aligned} \frac{dE(t)}{dt} &= [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))]E(t) + \delta(P(t))N(t) \\ &\quad - \int_0^t \delta(P(t-\tau))N(t-\tau) \\ &\qquad \times \exp\left(\int_{t-\tau}^t [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds\right) f(\tau)\,d\tau \\ &\quad - \exp\left(\int_0^t [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds\right) \int_t^{\bar{\tau}} e_0(\tau - t)K(t,\tau)\,d\tau, \end{aligned} \tag{2.8b}$$

$$\frac{dP}{dt}(t) = I(t) - \mu_P(E(t))P(t), \tag{2.8c}$$

if $0 \leq t \leq \bar{\tau}$, and

$$\frac{dN}{dt}(t) = H - \mu_N N(t) - \delta(P(t))N(t), \tag{2.9a}$$

$$\begin{aligned}\frac{dE}{dt}(t) &= [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))]E(t) + \delta(P(t))N(t) \\ &\quad - \int_0^{\bar\tau} \delta(P(t-\tau))N(t-\tau) \\ &\qquad \times \exp\left(\int_{t-\tau}^{t} [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\, ds\right) f(\tau)\, d\tau,\end{aligned} \tag{2.9b}$$

$$\frac{dP}{dt}(t) = I(t) - \mu_P(E(t))P(t), \tag{2.9c}$$

if $\bar\tau \leq t$, with initial conditions

$$N(0) = N_0, \qquad E(0) = E_0 := \int_0^{\bar\tau} e_0(\tau)\, d\tau, \qquad P(0) = P_0. \tag{2.10}$$

In the following, we will mathematically study this system, to verify existence and uniqueness of solutions and to determine existence and stability of steady states.

2.2.4 Existence and uniqueness of solutions and steady states

We now introduce mathematical results for the system (2.8)-(2.9). First, we can verify existence and uniqueness of solutions for this system.

Proposition 2.2.1. *Suppose that functions μ_E, δ, μ_P, ρ are bounded on $[0, +\infty)$ respectively by $\bar{\mu_E}$, $\bar\delta$, $\bar{\mu_P}$, $\bar\rho$. We also suppose they are Lipschitz functions. Finally we suppose $I \geq 0$ bounded by $\bar I$. For any initial condition (N_0, E_0, P_0) satisfying (2.10), system (2.8)-(2.9) has only one solution on $[0, +\infty)$, denoted by $(N(t), E(t), P(t))$, and this solution is bounded.*

Proof. From Hale *et al.* [1993], for each continuous initial condition, system (2.8)-(2.9) has a continuous maximal solution $(N(t), E(t), P(t))$, well-defined for $t \in [0, T)$. We can prove that this solution is bounded.

We consider a solution $(N(t), E(t), P(t))$ of system (2.8)-(2.9), defined on $[0, T)$. We can suppose that $T > \bar\tau$. Then, it is straightforward, from (2.9a), that, for all $t \in [0, T)$,

$$|N(t)| \leq |N(0)| + \frac{H}{\mu_N} := C_N.$$

We have also, integrating (2.9b) between $\bar{\tau}$ and t,

$$E(t) = \exp\left(\int_{\bar{\tau}}^{t} \rho(P(\theta))\,d\theta\right) E(\bar{\tau}) + \int_{\bar{\tau}}^{t} \exp\left(\int_{u}^{t} \rho(P(\theta))\,d\theta\right) \delta(P(u))N(u)\,du$$
$$- \int_{\bar{\tau}}^{t} \exp\left(\int_{u}^{t} \rho(P(\theta))\,d\theta\right) \mu_E(E(u))E(u)\,du$$
$$- \int_{\bar{\tau}}^{t} \exp\left(\int_{u}^{t} \rho(P(\theta))\,d\theta\right)$$
$$\times \left[\int_{0}^{\bar{\tau}} \delta(P(u-\tau))N(u-\tau) \exp\left(\int_{u-\tau}^{u} [\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds\right) f(\tau)\,d\tau\right] du.$$

We obtain, for all $t \in [\bar{\tau}, T)$,

$$|E(t)| \leq (|E(\bar{\tau})| + \alpha) \exp\left((\bar{\mu} + \bar{\rho})(T - \bar{\tau})\right),$$

where

$$\alpha := \frac{\bar{\delta} C_N}{\bar{\rho}} \left[1 + \int_{0}^{\bar{\tau}} \exp(\bar{\rho}\tau) f(\tau)\,d\tau\right].$$

Finally, from (2.9c), we get, for all $t \in [0, T)$,

$$|P(t)| \leq |P(0)| + \bar{I} \exp(\bar{\mu_P} T) T.$$

Hence the solutions $(N(t), E(t), P(t))$ of the system (2.8)-(2.9) are bounded on $[0, T)$ with

$$\lim_{t \to T} (N(t), E(t), P(t)) < +\infty.$$

Finally, from Hale *et al.* [1993], since the maximal solution of the system (2.8)-(2.9) is bounded on $[0, T)$ and $\lim_{t \to T}(N(t), E(t), P(t)) < +\infty$, we conclude that this solution is global, and we can prove this solution is unique for $t \geq 0$. □

In the following, we take $I \equiv 0$: we focus on the particular case of a nonproliferating pathogen, as in a vaccine injection for example. System (2.9) is now autonomous and we can study existence and stability of steady states for this system.

A solution $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P})$ of system (2.9) is a steady state if and only if

$$\frac{d\bar{N}}{dt} = \frac{d\bar{E}}{dt} = \frac{d\bar{P}}{dt} = 0.$$

So, from (2.9), $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P})$ is a steady state if and only if

$$(\mu_N + \delta(\bar{P}))\bar{N} = H, \tag{2.11a}$$

$$\left[\rho(\bar{P}) - \mu_E(\bar{E})\right]\bar{E} = \left(\int_0^{\bar{\tau}} e^{[\rho(\bar{P})-\mu_E(\bar{E})]\tau} f(\tau)\, d\tau - 1\right)\delta(\bar{P})\bar{N}, \tag{2.11b}$$

$$\mu_P(\bar{E})\bar{P} = 0. \tag{2.11c}$$

From (2.11b), $\mu_P(\bar{E}) = 0$ or $\bar{P} = 0$. Since we supposed that $\mu_P(\bar{E}) > 0$, then $\bar{P} = 0$.

We also supposed $\delta(0) = 0$. Then (2.11a) becomes :

$$(\rho(0) - \mu_E(\bar{E}))\bar{E} = 0.$$

Hence, in a first case, $\bar{E} = 0$. In a second case, $\mu_E(\bar{E}) = \rho(0)$. We assumed $\mu_E(E) > 0$ for all E and μ_E is increasing, so there exists a unique $E^* > 0$ such that $\mu_E(E^*) = \rho(0)$ if and only if

$$\mu_{\bar{E}} > \rho(0) > \mu_E(0). \tag{2.12}$$

In all cases, we determine $\bar{N}$ from (2.11). Since $\bar{P} = 0$ and $\delta(0) = 0$, then $\bar{N} = H/\mu_N$. Finally we obtain the following result,

Proposition 2.2.2. *If $\rho(0) \leq \mu_E(0)$, system (2.9) has a unique steady state, $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P}) = (H/\mu_N, 0, 0)$, and if $\rho(0) > \mu_E(0)$, system (2.9) has two steady states, $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P}) = (H/\mu_N, 0, 0)$ and $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P}) = (H/\mu_N, E^*, 0)$, where $E^* = \mu_E^{-1}(\rho(0)) > 0$.*

We assume the first inequality in (2.12), $\mu_{\bar{E}} > \rho(0)$, is always satisfied. Indeed, if $\rho(0) > \mu_{\bar{E}}$ then proliferation always exceeds apoptosis for effector cells, hence it becomes impossible to observe an immune response with its typical contraction phase and the model's behavior is not biologically realistic.

From a biological point of view, Proposition 2.2.2 indicates that if, in the absence of pathogens, proliferation rate of effector cells is lower than their natural death rate, then the only steady state for system (2.9) corresponds to extinction of effector cell population. This steady state also exists if, in the absence of pathogen, proliferation rate of effector cells is greater than their natural death rate. Yet, in this second case, an other steady state appears, in which effector cell population is still present and does not completely die out. However, in the two cases, pathogen is completely eliminated and naive cells remain because of a constant production by hematopoietic

stem cells. We can finally note that, from equation (2.2d) for memory cells $M(t)$, using (2.6), we obtain, for $t \geq \bar{\tau}$,

$$\frac{dM}{dt}(t) = -\mu_M M(t) + \int_0^{\bar{\tau}} \delta(P(t-\tau))N(t-\tau)\exp\left(\int_{t-\tau}^{t}[\rho(P(s)) - \mu_E(E(s))]\,ds\right) f(\tau)\,d\tau.$$

Hence, since $\bar{P} = 0$ and $\delta(0) = 0$, a solution $\bar{M}$ of this equation is a steady state if and only if

$$\mu_M \bar{M} = 0.$$

This yields that the only steady state for memory cell population is $\bar{M} = 0$, which corresponds to memory cell extinction. It is not a contradiction with generation of memory cells, useful in a second infection by the same pathogen, because despite their long-lived property memory cells die like other cells, at a natural death rate denoted by μ_M here. Hence, on a long term (asymptotically), memory cells are not expected to survive.

In the next section, we analyze the local asymptotic stability of the steady states.

2.2.5 Local asymptotic stability of steady states

We can now analyze the asymptotic behavior ot the solutions of system (2.9) by studying the local asymptotic stability of its steady states. Let $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P})$ be a steady state of system (2.9), defined in Proposition 2.2.2. We assume that all functions in system (2.9) are continuously differentiable. The linearized system of (2.9) around $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P})$ is then

$$\begin{aligned}
\frac{dN}{dt}(t) &= -\mu_N N(t) - \delta(\bar{P})N(t) - \delta'(\bar{P})\bar{N}P(t),\\
\frac{dP}{dt}(t) &= -\mu_P(\bar{E})P(t) - \bar{P}\mu'_P(\bar{E})E(t),\\
\frac{dE}{dt}(t) &= \left[\rho(\bar{P}) - \mu_E(\bar{E}) - \bar{E}\mu'_E(\bar{E})\right]E(t) + \delta(\bar{P})N(t)\\
&\quad + \left[\bar{E}\rho'(\bar{P}) + \bar{N}\delta'(\bar{P})\right]P(t) - \int_0^{\bar{\tau}} f(\tau)\exp\left((\rho(\bar{P}) - \mu_E(\bar{E}))\tau\right)\\
&\quad \times\Big[\delta(\bar{P})N(t-\tau) + \bar{N}\delta'(\bar{P})P(t-\tau)\\
&\quad +\delta(\bar{P})\bar{N}\int_{-\tau}^{0}\rho'(\bar{P})P(s-t) - \mu'_E(\bar{E})E(s-t)\,ds\Big]\,d\tau,
\end{aligned} \tag{2.13}$$

where we still use, for the sake of simplicity, $N(t)$, $E(t)$ and $P(t)$ instead of $N(t)-\bar{N}$, $E(t)-\bar{E}$ and $P(t)-\bar{P}$. Since $\bar{P}$ is equal to zero for all steady states, and as we assumed $\delta(0)=0$, then $\delta(\bar{P})=0$ in (2.13). The system (2.13) can be rewritten as

$$\frac{dX}{dt}(t) = AX(t) - \int_0^{\bar{\tau}} g(\tau)BX(t-\tau)\,d\tau,$$

where $g(\tau) = f(\tau)\exp([\rho(0)-\mu_E(\bar{E}])\tau)$, $X(t) = (N(t), E(t), P(t))^T$, and

$$A = \begin{pmatrix} -\mu_N & -\delta'(0)\bar{N} & 0 \\ 0 & -\mu_P(\bar{E}) & 0 \\ 0 & \bar{E}\rho'(0) + \bar{N}\delta'(0) & \rho(0) - \mu_E(\bar{E}) - \bar{E}\mu'_E(\bar{E}) \end{pmatrix},$$

and

$$B = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & \bar{N}\delta'(0) & 0 \end{pmatrix}.$$

The characteristic equation associated with system (2.13) is then defined by

$$\det\left(\lambda I_3 - A + \int_0^{\bar{\tau}} e^{-\lambda\tau} g(\tau)B\,d\tau\right) = 0,$$

where $\lambda \in \mathbb{C}$ and I_3 is the identity matrix in $\mathbb{R}^3$. After calculations, this equation reduces to

$$(\lambda+\mu_N)(\lambda+\mu_P(\bar{E}))(\lambda-\rho(0)+\mu_E(\bar{E})+\bar{E}\mu'_E(\bar{E})) = 0. \tag{2.14}$$

We recall that the steady state $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P})$ of (2.9) is locally asymptotically stable if all eigenvalues of (3.6) have negative real parts, and is unstable when eigenvalues with positive real parts exist Hale *et al.* [1993]. All eigenvalues of (3.6) are real, defined by

$$\lambda_1 = -\mu_N, \qquad \lambda_2 = -\mu_P(\bar{E}), \qquad \lambda_3 = \rho(0) - \mu_E(\bar{E}) - \bar{E}\mu'_E(\bar{E}).$$

We assumed $\mu_N > 0$ and $\mu_P(E) > 0$ for all E, hence λ_1 and λ_2 are negative whatever the value of $\bar{E}$.

By Proposition 2.2.2, if $\rho(0) < \mu_E(0)$, then $\bar{E} = 0$ is the unique steady state, and $\lambda_{3,0} = \rho(0) - \mu_E(0) < 0$, so the steady state $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P}) = (H/\mu_N, 0, 0)$ is locally asymptotically stable.

On the other hand, if $\rho(0) > \mu_E(0)$, then $\bar{E} = 0$ and $\bar{E} = E^*$ are the two possible

steady states. In this case, one gets $\lambda_{3,0} = \rho(0) - \mu_E(0)$ and $\lambda_{3,*} = \rho(0) - \mu_E(E^*) - E^*\mu'_E(E^*)$. Since $\rho(0) > \mu_E(0)$, we have immediatly $\lambda_{3,0} > 0$, so the linearised system about $\bar{E} = 0$ has a positive eigenvalue.

When $\rho(0) > \mu_E(0)$, we have $\mu_E(E^*) = \rho(0)$, hence $\lambda_{3,*} = -E^*\mu'_E(E^*)$. Furthermore, $\mu_E(E)$ is increasing, so $\mu'_E(E) > 0$ for all E, and we finally obtain $\lambda_{3,*} < 0$. This yields that when $\bar{E} = E^*$, all eigenvalues of (3.6) are negative.

These results lead to the following conclusion on asymptotic behavior of the solutions of system (2.9).

Proposition 2.2.3. *The steady state* $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P}) = (H/\mu_N, 0, 0)$ *is unstable if* $\rho(0) > \mu_E(0)$*, and locally asymptotically stable if* $\rho(0) < \mu_E(0)$*. The steady state* $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P}) = (H/\mu_N, E^*, 0)$*, which exists only if* $\rho(0) > \mu_E(0)$*, is locally asymptotically stable.*

Biologically, this indicates that if, in the absence of pathogen, proliferation rate of effector cells is lower than their natural death rate, then effector cells and pathogen go to extinction, whereas naive cells reach on a long term a steady state. It can be interpreted as the end of infection, with a return to a healthy organism. On the contrary, if proliferation rate of effector cells is greater than their natural death rate, the previous steady state becomes unstable. Moreover, the new steady state which appears, with effector cells still present despite elimination of pathogen, is locally asymptotically stable. It can also be interpreted as the end of infection, because pathogen is also eliminated in this case, but with an amount of effector cells which does not disappear. It is a case less natural than the previous one, in our context of acute infection, in which specific cells of immune response like effector cells should disappear after elimination of disease.

When $\rho(0) = \mu_E(0)$, then, for $\bar{E} = 0$, $\lambda_{3,0} = 0$ is an eigenvalue. From (3.6), this eigenvalue is simple, so $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{P}) = (H/\mu_N, 0, 0)$ is locally stable in this case, but not locally asymptotically stable. Further analysis would be necessary to analyse the asymptotic stability, yet since this case is unlikely to be biologically realistic, we will not go deeper in such an analysis.

From system (2.11) and from characteristic equation calculated above, we have existence and stability of steady states for the system (2.9). This result deals with the local asymptotic stability of system (2.9) endowed with general initial conditions defined on the interval $[0, \bar{\tau}]$. In the next section, we focus on the global asymptotic stability of system (2.8)-(2.9), that is we endow system (2.9) with particular initial conditions, described in system (2.8), corresponding to the biological situation we aim at modeling. In the following, since above stability and existence results are independent of the nature of the delay, we simplify the system without losing its properties, considering $\bar{\tau}$ as an average age at which effector cells differentiate and

no more as a limit age (see Figure 2.3). In the delay differential system, we obtain a discrete delay $\bar{\tau}$ in spite of a distributed delay.

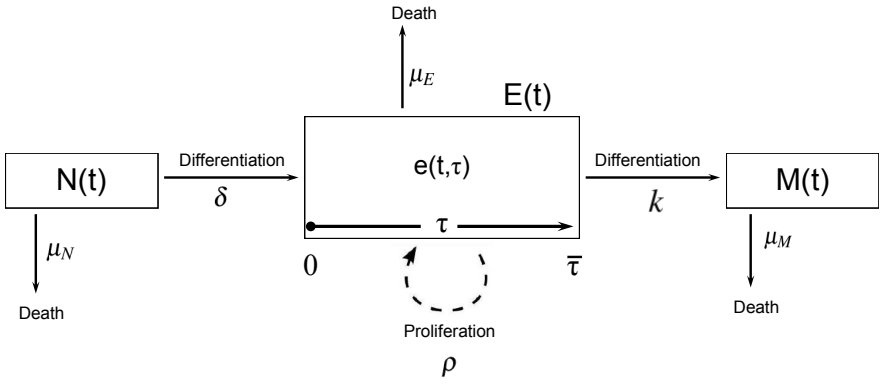


FIGURE 2.3 – Simplified model of the T CD8 cell immune response with a discrete delay.

2.2.6 Global asymptotic stability

As in the previous analysis, we assume $I \equiv 0$. We modify system (2.8)-(2.9) to obtain a system with a discrete delay. Then we determine an expression of $E(t)$ solution of the effector cell equation. Thus we obtain a useful expression to study global asymptotic stability of a steady state of the system, in which effector cells go to extinction after eliminating pathogen. System (2.8)-(2.9) with a discrete delay $\bar{\tau}$ becomes

$$
\begin{aligned}
\frac{dN}{dt}(t) &= H - \mu_N N(t) - \delta(P(t))N(t), && \text{(2.15a)}\\
\frac{dE}{dt}(t) &= \Big[\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))\Big]E(t) + \delta(P(t))N(t)\\
&\quad - \exp\left(\int_0^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right) e_0(\bar\tau - t),\\
&\qquad\qquad \text{if} \quad 0 \le t < \bar\tau, && \text{(2.15b)}\\
\frac{dE}{dt}(t) &= \Big[\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))\Big]E(t) + \delta(P(t))N(t)\\
&\quad - \exp\left(\int_{t-\bar\tau}^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right) \delta(P(t-\bar\tau))N(t-\bar\tau),\\
&\qquad\qquad \text{if} \quad \bar\tau \le t, && \text{(2.15c)}\\
\frac{dP}{dt}(t) &= -\mu_P(E(t))P(t). && \text{(2.15d)}
\end{aligned}
$$

with initial conditions (2.10). One can note that, contrary to system (2.8)-(2.9), the condition

$$e_0(0) = \delta(P_0)N_0$$

must be added to obtain continuity of the derivative of E for $t = \bar\tau$.

Let $(N(t), E(t), P(t))$ be the unique solution of (2.10) and (2.15). Integrating (2.15b), for all $t \in [0, \bar\tau]$, we obtain

$$
\begin{aligned}
E(t) &= \exp\left(\int_0^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right) E(0)\\
&\quad + \int_0^t \left[\delta(P(s))N(s)\exp\left(\int_s^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right)\right.\\
&\quad \left. - \exp\left(\int_0^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right) e_0(\bar\tau - s)\right] ds.
\end{aligned}
$$

Since, from (2.10), $E(0) = \displaystyle\int_0^{\bar\tau} e_0(\tau)\,d\tau$, and using the change of variable $\tau = \bar\tau - s$ in the last term of the equality, we have, for all $t \in [0, \bar\tau]$,

$$
\begin{aligned}
E(t) &= \exp\left(\int_0^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right) \int_0^{\bar\tau - t} e_0(\tau)\,d\tau\\
&\quad + \int_0^t \delta(P(s))N(s)\exp\left(\int_s^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right) ds.
\end{aligned} \qquad \text{(2.16)}
$$

We still denote $E(t)$ the unique solution of (2.15b)-(2.15c), given by (2.16) on the interval $[0, \bar{\tau}]$. We define, for all $t \geq \bar{\tau}$,

$$V(t) = \int_{t-\bar{\tau}}^{t} \delta(P(s))N(s) \exp\left(\int_{s}^{t} [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\, du\right) ds. \tag{2.17}$$

From the properties of the different functions $\delta, \rho, \mu_E, \mu_P$, which are supposed continuously differentiable, the function
$(t,s) \mapsto \delta(P(s))N(s) \exp\left(\int_s^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\, du\right)$ is continuous with respect to t and s, and differentiable with respect to t, so $V(t)$ is differentiable for $t \geq \bar{\tau}$. Hence we obtain, for all $t \geq \bar{\tau}$,

$$\begin{aligned}\frac{dV}{dt}(t) &= [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))]V(t) + \delta(P(t))N(t) \\ &\quad -\delta(P(t-\bar{\tau}))N(t-\bar{\tau}) \exp\left(\int_{t-\bar{\tau}}^{t} [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\, du\right).\end{aligned}$$

And using (2.15c), for all $t \geq \bar{\tau}$,

$$\frac{d}{dt}(V - E)(t) = [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t))](V - E)(t),$$

so, for all $t \geq \bar{\tau}$,

$$V(t) = E(t) + [V(\bar{\tau}) - E(\bar{\tau})] \exp\left(\int_{\bar{\tau}}^{t} [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\, du\right).$$

From (2.17),

$$V(\bar{\tau}) = \int_{0}^{\bar{\tau}} \delta(P(s))N(s) \exp\left(\int_{s}^{\bar{\tau}} [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\, du\right) ds,$$

and by (2.16)

$$E(\bar{\tau}) = \int_{0}^{\bar{\tau}} \delta(P(s))N(s) \exp\left(\int_{s}^{\bar{\tau}} [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\, du\right) ds = V(\bar{\tau}).$$

So, for all $t \geq \bar{\tau}$, $V(t) = E(t)$. We finally obtain an expression of $E(t)$, for all $t \geq 0$,

$$\begin{cases} E(0) &= \displaystyle\int_0^{\bar\tau} e_0(\tau)\,d\tau \\ E(t) &= \exp\left(\displaystyle\int_0^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right)\int_0^{\bar\tau - t} e_0(\tau)\,d\tau \\ &\quad + \displaystyle\int_0^t \delta(P(s))N(s)\exp\left(\int_s^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right)ds, \\ & \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad \text{for} \quad t \in [0,\bar\tau], \\ E(t) &= \displaystyle\int_{t-\bar\tau}^t \delta(P(s))N(s)\exp\left(\int_s^t [\rho(P(u)) - \mu_E(E(u))]\,du\right)ds, \\ & \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad \text{for} \quad t \geq \bar\tau. \end{cases} \tag{2.18}$$

We can note that this is not an explicit expression of $E(t)$, yet it defines $E(t)$ as the solution of a fixed point problem. This expression is useful to prove that

$$\lim_{t\to+\infty} E(t) = 0,$$

and we can finally prove the following result.

Proposition 2.2.4. *The solution $(N(t), E(t), P(t))$ of system (2.15), with any non-negative initial condition (N_0, E_0, P_0) given by (2.10), converges to the steady state $(H/\mu_N, 0, 0)$.*

Proof. First, from (2.15d), $\lim_{t\to+\infty} P(t) = 0$. Second, from (2.15a), since $\lim_{t\to+\infty} P(t) = 0$ and $\delta(0) = 0$, then $\lim_{t\to+\infty} N(t) = H/\mu_N$. Finally, we prove that $\lim_{t\to+\infty} E(t) = 0$.

By (2.18), for all $t \geq \bar\tau$,

$$E(t) = \int_0^{\bar\tau} \delta(P(t-s))N(t-s)\exp\left(\int_0^s [\rho(P(t-u)) - \mu_E(E(t-u))]\,du\right)ds,$$

therefore, for all $t \geq \bar\tau$,

$$|E(t)| \leq \int_0^{\bar\tau} \delta(P(t-s))N(t-s)\exp(\bar\rho s)\,ds.$$

We assumed $\delta(0) = 0$, this yields

$$\lim_{t\to+\infty} \int_0^{\bar\tau} \delta(P(t-s))N(t-s)\exp(\bar\rho s)\,ds = 0,$$

which proves that

$$\lim_{t\to+\infty} E(t) = 0.$$

We proved that for $N_0 \geq 0$, $E_0 \geq 0$ and $P_0 \geq 0$, the solution $(N(t), E(t), P(t))$ of system (2.15) tends to the steady state $(H/\mu_N, 0, 0)$. □

When we focused on local asymptotic stability of the steady states in Section 2.2.5, we studied system (2.9) endowed with general initial conditions defined on the interval $[0, \bar{\tau}]$. In this general situation, we obtained two steady states whose local asymptotic stability is dependent on the sign of $\rho(0) - \mu_E(0)$. Above, we focused on the global asymptotic stability of system (2.8)-(2.9), that is we endowed system (2.9) with the particular initial conditions described in (2.8). This particular case really corresponds to the biological situation of the immune response we want to model. Consequently, the convergence result obtained in Proposition 2.2.4 does not depend on the sign of $\rho(0) - \mu_E(0)$, which may appear, at first, confusing, but only describes a situation in which there is no other steady state than the trivial one $(H/\mu_N, 0, 0)$, due to the particular initial conditions considered in the analysis.

Biologically, we have an acute infection which does not destabilize the system on a long period of time, but only represents a perturbation, ended when pathogen is eliminated and when other populations come back to a state corresponding to a healthy organism. Hence, system (2.8)-(2.9) is able to correctly reproduce qualitatively a primary CD8 T cell response to a non-proliferative infection. In the next section, we illustrate how this model can reproduce quantitatively the T CD8 kinetics, coherent with experimental data found in the literature.

2.2.7 Simulations

We present here the results of simulations for the model presented in Section 2.2.6. We use parameters able to reproduce data found in the literature (Murali-Krishna *et al.* [1998]). The goal of this approach is to study how the model can reproduce a CD8 T cell immune response, characterized by its kinetics with the expansion and contraction phases, generation of memory cells and elimination of pathogen. The parameters used in simulations are described as follows.

The delay $\bar{\tau}$ is discrete. Only the flow H of naive cells produced from hematopoietic stem cells, death rate of naive cells μ_N and death rate of memory cells μ_M are constant. The death rate of effector cells μ_E, their proliferation rate ρ, the rate δ of differentiation of naive cells into effector cells, and the pathogen death rate μ_P are taken as Hill functions, that is, bounded, positive functions, according to their

dependencies on the different populations, and can be denoted

$$\delta(P) = \delta_1 \frac{P^{\delta_2}}{P^{\delta_2} + \delta_3}, \qquad \rho(P) = \rho_0 + \rho_1 \frac{P^{\rho_2}}{P^{\rho_2} + \rho_3},$$

$$\mu_E(E) = \mu_E^0 + \mu_{E1} \frac{E^{\mu_{E2}}}{E^{\mu_{E2}} + \mu_{E3}}, \quad \text{and} \quad \mu_P(E) = \mu_P^0 + \mu_{P1} \frac{P^{\mu_{P2}}}{P^{\mu_{P2}} + \mu_{P3}},$$

where the values of parameters H, μ_N, μ_M, constants ρ_0, μ_E^0, μ_P^0, δ_i, ρ_i, μ_{Ei}, μ_{Pi} (i= $1, 2, 3$), and discrete delay $\bar{\tau}$ are given in Table 3.2. These values have been determined to fit correctly the data from Murali-Krishna *et al.* [1998], but there was no systematic investigation of parameters to determine the best values able to fit the data.

We use experimental data given by Murali-Krishna *et al.* [1998], displayed in Figure 2.4. BALB/c mice were infected with lymphocytic choriomeningitis virus. CD8 T cells specific for lymphocytic choriomeningitis virus are counted at days indicated on Figure 2.4, in the spleen of mice. The authors obtain an expansion phase between days 1 and 8 post-infection, from about 4×10^2 cells to $2.8 \pm 1.0 \times 10^7$ cells at the peak of response. Then, between days 9 and 20 post-infection, a contraction phase occurs, during which CD8 T cell population switches from the peak to 1.0×10^6 cells. After these phases, CD8 T cell population keeps on dying out, but a part of the population is relatively maintained on a long term. Indeed, about 5.0×10^5 cells remains at day 400, which is a similar range to cell count at day 30. Hence, from day 30 post-infection, authors consider that remaining CD8 T cells are memory cells.

Kinetics, experimentally obtained by Murali-Krishna *et al.* [1998], are reproduced with the model presented and mathematically studied in Section 2.2.6. Results obtained from the model are given in Figure 2.4. The total CD8 T cell count, that is $N(t) + E(t) + M(t)$ with notations of the model, is represented by the continuous line on Figure 2.4. The same characteristic phases and ranges in time and CD8 T cell counts are obtained. An expansion occurs, with the same ranges than Murali-Krishna *et al.* [1998] from $10^3 - 10^4$ to $10^7 - 10^8$ CD8 T cells. A contraction follows, during which effector cells die by apoptosis and decrease from 10^7 to $10^5 - 10^6$ CD8 T cells. Expansion occurs between days 1 and 7 post-infection and contraction follows. During the response against infection, most of the population is made of effector cells, because of their great differentiation and proliferation rates from a relative small pool of naive cells. Hence during the expansion and contraction phases of the response, total cell count is mainly due to contribution of effector cells (represented by the continuous curve on Figure 2.5). After this complete response, as can be observed on Figure 2.5, a pool of $10^5 - 10^6$ cells is maintained on a long period of

time, up to 400 days post-infection, such as in experimental data of Murali-Krishna *et al.* [1998]. In the model, we observe that generation of memory cells has provided a pool of cells which contributes to the total T cell count mostly after a long time, as this population is still maintained 400 days post-infection, while effector cell population decreases. Moreover, memory cell count becomes greater than effector cell count after 30 days post-infection. This result, dealing with the remaining of memory cells on a long time, is in agreement with Murali-Krishna *et al.* [1998] explanation. Indeed, they observed that after expansion and contraction phases, that is after day 30 in their data, a memory phase starts, where CD8 T cells still present correspond to a pool of memory cells.

Finally, the model allows to describe not only kinetics for total cell count, but also kinetics per population, naive, effector and memory (see Figure 2.5). Effector and memory counts are the main contributions to the total CD8 T cell population. Naive cell population, which is at an equilibrium between production from hematopoietic stem cells and natural death when infection occurs, undergoes a slight decrease during expansion, because of the great differentiation of these cells into effector cells. Then naive population almost returns to its steady state during contraction. Pathogen is eliminated during the time of expansion and contraction (not shown here), this was expected since replication of the virus was not taken into account in the model. Information about the different rates describing evolution of death, differentiation and proliferation of cells during the phases of expansion and contraction of the immune response was also obtained. For example, on Figure 2.6, proliferation rate of effector cells, which is assumed to be dependent on pathogen, is at maximum during the first 4 days of the response, that is during the expansion phase, before the effector cell count reaches a maximum on days $6-7$ postinfection. Then proliferation rate strongly decreases during the contraction phase until days $8-9$ postinfection, after that effector cell count decreases less fast and proliferation rate is maintained at its minimum level. The death rate of effector cells stays low during the beginning of the response, and increases between days $4-6$ postinfection when effector cell proliferation is maximum. When effector cell population begins to die strongly, during the contraction phase, its death rate decreases, and is maintained at its minimum level after days $14-15$ postinfection. It can be noticed that proliferation rate is greater than death rate during the first 6 days of the response, and when the maximum of effector cell count is reached death rate becomes greater than proliferation rate, due to the feedback loops included in the model.

