



Contributions à la modélisation multi-échelles de la réponse immunitaire T-CD8 : construction, analyse, simulation et calibration de modèles

Loïc Michel Barbarroux

► To cite this version:

Loïc Michel Barbarroux. Contributions à la modélisation multi-échelles de la réponse immunitaire T-CD8 : construction, analyse, simulation et calibration de modèles. Systèmes dynamiques [math.DS]. Université de Lyon, 2017. Français. NNT : 2017LYSEC26 . tel-01569442v1

HAL Id: tel-01569442

<https://hal.science/tel-01569442v1>

Submitted on 26 Jul 2017 (v1), last revised 9 Apr 2018 (v2)

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.



Numéro d'ordre NNT : LYSEC26

**THÈSE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON opérée au sein de
l'École centrale de Lyon**

École Doctorale 512

École Doctorale InfoMaths

Spécialité de doctorat : Mathématiques et applications

Discipline : Mathématiques

Soutenue publiquement le 03/07/2017 par

Loïc Michel Barbarroux

**Contributions à la modélisation multi-échelles de la
réponse immunitaire T-CD8 : construction, analyse,
simulation et calibration de modèles.**

Devant le jury composé de :

M. Bedr'Eddine Ainseba	Professeur de l'Université de Bordeaux	Rapporteur
Mme Claudia Pio-Ferreira	Associated Professor, Universidade Estadual Paulista	Rapporteuse
M. Grégory Vial	Professeur de l'Ecole Centrale de Lyon	Président
M. Jean Clairambault	Directeur de recherche Inria Paris-Rocquencourt	Examineur
Mme Angélique Stéphanou	Chargée de recherche CNRS, Université Grenoble-Alpes	Examinatrice
M. Mostafa Adimy	Directeur de recherche Inria Rhône-Alpes	Directeur
M. Philippe Michel	Maître de conférences de l'École Centrale de Lyon	Co-directeur
M. Fabien Crauste	Chargé de recherches CNRS, Université Lyon 1	Invité

Remerciements

Mes premiers remerciements vont à mes directeurs de thèse, Mostafa Adimy et Philippe Michel, pour le temps qu'ils m'ont consacré durant ces quatre années. Cette thèse n'aurait pas été possible sans leur patience, leur disponibilité, leur soutien constant et leur expérience. Je les remercie aussi de la confiance et de l'autonomie qu'ils m'ont accordées grâce auxquelles j'ai pu équilibrer à ma convenance l'enseignement et la recherche. Nos discussions sérieuses m'ont permis de prendre du recul sur mon travail pour mieux aborder le sujet sous d'autres angles. Je n'en oublie pas moins nos discussions moins sérieuses, notamment concernant quelques films de qualité douteuse... Je remercie aussi grandement Fabien Crauste pour son encadrement, moins officiel mais tout aussi précieux, pour nos nombreuses discussions sur mon travail et pour tous ses conseils, scientifiques ou non. Depuis l'encadrement de mon stage de M2, qui a motivé mon envie de faire cette thèse, il a contribué à mon épanouissement et à l'amélioration de mon travail durant ces quatre ans. Ce fut un plaisir de travailler avec vous trois et je vous en remercie.

Je souhaite ensuite remercier les deux rapporteurs de ma thèse, Mr Bedr'Eddine Ainseba et Mme Claudia Pio Ferreira, pour avoir accepté d'évaluer mon travail, pour leur lecture attentive de mon manuscrit et pour leurs remarques. Je remercie aussi Mr Jean Clairambault, Mme Angélique Stéphanou et Mr Grégory Vial qui ont accepté de faire partie de mon jury en tant qu'examinateurs.

Viennent ensuite les collègues de l'Ecole Centrale. Je remercie les permanents de l'équipe de mathématiques de l'ECL, Grégory, Martine, Elisabeth, Céline, Philippe, François, Malek, Christophette, Laurent et Jean-Pierre qui nous a malheureusement quitté et pour qui j'ai une pensée toute particulière. Après avoir pour la plupart été mes enseignants, vous êtes devenus mes collègues. Je vous remercie pour votre soutien et vos conseils, y compris pour le monitorat. En particulier, je remercie Philippe et Martine pour m'avoir initié aux Maths-Bio durant ma deuxième année d'étude à l'école Centrale. Ce cours aura été le point de départ de ce travail. Je remercie Grégory pour son aide et tous ses conseils pour mon orientation, pour la préparation à l'agrégation, pour la candidature à une bourse de thèse et enfin pour la candidature à un poste en CPGE. Je remercie aussi Céline pour l'organisation de l'école Pecnum qui m'a notamment permis de me former au Krigeage, permettant donc ce dernier chapitre, puis pour sa relecture du chapitre en question. Merci aussi à Colette et Isabelle, pour leur travail au sein du département, et aux collègues d'informatique. Enfin, je pense aux doctorants avec qui j'ai eu la chance de partager un bureau à l'ECL, Vincent, Mona, Alexis et Mélina, pour leur bonne humeur permanente et pour leur soutien. Je leur fait entièrement confiance pour porter nos revendications concernant le jacuzzi dans le bureau et le toit ouvrant!

J'ai eu aussi la chance de pouvoir faire partie de l'équipe Inria Dracula et je souhaite en remercier tous les membres permanents avec qui j'ai pu échanger, Mostafa, Fabien, Thomas, Samuel, Laurent, Olivier, Léon, Céline, et Caroline ainsi que les doctorants, Abdenasser, Marine, Apollos, Flavien, Loïs, Simon, Aurélien, Ulysse, Ronan et Arnaud, les post-docs Sotiris et Xuefeng, sans compter les nombreux stagiaires qui sont passés par le bureau et les personnes de l'équipe Beagle. Les échanges autour de nos thématiques communes, notamment lors des réunions et séminaires, auront été une source d'inspiration importante. Je vous remercie pour votre accueil chaleureux au sein de cette équipe depuis mon stage de M2 jusqu'à la fin de cette thèse!

Le travail présenté dans ce manuscrit est aussi le fruit d'une collaboration entre mathématiciens et biologistes. En plus d'Olivier Gandrillon, membre de l'équipe Dracula, je remercie l'équipe de Jacqueline Marvel à l'Inserm pour leur collaboration et pour nos discussions visant à rapprocher nos deux domaines. La vulgarisation de nos travaux, nécessaire à la compréhension de tous, a été pour moi un exercice riche en enseignements. De plus, la construction de modèles en partant de considérations biologiques, ainsi que la confrontation des modèles aux données, étaient deux aspects auquel je tenais particulièrement et cette collaboration a permis tout cela. Je vous en remercie.

Je tiens aussi à remercier ma famille pour leur soutien durant ces longues années d'études, et particulièrement mes parents pour leur soutien moral et matériel. Ils m'ont toujours poussé à donner le meilleur de moi-même et m'ont permis d'étudier dans d'excellentes conditions. Après onze ans, les études sont enfin terminées et je n'en serais jamais arrivé là aujourd'hui sans leur aide. Un grand merci donc ! J'ai une pensée aussi pour ma belle famille qui ne s'est jamais vexée malgré toutes ces invitations refusées afin de pouvoir terminer cette thèse.

Enfin, je remercie du fond du cœur Jill pour son affection, sa patience (particulièrement sur la dernière année), et son soutien quotidien durant ces quatre ans. La thèse est un travail de longue haleine qui peut facilement déborder sur la vie privée et devenir un poids pour la personne avec qui vous partagez votre vie. Merci donc à elle d'avoir supporté, entre autres, toutes ces soirées et ces week end passés à travailler et les sautes d'humeur qui allaient de pair avec la pression due à la thèse. Elle a joué un rôle de première importance dans l'aboutissement de ce travail et je ne pourrai jamais assez la remercier pour cela.

Table des matières

1	Introduction	13
1.1	La réponse immunitaire	15
1.1.1	Les acteurs de la réponse immunitaire adaptative	16
1.1.2	La réponse immunitaire T-CD8	17
1.1.3	Interactions cellulaires	23
1.2	État de l'art	25
1.2.1	Modèles à l'échelle intracellulaire	26
1.2.2	Modèles à l'échelle de la population de cellules	29
1.2.3	Modèles multi-échelles	42
1.3	Présentation du travail de thèse	50
2	Multiscale Modeling of the Early CD8 T-Cell Immune Response in Lymph Nodes	53
2.1	Introduction	55
2.2	Experimental Section	59
2.3	Multiscale Model	59
2.3.1	Subcellular Level	59
2.3.2	Cellular Level : Cellular Potts Model	64
2.3.3	Extracellular Level	66
2.4	Results and Discussion	69
2.4.1	Dynamics at the Population Level	69
2.4.2	Dynamics at the Single Cell Level : Single APC and T Cell Interaction	70
2.4.3	A Preliminary Assessment of the Sensitivity of Parameter Values . . .	72
2.5	Conclusions	76
2.6	Supplementary Information	77

2.6.1	Parameter Values	77
3	A continuous multiscale model of the CD8 immune response structured by ma-	
	turity	81
3.1	Introduction	83
3.2	Multiscale model	89
3.2.1	Cellular subpopulations	89
3.2.2	Single cell dynamics	91
3.2.3	CD8 T cell population model	94
3.3	Existence, Uniqueness and Local Asymptotic Behavior	98
3.3.1	Existence and uniqueness	98
3.3.2	Steady states of the intracellular system	101
3.3.3	Local asymptotic stability and behavior of the model	105
3.4	Simulating primary and secondary immune responses	110
3.4.1	Modeling choices for F and f_s	110
3.4.2	Numerical implementation	111
3.4.3	Numerical results	116
3.5	Discussion	123
4	A discrete multiscale model of the CD8 immune response structured by matu-	
	rity	127
4.1	Modifications of the model presented in Chapter 3	128
4.2	Existence, Uniqueness and Local Asymptotic Behavior	131
4.2.1	Existence and uniqueness	131
4.2.2	Local asymptotic stability	142
4.3	Discussion	149
5	Calibration de modèles	151
5.1	Critère d'optimisation	154
5.1.1	Données biologiques	154
5.1.2	Critère d'optimisation	155
5.2	Construction, validation, amélioration continue et utilisation d'un méta-	
	modèle	157

5.2.1	Krigeage ordinaire	157
5.2.2	Plans d'expérience	160
5.2.3	Validation	167
5.2.4	Amélioration continue du métamodèle	169
5.2.5	Exemples	173
5.3	Application au modèle de Crauste et al. [38]	187
5.3.1	Rappel du modèle	187
5.3.2	Espace de paramètres	187
5.3.3	Protocole	189
5.3.4	Résultats	191
5.4	Application au modèle du Chapitre 4	195
5.4.1	Espace de paramètres	195
5.4.2	Protocole	196
5.4.3	Résultats	196
5.5	Discussion	202
6	Bilan et perspectives	205

Table des figures

1.1	Procédé général de modélisation	14
1.2	Présentation d'un antigène à un lymphocyte T-CD8.	18
1.3	Dynamique de la population de cellules T-CD8	20
1.4	Modèle biologique de Ewings et al. [47]	28
1.5	Modèle biologique de De Boer et al. [45]	30
1.6	Modèle biologique de Antia et al. [7]	34
1.7	Modèle biologique de Terry et al. [127]	36
1.8	Schéma de différenciation final sélectionné par (1.5)	41
1.9	Modèle de Friedman et al. [51]	46
2.1	Experimental CD8 T-cell counts over time in mice lymph node	58
2.2	The Simplified molecular signaling pathway of a CD8 T-cell	60
2.3	Schematic diagram of the linear activation pathway for the CD8 T-cells	62
2.4	Representative simulation snapshots showing the evolution and differentia- tion of T-cells following the APC encounter	70
2.5	Results at the population level : cell counts	71
2.6	Single cell molecular values	74
2.7	Results at the population levels	75
3.1	Differentiation scheme of the CD8 T cells	90
3.2	Simplified intracellular network	92
3.3	Expected behavior of the multiscale model in the maturity space	97
3.4	Possible relative positions of f and g depending on parameter values	106
3.5	Schematic representation of the different intracellular steady states and of their stability in a few cases	109

3.6	Illustration of the location process of newly activated cells	112
3.7	Simulation of ρ_ε in the favorable case	117
3.8	Subpopulation counts for the simulated primary and secondary response .	120
3.9	Simulated subpopulation counts for the primary immune response for dif- ferent values of P_0	121
4.1	Eigenvalues of the characteristic equation	146
4.2	Periodic solutions of system (4.1) for different values of the delay	147
4.3	Simulation of ρ_ε in the case where (x_2, y_2) is an unstable positive steady state	148
5.1	Données biologiques	155
5.2	Exemples de plans LHS en deux dimensions	161
5.3	Exemples de définition de J_x en deux dimensions	162
5.4	Organigramme de l'algorithme ESE	165
5.5	Organigramme de la mise à jour de la température de l'algorithme ESE . . .	166
5.6	Comparaisons de trois plans d'expérience à 100 points en deux dimensions	168
5.7	Algorithme d'optimisation EGO	172
5.8	Graphes de la fonction f_1 considérée pour l'exemple en une dimension . . .	174
5.9	Prédicteurs de Krigage en une dimension avec une covariance Gaussienne	175
5.10	Prédicteurs de Krigage en une dimension avec une covariance exponentielle	176
5.11	Prédicteurs de Krigage en une dimension avec une covariance de matern 3/2	177
5.12	Prédicteurs de Krigage en une dimension avec une covariance de matern 5/2	178
5.13	Prédicteur de Krigage et intervalle de confiance à 95%	179
5.14	Amélioration continue du métamodèle à l'aide du critère EI sur un exemple en une dimension	180
5.15	Evolution du coefficient de prédictivité et du minimum lors de l'utilisation du critère EI	181
5.16	Amélioration continue du métamodèle à l'aide du critère 2-EI sur un exem- ple en une dimension	182
5.17	Evolution du coefficient de prédictivité et du minimum lors de l'utilisation du critère EI	183
5.18	Graphes de la fonction f_2 pour l'exemple en deux dimensions	183

5.19 Ajout de points d'observation au cours de quatre étapes d'algorithme 10-1EI	
sur l'exemple en deux dimensions	185
5.20 Evolution du coefficient de prédictivité et du minimum lors de l'utilisation	
du critère 10-1EI sur l'exemple en deux dimensions	186
5.21 Données de simulation pour la calibration du modèle (5.6)	192
5.22 Meilleure reproduction des données obtenue après calibration du modèle	
(5.6)	194
5.23 Données de simulation pour la calibration du modèle du Chapitre 4	197
5.24 Meilleure reproduction des données obtenue après calibration du modèle	
du Chapitre 4	198

Liste des tableaux

2.1	Description of the molecular signaling pathway in Figure 2.2.	61
2.2	Behaviors of the APC and T cell stages.	66
2.3	Default parameter settings for simulations : cellular level (Potts model) . . .	67
2.4	Default parameter settings for simulations : subcellular level (Key : M, molar). 67	
2.4	<i>Cont.</i>	68
2.5	Default parameter settings for simulations : extracellular level and molecu- lar thresholds for T-cell differentiation and apoptosis.	68
3.1	Main variables of the model.	91
3.2	Definition of the CD8 T cell subsets as functions of maturity levels.	94
3.3	Possible values of $V(0)$ and $V(\infty)$	105
3.4	Parameters values used for numerical results displayed in Figures 3.7 to 3.9	122
5.1	Discrépances L^2 centrées de projections 2D de plans LHS optimisés	164
5.2	Valeurs du coefficient de prédictivité Q^2 pour les quatre covariances consid- érées.	174
5.3	Valeurs de Q^2 en fonction du type de plan choisi	184
5.4	Bornes de l'espace des paramètres	188
5.5	Valeurs de Q^2 pour le métamodèle	190
5.6	Valeurs obtenues des paramètres du modèle (5.6)	193
5.7	Valeurs fixées des paramètres intracellulaires	200
5.8	Valeurs des bornes de l'espace des paramètres	201
5.9	Meilleur jeu de paramètres obtenu	201

Chapitre 1

Introduction

En plein essor depuis les années 2000, la modélisation mathématique en biologie est devenue un outil essentiel pour essayer de décortiquer les phénomènes biologiques dont notre compréhension est lacunaire. Les collaborations croissantes entre mathématiciens et biologistes ont permis l'émergence de cette discipline à l'interface entre mathématiques, biologie, mais aussi informatique, ces trois disciplines étant liées par la modélisation.

Les modèles sont des représentations simplifiées de la réalité. Lors de la création d'un modèle, on choisit un sujet (qu'est-ce que l'on modélise?), des hypothèses de modélisation (quels aspects du sujet doivent apparaître dans le modèle?) et la forme prise par le modèle (comment le modélise-t-on?). Il existe différents types de modèles. Nous nous intéressons dans ce manuscrit aux modèles biologiques et aux modèles mathématiques de la réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8. Les modèles biologiques consistent en une représentation partielle d'un phénomène biologique, qui permet une meilleure observation quantitative de certains aspects complexes. Les modèles mathématiques permettent une mise en équation, et donc une représentation plus qualitative, d'un phénomène. La modélisation mathématique en biologie associe ces deux aspects : la simplification du phénomène biologique, puis sa mise en équations.

Les modèles mathématiques permettent de :

1. tester des hypothèses biologiques puis confronter le modèle aux données biologiques,
2. prédire rapidement l'évolution d'un phénomène biologique sur le long terme,

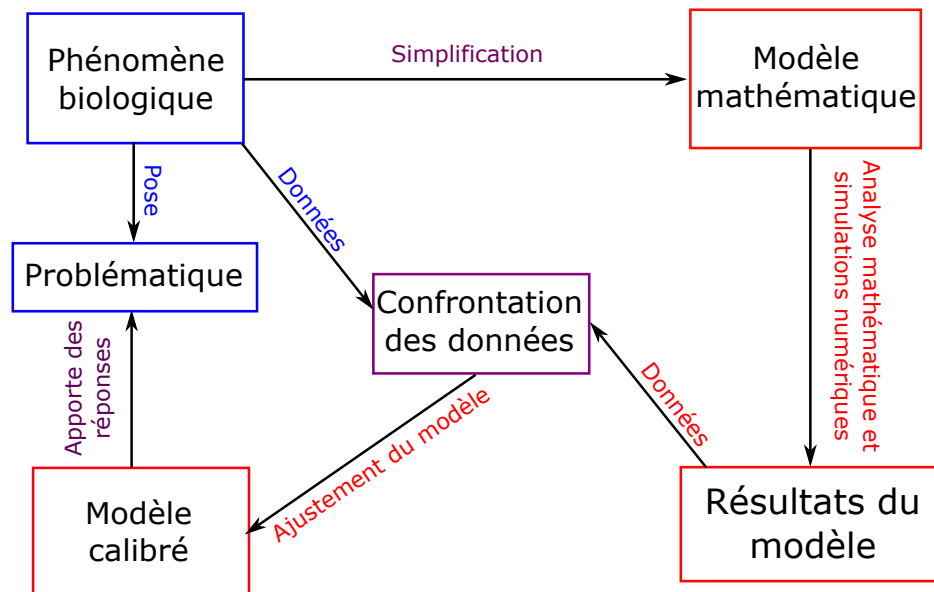


FIGURE 1.1 – **Procédé général de modélisation et d'étude d'un phénomène biologique.** Les tâches plutôt entreprises par les biologistes sont en bleu, celles par les mathématiciens en rouge et celles présentant de fortes interactions entre les deux groupes sont en violet. Initialement, les biologistes définissent une problématique relative à un phénomène biologique donné, pour laquelle les réponses ne peuvent venir de l'étude biologique seule (impossibilité de mesures, phénomène sur une échelle de temps longue, protocoles expérimentaux coûteux...). Après de nombreuses discussions, les deux groupes conviennent d'un modèle minimal ne prenant en compte que les aspects essentiels du phénomène. Après étude et simulation du modèle, les résultats sont confrontés à des données expérimentales ou à des observations qualitatives. Après d'éventuelles modifications, le modèle reproduit les données et est dit calibré. Il peut ensuite être utilisé pour simuler ce phénomène et apporter des réponses à la problématique.

3. chercher des stratégies optimales de contrôle de certains phénomènes.

Je présente sur la Figure 1.1 le procédé général de modélisation et d'étude d'un phénomène biologique à l'aide de modèles mathématiques.

La modélisation d'un même phénomène biologique peut se faire de plusieurs façons, selon les hypothèses prises en compte, mais aussi en fonction du formalisme mathématique utilisé pour représenter ce phénomène. Quelques formalismes seront détaillés dans la section 1.2, portant sur l'état de l'art.

L'analyse mathématique du modèle, lorsqu'elle est possible, fournit bien souvent des propriétés qualitatives sur le modèle, propriétés que l'on souhaite faire correspondre avec les propriétés réelles du phénomène biologique étudié. Les résultats quantitatifs sont eux obtenus par simulations numériques du modèle après le choix d'une méthode de simulation adaptée. Ces résultats doivent ensuite être confrontés à la réalité du phénomène biologique étudié : les observations qualitatives sont examinées en premier, pour voir si

le modèle se comporte comme il le devrait, puis on examine les données quantitatives pour vérifier si le modèle peut reproduire les données observées biologiquement.

Un "bon" modèle n'est pas forcément un modèle qui intègre le plus d'éléments biologiques possible, mais le modèle qui répond à la problématique posée prenant en compte les hypothèses biologiques pertinentes minimales permettant de reproduire les comportements qualitatifs et quantitatifs observés. Un modèle trop complexe ne permettra pas une étude mathématique poussée, ni un calibrage satisfaisant (le nombre de paramètres biologiques *a priori* inconnus augmente avec la complexité du modèle).

Dans ce travail, nous avons souhaité étudier le phénomène de la réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8 en suivant chaque étape de ce procédé général. Ce manuscrit s'efforce donc de traiter chacun des aspects décrits dans la Figure 1.1 : tri et sélection des éléments biologiques à modéliser, modélisation(s) du phénomène, analyse, simulations numériques et estimations de paramètres. L'utilisation du modèle (pour l'optimisation de stratégies de vaccination) ne sera abordée que dans le Chapitre 6 (Discussion et perspectives) au travers de pistes d'étude.

Ce chapitre introductif présente le contexte du travail effectué durant cette thèse. Il se veut pédagogique, en particulier concernant la modélisation mathématique de phénomènes biologiques, pour motiver les choix de modélisation effectués durant la thèse. Y sont présentés, dans l'ordre, le sujet biologique traité pendant cette thèse, un état de l'art des modèles correspondant à ce sujet (et une brève présentation des formalismes mathématiques associés) et enfin le travail dont ce manuscrit rend compte.

1.1 La réponse immunitaire

Pour se défendre contre la maladie, l'organisme possède deux types d'immunité : l'immunité innée et l'immunité adaptative.

L'immunité innée correspond aux nombreux mécanismes de défense déjà présents à la naissance (Abbas et al. [2]). La première ligne de défense est constituée par les parois de l'épiderme qui bloquent physiquement et biologiquement les infections *via* des antibiotiques naturellement présents au niveau de l'épiderme. Les microbes qui parviennent à franchir cette première ligne de défense sont phagocytés par les macrophages ou in-

fectent les cellules de l'organisme (virus). Les cellules NK (Natural Killer) sont chargées de nettoyer l'organisme en tuant les cellules et les macrophages infectés. Ces procédés se déroulent sur une échelle de temps relativement courte (inférieure à 12h) et ne conditionnent leur occurrence qu'au caractère infectieux des substances détectées (voir Abbas et al. [2]).

Certaines infections développent une résistance aux mécanismes de l'immunité innée. Lors de l'infection de l'organisme par un tel agent infectieux (pathogène), les cellules immunitaires sont responsables de la détection, de la reconnaissance, de l'élimination et de la mémorisation de ce pathogène. C'est l'immunité adaptative (Abbas et al. [2]). Ce type de réponse immunitaire présente des différences importantes avec l'immunité innée. Elle intervient lors de la détection d'un corps étranger (et pas forcément infectieux, c'est d'ailleurs ce qui force les patients greffés à prendre des immunosuppresseurs) et se déroule sur une échelle de temps plus longue (de l'ordre de quelques jours). Cette réponse est dite spécifique, dans le sens où les cellules immunitaires qui rentrent en jeu ne vont se focaliser que sur un pathogène spécifique. Plusieurs types de cellules immunitaires, possédant des rôles spécifiques et différents, entrent en jeu dans ce but. Nous présentons rapidement dans la suite les différents types de cellules immunitaires et leurs rôles respectifs, avant de nous attarder plus longuement sur les lymphocytes T-CD8 dont la modélisation de la dynamique de population de cellules constitue l'objet d'étude de notre travail.

1.1.1 Les acteurs de la réponse immunitaire adaptative

En fonction du type de pathogène considéré, ce ne sont pas les même cellules qui jouent le rôle principal dans la réponse immunitaire adaptative. La réponse immunitaire adaptative repose principalement sur trois types de cellules : les lymphocytes B, les lymphocytes T-CD4 dits "Helpers" et les lymphocytes T-CD8. Ces trois types de cellules sont issues de la différenciation (évolution vers un type de cellule plus spécifique) de cellules souches de la moelle osseuse. Les lymphocytes B restent dans la moelle osseuse durant leur maturation tandis que les lymphocytes T mûrissent dans le thymus. Ils circulent ensuite dans le sang et les organes lymphoïdes (ganglions lymphatiques, rate...) en quête d'un agent étranger.

Le fonctionnement global de ces trois types de cellules est similaire : détection d'une infection, prolifération exponentielle via expansion clonale, attaque du pathogène puis mort d'une grande partie des cellules et constitution d'un répertoire immunitaire de cellules spécifiques au pathogène combattu (Abbas et al. [2]). Les lymphocytes B sont chargés de répondre à la présence d'un pathogène extracellulaire en sécrétant des anticorps spécifiques. Les lymphocytes T-CD4 ont pour mission, lors de la détection d'un pathogène, de sécréter des substances appelées cytokines qui aident à l'activation, accélèrent la prolifération et aident à la survie des cellules B et des cellules T-CD8. Enfin, les cellules T-CD8 interviennent lors de la détection d'un pathogène intracellulaire et leur dynamique est au cœur de la réponse immunitaire contre ce type d'infection.

Puisque nous souhaitons modéliser la réponse immunitaire à une infection intracellulaire, nous nous concentrerons dans ce travail uniquement sur la dynamique des lymphocytes T-CD8, les lymphocytes B n'intervenant pas dans ce cas de figure et les lymphocytes T-CD4 n'étant là que pour booster la réponse des T-CD8, ce qui pourra être pris en compte par un ajustement des paramètres du modèle.

1.1.2 La réponse immunitaire T-CD8

Dynamique globale de la réponse T-CD8

Dans le cas d'une infection par un pathogène intracellulaire, comme par exemple influenza, *listeria monocytogenes* ou vaccinia (Crauste et al. [38]), ce sont les lymphocytes T-CD8 qui jouent le rôle principal de la réponse immunitaire adaptative. Ces lymphocytes sont capables d'acquérir des capacités cytotoxiques, c'est à dire de devenir létaux pour les cellules infectées (Abbas et al. [2], Murali-Krishna et al. [102]).

Lors d'une première rencontre avec un pathogène intracellulaire donné, l'organisme déclenche une réponse immunitaire dite primaire. Les lymphocytes T-CD8 rencontrent des cellules présentatrices d'antigène (APC) dans les ganglions. L'activation des cellules T-CD8 se fait par contact physique avec une cellule présentatrice d'antigène (voir Figure 1.2). Les APC sont présentes au niveau des barrières épithéliales et des points d'entrées possibles pour les infections. Elles capturent des traces du pathogène (appelées antigène) et circulent ensuite dans le sang allant à la rencontre des lymphocytes T-CD4 et T-CD8

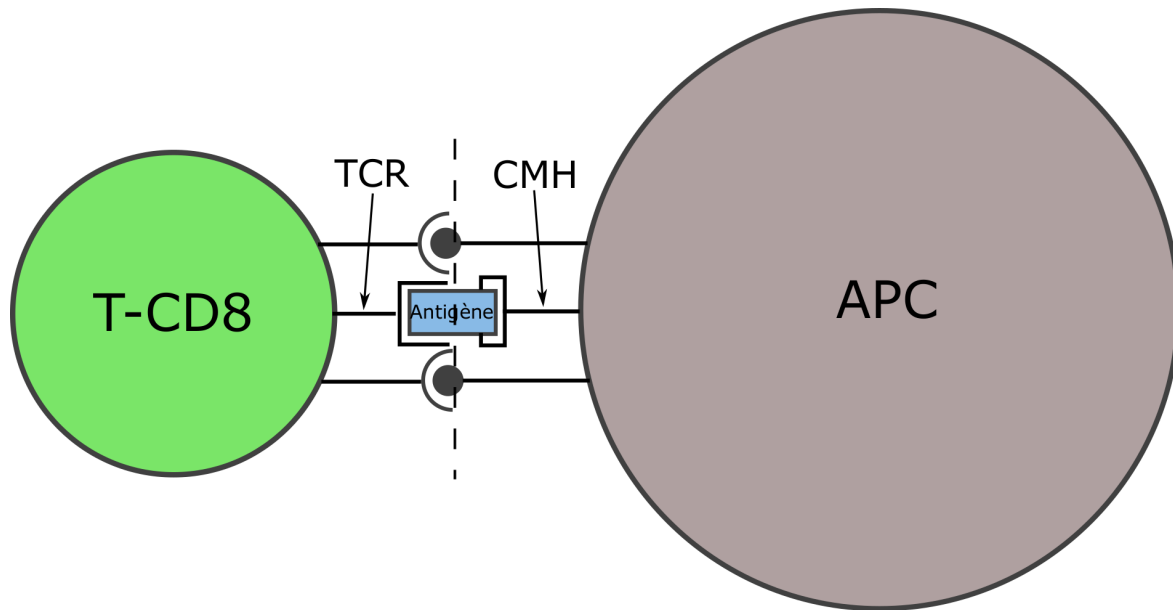


FIGURE 1.2 – **Présentation d'un antigène à un lymphocyte T-CD8.** Lors du contact entre une APC et une cellule T-CD8, l'antigène fixé sur une molécule CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) présente à la surface de l'APC est présentée au récepteur présent à la surface du lymphocyte T-CD8 (TCR pour T-Cell Receptor). Les liaisons annexes renforcent physiquement la liaison entre les deux cellules.

pour les activer et démarrer les processus de prolifération (division cellulaire) et de différenciation (spécialisation des cellules) qui constituent la réponse immunitaire adaptative. (Abbas et al. [2], Murali-Krishna et al. [102])

Au cours de ce processus de différenciation, les cellules T-CD8 présentent plusieurs états phénotypiques successifs qui possèdent chacun des capacités différentes. Les trois principales sous-populations, identifiées depuis longtemps (Abbas et al. [2], Murali-Krishna et al. [102]), de cellules T-CD8 sont :

- Les cellules T-CD8 naïves, cellules quiescentes qui n'ont pas rencontré le pathogène en question (le caractère naïf d'une cellule est relatif à un pathogène). Ces cellules sont initialement produites par différenciation de cellules hématopoïétiques dans la moelle osseuse et migrent dans le thymus.
- Les cellules T-CD8 effectrices possèdent des capacités cytotoxiques et un fort taux de prolifération. Elles sont capables d'attaquer et éliminer les cellules infectées (ce qui inclut les cellules du système immunitaire).
- Les cellules mémoires, cellules quiescentes ayant déjà rencontré le pathogène qui possèdent une longue durée de vie. Elles le gardent en mémoire et se tiennent prêtes

à redémarrer une réponse immunitaire spécifique à ce pathogène, plus rapide et plus forte que dans le cas de la stimulation de cellules naïves. Ce type de réponse est appelée réponse secondaire.

La réponse immunitaire primaire se déroule en trois phases successives identifiées depuis longtemps (Abbas et al. [2]) et observées par exemple sur les données présentées par Murali-Krishna et al. [102]. La population totale de cellules T-CD8 passe d'abord par une phase d'expansion (deux à trois jours après l'infection), où les cellules prolifèrent très rapidement. Les données expérimentales obtenues par Murali-Krishna et al. [102] présentent un passage d'une centaine de cellules T-CD8 à environ 10^7 cellules en quelques jours *in vivo*. Les cellules T-CD8 continuent à proliférer après la disparition de toute trace de pathogène dans l'organisme jusqu'à atteindre un pic (Kaech et Ahmed[73]). Puis c'est la phase de contraction, où environ 90 à 95% des cellules présentes au pic de la réponse meurent. Les cellules restantes sont des cellules mémoires (phase mémoire) présentant un faible taux de mort.

Cette réponse immunitaire est spécifique (Abbas et al. [2], Murali-Krishna et al. [102]) : les cellules mémoires générées sont spécifiquement conçues pour répondre à une infection ultérieure par le même pathogène. Ces cellules sont responsables du déclenchement des réponses dites secondaires en cas de rencontre ultérieure avec le même pathogène. Ces réponses secondaires sont plus rapides et plus fortes que la réponse primaire. C'est sur ce principe que repose la vaccination : une petite quantité rendue inoffensive d'un pathogène est injectée afin que l'organisme déclenche une réponse primaire et génère des cellules mémoires spécifiques à ce pathogène. Puis lorsque l'organisme est réellement confronté au même pathogène ces cellules mémoires permettent une réponse immunitaire plus efficace. La dynamique de la population totale de cellules T-CD8 au cours des réponses primaires et secondaires est illustrée Figure 1.3.

Un aspect important de cette réponse immunitaire est son aspect préprogrammé, mis en avant par Kaech et Ahmed[73], van Stipdonk et al. [130]. Une stimulation de cellules naïves par une APC (pour une durée aussi faible que deux ou trois heures) enclenche une réponse totale qui va conduire cette cellule à plusieurs divisions cellulaires successives et à la génération de cellules mémoires, même si l'éradication du pathogène intervient très tôt dans la réponse. Les cellules T-CD8 ne nécessitent donc pas une stimulation continue

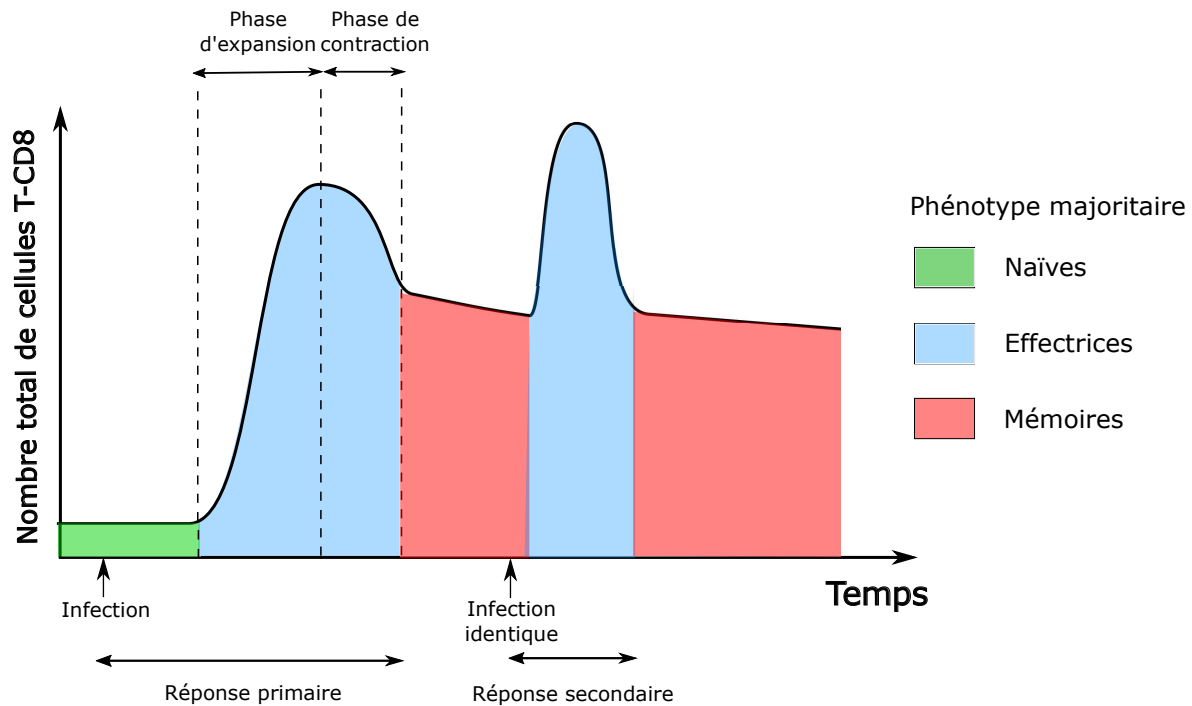


FIGURE 1.3 – **Représentation schématique de la dynamique de la population totale de cellules T-CD8 lors de la réponse immunitaire** Lors de la réponse primaire, il y a un délai de deux ou trois jours entre l'infection et le début de la prolifération des cellules T-CD8. Durant la phase d'expansion, les cellules prolifèrent très rapidement et combattent l'infection. Après l'élimination de toutes les cellules infectées, les cellules cessent de proliférer et meurent par apoptose ou par l'action d'autres cellules cytotoxiques. Les cellules qui survivent se différencient en cellules mémoires et réagissent plus rapidement et plus fort lors d'une réponse secondaire.

par les APC tout au long de la réponse. Cependant, la quantité de pathogène présente dans l'organisme influe sur l'amplitude de la réponse et les cellules T-CD8 proliféreront d'autant plus que le réservoir de l'infection est important (Antia et al. [8], Kaech and Ahmed [73]).