TABLE 2.1 – Parameter values for simulations (see Figures 2.4, 2.5, 2.6) of system (2.15)

Biological parameter	Associated parameters	Value
Flow of naive cells produced from hematopoietic stem cells (number of cells per day)	H	10
Death rate of naive cells (Day^{-1})	μ_N	0.1
Death rate of memory cells (Day^{-1})	μ_M	10^{-5}
Differentiation rate of naive cells in effector cells (Day^{-1})	δ_1	0.9
	δ_2	2
	δ_3	10^3
Proliferation rate of effector cells (Day^{-1})	ρ_0	0.2
	ρ_1	2.1
	ρ_2	2
	ρ_3	10^2
Death rate of effector cells (Day^{-1})	μ_E^0	0.2
	μ_{E_1}	0.9
	μ_{E_2}	1
	μ_{E_3}	10^7
Death rate of pathogen (Day^{-1})	μ_P^0	0.1
	μ_{P_1}	0.7
	μ_{P_2}	2.5
	μ_{P_3}	10^4
Discrete delay (Days)	$\bar{\tau}$	3.5

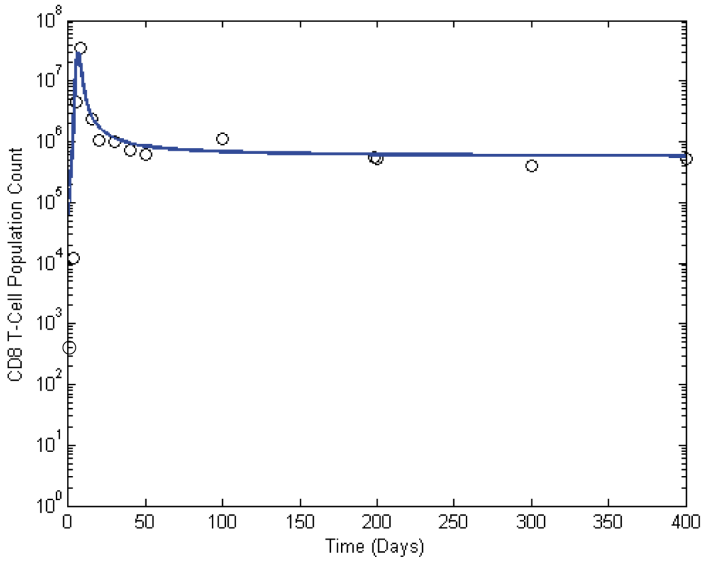


FIGURE 2.4 – CD8 T cell immune response on 400 days postinfection. Experimental data, represented by circles, correspond to a response to lymphocytic choriomeningitis virus infection, in BALB/c mice (Murali-Krishna *et al.* [1998]). The straight line corresponds to simulation of the kinetics of the total CD8 T cell population, $N(t) + E(t) + M(t)$, described by system (2.15).

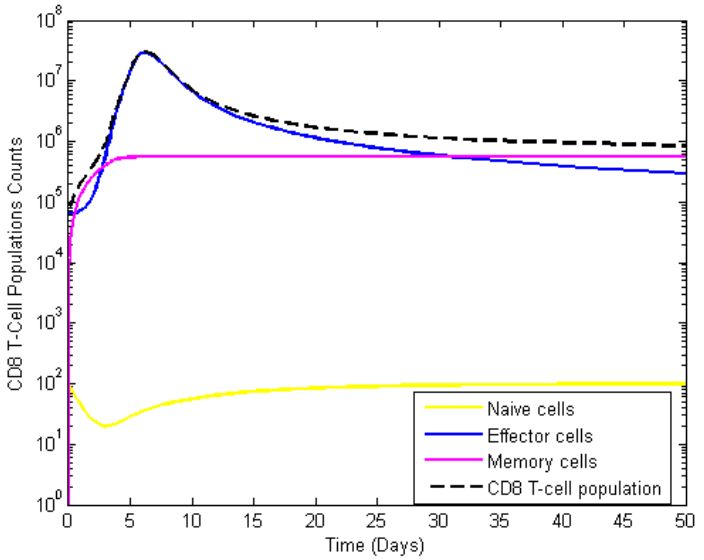


FIGURE 2.5 – Simulation of the model described by system (2.15) on the first 50 days postinfection (zoom of Figure 2.4 on the first 50 days). The yellow line corresponds to naive cell population kinetic, the blue line to effector cell population kinetic and the pink line to memory cell population kinetic.

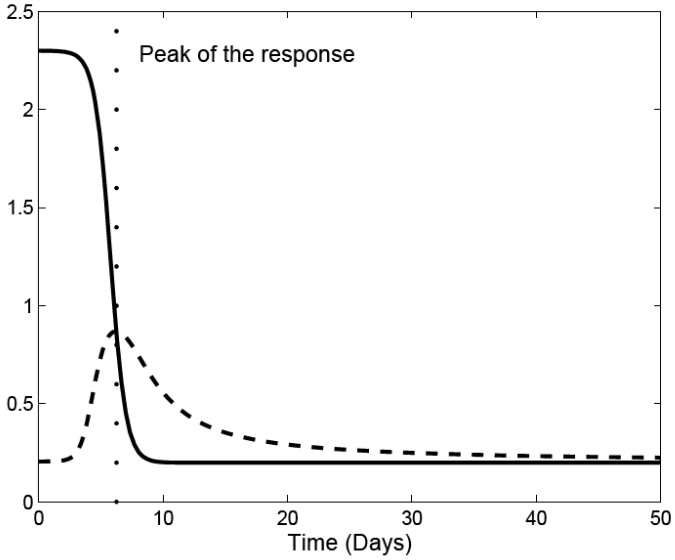


FIGURE 2.6 – Proliferation rate of effector cells (straight line) and death rate of effector cells (dashed line) (day^{-1}) during the first 50 days of the immune response, illustrated on Figure 2.4. Dotted line points out the switch between the two phases of the response, expansion when proliferation rate of effector cells is greater than their death rate, and contraction when death rate of effector cells is greater than their proliferation rate.

2.2.8 Discussion

We developed a model of T CD8 immune response to study kinetics of the different populations of CD8 T cells, naive, effector and memory cells, focusing in particular on the importance of generation of memory cells from effector cells (see Figure 2.1). This model is based on the model of Antia *et al.* [2005], with an age-structured system to take into account effector cell dynamics. Contrary to the model of Antia *et al.* [2005], which is linear, in this model we introduced feedback loops to describe interactions between the different CD8 populations and the pathogen. Hence most of the rates in our model (differentiation, proliferation and death), are nonlinear. We took into account the fact that the response is partly independent of pathogen, which means expansion, with proliferation of effector cells and their regulation, is not completely determined by the amount of pathogen. Antia *et al.* [2005] modeled generation of memory cells with a fixed age considering that below this age, only naive and effector cells are present in the pool of immune cells, and beyond this fixed age, all cells remaining in the system are memory cells. In our model, we also consider that differentiation of effector cells into memory cells is dependent on effector cell age, but differentiation of an effector cell into memory cell is

progressive and the two populations can be produced at the same time, which seems more realistic. For example, recent studies deal with memory precursors, which seem to be present with specific markers at the beginning of the response, eventually as a special effector cell subset, so differentiation of effector cells in memory cells seems to be very progressive and does not begin only after a fixed time (Sprent *et al.* [2001], Appay *et al.* [2004], Jenkins *et al.* [2008]).

We reduced this model to a system with a delay differential equation, and studied basic properties of the solutions. The analysis of existence and local asymptotic stability of steady states, for the system (2.9), with general initial conditions on $[0, \bar{\tau}]$, brought existence of two steady states. One which leads to extinction of effector cells always exists and can be locally stable or unstable. It corresponds to the complete resolution of an infection, with on a mid-term, two populations remaining in the organism, memory cells and naive cells, and asymptotically, only one population, the naive ones. The second steady state, with a positive state for effector cells, exists only when, in the absence of pathogen, proliferation rate of effector cells is greater than their natural apoptosis rate. In this case, this steady state is also locally stable. Finally, results of local asymptotic stability being independent of the delay, an analysis of global asymptotic stability was performed, with the system simplified by considering a discrete delay instead of a distributed delay (see Figures 2.2, 2.3). This analysis showed that the system (2.9) with particular initial conditions (2.8) on $[0, \bar{\tau}]$, equivalent to the initial structured system, always converges towards the healthy steady state. Let us briefly comment on the existence and stability of the positive steady state of system (2.9). This steady state exists (and is stable) under particular conditions, namely that proliferation of effector cells in the absence of pathogen is larger than their death by apoptosis. Moreover, in a "classical" situation, represented by initial conditions (2.8), this steady state does not appear. The biological relevance of such a steady state, with persistence of effector cells but not of memory cells, could be investigated. Apparently, such a steady state is not observed during a primary infection, although one could think about a chronic infection, rather than an acute one. However, even during chronic infections the scenario expansion/contraction with generation of memory cells is preserved and we found no clue regarding a sustained effector population (Althaus *et al.* [2007]). Consequently, this steady state may be relevant during a secondary immune response, when the immune system starts to react with levels of effector and memory cells low but non-zero. This should be further investigated.

This model allows to provide simulations we have confronted with experimental data (Murali-Krishna *et al.* [1998]), to verify whether kinetics of the different

populations, with expansion and contraction phases and elimination of pathogen, may be correctly reproduced by the model. The order ranges for total T CD8 population count and durations of the different phases of the response obtained are coherent, and simulations also show generation of memory cells and a progressive convergence to the expected steady state. We obtained, as in experimental data, a CD8 T cell immune response characterized by expansion and contraction phases on the first 30 days after infection. This response begins with an expansion phase during approximately 7 days. This period is characterized by a great increase of CD8 T cell population, multiplied by 10^3, because of differentiation of naive into effector, and of effector cell proliferation. After 8 days post-infection, we observe a contraction phase with a decrease of the effector cell population, which begins to die while memory cell population is still maintained, in agreement with the biological experiments (Murali-Krishna *et al.* [1998]). Hence, the model proposes kinetics for the response of total CD8 T cell population, but also details about kinetics of the different populations, in particular proportions of effector and memory cells in the organism according to the time after infection.

In this study, the viral replication was not considered, whereas it actually occurs in the experimental setting. In order to obtain a more realistic behavior of the model, one should therefore add the ability for the virus to replicate in the model. It brings a more complex mathematical analysis but it also adds other biological questions, such as analyzing if virus replication is dependent on the amount of effector cells, or not. But before performing other mathematical studies, we have to complete the present analysis of the model by an experimental work aimed at generating experimental data and fitting the model to these data. Indeed, what is presented here is almost exclusively based on the mathematical study of the model. Numerical simulations performed in Section 2.2.7 aimed at demonstrating the ability of the model to describe a "typical" CD8 immune response, without considering a systematic investigation of parameters. Although our present study brings relevant information on the biological problem, particularly regarding the role of feedback responses, we will pursue the confrontation with experimental data. Such an investigation will be the subject of a forthcoming paper and will consider different types of nonlinearities, not only Hill functions as presented in this work. We plan to compare systematically fit errors between the different choices of nonlinearities to determine their shapes and ranges of parameter values, needed to correctly reproduce the data. With the same method, we will also have to validate kinetics of the three sub-populations of T cells. This last point requires to generate data which distinguish the different subtypes of T cells (wether naive, effector/activated, or memory), sampled during

the total duration of a response, which involves massive experimental work. Experimental measurements of the different rates used in the model (differentiation, proliferation, apoptosis) should also bring valuable information on the relevance of linear models (De Boer *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003, 2005], Rouzine *et al.* [2005], Kim *et al.* [2007]) versus nonlinear models, like the present one, for the description of the CD8 T cell response.

2.3 Vers le chapitre 3

A l'issue de ce travail, une confrontation aux données expérimentales plus rigoureuse reste ainsi nécessaire, pour aller plus loin qu'une simple illustration numérique. Il s'agit d'estimer plus précisément les valeurs de paramètres, en ne cherchant pas seulement pour chaque paramètre une valeur convenable pour que le modèle reproduise correctement les données, mais en cherchant une plage de valeurs, donnant une idée de l'ordre de grandeur de chaque paramètre. En effet, dans les travaux de modélisation de la réponse immunitaire que nous avons pu recenser (De Boer *et al.* [2001], Antia *et al.* [2003, 2005], Chao *et al.* [2004], Rouzine *et al.* [2005], Kohler [2007a]), l'estimation des paramètres du modèle n'est pas faite, ou bien se résume à chercher seulement quelques valeurs de paramètres reproduisant convenablement les dynamiques attendues. Or cette dernière démarche n'apporte pas d'information sur l'étendue des ordres de grandeur des valeurs de paramètres, ou sur leur influence dans les dynamiques du modèle. Par contre, on peut obtenir ces informations avec une recherche de valeurs de paramètres exhaustive telle que nous nous proposons de réaliser. Cette démarche permet également d'obtenir davantage d'informations concernant la validité et la robustesse du modèle, c'est d'ailleurs la conclusion de Beauchemin *et al.* [2011]. Ce travail d'estimation est l'objet du chapitre 3.

Chapitre 3

Estimating relevant parameters of the CD8 immune response from a systems biology approach

3.1 Préambule

Les données expérimentales, sur lesquelles notre travail d'estimation s'appuie, ont été obtenues par l'équipe de Jacqueline Marvel (Inserm U851, Lyon). La cinétique du nombre de lymphocytes T CD8 est suivie sur 50 jours post-infection, chez la souris. Trois séries d'expériences ont été menées, où trois pathogènes différents ont été utilisés pour générer une infection : deux virus, la grippe et la vaccine, et une bactérie, la *Listeria*. Ces expériences ont donc permis d'obtenir trois séries de données : le nombre total de lymphocytes au cours de l'infection par chacun des trois pathogènes.

Les valeurs de paramètres doivent donc être testées de façon à sélectionner celles qui permettent de reproduire correctement les données expérimentales. Cinq valeurs de chaque paramètre du modèle ont été choisies pour couvrir un ordre de grandeur de valeurs assez large, tout en restant dans des plages gardant un sens raisonnable d'un point de vue biologique. Ces cinq valeurs ont été choisies après de nombreux essais, permettant de les fixer au mieux. Toutes les combinaisons de jeux de paramètres sont ensuite testées. Le modèle contenant 9 paramètres, cela représente 5^9 soit 1953125 combinaisons à tester. Ceci a été réalisé sur le support du Centre de Calcul de l'In2p3 (Institut national de physique nucléaire et de physique des particules). Pour chaque jeu de paramètres, une erreur au sens des moindres carrés, aisée à calculer, est déterminée entre la simulation du modèle correspondante et les données expérimentales. Ces erreurs sont ensuite classées par ordre croissant, les plus petites erreurs correspondant donc aux « meilleures » simulations, c'est-à-dire

à celles reproduisant le plus correctement possible les données expérimentales.

Notre analyse nous conduit ensuite à comptabiliser le nombre de fois que chaque valeur de paramètre apparaît, dans les jeux correspondant aux meilleures simulations. Ceci donne une idée de l'influence de chaque paramètre dans le modèle, et permet de comparer les valeurs de paramètres qui se dégagent selon le pathogène utilisé expérimentalement.

Ce chapitre est en cours de soumission, « Estimating relevant parameters of the CD8 immune response from a systems biology approach », auteurs : E. Terry, I. Le Mercier, J. Mafille, S. Djebali, T. Andrieu, B.Mercier, C. Arpin, F. Crauste, J. Marvel, O. Gandrillon.

3.2 Article

3.2.1 Introduction

The adaptative immune response constitutes one of the major mechanisms to fight infection by a pathogen. It involves a wealth of different cell types including B cells, CD4 and CD8 T lymphocytes and antigen presenting cells such as dendritic cells. Here, we focus on the cytolytic response mediated by CD8 T cells. These cells play an essential role in controlling infections by intra-cellular pathogens such as influenza viruses (Flu) (Ennis *et al.* [1981], Wong *et al.* [2003], Kedzierska *et al.* [2006]), vaccinia virus (VV) (Snyder *et al.* [2004], Jing *et al.* [2007]) or the bacteria *Listeria monocytogenes* (*Lm*) (Busch *et al.* [1999]). We are interested in the characteristic dynamical behavior of the CD8 T lymphocytes responding to an infection by an intra-cellular pathogen (Murali-Krishna *et al.* [1998]). After pathogen encounter, these lymphocytes are activated and leave the naive state to enter an expansion phase associated with strong proliferation and differentiation into effector cells. CD8 effectors display cytotoxic capacities that allow them to kill infected cells and clear the pathogen. After the peak of proliferation concluding the expansion phase, most of the population dies by apoptosis, in a contraction phase. Effector cells can differentiate into memory cells, a crucial subpopulation able to respond more efficiently and to better control the pathogen in the case of a subsequent infection.

Different models based upon systems of ordinary differential equations were proposed to model the details of these kinetics of cell dynamics (De Boer *et al.* [2001], Rouzine *et al.* [2005], Kim *et al.* [2007]). In particular, Antia *et al.* [2003, 2005] proposed a model with an age structure for the effector cell equation. They considered a limit age $\tau^\star$, such as when effector cells did not die before reaching this age $\tau = \tau^\star$,

then they differentiated into memory cells. Inspired by this model, we have developed a model with ordinary and age-structured differential equations (Terry *et al.* [2012]). It describes a primary response to an acute infection when the pathogen has never been encountered before and does not lead to a chronic infection. Effector cells can differentiate into memory cells, according to their age, and the two populations can be generated in parallel. Nonlinearities in the model account for biological feedback controls, able to regulate cell dynamics. Simulations were performed to qualitatively reproduce the data found in the literature (Murali-Krishna *et al.* [1998]) and the model was able to fit correctly the phases of a primary response to a lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) infection in mice. Those simulations were only performed to reproduce qualitatively a "typical" CD8 T cell immune response, without going any further into a *bona fide* parameter analysis to investigate which values were able to really reproduce relevant kinetics of the response. Furthermore, viral load and replication were not considered, whereas they represent key parameters during an infection (Lee *et al.* [2009], Jin *et al.* [2011]). Hence, to obtain a more realistic and versatile model that can describe CD8 responses to different pathogens, this infectious process must be taken into account. In this work, we therefore introduce pathogen replication into the model.

We compare the model to experimental data that were specifically generated for this purpose. These data consist in CD8 T cell numbers, measured during the CD8 T cell immune response to three different live intra-cellular pathogens (two viruses : an H1N1 Flu and the Western Reserve (WR) strain of VV ; and one bacteria *Lm*). The three pathogens have been modified by reverse genetics to express the NP68 epitope that is recognized by the F5 T cell receptor (TCR). Hence, we can use transgenic naive CD8 T cells expressing the F5 TCR to monitor the response induced by these 3 different pathogens (H1N1-NP, VV-NP and *Lm*-NP). Although, these pathogens all activate a robust CD8 response, they differ in their interaction with the host in terms of host cells targeted, replication mechanisms and activation of the innate immune response.

Vaccinia virus infection provides protection against variola virus, the causative agent of smallpox, and stands as the classic example of a successful vaccine that confers life long protection. Vaccinia virus, an orthopoxvirus, is a large virus with a double-stranded DNA genome that replicates in the cytoplasm. The WR strain of vaccinia that is used in this study is a vaccinal strain that was adapted to the mouse (Parker *et al.* [1941]).

Despite their importance, T lymphocyte mechanisms involved in a vaccinia infection were not thoroughly studied (Snyder *et al.* [2004]). However, smallpox vaccines

could be improved, since the existing vaccines are based on live viruses and stay contraindicated for some people (Oseroff *et al.* [2008], Rehm *et al.* [2009], Lantto *et al.* [2011]). Moreover vaccinia virus could also be used as a platform for the design of vaccines directed against other viruses (Snyder *et al.* [2004]).

Listeria monocytogenes is a Gram-positive bacterium that causes disease mainly in immunocompromised humans. Humans are exposed to *Lm* by ingesting contaminated foods such as dairy products. The Bacteria invades epithelial cells where it replicates. In mice, most studies of infection with *Lm* focus on immune responses to systemic infection following intravenous inoculation (Pamer [2004]). The highly virulent 10403s strain was used in this study.

Influenza viruses are the causative agent of acute respiratory diseases. Influenza is an Orthomyxoviridae with a negative single-stranded RNA segmented genome that replicates in the nucleus. The WSN mouse adapted H1N1 strain was used in this study. Even more than vaccinia, influenza proves to be a topical problem, with the H1N1 pandemia for example.

Influenza dynamics have been modeled quite extensively (see Smith *et al.* [2010] and Beauchemin *et al.* [2011]). First, influenza infection at population scale was widely studied, to model the spread of the infection by transmission between infected hosts. This type of models, mainly based on networks, can be used for health decisions, to limit epidemic spread, or determine a vaccine strategy (Alexander *et al.* [2011], Jin *et al.* [2011], Mercer *et al.* [2011]). Yet these models do not provide any information on the mechanisms of the infection in the host, or how an infected organism reacts against the virus. Within-host models for influenza infection appeared in various papers (Bocharov *et al.* [1994], Beauchemin *et al.* [2005], Baccam *et al.* [2006], Beauchemin *et al.* [2008], Saenz *et al.* [2010]), allowing to focus on cellular mechanisms, reacting against virus introduction. Beauchemin *et al.* [2005] developed a cellular automaton describing spread of the virus between target cells, in which the virus was not explicitly considered. This model was used to study the impact of the initial distribution of infected cells, regeneration of dead cells and proliferation of immune cells (Beauchemin [2006]). Continuous models have also been considered where target cell and infected cell dynamics are described by ordinary differential equations, and replication of the virus is also described (Bocharov *et al.* [1994], Baccam *et al.* [2006], Beauchemin *et al.* [2008], Saenz *et al.* [2010]). In these types of models, the virus is produced in the infected cells, and its proliferation is limited by the number of uninfected cells. Some models also consider an eclipse phase, with a supplementary compartment, which corresponds to infected cells which are not yet able to produce viruses (Baccam *et al.* [2006], Saenz *et al.* [2010]). To go further in

the description of the antiviral defence mechanisms, some papers do study the role of interferon (Bocharov *et al.* [1994]) or of the innate response (Saenz *et al.* [2010]) or the impact of drug treatments (Beauchemin *et al.* [2008]).

Since the immune response by cytotoxic lymphocytes plays a key role in the evolution of an influenza virus infection (Ennis *et al.* [1981]), immune cells have been added to the previous models of uninfected/infected cells (Chang *et al.* [2007], Handel *et al.* [2010], Miao *et al.* [2010], Tridane *et al.* [2010]). In most of these models, an equation was added to describe the immune response, and the T cells were just labelled as activated or cytotoxic, without any further detail. Other authors decided to deal with many cell types involved in the immune response, such as effector cells, antigen presenting cells, B cells and Th1 and Th2 lymphocytes (Bocharov *et al.* [1994], Hancioglu *et al.* [2007]). Yet none of these models describes the naive, effector and memory states of the CD8 T cell population, or the possible crossregulations and feedbacks between these differentiation stages. Lee *et al.* [2009] distinguished naive and effector CD8 T cells, but at the cost of an hypersophistication of the model which incorporated CD4 T cells in different states (naive, effector, mature...), B cells, dendritic cells, and uninfected and infected cells. The recirculation of these cells between different organs where the immune response takes place was also modeled. It resulted in a 48 parameter-model, that could not be submitted to a systematic parameter sweep. A key question in modeling biological systems indeed lies within the estimation of relevant parameters of the model. For influenza, many previously described works compared their model to data. To do this, the authors estimated part of their parameters and/or used parameters from previously published models or published experimental data (Bocharov *et al.* [1994], Baccam *et al.* [2006], Hancioglu *et al.* [2007], Lee *et al.* [2009], Handel *et al.* [2010], Miao *et al.* [2010], Saenz *et al.* [2010]). Nevertheless, data used were very heterogeneous and parameter values which were chosen remain difficult to validate, in the absence of a systematic parameter sweep (Beauchemin *et al.* [2011]).

In the present work, we aim to describe the mechanisms of a CD8 T cell immune response dynamic against infection by an intra-cellular pathogen. We take into account naive, effector and memory differentiation states which were not described in the previous models with uninfected/infected cells (Chang *et al.* [2007], Handel *et al.* [2010], Miao *et al.* [2010], Tridane *et al.* [2010]). We make an exhaustive estimation of the model parameters, by comparing the model with influenza, vaccinia and listeria experimental data. We aim at determining not the best parameter which provides a good fit, but a set of parameter values which are suitable for a given parameter, allowing us to be more confident in evaluating the validity of the

model and the influence of the parameters on the model. Thus we can observe how suitable parameter values are different according to the fitted data series, or are the same for the three data series. Fitting to three different data series also allows to track the impact of the parameters in infection mechanisms and robustness of the model.

3.2.2 Materials and Methods

3.2.2.1 Experimental work

Experiments were performed to measure the CD8 T cell responses to the three pathogens in vivo. CD8 T lymphocyte numbers were measured by flow cytometry during the course of the immune response that was triggered by infection. All experimental procedures were approved by our local ethics committee and accreditations have been obtained from French governmental agencies.

F5 TCR transgenic T cells recognizing the NP68 epitope were transferred by retro-orbital injection in congenic C57Bl/6 mice. To normalize the experiments the same number of naive F5 CD8 T cells (2.10^5) were transferred in the three models of infection. The influenza H1N1 WSN strain, the vaccinia WR strain and the Listeria 10403s strain were all modified by reverse genetics to express the NP68 epitope. H1N1-NP was constructed and produced by Drs. O. Ferraris and M. Ottmann in Pr. B. Lina's laboratory (Jubin *et al.* [2012]). VV-NP was constructed and produced by Dr. D.Y.L. Teoh in Pr. Sir A.J. McMichael's laboratory (Cottalorda *et al.* [2009]). *Lm*-NP was constructed and produced by Dr. B. Mercier in Drs. N. Bonnefoy-Bérard and G. Lauvau's laboratories (unpublished data). In three distinct experiments, mice were inoculated intranasaly with (2.10^5 $TCID_{50}$) H1N1-NP or (2.10^5 PFU) VV-NP or intravenously with 3000 *Lm*-NP bacteria, the day after the transfer of naive F5 CD8 T cells. Intranasal inoculation of the influenza or the vaccinia viruses leads to a localized infection of the lung, while intravenous inoculation of Listeria leads to a systemic infection of the host. Mice were briefly anesthetized with 3% isofluorane in an oxygen chamber before being transferred or infected intravenously with *Lm*-NP or profoundly anesthetized with 70 mg/kg of Ketamin and 9 mg/kg of Xylazin before intranasal infection with viruses.

For each experiment a cohort of 20 mice was used, alternate groups of 5 mice were bled at regular intervals to quantify F5 CD8 T cell numbers. Mice blood was sampled, at days $0, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 14, 18, 21, 28, 38$ postinfection for experiment with H1N1-NP, at days $4, 6, 7, 8, 11, 13, 15, 19, 22, 28, 35, 47$ for experiment with VV-NP, and at days $3, 5, 7, 10, 12, 17, 34$ for experiment with *Lm*-NP. The time course was

designed in order to capture the different phases of the response, i.e. the activation-induced expansion, contraction and memory phases.

The volume of blood samples was measured to calculate CD8 T cell numbers and a given number of fluorescent calibration beads was added to each samples. Cells were then stained with fluorescent antibodies against CD8, CD45 and CD45.1 to identify the transferred F5 CD8 T cells. Samples were then analyzed by flow cytometry to detect F5 CD8 T cells and fluorescent beads. These calibration beads were used to re-calculate the concentration of F5 CD8 T cells per mL of blood and total numbers of F5 CD8 T cells were calculated, considering 2mL of blood per mouse.

In the following, we present the detailed model, constituted by a system of ordinary differential equations, that we developed and compared to the data.

3.2.2.2 Model

Description of the model

Mice were infected by three live pathogens that can replicate within the host. Naive CD8 T cells when they encounter their cognate peptide differentiate into effector cells able to eliminate the pathogen, and a fraction of these cells will then differentiate into memory cells (see Figure 3.1). We consider a system based on ordinary differential equations, describing the evolution of CD8 T cell numbers (naive, effector and memory cells), and of the pathogen count. This system includes 4 feedback functions, as cell differentiation, proliferation and death are strongly controlled by feedback loops, depending on interactions between the different CD8 populations (naive, effector, memory cell populations) and with the pathogen. For example, pathogen induces differentiation of naive cells into effector cells, and promotes proliferation of effector cells.

We denote by $N(t)$ the naive cell number at time t. Naive cells die with a constant rate μ_N, positive, and differentiate in effector cells with a rate $\delta_{NE}P(t)$ which depends on the pathogen count denoted by $P(t)$ (Appay *et al.* [2004]).

We denote by $E(t)$ the effector cell number at time t. Effector cells proliferate with a rate $\rho_E P(t)$ which depends on the pathogen count (Appay *et al.* [2004], Kemp *et al.* [2004], Kim *et al.* [2007]) and die with a rate $\mu_E E(t)$ which depends on their own number, due particularly to competition for limited resources such as cytokines, or fratricidal death (Su *et al.* [1993], Kemp *et al.* [2004]). Effector cells can also differentiate in memory cells with a constant rate δ_{EM}.

We denote by $M(t)$ the memory cell number at time t. Memory cells die with a

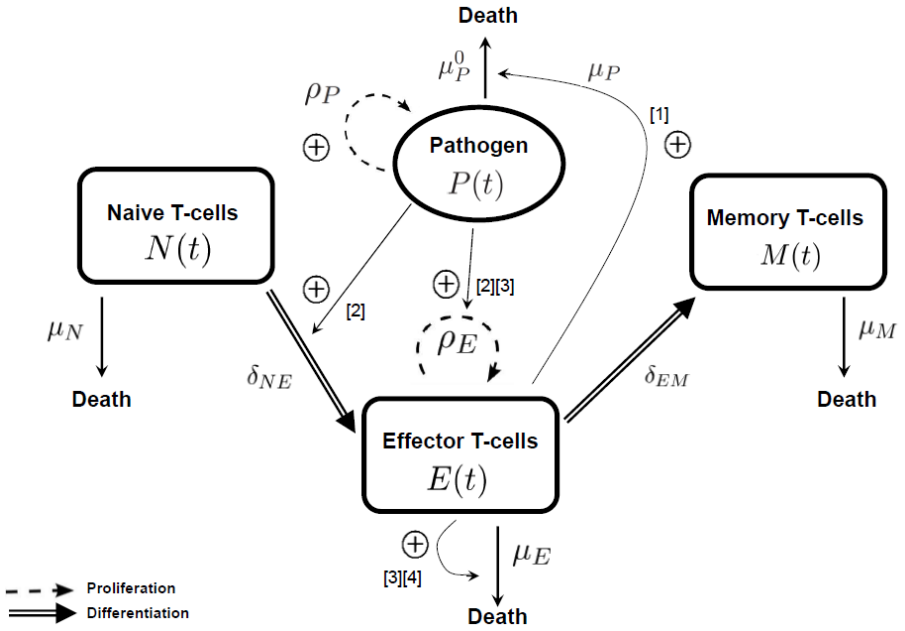


FIGURE 3.1 – Schematic representation of the T CD8 immune response mechanisms after an infection by an intra-cellular pathogen, either influenza or vaccinia viruses, or listeria bacteria in our experiments. Biological justifications of this scheme are mentionned in Section 3.2.2, and referenced here by numbers : [1] Antia *et al.* [2003], [2] Appay *et al.* [2004], [3] Kemp *et al.* [2004], [4] Su *et al.* [1993].

constant rate μ_M.

Finally, we denote by $P(t)$ the pathogen count at time t. We assume that pathogen proliferates with a rate $\rho_P P(t)$ which depends on its own count, and die with a rate $\mu_P E(t) + \mu_P^0$ in which $\mu_P E(t)$ depends on the effector cell number (Antia *et al.* [2003]), and $\mu_P^0 > 0$ is constant and corresponds to the natural death rate of pathogen.

Cell numbers $N(t)$, $E(t)$, $M(t)$ and the pathogen count $P(t)$ satisfy the following system of ordinary differential equations (Terry *et al.* [2012]), for $t > 0$:

$$\begin{cases} \dfrac{dN}{dt}(t) &= [-\mu_N - \delta_{NE}P(t)]N(t), & N(0) = N_0, \\ \dfrac{dE}{dt}(t) &= \delta_{NE}P(t)N(t) + [\rho_E P(t) - \mu_E E(t) - \delta_{EM}]E(t), & E(0) = E_0, \\ \dfrac{dM}{dt}(t) &= -\mu_M M(t) + \delta_{EM}E(t), & M(0) = M_0, \\ \dfrac{dP}{dt}(t) &= [\rho_P P(t) - (\mu_P E(t) + \mu_P^0)]P(t), & P(0) = P_0. \end{cases} \tag{3.1}$$

We do not consider any production of naive cells from hematopoietic stem cells, as naive cells used in the experiments are exogenous and do not self renew in mice (see Section 3.2.2.1).

Finally, without dealing with initial conditions N_0, E_0, M_0 and P_0, the model contains 9 constant parameters $\mu_N, \delta_{NE}, \rho_E, \mu_E, \delta_{EM}, \mu_M, \rho_P, \mu_P, \mu_P^0$. The goal is to determine which parameter values are able to fit the data, and how T-cell subpopulations, which can be simulated by the model, evolve with these parameters.

The values of N_0, E_0, M_0 are known from experimental data : a given number N_0 of purified naive CD8 T cells is injected at time $t = 0$ in mice, and in the absence of pathogen there are no effector or memory cells, so $E_0 = 0$ and $M_0 = 0$. However, the value of P_0 is not known, since in experimental data, dynamics of pathogen counts remain unknown. Hence, we should count P_0 as an other parameter to be determined, and the model would exhibit 10 free parameters. To avoid this supplementary difficulty, we re-scale the system (3.1) as follows.

Define $p(t) = P(t)/P_0$ where $P_0 > 0$. Then, $p(t)$ satisfies :

$$\frac{dp}{dt}(t) = [\rho_P P_0 p(t) - (\mu_P E(t) + \mu_P^0)]p(t), \quad \text{with} \quad p(0) = 1.$$

With the same re-scaling, the equations for N and E in (3.1) become :

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt}(t) &= [-\mu_N - \delta_{NE} P_0 p(t)]N(t), \\ \frac{dE}{dt}(t) &= \delta_{NE} P_0 p(t) N(t) + [\rho_E P_0 p(t) - \mu_E E(t) - \delta_{EM}]E(t), \end{aligned}$$

and the equation for M does not change. Finally, the re-scaled system (3.1) is :

$$\left\{ \begin{array}{lcll} \frac{dN}{dt}(t) &=& [-\mu_N - \bar{\delta}_{NE} P(t)]N(t), & N(0) = N_0, \\ \frac{dE}{dt}(t) &=& \bar{\delta}_{NE} P(t) N(t) + [\bar{\rho}_E P(t) - \mu_E E(t) - \delta_{EM}]E(t), & E(0) = E_0, \\ \frac{dM}{dt}(t) &=& -\mu_M M(t) + \delta_{EM} E(t), & M(0) = M_0, \\ \frac{dP}{dt}(t) &=& [\bar{\rho}_P P(t) - (\mu_P E(t) + \mu_P^0)]P(t), & P(0) = 1, \end{array} \right. \tag{3.2}$$

where, for the sake of simplicity, we still denote the pathogen count by $P(t)$, and $\bar{\delta}_{NE} = \delta_{NE} P_0$, $\bar{\rho}_E = \rho_E P_0$, $\bar{\rho}_P = \rho_P P_0$. Consequently, the parameters $\bar{\delta}_{NE}, \bar{\rho}_E, \bar{\rho}_P$ have not the same meaning than in the system (3.1). However, it does not change

the method to estimate all the parameters, described in Section 3.2.2.3, so it does not add any difficulty, and for the sake of simplicity, we will keep the notations $\delta_{NE}, \rho_E, \rho_P$ in the following.

Steady states

We study steady states of the system (3.2), and obtain conditions on parameters for existence and stability of these steady states. These conditions are relevant in the analysis of the parameter sets able to fit the model on the data, in Section 3.2.3.4.

A solution $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{M}, \bar{P})$ of system (2) is a steady state if and only if $d\bar{N}/dt = d\bar{E}/dt = d\bar{M}/dt = d\bar{P}/dt = 0$, that is

$$\begin{aligned} \mu_N \bar{N} &= -\delta_{NE} \bar{P} \bar{N}, && \text{(3.3a)} \\ \delta_{NE} \bar{P} \bar{N} &= -[\rho_E \bar{P} - \mu_E \bar{E} - \delta_{EM}] \bar{E}, && \text{(3.3b)} \\ \mu_M \bar{M} &= \delta_{EM} \bar{E}, && \text{(3.3c)} \\ \rho_P \bar{P}^2 &= (\mu_P \bar{E} + \mu_P^0) \bar{P}. && \text{(3.3d)} \end{aligned}$$

From equation (3.3a), we deduce that $\bar{N} = 0$. From equations (3.3b) and (3.3d), we obtain the following steady state values :

$$(\bar{E}, \bar{P}) = (0, 0), \quad (\bar{E}, \bar{P}) = \left(0, \frac{\mu_P^0}{\rho_P}\right)$$

$$\text{and} \quad (\bar{E}, \bar{P}) = \left(\frac{\rho_P \delta_{EM} - \rho_E \mu_P^0}{\rho_E \mu_P - \mu_E \rho_P}, \frac{\mu_P \delta_{EM} - \mu_E \mu_P^0}{\rho_E \mu_P - \mu_E \rho_P}\right),$$

provided that

$$\frac{\rho_E}{\mu_E} > \frac{\rho_P}{\mu_P}, \quad \frac{\delta_{EM}}{\rho_E} > \frac{\mu_P^0}{\rho_P} \quad \text{and} \quad \frac{\delta_{EM}}{\mu_E} > \frac{\mu_P^0}{\mu_P}, \tag{3.4}$$

or

$$\frac{\rho_E}{\mu_E} < \frac{\rho_P}{\mu_P}, \quad \frac{\delta_{EM}}{\rho_E} < \frac{\mu_P^0}{\rho_P} \quad \text{and} \quad \frac{\delta_{EM}}{\mu_E} < \frac{\mu_P^0}{\mu_P}, \tag{3.5}$$

If one of the three conditions in (3.4) or (3.5) is not satisfied, then there exist two steady states $(\bar{E}, \bar{P}) = (0, 0)$ and $(\bar{E}, \bar{P}) = (0, \mu_P^0/\rho_P)$.

From the linearisation of system (2) around one of the steady states, we define

the Jacobian matrix

$$A = \begin{pmatrix} -\mu_N - \delta_{NE}\bar{P} & 0 & 0 & 0 \\ \delta_{NE}\bar{P} & \rho_E\bar{P} - 2\mu_E\bar{E} - \delta_{EM} & 0 & \rho_E\bar{E} \\ 0 & \delta_{EM} & -\mu_M & 0 \\ 0 & -\mu_P\bar{P} & 0 & 2\rho_P\bar{P} - \mu_P\bar{E} - \mu_P^0 \end{pmatrix}.$$

The characteristic equation associated with the linearized system is then defined by

$$\det(\lambda I - A) = 0, \tag{3.6}$$

where I is the identity matrix in $\mathbb{R}^4$. The steady states $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{M}, \bar{P})$ of (2) are locally asymptotically stable if all roots of (3.6) have negative real parts, and are unstable when roots with positive real parts exist. After calculations, we obtain the following result :

1) The steady state $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{M}, \bar{P}) = (0, 0, 0, 0)$ is locally asymptotically stable and the steady state $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{M}, \bar{P}) = (0, 0, 0, \mu_P^0/\rho_P)$ is unstable.

2) The steady state

$$(\bar{N}, \bar{E}, \bar{M}, \bar{P}) = \left(0, \frac{\rho_P\delta_{EM} - \rho_E\mu_P^0}{\rho_E\mu_P - \mu_E\rho_P}, \frac{\delta_{EM}(\rho_P\delta_{EM} - \rho_E\mu_P^0)}{\mu_M(\rho_E\mu_P - \mu_E\rho_P)}, \frac{\mu_P\delta_{EM} - \mu_E\mu_P^0}{\rho_E\mu_P - \mu_E\rho_P}\right), \tag{3.7}$$

which exists only when condition (3.4) or (3.5) holds true, is locally asymptotically stable only when (3.4) is satisfied and provided that the supplementary conditions

$$\frac{\rho_P\delta_{EM}}{\mu_E\mu_P^0} > \frac{\rho_E - \rho_P}{\mu_E - \mu_P} \quad \text{and} \quad \mu_E > \mu_P$$

hold true.

The result of existence and local asymptotic stability of the steady state $(\bar{N}, \bar{E}, \bar{M}, \bar{P}) = (0, 0, 0, 0)$ shows that solutions of (2), with no effector cells and an eliminated pathogen on a long time, which corresponds biologically to the resolution of the infection, can be expected, in particular if the non-trivial steady state defined in (3.7) is not locally asymptotically stable (for instance, if $\mu_E > \mu_P$).

In the following, we describe the method we used for simulating the model in

order to fit it to the data, and to make an exhaustive estimation of the model parameters.

3.2.2.3 Simulations

We performed an exhaustive exploration of the parameter value space, by computing solutions of system (3.2), using 5 distinct values for each of the 9 parameters. It resulted in 5^9 combinations of parameters, that is to say $1,953,125$ simulations. Tested parameter values are presented in Section 3.2.3.2 . Simulations were performed using facilities of the Calculus Center of the National Institute of Nuclear Physics and Particle Physics (IN2P3). The 250 cores of IN2P3 were used to distribute the large number of needed simulations, within $7,812$ simulations per core for the 249 first cores, and $7,937$ simulations for the last core. For each simulation, the error ε between the experimental data points x_i measured at time t_i and the corresponding simulated point $x(t_i)$ was determined using a least-square method, with the formula

$$\varepsilon = \sqrt{\sum_i (\log x_i - \log x(t_i))^2}.$$

This method was chosen for its easy implementation, and for its quickness to compute the error. As the model is based on the description of the dynamics of T-cell subpopulations (naive, effector and memory cells), whereas experimental data correspond to a total T CD8 population count, the value of each simulated point $x(t)$ is equal to $N(t) + E(t) + M(t)$. All these computed errors were ranked in increasing order. Hence, the smallest errors correspond to the best fits and we can focus on the corresponding parameter sets (see Figure 3.2 for an illustration of the method). It is noted that it is not relevant to compare error values between experiments (influenza, vaccinia and listeria), as only rank of errors is relevant. Many parameter sets lead to an unbounded solution of the system (3.2). They correspond to computed simulations which do not provide any correct immune response, with respect to experimental data, since proliferation of the pathogen is not limited by CD8 T cells. Such simulations cannot fit experimental data. For these parameter sets, the value of -1 was assigned to the corresponding error, and these values were deleted before treating the results. Such combinations of values represent around 28% of the total number of the tested parameter sets. In the following, we consider the simulations which lead to a bounded solution that is with an error value not equal to -1.

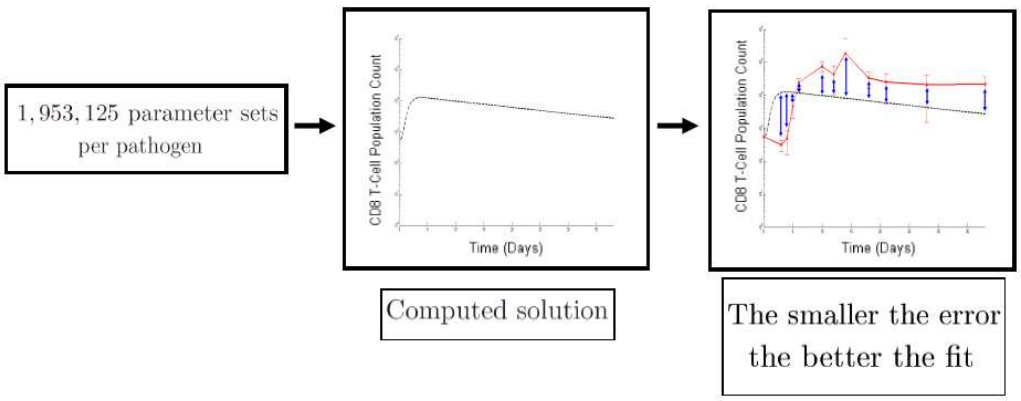


FIGURE 3.2 – The different steps of the analysis that were followed to determine the parameter sets able to fit the model (black curve) on the data (red linked points).

Distribution of error values is computed (see Figure 3.3). Among the error values in the interval $[10, 20]$, which represent around 60% of all considered computed errors, many errors correspond to parameter sets producing flat responses (see Figure 3.4 for an example). These simulations are unable to describe cellular expansion and contraction phases, observed in experimental data. This justifies considering $\varepsilon = 10$ as a threshold value : above this value, fits will be described as "bad fits". For each data series (influenza, vaccinia and listeria), around 20% of error values are inferior or equal to 10. However, keeping all the parameter sets with an error inferior or equal to 10 is still too large. For example, if we restrict the study to the $14,003$ smallest errors (1% of the smallest errors), the $14,003^{\text{thrd}}$ error is equal to 3.8, yet the corresponding parameter set leads to a fit which does not capture the phases of the response and thus is not qualitatively correct (see Figure 3.5). Hence, keeping only parameters corresponding to the 1% of the lowest errors for the analysis is still too large. Finally, the number of error values corresponding to correct fits may be restricted to 0.01% of best parameter sets, which correspond to an error less or equal to 3.

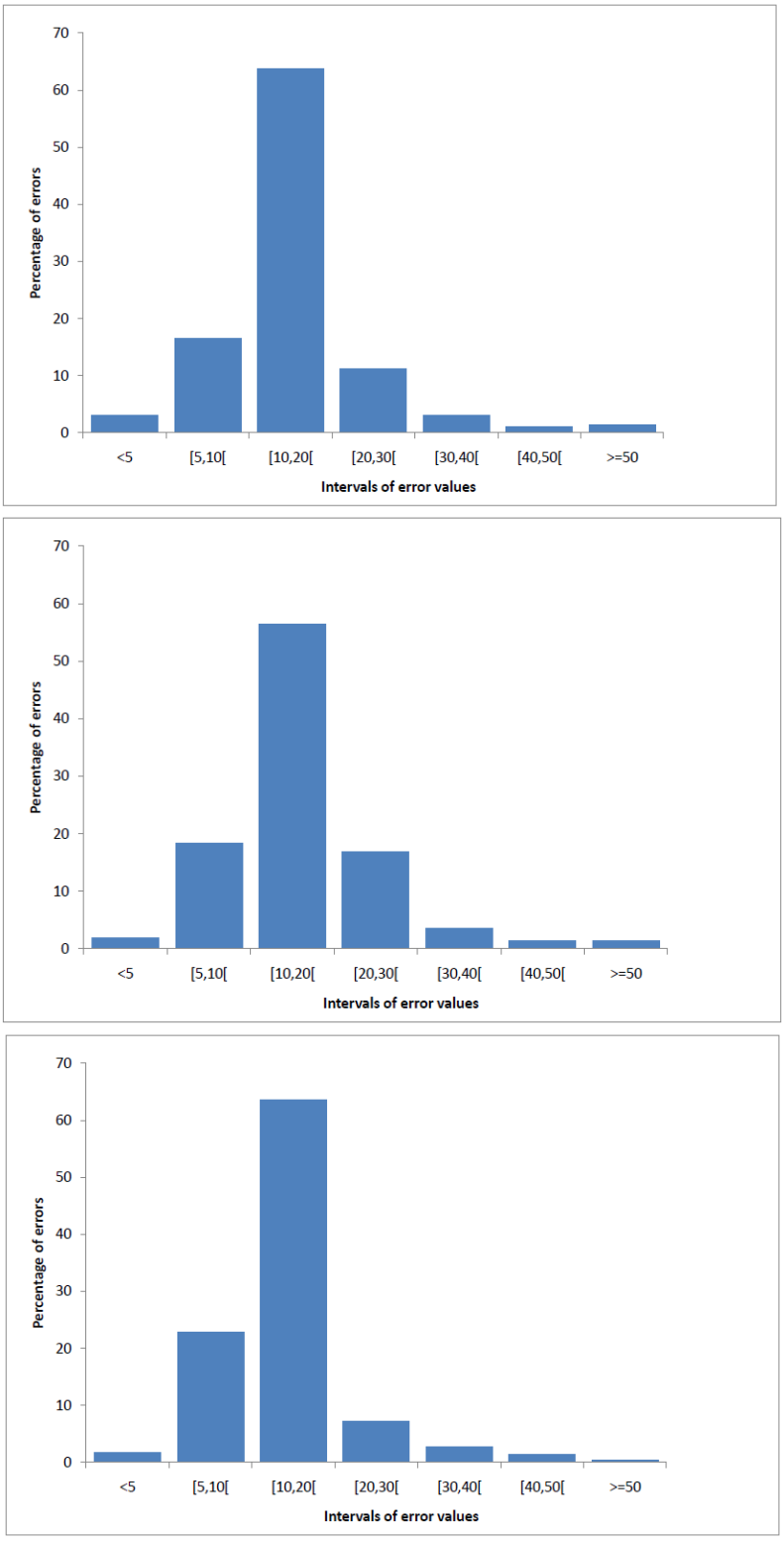


FIGURE 3.3 – Distribution of error values. Top : influenza infection ; Middle : vaccinia infection ; Bottom : listeria infection. In each case, 0.01% of parameter sets (corresponding approximatively to 140 sets) display an error value of less than 3.

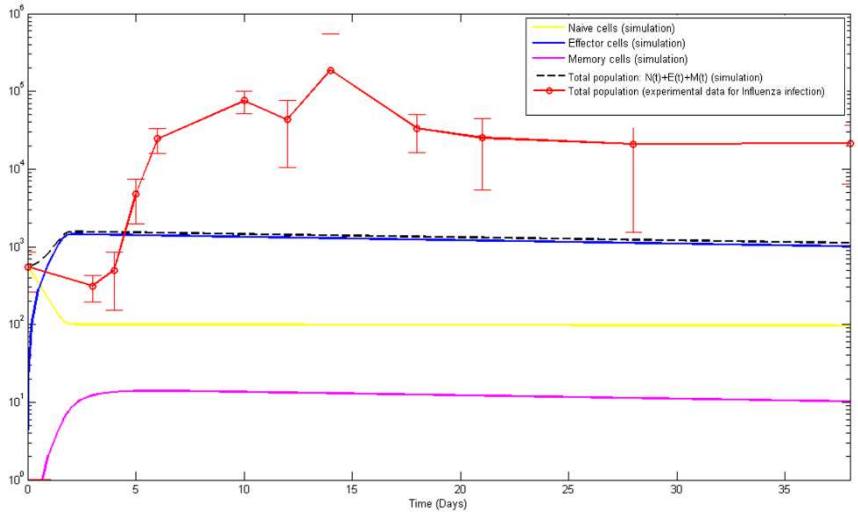


FIGURE 3.4 – Example of a simulation resulting in a flat response, for fitting the model on influenza virus data. The yellow line corresponds to naive cell population kinetic, the blue line to effector cell population kinetic, the pink line to memory cell population kinetic, the dashed line to total population $(N(t) + E(t) + M(t))$ kinetic and the linked red points with error bar correspond to experimental data points.

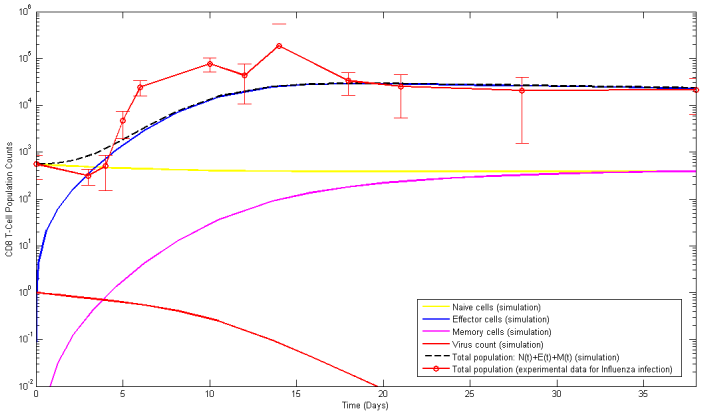


FIGURE 3.5 – Example of a fit (the $14,003$thrd in the ranking order of corresponding error value) qualitatively not correct, for fitting the model on influenza virus data. The yellow line corresponds to naive cell population kinetic, the blue line to effector cell population kinetic, the pink line to memory cell population kinetic, the dashed line to total population $(N(t) + E(t) + M(t))$ kinetic, the red line to pathogen count and the linked red points with error bar correspond to experimental data points.

3.2.3 Results

3.2.3.1 Data

Five measurements of F5 CD8 T cell counts were performed on different time points after infection with influenza, vaccinia or listeria (see Section 3.2.2.1). Experimental responses are presented on Figure 3.6 where each point corresponds to the mean of the five experimental points, with its associated standard deviation. The initial value of naive cells that grafted in the host was experimentally measured in the influenza experiment. As the same number of F5 CD8 T cells was used for all experiments, the same initial value is considered for vaccinia and listeria experiments. For each data series, a typical qualitative behaviour of a CD8 T cell immune response can be observed, with a strong expansion from days $3-4$ postinfection, a peak of response which occurs on day 7 postinfection for listeria experiment, and later, around day 10 for influenza and vaccinia experiments. The peak is followed by a contraction phase until day 20 postinfection, and a stabilization of lymphocyte population counts above the initial naive value. Influenza and vaccinia data lead to similar responses, whereas the CD8 response against listeria seems to be different, with an earlier and stronger proliferation of lymphocytes. Indeed, the peak for listeria response reaches 6.10^5 cells while the peak does not overtake 10^5 cells for influenza and vaccinia data. This suggests that the class of pathogen and/or the route of inoculation induces different profiles of CD8 T cell responses.

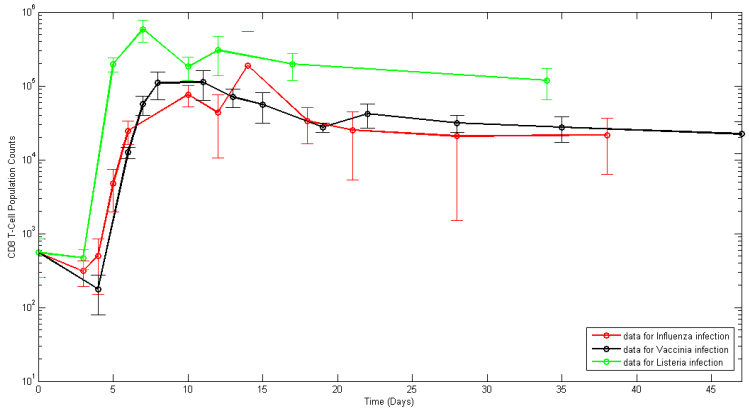


FIGURE 3.6 – Experimental data : F5 CD8 T cell counts for influenza (red) and vaccinia (black) virus infections and listeria bacterium (green) infection. Each data point corresponds to the mean and standard deviation of CD8 T cells numbers from 5 individual mice.

3.2.3.2 Tested parameter sets of the model

The CD8 T cell immune responses against the three pathogens were modeled as presented in Figure 3.1. This model is characterized by 9 parameters (see Section 3.2.2.2), and no a priori knowledge of parameter values was available to help us to determine which values should be preferentially tested. In the following, we focus on the parameter values, which are constant, but it must be kept in mind that some parameters are associated to non-constant biological rates. This point is detailed in Table 3.1.

We have explored parameter sets to fit the model to the data, first to influenza data, followed by vaccinia and listeria data. Our method was to test a maximum of parameter sets to be as exhaustive as possible. Tested parameter values are chosen under the constraint of staying reasonable from a modeling point of view : for example, if parameter ρ_P is taken equal to 100, it appears that in most of the simulations, the pathogen count in the model increases infinitly. Hence such parameter value seems too large to ensure a realistic immune response. Tested parameter sets are also chosen to take into account as much as possible known biological metrics (see legend of Table 3.2), even if some values look extreme : the goal of this exhaustive parameter estimation remains to investigate as large a range of parameter sets as possible, and this idea of systematic parameter sweep leads to keep large intervals of values. Ranges for each parameter are determined under these conditions and five values distributed in the interval are tested (see Table 3.2). These five values for each parameter have been determined after running numerous preliminary trials (data not shown).

TABLE 3.1 – Link between the parameters considered and the biological rates of the model. Graphic illustration is shown for the parameter values corresponding to the best fit of the model using the influenza data (see Section 3.2.3.3 with Figure 3.7).

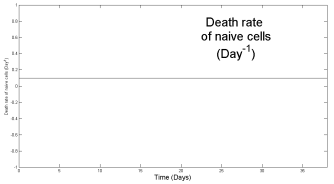
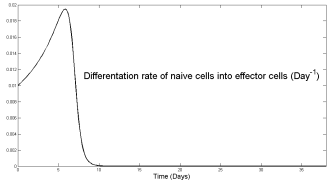
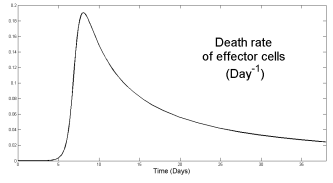
Link between a parameter and the corresponding biological rate	Parameters in day^{-1} or in $cell^{-1}$ day^{-1}	Corresponding biological rates in day^{-1}	Evolution of the biological rate (in day^{-1}) during the response
Parameters, expressed in day^{-1}, which model directly *constant* biological rates	μ_N, δ_{EM}, μ_M, μ_P^0	μ_N, δ_{EM}, μ_M, μ_P^0	μ_N 
Parameters, expressed in day^{-1}, which are associated to *non constant* biological rates	δ_{NE}, ρ_E, ρ_P	$\delta_{NE}P(t)$, $\rho_E P(t)$, $\rho_P P(t)$	$\delta_{NE}P(t)$ 
Parameters, expressed in $cell^{-1}$ day^{-1}, which are associated to *non constant* biological rates	μ_E, μ_P	$\mu_E E(t)$, $\mu_P E(t)$	$\mu_E E(t)$ 

TABLE 3.2 – Parameter values tested in simulations of the model described by system (3.2). To have an idea of the biological meaning of these values, one can consider the following examples of parameter values associated to a death rate, a differentiation rate and a proliferation rate. When $\mu_N = 10^{-4}$ day^{-1}, it corresponds to the death of 0.01% of naive CD8 T cells per day, and when $\mu_N = 1$ day^{-1}, it corresponds to the death of 63% of cells per day. When $\delta_{EM} = 10^{-3}$ day^{-1}, it corresponds to the differentiation of 0.1% of effector cells in memory cells per day, and when $\delta_{EM} = 10$ day^{-1}, it corresponds to the differentiation of 100% of effector cells in memory cells per day. When $\rho_E = 10^{-1}$ day^{-1}, it corresponds to almost quiescent effector cells (1.5 division of an effector cell per ten days), and when $\rho_E = 10$ day^{-1}, it corresponds to 14 divisions of an effector cell per day. Tested values are taken sufficiently large to ensure an exhaustive estimation of parameters, even if some values are certainly too extreme to correspond to real biological metrics. Parameters μ_E and μ_P (cell^{-1} day^{-1}) do not directly correspond to cell rates, so their biological meaning is more difficult to define.

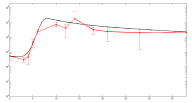
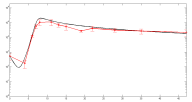
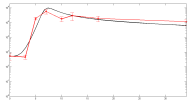
Biological rate	Parameter	Parameter unit	Tested values				
Death rate of naive cells	μ_N	Day^{-1}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1
Differentiation rate of naive cells in effector cells	δ_{NE}	Day^{-1}	10^{-2}	5.10^{-2}	10^{-1}	5.10^{-1}	1
Proliferation rate of effector cells	ρ_E	Day^{-1}	10^{-1}	5.10^{-1}	1	5	10
Death rate of effector cells	μ_E	Cell^{-1} Day^{-1}	10^{-8}	5.10^{-8}	10^{-7}	5.10^{-7}	10^{-6}
Differentiation rate of effector cells in memory cells	δ_{EM}	Day^{-1}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1	10
Death rate of memory cells	μ_M	Day^{-1}	5.10^{-2}	10^{-1}	5.10^{-1}	1	5
Death rate of pathogen dependent on effector cells	μ_P	Cell^{-1} Day^{-1}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Natural death rate of pathogen	μ_P^0	Day^{-1}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1	10
Proliferation rate of pathogen	ρ_P	Day^{-1}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1	10

3.2.3.3 Fits on the data

Combinations of the 5 values presented in the previous section for each of the 9 parameters were tested. The error between experimental data points and the corresponding simulated values was computed for each parameter set (see Section 3.2.2.3 for details).

The smallest error values obtained are equal to 2 for influenza experiments, 1.6 for vaccinia experiments, and 2.4 for listeria experiments. For these values, the corresponding simulations with the selected parameter sets are presented in Table 3.3. We obtained correct fits on total CD8 T lymphocyte population for the different data series, showing the expected phases of expansion and contraction with a correct quantitative behavior. For these simulations, a group of parameters, ρ_E, μ_E, δ_{EM} and ρ_P, presents exactly the same values for all three pathogens (see Table 3.3). It suggests these parameters reproduce the correct general behavior of the response observed in the three data series, as the three infections trigger a similar qualitative response, that is an expansion phase followed by a peak and a contraction phase. But what is also relevant consists in the differences in parameter values which appear between influenza/vaccinia infections on one hand and listeria infection on the other hand, since δ_{NE}, μ_M, μ_P and μ_P^0 have the same value for influenza and vaccinia simulations but a different value for listeria simulation. It suggests that this group of parameters distinguishes a response against a local infection by a virus such as influenza or vaccinia and a systematic response against a bacteria such as listeria.

TABLE 3.3 – Best fits for the three experiments, and the corresponding parameter values of the model. Each graph displays the total T CD8 population count simulated (in black), and experimental data with standard deviation (red points) over the duration (in days) of each experiment. The value $\rho_E = 1$ day^{-1} corresponds to 0.8 division for an effector cell per day. The value $\delta_{EM} = 10^{-2}$ day^{-1} corresponds to a differentiation of 1% of effector cells into memory cells per day. The value $\rho_P = 10^{-1}$ day^{-1} corresponds to a pathogen that proliferates at an extremely low rate (1.5 division per ten days). The value $\mu_N = 10^{-1}$ (respectively 1) day^{-1} corresponds to a death of 10% (respectively 63%) of naive cells per day. The value $\delta_{NE} = 10^{-2}$ (respectively 10^{-1}) day^{-1} corresponds to a differentiation of 1% (respectively 10%) of naive cells into effector cells per day. The value $\mu_M = 5.10^{-2}$ (respectively 5) day^{-1} corresponds to a death of 5% (respectively 99%) of memory cells per day. The value $\mu_P^0 = 10^{-3}$ (respectively 10^{-2}) day^{-1} corresponds to a natural death of 0.1% (respectively 1%) of pathogen per day. Parameters μ_E and μ_P (cell^{-1} day^{-1}) do not directly correspond to cell rates, so their biological meaning is more difficult to define.