Lignée de différenciation des cellules T-CD8

L'identification des voies de différenciation impliquées dans la réponse des lymphocytes T CD8, basée sur des marqueurs pertinents et permettant de définir fonctionnellement les sous-ensembles de lymphocytes T CD8 a conduit à plusieurs propositions, parfois contradictoires.

Plusieurs types de populations effectrices et mémoires ont été identifiées (Appay and Rowland-Jones [9], Chang et al. [30], Sallusto et al. [117]). Les cellules mémoires ont par exemple été classées en deux catégories principales : les cellules T mémoires centrales CD62L+ (TCM) et les cellules T mémoires effectrices CD62L- (TEM) (Masopust et al. [90],

Sallusto et al. [117]). Des cellules précurseurs mémoires ont été identifiées par plusieurs travaux du groupe de Kaech (Cui et al. [42], Kaech et Cui[72]), en combinant les expressions des marqueurs CD127 et KLRG1 : au pic de la réponse primaire, il y a une population de cellules "early" effectrices CD127-KLRG1- (EEC, pour "early effector cells"), qui donnent naissance à des cellules effectrices CD127-KLRG1+ (SLEC, pour "short lived effector cells") et à des cellules précurseurs mémoires CD127+KLRG1- (MPEC, pour "memory precursor effector cells") qui se différencieront en cellules mémoires (Kaech and Cui [72], Plumlee et al. [107]).

Les liens entre les différents sous-ensembles définis phénotypiquement obtenus au cours des années sont encore sujets à discussion, car les marqueurs utilisés pour les identifier ne définissent, la plupart du temps, ni une généalogie ni des fonctions spécifiques. Buchholz et al. [25] suggèrent, par exemple, que les cellules naïves se différencient en précurseurs TCM, puis en précurseurs TEM, avant de se différencier en cellules effectrices, ce qui n'est pas en accord avec la représentation classique où les cellules effectrices apparaissent avant les cellules mémoires. Un processus de branchement entre les populations effectrices et mémoires est également soutenu par une approche transcriptomique sur cellule unique (Arsenio et al. [10]). Ces résultats *a priori* controversés pourraient cependant provenir du fait que ces sous-populations soient définies par rapport à des niveaux d'expression de CD62L, qui permet d'identifier des types de cellules possédant des capacités différentes, plutôt que des stades de développement.

Plus récemment, Crauste et al. [38] ont montré que les sous-populations définies phénotypiquement peuvent représenter des classes fonctionnelles de lymphocytes T-CD8 plutôt que des étapes dans un processus de différenciation, même lorsqu'elles sont successivement observées, et proposent l'utilisation de Ki67 et Bcl2, avec CD44, pour identifier les étapes de différenciation des lymphocytes T-CD8. À l'aide de ces trois marqueurs, ils ont identifié expérimentalement des cellules mémoires avec le phénotype CD44+Mki67-Bcl2+ ainsi que deux populations de cellules effectrices, les cellules "early effectrices" CD44+Ki67+Bcl2- et "late effectrices" CD44+Ki67-Bcl2-, alors que les cellules naïves sont CD44-Ki67-Bcl2+. Puis, ils ont testé plusieurs schémas de différenciation possibles, linéaires ou à branches, y compris ceux de Buchholz et al. [25], en confrontant leur résultats à ces données expérimentales. Leurs conclusions penchent très nettement en faveur

d'un schéma de différenciation linéaire suivant lequel les cellules naïves se différencient d'abord en cellules effectrices, puis en cellules mémoires, confirmant les résultats précédents obtenus, par exemple, par Antia et al. [7, 8] et Ganusov [53].

Cette distinction via CD44, Ki67 et Bcl2 est fortement liée aux capacités des sous-populations suscitées : CD44 est un marqueur d'activation, Ki67 est un marqueur de prolifération et Bcl2 est un marqueur de survie. Les cellules Bcl2+ sont donc celles présentant un faible taux de mort, les cellules Ki67+ sont celles pouvant proliférer et CD44 sert à distinguer les cellules naïves (CD44-) des cellules activées.

Aspects intracellulaires de la réponse immunitaire

La prise en compte des événements intracellulaires au cours de la réponse immunitaire T-CD8 est nécessaire pour comprendre ce phénomène biologique. Les marqueurs cités pour la distinction des sous-populations de cellules (CD44, Ki67 et Bcl2, par Crauste et al. [38]) ne sont pas seulement utiles pour la discrimination de ces cellules mais jouent un rôle primordial en agissant sur le destin de la cellule. Si le recensement de ces protéines et la compréhension de leurs interactions est un travail difficile compte tenu de leur grand nombre et de la difficulté à mettre en lumière des relations de cause à effet directes, ils sont néanmoins essentiels pour la compréhension de la dynamique de chaque cellule T-CD8.

En effet, ces protéines agissent sur le destin de la cellule T-CD8 en impactant son taux de survie, son taux de prolifération et sa différenciation en cellule effectrice et cellule mémoire (Bidot et al. [19]). L'activation des cellules T-CD8 via la liaison avec une APC (engagement du TCR) active des voies de signalisations qui entraînent la synthèse, et la sécrétion de plusieurs de ces protéines. Les travaux existants d'identification des protéines clés de la réponse immunitaire et des voies de signalisation qui les relient sont partiels et ne se concentrent que sur un aspect particulier de ce réseau (activation, apoptose, prolifération...). Nous présentons ici à titre d'exemple certaines de ces protéines et leurs propriétés mais pas les réseaux de signalisation qui les lient (qui relèvent plus de la modélisation, et seront donc abordés dans la section 1.2.1).

Concernant les aspects intracellulaires conduisant à la prolifération et la survie de la cellule T-CD8, une cytokine clé est l'IL2 (voir Hoyer et al. [65]), qui est sécrétée par les

cellules T-CD8 activées après contact avec une APC. L'IL2 sécrétée diffuse ensuite dans le milieu extérieur à la cellule, et va se lier à des récepteurs à l'IL2 (IL2R) présents au niveau des membranes des cellules T-CD8 voisines, ainsi qu'à ceux de cette même cellule. En présence d'IL2, les cellules T-CD8 présentent des capacités de proliférations accrues (Feinerman et al. [50]) et un plus haut taux de survie (Kelly et al. [75]).

D'autres protéines participent à une régulation négative de la prolifération et de la survie de la cellule. C'est le cas de la protéine Blimp-1, mise en avant par Martins et al. [89], dont le rôle est d'éviter un emballement de la réponse immunitaire. Blimp-1 agit négativement à l'intérieur de chaque cellule T-CD8 sur la sécrétion d'IL2, privant la cellule de sa cytokine majeure pour la survie et la menant à l'apoptose. L'action de Blimp-1 intervient environ deux à trois jours après l'activation de la cellule T-CD8 par une APC (observé par Martins et al. [89]), tandis que l'effet de l'IL2 sur la survie et la prolifération de la cellule est beaucoup plus rapide (dès les premières heures). L'action retardée de Blimp-1 découle d'une cascade d'interactions entre IL2, les récepteurs à l'IL2 (IL2R) et Blimp-1. Les actions de ces deux protéines antagonistes sont déphasées dans le temps, et la cellule prolifère pendant les premiers jours avant d'entrer en apoptose suite à l'accumulation intracellulaire de Blimp-1.

Enfin, certaines protéines jouent un rôle clé pour la différenciation des cellules T-CD8. Sullivan et al. [124] mettent en avant le rôle du facteur de transcription Tbet qui régule l'acquisition de capacités cytotoxiques par les cellules T-CD8 et donc leur différenciation en cellules effectrices, illustrant l'utilité d'une classification des sous populations de cellules T-CD8 à base de marqueurs liés aux capacités de ces cellules, comme proposé par Crauste et al. [38].

D'autres protéines agissent pour mener la cellule vers l'apoptose mais ne sont pas abordées dans cette Section (non exhaustive). Un exemple est donné dans la Section 1.2.1 qui traite de la modélisation des phénomènes à l'échelle intracellulaire de la réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8.

1.1.3 Interactions cellulaires

A l'échelle de la population de cellules, les cellules T-CD8 interagissent entre elles et avec les APC. En plus de l'activation des cellules T-CD8 par les APC, trois phénomènes

importants pour la compréhension de cette réponse immunitaire sont observés.

Premièrement, après sa synthèse intracellulaire, l'IL2 est sécrétée par les cellules T-CD8 et se retrouve dans l'environnement extracellulaire. Les molécules d'IL2 vont ensuite activer les récepteurs à l'IL2 présents au niveau de la membrane de cette même cellule T-CD8, mais aussi des cellules T-CD8 voisines, ce qui facilite leur survie et leur prolifération. À leur tour, ces cellules vont se mettre à sécréter de l'IL2 et donc faciliter l'activation de leurs voisines. En plus d'agir comme une boucle rétroactive positive sur la cellule qui le sécrète, l'IL2 permet d'accélérer la prolifération des autres cellules. Le rôle de cette protéine est donc de créer un environnement propice à la prolifération pour les cellules T-CD8 (voir Feinerman et al. [50], Höfer et al. [64], Kelly et al. [75]).

Le second phénomène consiste en la mort de cellules T-CD8 par contact avec des cellules effectrices et late effectrices. Les cellules T-CD8 expriment toutes la protéine Fas et les cellules possédant des capacités cytotoxiques expriment FasL (Fas Ligand) à leur surface. Le contact entre une cellule T-CD8 quelconque et une cellule cytotoxique permet la formation d'un complexe Fas-FasL qui conduit à la synthèse intracellulaire de caspases puis à la mort de la cellule exprimant Fas (voir Bouillet and O'Reilly [21], Sullivan et al. [124], Yeo and Fearon [137]). La mort *via* ce phénomène se fait par des voies de signalisations intracellulaires distinctes de celles de l'apoptose par manque de cytokines pro-survie (voir Hildeman et al. [63]).

Enfin, le dernier phénomène important est l'AICD (Activation Induced Cell Death). Ce phénomène intervient lorsqu'une cellule déjà activée est stimulée de façon répétée par une APC. Dans ce cas, l'engagement du TCR conduit à la synthèse de caspases, qui conduisent à la mort de la cellule. Ce phénomène est moins important pour les cellules présentant un fort taux de survie (voir Brenner et al. [24], Chhabra [33], Guerrero et al. [60]).

La mort par liaison via la formation d'un complexe Fas-FasL et l'AICD sont deux rétrocontrôles négatifs au niveau de la population. Ils permettent de réguler la taille de la population de cellules T-CD8 après la disparition de toute trace d'antigène (phase de contraction) et d'éliminer les cellules défectueuses qui répondent aux antigènes du soi (réponses auto-immunes).

Biologiquement, le phénomène de la réponse immunitaire se déroule donc sur plusieurs échelles en interaction les unes avec les autres. A l'échelle de la population totale de cellules T-CD8, la réponse se caractérise d'abord par une très forte expansion cellulaire environ trois jours après l'infection, les cellules naïves devenant progressivement des cellules "early effectrices" et "late effectrices" qui combattent l'infection. Puis la réponse entre dans une phase de contraction où environ 90% de ces cellules meurent. Enfin lors de la phase mémoire les cellules restantes se différencient en cellules mémoires spécifiques et attendent une infection par le même pathogène pour déclencher une réponse secondaire spécifique plus rapide et plus forte. Les différents stades de différenciation (naïves, early effectrices, late effectrices et mémoires) sont vraisemblablement liés par un schéma linéaire (Crauste et al. [38]) et les cellules T-CD8 le suivent dans cet ordre. Le rôle des phénomènes à l'échelle intracellulaire est crucial pour la compréhension de la réponse immunitaire. Certaines protéines agissent directement sur le destin de chaque cellule (prolifération, différenciation, apoptose). Certaines agissent sur ses interactions avec les autres cellules *via* des mécanismes d'apoptose plus complexes (AICD, interaction de type Fas-FasL).

1.2 État de l'art

Nous présentons ici quelques travaux importants pour la compréhension de notre travail en les découpant en trois catégories : les modèles à l'échelle intracellulaire, les modèles à l'échelle de la population de cellules T-CD8 et les modèles multi-échelles, plus complexes, qui modélisent la réponse T-CD8 à plusieurs échelles physiques et qui font interagir plusieurs modèles mono-échelles, permettant une description plus précise de la biologie mais une étude mathématique bien plus complexe.

Les modèles décrivant l'échelle intracellulaire de la réponse immunitaire T-CD8 portent sur le niveau d'expression de certaines protéines clés et de leurs interactions. Ces modèles peuvent être purement biologiques (modélisation schématique des voies de signalisations reliant ces protéines) ou mathématiques (description cinétique de l'évolution du niveau d'expression de ces protéines). Nous présentons trois exemples significatifs de modèles, le modèle biologique de Ewings et al. [47], et les modèles mathématiques de

Bidot et al. [19] et Altan-Bonnet et Germain [4].

Dans les modèles à l'échelle de la population de cellules T-CD8, nous présentons de façon détaillée les travaux fondateurs pour le travail de cette thèse (De Boer et al. [45], Antia et al. [7, 8], Terry et al. [127], Crauste et al. [37, 38]) qui modélisent la réponse immunitaire à l'échelle d'une population de cellules. Ces travaux sont des améliorations consécutives du modèle initial de De Boer et al. [45] modélisant les sous-populations de cellules T-CD8 naïves, activées et mémoires au cours d'une réponse primaire.

Concernant les modèles multi-échelles, les travaux de Friedman et al. [51, 52] sont essentiels à la compréhension de notre approche de modélisation. Ces deux travaux ne concernent pas la réponse par lymphocytes T-CD8 mais celle par lymphocytes T-CD4. Néanmoins, le formalisme utilisé (équations structurées) correspond exactement à celui employé dans le Chapitre 3 et la présentation de ce modèle est essentielle. Nous faisons aussi une brève revue de modèles multi-échelles de la réponse T-CD8 (Bernaschi and Castiglione [17], Kim et al. [77], Kirschner et al. [79]). Pour chaque modèle, nous nous attachons, durant sa description à en expliquer le formalisme, les échelles considérées, à détailler les apports du modèle et à présenter ses avantages et inconvénients. Ces commentaires serviront de base pour la justification des orientations choisies quant à la conduite de ces travaux de thèse.

1.2.1 Modèles à l'échelle intracellulaire

Travaux de Altan-Bonnet et Germain [4]

Les travaux de Altan-Bonnet et Germain [4] se concentrent sur l'activation du réseau intracellulaire lors de l'engagement du TCR par une APC. Ils mettent en avant la protéine Erk qui agit comme un amplificateur opérationnel du signal découlant de l'engagement du TCR d'une cellule T-CD8. La rapidité du déclenchement de la réponse immunitaire et son explosivité peuvent contraster avec son caractère hautement spécifique, l'emballément consécutif à une mauvaise détection pouvant engendrer par exemple une réponse auto-immune. Leur modèle mathématique met en lumière l'existence de boucles de rétroactions positives qui permettent l'explosivité de la réponse de façon découplée de la détection de l'antigène. Ainsi, la liaison du TCR avec une APC, aussi brève soit-elle active

les voies de signalisations du réseau intracellulaire de la cellule T-CD8 qui ensuite amplifie le signal, permettant à la fois l'explosivité de la réponse et la précision de la détection de l'infection.

Travaux de Ewings et al. [47]

Les travaux de Ewings et al. [47] décrivent, *via* un modèle biologique, les interactions entre les protéines pro-apoptose Bim et Bax et les protéines pro-survie Erk et Mcl-1. La protéine Bax laissée sous sa forme naturelle va induire la mort de la cellule, mais est inoffensive sous sa forme de complexe avec Mcl-1. La protéine Bim empêche cette complexification en se liant au préalable avec la protéine Mcl-1. Lors de l'activation de la cellule par contact avec une APC et engagement du TCR, la protéine Erk passe sous forme phosphorylée et empêche Bim de se lier avec Mcl-1, laissant Mcl-1 se lier avec Bax, inhibant ainsi les propriétés pro-apoptotiques de Bax. Une représentation du réseau liant ces quatre protéines dans ce modèle est donnée à la figure 1.4.

Travaux de Bidot et al. [19]

Les travaux de Bidot et al. [19] sont probablement les plus avancés pour la constitution d'un modèle mathématique décrivant les interactions entre différentes protéines clés. Leurs travaux modélisent les interactions entre le TCR, CD28, CD69, l'IL2, les récepteurs de l'IL2 (IL2R) et toutes les formes activées et complexes de ces protéines. Le modèle mathématique est un modèle à base de 22 équations différentielles ordinaires (EDO), dérivées des réactions chimiques entre les protéines considérées. Chaque équation décrit l'évolution de la concentration d'une de ces protéines en fonction de la concentration des autres *via* des termes de type lois d'action de masses (la vitesse est proportionnelle à chacune des concentrations des protéines présentes dans l'interaction), une modélisation classique en cinétique chimique. Bien que les auteurs aient pu dériver certaines valeurs de paramètres de données expérimentales, un grand nombre reste inconnu. Cependant le modèle propose un cadre de départ intéressant pour des études futures. D'autres modèles mathématiques se focalisant plus sur la sécrétion de l'IL2 ont aussi été proposés par Feinerman et al. [50], Höfer et al. [64].

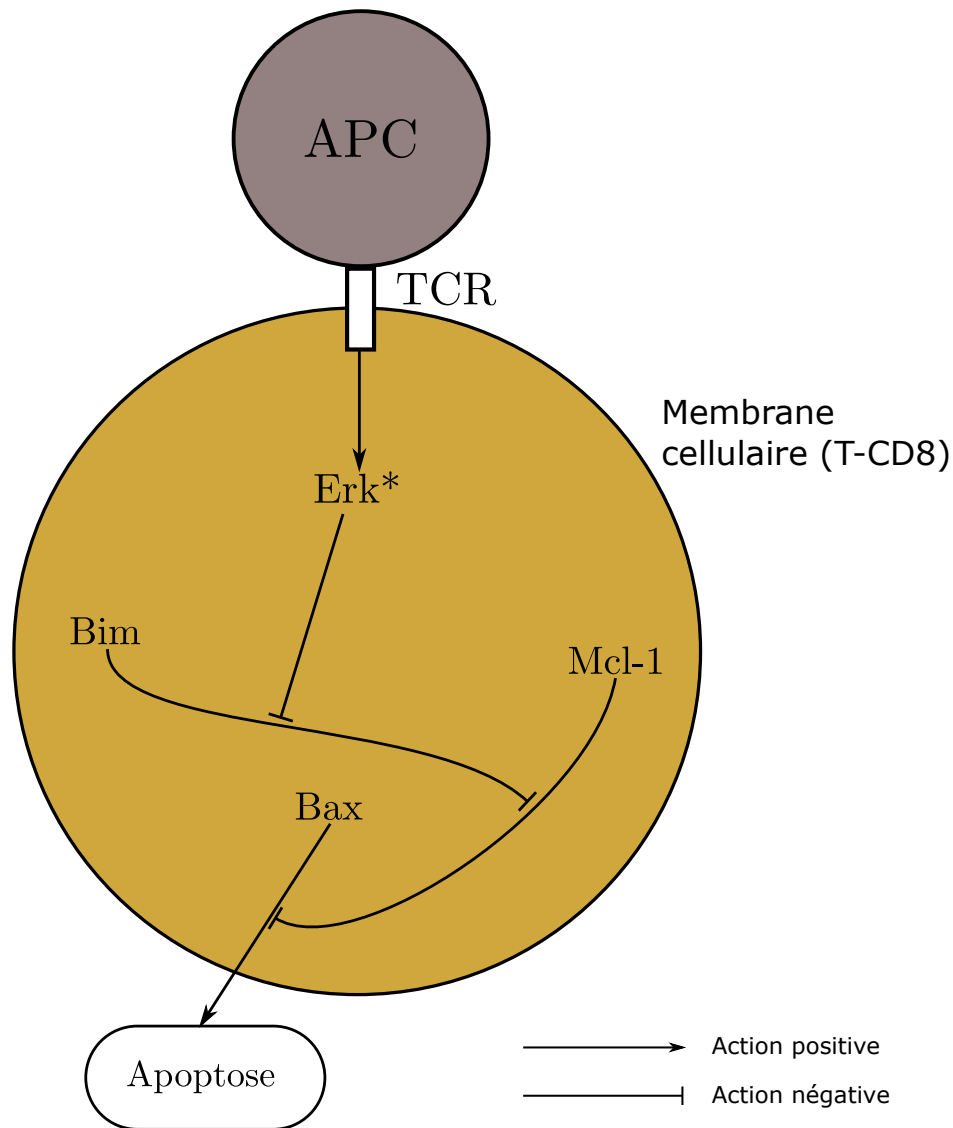


FIGURE 1.4 – **Modèle biologique de Ewings et al. [47]** Lors de l'activation de la cellule par contact avec une APC, la concentration intracellulaire en Erk* (Erk sous sa forme phosphorylée) augmente. Au travers de quatre interactions successives (trois négatives et une positive) entre Erk*, Bim, Mcl-1 et Bax, Erk* agit négativement sur l'apoptose de la cellule, permettant une amélioration du taux de survie de cette dernière.

Ces trois modèles sont de bons exemples de modèles s'intéressant au caractère intracellulaire de la réponse immunitaire et montrant l'importance de la prise en compte de l'échelle intracellulaire pour la compréhension globale de la réponse immunitaire. Nous présentons ensuite des modèles se focalisant sur l'échelle de la population de cellules.

1.2.2 Modèles à l'échelle de la population de cellules

Modèle de De Boer et al. [45]

Chronologiquement, le premier travail sur lequel repose cette thèse a été publié en 2001 (De Boer et al. [45]). Dans ce papier, les auteurs s'intéressent à la modélisation de la dynamique de la population totale de cellules T-CD8 et de trois sous-populations, naïves, activées (qui représentent en fait ce que l'on appelle aujourd'hui les cellules effectrices) et mémoires, lors d'une infection aiguë par le virus de la chorioméningite lymphocytaire (LCMV). En particulier, leur but est de reproduire avec leur modèle les propriétés qualitatives de la réponse T-CD8 observées sur les données obtenues par Murali-Krishna et al. [102]. Ce travail constitue le premier modèle mathématique confronté à des données expérimentales de réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8.

Les auteurs présentent deux modèles décrivant l'évolution d'une population de cellules T-CD8 et de ses différents phénotypes (naïves, activées, mémoires) durant la réponse immunitaire. Le premier modèle, assez simple, est détaillé à la Figure 1.5.

Le nombre de cellules activées au temps t , noté $A(t)$, et le nombre de cellules mémoires au temps t , noté $M(t)$, sont régis par le système d'équations différentielles ordinaires suivant :

$$\begin{cases} \frac{dA}{dt} = f(t)(aM + \rho A) - (1 - f(t))(r + \alpha)A, \\ \frac{dM}{dt} = r(1 - f(t))A - af(t)M - \delta_M M \end{cases}, \quad (1.1)$$

avec les conditions initiales $M(0) = 0$ et $A(0) = 0$. Dans ces équations, a représente le taux d'activation des cellules naïves et mémoires en cellules activées, ρ le taux de prolifération des cellules activées, α le taux de mort des cellules activées, r le taux de différenciation des cellules activées en cellules mémoires et δ_M le taux de mort des cellules mémoires.

La fonction f représente la présence ou non du pathogène. Le comportement des cellules dépend fortement de cette fonction qui permet de basculer du schéma de la Figure 1.5.a) (lorsque $f(t) = 1$) à celui de la Figure 1.5.b) (lorsque $f(t) = 0$). Cette fonction permet donc de passer artificiellement de la phase d'expansion à la phase de contraction, et aussi d'activer toutes les cellules naïves d'un seul coup avec la condition introduite par De Boer et al. [45], $A(T_{on}) = N = Cte$. La quantité de pathogène n'est pas directement représentée et son élimination par les cellules T-CD8 est omise. L'activation des cellules se

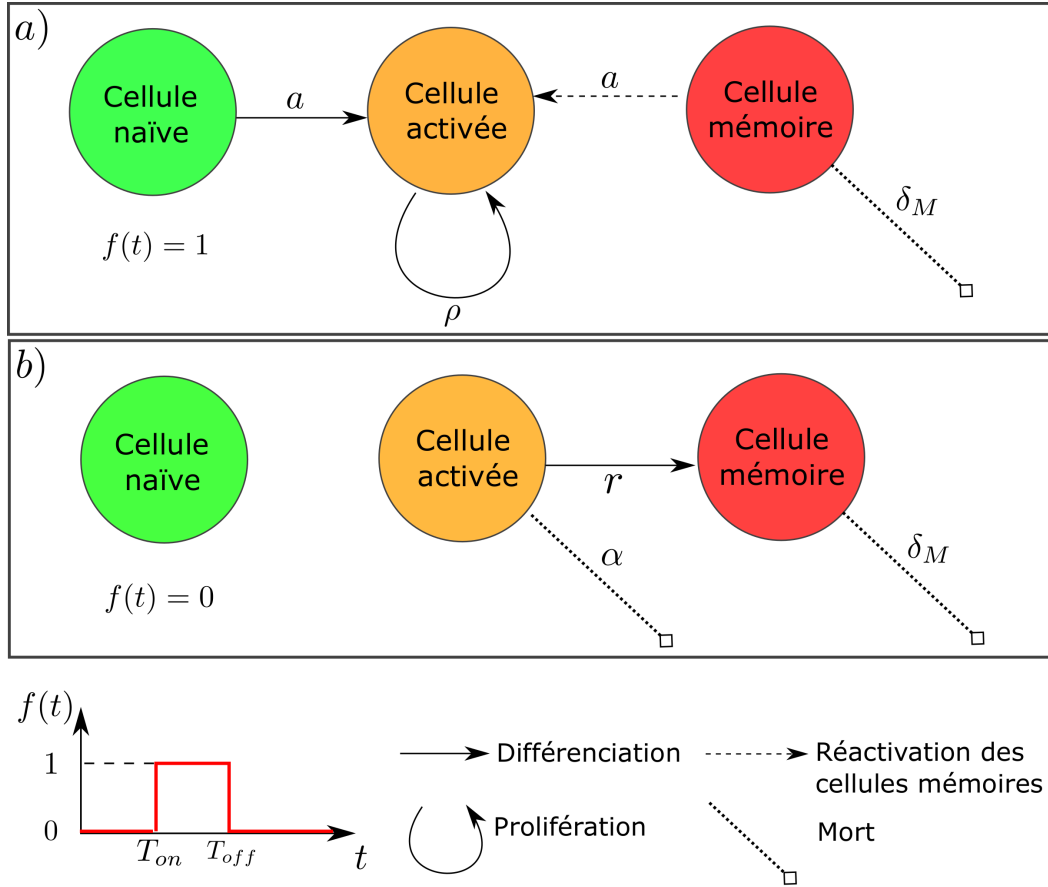


FIGURE 1.5 – **Modèle simple de De Boer et al. [45].** Le comportement des sous-populations de cellules naïves, activées et mémoires dépend de la présence ou non dans l'organisme d'un agent pathogène, représentée ici simplement par la fonction f . Initialement, il n'y a que des cellules naïves. En présence d'un agent pathogène, c'est-à-dire lorsque $f(t) = 1$ ($t \in [T_{on}; T_{off}]$), les cellules naïves deviennent activées avec un taux a et les cellules activées prolifèrent avec un taux ρ (Figure 1.5.a). Lors de la disparition du pathogène ($f(t) = 0$), les cellules activées meurent avec un taux α ou se différencient en cellules mémoires avec un taux r (Figure 1.5.b). En cas de nouvelle infection, le modèle laisse la possibilité aux cellules mémoires générées de se réactiver (taux a) pour proliférer et combattre cette infection à nouveau (Figure 1.5.a). Les cellules mémoires meurent avec un taux de mort δ_M indépendamment de la présence de pathogène.

fait indépendamment de la quantité de pathogène (tout ou rien).

Le deuxième modèle présenté dans ce travail est une évolution du premier : les auteurs ajoutent la prise en compte de la charge virale V . La fonction f est remplacée par une fonction de la charge virale : $F(V) = \frac{V}{K+V}$, prenant des valeurs continues entre 0 (pour $V = 0$) et 1 pour des valeurs de V très grandes devant K . Le paramètre K représente la sensibilité des cellules T-CD8 à la présence du pathogène. La dynamique de la charge virale n'est pas modélisée, les auteurs utilisant les données obtenues par Lau et al. [83] donnant un exemple de charge virale au cours du temps. La dynamique des cellules

naïves, activées et mémoires est décrite par le système d'EDO suivant :

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = -F(V)aN, \\ \frac{dA}{dt} = F(V)(aN + \rho A) - (1 - F(V))(r + \alpha)A, \\ \frac{dM}{dt} = r(1 - F(V))A - aF(V)M - \delta_M M. \end{cases} \quad (1.2)$$

La charge virale modifie les taux d'activation, de prolifération et de différenciation des trois populations de cellules T-CD8. Sa prise en compte permet l'observation des trois phases de la réponse immunitaire (expansion, contraction et mémoire), ainsi que la reproduction des données de Murali-Krishna et al. [102]. Dans le modèle (1.1), la prolifération des cellules activées et leur différenciation en cellules mémoires interviennent sur deux plages temporelles complètement séparées à cause du choix de la fonction f . Le formalisme de modélisation du modèle (1.2) est moins artificiel, dans la mesure où le basculement de la phase d'expansion vers la phase de contraction dépend de la charge virale, et n'est pas forcé dans la construction du modèle comme dans le modèle (1.1).

En ce qui concerne les résultats du modèle (1.2), les auteurs observent bien les trois phases successives et retrouvent un ordre de grandeur de la contraction de 5% comme indiqué par Murali-Krishna et al. [102]. Comme anticipé, la prolifération continue bien après la disparition de la charge virale. Les valeurs de paramètres qui permettent de reproduire quantitativement les données fournissent un ordre de grandeur des taux de prolifération (5 divisions par jour), de différenciation et de mort (0.5 jour^{-1}) des cellules T-CD8 lors d'une réponse immunitaire primaire. Les différences entre les données de la réponse à deux épitopes distincts, habituellement expliquées par une différence de timing au niveau de l'activation (ou "recrutement") des cellules, peuvent être reproduites en changeant légèrement certains paramètres du modèle. Enfin, l'aspect préprogrammé de la réponse est validé par le modèle : une stimulation aussi brève que 2h permet une réponse complète (jusqu'à la génération d'un répertoire mémoire), mais influe bien sur la quantité de cellules au pic de la réponse (en accord avec les résultats expérimentaux de van Stipdonk et al. [130]).

Modèle de Antia et al. [7]

Une première amélioration du modèle de De Boer et al. [45] est proposée par Antia et al. [7]. Dans ce travail, Antia et al. [7] proposent un modèle décrivant les populations de cellules T-CD8 naïves, effectrices (appelées activées par De Boer et al. [45]) et mémoires, ainsi que la dynamique d'une population de pathogène. Les dynamiques des cellules naïves et de la population de pathogène sont chacune décrites par une EDO tandis que les dynamiques des cellules effectrices et mémoires sont décrites par une densité de cellules $y(t, \tau)$, où $\tau \in \mathbb{R}_+$ est l'âge de la cellule depuis son recrutement. La différence entre les cellules effectrices et mémoires provient de leur âge : les cellules non naïves sont effectrices si leur âge τ est inférieur à une certaine valeur τ^* , et mémoires sinon. Cette densité évolue suivant une équation de transport structurée en âge (voir Perthame [105] pour une introduction à ce type d'équations et à leurs applications en modélisation mathématique en biologie) dont le taux de renouvellement F est une fonction de l'âge τ de la cellule. Les équations décrivant la dynamique de ces populations sont :

$$\frac{dP(t)}{dt} = rP(t) \left(1 - \frac{P(t)}{c} \right) - hP(t)E(t),$$

$$\frac{dN(t)}{dt} = -bN(t)P(t),$$

et

$$\frac{\partial y(t, \tau)}{\partial t} + \frac{\partial y(t, \tau)}{\partial \tau} = F(\tau)y(t, \tau), \quad \tau > 0,$$

avec la condition au bord

$$y(t, 0) = -\frac{dN(t)}{dt},$$

la condition initiale

$$y(0, \tau) = 0,$$

la quantité totale de cellules effectrices étant obtenue par

$$E(t) = \int_0^{\tau^*} y(t, \tau) d\tau,$$

et la quantité de cellules mémoires à l'instant t par

$$M(t) = \int_{\tau^*}^{+\infty} y(t, \tau) d\tau.$$

$P(t)$ et $N(t)$ représentent respectivement la quantité de pathogène et de cellules naïves à l'instant t . Une représentation de ce modèle est proposée à la Figure 1.6. La dynamique du pathogène est ici modélisée, ce qui constitue une amélioration majeure par rapport au modèle de De Boer et al. [45]. Le pathogène est attaqué par les cellules effectrices (loi d'action de masses) et prolifère suivant une loi logistique, permettant un équilibre de la quantité de pathogène en l'absence de cellules effectrices. Pour la dynamique des cellules naïves, les auteurs ne considèrent que la disparition de cellules naïves par activation *via* présentation de l'antigène par les APC (assimilées ici au pathogène). Le terme choisi pour le taux d'activation est une loi d'action de masses, le terme le plus simple, à la fois proportionnel à la quantité de pathogène et à la quantité de cellules naïves. La condition au bord représente le fait que les cellules naïves deviennent des cellules effectrices d'âge $\tau = 0$ lors de leur stimulation par une APC.

La fonction F représente la différence entre le taux de prolifération et le taux de mort de cellules effectrices/mémoires à l'âge τ . La fonction F choisie par les auteurs est positive lorsque τ est suffisamment petit, représentant la phase de prolifération, puis négative pour représenter la phase de contraction et enfin proche de 0 lorsque $\tau > \tau^*$, pour modéliser la longue durée de vie des cellules mémoires. Cette hypothèse de taux de prolifération/mort identique pour toutes les cellules T-CD8 non naïves représente l'aspect préprogrammé de la réponse : l'activation de quelques cellules et leur transition du compartiment des cellules naïves vers les cellules effectrices suffit à générer une mémoire immunitaire.