Best fits for each experiment	Associated parameter values								
	ρ_E (Day^{-1})	μ_E (Cell^{-1} Day^{-1})	δ_{EM} (Day^{-1})	ρ_P (Day^{-1})	μ_N (Day^{-1})	δ_{NE} (Day^{-1})	μ_M (Day^{-1})	μ_P (Cell^{-1} Day^{-1})	μ_P^0 (Day^{-1})
Influenza experiment 	1	10^{-6}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	5	10^{-5}	10^{-2}
Vaccinia experiment 	1	10^{-6}	10^{-2}	10^{-1}	1	10^{-2}	5	10^{-5}	10^{-2}
Listeria experiment 	1	10^{-6}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	5.10^{-2}	10^{-6}	10^{-3}

3.2.3.4 Parameter range

We investigate the frequency of appearance of each parameter value, in the parameter sets corresponding to the 0.01% of the smallest classified errors. Indeed, if we consider 1% of the smallest errors, the simulation results for the three data series are not qualitatively correct for the worst cases (see Figure 3.5 for an example). Hence, we decided to restrict our study to the 0.01% of parameter sets with the smallest errors, that is to say approximately 140 parameter sets. It can be noted that in this group of 0.01% of best parameter sets, errors have values less than or equal to 3 and provide fits on the data that are very similar qualitatively and quantitatively. Differences between the 140 computed solutions appear in the kinetics of the subpopulations, and not really in the total population kinetic, which is fitted.

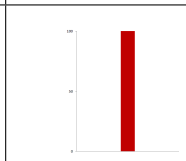
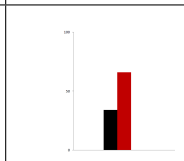
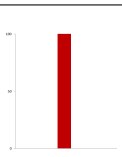
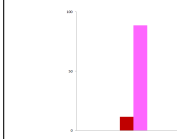
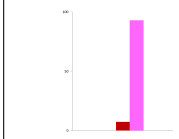
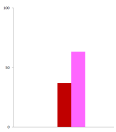
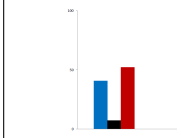
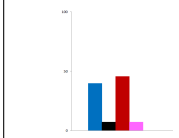
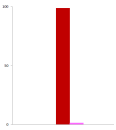
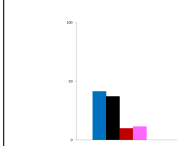
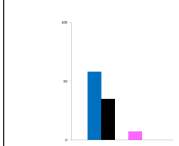
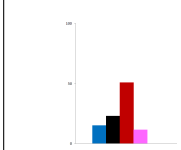
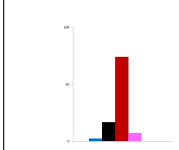
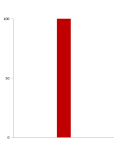
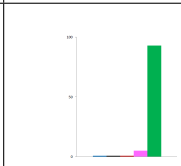
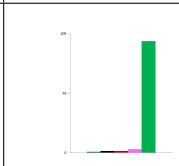
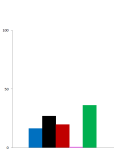
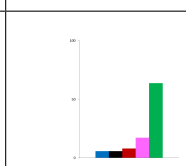
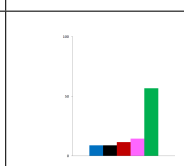
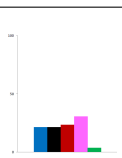
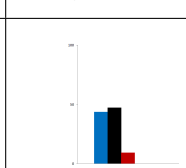
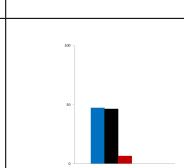
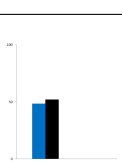
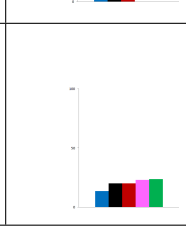
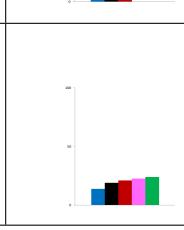
In Section 3.2.2.2, conditions for existence and stability of steady states of the model presented in Materials and Methods are studied. For the 140 best parameter sets, a small number of fits (3 for influenza experiment, 30 for vaccinia experiment and none for listeria experiment) satisfies conditions (3.4), ensuring existence of the positive steady state. Nevertheless, it appears that the condition $\mu_E > \mu_P$ is never satisfied. Hence, stability of steady state with a positive number of effector cells and pathogen can never occur within this relevant parameter range. The only possible stable steady state is the one without effector cells and pathogen, which is coherent with the expected behaviour on a long time : we do not consider a chronic infection, and the pathogen should be eliminated, while effector cells are not maintained in the organism.

It appears that parameters ρ_E for the effector cell proliferation and μ_P for the pathogen death depending on effector cells are strongly constrained in the 0.01% best parameter sets for influenza, vaccinia and listeria infections (Table 3.4). In all parameter sets corresponding to the 0.01% of smallest errors, $\rho_E = 1$ day^{-1}, for influenza and listeria infections. For vaccinia infection, in 65% of the 0.01% best parameter sets, $\rho_E = 1$ day^{-1}, and in 35% of the 0.01% best parameter sets, $\rho_E = 5.10^{-1}$ day^{-1}. For μ_P, the value 10^{-5} cell^{-1} day^{-1} is chosen at 89% for influenza infection, at 93% for vaccinia infection, and at 63% for listeria infection. The value $\mu_P = 10^{-6}$ is chosen at 11% for influenza infection, at 7% for vaccinia infection, and at 37% for listeria infection. These values are not on the bounds of the intervals of the tested parameter values, as the tested values were in intervals $[10^{-1}, 10]$ for ρ_E, and $[10^{-8}, 10^{-4}]$ for μ_P. This allows us to be confident on the fact that a suitable value could not be outside the selected interval.

Other frequently chosen parameter values are very close for influenza and vaccinia infections, whereas values chosen for listeria infection are very different. In the

following, we name "tolerance" as the characteristic that more than 2 values are possible or not for a given parameter, in the 0.01% of best parameter sets we consider. Parameters δ_{NE} for differentiation rate of naive into effector cells, μ_P^0 for natural pathogen death rate and ρ_P for pathogen proliferation rate are chosen with a tolerance for different possible values in influenza and vaccinia experiments, whereas there is no tolerance in the values for listeria experiment, since only one value of each of these parameters (values 10^{-1}, 10^{-3} and 10^{-1} day^{-1} respectively) is chosen with listeria experiment. On the contrary, parameter μ_E for effector cell death presents a tolerant choice of four values for listeria experiment, whereas only one value, 10^{-6} cell^{-1} day^{-1}, is selected for influenza and vaccinia experiments. Selected values of parameter μ_N for naive cell death are opposite between influenza and vaccinia experiments on one hand and listeria experiment on the other hand, since the value 1 day^{-1} is preferentially chosen for influenza and vaccinia, and is the only one which does not appear as a possible value for listeria experiment. It suggests that these parameters allow to distinguish the CD8 T cell immune response against a virus infection such as influenza or vaccinia and against a bacteria infection such as listeria. It is noted that what is observed here is the context of the response since all these responses are directed against the same antigen. Parameters δ_{EM}, for differentiation of effector cells in memory cells, and μ_M, for memory cell death, do not present any preferentially chosen value or any distinction between pathogen experiments. But if we would consider the subpopulation kinetics, we will see in the following that we could obtain additional discriminations between values of parameters which were not preferentially chosen in a first time.

TABLE 3.4 – Percentage of frequency of tested parameter values, in the 0.01% of parameter sets corresponding to the smallest errors (and so to the best fits). Each bar in histograms corresponds to a percentage of appearance of a parameter value (see in the first column for these values, associated to the bars by colors). The sum of the 5 values of each histogram always equals 100%.

Parameters	Influenza virus experiment	Vaccinia virus experiment	Listeria bacteria experiment
10^(-1) 5.10^(-1) 1 5 10 ρ_E (Day^{-1})			
10^(-8) 10^(-7) 10^(-6) 10^(-5) 10^(-4) μ_P (Cell^{-1} Day^{-1})			
10^(-2) 5.10^(-2) 10^(-1) 5.10^(-1) 1 δ_{NE} (Day^{-1})			
10^(-3) 10^(-2) 10^(-1) 1 10 μ_P^0 (Day^{-1})			
10^(-3) 10^(-2) 10^(-1) 1 10 ρ_P (Day^{-1})			
10^(-8) 5.10^(-8) 10^(-7) 5.10^(-7) 10^(-6) μ_E (Cell^{-1} Day^{-1})			
10^(-4) 10^(-3) 10^(-2) 10^(-1) 1 μ_N (Day^{-1})			
10^(-3) 10^(-2) 10^(-1) 1 10 δ_{EM} (Day^{-1})			
5.10^(-2) 10^(-1) 5.10^(-1) 1 5 μ_M (Day^{-1})			

3.2.3.5 Refining parameter values

The fit is performed on the sum $N(t)+E(t)+M(t)$ of the three subpopulations of lymphocytes, nevertheless, the model described by system (3.2) simulates explicitly the three subpopulations and allows to follow their kinetics after the pathogen introduction (see Figure 3.7). Thus the model brings relevant information, by providing the subpopulation kinetics corresponding to a fit on the total population which correctly reproduces the experimental data. The behavior of these subpopulations can therefore be used for restricting the relevant parameter values.

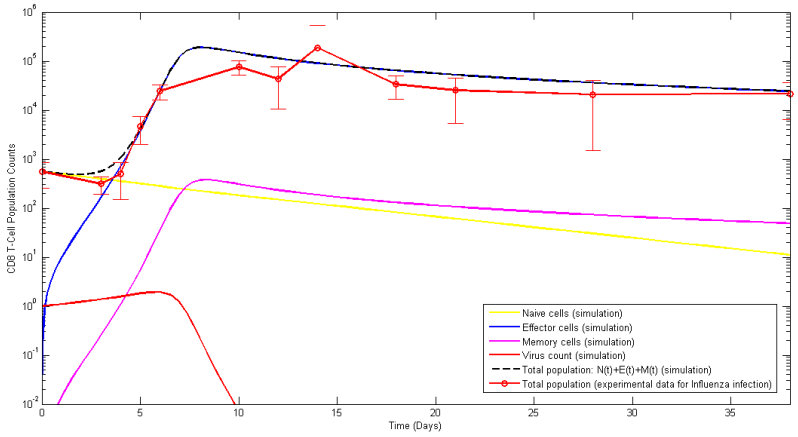


FIGURE 3.7 – Best fit on experimental data for influenza infection, with the subpopulations of lymphocytes which appear in the model described by system (3.2). The yellow line corresponds to naive cell population kinetic, the blue line to effector cell population kinetic, the pink line to memory cell population kinetic, the dashed line to total population $(N(t)+E(t)+M(t))$ kinetic, the red line to pathogen count and the linked red points with error bar correspond to experimental data points.

In the three best fits of each experiment (influenza, vaccinia and listeria experiments), it appears that there is always more effector cells than memory cells, which are not generated in large quantities, and that effector cells are maintained on a long time (see Figure 3.8 for an example with the best fit on influenza infection data). An additional way to discriminate between parameter values could therefore be to track parameter sets leading to a case where the memory cell number is larger than the effector cell number after 50 days postinfection. Indeed, it is more realistic to have a strong generation of memory cells still present in the organism many days after infection, whereas effector cells disappear earlier than memory cells. In the 0.01% of best parameter sets we considered, 10 parameter sets for influenza experiment, 6 for vaccinia experiment and none for listeria experiment correspond to a fit presenting such a crossing between effector cell and memory cell population counts. Hence, it

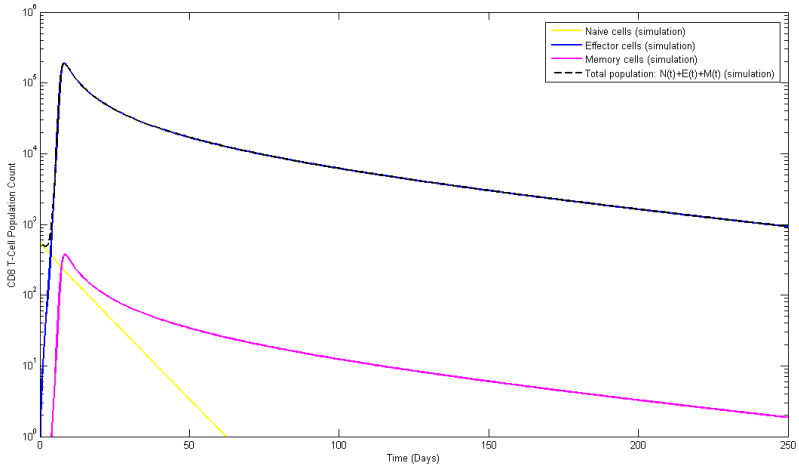


FIGURE 3.8 – Best fit on experimental data for influenza infection, with the subpopulations of lymphocytes which appear in the model described by system (3.2), over 250 days. The yellow line corresponds to naive cell population kinetic, the blue line to effector cell population kinetic, the pink line to memory cell population kinetic and the dashed line to total population $(N(t) + E(t) + M(t))$ kinetic.

represents a very small number of the 140 best parameter sets considered. For listeria experiment, it could be possible to consider less good fits than in the 0.01% of best parameter sets. However, if fits with the expected crossing between effector cell and memory cell counts existed, it would come at the expense of a poorer quality of the fit on experimental data. For influenza and vaccinia experiments, studying the small number of fits with a crossing between effector cell and memory cell population counts brings supplementary conditions on parameter values. Indeed, this constraint of crossing leads, for example in influenza experiment, to an other best fit (see Figure 3.9) than the previous one presented in Table 3.3 (or Figure 3.7). The error value for this other fit is 2.2 which is very close to the smallest value 2. This new fit of the total lymphocyte population count is not significantly different from the previous one, as all the fits corresponding to the 0.01% of best parameter sets are similar. But the generation of memory cells is more relevant, as there are more memory cells than effector cells at day 38 postinfection (3.10^3 effector cells and 10^4 memory cells).

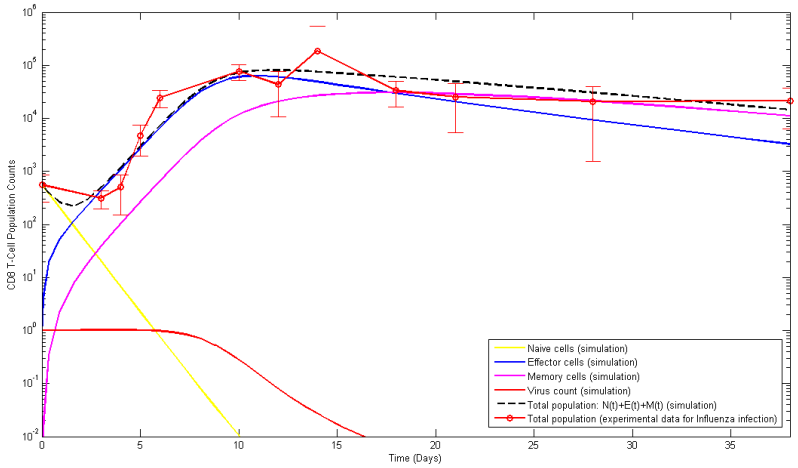


FIGURE 3.9 – Best fit on experimental data for influenza infection, with the subpopulations of lymphocytes, with the constraint that a crossing bewteen effector cell and memory cell population counts is expected, to ensure an efficient generation of memory cells. The yellow line corresponds to naive cell population kinetic, the blue line to effector cell population kinetic, the pink line to memory cell population kinetic, the dashed line to total population $(N(t) + E(t) + M(t))$ kinetic, the red line to pathogen count and the linked red points with error bar correspond to experimental data points.

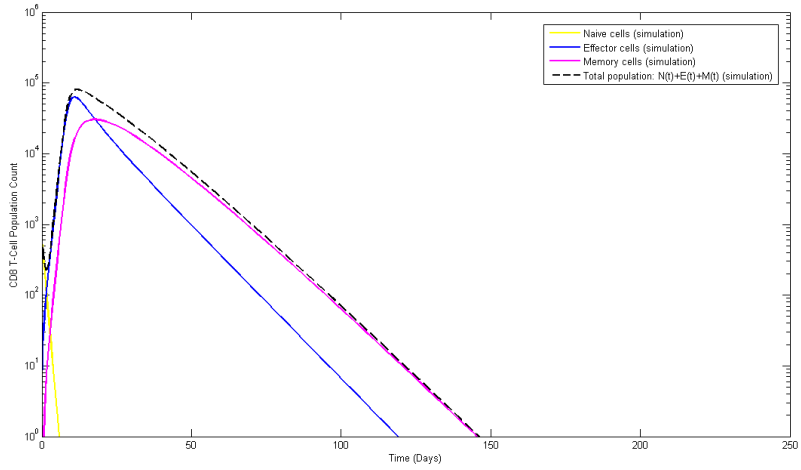


FIGURE 3.10 – Best fit on experimental data for influenza infection, with the subpopulations of lymphocytes over 250 days, with the constraint that a crossing between effector cell and memory cell population counts is expected, to ensure an efficient generation of memory cells. The yellow line corresponds to naive cell population kinetic, the blue line to effector cell population kinetic, the pink line to memory cell population kinetic and the dashed line to total population $(N(t) + E(t) + M(t))$ kinetic.

Furthermore, since the model allows us to follow these subpopulation kinetics on a time that extends much further than the experimentally measured points, one can see that memory cells are maintained longer than effector cells, during 150 days postinfection, which represents around 30 days more than effector cells (see Figure 3.10). The main difference between these two best fits consists in the value of the parameter μ_M which characterizes memory cell death. This parameter is equal to 5 day^{-1} in the best fit without a crossing between effector cell and memory cell population counts. It represents a death of 99% of memory cells per day, and it is reasonable to assume that this value is really too high from a biological point of view. The lack of memory cell generation in the best fit of Figure 3.7 confirms this idea. On the contrary, the parameter μ_M is equal to 10^{-1} day^{-1} in the best fit presenting a crossing between effector cell and memory cell population counts. It represents a death of 9.5% of memory cells per day, which is more reasonable.

3.2.4 Discussion

In many previous modeling works, where models were compared to data, only the best parameter set providing a good fit on the data was determined, but no systematic parameter sweep was performed (Lee *et al.* [2009], Handel *et al.* [2010]). Yet this latter method allows being more confident if one wants to discuss validity of the model and influence of the parameters. In the present work, we considered a model of the CD8 T cell immune response, describing naive, effector and memory cell subpopulations kinetics, and where pathogen replication was considered. Specific experimental data were generated to confront our model to different dynamics of CD8 T cell immune responses, corresponding to three intra-cellular pathogens, two viruses, influenza and vaccinia, and one bacteria, listeria, all harbouring the same antigen (NP68).

To be able to perform this systematic investigation of parameters, we simulated the 5^9 combinations of parameters we aim at testing. The 5 tested values of each of the 9 parameters were chosen in order to obey two constraints : to keep a reasonable biological meaning while allowing to explore as much as possible a large interval. For each simulation, an error between experimental data and total CD8 T cell population count of the model was computed, using a least-squares method. We could have chosen another method to compute the error (genetic algorithm, bayesian approach...). But the least-squares method presents the two advantages of an easy implementation and fast computation of the error. These points are relevant in our approach, where we computed a very large amount of errors, and ran many trials to determine which parameter values are relevant to test. All these errors were ranked

in increasing order. Hence, the smallest errors correspond to the best fits and we can focus on the corresponding parameter sets.

For each data series, influenza, vaccinia or listeria, good fits on the total lymphocyte population were performed. In each case, with restriction to the 0.01% of best parameter sets, corresponding fits are similarly able to reproduce the data. None of these sets satisfies the condition of stability of the steady state with a positive number of effector cells and pathogen (see Section 3.2.2.2). It ensures that the model reproduces a correct qualitative behavior, since effector cells and pathogen are not maintained in the long term, as expected from pathogens that do not lead to chronic infection. The frequency of each parameter was studied for the whole sets of parameters. Two parameters, ρ_E and μ_P, corresponding to the effector cell proliferation and the effector cell-dependent pathogen death rate, are determined for each infection with values $\rho_E = 1$ (0.8 division of an effector cell per day) and $\mu_P = 10^{-5}$ (not directly a rate with a biological meaning). A group of parameters is different between the response against viruses and the response against bacteria. These parameters are δ_{NE} for differentiation of naive cells in effector cells, μ_P^0 for natural pathogen death, ρ_P for pathogen proliferation, μ_E for effector cell death and μ_N for naive cell death. Three of those parameters characterize biological rates which depend on the pathogen nature or counts. This suggests that these parameters point to mechanisms of the immune response which change according to the nature of the pathogen, or to the extent of pathogen spread, i.e. localized versus systemic infection. Further experimental investigations should be performed to confirm this idea. Cell rates could be experimentally tracked by using CFSE and viability dyes (Nordon *et al.* [1999], Bernard *et al.* [2003], De Boer *et al.* [2005], De Boer *et al.* [2006]) and the proliferation, differentiation and death rates of the model could be confronted to these new data. This would allow us to further validate these parameters. We could also induce a systemic infection with vaccinia through intravenous injection, in order to determine if the difference observed is due to the pathogen nature or to the extent of host infection.

Tracking the kinetics of the pathogen could also help to investigate differences between CD8 T cell immune responses against a virus or a bacteria. Confronting pathogen kinetic of the model to experimental pathogen kinetic could also help to validate model parameters. For influenza infection, experimental data available in the literature suggest that the viral dynamics mainly occur in the first 10 days post-infection (Wolk *et al.* [2008], Desmet *et al.* [2010], Garigliany *et al.* [2010], Sun *et al.* [2011]). Wolk *et al.* [2008] and Sun *et al.* [2011] obtained experimental dynamics where the virus titer tends to increase until a peak (around day 3), then decrease.

This behaviour is what we obtained for the pathogen kinetic in the model of response to influenza infection. What could be fitted more precisely is the time at which the peak of virus titer occurs, for example. But data in the literature are very heterogeneous and display few experimental points, only measured on a short period of time. Therefore we should perform experiments measuring pathogen count, including its initial count, at time 0. In this case, we would not have to re-scale the model by normalizing pathogen count by its initial value, as it would not remain unknown in the model. Then pathogen dynamic in the model could be confronted to the data, not only qualitatively, but also quantitatively.

An other point that could be further investigated is the fit of the subpopulations of naive, effector and memory cells described in the model. Indeed, the 0.01% of best parameter sets lead to similar fits on total CD8 T cell population, with close error values. Yet we can distinguish between these fits by looking at the subpopulation kinetics. In particular, a characteristic of these kinetics remains the crossing between effector cell and memory cell population counts. At the end of the response, a number of memory cells larger than the number of effector cells is expected, as memory cells are generated to fight against a second infection by the same pathogen, and effector cells just die by apoptosis during the resolution of the infection. But in a certain number of the 0.01% best fits, memory cell count always remains below the effector cell count. We could add a constraint in the study of the parameter sets, keeping only the sets corresponding to a fit where memory cell count becomes larger than effector cell count, during the response against each infection. The parameter sets determined in this case could be compared to the previous ones, and discriminate more precisely values corresponding to a real biological response. This observation points out the relevance on considering kinetics of the subpopulations of naive, effector and memory cells during a response. For example, the time during which memory cells are maintained could also be a relevant experimental information to discriminate between the fits, not only with existence of a crossing between effector cell and memory cell counts, but also with the number of generated memory cells and the time during which these cells are maintained.

Fitting not only the total lymphocyte population count, but also the subpopulation kinetics should be a relevant method to obtain the maximum of information on model parameters. This study about subpopulation kinetics is currently under investigation : it is not a trivial experimental task to distinguish, at every time of the response, the different populations of naive, effector and memory cells. In particular, we still lack markers or combinations of markers that are uniquely expressed by these different CD8 differentiation states. Establishing such combinations would

permit to generate data that could validate the model parameters.

3.3 Vers le chapitre 4

L'objectif, à terme, serait de réaliser une modélisation multi-échelle de la réponse immunitaire T CD8, prenant en compte dans un même modèle les échelles cellulaire et moléculaire. Un tel modèle permettrait de décrire plus finement les dynamiques de la réponse, en tenant compte de celles des sous-populations de lymphocytes naïfs, effecteurs, mémoires au cours de l'infection, mais aussi des mécanismes moléculaires qui gèrent, à l'intérieur d'un lymphocyte, son entrée en cycle cellulaire, sa différenciation, son apoptose. Pour cela, il est donc nécessaire de développer un modèle des interactions intra-cellulaires, faisant suite à l'activation d'un lymphocyte par une rencontre avec une APC. Dans le chapitre 4, nous nous intéressons donc au niveau moléculaire, la deuxième échelle que nous modélisons.

Chapitre 4

Modélisation mathématique d'un réseau d'interactions moléculaires au sein d'un lymphocyte T CD8

4.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous développons un réseau de signalisation intra-cellulaire, capable d'aboutir à l'entrée en cycle cellulaire du lymphocyte T CD8 mis en jeu dans la réponse immunitaire, ou à son départ en apoptose. Cette échelle décrit donc les mécanismes sous-jacents à ceux repérés à l'échelle cellulaire : différenciation en cellules effectrices conduisant à la phase d'expansion, puis contraction. Intégré au modèle cellulaire, le modèle à l'échelle moléculaire permettrait donc de décrire, mieux que par des fonctions dépendant de valeurs estimées comme au chapitre 3, les différents taux de différenciation/prolifération/apoptose.

Nous verrons dans la section 4.2 comment un réseau de protéines gérant ces interactions à l'intérieur du lymphocyte peut être déterminé. A cette échelle, la plupart des modèles réalisés s'intéresse principalement au tout début de la cascade de signaux dont nous avons déjà parlé à la section 1.3.1, à savoir la liaison APC/TCR (Chan *et al.* [2004, 2005], Bidot *et al.* [2008], Lee *et al.* [2009]). Les réseaux considérés se limitent ainsi à quelques protéines. Dans ce chapitre, notre objectif est au contraire de déterminer les éléments clés de la signalisation intra-cellulaire complète après l'activation du TCR, et pas seulement de décrire la liaison APC/TCR. Nous développons ainsi un modèle tenant compte des mécanismes moléculaires, menant à l'entrée en cycle cellulaire ou à l'apoptose de la cellule. Nous déterminons ensuite un sous-réseau de ce modèle, mettant en jeu les protéines intervenant dans les processus de signalisation menant à la survie ou à l'apoptose de la cellule. L'étude

mathématique et numérique de ce modèle, implémenté dans le logiciel CellDesigner, est ensuite réalisée.

4.2 Modèle d'interactions intra-cellulaires

Des recherches bibliographiques, aidées de nombreuses discussions avec des immunologistes (l'équipe de Jacqueline Marvel-Inserm U851, Lyon, et Alain Trautmann-Institut Cochin, Paris), ont permis de déterminer un modèle biologique des interactions moléculaires de la réponse immunitaire T CD8. Le schéma qui en résulte (voir Figure 4.1) tente ainsi de prendre en compte un ensemble de mécanismes le plus pertinent possible, mis en jeu dans la cellule T CD8. Ces mécanismes sont déclenchés en aval de la liaison TCR/CMH, que nous avons présentée à la section 1.3.1. Nous avions vu que cette liaison constitue le « point de départ » d'une cascade de signalisations menant à l'entrée en cycle cellulaire et à la prolifération de la cellule, ou bien à l'apoptose. C'est ce cheminement de signaux au sein de la cellule que nous souhaitons modéliser. Notons que le schéma que nous développons ici ne considère pas les voies de signalisation de la différenciation des lymphocytes T CD8. Ce processus de différenciation met en effet en jeu d'autres protéines et interactions, encore difficiles à déterminer à l'heure actuelle. Ce point rejoint le problème de la difficulté à déterminer les marqueurs qui sont acquis justement selon l'état de différenciation de la cellule (voir Section 1.3.2), et permettraient de distinguer les sous-populations de lymphocytes entre elles. D'un point de vue de modélisation, il est aussi plus simple de se concentrer sur une seule sortie du modèle (entrée en cycle ou apoptose) pour juger de la capacité de notre réseau à reproduire un comportement correct.

4.2.1 La synapse immunologique

Les mécanismes de liaison entre la cellule T et l'APC, par leurs récepteurs respectifs TCR/CMH et par les molécules de co-stimulation (CD28/CD80-86, CD8/CMH), ont été décrits dans le détail à la section 1.3.1 (flèches en bleu sur la Figure 4.1 : Gett *et al.* [2000], Coombs *et al.* [2005], Altan-Bonnet *et al.* [2005], Wong *et al.* [2004], Roethoeft *et al.* [2006], Abbas *et al.* [2008], Lorenz [2009], Bjorgo *et al.* [2010]). Une fois que le TCR, lié à l'antigène, a reconnu celui-ci, le signal est transmis au co-récepteur CD8. La protéine CD8 active alors une tyrosine kinase, Lck, qui entraîne la phosphorylation d'éléments des protéines CD3 et de la chaîne ζ (Zheng *et al.* [2005], Abbas *et al.* [2008], Lorenz [2009], Bjorgo *et al.* [2010]). Par cette transformation, les éléments de CD3 et ζ deviennent des sites d'arrimage pour une protéine, ZAP-70 (qui a été activée de son côté par Lck). Ce sont des motifs appelés motifs ITAM qui,

sur la chaîne ζ, sont phosphorylés par Lck, donnant des sites où la protéine ZAP-70 pourra être recrutée. L'activation de Lck est quant à elle déclenchée par l'inhibition de phosphatases telles que CD45. Ces différents mécanismes conduisent donc à « configurer » la protéine CD3 de façon à ce que la suite de la signalisation passant par elle soit possible. Dans notre modèle, nous faisons le choix de ne représenter qu'une « unique » activation, et non l'ensemble des signaux décrits précédemment, en considérant la protéine CD3 comme « activée » suite à la stimulation du TCR.

L'activation de Lck permet le recrutement de SHP-1, protéine tyrosine phosphatase, qui inhibe alors l'expression de Lck. Ce rétro-contrôle négatif contre-balance le signal d'activation de Lck qui suit directement la reconnaissance de l'antigène par le TCR. Nous choisissons donc de regrouper les signaux de ce contrôle par une flèche traduisant le fait que SHP-1 a un rôle inhibiteur de l'activation du TCR (flèches en orange sur la Figure 4.1 : Johnson *et al.* [1999], Zheng *et al.* [2005], Altan-Bonnet *et al.* [2005], Lorenz [2009], Jenkins *et al.* [2009]). Cette boucle de rétro-contrôle négatif est contre-balancée par Erk (pour Extracellular signal-Regulated Kinase). Erk est activée par le TCR et empêche le recrutement de SHP-1 (Lorenz [2009], Jenkins *et al.* [2009]). Il semble ainsi que Erk protège le TCR des effets inhibiteurs de SHP-1 (Altan-Bonnet *et al.* [2005]), ce que nous avons pu traduire par un rôle stimulant de Erk sur l'activation du TCR (flèche bleue sur la Figure 4.1). De plus, PD1 contribue à activer la protéine SHP1, renforçant ainsi le rétro-contrôle négatif de SHP1 sur la signalisation du TCR (flèche en orange sur la Figure 4.1 : Larrubia *et al.* [2011], Prosser *et al.* [2012]).

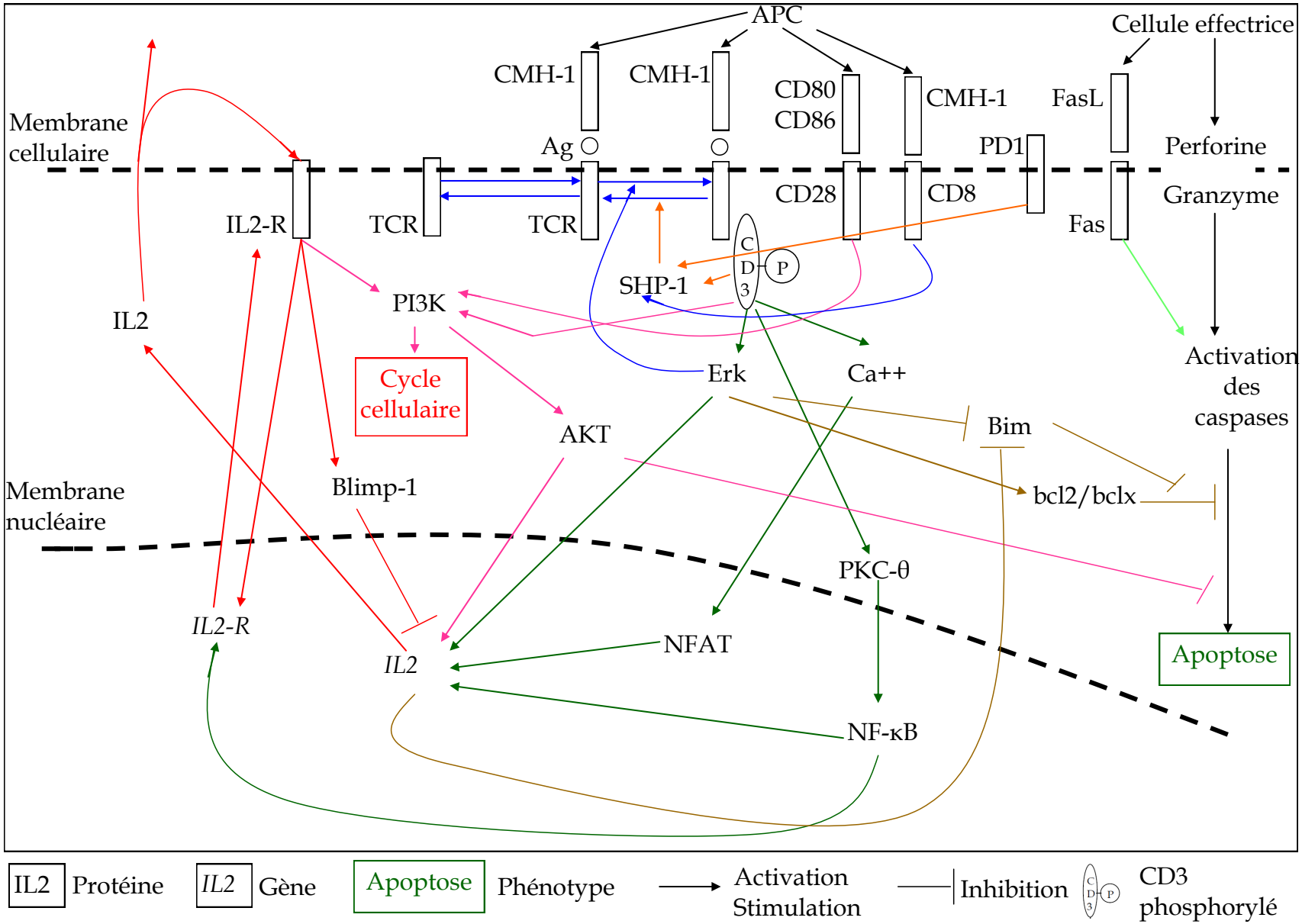


FIGURE 4.1 – Schéma représentant les protéines et les processus d'activation/inhibition associés, impliqués dans la réponse immunitaire T CD8 à l'échelle moléculaire. Cette signalisation conduit à l'entrée en cycle ou à l'apoptose de la cellule.

4.2.2 Voies de signalisation induisant l'entrée en cycle

Suite à son activation par Lck et son recrutement par CD3, la protéine ZAP-70 effectue la phosphorylation de différentes protéines adaptatrices et enzymes qui vont poursuivre la cascade de signaux. Quatre voies principales de signalisation intracellulaire sont alors activées : Erk, Ca++, PKC-θ (flèches en vert foncé sur la Figure 4.1, correspondant aux trois voies : Lilic *et al.* [1999], Altan-Bonnet *et al.* [2005], Kim *et al.* [2006], Abbas *et al.* [2008], D'Souza *et al.* [2008], Jenkins *et al.* [2009]) et PI3K. Ca++ activé stimule ensuite NFAT, tandis que PKC-θ activé stimule NF-κB. Cependant, quels que soient ces intermédiaires, les trois voies Erk, Ca++ et PKC-θ activent le gène de l'IL2, et la voie PKC-θ/NF-κB active également le gène du récepteur à l'IL2 (Kim *et al.* [2006], Abbas *et al.* [2008]). La cascade de signalisations issue de la synapse immunologique conduit ainsi à des signaux dans le noyau de la cellule.

La quatrième voie de signalisation passe par l'activation de la kinase PI3K. PI3K stimule AKT, qui, comme pour les autres voies, vise à activer le gène de l'IL2 (flèches en mauve : Burchill *et al.* [2007], Abbas *et al.* [2008], Dodson *et al.* [2009], Bjorgo *et al.* [2010]). Il semble que CD28 soit nécessaire à l'activation de PI3K (flèche mauve sur la Figure 4.1 : Abbas *et al.* [2008]). Si elle reste très discutée (voir Section 1.3.1), la thèse de la nécessité des molécules de co-stimulation dans l'activation de la cellule T trouve ainsi un argument favorable ici. La voie PI3K semble promouvoir l'entrée en cycle cellulaire du lymphocyte T (Appleman *et al.* [2002], Bjorgo *et al.* [2010]). Notons que la protéine AKT joue également un rôle promoteur de survie en inhibant l'action des caspases (Legewie *et al.* [2006]).

Si les quatre voies citées semblent avoir les mêmes cibles principales (l'activation du gène de l'IL2 ou du gène de son récepteur), il reste cependant raisonnable de décrire ces différentes voies sans les regrouper en une seule, dans le modèle exhaustif présenté sur la Figure 4.1. En effet, il semble que les différentes voies de signalisation ne fonctionnent pas indépendamment les unes des autres, les signaux impliqués ont souvent une action sur les différentes voies en même temps. Par exemple, suite à la rencontre antigène/TCR, une certaine protéine DAG (diacylglycérol) est produite, et Ca++ favorise l'activation de PKC-θ par DAG, tandis que PKC-θ favorise aussi l'activation de la voie médiée par Ca++ (Manicassamy *et al.* [2006], Abbas *et al.* [2008]). La question qui découle de cette constatation serait de savoir si toutes les voies allument les mêmes gènes, déclenchent à peu près les mêmes activités (entrée en cycle cellulaire, survie, apoptose). Cela déterminerait si ces voies ont un rôle complémentaire les unes des autres, et comment, ou bien si activer différentes voies permet simplement de cumuler et ainsi amplifier des signaux identiques (Lilic *et al.*

[1999], D'Souza *et al.* [2008]).

Suite à l'activation des gènes *IL2* et *IL2R*, l'IL2 et son récepteur sont produits et migrent, l'IL2 hors de la cellule, et l'IL2R à la membrane : l'IL2 ainsi relarguée dans l'environnement se fixe sur les récepteurs IL2R disponibles à la membrane des cellules T (flèches en rouge : Depper *et al.* [1985], Gett *et al.* [2000], Manjunath *et al.* [2001], D'Souza *et al.* [2003], Marrack *et al.* [2004], Strasser *et al.* [2004], Wong *et al.* [2004], Spierings *et al.* [2006], D'Souza *et al.* [2008], Martins *et al.* [2008]). Par le biais de l'IL2R ainsi activé, l'IL2 active le gène de son récepteur, *IL2R*, (Depper *et al.* [1985]). Deux voies sont également activées de cette façon : Blimp-1 et PI3K (voir ci-dessus), favorisant indirectement la prolifération de la cellule T CD8. Blimp-1 joue ensuite un rôle d'inhibiteur de l'IL2 (Martins *et al.* [2008]).

4.2.3 Voies de signalisation induisant l'apoptose

Nous avons décrit jusqu'à présent les mécanismes s'attachant à promouvoir et réguler l'entrée en cycle cellulaire du lymphocyte T. Ce processus est cependant contre-balancé par la possibilité qu'au contraire, la cellule parte en apoptose. Les signalisations promouvant la voie apoptotique sont médiées par les protéines Bim, bcl2/bclx d'une part, et Fas/FasL (FasL pour Fas-ligand) et Perforine/Granzyme d'autre part (Hildeman *et al.* [2002a], Marrack *et al.* [2004], Yajima *et al.* [2006]).

Une fois activée, la protéine Erk stimule l'expression de bcl2/bclx et inhibe celle de Bim. La protéine Bim inhibe l'action de bcl2/bclx, tandis que bcl2/bclx inhibe l'action des caspases responsables de l'apoptose. Ce cheminement complexe apporte donc l'idée que bcl2/bclx promeut la survie de la cellule T, tandis que Bim promeut l'apoptose (flèches en marron sur la Figure 4.1 : Van Parijs *et al.* [1998], Hildeman *et al.* [2002a,b], Marrack *et al.* [2004], Strasser *et al.* [2004], Spierings *et al.* [2006], Yajima *et al.* [2006], D'Souza *et al.* [2008], Prlic *et al.* [2008], Rudd *et al.* [2009]). Erk joue donc à la fois un rôle de stimulation des voies menant à l'entrée en cycle comme nous l'avons vu précédemment, et à la fois un rôle de promoteur de survie, par l'intermédiaire de son action inhibitrice sur Bim et stimulatrice sur bcl2/bclx.

Différents travaux exposent l'idée d'une stimulation de bcl2 par l'IL2, ou du moins d'un maintien du niveau de blc2 grâce à l'IL2 (Hildeman *et al.* [2002b]). Par contre, la façon dont Bim est activée reste méconnue (Strasser *et al.* [2004]). Nous pouvons faire l'hypothèse que cette activation est favorisée en l'absence d'IL2. Nous choisissons ainsi de regrouper le rôle de l'IL2 comme contrôle de l'activation de Bim et blc2, en faveur de bcl2, par une rétroaction négative de l'IL2 sur Bim.

Puisque c'est l'activation du gène de l'IL2 qui induit la production de la protéine IL2, nous faisons un simple raccourci dans le schéma en proposant une flèche reliant directement le gène de l'IL2, activé par les voies Erk, Ca++ et PKC-θ, et Bim.

Les deux autres voies, Fas/FasL et Perforine/Granzyme, ont déjà été décrites à la section 1.3.1. Nous y avons vu que ces voies sont impliquées dans l'élimination des cellules infectées (Barry *et al.* [2002]). Le rôle apoptotique de la voie Fas/FasL est d'autre part assez largement décrit (flèche en vert clair sur la Figure 4.1 : Van Parijs *et al.* [1998], Gett *et al.* [2000], Hildeman *et al.* [2002a,b], Marrack *et al.* [2004], Strasser *et al.* [2004], Yajima *et al.* [2006]).

La distinction entre les rôles des voies Fas/FasL et Bim/bcl2-bclx est aussi sujet à discussion. Pour Marrack *et al.* [2004], les cellules naïves ne meurent que par une seule voie, selon la balance Bim/bcl2-bclx. Par contre, les cellules effectrices peuvent mourir par deux voies distinctes : une voie avec des signaux venant de l'extérieur de la cellule T, impliquant donc les autres cellules T et donc le milieu de cytokines dans l'environnement. Ces signaux enclencheraient la voie Fas/FasL, et une voie interne, autonome à la cellule, via la balance Bim/bcl2-bclx. Ainsi, la voie Fas/FasL ne suffirait pas, la voie Bim/bcl2-bclx semble aussi nécessaire pour induire l'apoptose. Selon Marrack *et al.* [2004], une fois la cellule activée, la production d'IL-2 diminue progressivement et l'expression de bcl2 également, l'action pro-apoptotique de Bim n'est alors plus contre-balancée par blc2, et la cellule devient plus sensible à l'apoptose.

Pour Hildeman *et al.* [2002a], la voie Fas/FasL est appelée AICD : « Activation-Induced Cell Death », et la voie Bim/bcl2-bclx est appelée ACAD : « Activation T Cell Autonomous Death ». Si la protéine bcl2 a un assez haut niveau d'expression, elle inhibe l'expression de Bim. Une chute d'expression de bcl2 fait donc probablement pencher la balance en faveur des promoteurs d'apoptose comme Bim, ce que Marrack *et al.* [2004] remarquent également. Le mécanisme de signalisation de Bim comme promoteur d'apoptose reste cependant méconnu (Hildeman *et al.* [2002a], D'Cruz *et al.* [2009]).

Yajima *et al.* [2006] ajoutent que la voie ACAD semble plus centrale que la voie AICD dans la mort massive des cellules effectrices pendant la contraction cellulaire.

Dans la section suivante, nous nous intéressons à la modélisation du réseau moléculaire que nous venons de décrire.

4.3 Représentation d'un réseau moléculaire avec CellDesigner

La modélisation mathématique d'un réseau d'interactions moléculaires, comme celui que nous avons développé à la section précédente, est une tâche rendue difficile par la complexité et la subtilité des interactions. Le nombre souvent élevé de protéines, gènes, et d'interactions mises en jeu rend aussi le modèle difficile à étudier. Le logiciel CellDesigner permet de représenter et simuler aisément la dynamique d'un réseau (Funahashi *et al.* [2003, 2008]). En effet, sa facilité d'utilisation permet de modifier rapidement n'importe quelle partie du réseau représenté, et de suivre ainsi « en direct » les modifications qui en découlent dans les simulations. Cela permet de raffiner et préciser efficacement les détails des interactions du modèle, globalement déterminé auparavant (Figure 4.1). Enfin, CellDesigner utilise le langage SBML (Systems Biology Markup Language), standard pour représenter des modèles de réseaux biochimiques et de régulation de gènes (Finney *et al.* [2003], Hucka *et al.* [2003]), et donc exportable et échangeable avec d'autres personnes à volonté.

Le logiciel permet de choisir dans le détail les interactions que l'on souhaite représenter (voir Figure 4.2 pour un exemple de graphisme). Un ou plusieurs compartiments peuvent être déterminés, pour introduire une notion d'espace (intérieur et extérieur d'une cellule par exemple). Les espèces peuvent être des protéines, récepteurs, ARN, gènes, médicaments, de simples molécules lorsque l'on ne souhaite pas de détail, ou même des phénotypes, etc. Les réactions, correspondant aux interactions entre les espèces, sont aussi variées. Elles peuvent être de simples activations ou inhibitions, des transcriptions, translations, catalyses, stimulations physiques, associations ou dissociations, etc. Là encore, la définition d'une réaction peut être choisie plus ou moins précisément selon le détail que l'on souhaite introduire dans le modèle.

Dans la représentation schématique classique du réseau, telle que nous avons pu le faire sur la Figure 4.1, les flèches pointent directement sur les espèces qui en subissent l'action. Avec CellDesigner, les flèches pointent plutôt sur la transition d'état sur laquelle porte l'action. Par exemple, nous avons vu que la protéine CD3 active Erk (voir Figure 4.1). Ceci sera représenté avec CellDesigner par une flèche d'activation de CD3 portant sur la transition « protéine Erk » → « protéine Erk activée ». Dans cette représentation, CD3 n'active pas Erk, mais plus précisément induit le passage de Erk inactif à Erk actif. Ce principe permet de représenter de façon plus subtile et précise le fonctionnement des flèches d'interaction. Ceci est notamment utile lors des simulations, où les concentrations de protéines inactivées

et activées peuvent être représentées. La présence des protéines dans un état inactif, non stimulé, peut ainsi être prise en compte, ce qui semble plus réaliste que de ne les faire apparaître que lorsqu'une cascade de signaux les met spécialement en jeu et qu'elles sont activées.

Le réseau ainsi représenté peut ensuite être simulé. Une « loi cinétique » doit être assignée à chaque flèche auparavant. Selon la description mathématique que l'on souhaite faire, le logiciel permet d'écrire sa propre loi, ou bien de choisir parmi l'une des deux prédéfinies. Les lois classiques prédéfinies sont la loi d'action de masse, selon la formule $v = k \prod_i S_i$, et l'équation de Michaelis-Menten $v = VS/(K + S)$. Dans les deux cas, la formule décrit la vitesse de réaction enzymatique v, pour un substrat (les espèces du modèle) de concentration S. Les valeurs des constantes k ou V et K sont à choisir.

Nous avons vu que le logiciel CellDesigner permet de représenter et simuler un réseau d'interactions moléculaires. Cependant, la description mathématique de ces interactions, qu'utilise ensuite ControlPanel pour générer les simulations, est la seule partie de modélisation qui n'est pas réellement gérée par CellDesigner. Chaque flèche doit être référencée par une loi, ce qui peut être fastidieux, car le nombre d'interactions dans un réseau augmente vite. Cela n'est pas non plus extrêmement pratique lorsque l'on souhaite tester le réseau, c'est-à-dire modifier quelques interactions et observer les modifications qui en découlent dans les simulations. On perd ici l'avantage que présentait CellDesigner d'être utilisé de façon interactive, en observant des modifications rapidement.

Il est tout aussi difficile d'avoir une vue d'ensemble du modèle, puisque chaque loi est associée à une flèche, mais les équations correspondantes pour les différentes concentrations d'espèces mises en jeu ne sont pas disponibles. L'étude mathématique du modèle n'en est donc pas facilitée. Nous avons cependant recherché et implanté un plug-in, dont le développement a fait l'objet d'une publication (Dräger *et al.* [2008]), et qui fonctionne avec CellDesigner sans pour autant en faire partie. Ce plug-in, SBMLsqueezer, permet de générer intégralement l'ensemble des réactions correspondant à chaque flèche, et dont CellDesigner a besoin pour les simulations. SBML2Latex, qui est un ajout au plug-in, permet ensuite d'exporter en Latex l'ensemble des équations décrivant l'évolution des concentrations des espèces du modèle. Les manques présents dans CellDesigner sont donc palliés par SBMLsqueezer. Le modèle ainsi implémenté dans CellDesigner est ensuite prêt à être simulé, par l'interface Control Panel.

Dans ce qui suit, nous présentons quelques simulations d'un modèle réduit de celui présenté à la section 4.2, après en avoir fait l'étude mathématique.

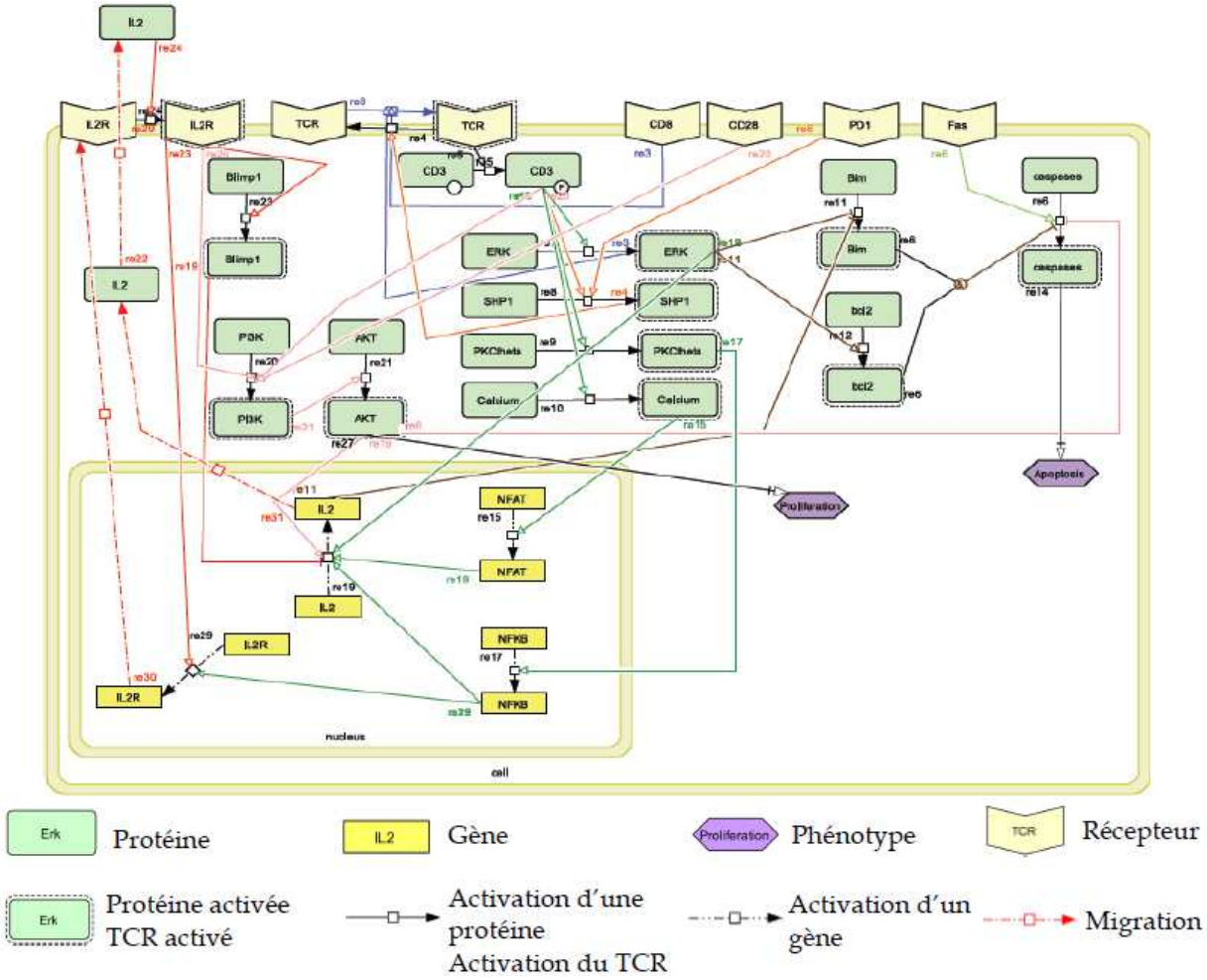


FIGURE 4.2 – Schéma de la Figure 4.1 représenté avec le logiciel CellDesigner.

4.4 Etude mathématique et numérique d'un modèle réduit

Nous avons déterminé un réseau moléculaire réduit. Ensuite, nous l'avons représenté dans CellDesigner, et nous avons déterminé le système d'équations différentielles ordinaires correspondant à l'aide du plug-in SBMLsqueezer. Ceci nous a permis d'étudier mathématiquement et numériquement ce réseau moléculaire réduit. Celui-ci a été déterminé à partir du réseau exhaustif de la Figure 4.1. Le choix de réduire ce réseau plutôt que l'étudier directement dans sa totalité s'est fait selon plusieurs critères. Il paraissait tout d'abord important de maîtriser le fonctionnement de CellDesigner et SBMLsqueezer, afin de s'assurer de la façon dont les équations et les simulations sont générées. Ensuite, le comportement du modèle décrivant 25 protéines/gènes/récepteurs et leurs interactions est difficile à apprécier. Il est assez complexe de tenir compte de façon précise de tous les mécanismes, comme la temporalité des événements de signalisation (la signalisation Erk $\rightarrow$ *IL2* a-t-elle lieu sur les mêmes échelles de temps que la signalisation Erk $\rightarrow$ Bim/bcl2 par exemple ?). De même, les niveaux de concentration des différentes protéines les uns par rapport aux autres, attendus pour conduire la cellule à entrer en cycle cellulaire ou en apoptose, sont complexes à gérer avec un aussi grand nombre de protéines. Enfin, les valeurs de paramètres du modèle n'étant pas connues, il serait pertinent d'en faire une recherche assez systématique, comme il a été fait pour le modèle cellulaire (Chapitre 3). Or le nombre de variables dans un système d'équations décrivant le réseau non réduit conduirait à un nombre très élevé de paramètres, ce qui représente un obstacle à une estimation pertinente de leurs valeurs.

4.4.1 Réduction du réseau aux mécanismes de survie et d'apoptose

Nous avons donc choisi de nous restreindre à l'étude du modèle réduit décrivant le « choix » entre apoptose et survie : ceci réduit le modèle aux protéines gérant principalement les signaux pro et anti-apoptotiques, Erk, Bim, bcl2 (voir Figure 4.1) et Bax (voir Figure 4.3). On exclut ainsi les autres éléments du modèle gérant principalement les signaux d'entrée en cycle cellulaire, via IL2 et IL2-R. Nous n'avons pas non plus inclus les mécanismes dépendant de Fas/FasL et Perforine/Granzyme. Il semble en effet que ces signaux soient moins spécifiques au mécanisme d'apoptose caractérisant la régulation de la population de lymphocytes au cours de la réponse immunitaire (Yajima *et al.* [2006]).

Se restreindre à la signalisation entre Bim et bcl2 a cependant nécessité d'en détailler un peu le fonctionnement. Contrairement à l'option de conserver le réseau complet, la nécessité de détailler davantage les mécanismes entre Bim et bcl2 ne conduit pas à augmenter significativement le nombre de protéines et d'interactions. Cette nécessité reste donc assez raisonnable pour pouvoir réaliser une analyse mathématique et numérique du modèle réduit. Il est aussi possible d'obtenir qualitativement des comportements menant à l'apoptose ou non, selon le niveau de concentration des protéines, dépendant de l'activation du TCR.

4.4.2 Compétition pour bcl2 entre Bim et Bax

Détailler le fonctionnement de la balance entre Bim et bcl2, conduisant ou non à l'apoptose, nécessite d'introduire la protéine Bax (voir une représentation du modèle réduit sur la Figure 4.3). En effet, il semble qu'une cellule T CD8 parte en apoptose ou non selon le résultat d'une compétition pour bcl2 entre Bim et Bax (Ewings *et al.* [2007]).

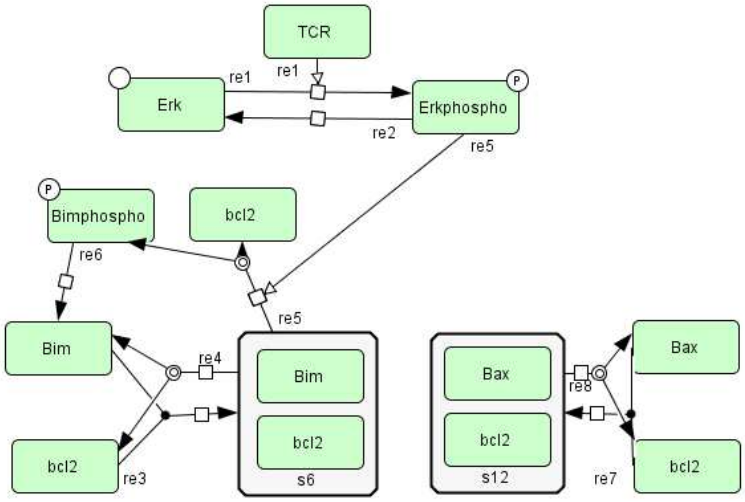


FIGURE 4.3 – Modèle réduit centré sur les mécanismes gérant le « choix » survie/apoptose de la cellule T CD8, selon l'activation du TCR, représenté avec le logiciel CellDesigner.

Plaçons nous d'abord dans une cellule naïve, non stimulée par une APC et donc avec un TCR inactivé. Bim et Bax peuvent se lier à la protéine bcl2 pour former un complexe, et il y a ainsi compétition pour cette dernière. Les complexes atteignent ainsi un équilibre, dépendant de la concentration en Bax et Bim initiales et en bcl2 (voir la partie 4.4.4).

Lorsque la cellule T rencontre une APC et que le TCR est engagé, alors Erk est phosphorylée. En présence de phospho-Erk, la protéine Bim est phosphorylée à son tour et se détache ainsi du complexe qu'elle formait avec bcl2. Ce relargage est réversible : phospho-Bim peut se déphosphoryler et redevenir ainsi disponible pour reformer un complexe avec bcl2. Cependant, durant le temps pendant lequel Bim demeure phosphorylé, bcl2 est disponible en plus grande quantité pour former un complexe avec Bax. Ainsi, par ce jeu indirect, Erk promeut la formation du complexe Bax-bcl2 au détriment du complexe Bim-bcl2.

Or, lorsque la protéine Bim n'est pas en complexe avec bcl2, elle est déstabilisée et ne peut jouer son rôle pro-apoptotique. Erk, en favorisant le complexe Bax-bcl2, promeut dont la survie (Ewings *et al.* [2007]). Le niveau de Bax, libéré, et non en complexe, peut ainsi jouer le rôle de sortie du modèle : plus sa concentration est élevée, plus la cellule peut partir en apoptose. Autrement dit, plus la concentration de Bax hors de tout complexe est importante, plus Bim peut former de complexes avec bcl2, et plus son rôle pro-apoptotique sera important. Notons tout de même que la quantité de Bax est une sortie de modèle correcte seulement s'il n'y a pas production de Bax, ce qui sera le cas dans le modèle que nous considérons. Notons aussi que la quantité de complexe Bim-bcl2 peut également jouer ce rôle de sortie du modèle, dans le même sens que le niveau de Bax : plus il y a de complexe Bim-bcl2, plus le rôle pro-apoptotique de Bim sera important.

Dans ce qui suit, nous étudions ce modèle réduit, mathématiquement et numériquement.

4.4.3 Description du modèle mathématique

Nous définissons les concentrations suivantes (en mmole), au temps t :
TCR : concentration de TCR,
$E(t)$: concentration de Erk,
$PE(t)$: concentration de phospho-Erk (Erk phosphorylée),
$Bim(t)$: concentration de Bim,
$PBim(t)$: concentration de phospho-Bim (Bim phosphorylée),
$bcl2(t)$: concentration de bcl2,
$Bax(t)$: concentration de Bax,
$CompBimbcl2(t)$: concentration du complexe Bim-bcl2,
$CompBaxbcl2(t)$: concentration du complexe Bax-bcl2.

Nous notons $k_i, i = 1, ..., 6$ et $c_i, i = 1, 2, 3$ les constantes cinétiques positives ou nulles, ainsi que f le taux d'activation de Erk, dépendant de l'activité du TCR, et g le taux de dissociation du complexe Bim-bcl2, dépendant de la concentration de

phospho-Erk, tels que :

$$f(TCR) = \begin{cases} 0, & \text{si} \quad TCR = 0, \\ c_1, & \text{si} \quad TCR = 1, \end{cases}$$

$$\text{et} \quad g(PE) = \frac{PE}{c_2 + PE} c_3.$$

Nous simplifions donc ici les dynamiques du TCR en ne le considérant qu'inactivé ($TCR = 0$) ou activé ($TCR = 1$). La fonction g est définie comme telle par SBMLsqueezer lorsqu'une quantité dite « modifiante », ici la quantité de phospho-Erk, vient contrôler une réaction du modèle, en l'inhibant ou en la stimulant. Ainsi, phospho-Erk stimule la dissociation du complexe Bim-bcl2. La façon dont ce type de fonctions est défini est détaillée dans Liebermeister *et al.* [2006].