En termes de résultats, ce modèle arrive à reproduire les trois phases de la réponse, et le fait que la quantité de pathogène influe sur la quantité de cellules T-CD8 au pic de la réponse. Cette observation est d'autant plus pertinente que la dynamique du pathogène est décrite dans ce modèle et qu'elle inclut l'action des cellules effectrices lors du nettoyage de l'infection, contrairement au modèle de De Boer et al. [45]. L'implémentation du programme est moins artificielle que dans ce dernier modèle mais la transition du

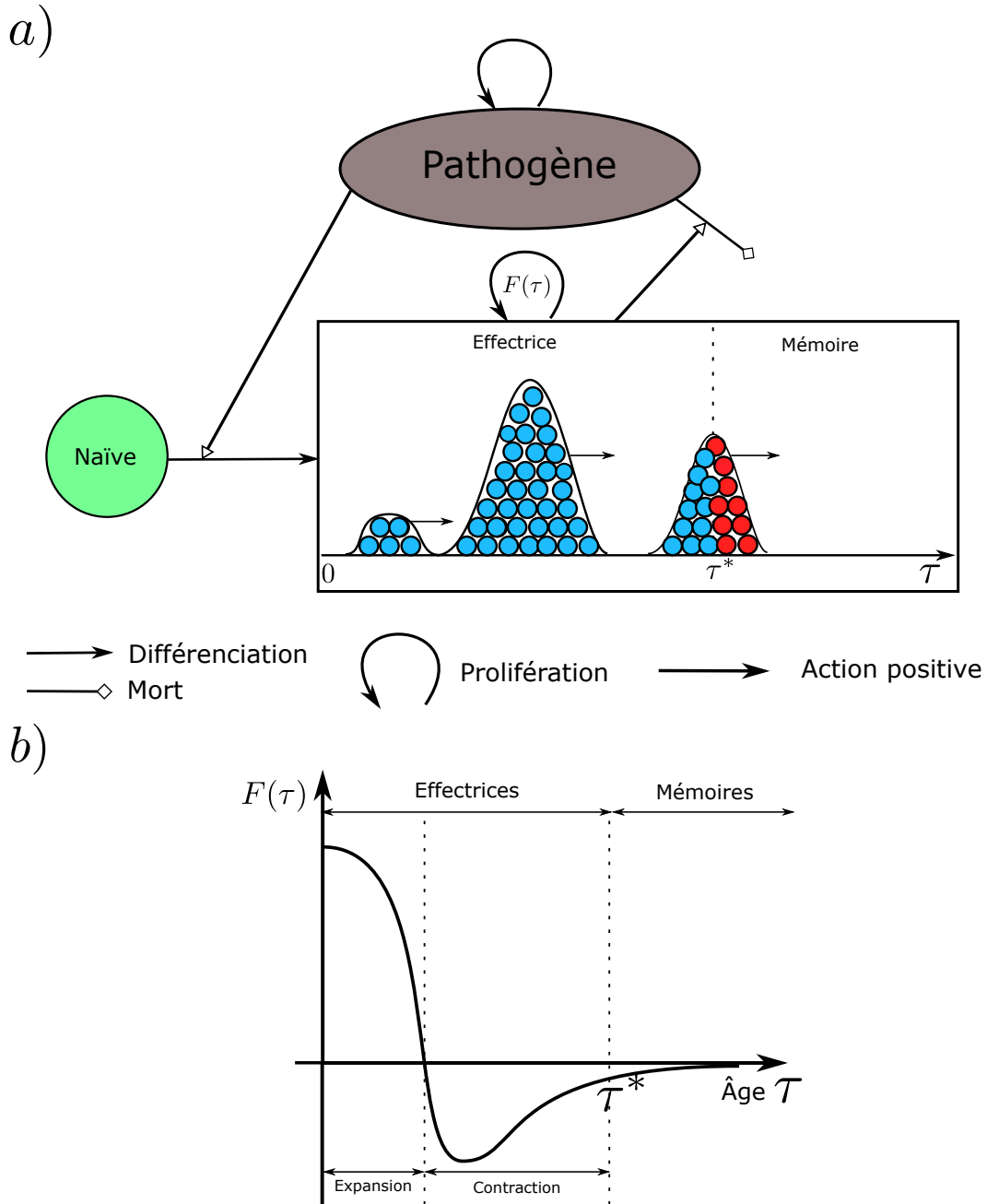


FIGURE 1.6 – **Modèle de Antia et al. [7]**. Le modèle de Antia et al. [7] représente les dynamiques des cellules T-CD8 naïves, effectrices et mémoires lors de la réponse immunitaire primaire. Les populations de cellules effectrices et mémoires, représentées par une densité de cellules, sont structurées en fonction de leur âge τ depuis leur activation par contact avec une APC (Figure 1.6.a)). Cette densité évolue en âge avec une vitesse unitaire, représentant le vieillissement des cellules effectrices et mémoires au cours du temps. Les cellules entre l'âge 0 et l'âge τ^* sont effectrices et celles après l'âge τ^* sont mémoires. Les taux de prolifération et de mort des cellules effectrices et mémoires sont regroupés et représentés par la fonction F (Figure 1.6.b)). Cette fonction induit directement le comportement global recherché des cellules T-CD8, c'est à dire une phase d'expansion, puis une phase de contraction et enfin une phase mémoire.

stade effecteur au stade mémoire se fait au même âge pour toutes les cellules mémoires.

Modèle de Terry et al. [127]

A la suite du travail de Antia et al. [7], Terry et al. [127] ont développé une amélioration du modèle dans lequel les cellules effectrices peuvent se différencier en cellules mémoires à n'importe quel âge τ . Les cellules effectrices sont représentées par une densité $e(t, \tau)$ dans laquelle les cellules mémoires ne sont plus comprises. Les équations du modèle sont :

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

$$\frac{\partial e(t, \tau)}{\partial t} + \frac{\partial e(t, \tau)}{\partial \tau} = [\rho(P(t)) - \mu_E(E(t)) - k(\tau)] e(t, \tau),$$

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

et

$$\frac{dM}{dt}(t) = \int_0^{\bar{\tau}} k(\tau) e(t, \tau) d\tau - \mu_M M(t),$$

avec les conditions aux bords

$$e(t, 0) = \delta(P(t))N(t) \quad \text{et} \quad e(t, \bar{\tau}) = 0,$$

et les conditions initiales $N(0) = N_0 \geq 0$, $P(0) = P_0 \geq 0$, $M(0) = M_0 \geq 0$ et $e(0, \tau) = e_0(\tau)$.

Les quantités $P(t)$, $N(t)$, $M(t)$ représentent respectivement les quantités de pathogène, de cellules naïves et de cellules mémoires à l'instant t . La quantité totale de cellules effectrices à l'instant t est donnée par

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

Le taux $I(t)$ représente le taux de prolifération du pathogène. Enfin, le noyau k est supposé positif, croissant et vérifiant

$$\int_0^{\bar{\tau}} k(t) dt = +\infty,$$

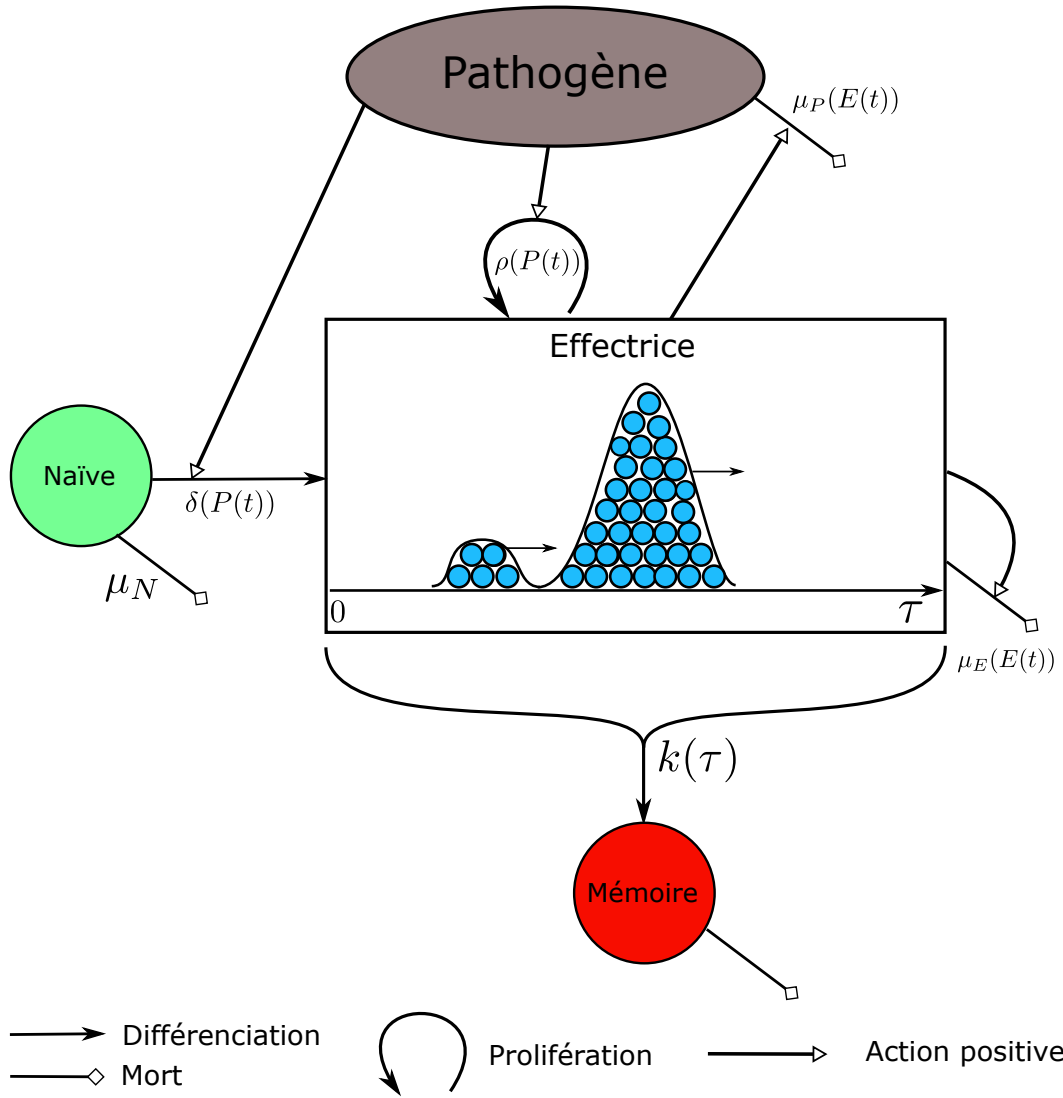


FIGURE 1.7 – **Modèle de Terry et al. [127]**. Le modèle de Terry et al. [127] représente les dynamiques des cellules T-CD8 naïves, effectrices et mémoires lors de la réponse immunitaire primaire. La population de cellules effectrices est représentée par une densité de cellules et est structurée en fonction de l'âge τ des cellules depuis leur activation par contact avec une APC. Cette densité évolue en âge avec une vitesse unitaire, représentant le vieillissement des cellules effectrices au cours du temps. Contrairement au modèle de Antia et al. [7], les cellules effectrices se différencient en cellules mémoires à chaque âge τ avec un taux $k(\tau)$. Le taux de mort du pathogène et des cellules effectrices dépend du nombre de cellules effectrices et la quantité de pathogène influe sur la prolifération des cellules effectrices ainsi que sur la différenciation des naïves en effectrices.

afin qu'il n'y ait pas de cellules effectrices atteignant l'âge $\bar{\tau}$.

Une représentation de ce modèle est proposée à la Figure 1.7. Ce modèle de réponse primaire est non linéaire, et donc plus complexe mathématiquement que les modèles de De Boer et al. [45] et Antia et al. [7], notamment à cause de boucles de rétroaction entre le pathogène et la population de cellules effectrices avec des taux de prolifération des cellules effectrices et de mort du pathogène non linéaires. De plus, les auteurs se sont

affranchis du côté artificiel de ces deux modèles : les dynamiques des cellules naïves et du pathogène sont totalement décrites et les taux de prolifération, de différenciation et de mort des cellules effectrices dépendent des quantités de pathogène et de cellules effectrices au lieu de dépendre d'un artifice de modélisation (activation forcée entre T_{on} et T_{off} et charge virale imposée pour le modèle (1.1) taux de prolifération et de mort imposés au travers d'une fonction F dans le modèle (1.2)).

Les auteurs réduisent ensuite l'équation aux dérivées partielles régulant la densité de cellules effectrices en une équation à retard suivant la méthode des caractéristiques. Avec une analyse mathématique de ce système à retard, les auteurs montrent que sous certaines conditions sur les paramètres du modèle, il existe un équilibre asymptotiquement stable qui correspond à une population composée uniquement de cellules naïves ce qui signifie l'élimination du pathogène à terme. Si l'absence de cellules effectrices à l'équilibre était attendu, l'absence de cellules mémoires est elle moins intuitive. L'observation du comportement asymptotique du modèle ne prend pas en compte la cinétique des populations de cellules T-CD8 modélisées. Les cellules effectrices ont une courte durée de vie, tandis que les cellules mémoires ont un taux de mort certes très faible mais non nul et leur population n'est donc plus présente asymptotiquement.

Concernant la confrontation du modèle aux données, le modèle reproduit très bien les données présentées par Murali-Krishna et al. [102] concernant la population totale de cellules T-CD8, mais les résultats concernant chaque sous population de cellules ne sont pas qualitativement satisfaisants. Par exemple, la population de cellules mémoires est générée extrêmement rapidement avant même le pic de la réponse. De même, la population de cellules effectrices un mois après l'infection est du même ordre de grandeur que la population de cellules mémoires alors que ces cellules devraient avoir disparu.

Modèle de Crauste et al. [37]

En utilisant une version simplifiée du modèle de Terry et al. [127], Crauste et al. [37] ont reproduit des données biologiques de réponse immunitaire primaire obtenues sur trois séries de souris auxquelles on avait injecté deux virus (influenza, vaccinia) ou une bactérie (*Listeria monocytogenes*). Les données obtenues correspondent au nombre total de cellules T-CD8 à différents jours entre jour 3 et jour 48 post-infection pour chacun

des pathogènes considérés. Chaque point de mesure au jour i correspond à plusieurs souris et comporte donc une moyenne $\overline{x}_i$ et un écart type σ_i . Le modèle utilisé est un modèle linéaire à base d'EDO décrivant les interactions entre les populations de cellules naïves (N), de cellules effectrices (E), de cellules mémoires (M) et du pathogène (P). Les équations du modèle sont :

$$\begin{aligned}\frac{dN}{dt} &= -\mu_N N - \delta_{NE} P N, \\ \frac{dE}{dt} &= \delta_{NE} P N + [\rho_E P - \mu_E E - \delta_{EM}] E, \\ \frac{dM}{dt} &= -\mu_M M + \delta_{EM} E, \\ \frac{dP}{dt} &= [\rho P - \mu_P E - \mu_P^0] P.\end{aligned}\tag{1.3}$$

Les termes μ représentent les taux de mort, les termes ρ les taux de prolifération et les termes δ les taux de différenciation.

Le but des travaux de Crauste et al. [37] est d'identifier, parmi plusieurs jeux de paramètres, ceux qui permettent de reproduire les données et ceux qui ne le permettent pas, et parmi ceux qui conviennent, de trouver les valeurs de paramètres qui dépendent du pathogène considéré et ceux qui n'en dépendent pas (plutôt caractéristiques de la réponse immunitaire en général). Pour ce faire, les auteurs considèrent pour chaque paramètre un ensemble de cinq valeurs présentant des ordres de grandeur différents, étudient la réponse du modèle à chacune des combinaisons de ces valeurs et sélectionnent les paramètres reproduisant le mieux les données. Le critère à minimiser pour trouver le meilleur jeu de paramètres est

$$RSS(x) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\overline{x}_i - x(t_i)}{\sigma_i} \right)^2},\tag{1.4}$$

où $\overline{x}_i$ et σ_i représentent respectivement la moyenne et l'écart type des données observées au jour i , tandis que $x(t_i) = \log_{10}(N(t_i) + E(t_i) + M(t_i))$ représente la prédiction du modèle pour ces données au jour i (en échelle log pour correspondre à la distribution des paramètres, observée log normale). La pondération des données par leur écart type permet de favoriser les jeux de paramètres reproduisant bien les données aux jours pour lesquels l'écart type est faible, c'est à dire les valeurs moyennes les plus représentatives.

Le modèle reproduit bien les données observées lors de la réponse primaire à chacun

des pathogènes considérés. Les meilleurs résultats obtenus par ce modèle sont en accord avec les données observées précédemment dans la littérature. Les paramètres dépendant le plus du pathogène considéré sont le taux de mort naturelle du pathogène (μ_p^0), le taux de mort des cellules mémoires (μ_M), indiquant différentes durées d'immunité, et le taux de différenciation des cellules naïves en cellules effectrices (δ_{NE}), indiquant des temps de réaction de l'organisme différents en fonction du pathogène. Le fait que ces trois paramètres soient ceux qui dépendent le plus du pathogène est un résultat logique.

Travaux de Crauste et al. [38]

Les derniers travaux de Crauste et al. [38] visent à reproduire la réponse immunitaire primaire, à l'aide d'une version améliorée du modèle linéaire (1.3) présenté dans leur travaux précédents [37], non seulement pour le nombre total de cellules T-CD8 au cours du temps mais aussi pour les sous population de cellules.

En utilisant la distinction des sous-populations à l'aide des marqueurs CD44, Ki67 et Bcl2 (déjà introduits dans la section 1.1.2), les auteurs mesurent le nombre de cellules de chaque sous-population sur plusieurs souris auxquelles ils ont injecté une souche du virus vaccinia. Les données biologiques récoltées mettent en évidence l'existence de deux populations de cellules effectrices, les early effectrices, qui prolifèrent et combattent l'infection, et les late effectrices qui ne prolifèrent plus mais continuent à combattre l'infection.

Le but de ces travaux est d'examiner le schéma de différenciation reliant les sous-populations de cellules T-CD8 suivantes : naïves (N), early effectrices (E), late effectrices (L) et mémoires (M). Pour cela, sont proposés plusieurs schémas différents, parmi lesquels des schémas linéaires et des schémas à branches, couvrant toutes les possibilités d'ordre de différenciation. Pour chacun de ces schémas, un modèle mathématique à base d'EDO linéaires (similaire à (1.3)) décrit les dynamiques de ces quatre types de cellules T-CD8 ainsi que du pathogène.

En utilisant une approche similaire à leur travaux antérieurs [37], les auteurs cherchent, pour chacun des schémas de différenciation envisagés, le jeu de paramètres (entre 9 et 14 paramètres) permettant la reproduction la plus fidèle de leur données biologiques avec la prise en compte de chaque sous-population. Puis, les auteurs sélectionnent les sché-

mas de différenciation permettant le mieux de reproduire les dynamiques de chacune des sous-populations de cellules, utilisant le même critère (voir (1.4)) pour chacune des sous-populations. Afin de pénaliser les modèles ayant le plus de paramètres, qui permettent une reproduction plus facile des données car possédant un plus grand nombre de degrés de liberté, les auteurs utilisent aussi le critère d'information d'Akaike corrigé (Hurvich and Tsai [67]).

Les modèles reproduisant le mieux leur données sont les modèles décrivant une différenciation successive des naïves en early effectrices puis en late effectrices (N-E-L) avec éventuellement des branches pour la différenciation de ces trois sous-populations en cellules mémoires. Cependant, parmi les paramètres estimés de ces modèles possédant des branchements, les taux de différenciation des naïves et des early effectrices en mémoires sont faibles comparés au taux de différenciation des late effectrices en mémoires. Le modèle optimal est le modèle linéaire (N-E-L-M).

Il est intéressant de noter que le modèle linéaire ne considérant qu'une seule sous-population de cellules effectrices est moins performant pour reproduire la dynamique des cellules effectrices que le modèle N-E-L-M, justifiant la prise en compte dans la modélisation des cellules early et late effectrices. Enfin, les modèles permettant la différenciation des naïves en mémoires, puis en effectrices, reproduisent mal les données biologiques de Crauste et al. [38], entrant en contradiction avec les résultats de Buchholz et al. [25]. Contrairement au modèle de De Boer et al. [45], mais comme ceux de Antia et al. [7], Terry et al. [127], Crauste et al. [37], ce modèle permet uniquement la description de la réponse primaire et non des réponses secondaires.

Le modèle mathématique correspondant au schéma de différenciation N-E-L-M est donné par :

$$\begin{aligned}
 \frac{dN}{dt} &= -\mu_N N - \delta_{NE} P N, \\
 \frac{dE}{dt} &= \delta_{NE} P N + [\rho_E P - \mu_{EE} E - \mu_{EL} L - \delta_{EL}] E, \\
 \frac{dL}{dt} &= \delta_{EL} E - [\mu_{LL} L + \mu_{LE} E + \mu_L + \delta_{LM}] L, \\
 \frac{dM}{dt} &= -\mu_M M + \delta_{LM} L, \\
 \frac{dP}{dt} &= [\rho_P P - \mu_{PE} E - \mu_{PL} L - \mu_P^0] P.
 \end{aligned} \tag{1.5}$$

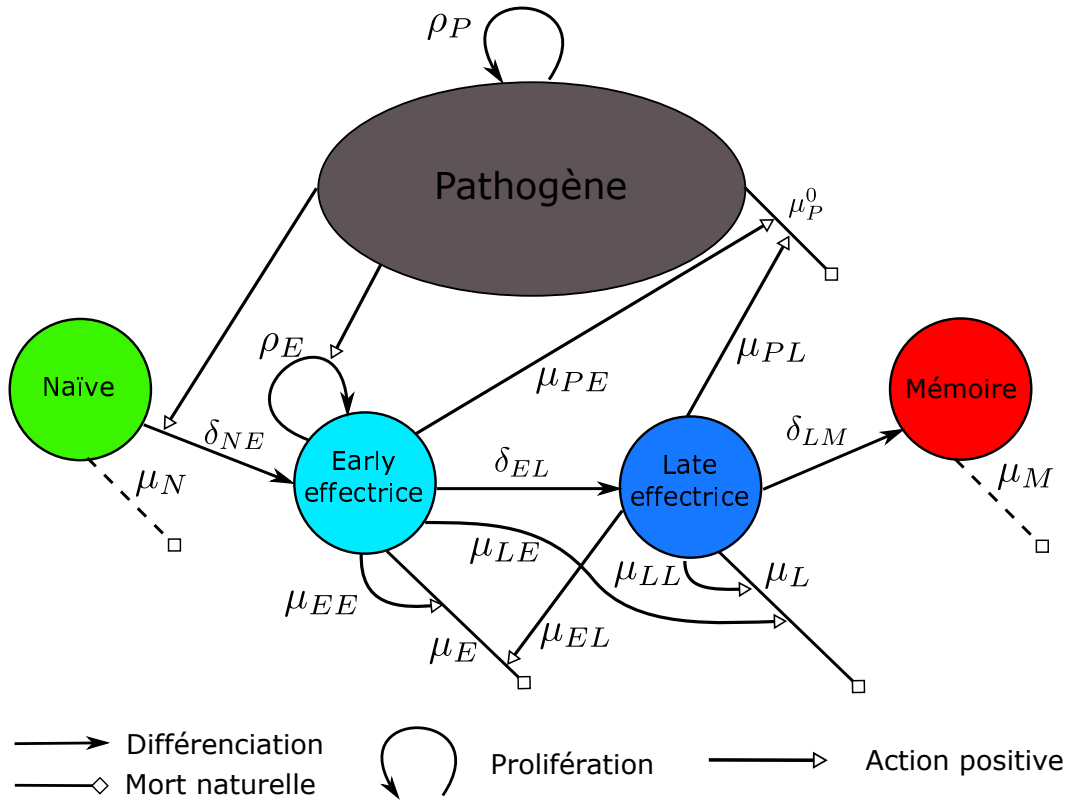


FIGURE 1.8 – **Schéma de différenciation du modèle (1.5) sélectionné par Crauste et al. [38].** Le schéma de différenciation est linéaire et suit l'ordre N-E-L-M. Ce modèle fait la distinction entre les populations de cellules early effectrices, qui prolifèrent, et late effectrices qui ne prolifèrent pas. Les cellules early et late effectrices s'attaquent au pathogène et aux cellules effectrices. Les cellules naïves et mémoires présentent des taux de mort naturelle faibles par rapport à ceux des autres cellules (représenté par des tirets).

Les paramètres μ représentent des taux de mort, les paramètres δ des taux de différenciation et les paramètres ρ des paramètres de prolifération. Les différentes sous-populations, leurs interactions et les paramètres associés sont représentés sur la Figure 1.8.

Aucun des modèles présentés dans l'état de l'art pour le moment ne décrit à la fois les échelles intracellulaire et de la population de cellules, ni l'influence des cellules T-CD8 sur leur environnement extérieur (sécrétion de l'IL2), ni le fait que les interactions entre les cellules dépendent de leur position dans l'espace. Pour trouver des modèles explorant ces pistes de modélisation, il faut se tourner vers les modèles multi-échelles.

1.2.3 Modèles multi-échelles

Les modèles se concentrant sur une seule échelle physique ne suffisent pas toujours à donner le niveau de détail suffisant à la compréhension de certains phénomènes biologiques. Concernant la réponse immunitaire, les modèles présentés précédemment ne se concentrent que sur une seule échelle physique.

Les modèles multi-échelles permettent de décrire un phénomène biologique sur différentes échelles spatiales ou temporelles. Plus complexes que des modèles classiques, ces modèles permettent de mettre en évidence des comportements inhérents à la dimension multi-échelle du phénomène biologique, et pour lesquels il est difficile d'anticiper les conséquences de chaque processus sur l'ensemble du phénomène (on parle de systèmes complexes). Ce type de modèle offre plus de possibilités concernant les formalismes de modélisation employés, pouvant ainsi donner lieu à des modèles très différents du même phénomène. Bernard [16] décrit quelques-uns des formalismes les plus courants dans son article de revue : à base d'EDO, à base d'agents (MBA), à base d'équations aux dérivées partielles (EDP), à base d'équations différentielles à retard (EDR), à base d'équations différentielles stochastiques...

Concernant la réponse immunitaire, de nombreuses revues permettent de s'apercevoir de la diversité des modèles existants. Kim et al. [76] présentent une liste assez exhaustive de modèles de la réponse immunitaire utilisant les formalismes présentés par Bernard [16], et indiquent que deux types de modélisation différents du même phénomène peuvent conduire à des résultats similaires. Thakar et al. [128] présentent aussi plusieurs modèles continus ou hybrides, modélisant différents aspects de la réponse immunitaire (déplacement de cellules, voies de signalisations intracellulaires, dynamique du pathogène, modèle infectieux à l'échelle de la population humaine (type SIR)), chacun avec un formalisme différent et précisent que le choix du formalisme est intimement lié aux aspects du phénomène à modéliser et aux données qualitatives ou quantitatives observées biologiquement. Enfin, Mirsky et al. [98] présentent plusieurs modèles, la plupart à base d'agents, qui modélisent la réponse immunitaire dans les ganglions lymphatiques, illustrant ainsi qu'une modélisation partielle de la réponse immunitaire peut donner naissance à de nombreux modèles.

Parmi les travaux permettant d'illustrer les apports de la prise en compte du carac-

tère multi-échelles de la réponse immunitaire, Murillo et al. [103] décrivent la réponse immunitaire à l'intérieur d'un organisme (à base d'EDO), à l'échelle d'une population d'individus (modèles SIR à base d'EDO), à l'échelle d'un pays (modèles computationnels épidémiques de propagation de la maladie) et enfin à l'échelle de la planète avec la propagation entre les différents pays. La combinaison de tous ces modèles permettrait la prise en compte complète des phénomènes de la réponse immunitaire mais un tel modèle n'a pas encore été développé. Les travaux de Mei et al. [95] s'intéressent plus particulièrement à la modélisation de quatre aspects de la réponse immunitaire : l'échelle intracellulaire (EDO), l'échelle d'une cellule (MBA), l'échelle de la population de cellules (MBA) et l'environnement extérieur (EDP), avec une prise en compte de la position spatiale des cellules, ce qui permet une bonne description de leurs interactions physiques et des effets croisés entre les phénomènes à l'échelle intracellulaire et ceux à l'échelle de la population de cellules. Le modèle prend en compte un grand nombre de cellules jouant un rôle dans l'immunité adaptative (lymphocytes B, T-CD4 et T-CD8, macrophages...) et ne se restreint pas à la réponse T-CD8. Un modèle utilisant un formalisme similaire mais se concentrant sur les lymphocytes T-CD8 est présenté au Chapitre 2. Enfin, les travaux de Pals-son et al. [104] présentent un framework permettant d'intégrer plusieurs sous modèles (mono échelles). En particulier, le modèle présenté par les auteurs permet la description de différents compartiments physiques dans lesquels les cellules du système immunitaire circulent et jouent un rôle différent (ganglion lymphatique, circulation dans le sang, organe infecté...). La prise en compte des lieux d'actions des cellules dans l'organisme est un aspect de modélisation qui n'a pas encore été abordé dans les modèles présentés dans la Section 1.2, mais la rencontre entre les APC et les cellules T-CD8 ne se produit pas au même endroit que l'éradication de l'infection.

Deux des formalismes décrits dans ces revues nous intéressent particulièrement. Le premier est la modélisation à base d'agents (MBA) (voir Castiglione [29] pour une introduction). Ce type de modèles se décline souvent sous une forme dite hybride (discret-continu) qui allie un modèle discret (par exemple pour représenter chaque cellule) avec un modèle continu (par exemple pour représenter l'évolution du contenu intracellulaire à chaque cellule). Ces modèles sont computationnels et donnent plus de liberté de modélisation que les formalismes mathématiques : tout ce qu'il est possible de décrire à base

de langage informatique est techniquement modélisable. Stéphanou et Volpert [122] décrivent trois types de modèles hybrides présentés par ordre croissant de complexité : ceux composés de modèles découplés, ceux composés de modèles en interactions (monolatérales ou bilatérales) et ceux composés de modèles imbriqués. Toute une série de modèles multi-échelles de la réponse immunitaire à base d'agents est décrite dans la revue de Cappuccio et al. [27] mais les modèles en question correspondent plus à des frameworks adaptatifs qu'à des modèles spécifiques faisant des choix d'hypothèses de modélisation. Il est donc difficile d'exploiter les résultats de ces modèles pour en tirer des conclusions.

Le second formalisme correspond à la modélisation à l'aide d'équations structurées, un cas particulier d'EDP. Largement utilisées pour la modélisation en biologie (voir Perthame [105] pour une large introduction), ces équations modélisent une population (de cellules, d'individus...) suivant n traits (taille, âge, maturité...) x_i , $i = 1, \dots, n$. La population est décrite mathématiquement par une densité, $\rho(t, x)$, dépendant du temps et des traits de structuration considérés. Cette densité suit une équation de transport dans l'espace des traits, dont les vitesses de déplacement sont les vitesses respectives v_i d'évolution des traits x_i chez les individus de la population. La forme générale de ce type d'équation est

$$\partial_t \rho(t, x) + \sum_{i=1}^n \partial_{x_i} (v_i \rho(t, x)) = F \rho(t, x) + f,$$

où $x = (x_1, \dots, x_n) \in \mathbb{R}^n$ et F représente les taux d'évolution de la population et f une éventuelle source d'individus. Ces deux fonctions peuvent dépendre des x_i , du temps t et de ressources extérieures.

Les travaux multi-échelles purement axés sur la réponse par des lymphocytes T-CD8 sont rares. Nous présentons ci dessous les travaux de Friedman et al. [51, 52] qui modélisent la réponse immunitaire des lymphocytes T-CD4 à l'aide d'une équation structurée et dont le formalisme correspond parfaitement à celui du modèle présenté dans le Chapitre 3. Lorenzi et al. [88] utilisent un modèle du même type, en ajoutant un terme de diffusion dans l'EDP pour introduire une composante de mouvement aléatoire dans le déplacement des cellules au sein de l'espace de maturité, décrivant ainsi la variabilité de dynamique intracellulaire au sein de la population de cellules. Concernant les modèles computationnels, nous présentons rapidement les travaux de Kirschner et al. [79], Berna-

schi et Castiglione [17] et Kim et al. [77], qui fournissent un panel assez représentatif des possibilités offertes par ce type de modèles concernant la réponse immunitaire.

Travaux de Friedman et al. [51, 52]

Dans les travaux de Friedman et al. [51], les auteurs modélisent l'évolution d'une population de cellules T-CD4 décrite par une densité $\rho(t, x_1, x_2)$ dépendant de la concentration intracellulaire en T-bet (x_1) et en GATA-3 (x_2). Les cellules T-CD4 se différencient au cours de la réponse en deux types nommés Th1 et Th2 et correspondant respectivement à une haute concentration en Tbet et une haute concentration en GATA-3. A l'échelle intracellulaire, l'évolution des concentrations x_1 et x_2 est donnée par le système d'EDO non autonome

$$\frac{dx_i}{dt} = f_i(t, x_1, x_2, \rho), \quad i = 1, 2, \quad (1.6)$$

et la densité ρ , représentant la population de cellules T-CD4, évolue suivant l'équation de transport

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial f_1 \rho}{\partial x_1} + \frac{\partial f_2 \rho}{\partial x_2} = g\rho. \quad (1.7)$$

La fonction g représente la différence entre le taux de croissance et le taux de mort, qui dépendent, entre autres, des concentrations intracellulaires en T-bet et GATA-3, x_1 et x_2 . Le choix des fonctions f_1 et f_2 est basé sur des considérations générales et non sur des descriptions issues de la biologie : les fonctions décrivant l'évolution de T-bet et GATA-3 possèdent chacune un terme de dégradation naturelle, un terme de synthèse, un terme d'auto activation (fonction de Hill pour modéliser les cascades de signalisations), un terme d'activation par d'autres facteurs (incluant une influence de ρ), et un terme d'inter-inhibition.

Ainsi, la dynamique intracellulaire régit l'évolution de la population de cellules *via* les vitesses de l'équation de transport et le taux g , et la population de cellules influe en retour sur l'évolution des quantités intracellulaires en T-bet et GATA-3. Les deux échelles sont couplées de façon bilatérale. Une représentation du modèle de Friedman et al. [51] est donnée à la Figure 1.9.

Les auteurs montrent l'existence et l'unicité de solutions régulières du système (1.6) – (1.7). De plus, ils prouvent que la densité ρ tend vers une somme de masses de Dirac dont la position dans le plan (x_1, x_2) correspond à des équilibres du système (1.6). Ce ré-

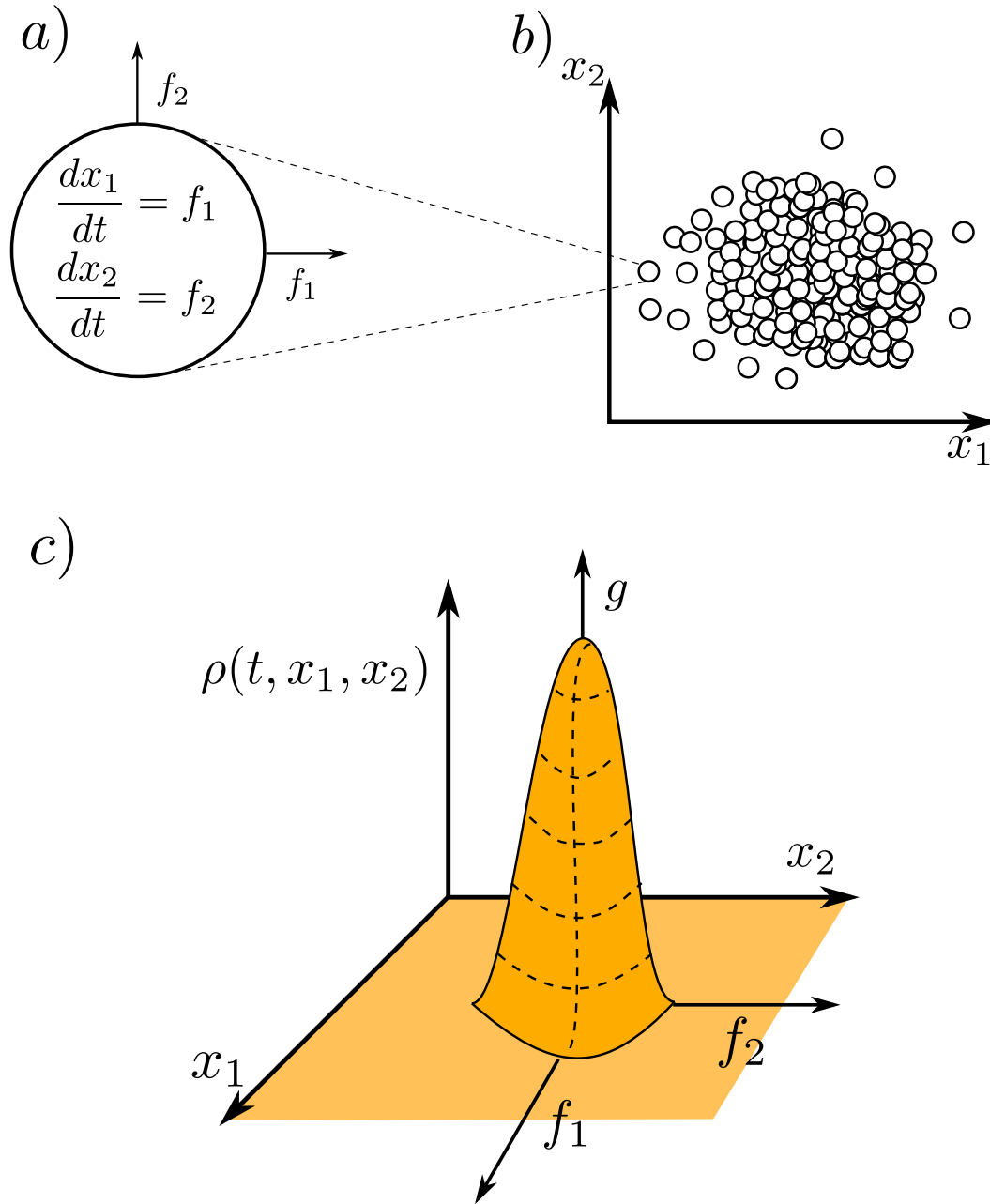


FIGURE 1.9 – **Modèle de Friedman et al. [51]**. La dynamique intracellulaire de chaque cellule est donnée par le système (1.6) (Figure 1.9 a)). Chaque cellule est positionnée dans le plan de maturités (x_1, x_2) en fonction de son contenu intracellulaire (Figure 1.9 b)). Elles se déplacent dans ce plan en suivant les vitesses f_1 (suivant x_1) et f_2 (suivant x_2). La population de cellules est décrite par une densité continue ρ (1.9 c)) qui correspond à une description continue du grand nombre de cellules observé à la Figure 1.9 b)). Cette densité ρ se déplace dans le plan de maturités suivant les vitesses f_1 et f_2 . L'évolution du nombre de cellules à une quantité intracellulaire fixée est donnée par la fonction g , qui influe donc sur la hauteur de cette densité.

sultat est très intéressant biologiquement puisqu'il décrit le fait que les cellules T-CD4 se différencient, à terme, en plusieurs sous-populations différentes correspondant à des contenus intracellulaires distincts.