Le système d'équations différentielles ordinaires correspondant à notre modèle s'écrit alors :

$$\begin{aligned}
\frac{dE}{dt}(t) &= k_1 PE(t) - f(TCR)E(t), && (4.1a)\\
\frac{dPE}{dt}(t) &= f(TCR)E(t) - k_1 PE(t), && (4.1b)\\
\frac{dBim}{dt}(t) &= k_3 CompBimbcl2(t) + k_6 PBim(t) \\
&\quad - k_2 Bim(t) bcl2(t), && (4.1c)\\
\frac{dPBim}{dt}(t) &= g(PE(t)) CompBimbcl2(t) - k_6 PBim(t), && (4.1d)\\
\frac{dbcl2}{dt}(t) &= k_3 CompBimbcl2(t) + g(PE(t)) CompBimbcl2(t) \\
&\quad + k_4 CompBaxbcl2(t) - k_2 Bim(t) bcl2(t) \\
&\quad - k_5 Bax(t) bcl2(t), && (4.1e)\\
\frac{dBax}{dt}(t) &= k_4 CompBaxbcl2(t) - k_5 Bax(t) bcl2(t), && (4.1f)\\
\frac{dCompBimbcl2}{dt}(t) &= k_2 Bim(t) bcl2(t) - k_3 CompBimbcl2(t) \\
&\quad - g(PE(t)) CompBimbcl2(t), && (4.1g)\\
\frac{dCompBaxbcl2}{dt}(t) &= k_5 Bax(t) bcl2(t) - k_4 CompBaxbcl2(t), && (4.1h)
\end{aligned}$$

avec les conditions initiales positives ou nulles

$$E(0) = E_0, \quad Bim(0) = Bim_0, \quad bcl2(0) = bcl2_0, \quad Bax(0) = Bax_0,$$

et

$$PE(0) = PBim(0) = CompBimbcl2(0) = CompBaxbcl2(0) = 0.$$

La concentration de TCR est choisie nulle si l'on souhaite considérer le TCR inactivé, c'est-à-dire que la cellule T n'est pas liée à une APC, ou que la liaison n'est pas assez forte ou ne dure pas depuis assez longtemps pour avoir conduit à l'activation du récepteur de la cellule T. Au contraire, si l'on considère le récepteur de la cellule T activé, alors $TCR = 1$.

Pour simplifier l'étude de ce modèle, qui compte déjà 9 paramètres et 4 conditions initiales que l'on ne choisit pas forcément nulles, nous n'introduisons pas de dégradation ni de production de protéines. L'échelle de temps considérée ici est suffisamment courte (moins d'une minute), au regard des échelles de temps de dégradation et de production de protéines (Orton *et al.* [2009], Eden *et al.* [2011]), pour que ce choix soit pertinent. Notons que cet argument est valable dans le cadre de notre modèle moléculaire, mais serait à modifier si on souhaitait intégrer notre réseau dans un modèle cellulaire. Ceci amène quelques propriétés sur le système précédent.

Par (4.1a) et (4.1b), on a

$$\frac{dE}{dt}(t) + \frac{dPE}{dt}(t) = 0.$$

Alors $E(t) + PE(t)$ est constant pour tout $t \geq 0$. Nous avons même, puisque $E(0) = E_0$ et $PE(0) = 0$, que

$$E(t) + PE(t) = E_0, \quad \text{pour tout} \quad t \geq 0. \tag{4.2}$$

De la même façon, par (4.1c), (4.1d) et (4.1g), on obtient

$$\frac{dBim}{dt}(t) + \frac{dPBim}{dt}(t) + \frac{dCompBimbcl2}{dt}(t) = 0.$$

Alors

$$Bim(t) + PBim(t) + CompBimbcl2(t) = Bim_0, \quad \text{pour tout} \quad t \geq 0. \tag{4.3}$$

Par (4.1f) et (4.1h), on a également

$$\frac{dBax}{dt}(t) + \frac{dCompBaxbcl2}{dt}(t) = 0,$$

donc

$$Bax(t) + CompBaxbcl2(t) = Bax_0, \quad \text{pour tout} \quad t \geq 0. \tag{4.4}$$

Enfin, par (4.1e), (4.1g) et (4.1h), on obtient

$$\frac{dbcl2}{dt}(t) + \frac{dCompBimbcl2}{dt}(t) + \frac{dCompBaxbcl2}{dt}(t) = 0,$$

d'où

$$bcl2(t) + CompBimbcl2(t) + CompBaxbcl2(t) = bcl2_0, \quad \text{pour tout} \quad t \geq 0. \tag{4.5}$$

Dans la section suivante, nous déterminons les états d'équilibre du système (4.1).

4.4.4 Etats d'équilibre

Nous étudions ici les états d'équilibre du système (4.1). Une solution

$$(E, PE, Bim, PBim, bcl2, Bax, CompBimbcl2, CompBaxbcl2)$$

du système (4.1) est un état d'équilibre si et seulement si

$$dE/dt = dPE/dt = dBim/dt = dPBim/dt = dbcl2/dt = dBax/dt$$

$$= dCompBimbcl2/dt = dCompBaxbcl2/dt = 0.$$

D'après (4.1), les états d'équilibre du système vérifient donc

$$\begin{aligned} k_1 PE &= f(TCR)E, && \text{(4.6a)} \\ k_6 PBim &= g(PE)CompBimbcl2, && \text{(4.6b)} \\ k_4 CompBaxbcl2 &= k_5 Bax.bcl2, && \text{(4.6c)} \\ (k_3 + g(PE))CompBimbcl2 &= k_2 Bim.bcl2. && \text{(4.6d)} \end{aligned}$$

De plus, par les propriétés (4.2)-(4.5) que nous venons d'établir, les états d'équilibre vérifient

$$\begin{aligned} E + PE &= E_0, && \text{(4.7a)} \\ Bim + PBim + CompBimbcl2 &= Bim_0, && \text{(4.7b)} \\ Bax + CompBaxbcl2 &= Bax_0, && \text{(4.7c)} \\ bcl2 + CompBimbcl2 + CompBaxbcl2 &= bcl2_0. && \text{(4.7d)} \end{aligned}$$

Alors, par (4.6a) et (4.7a), nous avons

$$E = \frac{k_1}{k_1 + f(TCR)} E_0 \quad \text{et} \quad PE = \frac{f(TCR)}{k_1 + f(TCR)} E_0.$$

De même, par (4.6c) et (4.7c), nous avons

$$Bax = \frac{k_4}{k_4 + k_5 bcl2} Bax_0 \quad \text{et} \quad CompBaxbcl2 = \frac{k_5 bcl2}{k_4 + k_5 bcl2} Bax_0.$$

Par (4.6b), (4.6d) et (4.7b), nous avons

$$Bim = \frac{k_3 + g(PE)}{k_2 bcl2} CompBimbcl2 \quad \text{si} \quad bcl2 > 0 \quad \text{et} \quad Bim = Bim_0 \quad \text{si} \quad bcl2 = 0,$$

$$PBim = \frac{g(PE)}{k_6} CompBimbcl2$$

et

$$CompBimbcl2 = \frac{k_6 k_2 bcl2}{k_6(k_3 + g(PE)) + k_2 bcl2(k_6 + g(PE))} Bim_0.$$

Par (4.7d), nous avons enfin

$$bcl2 + \frac{k_6 k_2 bcl2}{k_6(k_3 + g(PE)) + k_2 bcl2(k_6 + g(PE))} Bim_0 + \frac{k_5 bcl2}{k_4 + k_5 bcl2} Bax_0 = bcl2_0.$$

Cette égalité définit une unique valeur d'état d'équilibre de $bcl2$, dépendant des conditions initiales $Bim_0, Bax_0, bcl2_0, E_0$ et de la valeur de TCR. Nous remarquons aussi que

$$bcl2 \left(1 + \frac{k_6 k_2}{k_6(k_3 + g(PE)) + k_2(k_6 + g(PE))} Bim_0 + \frac{k_5}{k_4 + k_5 bcl2} Bax_0 \right) = bcl2_0.$$

Puisque les constantes cinétiques et les conditions initiales sont positives ou nulles, on a

$$1 + \frac{k_6 k_2}{k_6(k_3 + g(PE)) + k_2(k_6 + g(PE))} Bim_0 + \frac{k_5}{k_4 + k_5 bcl2} Bax_0 \geq 1,$$

si bien que

$$bcl2_0 \geq bcl2.$$

Nous pouvons plus généralement remarquer que toutes les valeurs des états d'équilibre dépendent des conditions initiales.

Il existe une unique valeur d'état d'équilibre pour E, ainsi que pour PE. Ces valeurs d'état d'équilibre dépendent de la condition initiale E_0 et de la valeur de TCR.

Il existe également une unique valeur d'état d'équilibre pour Bax, ainsi que pour $CompBaxbcl2$. Ces valeurs d'état d'équilibre dépendent des conditions initiales $Bax_0, Bim_0, bcl2_0, E_0$ et de la valeur de TCR.

Enfin, il existe une unique valeur d'état d'équilibre pour Bim, ainsi que pour $PBim$ et $CompBimbcl2$. Ces valeurs d'état d'équilibre dépendent des conditions initiales $Bim_0, Bax_0, bcl2_0, E_0$ et de la valeur de TCR.

L'état d'équilibre du système (4.1) dépend donc des conditions initiales E_0, Bim_0, $bcl2_0, Bax_0$, et de la valeur de TCR.

En particulier, en absence d'activation du TCR, on a $f(TCR) = 0$ et ainsi par (4.7a) et (4.6a), nous avons $E = E_0$ et $PE = 0$. Ceci entraîne, par (4.7d) :

$$bcl2_0 = bcl2 + \frac{k_2 bcl2}{k_3 + k_2 bcl2} Bim_0 + \frac{k_5 bcl2}{k_4 + k_5 bcl2} Bax_0. \tag{4.8}$$

Les états d'équilibre de $Bim, PBim, Bax, CompBimbcl2, CompBaxbcl2$ changent donc en fonction de $bcl2_0$. Ces états d'équilibre dépendent toujours de Bim_0 et de Bax_0, mais ils ne dépendent plus de E_0 ni de la valeur de TCR (qui est nulle en l'ocurrence).

Nous pouvons remarquer que si l'on veut prendre l'état d'équilibre du système comme condition initiale, il faut prendre $TCR = 0$ et $bcl2_0 = 0$, car dans ce cas, $bcl2 = 0$ par (4.8) et les valeurs des états d'équilibre sont exactement égales à

$$E = E_0, \quad Bim = Bim_0, \quad bcl2 = bcl2_0, \quad Bax = Bax_0,$$

et

$$PE = PBim = CompBimbcl2 = CompBaxbcl2 = 0.$$

Les états d'équilibre du système dépendent donc des conditions initiales, ainsi que de la quantité de TCR. Mathématiquement, cela contraint les dynamiques du système, ce qui limite les comportements possibles du modèle. En particulier, la valeur d'état d'équilibre de $bcl2$ ne peut être supérieure à la quantité de bcl2 présente initialement. Biologiquement, cela signifie que si la concentration initiale de bcl2 n'est pas nulle, une certaine quantité de bcl2 n'est pas libérée mais reste dans les complexes Bim-bcl2 et Bax-bcl2 à l'équilibre. Le modèle réagit par contre rapidement et de façon sensible à une perturbation des états d'équilibre. Par exemple, le système à l'équilibre avec un TCR inactivé ($TCR = 0$) est perturbé en quelques secondes si l'on active le TCR ($TCR = 1$) : cette simple modification permet d'obtenir une évolution des concentrations de protéines différente, rendant compte d'un changement de comportement selon l'état du TCR (inactivé/activé) biologiquement cohérent. Il en va de même pour les états d'équilibre : la dépendance des états d'équilibre en la quantité de TCR permet par exemple, en l'absence d'activation du TCR, de stabiliser la valeur d'état d'équilibre de Erk à son niveau initial, et celle de PE à 0, ce qui correspond à ce qu'on attendrait biologiquement dans ce cas.

Nous donnons à présent quelques exemples des simulations que ce modèle nous permet d'obtenir.

4.4.5 Simulations

Nous présentons ici quelques simulations du système (4.1), réalisées avec CellDesigner. Les conditions initiales sont :

$$E_0 = Bim_0 = bcl2_0 = Bax_0 = 0.5,$$

et

$$PE(0) = PBim(0) = CompBimbcl2(0) = CompBaxbcl2(0) = 0.$$

Dans un premier temps, les paramètres $k_i, i = 1, ..., 6$ et $c_i, i = 1, 2, 3$ sont tous pris égaux à 1.

Dans nos simulations, on considère que $TCR = 0$ lorsque le TCR n'est pas activé, et que $TCR = 1$ lorsque le TCR est activé. L'état d'équilibre du système, en considérant $TCR = 0$ étant atteint au bout de 10 secondes, nous pouvons choisir ce délai arbitraire pour « relancer » le système pour en observer l'évolution, en prenant $TCR = 1$ lorsque $t \geq 10$.

En résumé, nous choisissons de poser $TCR = 0$ pour $t \in [0, 10[$ et $TCR = 1$ pour $t \geq 10$ (voir Figure 4.4).

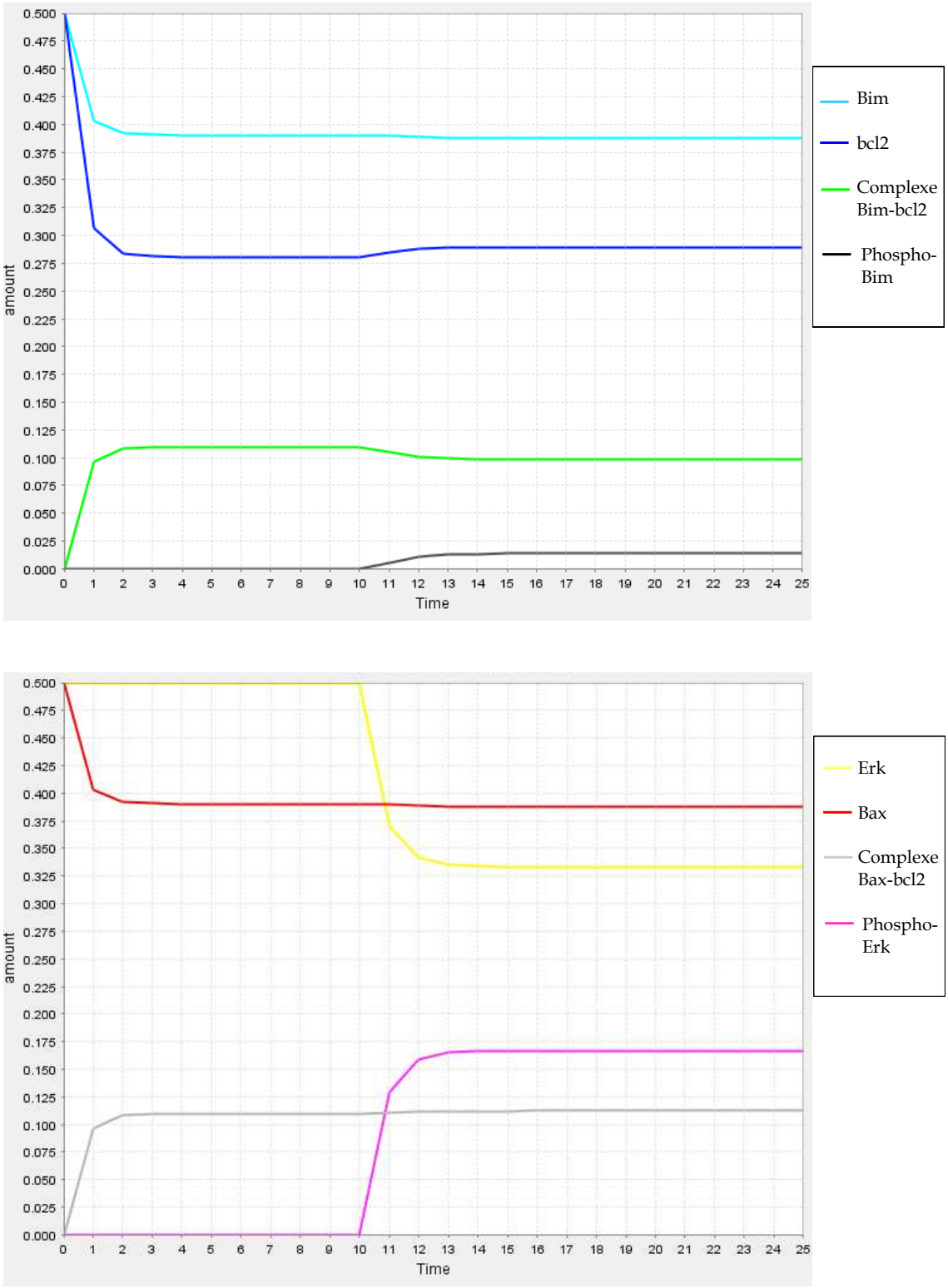


FIGURE 4.4 – Simulation du modèle (4.1), réalisée avec CellDesigner (concentrations des protéines en millimoles en fonction du temps en secondes). Le TCR est activé au bout de 10 secondes. Ici, les paramètres $k_i, i = 1, ..., 6$ et $c_i, i = 1, 2, 3$ sont tous pris égaux à 1.

Biologiquement, à l'instant initial, on se place dans le cas où la cellule T n'a pas été activée par une APC. La protéine Erk n'est donc pas phosphorylée, et ainsi Bim non plus. Au bout de 10 secondes, on active le TCR. On considère ainsi que le processus de rencontre cellule T/APC, de liaison du TCR et d'activation n'est suffisant qu'au bout de 10 secondes pour conduire à la phosphorylation de Erk. Une fois le TCR activé, Erk est phosphorylée, ce qui permet la phosphorylation de Bim. Ces deux espèces (phospho-Erk et phospho-Bim) apparaissent donc après 10 secondes. Le système se stabilise assez rapidement sur les nouveaux états d'équilibre.

On considère à présent à nouveau des conditions initiales et valeurs de paramètres égales à 1, sauf les deux paramètres de la fonction g, qui décrit le taux de dissociation du complexe Bim-bcl2. Ces paramètres sont pris tels que $c_2 = 0.1$ et $c_3 = 10$. Le taux de dissociation du complexe Bim-bcl2 est ainsi plus important (voir Figure 4.5).

On choisit encore $TCR = 0$, puis au bout de 10 secondes, le TCR est activé et $TCR = 1$. La dynamique du modèle est la même dans les dix premières secondes que précédemment, puisque $PE = 0$ lorsque le TCR n'est pas activé. Par contre, lorsque le TCR est activé et Erk ainsi phosphorylée, la quantité de Bax libre diminue, de même que la quantité de complexe Bim-bcl2. Ceci correspond au comportement qualitatif que nous attendions (voir Section 4.4.1) : Erk activée permet de promouvoir la survie, en conduisant à la diminution des quantités de Bax libre et de complexe Bim-bcl2, qui jouent un rôle pro-apoptotique. A ce stade, le modèle reproduit des tendances en terme de sens de variation (diminution, augmentation) d'une concentration, mais il resterait à déterminer si ces variations sont représentatives quantitativement. Par exemple, les diminutions de quantité de Bax et de complexe Bim-bcl2 dont nous parlons ici ne se font qu'en ordres de grandeur de quelques centièmes et dixièmes de millimoles. Un travail expérimental permettrait de déterminer si ces ordres de grandeur sont corrects.

On peut remarquer que dans les simulations présentées sur les Figures 4.4 et 4.5, les concentrations de Bim et de Bax suivent exactement la même évolution. En effet, dans cet exemple simple, nous avons pris tous les paramètres égaux à 1 et $Bim_0 = Bax_0$, si bien que les valeurs des états d'équilibre de Bim et Bax sont les mêmes, égales à

$$Bim = Bax = \frac{1}{1 + bcl2} Bim_0.$$

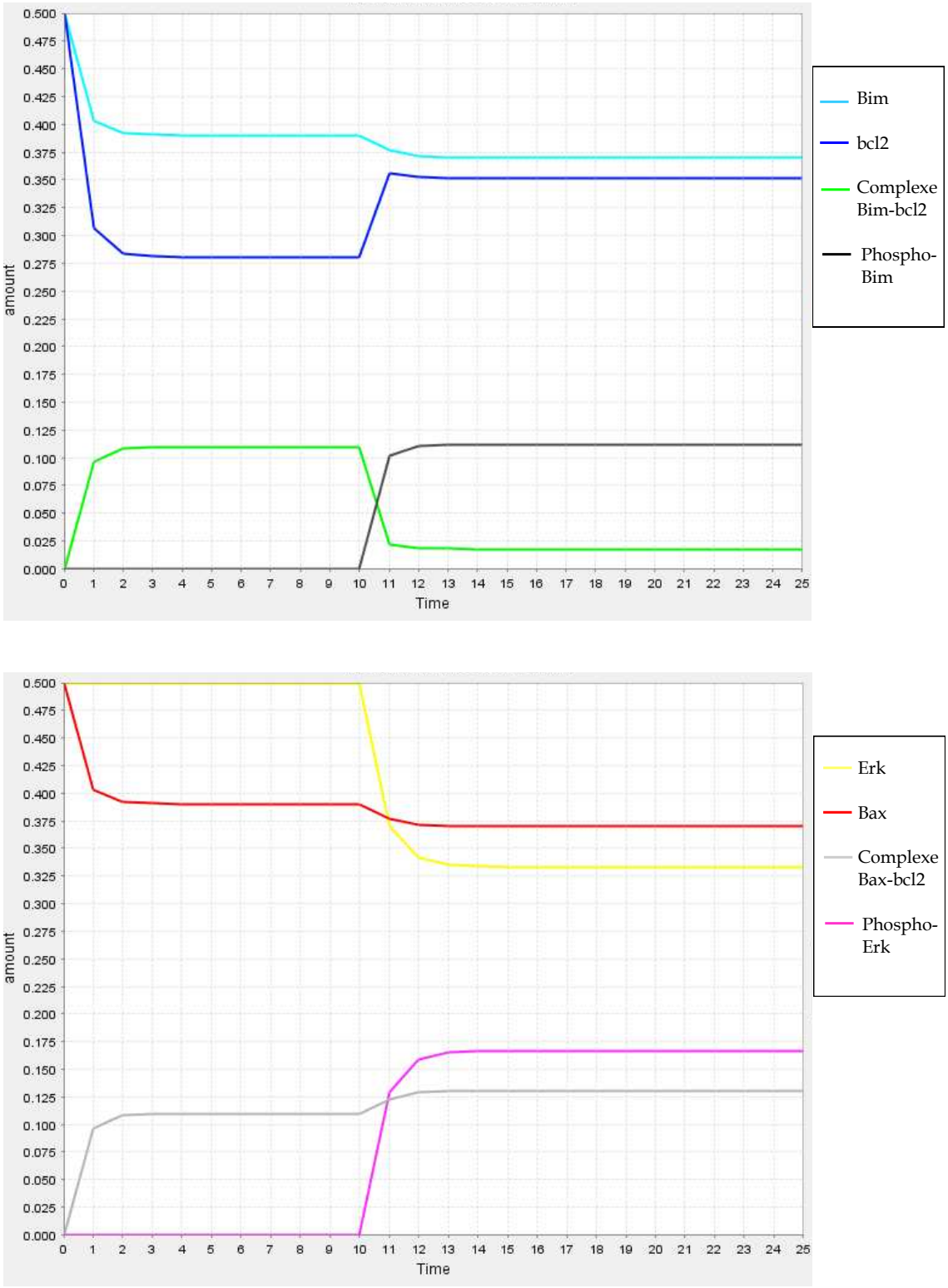


FIGURE 4.5 – Simulation du modèle (4.1), réalisée avec CellDesigner (concentrations des protéines en millimoles en fonction du temps en secondes). Le TCR est activé au bout de 10 secondes. Ici, les paramètres $k_i, i = 1, ..., 6$ et $c_i, i = 1, 2, 3$ sont tous pris égaux à 1, sauf $c_2 = 0.1$ et $c_3 = 10$. Le taux de dissociation du complexe Bim-bcl2 est ainsi plus important.

Il nous faut donc prendre au moins une valeur de paramètre dont dépendent les équilibres de Bim et Bax différente de 1, ou $Bim_0 \neq Bax_0$, pour obtenir des cinétiques de Bim et Bax différentes, la Figure 4.6 en est un exemple dans lequel la valeur du taux de déphosphorylation de phospho-Bim k_6 est modifiée, de $k_6 = 1$ à $k_6 = 0.5$. Le taux de déphosphorylation de phospho-Bim étant un peu plus faible, la concentration de Bim chute, une fois le TCR activé. Cependant, dans cet exemple, les concentrations de Bim et Bax sont différentes seulement lorsque $TCR = 1$. En effet, lorsque $TCR = 0$, alors $PE = 0$ et donc $g(PE) = 0$, si bien qu'à nouveau les valeurs des états d'équilibre de Bim et Bax sont telles que $Bim = Bax = Bim_0/(1 + bcl2)$. Les modifications des valeurs de paramètres peuvent ainsi être faites de façon assez précise, pour obtenir les dynamiques souhaitées, avec ou sans l'activation du TCR.

Le comportement anti-apoptotique obtenu lorsque le TCR est activé (voir Figures 4.5, 4.6) est réversible lorsqu'on inactive le TCR à nouveau. Considérons par exemple que $TCR = 0$ pour $t \in [0, 10[$, $TCR = 1$ pour $t \in [10, 30[$ et $TCR = 0$ pour $t \geq 30$, en conservant les conditions initiales et les valeurs de paramètres fixées de la Figure 4.6. Alors après 30 secondes, le système retourne à l'équilibre initial obtenu au bout de 10 secondes, lorsque le TCR était inactivé (voir Figure 4.7). Après une brève stimulation du TCR, les concentrations des différentes protéines reviennent donc à leur état initial. Si l'on constate l'augmentation de concentration de Bax et de complexe Bim-bcl2 après 30 secondes, par rapport aux concentrations à l'équilibre obtenues entre 10 et 30 secondes, on observe un comportement pro-apoptotique : la phosphorylation de Erk cesse d'être stimulée après 30 secondes, puisque le TCR cesse d'être activé. Erk ne joue donc plus son rôle anti-apoptotique, et les quantités de Bax libre et de complexe Bim-bcl2, qui jouent un rôle pro-apoptotique, augmentent. Cependant, il resterait à déterminer si les variations de concentrations sont significatives. Un travail expérimental permettrait de les comparer à des données biologiques réelles. De même, si les quantités de Bax et de complexe Bim-bcl2 augmentent après 30 secondes, elles se stabilisent à la valeur d'équilibre obtenue à 10 secondes : le comportement pro-apoptotique n'est donc que très relatif, c'est une tendance par rapport aux dynamiques obtenues lorsque le TCR est activé, mais pas une tendance par rapport à l'état d'équilibre dans la cellule lorsque le TCR était inactivé. Si on considérait que ce comportement est pro-apoptotique d'une manière assez significative, cela laisserait penser que la cellule était déjà dans un état pro-apoptotique avant l'activation du TCR, alors que c'était une cellule au repos. Ceci ne modélise pas le comportement pro-apoptotique spécifique à la phase de contraction cellulaire observé dans une réponse immunitaire.

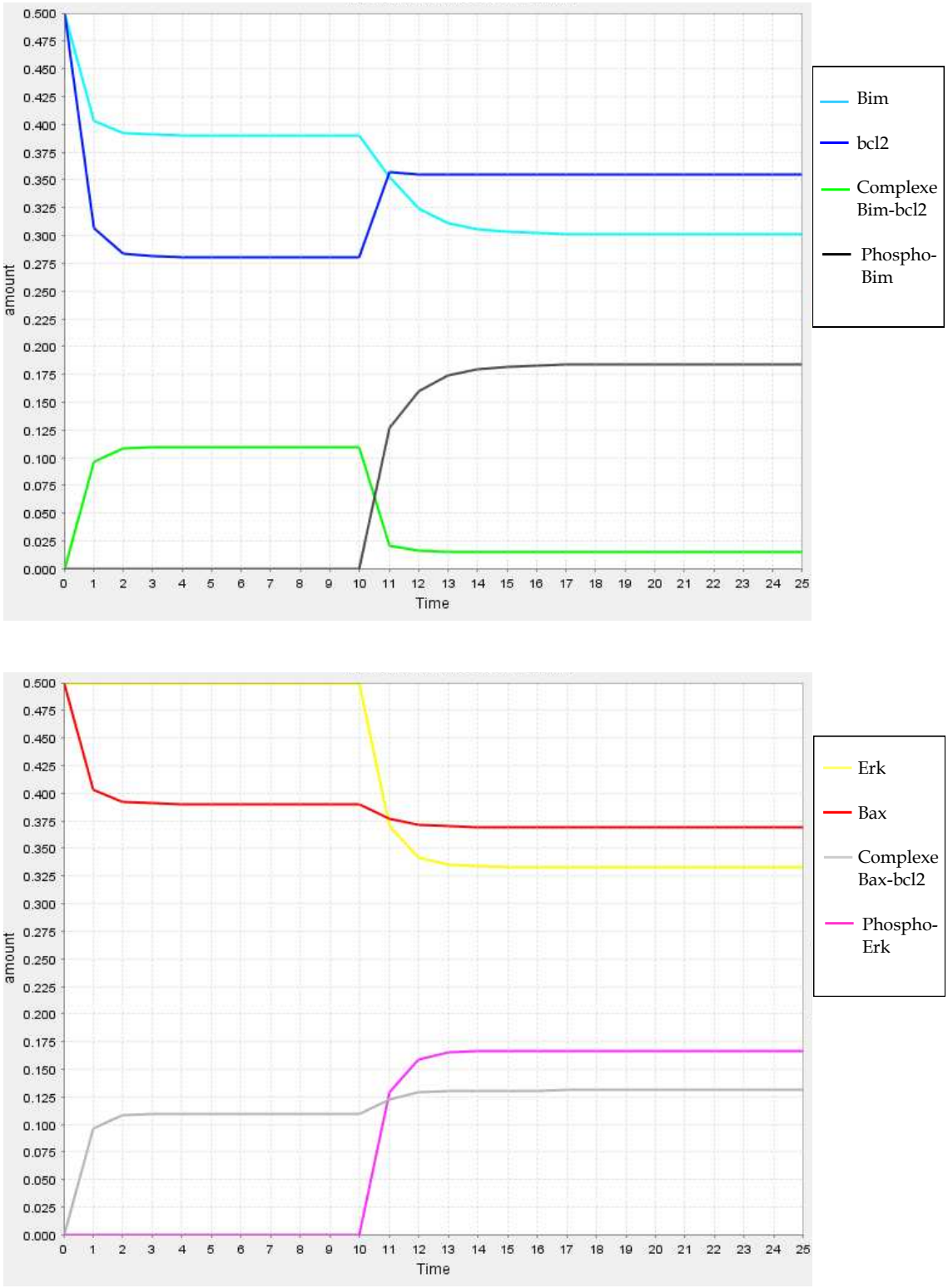


FIGURE 4.6 – Simulation du modèle (4.1), réalisée avec CellDesigner (concentrations des protéines en millimoles en fonction du temps en secondes). Le TCR est activé au bout de 10 secondes. Ici, les paramètres $k_i, i = 1, ..., 6$ et $c_i, i = 1, 2, 3$ sont tous pris égaux à 1, sauf $c_2 = 0.1$, $c_3 = 10$ et $k_6 = 0.5$. Le taux de dissociation du complexe Bim-bcl2 est ainsi plus important, et le taux de déphosphorylation de phospho-Bim un peu plus faible.

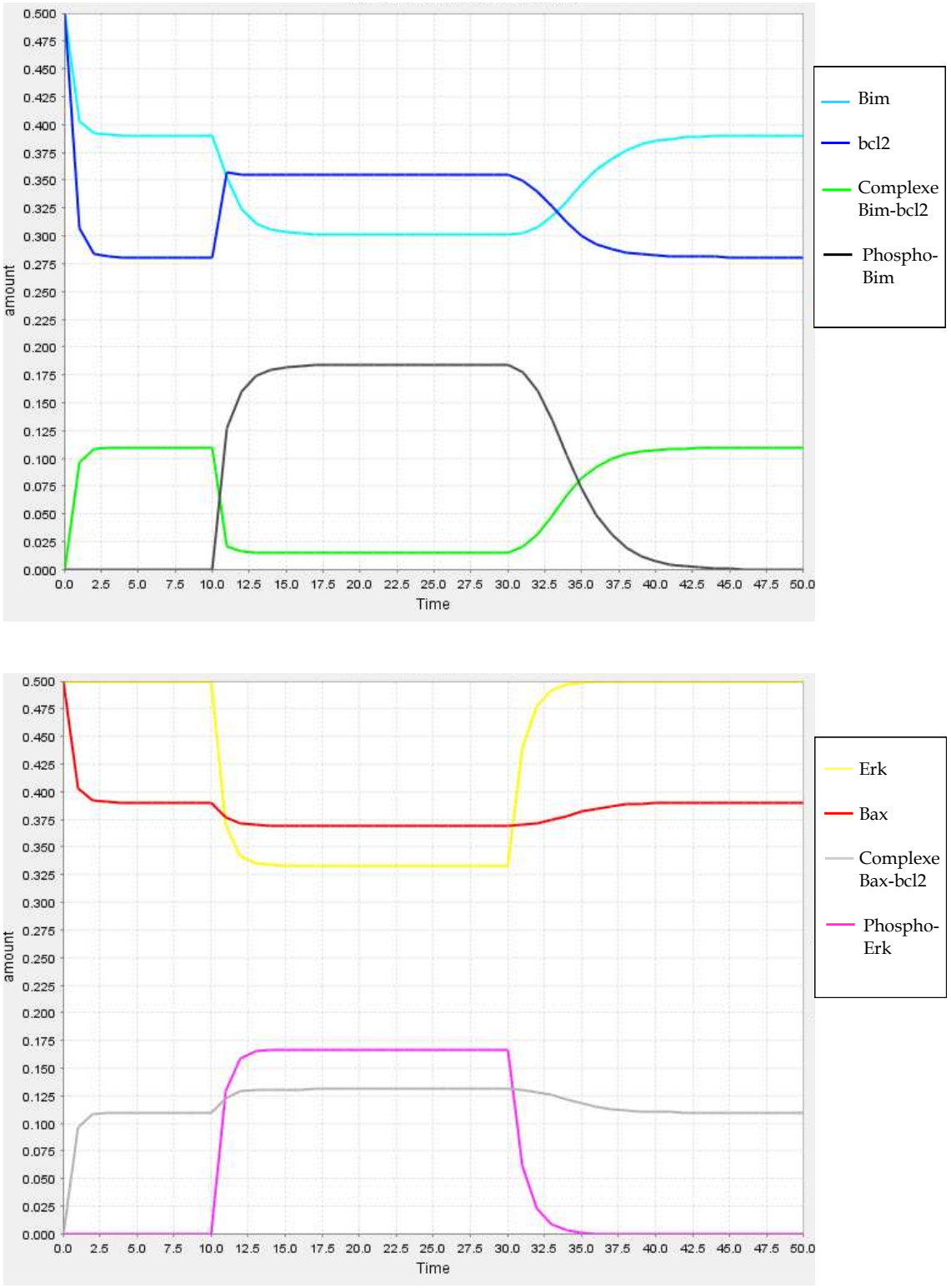


FIGURE 4.7 – Simulation du modèle (4.1), réalisée avec CellDesigner (concentrations des protéines en millimoles en fonction du temps en secondes). Le TCR est activé au bout de 10 secondes, puis inactivé à partir de 30 secondes. Ici, les paramètres $k_i, i = 1, ..., 6$ et $c_i, i = 1, 2, 3$ sont tous pris égaux à 1, sauf $c_2 = 0.1$, $c_3 = 10$ et $k_6 = 0.5$.

4.5 Discussion

En modifiant simplement deux ou trois valeurs de paramètres, le modèle permet d'obtenir des dynamiques capables de décrire le rôle promoteur de survie de Erk, intervenant lorsque le TCR est activé. Les valeurs d'états d'équilibre du modèle dépendent fortement des conditions initiales, et d'un nombre important de paramètres. Par exemple, la valeur d'équilibre de *Bim* dépend de 5 paramètres. Cette sensibilité permet d'obtenir des dynamiques différentes en modifiant peu de paramètres, et dans des ordres de grandeur peu étendus. Ces dynamiques ne sont ici étudiées que qualitativement. Les variations obtenues sont quantitativement faibles (la baisse de niveau de Bax libre dans la Figure 4.5 par exemple). Il serait intéressant de réaliser une estimation plus approfondie, comme dans le chapitre 3, des valeurs de paramètres, choisies ici à simple titre d'illustration. La difficulté reste de choisir quels ordres de grandeur de ces valeurs de paramètres il est pertinent de tester. Des données expérimentales aideraient à fixer ces ordres de grandeur et à discriminer ensuite les jeux de paramètres permettant de reproduire correctement les données biologiques. Des données permettraient d'ailleurs de connaître le comportement de chaque protéine déjà de manière simplement qualitative. Par exemple, la baisse de concentration de Bax et du complexe Bim-bcl2 est ainsi obtenue de façon équivalente dans les Figures 4.5 et 4.6, alors que les évolutions des concentrations de Bim et phospho-Bim sont différentes. Il serait donc intéressant d'avoir une idée pour ces protéines des dynamiques auxquelles on doit s'attendre expérimentalement.

La dégradation et la production de protéines sont absentes de ce modèle pour en simplifier le développement, mais le modèle ainsi écrit a tout de même permis d'obtenir quelques résultats concernant les dynamiques de concentrations de protéines. Cependant, il est plus réaliste de tenir compte de ces phénomènes, et on pourrait en étudier l'influence sur les états d'équilibre du système.

La simplicité de ce modèle a donc permis de faire émerger des dynamiques montrant des tendances cohérentes, selon que l'on considère le TCR activé ou non. Il resterait à vérifier expérimentalement si ces variations dans les dynamiques sont significatives, que ce soit pour promouvoir la survie de la cellule, ou son départ en apoptose, en particulier après que le TCR a été activé pendant un certain laps de temps. Un progrès dans le modèle serait d'obtenir un comportement différent entre le système où le TCR n'est pas activé (par exemple, Figure 4.7 jusqu'à $t = 10$) et le système où le TCR a déjà été activé et ne l'est plus (par exemple, Figure 4.7 après $t = 40$).

Cette étude encourage à penser que l'ensemble des protéines et de leurs interac-

tions représenté dans notre modèle permet une première approche qualitativement correcte des processus de « choix » entre survie et apoptose de la cellule. Cette démarche nous a permis de déterminer les protéines jouant spécifiquement un rôle dans ce processus, dans un modèle assez simple pour être étudié mathématiquement et obtenir des propriétés sur les états d'équilibre, utilisées ensuite dans les simulations. Ce modèle fournit un outil pour tester les tendances des dynamiques de concentrations des protéines que l'on peut obtenir, selon l'activation du TCR, et qui ne sont pas forcément toutes connues biologiquement.

Chapitre 5

Conclusions et perspectives

L'objectif de notre travail était d'apporter des éléments de compréhension des dynamiques de la réponse immunitaire des lymphocytes T CD8, en abordant deux échelles différentes, l'échelle cellulaire et l'échelle moléculaire. Nous nous sommes en premier lieu intéressés à la description de la réponse à l'échelle cellulaire. En développant un modèle structuré en âge, nous avons pu établir des propriétés mathématiques concernant les états d'équilibre du système et leur stabilité. Sur le plan de la modélisation, nous avons développé une technique d'estimation systématique des valeurs de paramètres du modèle, permettant d'obtenir des informations, peu disponibles dans la littérature, sur les ordres de grandeur des valeurs de paramètres associés aux taux de différenciation, prolifération, apoptose, dans la réponse immunitaire T CD8. Du point de vue de la biologie, il s'agissait d'apporter grâce au modèle des informations sur le fonctionnement d'une réponse T CD8, concernant notamment les différents taux (différenciation, prolifération, apoptose), et les dynamiques des sous-populations naïve, effectrice, mémoire, pendant une réponse immunitaire T CD8. Ensuite, nous nous sommes intéressés aux mécanismes de réponse à l'échelle moléculaire. Il s'agissait de déterminer un réseau constitué des protéines et interactions clés au sein d'un lymphocyte T CD8, décrivant la signalisation se déroulant depuis la rencontre du lymphocyte avec une APC, jusqu'à l'éventuelle entrée en cycle ou l'apoptose du lymphocyte. Ce réseau regroupe donc un certain nombre d'informations de biologie que l'on trouve plus couramment dispersées dans la littérature. A partir de ce réseau, nous avons pu développer et étudier mathématiquement et numériquement un modèle se concentrant sur le choix entre survie et apoptose de la cellule.

Pour notre étude mathématique d'un système structuré en âge, nous nous sommes appuyés sur le modèle de réponse immunitaire T CD8 développé par Antia *et al.* [2003, 2005]. L'âge dans ce modèle représente le temps depuis lequel les lympho-

cytes se sont différenciés en effecteurs. Nous avons modifié leur modèle en décrivant la possibilité que les cellules effectrices se différencient en cellules mémoires tout en éliminant le pathogène, et pas seulement après un certain temps imposé. Cette modification a pour objectif d'approcher des dynamiques de génération des cellules mémoires de manière plus réaliste biologiquement. Nous avons également introduit des rétro-contrôles des populations les unes sur les autres. Sur le plan mathématique, l'étude de ce système nous a mené à le réduire sous la forme d'un système d'équations différentielles à retard. Cela nous a permis d'étudier le comportement à long terme du système, après avoir démontré l'existence et l'unicité des solutions. Nous avons donc déterminé les états d'équilibre du système, et obtenu des propriétés relatives à leur existence et leur stabilité. Si seul le système d'équations à retard avec des conditions initiales générales est étudié, il existe deux états d'équilibre, dont l'un ne correspond pas à une situation réaliste biologiquement. Si au contraire, on étudie le système avec les conditions initiales correspondant à la situation biologique que nous souhaitons décrire, et qui correspondent au système lorsque le retard est inférieur à un temps fixé $\bar{\tau}$, alors un seul état d'équilibre existe, et il est même globalement stable. Du point de vue de la biologie, ce comportement est cohérent, car l'état d'équilibre correspond à une situation où l'infection est résolue, et où il ne reste plus que des cellules naïves. C'est bien la situation obtenue dans une infection aïgue, qui correspond à notre cadre d'étude.

Le modèle a ensuite été réécrit pour tenir compte d'un double contexte de simulations et de confrontations aux données expérimentales. A l'aide d'un calcul simple d'erreur entre simulation et données expérimentales, nous avons testé 5 valeurs pour chacun des 9 paramètres du modèle, en recherchant l'ensemble des jeux de paramètres testés pour lesquels le modèle reproduit correctement les données. Ces valeurs ont été déterminées après de nombreux essais, de façon à s'échelonner sur un intervalle assez large pour tenir compte d'un maximum d'ordres de grandeur possibles biologiquement. Cette démarche permet ensuite d'obtenir des informations sur l'influence des paramètres dans le modèle, et sur sa validité. Ainsi, certaines valeurs de paramètres doivent être fixées très strictement pour permettre de reproduire correctement les données expérimentales (paramètre associé au taux de prolifération des cellules effectrices par exemple), alors que d'autres peuvent être choisies beaucoup plus librement (paramètre associé au taux de mort des cellules mémoires par exemple). Certains paramètres semblent également être influencés par la nature du pathogène utilisé expérimentalement, virus ou bactérie, ou plus simplement par son mode d'inoculation. Ces paramètres sont principalement associés à la dynamique du pathogène.

Enfin, un réseau d'interactions moléculaires a été déterminé, apportant un ensemble d'informations biologiques concernant les protéines et gènes impliqués dans l'activation, l'entrée en cycle et le départ en apoptose du lymphocyte T, suite à sa rencontre avec une APC. Nous avons pu dégager à partir de ce réseau un modèle réduit, rendant compte des mécanismes biologiques conditionnant la cellule à la survie ou à l'apoptose. Concernant la modélisation de ce réseau, nous avons utilisé le logiciel CellDesigner, et le plug-in SBML-squeezer a permis d'en extraire le système d'équations différentielles correspondant. La détermination des états d'équilibre et de propriétés associées a permis d'orienter les simulations de façon à obtenir les dynamiques de concentrations de protéines s'approchant de ce qui est biologiquement attendu. Lorque le TCR est activé, les concentrations de Bax et de complexe Bim-bcl2 diminuent, et augmentent si le TCR cesse d'être activé. Or les concentrations de Bax et de complexe Bim-bcl2 peuvent être considérées comme une mesure de signal pro-apoptotique. Lorsque le TCR est activé, c'est-à-dire qu'un antigène est rencontré, ce signal pro-apoptotique diminue, ce qui promeut davantage la survie de la cellule, et lui permet d'engager les stades de prolifération et différenciation afin de lutter contre l'infection. Nous obtenons ainsi des tendances correctes selon l'activation du TCR.

Il reste cependant à améliorer ce modèle, notamment à travers une estimation plus poussée des paramètres, l'introduction éventuelle des phénomènes de dégradation et de production. La description de l'état du TCR pourrait également être affinée, en considérant une activation continue et progressive, et non un état inactivé ($TCR = 0$) et activé ($TCR = 1$). Un travail expérimental permettrait de confronter le modèle à des données biologiques réelles, et de vérifier ainsi la justesse biologique des dynamiques que nous avons obtenues. Le même travail pourrait être réalisé en incluant dans le modèle les protéines, comme l'IL2, gérant les processus d'entrée en cycle de la cellule. Le modèle ainsi obtenu serait réellement un sous-modèle du réseau déterminé initialement, et permettant de suivre les différents mécanismes faisant suite à l'activation de la cellule : c'est à partir d'un tel modèle qu'une modélisation multi-échelle peut être réalisée. Le réseau dont nous venons de parler permettrait de gérer les taux de prolifération, d'apoptose, du modèle cellulaire dont nous avons parlé précédemment, allant vers un comportement plus réaliste, puisque dépendant des dynamiques propres à chaque cellule. Ceci suppose aussi de penser à une modélisation agent, qui facilite justement la modélisation du comportement individuel des cellules. Cependant, notre réseau ne tient pas encore compte des mécanismes moléculaires de différenciation de la cellule, avec l'acquisition de marqueurs faisant passer la cellule de naïve à effectrice ou d'effectrice à mémoire par exemple. Ces

points sont cependant essentiels si l'on souhaite un modèle qui soit complètement multi-échelle, et qui décrive de façon la plus réaliste possible la différenciation en cellules mémoires, qui reste un enjeu essentiel dans la compréhension de la réponse immunitaire.

Ce problème de différenciation des cellules, en particulier des cellules mémoires, reste également à traiter à l'échelle cellulaire. Nous avons vu qu'une estimation systématique des paramètres permettait de reproduire correctement les données expérimentales de dynamiques de la population totale de lymphocytes, et d'obtenir des informations sur les valeurs de paramètres. Cependant, pour des dynamiques de population totale équivalentes, les dynamiques des cellules effectrices et mémoires peuvent être très différentes. Il serait donc pertinent d'ajouter des contraintes dans l'estimation des paramètres, permettant de privilégier plutôt une différenciation en cellules mémoires suffisante pour dépasser le nombre de cellules effectrices, et se maintenir à long terme. Travailler avec des données expérimentales sur les dynamiques des sous-populations serait une aide précieuse dans cette démarche. Cependant, nous avons vu, au cours de notre travail de modélisation aux deux échelles, qu'il est très difficile expérimentalement d'identifier et de suivre au cours du temps les objets d'étude : protéines à l'échelle moléculaire, sous-populations de lymphocytes à l'échelle cellulaire. Ce travail reste donc toujours une question pertinente. Dans le même ordre d'idée, il serait tout aussi informatif de mesurer expérimentalement le titre viral au cours de l'infection. Le modèle à l'échelle cellulaire pourrait également être affiné, dans une estimation des paramètres plus restrictive notamment, en imposant des contraintes sur les taux de division et d'apoptose : connaître ces contraintes suppose de s'appuyer sur des données expérimentales concernant ces taux, et le travail nécessaire pour les obtenir est en cours. Enfin, l'estimation des paramètres du modèle pourrait également être reprise en prenant en compte la variabilité inter-souris. Nous avons en effet considéré comme points expérimentaux les moyennes sur cinq souris du nombre de lymphocytes au cours de l'infection. Il serait intéressant d'observer quelles modifications de valeurs de paramètres permettent de reproduire les évolutions du nombre de lymphocytes pour chaque souris prise individuellement.

D'un point de vue mathématique, au chapitre 2, nous avons considéré un retard discret dans le modèle, lors de l'étude de la stabilité globale du modèle avec des conditions initiales correspondant à une réponse primaire, puisque les résultats d'existence et de stabilité des états d'équilibre ne dépendaient pas du retard. C'est ce cadre qui est utilisé aussi dans les simulations, et nous pourrions voir quels résultats seraient obtenus sur les dynamiques de populations en conservant un retard distribué. Il reste également les propriétés de positivité des solutions à étudier. Le

retard, qui modélisait le délai entre l'activation d'une cellule naïve et sa capacité à éliminer le pathogène, n'a plus été considéré dans la suite de l'étude au chapitre 3. Pourtant, ce compartiment de cellules activées pas encore effectrices, modélisé grâce au retard, reste un point de modélisation assez crucial dans le démarrage de la réponse. Il s'agit notamment de décrire de façon détaillée la capacité des cellules, une fois activées, à générer des cellules mémoires, plutôt lorsque les cellules sont plus proches d'un stade de cellules effectrices qu'activées. Il serait donc assez pertinent de voir, si l'on ajoute un retard dans le modèle du chapitre 3, les résultats qu'on pourrait obtenir dans l'estimation des paramètres et les distinctions de dynamiques entre effectrices et mémoires dont nous avons parlées.

L'estimation systématique des paramètres menée au chapitre 3 nous conduit à mener quelques réflexions. Avant de penser à une estimation systématique, on peut envisager plutôt d'utiliser un algorithme d'optimisation pour l'estimation de paramètres. Nous avions procédé à quelques essais de telles méthodes, en testant l'algorithme du recuit simulé et la méthode de Nelder-Mead (implémentées dans la toolbox Systems Biology de Matlab). Ces méthodes explorent l'espace des paramètres, en définissant une direction suivie pour déterminer, à l'issue de la recherche, un jeu de paramètres capable de reproduire correctement les données expérimentales souhaitées. Cependant, le fait de choisir une direction ne permet pas d'avoir une idée de l'organisation de l'espace des paramètres dans son ensemble. Une estimation systématique telle que celle que nous avons menée ne donne pas forcément une estimation « meilleure » des valeurs (au sens de plus précise par exemple), mais donne davantage d'informations sur la répartition des valeurs possibles dans l'espace des paramètres. Ceci permet ensuite de mieux définir l'influence des paramètres sur le modèle, et de soulever éventuellement des questions qui n'auraient pas émergé aussi distinctement en disposant seulement d'un jeu de paramètres déterminé comme correct. Par exemple, notre recherche exhaustive des valeurs de paramètres nous a conduit à obtenir des différences selon le pathogène utilisé dans les expériences, non seulement dans les trois meilleurs jeux de paramètres trouvés pour les trois séries d'expériences (grippe, vaccine et Listeria), comme on aurait pu l'obtenir par une méthode d'optimisation, mais aussi des différences dans la répartition des valeurs sur l'ensemble des 140 jeux de paramètres permettant de reproduire correctement les données (paramètre associé au taux de prolifération du pathogène par exemple). Cela a soulevé la question d'une éventuelle influence de la nature du pathogène ou de son mode d'inoculation sur ce taux de prolifération.

Cependant, une estimation systématique demande un investissement assez consé-

quent. Le développement informatique de la méthode d'estimation elle-même est assez long. Par contre, à l'issue de ce travail, on connaît exactement comment fonctionne la méthode, atout qu'on ne possède pas toujours en utilisant une méthode d'optimisation préexistante, même si on choisit de la retravailler soi-même. L'analyse des résultats de l'estimation systématique est aussi assez lourde. Ces points nécessitent donc de bien déterminer les éléments mathématiques et biologiques qui nous paraissent importants pour une comparaison pertinente du modèle aux données expérimentales. Poser ces questions avant de lancer une campagne d'estimation systématique permet de contraindre la recherche des valeurs de paramètres de façon optimale.

Sur le plan mathématique, il s'agit de déterminer le développement du modèle le plus à même de reproduire le comportement biologique attendu, par exemple, l'état d'équilibre correspondant à la résolution de l'infection existe-t-il, est-il stable ? Cette étude mathématique permet aussi de prévoir de fixer des contraintes dans l'estimation des paramètres : par exemple, dans notre modèle, certaines solutions correspondent à une quantité de pathogène proliférant indéfiniment, ce qui n'est pas acceptable biologiquement. Une contrainte a donc été posée pour éliminer ces cas pathologiques de l'estimation de paramètres.

Cette étude préliminaire peut aussi être l'occasion de poser des questions sur la façon de modéliser la réponse que l'on choisit. Par exemple, on aurait pu ici tester le modèle en y conservant un retard décrivant la différenciation de cellule naïve à activée, avant celle de cellule activée à effectrice. Cela aurait ajouté un paramètre à estimer, mais aurait peut-être permis d'obtenir un comportement plus fin dans la différenciation de cellule effectrice à mémoire. Ce genre de choix pourrait d'ailleurs être fait aussi avec l'outil d'une méthode d'optimisation : une telle méthode serait ainsi utile en étude préliminaire, avec un investissement raisonnable, pour obtenir des valeurs de paramètres correspondant à un comportement cohérent du modèle, sans tâtonner à les rechercher à la main. Ce travail réalisé sur deux versions du modèle, avec ou sans le retard, permettrait de comparer la capacité de l'un ou l'autre modèle à décrire la réponse CD8, pour choisir de garder celui qui paraît le plus pertinent.

Il serait aussi intéressant à ce stade de voir si les paramètres du modèle semblent proches de valeurs de modèles de la littérature. Par exemple, De Boer *et al.* [2001] et Althaus *et al.* [2007] estiment, dans leurs modèles de réponse T CD8, les taux de prolifération des cellules effectrices et de différenciation des cellules effectrices en mémoires (voir Sections 1.4.2.1 et 1.4.2.2 pour une idée des modèles sur lesquels les auteurs se basent). Les modèles sont confrontés à des données d'infection LCMV chez la souris. Les ordres de grandeur estimés sont, selon les données auxquelles le

modèle était confronté, de 2 ou 3 jour^{-1} pour le taux de prolifération des cellules effectrices, alors que la valeur préférentiellement choisie dans nos 140 meilleurs jeux de paramètres est 1 jour^{-1} (voir Table 3.4, chapitre 3). Les ordres de grandeur du taux de différenciation des cellules effectrices en mémoires estimés par De Boer *et al.* [2001] et Althaus *et al.* [2007] étaient de 10^{-1}, 10^{-2} ou 10^{-3} jour^{-1}, et les deux valeurs préférentiellement choisies dans nos 140 meilleurs jeux de paramètres sont 10^{-2} et 10^{-3} jour^{-1}. Pour ces paramètres, les valeurs que nous obtenons sont donc du même ordre de grandeur que les valeurs estimées par De Boer *et al.* [2001] et Althaus *et al.* [2007]. Cette constatation conforte donc dans l'idée que notre estimation des paramètres permet d'obtenir des valeurs cohérentes, et dans l'idée que les résultats qui en découlent (les différences d'estimation obtenues selon le pathogène utilisé par exemple) sont pertinents. Notons que les valeurs de paramètres déjà existantes pourraient faire systématiquement partie des valeurs (au nombre de cinq dans notre étude) que l'on choisit de tester exhaustivement. Remarquons d'ailleurs que pour le taux de prolifération des cellules effectrices, si l'ordre de grandeur que nous obtenons est le même que celui de De Boer *et al.* [2001] et Althaus *et al.* [2007], nous n'obtenons cependant pas exactement la même valeur. Dans notre estimation, les valeurs 2 et 3, obtenues par De Boer *et al.* [2001] et Althaus *et al.* [2007], n'ont pas été testées, mais la valeur 5 l'a été et n'apparaît dans aucun des 140 meilleurs jeux de paramètres. Suite à cette constatation, il pourrait donc être pertinent de voir si des valeurs dans l'intervalle $]1, 5[$ permettraient de reproduire les données aussi bien qu'avec la valeur 1, voire mieux, ou au contraire conduiraient à de moins bons résultats. Dans ce genre de situations, la comparaison aux paramètres de la littérature avec notre propre estimation fournit donc éventuellement un outil pour voir sur quels intervalles raffiner encore la recherche des valeurs de paramètres.

Sur le plan de la biologie, il peut être pertinent de fixer, avant de lancer une campagne d'estimation systématique, les contraintes qu'il faudra y imposer, pour obtenir les comportements biologiques que l'on souhaite absolument. Par exemple, il paraît assez indispensable qu'au cours de la réponse, la proportion de cellules mémoires devienne plus importante que celle de cellules effectrices. Cette contrainte pourrait être imposée avant l'estimation des paramètres, plutôt qu'après, dans l'analyse des résultats. On pourrait poser la même question concernant la capacité du modèle à reproduire la variabilité biologique, entre souris par exemple : est-il nécessaire de la poser comme contrainte dans l'estimation des paramètres ?

Une fois l'estimation faite, de nouvelles données expérimentales peuvent éventuellement remettre en cause les valeurs de paramètres trouvées. Par exemple, un travail expérimental est en cours pour mesurer les taux de division et d'apoptose. Ces

taux expérimentaux pourront donc être ajoutés comme contraintes pour sélectionner, parmi les 140 meilleurs jeux de paramètres que nous avons déterminés (chapitre 3), ceux qui non seulement sont capables de reproduire les données de nombres de population totale, mais aussi les taux mesurés. Si cependant, aucun de ces jeux ne répond à cette deuxième contrainte, il serait peut-être pertinent de voir quelles modifications du modèle permettrait d'y répondre : la connaissance de l'influence des paramètres sur le modèle, acquise par leur estimation systématique, sera sans doute utile pour guider ces modifications.

Si on dispose de données expérimentales concernant les concentrations de protéines impliquées dans notre réseau moléculaire, un travail d'estimation systématique des paramètres peut être mené pour le modèle à l'échelle moléculaire. Le modèle étudié à la section 4.4.3 compte par exemple 13 paramètres. Tester 3 valeurs pour chacun de ces paramètres donnerait un nombre de combinaisons à tester similaire à celui testé dans le modèle cellulaire (chapitre 3). Ce travail serait donc envisageable en terme d'investissement humain et de coût de calcul. On peut d'ailleurs noter que, une fois mise en place, cette technique d'estimation est assez puissante, car dans son utilisation au chapitre 3, le temps de calcul a rarement dépassé cinq minutes par cœur (sur 250 cœurs de calcul tournant en parallèle). Augmenter le nombre de valeurs testées par rapport à ce que nous avons fait est donc envisageable, sans atteindre un coût de calcul déraisonnable.

Cependant, si l'on souhaite valider le modèle moléculaire sans utiliser de données expérimentales sur les concentrations de protéines difficiles à mesurer, on peut intégrer le modèle dans celui développé à l'échelle cellulaire. Le lien entre modèle moléculaire et modèle cellulaire réside alors dans le fait que les niveaux de concentration des protéines gèrent l'évolution des taux à l'échelle cellulaire. Par exemple, le niveau de concentration de Bax ou du complexe Bim-bcl2 gérerait l'évolution du taux d'apoptose. Il reste alors à décrire la correspondance entre niveau de concentration et taux cellulaire : impose-t-on un seuil sur le niveau de concentration, tel que le taux soit fixé à une valeur avant que ce seuil ne soit atteint, et à une autre lorsque le seuil est dépassé ? Impose-t-on le même genre de contrainte sur les variations du taux : croissant exponentiellement tant que la concentration de Bax est inférieure à la concentration de telle autre protéine, puis décroissant linéairement ?

Ici, les connaissances sur les paramètres acquises à l'échelle cellulaire peuvent sans doute se révéler utiles lors du passage multi-échelle. Notre modèle moléculaire prend ainsi en compte l'apoptose, le cycle cellulaire pourrait être ajouté puisque la signalisation correspondante a été déterminée (Section 4.2). Par contre, aucune information ne concerne pour l'instant la différenciation. Les taux correspondants

dans le modèle cellulaire pourraient ainsi être conservés dans le modèle multi-échelle dans un premier temps, fixés selon les valeurs de paramètres déterminées dans notre étude du chapitre 3.

Pour décrire la correspondance entre niveaux de concentration de protéines et taux cellulaires du modèle multi-échelle, on pourrait prendre comme « référence » les taux que l'on connaît déjà à l'échelle cellulaire par l'expérience s'il a été possible de les mesurer, ou les taux associés aux paramètres déterminés dans l'estimation systématique au chapitre 3. On pourrait alors ajuster la correspondance entre niveaux de concentration de protéines et taux cellulaires du modèle multi-échelle (le seuil de concentration de Bax à partir duquel la cellule part en apoptose par exemple) par des aller-retours entre les taux de l'expérience ou du chapitre 3 et ceux que l'on cherche à décrire dans le modèle multi-échelle. Cela permettrait de décrire le lien entre les deux échelles et éventuellement de déterminer par la simulation les niveaux de concentration en protéines les plus à même de décrire les situations biologiques attendues : apoptose, entrée en cycle.

Le travail présenté dans ce manuscrit a finalement conduit au développement de modèles mathématiques, qui contribuent à poser différentes questions, liant les disciplines de la modélisation mathématique et de la biologie. Il est nécessaire de s'appuyer sur la biologie pour construire le modèle. La modélisation mathématique permet ensuite d'apporter un complément d'informations au travail expérimental, avec à terme l'objectif d'avoir un rôle prédictif. Cette modélisation permet également d'orienter la suite du travail expérimental, en identifiant et en précisant les données biologiques qu'il est pertinent d'aller mesurer.

L'étude mathématique du modèle structuré en âge permet de reproduire correctement les dynamiques de la population de lymphocytes T CD8 au cours de l'infection qui étaient attendues biologiquement.

Le travail de confrontation du modèle aux données expérimentales pose la question de la méthode à suivre pour estimer les valeurs de paramètres du modèle, en suggérant de réaliser une estimation systématique plutôt que de ne déterminer que quelques valeurs qui conviennent. Cette étude permet en effet d'obtenir davantage d'informations sur l'influence de chaque paramètre, et sur des questions biologiques telles que l'influence de la nature du pathogène ou de son mode d'inoculation sur tel taux de différenciation ou de prolifération.

Le développement des expérimentations pour obtenir les données a soulevé un certain nombre de questions sur la façon de déterminer des marqueurs cellulaires permettant de distinguer et compter les nombres de lymphocytes dans chaque sous-

population, pendant une infection. Pour obtenir des données permettant d'y confronter le modèle, qui distingue bien les sous-populations au cours de l'infection, la difficulté principale est de suivre au cours du temps ces sous-populations, et donc d'être capables de les distinguer à chaque phase de la réponse. On ne peut se contenter de suivre une population de cellules naïves, puis lorsqu'on observe que les cellules expriment perforine et granzyme, en déduire que la population s'est différenciée en cellules effectrices. Il nous faut à chaque instant connaître le nombre de cellules naïves d'une part, effectrices d'autre part, et même mémoires encore à part. La difficulté est donc de trouver un jeu de marqueurs spécifiques, sur toute la cinétique de la réponse, à une sous-population, et pas exprimé par une autre.

Ce travail de modélisation de la réponse immunitaire T CD8 aux deux échelles, moléculaire et cellulaire, conforte dans l'idée que les mécanismes, expliquant les dynamiques observées à l'échelle cellulaire, sont intrinsèquement liés d'une échelle à l'autre. Ceci ajoute à la pertinence de l'idée que nous avons initialement évoquée : développer un modèle multi-échelle de la réponse immunitaire. Ce travail montre aussi que le développement d'une modélisation multi-échelle demande une étude, qu'on pourrait dire préliminaire, réalisée aux deux échelles, sur les plans des mathématiques, de la modélisation et de la biologie, ce qui a été l'objet de ce manuscrit.