Dans les travaux de Friedman et al. [52], les auteurs proposent une évolution du mo-

dèle de Friedman et al. [51], prenant en compte, en plus des concentration intracellulaires de T-bet (x_1) et GATA-3 (x_2), les facteurs de transcription d'ARN respectifs de ces protéines, y_1 et y_2 . Si les variables de structures de la densité de cellules ρ restent x_1 et x_2 , le système d'EDO non linéaire décrivant la cellule à l'échelle intracellulaire est plus complexe.

De façon similaire à leur travaux antérieurs [51], les auteurs montrent l'existence et l'unicité de solutions de leur modèle, et étudient le comportement asymptotique de la population de cellules. Selon les valeurs de paramètres choisies, la population de cellules se concentre autour de une à quatre masses de Dirac correspondant à des sous-populations de cellules présentant des phénotypes différents.

Travaux de Kirschner et al. [79]

Kirschner et al. [79] présentent un modèle multi-échelles de la réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8 et T-CD4. Ce modèle combine la description au niveau moléculaire de la présentation de l'antigène (à base d'EDO), la description à l'échelle cellulaire et des tissus à l'aide d'un modèle à base d'agents, et la circulation de ces agents dans différents compartiments (poumons, sang, lymph) à l'aide d'algorithmes informatiques. Chaque échelle possède un formalisme différent adapté à la description des phénomènes concernés.

Grâce au formalisme à base d'agents pour la représentation de la population de cellules, ce modèle permet la prise en compte de phénomènes stochastiques, comme par exemple la présentation de l'antigène par une APC à une cellule T voisine. La prise en compte de la position spatiale de chaque cellule indique avec quelles cellules elle peut interagir par contact, ce qui n'est pas le cas avec une description à base d'EDO, plutôt pertinente pour décrire une large population de cellules ayant un comportement homogène.

Enfin, les auteurs soulignent un écueil des modèles multi-échelles : malgré les progrès de mesures de ces dernières années, il est difficile d'obtenir un jeu de données biologiques couvrant chacune des échelles. Si la création de ce type de modèles permet une description plus fidèle de la réponse immunitaire, la confrontation aux données des modèles en question est plus délicate. Le choix des paramètres du modèle par calibration est

donc difficile, et l'exploitation de ce type de modèle se limite souvent à une reproduction qualitative des données à l'échelle de la population de cellules.

Travaux de Bernaschi et Castiglione [17]

Dans leurs travaux, Bernaschi et Castiglione [17] construisent un modèle multi-échelles à base d'agents décrivant la dynamique d'entités cellulaires (lymphocytes T-CD4, T-CD8, B, APC...) et moléculaires (antigènes, anticorps...), ainsi que leurs interactions extra-cellulaires (liaison APC / cellule T par exemple) et intracellulaires (liaison antigène / CMH par exemple). Le caractère purement computationnel du modèle permet la description d'une grande diversité d'éléments et d'interactions et le modèle décrit à la fois la réponse immunitaire adaptative et la réponse immunitaire innée.

Ce modèle permet la reproduction qualitative de la réponse immunitaire primaire et des réponses secondaires. Les auteurs insistent sur l'optimisation du code nécessaire pour la simulation du modèle, à la fois pour réduire le temps de simulation, mais aussi l'espace mémoire utilisé. Les modèles à base d'agents ont ce défaut d'être très coûteux en temps de calcul et en espace de stockage, défaut qui est la contrepartie à une description très exhaustive des phénomènes en jeu. Grâce à ces optimisations, le modèle de Bernaschi et Castiglione [17] permet la description de la réponse immunitaire à l'aide d'un très grand nombre de cellules (de l'ordre du million). Plusieurs améliorations ont depuis été proposées, permettant une description plus précise de la réponse immunitaire et des optimisations de code (voir Baldazzi et al. [12]).

Outre les aspects liés au côté technique des simulations, ce modèle présente aussi le défaut de mélanger beaucoup d'aspects de la réponse immunitaire. Dès lors, il est difficile d'exploiter le modèle pour tester telle ou telle hypothèse et d'en isoler les conséquences afin d'en tirer des conclusions biologiques.

Travaux de Kim et al. [77]

Dans leurs travaux, Kim et al. [77] proposent une description mathématique, purement à base d'EDO et d'équations différentielles à retard, de la réponse immunitaire par les lymphocytes T-CD8 et T-CD4. Le modèle comporte deux compartiments, les ganglions lymphatiques et le site de l'infection, et décrit aussi la maturation des APC.

Le modèle permet aussi la reproduction quantitative de la phase d'expansion dans la lymphe, et de la phase d'élimination dans les tissus observées biologiquement pendant la réponse immunitaire. Il permet l'élimination d'une infection par un pathogène qui prolifère, et la réponse immunitaire décrite distingue les cellules du soi, qu'elle laisse intactes, et celles du non soi, qu'elle élimine.

L'avantage de ce modèle est la description spatiale de deux compartiments et des flux de cellules transitant de l'un à l'autre. Cette distinction spatiale permet la description de comportements différents en fonction du lieu considéré. Cependant, comme tous les modèles déterministes à base d'équations différentielles ordinaires ou à retard, ce modèle décrit un comportement global pour les populations de cellules considérées, et chaque cellule se comporte donc de la même façon.

Les modèles multi-échelles présentés dans l'état de l'art permettent une description plus poussée de la réponse immunitaire, avec par exemple la prise en compte de la position spatiale des cellules dans la description de leurs interactions, de phénomènes faisant interagir plusieurs échelles physiques (sécrétion de cytokines par exemple) ou encore de différents compartiments physiques. Ce choix de modélisation a cependant un coût : la complexification du modèle peut amener des difficultés au niveau du choix ou de l'estimation des paramètres, ou de l'identification des liens de cause à effets entre les différents phénomènes. Dans le cas des modèles à base d'agents, qui permettent une description des individualités au sein de la population de cellules contrairement aux EDO, le coût en temps de calcul est souvent très élevé et peut limiter l'étendue des simulations du modèle, le rendant difficilement exploitable. De plus, aucun des modèles multi-échelles présentés ne se concentre uniquement sur la réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8, mais ces travaux constituent les travaux les plus proches du travail présenté dans ce manuscrit.

Dans la section suivante, nous présentons brièvement notre travail et son positionnement par rapport aux modèles introduits dans cette section.

1.3 Présentation du travail de thèse

Nous souhaitons dans ce manuscrit proposer des modèles multi-échelles de la réponse immunitaire, décrivant la réponse immunitaire primaire et si possible les réponses immunitaires secondaires. De tels outils seront précieux pour comprendre le processus de générations de cellules mémoires spécifiques qui permettent à l'organisme de réagir plus rapidement et plus efficacement à une infection par un pathogène déjà rencontré. Une des potentielles applications est l'optimisation de stratégies de vaccination contre une infection donnée *via* l'utilisation d'un modèle mathématique avant de lancer des essais cliniques.

Les aspects de modélisation et d'étude qui nous intéressent dans ce phénomène biologique se répartissent sur plusieurs échelles physiques :

- A l'échelle intracellulaire : la description d'un réseau de protéines qui jouent un rôle prépondérant lors de la réponse immunitaire adaptative et de l'évolution de la concentration de ces protéines au cours du temps.
- A l'échelle d'une seule cellule : la description de l'activation de la cellule par contact avec une APC et l'impact de la dynamique intracellulaire sur le destin de la cellule (prolifération, différenciation, mort).
- A l'échelle de la population de cellules : la description de la dynamique de la population des cellules T-CD8 dans son ensemble (reproduction des phases d'expansion et de contraction, génération de cellules mémoires) pour les réponses primaires et secondaires, la reproduction des dynamiques des sous-populations phénotypiques des cellules T-CD8, et la description des interactions entre les cellules T-CD8 et entre les APC et cellules T-CD8.

La clé pour comprendre la réponse immunitaire T-CD8 se situe dans la façon de modéliser chacune de ces échelles et de les interconnecter pour donner une représentation fidèle mais suffisamment simple pour pouvoir tirer des enseignements du modèle.

Dans les modèles développés dans les chapitres suivants, les modélisations de ces trois échelles seront combinées pour former un modèle multi-échelles, qui fait le lien entre tous les phénomènes listés ci-dessus. Le travail effectué lors de cette thèse est ici découpé en quatre chapitres (hors introduction). Les Chapitres 2 à 4 présentent chacun

un modèle multi-échelles de réponse immunitaire T-CD8. Ces trois modèles, développés chronologiquement dans l'ordre dans lequel ils sont présentés, peuvent être considérés comme des évolutions les uns des autres. Ils utilisent toutefois des formalismes mathématiques différents et on s'attachera à présenter les avantages et les inconvénients de chaque choix de formalisme.

Dans le Chapitre 2, on construit un premier modèle multi-échelles hybride. Le contenu intracellulaire de chaque cellule est modélisé par un réseau de protéines jouant un rôle clé dans le processus de réponse immunitaire (voir par exemple Bidot et al. [19]). Le niveau d'expression, ou concentration de ces protéines, évolue suivant un système d'EDO non linéaire qui dépend aussi des événements se produisant à l'échelle de la population de cellules. A cette échelle, chaque cellule T-CD8 et chaque APC sont représentées par un agent dans un modèle à base d'agents implémenté avec le logiciel CompuCell3D (voir les travaux de Swat et al. [125]). Chaque cellule T-CD8 possède son propre système différentiel qui régit ses quantités intracellulaires de protéines et impacte son comportement (apoptose de la cellule, prolifération, différenciation). La position spatiale des agents permet la définition des contacts entre cellules T-CD8 et APC et donc la prise en compte de la stimulation ainsi que la diffusion de l'IL2 sécrété par chaque cellule T-CD8 (aux moyens d'une EDP de réaction diffusion) qui influe positivement sur la prolifération des cellules environnantes. L'implémentation sous forme de modèle à base d'agents permet une prise en compte de la stochasticité de certaines composantes du modèle : déplacement des cellules, présence ou non d'APC, temps de division, temps de cycle... En termes de résultats, ce modèle reproduit, pour un petit nombre de cellules, la dynamique initiale de la population de cellules T-CD8.

Dans le Chapitre 3, on introduit un modèle continu de la réponse immunitaire, structuré par contenu intracellulaire (dont le formalisme est similaire aux travaux de Friedman et al. [51, 52]). Dans ce modèle, on commence par inférer un réseau intracellulaire réduit à deux protéines à partir de celui présenté au Chapitre 2. Ces deux protéines représentent le potentiel de survie et de prolifération des cellules T-CD8. L'évolution des niveaux d'expression de ces deux protéines est donnée par un système d'EDO non linéaires dépendant de la stimulation de la cellule par les APC. Puis, ces vitesses de maturation sont utilisées pour définir un modèle où la population de cellules T-CD8 est représentée par une den-

sité continue, structurée suivant le niveau d'expression de ces protéines. L'échelle de la population influe sur la quantité d'APC présente et impacte donc indirectement, en retour, l'échelle intracellulaire de chaque cellule. Les résultats mathématiques de ce chapitre comportent l'existence et unicité de solutions de ce système ainsi que le comportement en temps long du système intracellulaire. Numériquement, grâce à une méthode de type particulière, on observe aussi l'influence en temps long du système intracellulaire sur la population de cellules T-CD8, ainsi que le comportement qualitatif du modèle qui reproduit bien à la fois une réponse primaire et les réponses secondaires suivantes.

Le Chapitre 4 présente une évolution du modèle du chapitre précédent. On reprend le même système intracellulaire dans lequel on introduit un retard (observé biologiquement par Martins et al. [89]). La définition d'une densité continue, solution du modèle de population, n'est plus assurée. On définit alors une densité discrète de cellules T-CD8 (une somme de masses de Dirac) toujours structurée suivant le système intracellulaire. Après avoir assuré l'existence et l'unicité d'une telle solution, on montre que le retard peut faire apparaître un cycle limite pour le système intracellulaire. Numériquement, le modèle reproduit encore qualitativement une réponse primaire et les réponses secondaires ultérieures, mais permet en plus de générer de l'hétérogénéité sur le long terme au niveau de la population de cellules T-CD8, ce qui rend ce modèle plus pertinent biologiquement.

Le Chapitre 5 présente une méthodologie de recherche de valeurs de paramètres basée sur la méthode du krigeage et sur les plans d'expériences numériques. On définit une méthode efficace pour calibrer des modèles de réponse immunitaire T-CD8 présentant un grand nombre de paramètres en entrée (supérieur à 10), sur les données biologiques de Crauste et al. [38]. La méthode a pour but de fournir un bon calibrage des paramètres du modèle en un temps correct. Pour des raisons d'identifiabilité, la méthode sera appliquée sur le modèle (1.5) de Crauste et al. [38], afin de comparer les résultats obtenus avec les leurs (pour validation). On proposera aussi, *via* cette méthode, une calibration du modèle présenté au Chapitre 4 pour montrer qu'il peut quantitativement reproduire les données biologiques utilisées par Crauste et al. [38].

Chapter 2

Multiscale Modeling of the Early CD8 T-Cell Immune Response in Lymph Nodes: An Integrative Study

Le travail présenté dans ce chapitre a été publié dans le journal *Computation* [108]. On y présente un modèle multi-échelles des premiers stades de la réponse immunitaire primaire jusqu’au stade effecteur. Ce modèle décrit l’échelle intracellulaire et l’échelle de la population de cellules en y associant respectivement un formalisme à base d’équations différentielles et un modèle à base d’agents.

Mes contributions dans ce travail sont la construction du réseau intracellulaire et du modèle mathématique qui lui est associé, ainsi que la construction et l’implémentation de la première version du modèle multi-échelles sous Matlab. Le modèle a ensuite été amélioré et implémenté à l’aide du logiciel CompuCell3D (Swat et al. [125]) par Sotiris Prokopiou.

Résumé

Les lymphocytes T-CD8 jouent un rôle essentiel pour lutter contre une infection par un pathogène intracellulaire. Les cellules présentatrices d'antigène déclenchent l'activation des cellules T-CD8 naïves par une liaison *via* contact avec le TCR (T-cell receptor) présent à leur surface. Les cellules T-CD8 se différencient ensuite en cellules effectrices fortement proliférantes et possédant des capacités cytotoxiques. Nous proposons un modèle multi-échelles computationnel 2D permettant d'étudier les premiers stades de la réponse immunitaire primaire dans lequel la maturation des lymphocytes T-CD8 dans les ganglions lymphatiques est contrôlée par leur contenu intracellulaire. A l'échelle intracellulaire, nous détaillons un nouveau réseau moléculaire auquel nous associons un modèle mathématique à base d'équations différentielles ordinaires. La population de cellules est décrite par un modèle à base d'agents de type Potts cellulaire. Les acteurs moléculaires clés tels que IL2R* (récepteur à l'IL2 activé) et Tbet contrôlent respectivement la différenciation des cellules naïves en cellules activées et effectrices, alors que les caspases et les interactions Fas-Fas ligand contrôlent l'apoptose cellulaire. Le couplage de ces deux modèles forme alors un modèle multi-échelles qui reproduit avec succès l'évolution du nombre total de lymphocytes T-CD8 observée chez des souris entre jour 3 et jour 5,5 post-infection. Enfin, ce modèle peut être utilisé pour prévoir l'évolution du nombre de cellules T-CD8 et de leur maturation au cours de la réponse immunitaire primaire.

Abstract

CD8 T-cells are critical in controlling infection by intracellular pathogens. Upon encountering antigen presenting cells, T-cell receptor activation promotes the differentiation of naïve CD8 T-cells into strongly proliferating activated and effector stages. We propose a 2D-multiscale computational model to study the maturation of CD8 T-cells in a lymph node controlled by their molecular profile. A novel molecular pathway is presented and converted into an ordinary differential equation model, coupled with a cellular Potts model to describe cell-cell interactions. Key molecular players such as activated IL2 receptor and Tbet levels control the differentiation from naïve into activated and effector stages, respectively, while caspases and Fas-Fas ligand interactions control cell apoptosis. Coupling this molecular model to the cellular scale successfully reproduces qualitatively the evolution of total CD8 T-cell counts observed in mice lymph node, between Day 3 and 5.5 post-infection. Furthermore, this model allows us to make testable predictions of the evolution of the different CD8 T-cell stages.

2.1 Introduction

During viral infection in a tissue, resident antigen presenting cells (APC), such as dendritic cells (DCs), uptake antigen and recirculate via lymphatics to reach a nearby lymph node (LN) within 2–3 days [92], where they encounter different types of immune cells (e.g., B- and T-cells) including CD8 T-cells. The establishment of cellular contact between a CD8 T-cell and an APC provides the opportunity for antigen recognition to occur through CD8 T-cell receptor (TCR) interactions with peptide-major histocompatibility complexes (MHC) that are present at the surface of the APC (activation phase). In addition, CD8 T-cell-APC contacts involve various other receptor-ligand interactions (including those of co-stimulatory and adhesion molecules [22]) and the delivery of soluble mediators (e.g., interleukin 2, IL2) that modulate the outcome of CD8 T-cell activation. Productive contacts (in terms of timing and strength) between naïve CD8 T-cells and APC result in the differentiation of naïve CD8 T-cells into activated, effector and memory CD8 T-cell stages and, thereby, in their clonal expansion. In particular, the short-lived cytotoxic effector cells elaborate cytokines and granzymes to kill pathogen-infected cells and control the infection [41]. Following pathogen clearance, most effector T-cells undergo cell apoptosis (contraction phase), while 5%–10% of them survive and mature into long-lived memory CD8 T-cells [133]. CD8 T-cells specific for a given peptide only consist of a small fraction of naïve repertoire; therefore, robust proliferation is required to combat rapidly replicating pathogens [84].

In LNs, CD8 T-cells receive signals during both short-lived contacts and long-lived interactions with APC. These contacts are highly regulated events and are influenced by the timing of activation via the TCR, the signal strength (antigen load together with the binding affinity of TCR to MHC I-peptide complex), the inflammatory environment (e.g., interferon-gamma and interleukin-12) and the presence of other responding T-cells. For these interactions to occur, cell motility plays a crucial role. The rate of CD8 T-cell-APC contacts is not only the result of random collision events [101]. Chemokines produced at the site of CD8 T-cell-APC conjugates [22] and the extracellular environment (e.g., fibroblastic reticular cell network) might bias the direction of cell movement [11, 101].

An activated CD8 T-cell is exposed to a myriad of signals and environmental cues. How

these signals are transmitted into cells and translated into gene expression patterns that promote T-cell proliferation and differentiation is an important and complex question [25].

Mathematical models of the immune response in the lymph nodes may provide important insights into how interactions between CD8 T-cells and APC can lead to specific results. Different types of mathematical models have been used to model different aspects of the immune response, including continuous models [7, 127]. These models describe cell populations as densities, which makes the consideration of the role of CD8 T-cell and APC properties, such as cell shape and cell adhesion (important for modeling cell-cell interactions that lead to T-cell activation), mathematically complicated. Therefore, individual-based models (IBMs), where each cell is treated as an individual entity, are more appropriate.

Beltman *et al.* [15] used a particular type of IBM, the Glazier-Graner-Hogeweg model (also called the Cellular Potts Model (CPM) [58]), to model the interactions between T-cells and DCs in the LN paracortex. The 3D space is filled with static rods, representing the reticular network. T-cells randomly move in the domain, and their movements are not biased by any external factors (for instance, chemotaxis or haptotaxis). DCs, however, are less motile but they extend their dendrites (long projections) to facilitate contact with T-cells. When T-cells and DCs come into contact, T-cells decrease their motility because of an increase of the strength of adhesion and putative "stop signals" that antigen-bearing DCs transmit to T-cells. The authors investigated which circumstances are required to obtain long-lived interactions between T-cells and DCs, and they focused on how the migratory behavior of T-cells is affected by changes in their adhesion properties and in the 'stop signals' transmitted by DCs, as well as by the dynamic behavior of DC's dendrites. Simulations suggested that the initial decrease in T-cell motility after antigen appearance is mainly due to "stop signals" transmitted by activated DCs to T-cells.

In addition, Gong *et al.* [59] used a 3D IBM (where cells were modeled as non-deformable spheres), which allows for differentiation into effector cells in different antigenic conditions in the LN. The authors suggested that a 3D model (compared to 2D) is more appropriate to analyze LN function, since T-cell encounters DCs and TCR repertoire scanning is more efficient. The results suggested that reducing the time naïve T-cells need to bind

DCs before becoming activated would increase the rate at which effector cells are produced.

Riggs *et al.* [113] used a 2D IBM to compare chemotaxis with random T-cell motion in the LN and showed that chemotaxis increased the total number of T-cell-DC contacts, but decreased the number of contacts with a given T-cell, ultimately producing fewer activated T-cells. Results suggested that, within an LN T-zone (the subcortical zone where T-cells mainly interact with DCs), a random search strategy is optimal for a rare cognate T-cell to find its DC match and maximize the production of activated T-cells.

LNs may become larger during infection, due to a reduced ability of T-cells to exit the LN, an increase in the T-cell flow to the LN and the T-cell proliferation within those LN [132], an important phenomenon with implications for T-cell-APC interactions, which has been initially addressed by Bogle and Dunbar [20]. In particular, the latter authors allowed their 3D simulation domain to grow during an immune response, although they did not study in detail how this expanding LN affects output.

Baltazzi *et al.* [13] used a 3D hybrid discrete/continuous model of the LN focusing on the lymphocyte recruitment and trafficking (accounting for the effect of chemotaxis on cell motility) inside the lymph node. The model tracks the evolution of three types of cells: Th (helper) cells, B-cells and DCs. Each type of cell consists of different (e.g., antigen, chemokine) receptors (e.g., CXCR5, CCR7, S1P1), where each one is randomly chosen to be expressed or not, affecting the status of each cell. The model reproduces first the expected dynamics of the system with and without the presence of antigenic stimulation and also investigates the role of DCs and S1P1-control of lymphocyte exit from LN. It is shown that DC removal at early times produces large effects, with an immune response that is greatly delayed and reduced in magnitude due to the lack of active Th cells that are able to provide the right co-stimulation to B-lymphocytes. S1P1 control, instead, affects essentially the magnitude of the immune response rather than the timing, by decreasing the overall number of specific lymphocytes that can participate in antigen detection.

One of the complexities of the immune response lies within its intrinsic multiscale nature. All of the previous cited studies described cell-cell interactions without an explicit description of the molecular events involved. On the other hand, a number of studies investigated the functioning of the molecular responses [64, 50] without an explicit de-

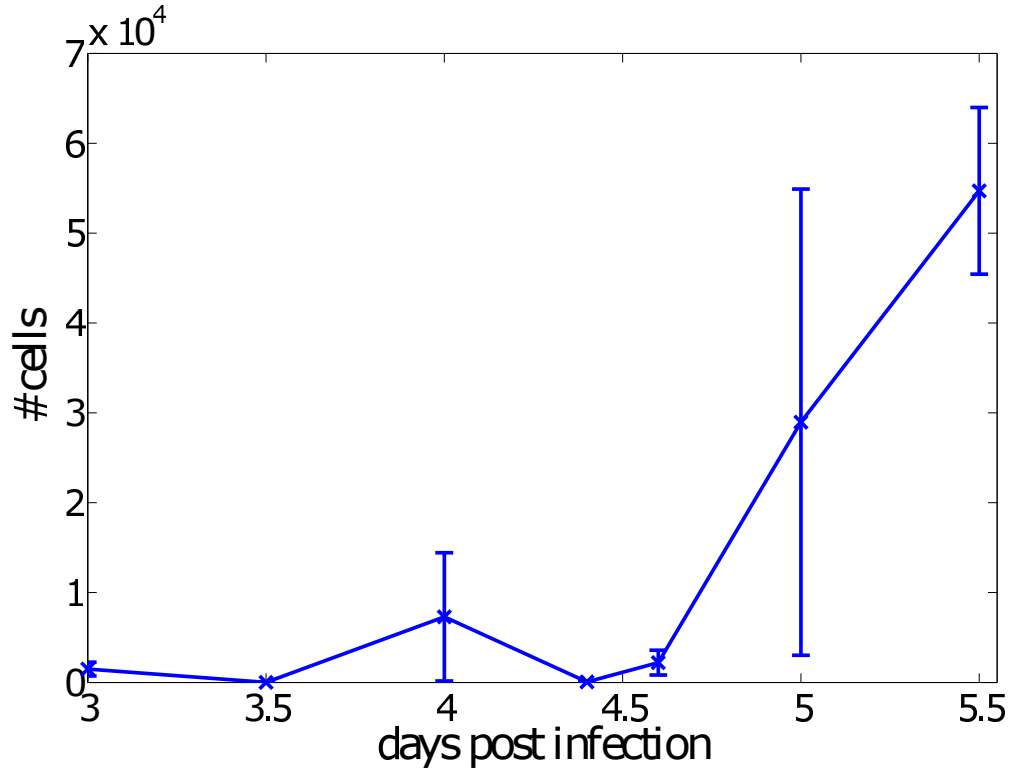


Figure 2.1 – **Experimental CD8 T-cell counts over time in mice lymph node.** The data were collected following intranasal H1N1 infection in C57Bl/6 mice (adoptively transferred with F5 cells 24 h prior to the infection). The data used were from two independent experiments with different kinetics and two to four mice per time point. Error bars show the SEM and the average is marked in blue ("x").

scription of the cell-cell interaction level. In this work, we aimed at providing the first multiscale model of the early immune CD8 T-cell response within an LN, based on the description of the first observable activation stages of CD8 T-cells; that is, naïve, preactivated, activated, and effector stages. An explicit description of a molecular regulatory network (based upon an ordinary differential equation (ODE) system) is coupled with the cellular and extracellular levels (based upon the use of a CPM and a partial differential equation (PDE), respectively) in order to observe the emergence of the global tissue behavior. Our model successfully recapitulates qualitative features of the experimental evolution of the total CD8 T-cells in draining LN upon infection, and can make predictions about the evolution of the different CD8 T-cell differentiation stages.

2.2 Experimental Section

Two hundred thousand CD8 T-cells from CD45.1+ F5 TCR transgenic mice (B6.SJL-Ptprc^aPeptc^b/BoyCrI-Tg(CD2- Tcr α F5,CD2-Tcr β F5)1Kio/Jmar) recognizing the NP68 epitope were transferred by retro-orbital injection in congenic CD45.2+ C57Bl/6 mice (C57BL6/J). The data used were from two independent experiments with different kinetics and two to four mice per time point. The day after mice were inoculated intranasally with 2.10^5 TCID₅₀ of an H1N1 Influenza virus expressing the NP68 epitope. From Day 3 to 5.5 post-infection (Figure 2.1), the lymph node draining the site of infection (lung, mediastinal lymph node) was harvested at different time points, and the number of F5 transgenic CD8 responder T-cells was assessed by flow cytometry, based on CD8/CD45.1/CD45.2 expression. All experimental procedures were approved by our local ethics committee (CECCAPP (Comité d’Evaluation Commun au Centre Léon Bérard, à l’Animalerie de transit de l’ENS, au PBES et au laboratoire P4)), and accreditations have been obtained from French governmental agencies.

2.3 Multiscale Model

In this section, we describe the three different levels of our cell-based, multiscale model. One should note that we aim in this work at describing early LN events (see Figure 2.1) during a time frame where no memory cells yet appear. We therefore did not include into our model the molecular events leading to the generation of memory cells. Differentiation only proceeds up to the effector stage from the naïve and through a preactivated and activated stage.

2.3.1 Subcellular Level

In the following, we describe a novel molecular regulatory pathway of T-cell activation (Figure 2.2). This is a simplified model which, although not describing the full picture, provides all of the necessary information for the coupling between the intracellular molecular level and cellular fates (differentiation and apoptosis). The dynamical state of the molecular model will decide cell proliferation (TCR activation and IL2 production),

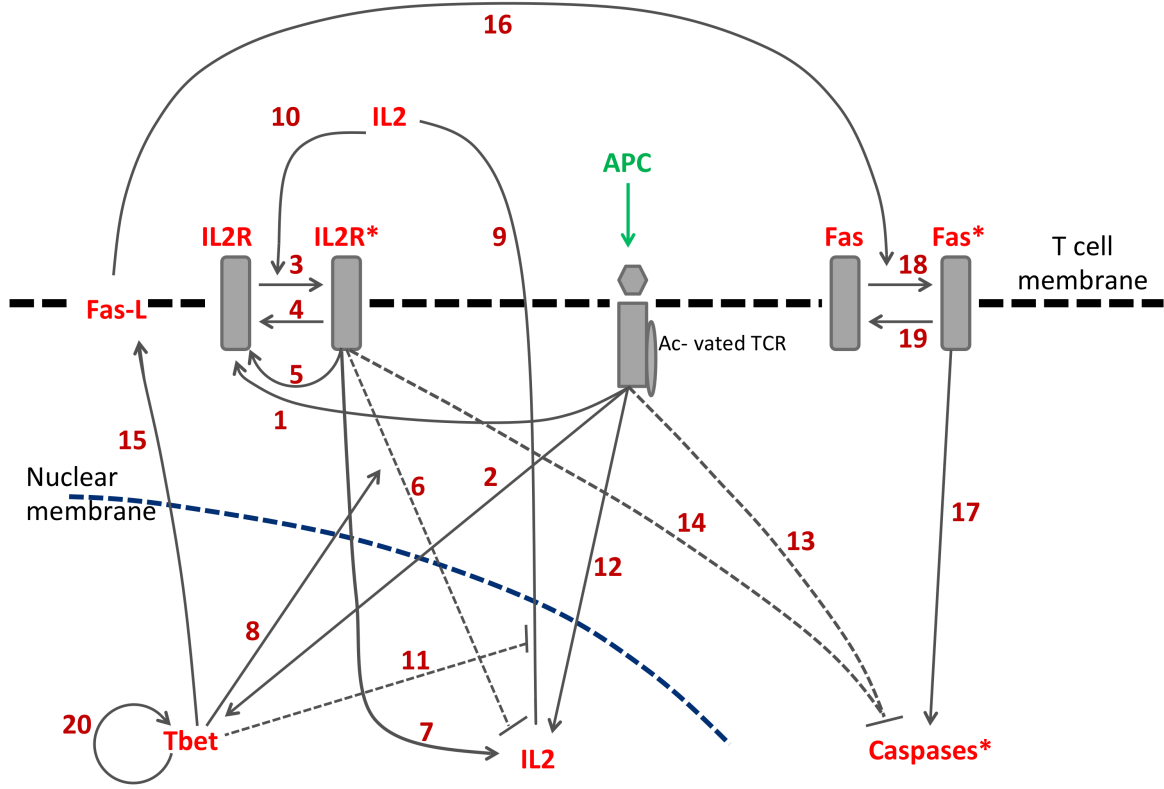


Figure 2.2 – **The Simplified molecular signaling pathway of a CD8 T-cell.** The molecular network gets activated by T-cell receptor (TCR) signaling once a T-cell encounters an antigen presenting cell (APC). The activated IL2 receptor (IL2R*) plays an essential role in the differentiation of a naïve T-cell into its activated stage; and Tbet into its effector stage. All numbers refer to Table 2.1. Solid curves, positive feedback; dashed curves, negative feedback.

cell apoptosis (activation of caspases) and cell differentiation (via the level of expression of the activated IL2 receptor and the protein, Tbet).

CD8 T-cell proliferation follows TCR stimulation and production of IL2 (Figure 2.2). TCR stimulation induces the upregulation of IL2 gene expression [65] and expression of the non-activated IL2 receptor (aggregating all steps toward the formation of the active form of the receptor), IL2R [65]. Following IL2 secretion by the CD8 T-cell, IL2 binds to IL2R [65] to form the activated IL2 receptor (that is the quaternary ligand/receptor complex IL2Ra (CD25)/IL2Rb (CD122)/IL2Rg (CD132)/IL2), IL2R* [50]. IL2R* can favor the production of IL2R and the upregulation of the IL2 gene [65], but also down-regulates the IL2 gene expression (through Blimp1) [89], enhanced by Tbet (encoded by *Tbx21*), a T-box transcription factor [137].

Caspases, on the other hand, play essential roles in cell apoptosis. Although there

Table 2.1 – Description of the molecular signaling pathway in Figure 2.2.

Description	Reference
1. activated TCR increases the amount of non-activated IL2R	[65]
2. activated TCR activates Tbet	[94]
3. Transition: from low to activated IL2R	[50]
4. Transition: from high to non-activated IL2R	[50]
5. Activated IL2R increases the amount of non-activated IL2R	[65]
6. Activated IL2R inhibits the expression of IL2 gene (via Blimp1)	[89]
7. Activated IL2R induces the expression of IL2 gene	[65]
8. Tbet promotes the inhibition of IL2 gene expression (via Blimp1)	[137]
9. Internal IL2 gets secreted and gives rise to the external IL2	[50]
10. External IL2 enhances the transition from non-activated to activated IL2R	[65]
11. Tbet inhibits the secretion of IL2	[126, 68]
12. IL2 gene activation from TCR (via Erk)	[65]
13. TCR inhibits caspase (via Erk and Bim/Bax/Bcl2)	[47]
14. Activated IL2R inhibits caspase (via Stat5, Bcl2, and BAX)	[75]
15. Tbet induces the expression of FasL	[124]
16. FasL activates Fas through cell contact	[21]
17. activated Fas (Fas*) induces caspase activation	[21]
18. Transition: from non-activated to activated form of Fas	[21]
19. Transition: from activated to non-activated form of Fas	[21]
20. Tbet maintenance	[119, 74]

are several types of caspases, we do not make any distinction among them and use caspases in a more generic form. The activation of T-cells leads to the expression of the surface protein Fas-ligand (denoted by FasL), the ligand of protein Fas, via the activation of Tbet protein [124]. Fas-induced apoptosis is one of the main mechanisms by which cytotoxic T-lymphocytes induce cell death in cells expressing foreign antigens [5]. Perforin and Granzyme B also play a role in inducing cell death [124], yet we do not explicitly describe their role. Fas-FasL signaling activated by cell contact has a positive impact on caspases [21], which is inhibited by both TCR activation and the IL2R* (through Stat5 in IL2R signaling cascade) [47, 75].

Although the precise processes involved in the generation of activated and effector stages remain undefined, IL2R* and Tbet have been found to play an important role in

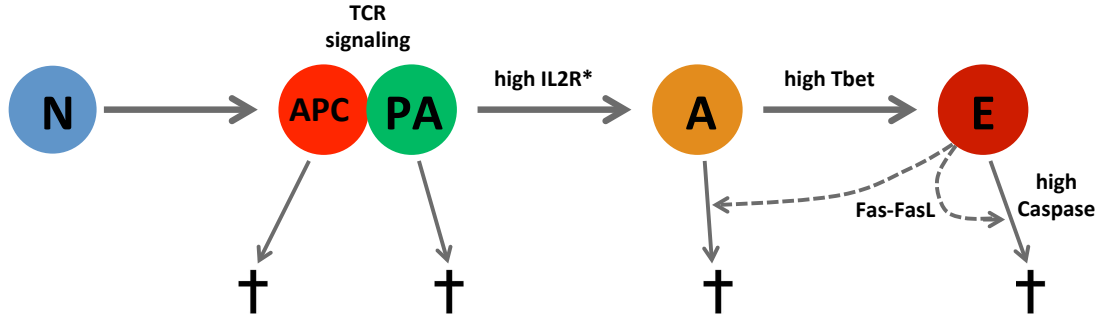


Figure 2.3 – **Schematic diagram of the linear activation pathway for the CD8 T-cells.** Due to TCR signaling (as shown in Figure 2.2), once a naïve T-cell comes into contact with an APC it becomes preactivated, then evolves to an activated cell when its IL2R* dynamically crosses a threshold and, eventually, to an effector stage when Tbet dynamically crosses a threshold. The caspase activation level is essential for cell apoptosis. Fas-FasL signaling further enhances apoptosis of activated and effector stages if activated-effector or effector-effector cells come into contact (cytotoxic effect). In contrast, the death of APC is independent of caspase levels, because the molecular network does not apply for APC. **Key:** N, naïve; PA, preactivated; A, activated; E, effector; APC, antigen presenting cell.

activated and effector cell fate decisions, respectively [85, 41]. Stimulated TCR activates Tbet [94], and the increment of Tbet levels might be an effect of both direct autoregulatory regulation [74] and other intermediate pathways (e.g., EGR1 [119]), even though evidence has only been obtained for CD4 T-cells [119, 74]. Arrow 20 in Figure 2.2 represents both the Tbet self-maintenance and also the contribution from other molecular elements. Tbet was also demonstrated to suppress IL2 secretion [126, 68].

The novelty in the current study is the coupling between the cellular level (differentiation of T-cells) and the molecular pathway as shown in Figure 2.3. The state of the dynamical molecular network described above and in Figure 2.2 defines the different CD8 T-cell stages, as follows: naïve (no prior contact with APC; no TCR activation), preactivated (came in contact with APC and its activated IL2R is below a threshold), activated (came in contact with APC and its activated IL2R is above a threshold) and effector (came in contact with APC and Tbet is above a threshold).

The complex dynamics of the molecular pathway presented in Figure 2.2 can be converted in the following nonlinear ODE model:

$$\text{Non-activated IL2R: } \frac{d[IR]}{dt} = \lambda_{R1} f(APC) + (\lambda_{R2} + \mu_{IL2}^-) [IR^*] - \mu_{IL2}^+ [IL2^{cm}] [IR] - k_R [IR], \quad (2.1)$$

$$\text{Activated IL2R: } \frac{d[IR^*]}{dt} = \mu_{IL2}^+ [IL2^{cm}] [IR] - \mu_{IL2}^- [IR^*] - k_{R^*} [IR^*], \quad (2.2)$$

$$\text{Tbet: } \frac{d[Tb]}{dt} = \lambda_{T1} f(APC) + \lambda_{T2} \frac{[Tb]}{\lambda_{T3} + [Tb]} [Tb] - k_T [Tb], \quad (2.3)$$

$$\text{Non-activated Fas: } \frac{d[Fs]}{dt} = \lambda_F + \mu_F^- [Fs^*] - H\mu_F^+ [Tb^{cm}] [Fs] - k_F [Fs], \quad (2.4)$$

$$\text{activated Fas: } \frac{d[Fs^*]}{dt} = H\mu_F^+ [Tb^{cm}] [Fs] - \mu_F^- [Fs^*] - k_{F^*} [Fs^*], \quad (2.5)$$

$$\text{Caspase: } \frac{d[C]}{dt} = \lambda_{c1} \left(\frac{1}{1 + \lambda_{c2} [IR^*]} \right) \cdot \left(\frac{1}{1 + \lambda_{c3} f(APC)} \right) + \lambda_{c4} [Fs^*] - k_C [C], \quad (2.6)$$

with most of the parameters λ representing the strengths of feedbacks (except for λ_F : the baseline rate of transcription of Fas in naïve T-cells). Parameters k with a subscript R, R^*, T, F, F^*, C are the decay rates of corresponding variables, and μ^+, μ^- with subscripts $IL2, F$ are the association and dissociation rates for IL2R and Fas, respectively.

T-cells appear to sum up TCR signals that are delivered during early and late encounters with APCs, which is a feature that helps them sense the overall amount of antigen available in the LN [22]. As a consequence, the quality and the functional heterogeneity of a T-cell response might be shaped by the history of contacts that have been experienced by individual T-cells. Therefore, in Equations (2.1), (2.3) and (2.6) we chose $f(APC)$ to represent the strength of TCR signaling and, more specifically, to be the number of simultaneous contacts of a T-cell with APCs. Therefore, if a T-cell is not in contact with any APC, $f(APC) = 0$, which implies no TCR activation, and if, for instance, a T-cell is in contact with two APCs, then $f(APC) = 2$. In reality, only a small fraction of T-cells will express T-cell receptors specific for a given epitope. Yet, in our model we do not make this distinction since our experimental data have been generated using F5 transgenic cells, for which naïve cells all express the TCR recognizing the NP68 antigen.

The single-cell ODE dynamical system (2.1)–(2.6) is coupled to neighbor cells via two terms, $IL2^{cm}$ and Tb^{cm} . In Equations (2.1) and (2.2), $IL2^{cm}$ represents the concentration

of IL2 at the boundary (cell membrane) of each T-cell. In Equations (2.4) and (2.5), Tb^{cm} is the sum of all Tbet concentrations from all of the neighbor cells in contact. In fact, Tb^{cm} implicitly describes the FasL-induced caspase activation, since we decided not to explicitly describe the Fas-FasL interaction for the sake of simplicity.

In Equations (2.4) and (2.5), H is the Heaviside function where $H = 1$ if an effector cell comes into contact with at least another effector or activated cell, and $H = 0$, otherwise. It represents the Fas-FasL interaction which promotes the upregulation of caspases.

2.3.2 Cellular Level: Cellular Potts Model

In the lattice-based CPM, cells are represented as spatially-extended, discrete objects with explicit cell shapes evolving in a 2D computational domain. The cell interactions are characterized through a total energy:

$$E = \sum_{(\vec{x}, \vec{x}')} J_{\tau(\sigma(\vec{x})), \tau(\sigma(\vec{x}'))} (1 - \delta_{\sigma(\vec{x}), \sigma(\vec{x}')}) + \lambda_{area} \sum_{\sigma > 0} (a_{\sigma} - A_{\sigma})^2 + E' \quad (2.7)$$

where J are the contact energies between cells, a_{σ} the cell area and A_{σ} the target cell area. In addition, $\tau(\sigma)$ represents the type of the cell occupying a grid space σ , which in our model can be either an APC or one of the four T cell stages (naïve; preactivated; activated; effector). The Kronecker delta function is $\delta_{x,y} = 1$, if $x = y$; 0, if $x \neq y$, and the term $(1 - \delta_{\sigma(\vec{x}), \sigma(\vec{x}')})$ ensures that adhesive energy only accrues at cell surfaces (not inside the cells); and E' can be any constraint on the cell behavior (e.g., chemotaxis). To mimic cytoskeletally-driven, active surface fluctuations, a lattice site $\vec{x}$ and a neighboring target $\vec{x}'$ are randomly selected. Then, we calculate how the effective energy would change if the initial site displaced the target. If the energy decreases ($\Delta E = E_{new} - E_{old} < 0$), the change occurs with probability one. However, if E increases ($\Delta E > 0$), the change will be accepted with Boltzmann probability, $p = \exp(-\Delta E/T)$, where T is the ‘temperature’ of the system; T influences the likelihood of energetically unfavorable events taking place: the higher T , the more out-of-equilibrium the system will be. Biologically, the T indicates the amplitude of cell membrane fluctuations (and not active cell movement), which is characterized by polarized membrane extension and retraction. On a lattice with M sites, M site copy attempts represent our basic unit of time, one Monte Carlo Step (MCS).

For our computational results presented in the next section, we use the open-source simulation environment CompuCell3D (CC3D) [125]. The source code is freely available upon request to the first author. Our model is formulated on a square domain (size $200 \mu m \times 200 \mu m$).

By equating the initial cell volume in the model to the real cell size (e.g., 5×5 pixels = $10 \times 10 \mu m^2$ [97]), we can convert the lattice spacing to microns (1 pixel = $4 \mu m^2$). In addition, we set the time conversion to be 1 MCS = 1 min, a value similar to those used in other CPM studies [14].

In Table 2.2, we summarize the different behaviors of the APC and T cells, which are discussed in detail in the following text.

To allow for cell-cell interactions, we expand the widely used CPM to incorporate cell motility. This is achieved by including an extra term in the total energy,

$$E'_{motility} = r(\cos\theta(t), \sin\theta(t)) \cdot (\vec{x}_{CM} - \vec{x}'_{CM}) \quad (2.8)$$

with r representing the cell speed from its center of mass ($\vec{x}_{CM} = \sum_i \vec{x}_i / a_\sigma$), where i denotes pixels belonging to a given cell, and $\theta(t) \in [0, 2\pi]$ the rotation angle which updates every t_{per} (the persistence time in MCS). The t_{per} (= 90 min) refers to the average duration of locomotion in one direction before a random change of direction.

We assume that (all types of) T-cells move randomly in the domain with constant speed

$\sim 0.75 \mu m/min$ ($r = 150$), and they stop moving ($r = 0$) once they come into contact with APC [23, 22]. In contrast to T-cells, APCs move rather slowly, $\sim 0.1 \mu m/min$ ($r = 20$). The limitations on the maximum speed of cells that can be reached in the Potts model mainly depending on the dissociation of cells (break up into small pieces or fragments) above a certain value of r led to smaller cell speed than the range mentioned in [22]. This could be considered for further investigation in a subsequent study.

Regarding cell division, the activated and effector T-cells proliferate every 8 h (see Supplementary Information of [86]). The molecular content of the parental cell is partitioned stochastically between the two daughters cells [135]. To achieve this, one daughter cell inherits the $k_i \in (0.7, 1.0)$ fraction of the parent cell (for each molecular element in sys-

Table 2.2 – Behaviors of the APC and T cell stages.

Cell type \ Behavior	Random motility	Division	Apoptosis	IL2 secretion
APC	✓	X	✓	X
naïve	✓	X	X	X
preactivated	✓	X	✓	✓
activated	✓	✓	✓	✓
effector	✓	✓	✓	✓

tem (2.1)–(2.6)), and the other daughter inherits $2 - k_i$. This will result in heterogeneity in the possible fate of the two daughter cells, a well-described phenomenon [25, 55, 66]. Although the exact range of variation of the molecular context that each of the two daughter cells inherit from the parent cell is unknown and difficult to track experimentally, we chose (0.7, 1.0) in order to include non-negligible, yet moderate, stochasticity.

Regarding cell death, APCs have a lifespan of 32–40 h [81, 87], and therefore, each APC is randomly assigned a lifespan in this range taken from a uniform distribution. The lifespan of naïve T-cells lies in a range of 165–365 days (see Supplementary Information of [86]), but since this time frame is far from the scope of our model (which spans between day 3 and 5.5 post-infection), we assume no death of naïve T-cells. Except for naïve T-cells, all of the other CD8 T-cells (preactivated, activated and effector) die based on their molecular profile (once their caspase level reaches its threshold; see Table 2.5).

2.3.3 Extracellular Level

We consider one extracellular cytokine, IL2, one of the main regulator-cytokines of T-cell fate after activation [50], whose concentration evolves according to the following PDE:

$$\frac{\partial[IL2]}{\partial t} = D\nabla^2[IL2] + \left(\lambda_{R3} \frac{IR^*}{\lambda_{R4} + IR^*} + \lambda_1 f(APC) \right) \frac{1}{1 + \lambda_{T4} Tb} - \delta[IL2] \quad (2.9)$$

where $[IL2]$ is the IL2 concentration, which diffuses in the square domain (with no flux boundary conditions), D , the diffusion coefficient, and δ the decay rate. The second term on the right-hand side represents the secretion rate, which is, for the first time, to our knowledge, controlled by molecular entities (TCR activation and IL2R*; see Figure 2.1). We set $D = 0.2$ pixels/MCS, since the diffusion length ($L = \sqrt{D/\delta} \sim 1$ cell length [64], and

Table 2.3 – Default parameter settings for simulations: cellular level (Potts model)

Parameter	Description	Value	Reference
Cell features:			
A_T	T cell target area	$100 \mu m^2$	[97]
A_{APC}	APC target area	$1000 \mu m^2$	[97]
T	cell-membrane fluctuations	10	/
λ_{area}	resistance to changes in size/area	10	/
Adhesion:			
$J_{T,m}$	T cell-medium contact energy	30	/
$J_{APC,m}$	APC-medium contact energy	30	/
$J_{APC,APC}$	APC-APC contact energy	100	/
$J_{APC,N}$	APC-naïve cell contact energy	50	/
$J_{APC,PA}$	APC-preactivated cell contact energy	50	/
$J_{APC,A}$	APC-activated cell contact energy	500	/
$J_{APC,E}$	APC-effector cell contact energy	500	/
$J_{T,T}$	T cell-T cell contact energy	100	/

Table 2.4 – Default parameter settings for simulations: subcellular level (Key: M, molar).

Parameter	Value	Units	Reference
Decay rates:			
k_R	0.0029	min^{-1}	[118, 136]
k_{R^*}	0.0029	min^{-1}	[118]
k_T	0.0035	min^{-1}	[136]
k_F	0.0047	min^{-1}	[82]
k_{F^*}	0.0047	min^{-1}	[82]
k_C	0.0038	min^{-1}	[82]

from there we can calculate $\delta = 0.008 \text{ min}^{-1}$. Note that, although unrealistic, the use of the CPM implies that IL2 identically diffuses through cell bodies and the extracellular space.

In Section 2.6.1, we provide a discussion on how the parameter values used in our simulations for the subcellular, cellular and extracellular level were estimated, and these are summarized in Tables 2.3–2.5.

Table 2.4 – *Cont.*

Parameter	Value	Units	Reference
Strengths of feedbacks:			
λ_{R1}	0.0158	M min ⁻¹	Derived
λ_{R2}	0.001	min ⁻¹	Derived
λ_{T1}	0.01	M min ⁻¹	Derived
λ_{T2}	0.004	min ⁻¹	[136]
λ_{T3}	0.01	M	/
λ_{c1}	0.01	M min ⁻¹	/
λ_{c2}	100	M ⁻¹	/
λ_{c3}	0.01	/	/
λ_{c4}	0.004	min ⁻¹	/
Association/Dissociation rates:			
μ_{IL2}^+	6×10^8	M ⁻¹ min ⁻¹	[120, 136]
μ_{IL2}^-	0.006	min ⁻¹	[50]
μ_F^+	0.86×10^5	M ⁻¹ min ⁻¹	Derived
μ_F^-	0.006	min ⁻¹	[50]
Other:			
λ_F	3.47×10^{-5}	M min ⁻¹	[136]

Table 2.5 – Default parameter settings for simulations: extracellular level and molecular thresholds for T-cell differentiation and apoptosis.

Parameter	Value	Units	Reference
Equation for IL2:			
λ_{R3}	0.0	M min ⁻¹	/
λ_{R4}	0.0	M	/
λ_{T4}	0.0	M ⁻¹	/
λ_1	10^{-12}	M min ⁻¹	[64]
Thresholds:			
IL2R*	7	M	Derived
Tbet*	40	M	Derived
Caspase*	2.63	M	Derived

2.4 Results and Discussion

In this section we present results from our *in silico* multiscale model. At first, we present results at the population level (cell counts), and in the next section we will explain the validation process at the intracellular level. We discuss the sensitivity of the model to some parameter values in Paragraph 2.4.3.

2.4.1 Dynamics at the Population Level

Figure 2.4 shows representative snapshots from model simulations at different time points. Simulations start with an APC:naïve T-cell number ratio of 1:10 [97] (with periodic boundary conditions), in particular with three APCs and 30 naïve T-cells. In addition, considering the heterogeneity and the constant change in cell size, we made the simplifying assumption that the APC:naïve T-cell size ratio was of 10:1 [97]. T-cell motility allows for APC-T-cell interactions, crucial for the initiation of an immune response. We can observe that by Day 4 post infection (Day 3 is the initial time point in our simulations) the majority of T-cells established contacts with APC, which enables T-cells to begin their differentiation process. By Day 5 all the APC die, whereas T-cells proliferate extensively (see Supplementary Movie for the whole temporal evolution of the cell population).

Figure 2.5A shows that our computational results (total T-cell counts) can fit very well in a qualitative manner the results from our experiments (described in Section 2.2). Note that, the computational cost of the *in silico* model is the main limiting factor for the two orders of magnitude difference observed between the population sizes in the model and the cell counts in Figure 2.1. This emerged from both the resolution and coupling of the models (e.g., the ODE model at the subcellular level) and equations (e.g., PDE for IL2 secretion and diffusion) at the different scales. Figure 2.5B presents computational results for the total cell counts, as well as the counts for each type of T-cell and APC. In particular, it is predicted that the number of naïve T-cells (blue curve) starts to decrease early enough because of APC encountering and their transition into preactivated cells (green curve). The first activated T-cells start to appear within ~17 h and proliferate intensively for approximately 30 h. A portion of activated T-cells convert into effector T-cells, which appear after 1.5 days and then strongly proliferate. Effector T-cells outnumber activated

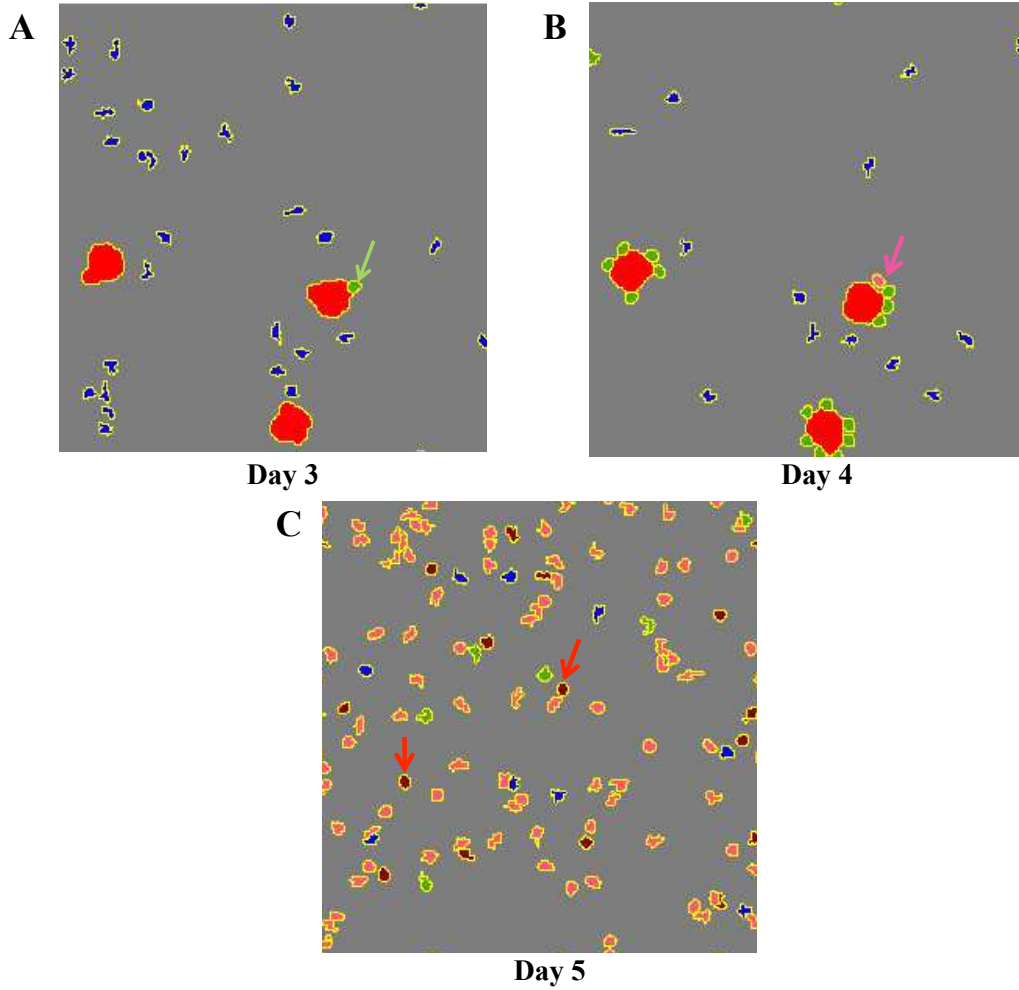


Figure 2.4 – **Representative simulation snapshots showing the evolution and differentiation of T-cells following the APC encounter.** (A) The green arrow shows a naïve T-cell (blue) which turned into a preactivated cell (green) once it came into contact with an APC cell (red); (B) The magenta arrow shows an activated T-cell; and (C) the red arrows show effector T-cells (dark brown). All APCs have died by Day 5. The parameters used for simulations are presented in Tables 2.3–2.5, with periodic boundary conditions. See also the Supplementary Movie for the full temporal events (representing 2.5 days of real time; from Day 3 to Day 5.5 post infection). Note that Day 3 is the initial time point in our simulations.

cells during the last ~6 h, due to a high differentiation of activated cells and a strong proliferation of effector cells. Therefore, our model can be used to make predictions on the evolution for each of the T- cell stages.

2.4.2 Dynamics at the Single Cell Level: Single APC and T Cell Interaction

In this section, we describe the dynamics at the molecular level, by focusing on the activation phase (TCR activation); that is, when a single APC and a single T-cell come into

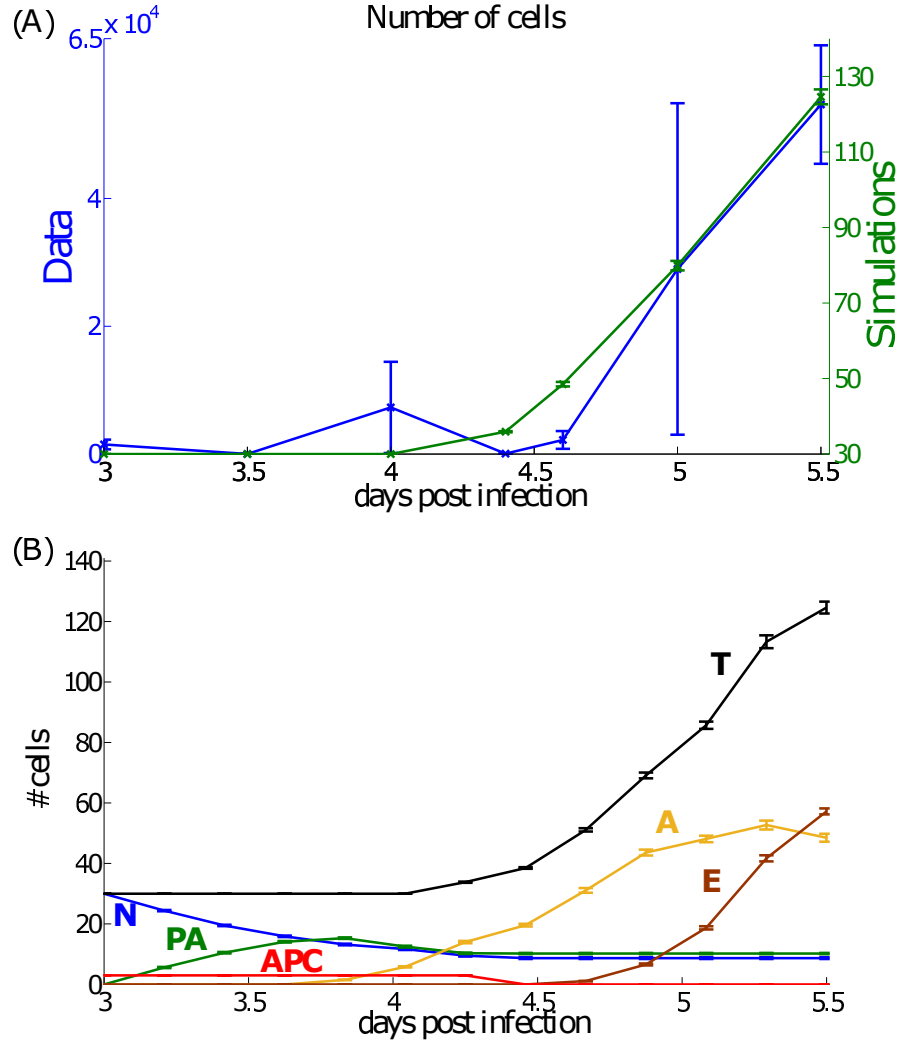


Figure 2.5 – **Results at the population level: cell counts.** (A) Simulation results in green (right y-axis), with the average (of 10 simulations) marked with circles, and experimental results in blue (left y-axis), for the total CD8 T-cell counts. Error bars show the SEM. (B) Simulation results present the average (of 10 simulations) and SEM with bars for the total and each CD8 T-cell differentiation stage, as well as APC cell counts. The parameters used for simulations are presented in Tables 2.3–2.5. N, Naïve; PA, preactivated; A, activated; E, effector; T, total (N + PA + A + E).

contact, so that $f(APC) = 1$ (as in Equation (2.1)), which implies the initiation of the T-cell differentiation process.

First, we make the assumption that IL2 secretion depends only on the TCR signaling (without considering the later effects from activated IL2R, IL2R*). This situation is an approximation of the early times of the activation, when only the APC modifies the state of the molecular regulatory network. That is, IL2 is secreted only when $f(APC) = 1$, and therefore, Equation (2.9) becomes:

$$\frac{\partial[IL2]}{\partial t} = D\nabla^2[IL2] + \lambda_1 f(APC) - \delta[IL2] \quad (2.10)$$

To evaluate λ_1 (the secretion rate), its value has been derived such that the $IL2^{cm}$ (the IL2 at the cell membrane) is ~ 20 pM [64] once a preactivated T-cell just turns into an activated T-cell.

Figure 2.6A,B present the molecular profiles of IL2R*, Tbet, and caspase, along with IL2 expression and secretion, from preactivated and activated T-cells. At $t = 0$ h an APC came into contact with a single naïve T-cell which turned into a preactivated T-cell (because of TCR activation). Note that a single preactivated T-cell remains in contact with an APC ($f(APC) = 1$), however, once it becomes activated it loses contact ($f(APC) = 0$) [23, 22]. The preactivated T-cell evolves to its activated phenotype once its IL2R* exceeds a threshold (see Table 2.5). This threshold has been evaluated by the end of a 20-h preactivated T-cell-APC contact having an approximately seven-fold increase from its value at $t = 0$ [96]. The IL2R* eventually goes to zero, because the production term in Equation (2.2) vanishes in contrast to Tbet which keeps on increasing, even though the increase is slowed down following contact loss. Caspase, on the other hand, has slower kinetics and it keeps increasing after the loss of contact, since $f(APC)$ becomes zero. The activated T-cell may evolve to its effector phenotype once its Tbet concentration exceeds a threshold, which was evaluated such that Tbet reaches an approximately 40-fold increase in about 28 h [40]. Preactivated T-cells secrete IL2 (Figure 2.6B; since $f(APC) = 1$), and its steady level of expression is consistent with published data (~ 20 pM [64]).

2.4.3 A Preliminary Assessment of the Sensitivity of Parameter Values

We managed to determine most of the numerous parameters of the model (see Tables 2.4 and 2.5, and Section 2.6.1) from the literature and also by making reasonable biological assumptions. Nevertheless, we still rely upon the value of some free parameters ($\lambda_{T3}, \lambda_{c1}, \lambda_{c2}, \lambda_{c3}, \lambda_{c4}$), which could not be derived from the literature. We therefore examined the impact of some of those free parameters, λ_{c1} and λ_{T3} , on the simulation outcomes. These parameters characterize caspase production and Tbet maintenance, respectively. They consequently act directly on T-cell death and differentiation (into effector cells) rates and can then be considered as essential for the CD8 T-cell response.

Figure 2.7 shows results by varying λ_{c1} (the activation rate of caspase without the role of Fas-FasL) and λ_{T3} (the sensitivity of Tbet to its self-regulation). It is shown that by in-

creasing λ_{c1} (e.g., from 0.01 to 0.02), there is increased preactivated, activated and effector cell death. Consequently, in Figure 2.7A, one does not observe the progression of the effector subpopulation by Day 4.5, contrary to what can be observed in Figure 2.5B, and the overall T-cell production decreases dramatically due to increased cell death. By increasing λ_{T3} (e.g., from 0.01 to 1) the activated T-cell population increases since the amount of Tbet remains below the predefined threshold and in such case T cells are not able to differentiate into effector cells, on the considered time scale (see Figure 2.7B). The Tbet threshold would be reached later, and so would start the effector T-cell production. One must however note that naïve cell dynamics are not affected by modifications of λ_{c1} and λ_{T3} , because these parameters influence biological processes related to proliferating CD8 T cells.

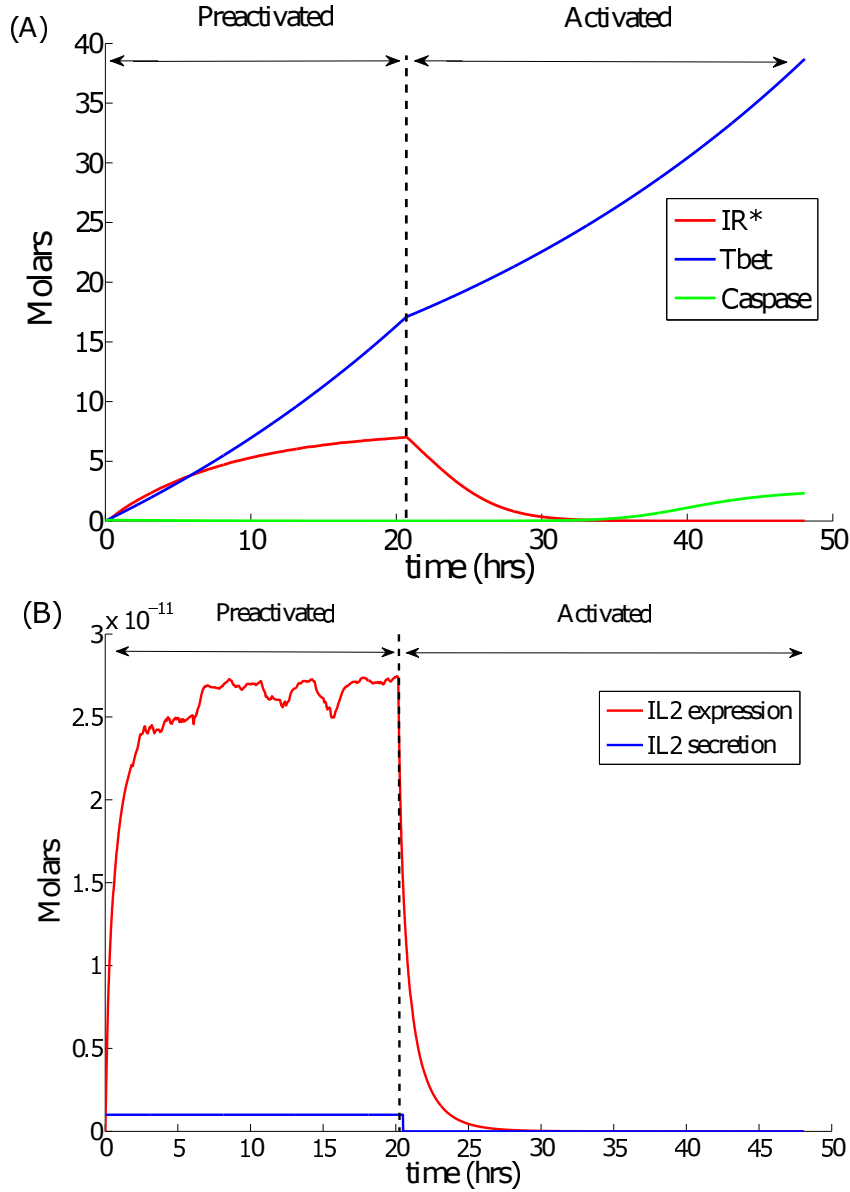


Figure 2.6 – **Molecular values of activated IL2R (IL2R*), Tbet and caspase, along with IL2 expression and secretion, from a single preactivated and activated T- cell.** At $t = 0$, a naïve T-cell comes into contact with an APC. (A) The former differentiates and maintains its preactivated phenotype for ~ 20 h (where IL2R* increases ~ 7 -folds [96]) which further evolves into an activated T-cell. The activated T-cell retains its phenotype for ~ 28 h (where Tbet increases ~ 40 -folds [40]), and eventually turns into an effector phenotype; (B) Preactivated T-cells secrete IL2 at a constant rate (see Equation (2.10)), and IL2 levels off at ~ 20 pM [64], whereas activated T-cells stop secreting IL2 due to the loss of contact with APC ($f(APC) = 0$; see Equation (2.10)). The parameters used for simulations are presented in Tables 2.3–2.5.

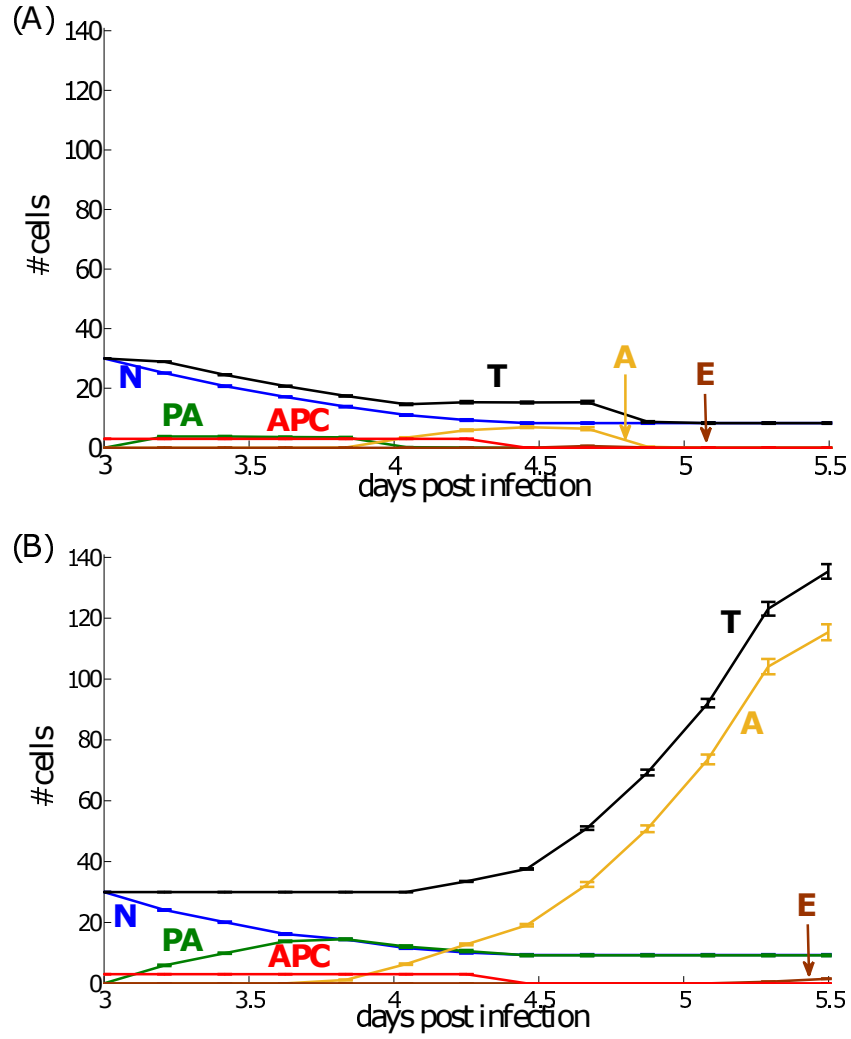


Figure 2.7 – **Results at the population levels: cell counts by varying λ_{c1} and λ_{T3} .** (A) Increasing λ_{c1} : from 0.01 to 0.02 leads to increased preactivated, activated and effector cell death; (B) Increasing λ_{T3} : from 0.01 to 1 leads to increased proliferation of the activated T-cells with no evolution of effector cells. The results present the average and bars the SEM of 10 simulations. N, Naïve; PA, preactivated; A, activated; E, effector; T, total (N + PA + A + E).

2.5 Conclusions

CD8 T-cells play a major role in protective immunity against many infectious pathogens. The path from naïve precursor to activated and effector CD8 T-cell development begins with interactions with antigen presenting cells (APC).

In this paper, we have developed a 2D multiscale computational model with the aim to understand the dynamics between APC and CD8 T cell interactions in the lymph node (LN), which can lead to the activation, differentiation and clonal expansion of CD8 T-cells. A novel molecular signaling pathway of CD8 T-cells has been presented. Although this is a simplified molecular network, that does not describe the full picture, it does provide the potential for CD8 T-cells to make decisions (differentiate, die by apoptosis) based on their molecular profile. In particular, a CD8 T-cell can convert into its activated phenotype once its activated IL2 receptor level exceeds a threshold, and it can further evolve to its effector phenotype once its Tbet level exceeds a second threshold. Both thresholds were derived based on the time needed for each phenotype to be generated from its precursor, e.g., a preactivated CD8 T-cell can convert into its activated phenotype after a 20-h contact with an APC, and an activated CD8 T-cell needs approximately 28 h to evolve into its effector phenotype.