Bibliographie

A. Abbas et A. Lichtman [2008], *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*. Edition du renouveau pédagogique, Elsevier Masson.

B. Adams, H. Banks, M. Davidian, H.-D. Kwon, H. Tran, S. Wynne, et E. Rosenberg [2005], HIV dynamics : Modeling, data analysis, and optimal treatment protocols. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 10–49.

M. Alexander et R. Kobes [2011], Effects of vaccination and population structure on influenza epidemic spread in the presence of two circulating strains. *BMC Public Health*, 11(Suppl 1): S8.

G. Altan-Bonnet et R. Germain [2005], Modeling T cell antigen discrimination based on feedback control of digital ERK responses. *PLoS Biol.*, 3: 1925–1938.

C. Althaus, V. Ganusov, et R. De Boer [2007], Dynamics of CD8 T cell responses during acute and chronic lymphocytic choriomeningitis virus infection. *J. Immunol.*, 179: 2944–2951.

D. Amsen, C. Spilianakis, et R. Flavell [2009], How are TH1 and TH2 effector cells made ? *Current opinion in immunology*, 21: 153–160.

R. Antia, C. Bergstrom, S. Pilyugin, S. Kaech, et R. Ahmed [2003], Models of CD8+ responses : 1. What is the antigen-independent proliferation program. *J. Theor. Biol.*, 221: 585–598.

R. Antia, V. Ganusov, et R. Ahmed [2005], The role of models in understanding $CD8^+$ T-cell memory. *Nature Reviews*, 5: 101–111.

V. Appay et S. Rowland-Jones [2004], Lessons from the study of T-cell differentiation in persistent human virus infection. *Seminars in Immunol.*, 16: 205–212.

L. Appleman, A. Van Puijenbroek, K. Shu, L. Nadler, et V. Boussiotis [2002], CD28 costimulation mediates down-regulation of p27kip1 and cell cycle progression by

activation of the PI3K/PKB signaling pathway in primary human T cells. *J. Immunol.*, 168: 2729–2736.

C. Arpin, G. Angelov, T. Walzer, M. Tomkowiak, L. Beloeil, et J. Marvel [2002], Hyperproliferative response of a monoclonal memory CD8 T cell population is characterized by an increased frequency of clonogenic precursors. *J. Immunol.*, 168: 2147–2153.

P. Baccam, C. Beauchemin, C. Macken, F. Hayden, et A. Perelson [2006], Kinetics of influenza A virus infection in humans. *J. Virol.*, 80: 7590–7599.

O. Bannard, M. Kraman, et D. Fearon [2009], Secondary replicative function of $CD8^+$ T cells that had developed an effector function. *Science*, 323: 505–509.

M. Barry et R. Bleackley [2002], Cytotoxic T lymphocytes : all roads lead to death. *Nature Reviews Immunology*, 2: 401–409.

C. Beauchemin [2006], Probing the effects of the well-mixed assumption on viral infection dynamics. *J. Theor. Biol.*, 242(2): 464–477.

C. Beauchemin et A. Handel [2011], A review of mathematical models of influenza A infections within a host or cell culture : lessons learned and challenges ahead. *BMC Public Health*, 11(Suppl 1): S7.

C. Beauchemin, J. Samuel, et J. Tuszynskia [2005], A simple cellular automaton model for influenza A viral infections. *J. Theor. Biol.*, 232: 223–234.

C. Beauchemin, J. McSharry, G. Drusano, J. Nguyen, G. Went, R. Ribeiro, et A. Perelson [2008], Modeling amantadine treatment of influenza A virus in vitro. *J. Theor. Biol.*, 254: 439–451.

S. Bernard, L. Pujo-Menjouet, et M. Mackey [2003], Analysis of cell kinetics using a cell division marker : mathematical modeling of experimental data. *Biophysical journal*, 84: 3414–3424.

C. Bidot, F. Gruy, C.-S. Haudin, F. E. Hentati, B. Guy, et C. Lambert [2008], Mathematical modeling of T-cell activation kinetic. *J. Computational Biol.*, 15: 105–128.

E. Bjorgo et K. Tasken [2010], Novel mechanism of signaling by CD28. *Immunology Letters*, 129: 1–6.

G. Bocharov et A. Romanyukha [1994], Mathematical model of antiviral immune response III. influenza A virus infection. *J. Theor. Biol.*, 167: 323–360.

S. Bonhoeffer, M. Rembiszewski, G. Ortiz, et D. Nixon [2000], Risks and benefits of structured antiretroviral drug therapy interruptions in HIV-1 infection. *Aids*, 14: 2313–2322.

M. Burchill, J. Yang, K. Vang, et M. Farrar [2007], Interleukin-2 receptor signaling in regulatory T cell development and homeostasis. *Immunology Letters*, 114: 1–8.

D. Busch et E. Pamer [1999], T lymphocyte dynamics during Listeria monocytogenes infection. *Immunology letters*, 65: 93–98.

D. Callaway et A. Perelson [2002], HIV-1 infection and low steady state viral loads. *Bulletin of Math. Biol.*, 64: 29–64.

N. Campbell et M. Richard [1995], *Biologie*. Edition du renouveau pédagogique, De Boeck Université.

C. Chan, J. Stark, et A. George [2004], Feedback control of T-cell receptor activation. *Proceedings of the Royal Society of London-B*, 271: 931–940.

C. Chan, J. Stark, et A. George [2005], The impact of multiple T cell–APC encounters and the role of anergy. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 101–120.

D. Chang et C. Young [2007], Simple scaling laws for influenza A rise time, duration, and severity. *J. Theor. Biol.*, 246: 621–635.

D. Chao, M. Davenport, S. Forrest, et A. Perelson [2004], A stochastic model of cytotoxic T cell responses. *J. Theor. Biol.*, 228: 227–240.

S. Ciupe, R. Ribeiro, P. Nelson, et A. Perelson [2007], Modeling the mechanisms of acute hepatitis B virus infection. *J. Theor. Biol.*, 247: 23–35.

D. Coombs et B. Goldstein [2005], T cell activation : Kinetic proofreading, serial engagement and cell adhesion. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 121–139.

A. Cottalorda, B. Mercier, F. Mbitikon-Kobo, C. Arpin, D. Teoh, A. McMichael, J. Marvel, et N. Bonnefoy-Bérard [2009], TLR2 engagement on memory CD8+ T cells improves their cytokine-mediated proliferation and IFN-γ secretion in the absence of Ag. *Eur. J. Immunol.*, 39: 2673–2681.

L. D'Cruz, M. Rubinstein, et A. Goldrath [2009], Surviving the crash : transitioning from effector to memory CD8+ T cell. *Seminars in immunology*, 21: 92–98.

R. De Boer et A. Perelson [2005], Estimating division and death rates from CFSE data. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 140–164.

R. De Boer, M. Oprea, R. Antia, K. Murali-Krishna, R. Ahmed, et A. Perelson [2001], Recruitment times, proliferation, and apoptosis rates during the CD8 T-cell response to Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *J. Virol.*, 75: 10663–10669.

R. De Boer, D. Homann, et A. Perelson [2003], Different dynamics of CD4+ and CD8+ T cell responses during and after acute lymphocytic choriomeningitis virus infection. *J. Immunol.*, 171: 3928–3935.

R. De Boer, V. Ganusov, D. Milutinović, P. Hodgkin, et A. Perelson [2006], Estimating lymphocyte division and death rates from CFSE data. *Bulletin of Math. Biol.*, 68: 1011–1031.

J. Depper, W. Leonard, C. Drogula, M. Krönke, T. Waldmann, et W. Greene [1985], Interleukin-2 (IL-2) augments transcription of the IL-2 receptor gene. *Immunology*, 82: 4230–4234.

E. Desmet, J. Hollenbaugh, P. Sime, T. Wright, D. Topham, A. Sant, T. Takimoto, et S. Dewhurst [2010], Mixed Lineage Kinase 3 deficiency delays viral clearance in the lung and is associated with diminished influenza-induced cytopathic effect in infected cells. *Virology*, 400: 224–232.

L. Dodson, J. Boomer, et C. Deppong [2009], Targeted knock-in mice expressing mutations of CD28 reveal an essential pathway for costimulation. *Molecular and Cellular Biology*, 29(13): 3710–3721.

A. Dräger, N. Hassis, J. Supper, A. Schröder, et A. Zell [2008], SBMLsqueezer : a CellDesigner plug-in to generate kinetic rate equations for biochemical networks. *BMC systems biology*, 2(1): 39.

W. D'Souza et L. Lefrançois [2003], IL-2 is not required for the initiation of CD8 T cell cycling but sustains expansion. *J. Immunol.*, 171: 5727–5735.

W. D'Souza, C. Chang, A. Fischer, M. Li, et S. Hedrick [2008], The Erk2 MAPK regulates CD8 T cell proliferation and survival. *J. Immunol.*, 181: 7617–7629.

E. Eden, N. Geva-Zatorsky, I. Issaeva, A. Cohen, E. Dekel, T. Danon, L. Cohen, A. Mayo, et U. Alon [2011], Proteome half-life dynamics in living human cells. *Science*, 331: 764–768.

F. El Hentati [2009], *Etude expérimentale et modélisation mathématique de la réponse lymphocytaire T.* Thèse : Génie des procédés : Saint-Etienne N°546 GP.

F. Ennis, Q. Yi-Hua, D. Riley, A. Rook, G. Schild, R. Pratt, et C. Potter [1981], HLA-restricted virus-specific cytotoxic T-lymphocyte responses to live and inactivated influenza vaccines. *The Lancet*, ii: 887–891.

K. Ewings, C. Wiggins, et S. Cook [2007], Bim and the pro-survival Bcl-2 proteins. *Cell Cycle*, 6: 2236–2240.

O. Feinerman, J. Veiga, J. Dorfman, R. Germain, et G. Altan-Bonnet [2008], Variability and robustness in T cell activation from regulated heterogeneity in protein levels. *Science*, 321: 1081–1084.

O. Feinerman, G. Jentsch, K. Tkach, J. Coward, M. Hathorn, M. Sneddon, T. Emonet, K. Smith, et G. Altan-Bonnet [2010], Single-cell quantification of IL-2 response by effector and regulatory T cells reveals critical plasticity in immune response. *Mol. Syst. Biol.*, 6(437).

A. Finney et M. Hucka [2003], Systems Biology Markup Language : level 2 and beyond. *Biochemical Society Transactions*, 31.

A. Funahashi, N. Tanimura, M. Morohashi, et H. Kitano [2003], CellDesigner : a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *Biosilico*, 1: 159–162.

A. Funahashi, Y. Matsuoka, A. Jouraku, M. Morohashi, N. Kikuchi, et H. Kitano [2008], CellDesigner 3.5 : a versatile modeling tool for biochemical networks. *Proceedings of the IEEE*, 96: 1254 – 1265.

M. Garigliany, A. Habyarimana, B. Lambrecht, E. V. de Paar, A. Cornet, T. V. D. Berg, et D. Desmecht [2010], Influenza A strain-dependent pathogenesis in fatal H1N1 and H5N1 subtype infections of mice. *Emerg Infect Dis*, 16: 595–603.

A. Gett et P. Hodgkin [2000], A cellular calculus for signal integration by T cells. *Nature Immunology*, 1: 239–244.

G. Guarda, M. Hons, S. Soriano, A. Huang, R. Polley, A. Martin-Fontecha, J. Stein, R. Germain, A. Lanzavecchia, et F. Sallusto [2007], L-selectin-negative CCR7$^-$

effector and memory $CD8^+$ T cells enter reactive lymph nodes and kill dendritic cells. *Nature Immunology*, 8: 743–752.

J. Hale et S. Verduyn Lunel [1993], *Introduction to functional differential equations*, volume 99 of *Appl. Mathematical Sciences*. Springer-Verlag, New York.

B. Hancioglu, D. Swigon, et G. Clermont [2007], A dynamical model of human immune response to influenza A virus infection. *J. Theor. Biol*, 246: 70–86.

A. Handel, I. Longini, J., et R. Antia [2010], Towards a quantitative understanding of the within-host dynamics of influenza A infections. *J. R. Soc. Interface*, 7: 35–47.

I. Hermans, D. Ritchie, J. Yang, J. Roberts, et F. Ronchese [2000], $CD8^+$ T cell-dependent elimination of DC in vivo limits the induction of antitumor immunity. *J. Immunol.*, 164: 3095–3101.

D. Hildeman, Y. Zhu, T. Mitchell, P. Bouillet, A. Strasser, J. Kappler, et P. Marrack [2002]a, Activated T cell death in vivo mediated by proapoptotic Bcl-2 family member Bim. *Immunity*, 16: 759–767.

D. Hildeman, Y. Zhu, T. Mitchell, J. Kappler, et P. Marrack [2002]b, Molecular mechanisms of activated T cell death in vivo. *Immunology*, 14: 354–359.

D. Homann, L. Teyton, et M. Oldstone [2001], Differential regulation of antiviral T-cell immunity results in stable $CD8^+$ but declining $CD4^+$ T-cell memory. *Nature medicine*, 7: 913–919.

M. Hucka, A. Finney, H. Sauro, H. Bolouri, J. Doyle, H. Kitano, A. Arkin, B. Bornstein, D. Bray, A. Cornish-Bowden, *et al.* [2003], The systems biology markup language (SBML) : a medium for representation and exchange of biochemical network models. *Bioinformatics*, 19: 524–531.

M. Jenkins, J. Mintern, N. LaGruta, K. Kedzierska, P. Doherty, et S. Turner [2008], Cell cycle-related acquisition of cytotoxic mediators defines the progressive differentiation to effector status for virus-specific CD8 T cells. *J. Immunol.*, 181: 3818–3822.

M. Jenkins, A. Tsun, J. Stinchcombe, et G. Griffiths [2009], The strength of T cell receptor signal controls the polarization of cytotoxic machinery to the immunological synapse. *Immunity*, 31: 621–631.

Z. Jin, J. Zhang, L.-P. Song, G.-Q. Sun, J. Kan, et H. Zhu [2011], Modelling and analysis of influenza A (H1N1) on networks. *BMC Public Health*, 11(Suppl 1) :S9.

L. Jing, T. Chong, B. Byrd, C. McClurkan, J. Huang, B. Story, K. Dunkley, L. Aldaz-Carroll, R. Eisenberg, G. Cohen, W. Kwok, A. Sette, et D. Koelle [2007], Dominance and diversity in the primary human CD4 T cell response to replication-competent vaccinia virus. *J. Immunol.*, 178: 6374–6386.

K. Johnson, F. LeRoy, L. Borysiewicz, et R. Matthews [1999], TCR signaling thresholds regulating T cell development and activation are dependent upon SHP-1. *J. Immunol.*, 162: 3802–3813.

V. Jubin, E. Ventre, Y. Leverrier, S. Djebali, K. Mayol, M. Tomkowiak, J. Mafille, M. Teixeira, D. Teoh, B. Lina, T. Walzer, C. Arpin, et J. Marvel [2012], T inflammatory memory CD8 T cells participate to antiviral response and generate secondary memory cells with an advantage in XCL1 production. *Immunol. Research*, 52: 284–293.

S. Kaech et R. Ahmed [2001], Memory $CD8^+$ T cell differentiation : initial antigen encounter triggers a developmental program in naïve cells. *Nature Immunology*, 2: 415–422.

S. Kaech, E. Wherry, et R. Ahmed [2002], Effector and memory T-cell differentiation : implications for vaccine development. *Nature Reviews Immunology*, 2: 251–262.

V. Kalia, S. Sarkar, S. Subramaniam, W. Haining, K. Smith, et R. Ahmed [2010], Prolonged Interleukin-2Rα expression on virus-specific CD8+ T cells favors terminal-effector differentiation in vivo. *Immunity*, 32: 91–103.

K. Kedzierska, N. L. Gruta, S. Turner, et P. Doherty [2006], Establishment and recall of CD8+ T-cell memory in a model of localized transient infection. *Immunol. reviews*, 211: 133–145.

R. Kemp, T. Powell, D. Dwyer, et R. Dutton [2004], Cutting edge : regulation of $CD8^+$ T cell effector population size. *J. Immunol.*, 179: 2923–2927.

H. Kim, J. Imbert, et W. Leonard [2006], Both integrated and differential regulation of components of the IL-2/IL-2 receptor system. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 17: 349–366.

P. Kim, P. Lee, et D. Levy [2007], Modeling regulation mechanisms in the immune system. *J. Theor. Biol.*, 246: 33–69.

T. Kindt, R. Goldsboy, et B. Osborne [2007], *Immunologie*. Dunod.

B. Kohler [2007]a, Mathematically modeling dynamics of T cell responses : predictions concerning the generation of memory cells. *J. Theor. Biol.*, 245: 669–676.

B. Kohler [2007]b, An age structured model of T cell populations. *Current Developments in Mathematical Biology : Proceedings of the Conference on Mathematical Biology and Dynamical Systems, the University of Texas at Tyler, 7-9 October 2005*, 38: 79–106.

J. Lantto, M. H. Hansen, S. Rasmussen, L. Steinaa, T. Poulsen, J. Duggan, M. Dennis, I. Naylor, L. Easterbrook, S. Bregenholt, J. Haurum, et A. Jensen [2011], Capturing the natural diversity of the human antibody response against vaccinia virus. *J. Virol.*, 85: 1820–1833.

J. Larrubia, S. Benito-Martínez, J. Miquel, M. Calvino, E. S. de Villalobos, A. González-Praetorius, S. Albertos, S. García-Garzón, M. Lokhande, et T. Parra-Cid [2011], Bim-mediated apoptosis and PD-1/PD-L1 pathway impair reactivity of PD1+/CD127-HCV-specific CD8+ cells targeting the virus in chronic hepatitis C virus infection. *Cellular Immunol.*, 269: 104–114.

H. Lee, D. Topham, S. Park, J. Hollenbaugh, J. Treanor, T. Mosmann, X. Jin, B. Ward, H. Miao, J. Holden-Wiltse, A. Perelson, M. Zand, et H. Wu [2009], Simulation and prediction of the adaptative immune response to influenza A virus infection. *J. Virol.*, 83: 7151–7165.

K. Lee, A. Dinner, C. Tu, G. Campi, S. Raychaudhuri, R. Varma, T. Sims, W. Burack, H. Wu, et J. Wang [2003], The immunological synapse balances T cell receptor signaling and degradation. *Science's STKE*, 302: 1218–1222.

S. Legewie, N. Blüthgen, et H. Herzel [2006], Mathematical modeling identifies inhibitors of apoptosis as mediators of positive feedback and bistability. *PLoS Computational Biology*, 2: 1061–1073.

W. Liebermeister et E. Klipp [2006], Bringing metabolic networks to life : convenience rate law and thermodynamic constraints. *Theor. Biol. and Medical Modelling*, 3: 41.

M. Lilic, K. Kulig, I. Messaoudi, K. Remus, M. Jankovic, J. Nikolic-Zugic, et S. Vukmanovic [1999], $CD8^+$ T cell cytolitic activity independent of mitogen-activated protein kinase/extracellular regulatory kinase signaling (MAP kinase/ERK). *Eur. J. Immunol.*, 29: 3971–3977.

U. Lorenz [2009], SHP-1 and SHP-2 in T cells : two phosphatases functioning at many levels. *Immunological Reviews*, 228: 342–359.

S. Manicassamy, M. Sadim, R. Ye, et Z. Sun [2006], Differential roles of PKC-θ in the regulation of intracellular calcium concentration in primary T cells. *J. Mol. Biol.*, 355: 347–359.

N. Manjunath, P. Shankar, J. Wan, W. Weninger, M. Crowley, K. Hieshima, T. Springer, X. Fan, H. Shen, J. Lieberman, et U. Von Andrian [2001], Effector differentiation is not prerequisite for generation of memory cytotoxic T lymphocytes. *J. Clinical Investigation*, 108: 871–878.

P. Marrack et J. Kappler [2004], Control of T cell viability. *Annu. Rev. Immunol.*, 22: 765–787.

G. Martins et K. Calame [2008], Regulation and functions of Blimp-1 in T and B lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.*, 26: 133–169.

T. Mc Keithan [1995], Kinetic proofreading in T-cell receptor signal transduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92: 5042–5046.

R. Mehr [2005], Modeling and analysis of the meta-population dynamics of lymphocyte repertoires. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 223–241.

G. Mercer, S. Barry, et H. Kelly [2011], Modelling the effect of seasonal influenza vaccination on the risk of pandemic influenza infection. *BMC Public Health*, 11(Suppl 1): S11.

H. Miao, J. Hollenbaugh, M. Zand, J. Holden-Wiltse, T. Mosmann, A. Perelson, H. Wu, et D. Topham [2010], Quantifying the early immune response and adaptive immune response kinetics in mice infected with influenza A virus. *J. Virol.*, 84: 6687–6698.

M. Miyara et S. Sakaguchi [2007], Natural regulatory T cells : mechanisms of suppression. *Trends in molecular medicine*, 13: 108–116.

K. Murali-Krishna, J. Altman, M.Suresh, D. Sourdive, A. Zajax, J. Miller, J. Slansky, et R. Ahmed [1998], Counting antigen-specific CD8 T cells : a reevaluation of bystander activation during viral infection. *Immunity*, 8: 177–187.

R. Nordon, M. Nakamura, C. Ramirez, et R. Odell [1999], Analysis of growth kinetics by division tracking. *Immunol. and cell biol.*, 77: 523–529.

R. Orton, M. Adriaens, A. Gormand, O. Sturm, W. Kolch, et D. Gilbert [2009], Computational modelling of cancerous mutations in the EGFR/ERK signalling pathway. *BMC Systems Biology*, 3: 100.

C. Oseroff, B. Peters, V. Pasquetto, M. Moutaftsi, J. Sidney, V. Panchanathan, D. Tscharke, B. Maillere, H. Grey, et A. Sette [2008], Dissociation between epitope hierarchy and immunoprevalence in CD8 responses to vaccinia virus western reserve. *J. Immunol.*, 180: 7193–7202.

E. Pamer [2004], Immune responses to Listeria monocytogenes. *Nature Reviews Immunology*, 4: 812–823.

R. Parker, L. Bronson, et R. Green [1941], Further studies of the infectious unit of vaccinia. *The Journal of experimental medicine*, 74: 263–281.

A. Perelson [2001], Modelling viral and immune system dynamics. *Nature Reviews Immunology*, 2: 28–36.

M. Prlic et M. Bevan [2008], Exploring regulatory mechanisms of CD8+ T cell contraction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105: 16689–16694.

M. Prosser, C. Brown, A. Shami, S. Forman, et M. Jensen [2012], Tumor PD-L1 co-stimulates primary human $CD8^+$ cytotoxic T cells modified to express a PD1 : CD28 chimeric receptor. *Molecular Immunol.*, 51: 263–272.

K. Rehm, R. Connor, G. Jones, K. Yimbu, M. Mannie, et R. Roper [2009], Vaccinia virus decreases major histocompatibility complex (MHC) class II antigen presentation, T-cell priming, and peptide association with MHC class II. *Immunology*, 128: 381–392.

T. Roethoeft, S. Balkow, M. Krummen, S. Beissert, G. Varga, K. Loser, P. Oberbanscheidt, F. V. den Boom, et S. Grabbe [2006], Structure and duration of contact between dendritic cells and T cells are controlled by T cell activation state. *Eur. J. Immunol.*, 36: 3105–3117.

I. Rouzine, K. Murali-Krishna, et R. Ahmed [2005], Generals die in friendly fire, or modeling immune response to HIV. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 258–274.

C. Rudd, A. Taylor, et H. Schneider [2009], CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunological Reviews*, 229: 12–26.

R. Saenz, M. Quinlivan, D. Elton, S. MacRae, A. Blunden, J. Mumford, J. Daly, P. Digard, A. Cullinane, B. Grenfell, J. McCauley, J. Wood, et J. Gog [2010], Dynamics of influenza virus infection and pathology. *J. Virol.*, 84: 3974–3983.

A. Smith et R. Ribeiro [2010], Modeling the viral dynamics of influenza A virus infection. *Immunology*, 30(3): 291–298.

J. Snyder, I. Belyakov, A. Dzutsev, F. Lemonnier, et J. Berzofsky [2004], Protection against lethal vaccinia virus challenge in HLA-A2 transgenic mice by immunization with a single CD8 T-cell peptide epitope of vaccinia and variola viruses. *J. Virol.*, 180: 7052–7060.

M. Souza et J. Zubelli [2011], Global stability for a class of virus models with cytotoxic T lymphocyte immune response and antigenic variation. *Bulletin of Math. Biol.*, 73: 609–625.

D. Spierings, E. Lemmens, K. Grewal, S. Schoenberger, et D. Green [2006], Duration of CTL activation regulates IL-2 production required for autonomous clonal expansion. *Eur. J. Immunol.*, 36: 1707–1717.

J. Sprent et C. Surh [2001], Generation and maintenance of memory T cells. *Current Opinion in Immunol.*, 13: 248–254.

M. V. Stipdonk, E. Lemmens, et S. Schoenberger [2001], Naive CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation. *Nature Immunology*, 2: 423–429.

A. Strasser et M. Pellegrini [2004], T-lymphocyte death during shutdown of an immune response. *Review, Trends in Immunology*, 25: 610–615.

B. Su, W. Zhou, K. Dorman, et D. Jones [2009], Mathematical modelling of immune response in tissues. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 10: 9–38.

M. Su, P. Wladen, D. Golan, et H. Eisen [1993], Cognate peptide-induced destruction of $CD8^+$ cytotoxic T lymphocytes is due to fratricide. *J. Immunol.*, 151: 658–667.

S. Sun, G. Zhao, W. Xiao, J. Hu, Y. Guo, H. Yu, X. Wu, Y. Tan, et Y. Zhou [2011], Age-related sensitivity and pathological differences in infections by 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. *J. Virol.*, 8: 52.

E. Terry, J. Marvel, C. Arpin, O. Gandrillon, et F. Crauste [2012], Mathematical model of the primary CD8 T cell immune response : stability analysis of a nonlinear age-structured system. *J. Math. Biol.*, 65: 263–291.

A. Tridane et Y. Kuang [2010], Modeling the interaction of cytotoxic T lymphocytes and influenza virus infected epithelial cells. *Math. Biosci. Eng.*, 7: 171–185.

L. Van Parijs, A. Biuckians, et A. Abbas [1998], Functional roles of Fas and Bcl-2 regulated apoptosis of T lymphocytes. *J. Immunol*, 160: 2065–2071.

H. Veiga-Fernandes, U. Walter, C. Bourgeois, A. McLean, et B. Rocha [2000], Response of naive and memory $CD8^+$ T Cells to antigen stimulation in vivo. *Nature Immunology*, 1: 47–53.

H. Wang et K. Smith [1987], The interleukin 2 receptor. Functional consequences of its bimolecular structure. *The Journal of Experimental Medicine*, 166: 1055–1069.

G. Webb [1985], *Theory of nonlinear age-dependent population dynamics*, volume 89 of *Monographs and textbooks in Pure and Appl. Math.* Marcel Dekker.

E. Wherry et R. Ahmed [2004], Memory CD8 T-cell differentiation during viral infection. *J. Virol.*, 78: 5535–5545.

D. Wodarz [2005], Mathematical models of immune effector responses to viral infections : Virus control versus the development of pathology. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 301–319.

D. Wodarz et M. Nowak [1999], Specific therapy regimes could lead to long-term immunological control of HIV. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96: 14464–14469.

D. Wodarz, P. Klenerman, et M. Nowak [1998], Dynamics of cytotoxic T–lymphocyte exhaustion. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 265: 191–203.

D. Wodarz, R. May, et M. Nowak [2000], The role of antigen-independent persistence of memory cytotoxic T lymphocytes. *Int. Immunol.*, 12: 467–477.

K. Wolk, E. Lazarowski, Z. Traylor, N. Erin, N. Jewell, R. Durbin, J. Durbin, et I. Davis [2008], Influenza A virus inhibits alveolar fluid clearance in BALB/c mice. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 178: 969–976.

P. Wong et E. Pamer [2003], CD8 T cell responses to infectious pathogens. *Annual review of immunology*, 21: 29–70.

P. Wong et E. Pamer [2004], Disparate in vitro and in vivo requirements for IL-2 during antigen-independent CD8 T cell expansion. *J. Immunol.*, 172: 2171–2176.

T. Yajima, K. Yoshihara, K. Nakazato, S. Kumabe, S. Koyasu, S. Sad, H. Shen, H. Kuwano, et Y. Yoshikai [2006], IL-15 regulates CD8+ T cell contraction during primary infection. *J. Immunol.*, 176: 507–515.

A. Zheng, V. Balakrishnan, G. Buzzard, R. Geahlen, M. Harrison, et A. Rundell [2005], Modeling and analysis of early events in T-lymphocyte-antigen-activated intracellular-signaling pathways. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 320–341.

J. Zhu et W. Paul [2008], CD4 T cells : fates, functions, and faults. *Blood*, 112: 1557–1569.

R. Zinkernagel [2005], Immunology and immunity against infection : General rules. *J. Computational and Appl. Mathematics*, 184: 4–9.

Résumé

La réponse immunitaire se produit en réaction à une infection, c'est-à-dire à l'introduction d'un pathogène dans l'organisme. Nous nous intéressons à une population de cellules spécifique de la réponse, les lymphocytes T CD8. Nous avons développé un modèle non linéaire structuré en âge des dynamiques de cette réponse, à l'échelle cellulaire. Nous avons étudié l'existence et la stabilité des états d'équilibre, et obtenu des propriétés mettant en évidence, sous certaines conditions, des dynamiques à long terme correspondant à la situation biologiquement attendue.

Nous avons ensuite réalisé une estimation systématique des valeurs de paramètres du modèle, afin de déterminer un ensemble de valeurs pour chaque paramètre qui permet de reproduire convenablement des données expérimentales. Cette démarche permet d'obtenir des informations sur l'influence des paramètres dans le modèle, et sur leurs variations selon la nature du pathogène.

Enfin, nous nous sommes intéressés aux dynamiques de la réponse à l'échelle moléculaire, en écrivant un réseau des évènements de signalisation clés depuis l'activation de la cellule en présence d'un antigène, jusqu'à l'entrée en cycle ou l'apoptose de la cellule. Nous avons déterminé un sous-modèle centré sur les choix entre survie et apoptose, que nous avons étudié mathématiquement et numériquement. Ce modèle a permis d'étudier les dynamiques de concentrations des protéines impliquées dans la signalisation intra-cellulaire de la réponse T CD8.

Abstract

Immune response occurs when a pathogen enters the organism and launches an infection. Here we focused on a specific cell population which takes part in the response : the CD8 T lymphocytes.

We first developed an nonlinear age-structured model which accounts for the dynamics of the immune response at a cell scale. We studied mathematically the existence and stability of steady states. Hence, we got some properties which highlighted, under certain conditions, some long term dynamics corresponding to biologically expected situation.

We then led a systematic estimation of parameter values in the model, in order to find a set of values for each parameter which enabled us to correctly reproduce experimental data. Thanks to this work, we got information of the influence of each parameter in the model and information of their variations depending on the nature of the pathogen.

Eventually, we considered dynamics of the immune response at a molecular scale. We created a network of signal key events, starting from cell activation due to an antigen encounter, to cell cycle entry or apoptosis of the cell. We thus elaborated a sub-model focused on the choice between survival or apoptosis, that we mathematically and numerically studied. Thanks to this model, we studied concentration dynamics of the proteins involved in intracellular signaling in CD8 T cell response.