Our integrated model successfully reproduces, qualitatively, the experimental data (total T-cell counts) after deriving most of the parameters (as shown in Tables 2.4 and 2.5) and by making biologically reasonable assumptions of the values of the remaining free parameters ($\lambda_{T3}, \lambda_{c1}, \lambda_{c2}, \lambda_{c3}, \lambda_{c4}$).

This results in giving to our model the capacity of making predictions on the evolution of each CD8 T cell differentiation stage which can be tested experimentally (ongoing experimental work).

Preliminary results on the sensitivity of some of those free parameters have shown that either increasing the activation rate of caspase (without the contribution of Fas-FaL) or the sensitivity of Tbet to its self-regulation results in decreased or increased total cell counts, respectively. Further exploration of the parameter space will be the main focus of our next study in order to investigate different possible outcomes, as well as the sensitivity of the current results to the variation of the fixed parameters.

The induction of CD8 T-cell activation depends on several factors, including cell density, cell motility, the CD8 T-cell:APC ratio in terms of numbers and size, the strength of cell-cell adhesion, IL2 gradients, *etc.* In the current study, those factors have been carefully taken into account; however, a thorough investigation on the sensitivity of our results based on those factors could reveal noteworthy observations and possible directions for guided experimental investigations.

Our model also considered the role of extracellular IL2 acting on the transition from non-activated to activated IL2R, where the concentration of the latter controls the activation of CD8 T-cells. The simulation results were generated by assuming first that IL2 secretion is mainly dependent on TCR signaling (using Equation (2.10)). In a subsequent study, we will investigate the effect and sufficiency of both positive and negative feedbacks on IL2 and assess any possible impacts on the population level (evolution and differentiation of CD8 T-cells).

There is a variety of individual-based model approaches (e.g., cellular automata, Cellular Potts Models, hybrid discrete/continuous models). In our study, we used the CompuCell3D open-source simulation environment. Other immune-based frameworks exist (e.g., C-ImmSim [110], Simmune [6]) and could well be applied. It would be very interesting in the future to compare model results emerging from different model frameworks.

Considering the ability of the model to couple the molecular, cellular, and extracellular levels, interesting questions can be addressed regarding how and how much molecular inputs and the microenvironment can affect the behavior at the population level. We believe that our study could pave the way for future studies to integrate single-cell approaches of the fate specification of CD8 T-cells.

2.6 Supplementary Information

2.6.1 Parameter Values

The default parameter values used for our simulations are summarized in Tables 2.3–2.5, unless otherwise stated. Below we provide a discussion on how some of those were estimated, and the rest are derived in Section 2.6.1

Cell-Cell Adhesion: Contact Energies (J)

Interactions between neighboring pixels in the CPM have an effective energy, J (as it appears in Equation (2.7)), which characterizes the strength of cell-cell adhesion (see Table 2.3). A larger J means more energy is associated with the interface between two cells, which is less energetically favorable, corresponding to weaker adhesivity. Note that in Table 2.3, when we are referring to a T-cell, it applies to all stages (naïve, preactivated, activated, and effector). It can be observed that $J_{APC,A}$ and $J_{APC,E}$ are higher than $J_{APC,PA}$. We make the assumption that preactivated T cells stay in contact with APCs until they get activated where they lose contact and continue to (randomly) migrate in the domain to search for APCs.

Parameter Derivation

For the derived parameters in Tables 2.4 and 2.5, we made the following assumptions based on existing literature:

- λ_1 : chosen to be $10^{-12} \text{ M min}^{-1}$, so that $\sim 20 \text{ h}$ [64] are needed for a preactivated cell to become activated, $IL2^{cm} \sim 20 \text{ pM}$.
- λ_{R1} : it affects the activated IL2R threshold for T-cell activation (from preactivated to activated phenotype), which takes $\sim 20 \text{ h}$ to reach and increases approximately 7-fold [96].
- λ_{R2} : it is a rate chosen to be within the same order as rates λ_{T2} and λ_{c4} .
- λ_{T1} : it affects the Tbet threshold for effector T-cells, which takes $\sim 48 \text{ h}$ to reach and increases approximately 40-fold [40].
- μ_{IL2}^- : we assume that this is equal to or at least of the same order as μ_F^- [50].
- μ_F^+ and μ_F^- : the equilibrium dissociation rate (K_d) for Fas-FasL is $K_d = 7 \times 10^{-8} \text{ M}$ [121], and for IL2 is $K_d = 10^{-11} \text{ M}$ [120]. Note that $K_d = \mu_F^-/\mu_F^+$, which implies a weaker interaction of Fas-FasL compared to IL2. By assuming that μ_F^- of Fas-FasL is approximately of the same order as for IL2, then $\mu_F^- \sim 10^{-4} \text{ s}^{-1} = 6 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$; and therefore, $\mu_F^+ = 0.86 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{min}^{-1}$.
- Caspase threshold: we evaluated the caspase threshold to be the value at which the lifespan of the effector T cells is $\sim 60 \text{ h}$ (Supplementary Information of [86]).

For the free parameters, to start with we chose the following values based on the following assumptions:

- λ_{c1} : both λ_{c1} and λ_{T1} represent production rates, and therefore, we choose $\lambda_{c1} = \lambda_{T1}$.
- λ_{c2} : due to the lack of any reference values, we assume $\lambda_{c2} \sim 1/\lambda_{T3}$ in order to be dimensionally consistent: $[\lambda_{c2}] = M^{-1}$.
- λ_{c4} : due to the lack of any reference values, we assume $\lambda_{c4} \sim \lambda_{T2}$ in order to be dimensionally consistent: $[\lambda_{c4}] = \text{min}^{-1}$.
- λ_{T3} : an important biological question based on which we tried to find a reasonable value to start with for λ_{T3} , is whether and when an activated T cell can evolve to an effector phenotype (with positive and non-zero Tbet). From Equation (2.3), we can get an upper bound for λ_{T3} ; that is, $\lambda_{T3} < \frac{Tb(\lambda_{T2}-k_T)}{k_T}$. By using the value of Tbet at the time when a preactivated T cell becomes activated, that gives $\lambda_{T3} < 1.24$ (an upper bound for λ_{T3}).

Chapter 3

A continuous multiscale model of the CD8 immune response structured by maturity

Le travail présenté dans ce chapitre, conjointement avec le travail présenté au chapitre 4, a été soumis au journal M3AS (Mathematical Models and Methods for Applied Sciences). On y présente un modèle multi-échelles de la réponse immunitaire primaire et des réponses secondaires suivantes par lymphocytes T-CD8. A l'échelle intracellulaire, chaque cellule possède un réseau intracellulaire réduit, construit à partir de celui du Chapitre 2, qui contrôle la prolifération et la survie de la cellule. La population de cellules est décrite par une densité de cellules, structurée par le contenu intracellulaire, qui vérifie une équation de transport dont les vitesses proviennent du modèle intracellulaire. Le contenu intracellulaire des cellules définit aussi l'appartenance des cellules T-CD8 à certaines sous populations. Le modèle reproduit numériquement qualitativement la réponse primaire et les réponses secondaires suivantes.

En comparaison avec le modèle du Chapitre 4, qui est dérivé du modèle présenté dans ce chapitre, ce modèle décrit la population de cellules T-CD8 par une densité continue (et non discrète) et le système décrivant l'échelle intracellulaire est un système à base d'équations différentielles ordinaires (et non à retard). Le modèle du Chapitre 4 découle directement du schéma numérique proposé pour la simulation du modèle de ce chapitre, en rajoutant un terme à retard dans le système intracellulaire.

Résumé

Au cours de la réponse immunitaire primaire par lymphocytes T-CD8, les lymphocytes T-CD8 prolifèrent et se différencient, acquérant des capacités cytotoxiques pour traiter l'infection et générer une mémoire immunitaire. A la fin de la réponse, les cellules T-CD8 restantes sont des cellules mémoire spécifiques à l'antigène qui leur a été présenté et qui répondront plus fort et plus rapidement en cas de rencontre ultérieure avec ce même antigène. Nous proposons un modèle mathématique non linéaire multi-échelles de la réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8. Ce modèle décrit la dynamique de la réponse immunitaire sur deux échelles physiques inter-connectées : au niveau intracellulaire, l'évolution du niveau d'expression des protéines agissant sur la prolifération, la mort et la différenciation des lymphocytes T-CD8 sont décrites par un système différentiel dont la dynamique définit les vitesses de maturation des cellules T-CD8. À l'échelle de la population, la quantité de cellules T-CD8 est représentée par une densité de cellules dont le destin dépend de leur contenu intracellulaire. Nous présentons le modèle, puis montrons quelques propriétés mathématiques essentielles (existence, unicité, positivité) des solutions et analysons leur comportement asymptotique, influencé par le comportement du réseau de régulation intracellulaire. Nous illustrons la capacité du modèle à reproduire numériquement les réponses primaires et secondaires de façon qualitative, validant ainsi son utilisation comme outil préliminaire pour étudier la génération de lymphocytes T-CD8 mémoires et la conception de vaccins.

Abstract

During the primary CD8 T cell immune response, CD8 T cells undergo proliferation and continuous differentiation, acquiring cytotoxic abilities to address the infection and generate an immune memory. At the end of the response, the remaining CD8 T cells are antigen-specific memory cells that will respond stronger and faster in case they are presented this very same antigen again. We propose a nonlinear multiscale mathematical model of the CD8 T cell immune response describing dynamics of two inter-connected physical scales. At the intracellular scale, the level of expression of key proteins involved in proliferation, death, and differentiation of CD8 T cells is modeled by a differential system whose dynamics define maturation velocities of CD8 T cells. At the population scale, the amount of CD8 T cells is represented by a density of cells and cell fate depends on their intracellular content. We introduce the model, then show essential mathematical properties (existence, uniqueness, positivity) of solutions and analyse their asymptotic behavior based on the behavior of the intracellular regulatory network. We numerically illustrate the model's ability to qualitatively reproduce both primary and secondary responses, providing a preliminary tool for investigating the generation of long-lived CD8 memory T cells and vaccine design.

3.1 Introduction

Upon infection by a pathogen, the organism initiates an immune response, consisting in the identification, recognition, and elimination of the pathogen. Both innate and acquired immune responses involve several cell types in several lymphoid organs: the infection site, the blood where all cells circulate, lymph nodes where cells mature, etc. The acquired, or specific, immune response in addition to eliminating the pathogen also aims at generating an immune memory. This memory usually consists in a population of long-lived memory cells that will be able, upon a secondary infection by the same pathogen, to react faster and stronger than cells involved in the primary response[69]. Vaccination is based on the generation of an immune memory, so in order to design efficient vaccines it is necessary to efficiently act on the molecular and cellular processes involved in the primary immune response.

Throughout this paper, we focus on the dynamics of CD8 T cells, that are specific immune cells playing a key role in the recognition, removal and memorization of intracellular pathogens (influenza or vaccinia viruses for example)[2]. Our aim is to provide the community with a theoretical model of the CD8 T cell immune response allowing to investigate both the primary and secondary responses at the molecular and cellular levels explicitly. To do so, it is necessary to identify the differentiation pathways associated with the CD8 T cell immune response, as well as the molecular events associated with CD8 T cell activation, proliferation, death, and differentiation.

Before antigen presentation by Antigen-Presenting Cells (APC), CD8 T cells are in a naive state. These cells are able to respond to a wide spectrum of stimuli, and will be activated by APC presenting antigens in the form of MHC (major histocompatibility complex) class I peptides compatible with naive T cell receptors[2, 102]. Following their activation, naive T cells become activated cells that start proliferating through a phase of clonal expansion[102]. While proliferating, CD8 T cells differentiate into effector cells, which are functionally characterized by the acquisition of cytolytic abilities [9]. Effector T cells actively fight the infection by eliminating infected cells [9, 102]. After elimination of the pathogen a contraction phase drastically reduces the size of the T cell population through apoptosis mechanisms[102]. A surviving fraction approximately equal to 5%-10% of the

number of T cells at the peak of the response (around days 7-10 post-infection) is usually assumed to survive the contraction phase and results in a long-lived memory cell population [102]. Upon a secondary infection by a pathogen already encountered by the immune system, memory cells generated during the primary response recognize it and initiate a secondary response, which is much faster and much stronger than the first one[2, 69].

The CD8 T cell immune response attracted much attention over the past two decades from the modeling community. Many models have been proposed mainly to investigate the kinetics of an immune response and the succession of differentiation stages, throughout the main phases of a typical response (activation, clonal expansion, contraction, generation of memory cells). Using linear differential equations models, the pioneering work of De Boer et al.[45] identified proliferation, death, and differentiation rates of a CD8 T cell population throughout a response to LCMV virus in mice. This work is based on an explicit description of the switch from clonal expansion to cellular contraction, associated with the elimination of the pathogen, and hence introduces explicit thresholds T_{on} and T_{off} to define activated/effector and memory populations. This work led to subsequent improvements [53, 77, 114] in the description and understanding of the immune response, yet based on the same or very similar models. It is however clear that the immune response is not strictly dependent on pathogen amount, since the peak of the response and the switch to the contraction phase do not correspond exactly to the elimination of the pathogen[7, 72, 73, 123]: it has been observed that even with a brief pathogen encounter, T cells perform a complete response. In agreement with these findings, Antia et al.[7, 8] proposed a modified model accounting for an age structure of the effector cell population and modeled a programmed proliferative response after pathogen encounter. Inspired by this model, Terry et al.[127] developed a model of the primary response to an acute infection based on a controlled regulation of most cellular processes. This model was able to reproduce CD8 T cell kinetics observed in the literature[102], including LCMV infections[127], as well as influenza virus, vaccinia virus, and bacteria *Listeria monocytogenes* infections[37] and to investigate the differences between CD8 T cell responses against these pathogens. This model has also recently been used[38] to identify the CD8 T cell differentiation pathway involved in CD8 T cell responses.

Identification of differentiation pathways involved in the CD8 T cell response, based

on relevant markers and allowing to functionally define CD8 T cell subsets has led to several propositions, sometimes contradictory ones. A diversity of effector and memory populations have been identified[9, 30, 117]. Memory cells have for instance been classified into two main categories: central memory T cells (TCM, CD62L+) and effector memory T cells (TEM, CD62L-)[90, 117]. Precursors of memory cells have been identified by several works from Kaech's group[42, 72], by combining CD127 and KLRG1 expressions: at the peak of the primary response, there is a CD127-KLRG1- early effector cell population (EEC), that gives rise to both CD127-KLRG1+ short-lived effector cells (SLEC) and CD127+KLRG1- memory precursor cells (MPEC) that will differentiate into memory cells[72, 107]. Links between the various phenotypically-defined subsets obtained over the years are still subject to debate, because the markers used to identify the subsets most of the time do not define neither a genealogy nor specific functions. Buchholz et al.[26] suggested, for instance, that naive cells would differentiate into precursors of TCM, then into TEM precursors, before the effector stage, which is not in agreement with the classical representation where effector cells appear before memory cells. A branching process between effector and memory populations is also supported by a single cell transcriptome approach[10]. These a priori controversial results could however result from a subset definition based on CD62L expression levels, which may identify functionally diverse entities rather than developmental stages. Crauste et al[38] showed that phenotypically defined subsets of CD8 T cells can represent functional classes rather than steps in a differentiation process, even when successively observed, and proposed the use of Ki67 and Bcl2, together with CD44, to identify CD8 T cell differentiation stages. They could identify nascent memory cells among MPEC with the CD44+Mki67-Bcl2+ discriminative phenotype, and additionally identified two stages of effector cells, early CD44+Ki67+Bcl2- and late CD44+Ki67-Bcl2- effector cells, while naive cells are CD44-Ki67-Bcl2+. The linear differentiation pathway in which naive cells differentiate into early effector cells, that later generate late effector cells that will in the end differentiate in memory cells has been shown to correctly fit several experimental data, contrary to Buscholz et al[25] model, extending previous results by Antia et al[7, 8] and Ganusov[53] for instance.

In order to model CD8 T cell responses, it is crucial to describe cell population kinetics, as mentioned above. However, most cellular processes involved in the CD8 T cell

response (proliferation, death, differentiation) depend on cellular interactions (APC activating naive cells, for instance) but also on molecular regulation within single CD8 T cells or between CD8 T cells. Vaccination, for instance, aims at optimizing the generation of long-lived memory cells by improving both cell interactions during activation of the response and molecular signaling, in particular in the early times of the primary response.

Some authors[4, 47, 50, 64] focused on the modeling of the intracellular molecular scale, describing either simple or complex regulatory networks of intracellular molecules whose dynamics impact the fate of CD8 T cells, whether it is apoptosis (cellular suicide), survival, differentiation or proliferation. These works highlight the role of molecular events decoupled from cellular and cell population events. In order to reach a better and more complete description of the immune response, multiscale models have been proposed in various contexts: they tend to describe a biological process at several – usually two – scales simultaneously (molecular and cellular scales, cell population and organ scales, etc.). Several multiscale models of the immune response have been proposed in recent years[18, 27, 44, 78, 79, 131], yet some scales of interest are often not explicitly modeled in these works, for instance by considering that dynamics at one scale is at equilibrium.

Boosted by the improvement in computational power during the last decade, computational multiscale models of the immune response have emerged and have proven themselves useful to understand the many interactions between scales occurring during the immune response [28, 79]. For example, *C-ImmSim* is a platform that integrates different types of models, and thus presents a great adaptability, designed to build agent based models taking into account B cells, CD4 T cells, CD8 T cells, macrophages and their interactions, but also internal dynamics inside each cell[17, 18]. Kirschner et al.[79] and Kirschner and Linderman[78] proposed multiscale models for antigen presentation and host-pathogen interactions, consisting in cellular automaton or individual-based models. Such computational models allow stochasticity to be observed since all individuals obey the same rules but are not necessarily in the same medium or subject to the same external stimuli, yielding variability in the outputs of the models. Rapin et al.[111] proposed an agent-based model more focused on the simulation of antigen recognition by T and B cells. With a similar objective, Woelke et al.[134] developed two interaction potentials specific to B and T cell receptor complexes that better discriminate activat-

ing interactions from random contact, and applied them to the VaccImm model (derived from the *C-ImmSim* simulator). Also, Alemani et al.[3], based on a previous work by Motta et al.[100], developed a multiscale model of tumor growth in interaction with the immune system and nutrients, that is able to reproduce the main features of vaccination in silico, yet this model does not describe intracellular molecular regulation and therefore cannot be used to investigate the consequences of molecular events on the interactions between tumor and immune cells.

Prokopiou et al.[108] and Gao et al.[54] recently developed a hybrid multiscale model of the CD8 T cell immune response, coupling descriptions of both molecular regulatory mechanisms (through the identification of a minimal molecular regulatory network) and cellular dynamics. These latter are based on a dynamical description of the activation and differentiation processes in the early stages of the immune response (with an explicit description of spatial interactions). The molecular scale dynamics is based on an Ordinary Differential Equation (ODE) model describing the regulatory network dynamics, involving key proteins and transcription factors involved in proliferation, death, and differentiation processes in every single CD8 T cell. At the cellular scale, described by a cellular Potts model (agent-based model), differentiation and proliferation rates of CD8 T cells are defined as functions of the level of expression of the molecular players. In this multiscale model, physical interactions between cells, as well as their locations in space, are taken into account in a 2D environment. Additionally, diffusion of interleukin-2 (IL2), secreted in the extracellular environment by individual CD8 T cells once activated, is also described. This mathematical and computational multiscale model is able to qualitatively reproduce immune cell dynamics and experimental results on the early phases of the immune response[54]. However, the complexity of this model and of similar ones (large number of interactions and processes, several cell types, etc.) comes with a high computational cost and consequently some limitations of its initial scope.

Using structured transport equations[105], Friedman et al.[51, 52] provided a multiscale model of the CD4 T cell immune response, where helper lymphocytes evolve according to a transport equation structured by the level of expression of factors Tbet and GATA1, whose dynamics depend on an ODE system. The authors showed that the asymptotic behavior of the intracellular model strongly influences the asymptotic behavior of

the population model: the density of cells concentrates around Dirac masses located on the asymptotically stable steady states of the intracellular system of ODE. Even though this model deals with different types of cells, it can be viewed as a continuous counterpart of the hybrid model in Prokopiou et al.[108] and Gao et al.[54] regarding its design and its scope.

In this work, we aim at providing a continuous multiscale model of the primary and secondary CD8 T cell immune responses, able to describe the kinetics of a classical response against an intracellular pathogen, but also able to run fast and efficiently while accurately describing the molecular and cellular processes involved in the immune response. This will allow to investigate the effects of early molecular events on long-term predictions and the generation of immune memory. To do so, we will implement, at the cell population scale, the linear differentiation pathway commonly admitted in the literature[7, 38, 45, 53] where naive cells differentiate in effector cells that generate memory cells. At the intracellular scale, we will use a simplified network based on two markers, identified in Crauste et al.[38], the nuclear protein Ki67 and the protein Bcl2 whose expressions allow to distinguish activated, effector and memory cells, and can easily be associated to proliferation and death rates. Although too simple to account for all the necessary molecular mechanisms involved in a CD8 T cell immune response, this molecular model will show the feasibility of our approach and illustrate the expected behavior of such a multiscale model. In Section 3.2, we will introduce this model, in which CD8 T cells will be represented in a two-dimensional maturity space, where each maturity variable will correspond to one of the two elements of the molecular network. Hence, differentiation stages (naive, memory...) will be associated with given levels of expression of the maturity variables, allowing to define CD8 T cell subsets. At the intracellular scale, evolution of maturity variables will be modeled by nonlinear differential equations, and the fate of each cell within the cell population will depend on its position in the maturity space. We will show, in Section 3.3, that this model is mathematically well-posed and has the good theoretical properties to simulate an immune response. Mathematical analysis will include existence, uniqueness and positivity of solutions, as well as asymptotic behavior analysis of the intracellular model and its impact on the population scale. In Section 3.4, we will show that the model efficiently describes primary and secondary CD8

T cell immune responses at the molecular and cell population scales, qualitatively, and runs much faster than equivalent agent-based models. This model will prove to be simple enough to be studied mathematically and generalized to larger molecular networks or other immune responses if needed.

3.2 Multiscale model

In this section, we first introduce the different CD8 T cell subsets that will be considered in the multiscale model. Then, we present a single cell model which describes the intracellular dynamics of each CD8 T cell, its classification among CD8 phenotypes and its interactions with APC. Finally, we describe a population model based on the single cell model, where cells interact, differentiate, die and proliferate depending on their intracellular content.

3.2.1 Cellular subpopulations

Based on Crauste et al.[38], we consider that five CD8 T cell subpopulations appear throughout an immune response, with different capabilities regarding proliferation, survival and cytotoxic abilities (see Figure 3.1). Their identification is based on the expression of CD44, Ki67, and Bcl2 (see Section 3.2.2).

Naive cells are quiescent CD8 T cells which have not encountered APC yet. We then assume neither death nor proliferation for these cells, only activation by APC that induces their differentiation in activated cells[2, 108]. As a consequence, and for the sake of simplicity, dynamics of naive cells are not explicitly described in our model: the naive cell population represents a reservoir of cells emptied by the APC-induced activation.

Activated cells correspond to the first stage of differentiation of CD8 T cells. Activated cells do proliferate, but do not have cytotoxic abilities yet. They represent a transient state between naive and effector cells, and have a relatively small death rate [108].

Effector cells result from the differentiation of activated cells, and are characterized by acquired cytotoxic abilities[2, 38, 108]. These cells also proliferate (they are mainly observed during the clonal expansion phase) and exhibit a high death rate. They differentiate into late effector cells[38].

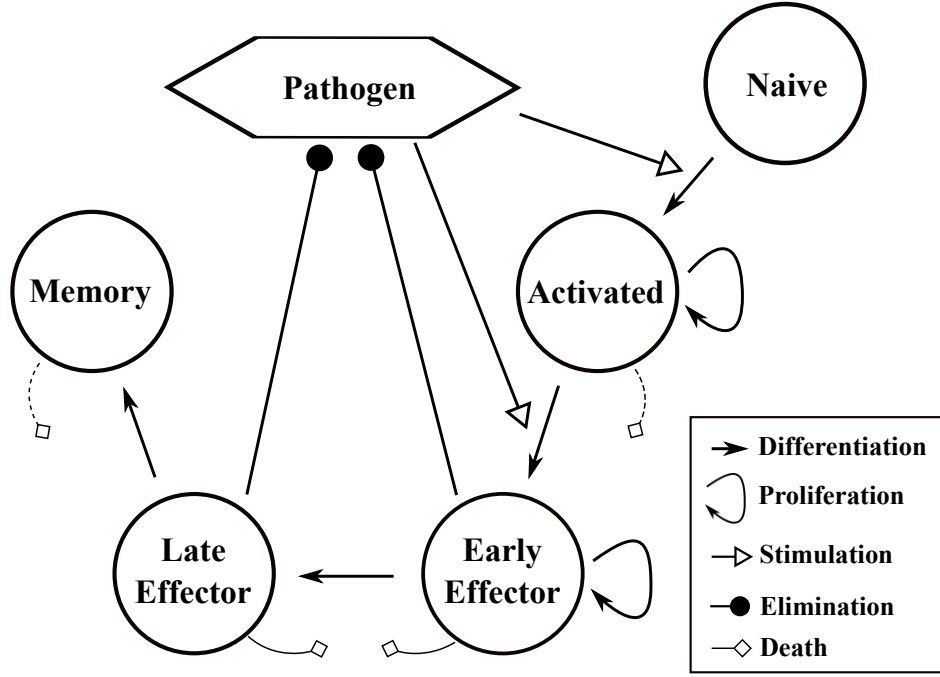


Figure 3.1 – **Schematic representation of the differentiation scheme used in this work, including cell differentiation states and their interactions.** The different subpopulations mainly distinguish themselves by their abilities to survive, to proliferate and to address the infection. Dotted lines for death represent smaller death rates than regular lines.

Late effector cells still have cytotoxic abilities but have lost their proliferation potential [38]. They are mainly observed after the peak of the response, during the contraction phase, hence they are characterized by a high death rate. They eventually generate the memory cell population [38, 77].

Memory cells are long-lived CD8 T cells (TCM[90, 117]) that do not proliferate on short time scales and have a very small death rate. They are almost quiescent cells waiting for reactivation through APC stimulation to start a secondary antigen specific response[2, 38].

For these subpopulations, linear and branching differentiation schemes have been confronted with biological data of a primary immune response to influenza virus infected mice, and a model selection procedure pointed towards a linear scheme [38]. Following these conclusions, we assume in our model a linear differentiation scheme (see Figure 3.1).

Besides the CD8 T cell populations, we also consider the pathogen count – whose quantity at time t is denoted $P(t)$ and satisfies (3.3) (see section 3.2.3) – and, implicitly, the dynamics of APC. The pathogen interacts with CD8 T cells first via APC when the

Table 3.1 – Main variables of the model.

Variables	Description
$N(t)$	Naive CD8 T cell count at time t
$P(t)$	Pathogen count at time t
$E(t)$	Early and Late Effector CD8 T cell count at time t
$\mu_1(t)$	Level of expression of Ki67 at time t
$\mu_2(t)$	Level of expression of Bcl2 at time t
$\rho(t, \mu_1, \mu_2)$	Density of CD8 T cells with maturities (μ_1, μ_2) at time t
v_1	Maturation velocity of μ_1
v_2	Maturation velocity of μ_2

immune response starts. Following activation of the response, the pathogen enhances CD8 T cell survival and proliferation during the clonal expansion phase, via the release of pro-survival cytokines for instance[90]. Then effector cells eliminate infected cells, contributing to the elimination of the pathogen. We consider, in this work, the evolution of pathogen count that is characterized by a natural clearance rate and a cytotoxic cell-induced clearance rate. Proliferation of the pathogen is neglected since we aim at describing an immune response triggered by vaccination, and thus involving weakened, non-proliferative pathogens. A summary of the main variables of the model is given in Table 3.1.

Next, we introduce a model describing the intracellular dynamics of a single CD8 T cell.

3.2.2 Single cell dynamics

We consider here a single CD8 T cell. Our goal is to describe the intracellular dynamics of each CD8 T cell and to characterize the CD8 subpopulations introduced in Section 3.2.1 using CD8 T cell intracellular content. Except for the naive CD8 T cell population, the other four CD8 T cell subpopulations (activated, early effector, late effector, memory) mainly distinguish themselves by their ability to survive and proliferate, characterized by the expressions of two relevant biological markers, identified in Crauste et al.[38]: Ki67 that is a proliferation marker [115] and Bcl2 that is a survival marker [47]. We justify hereafter the construction of a molecular regulatory network based on Ki67 and Bcl2 expressions that will allow a multiscale description of CD8 T cell dynamics.

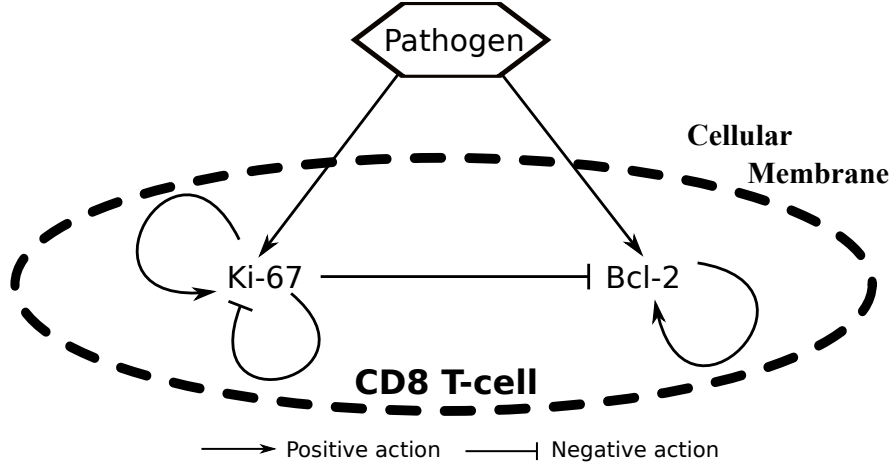


Figure 3.2 – **Simplified interaction network between Ki67, Bcl2 and the pathogen.** Upon stimulation of the CD8 T cell by an APC, Ki67 and Bcl2 levels of expression rise. Ki67 sustains its own expression with a fast positive feedback loop while a slow negative feedback loop kicks in late and is associated with exhaustion of proliferating cells. Bcl2 sustains its expression independently of other stimuli and its expression is inhibited by Ki67.

Crauste et al.[38] showed that among the Bcl2- effector cell population, one could distinguish Ki67+ early effector cells and Ki67- late effector cells, while memory cells are Ki67-Bcl2+ cells. Both effector and memory cells are CD44+ cells while naive cells are CD44- cells. Since we do not describe naive cell molecular dynamics (see Section 3.2.1), only CD44+ cells molecular dynamics will be described, and hence it is only necessary to focus on Ki67 and Bcl2 to identify each CD8 T cell subset. It is worth mentioning that activated cells are not described as a developmental stage in Crauste et al[38], yet they represent a transient state between the Ki67-Bcl2+ naive cells and the Ki67+Bcl2- effector cells. For the sake of clarity, we then introduce the activated cells as Ki67+Bcl2+ cells, since after activation by APC naive cells enter a phase of strong proliferation (Ki67+) and survival (Bcl2+). The simplified network regulating the interactions between Ki67 and Bcl2, and involving the stimulation of a single CD8 T cell by an APC in our model, is given in Figure 3.2.

Due to a lack of information in the literature regarding interactions between Ki67 and Bcl2, we started from the molecular regulatory network developed in Prokopiou et al.[108] to build the model in Figure 3.2.

We first assumed variations in Ki67 expression would be qualitatively similar to IL-2 variations, since Ki67 characterizes proliferation and IL-2 is the main cytokine driving CD8 T cell proliferation. In Prokopiou et al.[108], IL-2 is first activated following TCR en-

gagement, hence we assume that APC induce the expression of Ki67 via interactions with the TCR of CD8 T cells. Second, IL-2 was shown to be both activated by its own expression through a self-activating loop involving the IL-2 gene and its receptor, and inhibited via a negative feedback loop involving Blimp-1, this inhibition occurring on a slower time scale [89]. We then assume that Ki67 acts both positively and negatively on its own expression, with a slow inhibition and a fast activation.

Interactions of proteins Bim, Bcl2, Bax and caspases described in Ewings et al.[47] show that Bcl2 is a Bax and caspase inhibitor (therefore an apoptosis inhibitor and pro-survival marker), and stimulation by an APC has a positive effect on Bcl2 expression through Erk and Bim pathways. We then assume an activation of Bcl2 mediated by APC interacting with CD8 T cells. Since naive and memory cell populations have a high expression level of Bcl2[38], we assume that Bcl2 is able to activate its own expression when under no other stimulus. In addition, we assume that exhaustion from extensive proliferation drives CD8 T cells towards apoptosis, and we consider that Ki67 negatively regulates Bcl2 expression.

We introduce the levels of expression, hereafter referred to as “maturity” levels, μ_1 and μ_2 which correspond respectively to Ki67 and Bcl2 expression levels of a CD8 T cell. Dynamics of μ_1 and μ_2 , schematically represented in Figure 3.2, are given by the following system,

$$\begin{cases} \frac{d\mu_1}{dt}(t) = \left(\frac{\gamma_{P1}P(t)}{\theta_{P1} + P(t)} + \frac{\gamma_{r1}\mu_1(t)}{\theta_{r1} + \mu_1(t)} - k_1 - \frac{\gamma_{l1}\mu_1^2(t)}{\theta_{l1}^2 + \mu_1^2(t)} \right) \mu_1(t), \\ \frac{d\mu_2}{dt}(t) = \left(\frac{\gamma_{P2}P(t)}{\theta_{P2} + P(t)} + r_2(K_2 - \mu_2(t)) - k_{12}\mu_1(t) - k_2 \right) \mu_2(t), \end{cases} \quad (3.1)$$

with all parameters positive. We define the respective maturation velocities of μ_1 and μ_2 , by $v_1 = d\mu_1/dt$ and $v_2 = d\mu_2/dt$.

The use of first order Hill functions in (3.1) illustrates interactions by contact either between CD8 T cells and APC or proteins and their receptors. The negative feedback loop on μ_1 is represented by a second order Hill function to input a saturation effect and keep its impact low for cells that did not proliferate much (lower values of μ_1) to slow down the initial build up of blimp-1, hence modeling the slower action of this feedback. The term for Bcl2 self-activation is represented by a logistic law, so that a stable steady state for μ_2 exists when $\mu_1 = 0$ and $P = 0$, corresponding to high expression levels. The negative

Table 3.2 – Definition of the CD8 T cell subsets as functions of maturity levels.

Cell Subset	Domain	Definition
Activated cells	Ω_A	$\{(\mu_1, \mu_2); \mu_1 \geq \alpha, \mu_2 \geq \beta\}$
Early Effector cells	Ω_{EE}	$\{(\mu_1, \mu_2); \mu_1 \geq \alpha, 0 \leq \mu_2 \leq \beta\}$
Late Effector cells	Ω_{LE}	$\{(\mu_1, \mu_2); 0 \leq \mu_1 \leq \alpha, 0 \leq \mu_2 \leq \beta\}$
Memory cells	Ω_M	$\{(\mu_1, \mu_2); 0 \leq \mu_1 \leq \alpha, \mu_2 \geq \beta\}$

impact of Ki67 on Bcl2 is described, in the simplest way, by a mass action law. Ki67 and Bcl2 degradation rates are assumed to be constant, given respectively by k_1 and k_2 .

To determine to which state of the differentiation process a cell belongs to (see Section 3.2.1) based on its intracellular content, we define two thresholds α and β for maturity values, that separate the cell subpopulations as defined in Table 3.2.

Next we are going to embed this single cell model into a model that describes the dynamics of the CD8 T cell population.

3.2.3 CD8 T cell population model

The population of activated, early effector, late effector and memory cells is described by a density $\rho(t, \mu_1, \mu_2)$ which follows the following transport equation,

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial(v_1 \rho)}{\partial \mu_1} + \frac{\partial(v_2 \rho)}{\partial \mu_2} = F(\mu_1, \mu_2, P, E) \rho + f_s(P, N, \mu_1, \mu_2), \\ \rho(0, \mu_1, \mu_2) = 0, \mu_1 \geq 0, \mu_2 \geq 0, \\ \rho(t, \mu_1, 0) = \rho(t, 0, \mu_2) = 0, t > 0, \mu_1 \geq 0, \mu_2 \geq 0, \end{array} \right. \quad (3.2)$$

structured by μ_1 and μ_2 , and evolves according to the speeds of maturation v_1 and v_2 defined by (3.1).

In System (3.2), the rate F is defined by

$$F(\mu_1, \mu_2, P, E) := f_{div}(\mu_1) - [f_{Fas}(E) + f_d(\mu_2) + f_{AICD}(\mu_2, P)],$$

and accounts for the proliferation (first term on the right hand side of the equality) and death (second term on the right hand side of the equality) rates of the different subpopulations. We assume that F is bounded with respect to all variables.

The proliferation rate f_{div} is assumed to depend on the intracellular concentration of

Ki67 (μ_1). When a cell divides, it gives two daughter cells with half its volume and, when division is assumed to be symmetrical, half its intracellular content. Hence the concentration in each daughter cell is the same as the one in the mother cell. Then, at division, a cell disappears and two cells with the same maturity appear. The proliferation rate $f_{div}(\mu_1)$ is assumed to be an increasing function of μ_1 since μ_1 characterizes proliferation capacity. On top of that, this rate is null for memory and late effector cells ($\mu_1 < \alpha$).

Regarding the death rate, we account for three biologically motivated ways for immune cells to die. First, CD8 T cells die due to their lack of survival capabilities. The corresponding death rate, $f_d(\mu_2)$, is assumed to be a decreasing function of the pro-survival protein μ_2 . Second, cells die due to cell-cell contact through Fas-Fas ligand (FasL) interactions [21, 124, 137]. This physical interaction between a CD8 T cell expressing the membrane marker Fas and a neighboring CD8 T cell expressing the membrane receptor FasL is detrimental to the survival of the former. The rate $f_{Fas}(E)$ is then assumed to be an increasing function of the number of early- and late-effector cells E (which both express the ligand of Fas, while all immune cells express Fas). This process acts as a negative feedback at the population scale. Natural apoptosis and Fas-induced death act on different pathways[63], hence the latter process doesn't depend on μ_2 . Finally, we consider death by Activation-Induced-Cell-Death (AICD): after activation, cells who encounter an APC again suffer from AICD and are driven towards apoptosis, unless their survival rate is high enough. This rate $f_{AICD}(P, \mu_2)$ is assumed to be an increasing function of P and a decreasing function of μ_2 [24, 33, 60].

The source term f_s represents the activation of naive cells from a contact with an APC. It is an increasing function of the pathogen count P and of the naive cells count N , since the higher these counts, the higher number of naive cells stimulated. We chose to make f_s depend on μ_1 and μ_2 so that not every newly activated cells would possess the same intracellular content, therefore introducing cellular heterogeneity. To stay in line with the model, f_s must possess the following properties : its support must be included within Ω_A to be in adequacy with the differentiation scheme from Figure 3.1 and $\iint_{\Omega_A} f(P, N, \dots) = -\frac{dN}{dt}$ (given that for $P, N > 0$, $f(P, N, \dots) \in L^1_+(\mathbb{R}^2_+)$) to match the flux of naive cells transitioning from the naive compartment to the activated state.

Finally, the ODE system regulating the evolution of P and N , the naive CD8 T cell

count, are assumed to be

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt}(t) &= -\frac{\gamma_N P(t)}{\theta_N + P(t)} N(t), \\ \frac{dP}{dt}(t) &= -k_P P(t) - \frac{\gamma_E E(t)}{\theta_E + E(t)} P(t), \end{cases} \quad (3.3)$$

with initial conditions $P(0) = P_0 > 0$ and $N(0) = N_0 > 0$, and all parameters positive. Death of naive cells is neglected since they are slowly renewing, and consequently their evolution only depends on their stimulation by APC, which we describe with a first order Hill function to model a contact-induced saturation phenomenon. Similarly, the pathogen count decreases due to its natural clearance with a rate k_P and through deadly attacks of infected cells by effector cells. Pathogen's proliferation is neglected in this work, given that we model an immune response triggered by vaccination, thus weakened pathogens, but could easily be added to the pathogen dynamics.

The expected behavior of the model regarding the movement of the cells in the maturity space is displayed on Figure 3.3.

In the next section, we establish existence, uniqueness and positivity of solutions of System (3.1)–(3.3), and we investigate the asymptotic behavior of solutions to System (3.1).

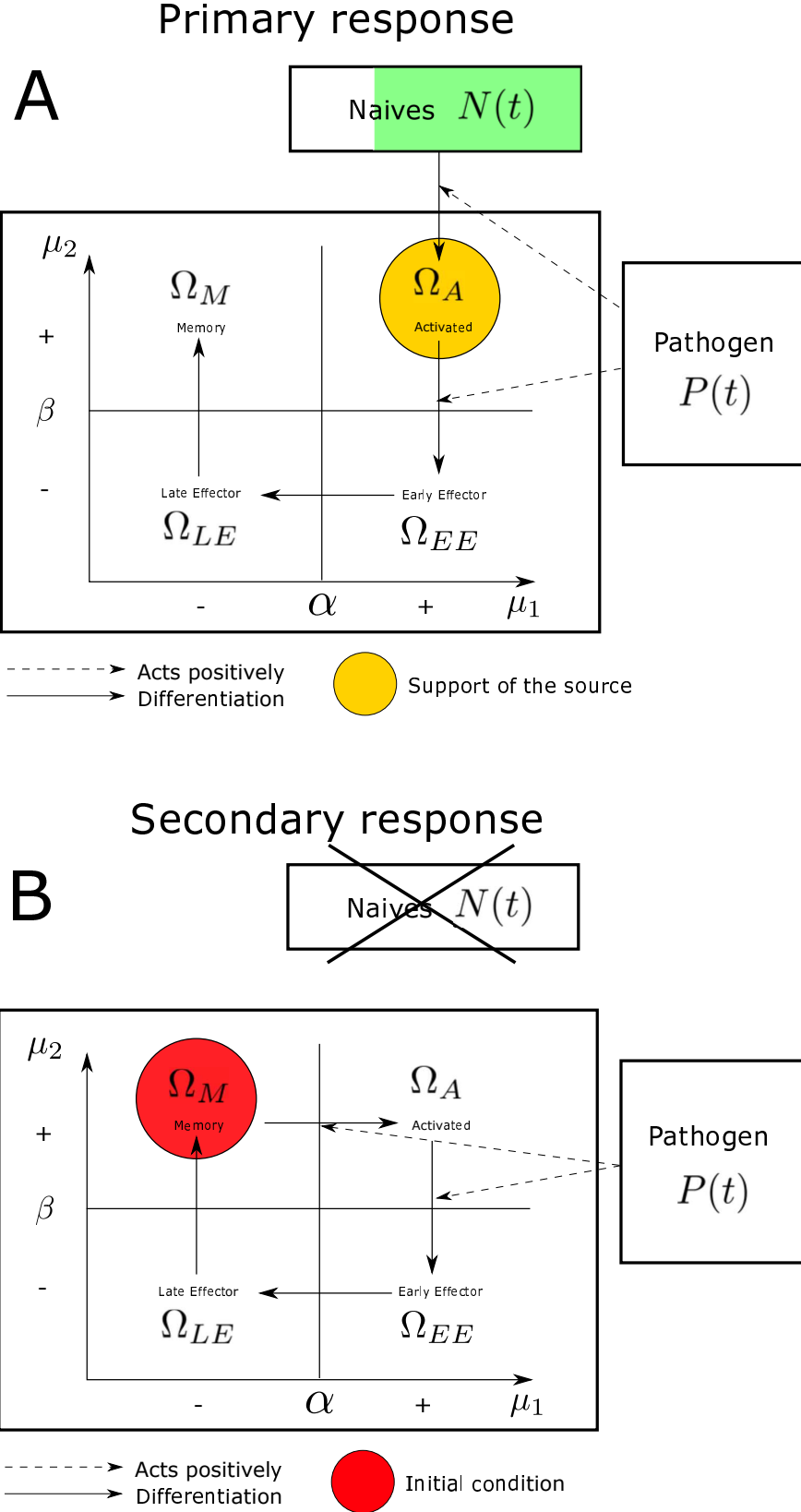


Figure 3.3 – **Expected behavior of the multiscale model in the maturity space.** Before the primary response, the main domain is empty and all the CD8 T cells are naive. Then (Panel A), APC stimulate the naive cells which start to differentiate into activated cells, migrate in Ω_A and move in the (μ_1, μ_2) maturity plane following (v_1, v_2) , as described by (3.1). For the secondary response (Panel B), there is no naive cell left, but there already are cells in the domain: memory cells. The appearance of APC activates the quiescent memory cells which move once again following (v_1, v_2) .

3.3 Existence, Uniqueness and Local Asymptotic Behavior

3.3.1 Existence and uniqueness

In this section, we give a result for existence and uniqueness of solutions to System (3.1)–(3.3). Proofs won't be detailed as we prove the same type of results in Chapter 4, and the method is quite the same. We assume the positivity of all parameters of the model defined in Section 3.2.

Let $T > 0$ be fixed. We successively introduce operators $\mathcal{T}_0$, $\mathcal{T}_1$, $\mathcal{T}_2$ and $\mathcal{T}_3$ to define the solutions to System (3.1)–(3.3). Let

$$\mathcal{T}_0 : \rho \in L^\infty([0, T], L^1_+(\mathbb{R}^2_+)) \mapsto E \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+),$$

be defined, for $t \in [0, T]$, by

$$\mathcal{T}_0(\rho)(t) = E(t) := \iint_{\Omega_{EE} \cup \Omega_{LE}} \rho(t, \cdot, \cdot).$$

Let

$$\mathcal{T}_1 : E \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+) \mapsto P \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+),$$

with P the unique solution to

$$\frac{dP}{dt}(t) = -k_P P(t) - \frac{\gamma_E E(t)}{\theta_E + E(t)} P(t), \quad P(0) = P_0. \quad (3.4)$$

Let

$$\mathcal{T}_2 : P \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+) \mapsto N \in C^1([0, T], \mathbb{R}_+)$$

with N the unique solution to

$$\frac{dN}{dt}(t) = -\frac{\gamma_N P(t)}{\theta_N + P(t)} N(t), \quad N(0) = N_0. \quad (3.5)$$

For $t \in [0, T]$, and $P \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+)$ let

$$H_t^P : (x, y) \in \mathbb{R}^2_+ \mapsto (\mu_1(t), \mu_2(t)) \in \mathbb{R}^2_+,$$

with (μ_1, μ_2) the unique solution to

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d\mu_1}{dt}(t) = \left(\frac{\gamma_{P1}P(t)}{\theta_{P1} + P(t)} + \frac{\gamma_{r1}\mu_1(t)}{\theta_{r1} + \mu_1(t)} - k_1 - \frac{\gamma_{l1}\mu_1^2(t)}{\theta_{l1}^2 + \mu_1^2(t)} \right) \mu_1(t), \\ \frac{d\mu_2}{dt}(t) = \left(\frac{\gamma_{P2}P(t)}{\theta_{P2} + P(t)} + r_2(K_2 - \mu_2(t)) - k_{12}\mu_1(t) - k_2 \right) \mu_2(t), \\ \mu_1(0) = x > 0, \\ \mu_2(0) = y > 0. \end{array} \right. \quad (3.6)$$

Let

$$\mathcal{T}_3 : (E, P, N) \in L_+^\infty([0, T]) \times C^0([0, T]) \times C^1([0, T]) \mapsto \rho \in L^\infty([0, T], L_+^1(\mathbb{R}_+^2)),$$

with ρ unique solution to

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial(v_1 \rho)}{\partial \mu_1} + \frac{\partial(v_2 \rho)}{\partial \mu_2} = F(\mu_1, \mu_2, P, E)\rho + f_s(P, N, \mu_1, \mu_2), \\ \rho(0, \mu_1, \mu_2) = 0, \mu_1 \geq 0, \mu_2 \geq 0, \\ \rho(t, \mu_1, 0) = \rho(t, 0, \mu_2) = 0, t > 0, \mu_1 \geq 0, \mu_2 \geq 0, \end{array} \right. \quad (3.7)$$

v_1 and v_2 being defined by (3.1).

Finally, let

$$\mathcal{T}_4 : \rho \in L^\infty([0, T], L_+^1(\mathbb{R}_+^2)) \mapsto \rho_2 = \mathcal{T}_3(\mathcal{T}_0(\rho), \mathcal{T}_1(\mathcal{T}_0(\rho)), \mathcal{T}_2(\mathcal{T}_1(\mathcal{T}_0(\rho)))) \in L^\infty([0, T], L_+^1(\mathbb{R}_+^2)).$$

Next, we state the Lipschitz properties of the operators $\mathcal{T}_0$ to $\mathcal{T}_3$ in Lemmas 1, 2, 3 and 5, allowing us to obtain the Lipschitz property of the operator $\mathcal{T}_4$.

Lemma 1. *The operator $\mathcal{T}_0$ is well defined, continuous and for $\rho, \tilde{\rho} \in L^\infty([0, T], L_+^1(\mathbb{R}_+^2))$,*

$$\|\mathcal{T}_0(\rho) - \mathcal{T}_0(\tilde{\rho})\|_\infty \leq \|\rho - \tilde{\rho}\|. \quad (3.8)$$

Lemma 2. *The operator $\mathcal{T}_1$ is well defined, continuous, uniformly bounded and*

$$\|\mathcal{T}_1(E)\|_\infty \leq P_0. \quad (3.9)$$

Moreover, for $E, \tilde{E} \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+)$,

$$\|\mathcal{T}_1(E) - \mathcal{T}_1(\tilde{E})\|_\infty \leq e^{(k_P + \gamma_E)T} \frac{\gamma_P}{\theta_E} P_0 T \|E - \tilde{E}\|_\infty. \quad (3.10)$$

Lemma 3. *The operator $\mathcal{T}_2$ is well defined, continuous, uniformly bounded and*

$$\|\mathcal{T}_2(P)\|_\infty \leq N_0.$$

Moreover, for $P, \tilde{P} \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+)$,

$$\|\mathcal{T}_2(P) - \mathcal{T}_2(\tilde{P})\|_\infty \leq N_0 \frac{\gamma_N}{\theta_N} \|P - \tilde{P}\|_\infty. \quad (3.11)$$

Lemma 4. *For $t > 0$ and $P \in C^0([0, T])$, the operator H_t^P is well defined, continuous, invertible (and $(H_t^P)^{-1}$ is also continuous). Moreover, we have*

$$\forall P, \tilde{P} \in C^0([0, T]), \forall x, y \in \mathbb{R}_+, \|H_t^P(x, y) - H_t^{\tilde{P}}(x, y)\| \leq K_H(T) \|P - \tilde{P}\|_\infty, \quad (3.12)$$

with K_H depending solely on T and other model parameters, with a finite value for $K_H(0)$.

Lemma 5. *Let G and f_s be bounded regarding all variables and Lipchitzian regarding (conditions met with F and f_s chosen for numerical simulations for example). Then the operator $\mathcal{T}_3$ is well defined, continuous and for $U = (E, P, N)$, $\tilde{U} = (\tilde{E}, \tilde{P}, \tilde{N}) \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+) \times C^0([0, T], \mathbb{R}_+) \times C^1([0, T], \mathbb{R}_+)$,*

$$\|\mathcal{T}_3(U) - \mathcal{T}_3(\tilde{U})\|_\infty \leq K(T) T \|U - \tilde{U}\|_\infty, \quad (3.13)$$

with $K_3(T)$ a constant depending only on T (with finite values for $T = 0$) and model parameters.

Now, using Lemmas 1, 2, 3 and 5 we prove the following result.

Theorem 1. *There exists a unique solution to System (3.1)–(3.3).*

Proof. Using properties (3.8) to (3.13), we obtain

$$\|\mathcal{T}_4(V) - \mathcal{T}_4(\tilde{V})\|_G \leq TK(T)\|V - \tilde{V}\|_G,$$

where $K(0)$ is a finite value.

We deduce that for T small enough ($T < T_l$), $\mathcal{T}_4$ is a contraction on the Banach space $L^\infty([0, T], L^1(\mathbb{R}_+^2))$. A solution to System (3.1)–(3.3) is a fixed point of the operator $\mathcal{T}_4$. Hence, there exists a unique solution to this system for $t \in [0, T_l]$. We can apply the same method for any time interval of length T_l . We do so on $[T_l/2; 3T_l/2)$, $[T_l; 2T_l)$, ... and the solution exists and is unique for all times. $\square$

The positivity of ρ is obtained by using the method of characteristics during the proof of Lemma 5. This positivity is of importance for the coherence of our model. A negative number of cells has no sense biologically, hence the relevance of this result.

Next, we focus on studying the asymptotic behavior of solutions to System (3.1) to investigate the asymptotic behavior of CD8 T cell maturity.

3.3.2 Steady states of the intracellular system

We now focus on the existence of positive steady states of the delay system (3.1) driving the fate of a single CD8 T cell. The objective is to evaluate the potential asymptotic maturities of the CD8 T cells after a primary or secondary response. Such analytical results have been proven and observed by Friedman et al [51, 52] in the case where the cell population is described by a continuous density whose maturation velocities are defined by an ODE system.

It is straightforward that $P(t)$, solution of (3.3), tends to zero asymptotically. A steady state (x, y) of System (3.1) then satisfies

$$\begin{cases} \frac{\gamma_{r1}x}{\theta_{r1} + x}x - k_1x - \frac{\gamma_{l1}x^2}{\theta_{l1}^2 + x^2}x = 0, \\ r_2(K_2 - y)y - k_{12}xy - k_2y = 0. \end{cases} \quad (3.14)$$

From the second equation, we deduce the values of y from the values of x , since either $y = 0$, or

$$y = K_2 - \frac{k_{12}x + k_2}{r_2}.$$

From the first equation, we rule out $x = 0$ which is always a solution. We have left

$$\frac{\gamma_{r1}x}{\theta_{r1} + x} - k_1 - \frac{\gamma_{l1}x^2}{\theta_{l1}^2 + x^2} = 0,$$

which we can write

$$(\gamma_{r1} - \gamma_{l1} - k_1)x^3 - \theta_{r1}(\gamma_{l1} + k_1)x^2 + \theta_{l1}^2(\gamma_{r1} - k_1)x - k_1\theta_{r1}\theta_{l1} = 0. \quad (3.15)$$

Let

$$a = \gamma_{r1} - \gamma_{l1} - k_1, \quad b = -\theta_{r1}(\gamma_{l1} + k_1) < 0, \quad (3.16)$$

$$c = \theta_{l1}^2(\gamma_{r1} - k_1), \quad d = -k_1\theta_{r1}\theta_{l1} < 0,$$

and

$$Q(X) = aX^3 + bX^2 + cX + d,$$

so that (3.15) is equivalent to $Q(x) = 0$.

We first rule out the case where $a = 0$. In this case, $c > 0$ and Q is a second order polynomial whose roots are strictly negative.

To handle the case where Q is a third degree polynomial ($a \neq 0$), we use Sturm's theorem [129] to count the strictly positive roots of Q . Sturm's sequence for Q is given by

$$P_0 = aX^3 + bX^2 + cX + d, \quad (3.17)$$

$$P_1 = 3aX^2 + 2bX + c, \quad (3.18)$$

$$P_2 = \left(\frac{2b^2}{9a} - \frac{2}{3}c \right) X + \frac{bc}{9a} - d, \quad (3.19)$$

$$P_3 = \frac{2b\left(\frac{bc}{9a} - d\right)}{\left(\frac{2b^2}{9a} - \frac{2}{3}c\right)} - \frac{3a\left(\frac{bc}{9a} - d\right)^2}{\left(\frac{2b^2}{9a} - \frac{2}{3}c\right)^2} - c. \quad (3.20)$$

For clarity purposes, we introduce

$$A = \frac{2b^2}{9a} - \frac{2}{3}c \quad \text{and} \quad B = \frac{bc}{9a} - d, \quad (3.21)$$

so that $P_2 = AX + B$ and

$$P_3 = \frac{2bB}{A} - \frac{3aB^2}{A^2} - c. \quad (3.22)$$

First, let us state some properties regarding the constants we have just introduced.

Lemma 6. *Let a, b, c, d, A, B, P_3 be defined by (3.16) to (3.22). Then*

$$a > 0 \Rightarrow c > 0, \quad (3.23)$$

$$a < 0 \text{ and } c > 0 \Rightarrow A < 0, \quad (3.24)$$

$$a < 0 \text{ and } c > 0 \Rightarrow B > 0, \quad (3.25)$$

$$a < 0 \text{ and } c < 0 \text{ and } AB < 0 \Rightarrow P_3 > 0, \quad (3.26)$$

$$a > 0 \text{ and } c > 0 \text{ and } AB > 0 \Rightarrow P_3 < 0. \quad (3.27)$$

Then, we give the following result.

Proposition 1. *Let us assume that Q only has simple roots. Then,*

(1) *Q has no positive roots if and only if $c < 0$ or $c > 0, a < 0, P_3 > 0$.*

(2) *Q has one positive root if and only if $a > 0, P_3 < 0$.*

(3) *Q has two positive roots if and only if $c > 0, a < 0, P_3 < 0$.*

(4) *Q has three positive roots if and only if $a > 0, A > 0, B < 0, P_3 > 0$.*

Proof. If we denote $S(x) = (P_0(x), P_1(x), P_2(x), P_3(x))$ and $V(x)$ the number of sign changes in this sequence, Sturm's theorem states that the number of distinct roots in an interval $[\delta_1, \delta_2]$, with $\delta_1 < \delta_2$, is given by $V(\delta_1) - V(\delta_2)$.

In our case, we are looking for positive roots, and therefore we count the sign changes in $S(0)$ and $S(\infty)$. We have $S(0) = (d, c, B, P_3)$, and the sign of $S(x)$ when $x \rightarrow \infty$ is given by

the sign of (a, a, A, P_3) . We try out all the different cases and we rule out the ones where the properties stated in Lemma 6 and the fact that $b < 0$ and $d < 0$ do not hold.

As an example, let's focus on the third case. Two roots for Q mean either $V(0) = 3$ and $V(\infty) = 1$ or $V(0) = 2$ and $V(\infty) = 0$.

Case 1: $V(0) = 3$ and $V(\infty) = 1$.

Since $d < 0$ and $V(0) = 3$, the signs of $S(0)$ are $(-, +, -, +)$. The last one is P_3 which is negative. Since P_3 also appears in $S(\infty)$, we deduce that the possible signs of $S(\infty)$ are $(-, -, -, +)$ or $(-, -, +, +)$. In both combinations of $S(0)$ and $S(\infty)$, we have $c > 0$ and $a < 0$, which, according to Lemma 6, implies $B > 0$, which is impossible because the signs of $S(0)$ force B to be positive.

Case 2: $V(0) = 2$ and $V(\infty) = 0$.

In this case, the signs of $S(0)$ can be $(-, -, +, -)$, $(-, +, -, -)$ or $(-, +, +, -)$, while the signs of $S(\infty)$ must be $(-, -, -, -)$. The first combination gives $c < 0$, $B > 0$, $P_3 < 0$, $a < 0$ and $A < 0$, which is impossible since $c < 0$, $AB < 0$, and $a < 0$ imply $P_3 > 0$ (Lemma 6). The second combination gives $c > 0$, $B < 0$, $P_3 < 0$, $a < 0$ and $A < 0$, which is impossible since $c > 0$ and $a < 0$ imply $B > 0$. The last combination gives $c > 0$, $B > 0$, $P_3 < 0$, $a < 0$ and $A < 0$, which is possible, and using Lemma 6, these five conditions are equivalent to only three conditions: $c > 0$, $a < 0$ and $P_3 < 0$.

Eventually, Q has two strictly positive roots if and only if $a < 0$, $c > 0$ and $P_3 < 0$.

We do the same with the cases for 3, 1 or 0 strictly positive steady states. All cases are displayed in Table 3.3, completing the proof.

□

Let us mention that y , given by (3.14), is positive if and only if

$$K_2 - \frac{k_{12}x + k_2}{r_2} > 0.$$

In the end, there can be up to three positive solutions (x, y) to System (3.14).

Now, we investigate the stability of these steady states.

Table 3.3 – **Possible values of $V(0)$ and $V(\infty)$ and corresponding number of positive roots of Q .** Using Sturm's sequence defined by (3.17)-(3.20), we check the possible values of $V(0)$ and $V(\infty)$ to determine the necessary and sufficient conditions of Proposition 1. We use first the fact that $d < 0$, which gives in each case the sign of P_3 for a given value of $V(0)$. Then, using the sign of P_3 , we narrow the cases for $V(\infty)$. Each case is then confronted to the results from Lemma 6. The last column tells whether this case is in contradiction with Lemma 6 (signaled by a X, along with the property that contradicts it) or is possible (signaled by a checkmark). Validated cases can be grouped to obtain the necessary and sufficient conditions of Proposition 1. One can notice that $V(\infty) \neq 3$, hence the missing case of $V(0) = 3, V(\infty) = 3$.

Number of positive roots	$V(0)$	Signs				$V(\infty)$	Signs				Possible?
		d	c	B	P_3		a	a	A	P_3	
3	3	-	+	-	+	0	+	+	+	+	✓
2	2	-	-	+	-	0	-	-	-	-	X (3.26)
		-	+	+	-		-	-	-	-	✓
		-	+	-	-		-	-	-	-	X (3.25)
	3	-	+	-	+	1	-	-	+	+	X (3.24)
		-	+	-	+		-	-	-	+	X (3.25)
	3	-	+	-	+	2	+	+	-	+	X (3.27)
1	2	-	-	+	-	1	+	+	+	-	X (3.23)
		-	+	+	-		+	+	-	-	X (3.23)
		-	+	+	-		+	+	+	-	✓
		-	+	+	-		+	+	-	-	✓
		-	+	-	-		+	+	+	-	✓
		-	+	-	-		+	+	-	-	✓
	1	-	-	-	+	0	+	+	+	+	X (3.23)
		-	-	+	+		+	+	+	+	X (3.23)
		-	+	+	+		+	+	+	+	X (3.27)
0	2	-	+	-	-	2	-	-	+	-	X (3.24)
		-	-	+	-		-	-	+	-	✓
		-	+	+	-		-	-	+	-	X (3.24)
	1	-	+	+	+	1	-	-	-	+	✓
		-	+	+	+		-	-	+	+	X (3.24)
		-	-	+	+		-	-	-	+	✓
		-	-	+	+		-	-	+	+	✓
		-	-	-	+		-	-	-	+	✓
		-	-	-	+		-	-	+	+	✓
	0	-	-	-	-	0	-	-	-	-	✓

3.3.3 Local asymptotic stability and behavior of the model

We investigate the stability of the steady states of System (3.1). To do so, we define

$$f(x) = \frac{\gamma_{r1}x}{\theta_{r1} + x} \quad \text{and} \quad g(x) = k_1 + \frac{\gamma_{l1}x^2}{\theta_{l1} + x^2}, \quad (3.28)$$

so that System (3.14) can be rewritten

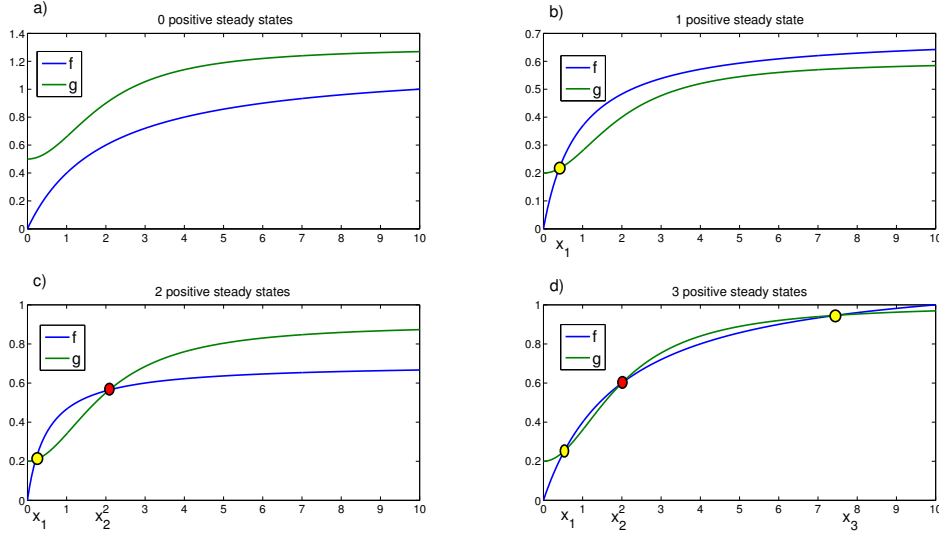


Figure 3.4 – **Possible relative positions of f and g depending on parameter values.** The four cases displayed each correspond to a given number of positive solutions of $f(x) = g(x)$ (from 0 to 3 solutions). The values x_1 and x_3 , assuming they exist, are unstable steady states of the equation $x' = (f(x) - g(x))x$, whereas x_2 is a stable one. Existence of these solutions has been investigated in the last section. The relative positions of f and g in these four cases give us information regarding the stability of steady states of system (3.1), which is the focus of this section.

$$\begin{cases} (f(x) - g(x))x = 0, \\ (r_2(K_2 - y) - k_{12}x - k_2)y = 0. \end{cases} \quad (3.29)$$

Focusing on the first equation, we display on Figure 3.4 the possible relative positions of f and g , as well as the stability of the steady states of the first equation of (3.1), $x' = (f(x) - g(x))x$.

System (3.29) can have up to eight solutions depending on parameter values. If we denote x_1 , x_2 and x_3 (with $x_1 < x_2 < x_3$) the three possible positive roots of Q (see previous section), these eight steady states are : $(0, 0)$, $(0, K_2 - \frac{k_2}{r_2})$, $(x_i, 0)$ and $(x_i, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}}{r_2}x_i)$, $i = 1..3$. We give the asymptotic stability of these steady states in proposition 2.

Proposition 2. *Assuming system (4.14) has eight solutions, noted $(0, 0)$, $(0, K_2 - \frac{k_2}{r_2})$, $(x_i, 0)$ and $(x_i, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}}{r_2}x_i)$, $i = 1..3$, $x_i > 0$. Then we have the following stability results :*

1. $(0, 0)$ is stable if and only if $r_2K_2 - k_2 < 0$.
2. $(0, K_2 - \frac{k_2}{r_2})$ is stable and is positive if and only if $K_2 - \frac{k_2}{r_2} > 0$
3. The steady states $(x_1, 0)$ and $(x_3, 0)$ are unstable, and $(x_2, 0)$ is stable if and only if $K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_2}{r_2} < 0$.

4. The steady states $(x_1, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_1}{r_2})$ and $(x_3, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_3}{r_2})$ are unstable, and $(x_2, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_2}{r_2})$ is stable if and only if $K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_2}{r_2} > 0$.

Proof. The Jacobian matrix associated to this system is

$$J(x, y) = \begin{pmatrix} (f'(x) - g'(x))x + f(x) - g(x) & 0 \\ -k_{12}y & r_2(K_2 - y) - k_{12}x - k_2 - r_2y^2 \end{pmatrix}.$$

Case of $(0, 0)$:

We have

$$J(0, 0) = \begin{pmatrix} -k_1 & 0 \\ 0 & r_2K_2 - k_2 \end{pmatrix}.$$

This steady state is stable is and only if $r_2K_2 - k_2 < 0$.

Case of $(0, K_2 - \frac{k_2}{r_2})$

We have

$$J(0, r_2 - \frac{k_2}{r_2}) = \begin{pmatrix} -k_1 & 0 \\ 0 & -r_2 \left(K_2 - \frac{k_2}{r_2} \right)^2 \end{pmatrix}.$$

This steady state is always stable and is positive if and only if $K_2 - \frac{k_2}{r_2} > 0$.

Case of $(x_i, 0)$, $i = 1..3$:

We have

$$J(x_i, 0) = \begin{pmatrix} (f'(x_i) - g'(x_i))x_i & 0 \\ -k_{12}x_i & r_2K_2 - k_2 - k_{12}x_i \end{pmatrix}.$$

Regarding the stability of $(x_1, 0)$ and $(x_3, 0)$, since $f'(x_1) - g'(x_1) > 0$, these steady states are always unstable. However, $f'(x_2) - g'(x_2) < 0$, so $(x_2, 0)$ is stable if and only if $K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_2}{r_2} < 0$.

Case of $(x_i, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_i}{r_2})$, $i = 1..3$, with $K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_i}{r_2} \neq 0$:

We have

$$J(x_i, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_i}{r_2}) = \begin{pmatrix} (f'(x_i) - g'(x_i))x_i & 0 \\ -k_{12}x_i & -r_2 \left(K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_i}{r_2} \right) \end{pmatrix}.$$

Similarly to the previous case, $(x_1, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_1}{r_2})$ and $(x_3, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_3}{r_2})$ are always unstable. However, $f'(x_2) - g'(x_2) < 0$, so $(x_2, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_2}{r_2})$ is stable if and only if $K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_2}{r_2} < 0$.

$$\frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}x_2}{r_2} > 0.$$

□

We summarize on Figure 3.5 a few of these cases. Of the four cases displayed on Figure 3.5, the interesting one is the one displayed on Figure 3.5 b), which gives a stable positive steady state that will be able to represent a population of long lasting quiescent cells, hence a perfect candidate to represent memory cells. The ideal case would be for this steady state to be in Ω_M . In this case, the intracellular content is bounded (contrary to the case in Figure 3.5 a)), which is biologically relevant. Having the case displayed as in Figure 3.5 c) could lead to a population concentrated around the steady state $0, K_2 - \frac{k_2}{r_2}$, which is not an issue but would make the memory cells slower to become activated again (farther from Ω_A). The case displayed in Figure 3.5 d) can't lead to generation of long lasting memory cells, hence the need to have $K_2 - \frac{k_2}{r_2} > 0$.

In their work, Friedman et al.[51, 52] proved that the density of T cells was converging towards a sum of Dirac masses located at the intracellular steady states. In our case, we have shown that there could exist a locally asymptotically stable positive steady state. The influence on the pathogen count $P(t)$ on System (3.1) changes its velocity field. Assuming there exists a stable positive steady state (x_2, y_2) for this system, when $P(t)$ is high, this steady state is moved to the right, still on the straight line of equation $\mu_2 = K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}}{r_2}\mu_1$. If the parameters are well chosen, this steady state can be in Ω_{EE} when $P(t)$ is high, and move through Ω_{LE} as $P(t)$ diminishes to finish its course in Ω_M as $P(t)$ is small enough. Being stable, this steady state will attract the density ρ which will follow it's course over time, hence exhibiting the behavior intuited on Figure 3.3. In the next section numerical simulations illustrate that such a behavior is possible.

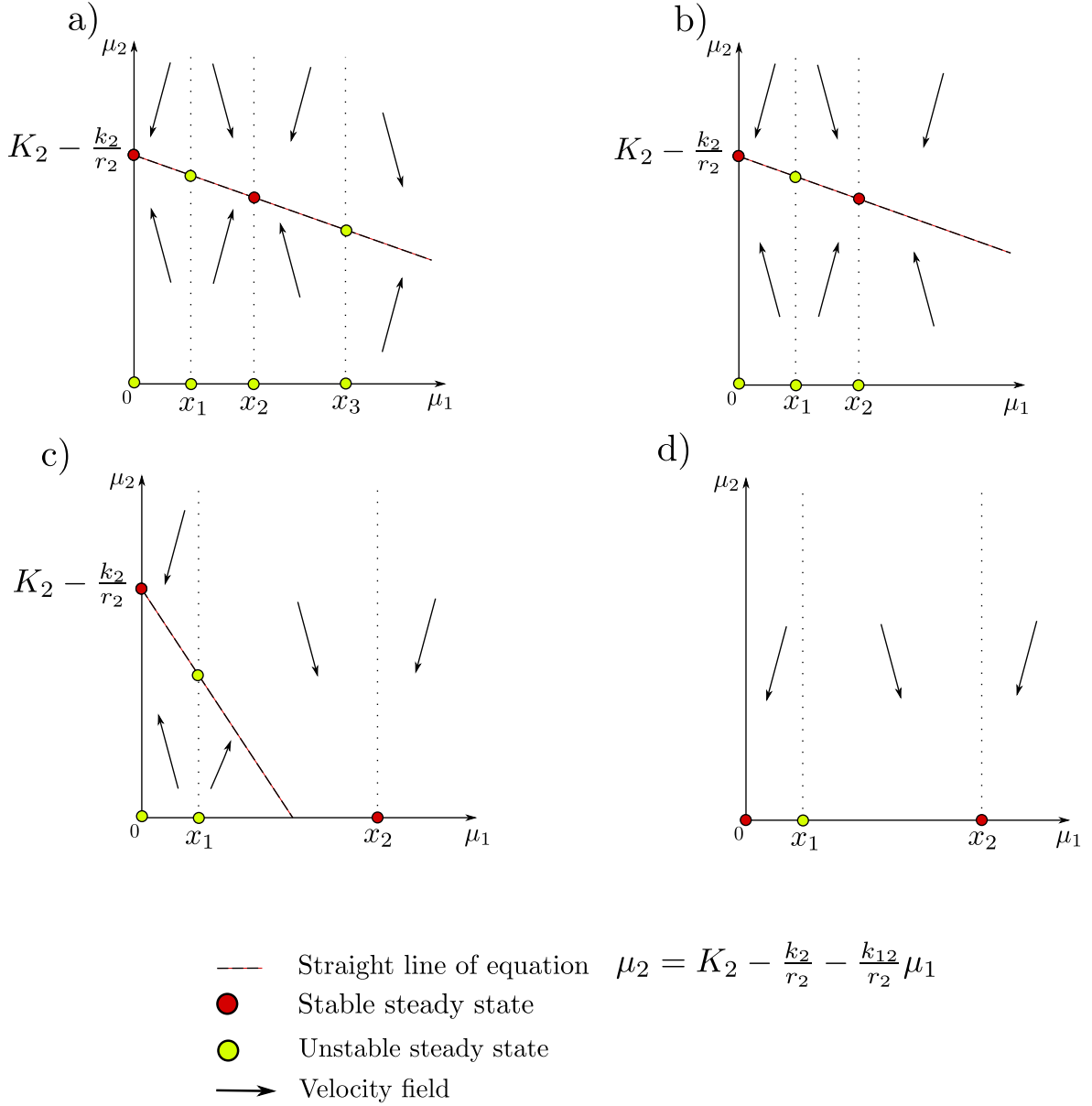


Figure 3.5 – **Schematic representation of the different steady states and of their stability in a few cases displayed in proposition 2.** In a), there exist three positive steady states (x_i, y_i) with $y_i = K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}}{r_2} x_i$, $i = 1, 2, 3$. x_2, y_2 is stable, and so is $(0, K_2 - \frac{k_2}{r_2})$, which represent two possible intracellular contents for quiescent memory cells. Given the velocity field, μ_1 can grow indefinitely which is not biologically relevant. In b), we still have these two stable steady states, but the velocity field is preventing μ_1 to tend to infinity. In c), the rate $\frac{k_{12}}{r_2}$ is too high and the steady state $(x_2, K_2 - \frac{k_2}{r_2} - \frac{k_{12}}{r_2} x_2)$ is not positive (not shown). Instead, $(x_2, 0)$ becomes stable, representing a population of cells with a very low survival rate (μ_2). In d), we have $K_2 - \frac{k_2}{r_2} < 0$. $(0, 0)$ and $(x_2, 0)$ are stable steady states but both represent populations of cells with a very low survival rate (μ_2).

3.4 Simulating primary and secondary immune responses

As mentioned in the previous section, it is not possible to theoretically access some properties due to the complexity of our model. Also, as is widely the case in modeling, no analytical solution of the model can be obtained. Hence, numerical methods are necessary to simulate the model and allow a deeper, biologically-motivated analysis. We hereafter present the numerical method used to solve our model.

3.4.1 Modeling choices for F and f_s

Regarding the rate F in (3.2), we hereafter motivate the choice of the 4 different functions (f_{div} , f_d , f_{Fas} and f_{AICD}) that compose it.

We define the division rate $f_{div}(\mu_1)$ as

$$f_{div}(\mu_1) = \frac{\gamma_{div}(\mu_1 - \alpha)}{\theta_{div} + (\mu_1 - \alpha)} \chi_{\{\mu_1 > \alpha\}}(\mu_1).$$

We use a first order Hill function to account for the biological boundedness of a division rate. This function is shifted to equal zero for $\mu_1 < \alpha$ (i.e., Ki67- cells do not proliferate) and is positive only for $\mu_1 > \alpha$ (i.e. for Ki67+ cells). Consequently, memory and late effector cells do not proliferate.

The natural death rate f_d is given by

$$f_d(\mu_2) = \frac{\gamma_d}{\beta^2 + \mu_2^2},$$

a second order Hill function, adjusted to have high values for effector and late effector cells and low values for activated and memory cells (using the threshold β as a parameter).

The rate f_{Fas} is defined as

$$f_{Fas}(E) = \frac{\gamma_{Fas}E}{\theta_{Fas} + E}.$$

It is a first order Hill function describing the fact that Fas-induced cell death occurs through cell-cell contacts, and is consequently associated with a saturation effect.

Finally, the AICD rate f_{AICD} is described by a first order Hill function in P , weighted

by a term that tempers this effect for high values of μ_2 ,

$$f_{AICD}(P, \mu_2) = \frac{\gamma_{AICD} P}{\theta_{AP} + P} (\theta_{A2} + \mu_2)^{-1}.$$

The source term f_s is described by a uniform repartition of newly activated CD8 T-cells over a disc D of center (x_m, y_m) and radius σ_m , such that $D \subset \Omega_A$:

$$f_s(t, \mu_1, \mu_2) = \frac{1}{\pi \sigma_m^2} \chi_{\{(\mu_1 - x_m)^2 + (\mu_2 - y_m)^2 \leq \sigma_m^2\}}(\mu_1, \mu_2) \left(-\frac{dN}{dt}(t) \right),$$

normalized so that

$$\forall t \in [0, T], \iint_{\Omega_A} f(t, \mu_1, \mu_2) d\mu_1 d\mu_2 = -\frac{dN}{dt}(t),$$

and therefore the number of newly activated CD8 T cell matches the number of naive cells being activated at each time t .

Next, we describe the numerical method used to simulate our model.

3.4.2 Numerical implementation

To simulate our model we chose to use a deterministic particle method (see Raviart [112] for an introduction and analytical results, and Chertock and Kurganov [31], Cohen and Perthame [34] for practical implementation). This type of methods consists in approximating a continuous density such as the one we describe in our model by a weighted sum of Dirac masses. The implementation of the method can be done in three steps :

1. Approximate both the initial condition ρ_0 and the source term f_s by weighted sums of Dirac masses (particles).
2. Make the particles' position evolve according to the speeds of the transport equation, and their weight according to the population evolution rates.
3. Recover a continuous density by convoluting the discrete density with a regularizing kernel.

In our case, since we wish to simulate both immune responses, starting with a primary response, we chose to consider that $\rho_0 = 0$, since before the primary response only naive

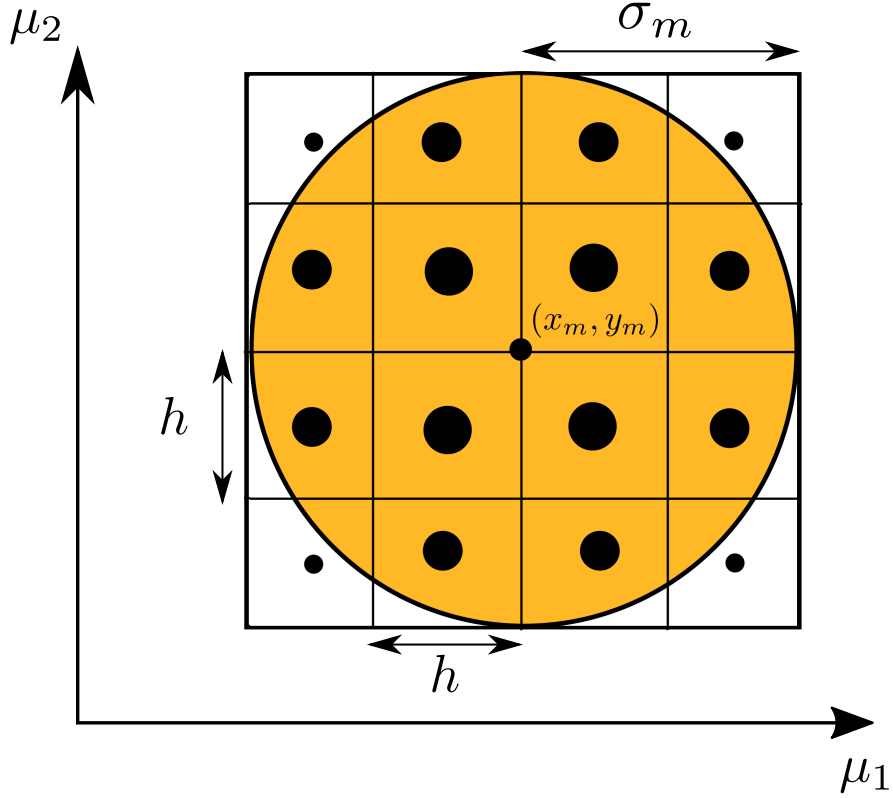


Figure 3.6 – **Illustration of the location process of newly activated cells at $t = t_k$ with $n = 4$.** The orange disk represents the support of the source of activated cells. The density of newly activated cells at time t_k is approximated by n^2 piles of cells. The black disc in each square represents the location of the corresponding pile of cells and its surface represents its weight. That weight is proportional to the intersection between the square and the pink disc.

cells are present, which leaves only the source term f_s to approximate.

To do so, we discretize the Ω_A domain to account for the generation of a heterogeneous population of activated cells following APC stimulation. Let $T > 0$, $\Delta t \in \mathbb{R}_+$, $q \in \mathbb{N}$, $n \in \mathbb{N}^*$ be fixed, such that $T = q\Delta t$, and the domain Ω_A contains a regular square of area $4\sigma_m^2$ split into n^2 smaller squares (see Figure 3.6). The newly produced activated cells are located in a regular square of center (x_m, y_m) and of area $4\sigma_m^2$ (see Figure 3.6). This square is actually split into n^2 smaller squares, denoted squares (i, j) , $i, j \in \{1, \dots, n\}$, of area h^2 , with $h = 2\sigma_m/n$. Each square (i, j) contains one pile of activated cells (represented by a Dirac mass), located in its center $(x_0^{i,j}, y_0^{i,j}) = (x_m - \sigma_m + (i - \frac{1}{2})h, y_m - \sigma_m + (j - \frac{1}{2})h)$. Hence, at time $t_k = k\Delta t$, n^2 Dirac masses may appear in Ω_A , with different maturity values. These Dirac masses represent the pool of newly activated cells, which is a heterogeneous cell population in terms of μ_1 and μ_2 expression levels.

This description of the activation process corresponds to the following approximation

for the source term f_s by a discrete source term f_{sd} :

$$f_{sd}(t, \mu_1, \mu_2) = \sum_{k=0}^q \sum_{i,j=1}^n \omega_0^{i,j,k} \delta_{t_k}(t) \otimes \delta_{(x_0^{i,j}, y_0^{i,j})}(\mu_1, \mu_2),$$

with

$$\omega_0^{i,j,k} = \alpha^{i,j} \frac{\gamma_N P(t_k)}{\theta_N + P(t_k)} N(t_k) \Delta t = -\alpha^{i,j} \Delta t \frac{dN}{dt}(t_k). \quad (3.30)$$

The initial weights $\omega_0^{i,j,k}$, $k \in \{1, \dots, q\}$, are proportional to the surface of the disc of center (x_m, y_m) and of radius σ_m within the square (i, j) (see Figure 3.6). The proportional constants $\alpha^{i,j}$ in (3.30) are given by

$$\alpha^{i,j} = \frac{1}{\pi \sigma_m^2} \iint_{\Omega^{i,j}} \chi_{\{(x-x_m)^2 + (y-y_m)^2 \leq \sigma_m^2\}}(x, y) dx dy,$$

with

$$\Omega^{i,j} = [x_m - \sigma_m + (i-1)h; x_m - \sigma_m + ih] \times [y_m - \sigma_m + (j-1)h; y_m - \sigma_m + jh].$$

The constants $\alpha^{i,j}$ have been normalized so that $\sum_{i,j=1}^n \alpha^{i,j} = 1$, and therefore, for $k \in \{1, \dots, q\}$,

$$\sum_{i,j=1}^n \omega^{i,j,k}(t_k) = -\frac{dN}{dt}(t_k) \Delta t \simeq N(t_{k-1}) - N(t_k).$$

This indicates that the total quantity of cells activated at time t_k is a correct approximation of the number of naive cells which differentiated between times t_{k-1} and t_k .

We look for a weak solution ρ_d of (3.2) of the form :

$$\rho_d(t, X) = \sum_i \alpha_i(t) \delta(X - X_i(t)).$$

By injecting ρ_d and f_{sd} into a weak form of (3.2), we obtain the following weak solution

$$\rho_d(t, \mu_1, \mu_2) = \sum_{k=1}^q \sum_{i,j=1}^n \omega^{i,j,k}(t) \delta_{X^{i,j,k}(t)}(\mu_1, \mu_2),$$

where $\delta_{X^{i,j,k}(t)}$ is the Dirac mass accounting for cells whose intracellular content is

$$X^{i,j,k}(t) = \left(\mu_1^{i,j,k}(t), \mu_2^{i,j,k}(t) \right),$$

whose position in the (μ_1, μ_2) plane evolves following the set of differential equations

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{d}{dt} \mu_1^{i,j,k}(t) = v_1(P(t), \mu_1^{i,j,k}(t), \mu_1^{i,j,k}(t-\tau)), & t > t_k, \\ \frac{d}{dt} \mu_2^{i,j,k}(t) = v_2(P(t), \mu_1^{i,j,k}(t), \mu_2^{i,j,k}(t)), & t > t_k, \\ \mu_1^{i,j,k}(t) = x_0^{i,j}, & t \in [0, t_k], \\ \mu_2^{i,j,k}(t) = y_0^{i,j}, & t \in [0, t_k]. \end{array} \right. \quad (3.31)$$

The weight $\omega^{i,j,k}(t)$, $(i, j, k) \in \{1, \dots, n\}^2 \times \{1, \dots, q\}$, which gives the quantity of cells with maturities $(\mu_1^{i,j,k}(t), \mu_2^{i,j,k}(t))$ at time t satisfies

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{d}{dt} \omega^{i,j,k}(t) = G(\mu_1, \mu_2, P(t), E(t)) \omega^{i,j,k}(t), & t > t_k, \\ \omega^{i,j,k}(t) = 0, & t \in [0, t_k), \\ \omega^{i,j,k}(t_k) = \alpha^{i,j} \frac{\gamma_N P(t_k)}{\theta_N + P(t_k)} N(t_k) \Delta t, & \end{array} \right. \quad (3.32)$$

with $G = F - \frac{\partial v_1}{\partial \mu_1} - \frac{\partial v_2}{\partial \mu_2}$, P the amount of pathogen, E the amount of effector cells, given by

$$E(t) = \sum_{k=1}^q \sum_{i,j=1}^n \omega^{i,j,k}(t) \chi_{\Omega_{EE} \cup \Omega_{LE}}(X^{i,j,k}(t)),$$

and χ_{Ω} the indicator function of Ω .

The PDE we want to solve numerically is therefore turned into a system of ODEs, making numerical simulations faster and easier to implement. On top of that, in our case, we have to estimate the quantity $E(t)$ at each time step, which can be computationally costly since it consists in integrating the density ρ . With the particle method, this integration becomes a simple sum, which can be computed much faster than the integration mentioned just above.

To numerically solve System (3.31)–(3.32), we use an explicit Euler method with time step δt , such that $\Delta t / \delta t \in \mathbb{N}^*$. The latter property allows to manually handle the discontinuities in (3.32).

In order to display a smooth approximation of ρ , we convolute ρ_d with a rescaled cut-off function φ , so that

$$\rho_\varepsilon = \rho_d \star \frac{1}{\varepsilon^2} \varphi\left(\frac{\cdot}{\varepsilon}, \frac{\cdot}{\varepsilon}\right).$$

For our simulations, we chose

$$\varphi(x, y) = \frac{1}{I} e^{-\frac{1}{1-(x^2+y^2)}} \chi_{\{x^2+y^2 < 1\}}(x, y),$$

where

$$I = \iint_{\mathbb{R}^2} e^{-\frac{1}{1-(x^2+y^2)}} \chi_{\{x^2+y^2 < 1\}}(x, y).$$

The computation of ρ_ε is useful only to be able to observe the behavior of ρ , the total density of CD8 T cells, as a smooth density. Subpopulation dynamics can be obtained by summing the weights $\omega^{i,j,k}(t)$ over the appropriate domains.

Convergence of this type of methods is investigated by Raviart [112] in linear cases. Although our model is not linear, since all rates and speeds taken in consideration are bounded, we expect similar results to hold. Raviart [112] shows the error between the actual solution ρ and the convoluted solution ρ_ε to be a $\mathcal{O}(\varepsilon^{m_1}) + \mathcal{O}\left(\left(\frac{h}{\varepsilon}\right)^{m_2}\right)$, where m_1 and m_2 are two integers which depend on the smoothness of the cut-off function φ . The error cannot tend to zero as the ratio $\frac{h}{\varepsilon}$ and ε cannot both be as small as possible. This is due to a loss of information which occurs in the convolution process may ε be too small.

However, this numerical method converges weakly (Raviart [112]) as we have

$$\forall \phi \in C_0^\infty(\mathbb{R}_+^2), \lim_{h \rightarrow 0} \langle \rho(t, \cdot) - \rho_d(t, \cdot), \phi \rangle = 0$$

uniformly in $t \in [0, T]$, with the scalar product defined by

$$\forall f, g \in L^2(\mathbb{R}_+^2), \langle f, g \rangle = \iint_{\mathbb{R}_+^2} f g$$

. This result is of importance in our case since the outputs of our model are the number of naive, activated, early effector, late effector and memory cells. In our case, the activated cell count, for example, is obtained by $A(t) = \langle \rho_d(t, \cdot), \chi_{\Omega_A} \rangle, t \in [0, T]$. Although χ_{Ω_A} is neither continuous nor of finite support, but since for $t \in [0, T]$, the dirac masses' position

are continuous regarding time, they can only reach a finite position, which handles the issue with the finite support. Regarding the issue with the continuity, such a characteristic function can be approximated by a continuous function using the regularizing properties of convolution.

All this makes us expect a correct approximation of the CD8 T cell counts using this particle method. Next, we present a few numerical simulations that show that the model behaves qualitatively well and reproduces the mains aspects of both the primary and secondary immune responses.

3.4.3 Numerical results

We first present a simulation (Figures 3.7 and 3.8) of System (3.2)–(3.3) that shows a qualitatively correct behavior of the model at both scales and for both primary and secondary responses. All parameter values (given in Table 2) have been adjusted (not estimated at this stage) to qualitatively reproduce a typical CD8 T cell immune response.

Figure 3.7 displays the convoluted density ρ_ε at different time steps of a primary and a secondary immune response, in the case where System (3.1) has a stable steady state located in Ω_M .

In Figure 3.7, activated cells, produced by the stimulation of naive cells, appear in the Ω_A domain (top right part of the maturity space) and start ‘moving’ following the linear differentiation scheme from Figure 3.1 (see Figures 3.7.(a) to 3.7.(c)). The intracellular system behaves as expected on Figure 3.3: the density ρ tends towards a weighted Dirac mass located at the intracellular steady state similarly to the results shown in Friedman et al. [51, 52]. This Dirac mass represents the pool of quiescent memory cells generated after the primary response. The population of memory cells is less heterogeneous than the initial naive and activated cell populations. This is expected: the immune response selects cells able to fight the pathogen, and generates a memory cell population characterized by its ability to fight a given pathogen, and not all pathogens.

Then from Figure 3.7.(d) more APC bearing the same antigen are added to the model to mimic a re-stimulation of the CD8 T cell population. A secondary response starts, memory cells are being activated. On Figures 3.7.(e) and 3.7.(f) cells follow once again the linear differentiation scheme and in the end generate memory cells again. During the

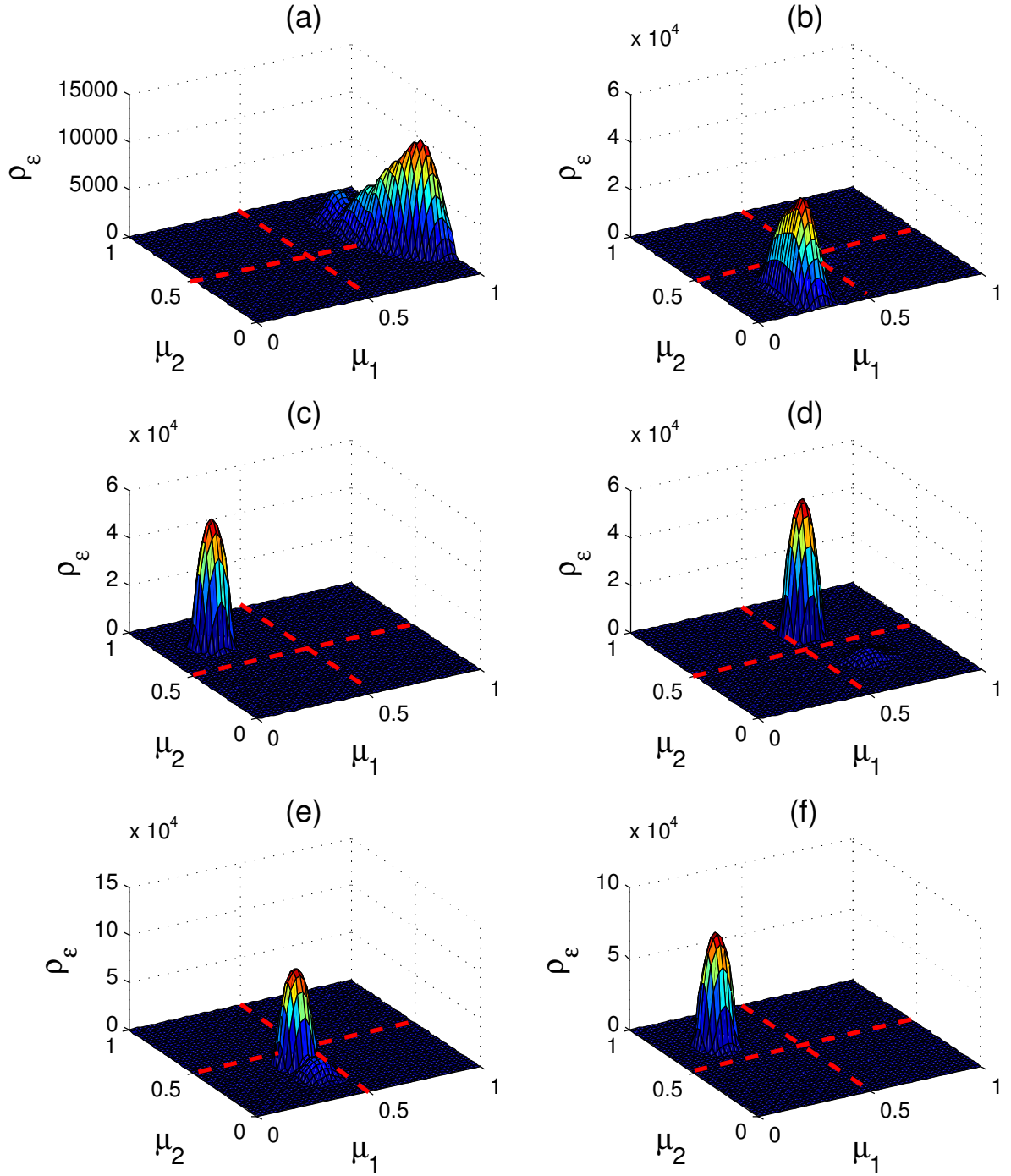


Figure 3.7 – **Simulation of ρ_ε in the case where (3.1) has a strictly positive stable steady state.** Red dashed lines represent the limits of domains Ω_A , Ω_{EE} , Ω_{LE} and Ω_M (α and β values). The pictures show ρ_ε at different time steps: following a primary stimulation, CD8 T cells are activated and differentiate into early effector cells (a), then to late effector cells (b), and finally to memory cells (c); upon re-stimulation by the same pathogen, memory CD8 T cells are activated (d), and start a new cycle, differentiating into early and late effector cells (e) and again in memory cells (f).

secondary response, almost all memory cells initially present are activated at the same time since ρ , the CD8 T cell population density, is very close to a Dirac mass (lesser heterogeneity). Actually, due to the concentration on a Dirac mass of the memory cell population, the pool of memory cells may present an absence of heterogeneity which means that all the memory cells will behave the same way during the secondary response. Although a reduction of heterogeneity is expected during the immune response, such a lack of heterogeneity is not really relevant biologically.

Figure 3.8 shows the subpopulation counts obtained during the response illustrated in Figure 3.7. The total population count (Figure 3.8.(f)) matches qualitatively the data from Murali-Krishna et al.[102] regarding the primary response. The peak of the response occurs between days 5-8 post-infection, and reaches around $3 \cdot 10^5$ cells (see Crauste et al.[37]). The contraction phase has the right order of magnitude: it ends between days 10-15 post-infection, and approximately 10% of CD8 T cells at the peak of the response finally account for long lasting memory cells. Regarding subpopulation counts, naive cells (Figure 3.8.(a)) rapidly reach non-measurable counts, as activated (Figure 3.8.(b)), early effector (Figure 3.8.(c)) and late effector (Figure 3.8.(d)) cells present a burst before going extinct, while memory cells (Figure 3.8.(e)) are the only CD8 phenotype remaining after the primary response. From Figure 3.8.(b), curves have been shifted to the right with a three-day delay, since in our model activation of naive cells and generation of activated cells occur instantly after APC contact, while in reality APC do not present themselves to naive cells right after an infection, and a three-day delay is experimentally observed[45, 102]. Even though these results only represent a qualitative reproduction of CD8 T cell dynamics, the kinetics are in good agreement with experimental data, as the peak occurs around days 5-8 post-infection and memory cells start to appear around day 7 post-infection and are the main CD8 T cell subsets from day 15 post-infection[38]. At $t = 29$ days, we manually inject more pathogen into the system. As expected, memory cells become activated again. The activated cells differentiate into effector cells much faster than during the primary response (see Figure 3.8.(b)) which is biologically coherent. Also, the generation of memory cells occurs much faster (5 days post re-infection) and the memory cells count is higher after the secondary response than it was after the primary one. Though we don't have biological data to compare this behavior with for the secondary response, the main

feats of the model are coherent with what's expected from a secondary response.

At last, we show on figure 3.9 the subpopulation counts obtained with the model during three primary responses, each one corresponding to a different initial amount of pathogen P_0 . In agreement with Kaech and Ahmed [73], van Stipdonk et al. [130], our model reproduces the pre-programmed aspect of the immune response as the amount of pathogen does not impact the linear differentiation scheme of the CD8 T cells. Also, as described in Antia et al. [8], Kaech and Ahmed [73], the pathogen amount in our model influences the amplitude of the response. We observe that a simulated primary response with $P_0 = 10000$ generates far less memory cells than a response with $P_0 = 50000$, but increasing P_0 to a higher value (150000) does not increase the memory cells pool that much. Also, the higher P_0 , the later memory cells are generated, as CD8 T cells spend more time as effector and late effector cells because it takes more time to clear the infection. On these aspects, our model is relevant biologically. Also, this illustrates the fact that an optimal generation of memory cells (both in number and speed) therefore cannot be obtained by simply increasing the initial pathogen count as much as possible.

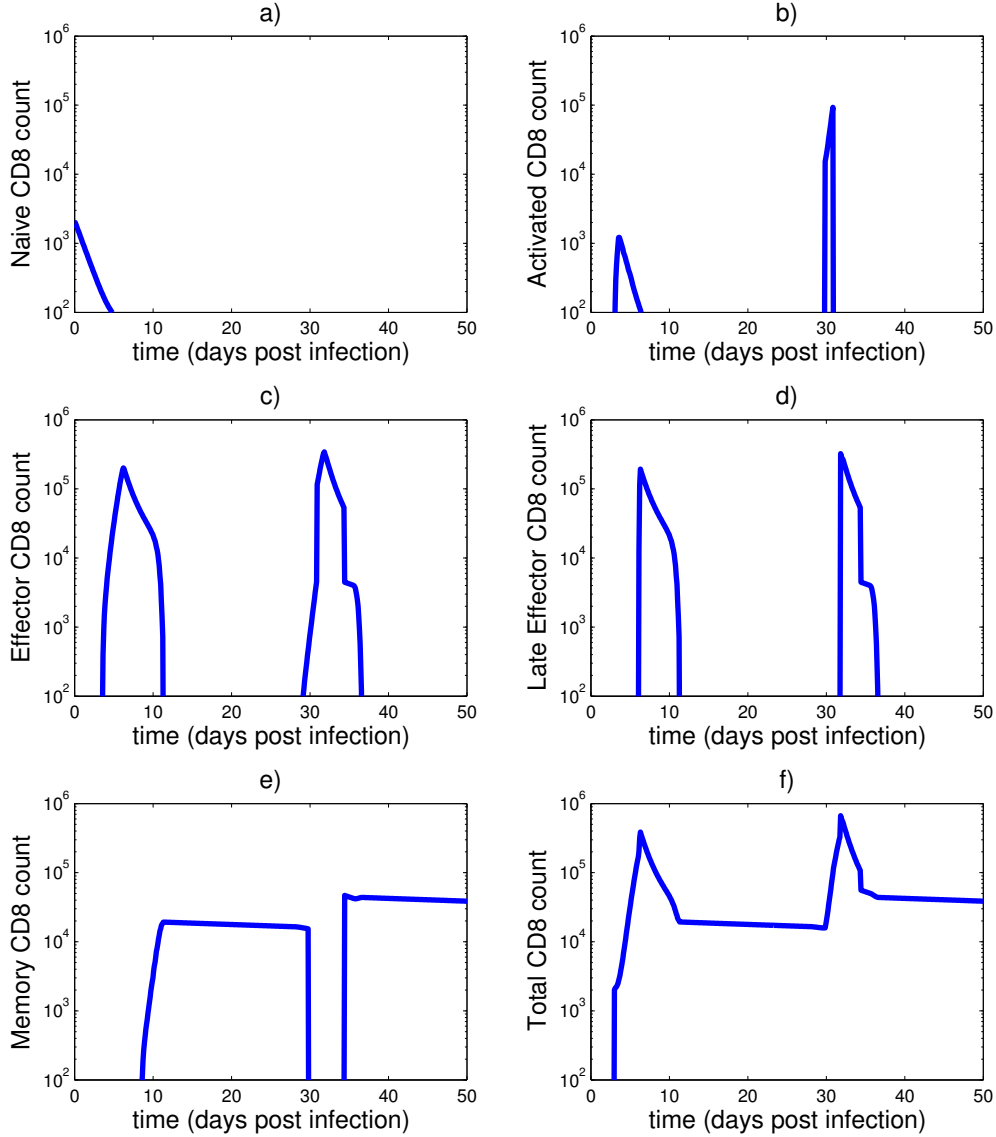


Figure 3.8 – **Subpopulation counts for the primary and secondary response displayed in Figure 3.7.** A log-scale is used for the y-axis, a standard representation of CD8 T cell counts. Naive (a), activated (b), early effector (c), late effector (d) and memory (e) cell counts are represented over 50 days post-infection (the infection occurs at day 0), as well as the total CD8 T cell counts (f). At $t = 29$ days, more pathogen is injected into the system to trigger a secondary response.

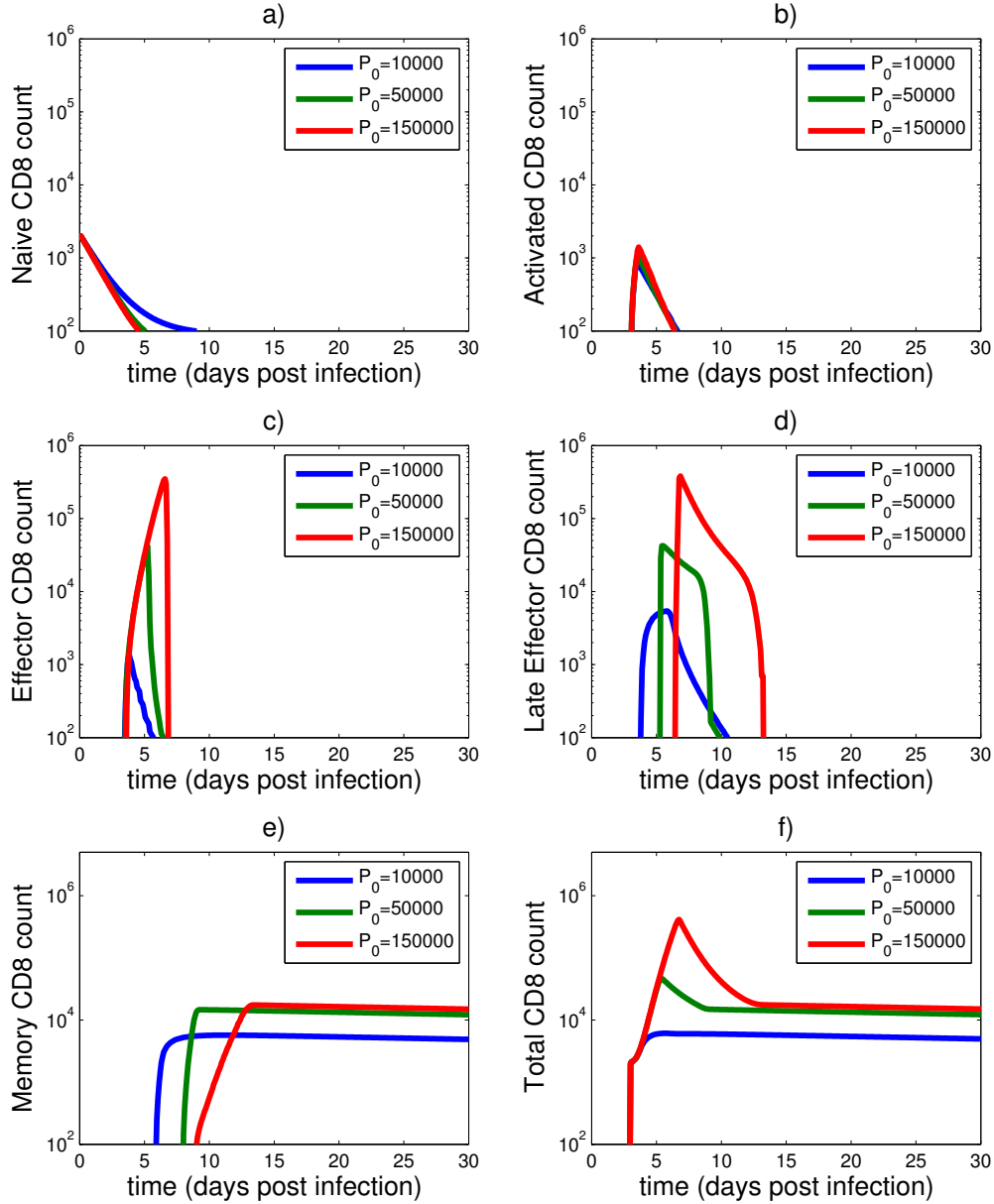


Figure 3.9 – **Subpopulation counts for the primary immune response for different values of P_0** A log-scale is used for the y-axis, a standard representation of CD8 T cell counts. Naive a), activated b), early effector c), late effector d) and memory e) cell counts are represented over 30 days post-infection (the infection occurs at day 0), as well as the total CD8 T cell counts f) for different values of the pathogen count P_0 .

Table 3.4 – **Parameters values used for numerical results displayed in Figures 3.7 to 3.9.** Only the values of parameters P_0 and T are different for Figure 3.9 ($T = 30$ and P_0 takes different values).

Parameter type	Parameter	Value
Naive	γ_N	0.7
	θ_N	10^3
	N_0	2.10^3
APC	γ_E	1
	θ_E	5.10^4
	k_P	0.5
	P_0	10^5
Intracellular	γ_{r1}	2.51
	θ_{r1}	0.0626
	γ_{l1}	3
	θ_{l1}	0.2383
	k_1	0.58
	γ_{P1}	1.6
	θ_{P1}	3.10^4
	$K2$	1.37
	$r2$	0.91
	$k2$	0.078
	γ_{P2}	1.1
	θ_{P2}	10^5
	k_{12}	2.27
Domains	α	0.5
	β	0.5
Source	x_m	0.8
	y_m	0.75
	σ_m	0.05
Population	γ_d	0.01
	γ_{AICD}	0.1
	θ_{AP}	5.10^4
	θ_{A2}	0.5
	γ_{div}	0.5
	θ_{div}	10
	γ_F	1
	θ_F	5.10^4
Simulation	n	5
	δt	0.2238
	Δt	0.2238
	T	50

3.5 Discussion

We introduced a multiscale model of the CD8 T cell immune response to an acute infection, accounting for both intracellular dynamics and CD8 T cell behavior at the population scale. Compared to most previous multiscale models of the CD8 T cell immune response, this model is based on a deterministic description of cell and molecular processes using differential equations and a continuous approach. Stochasticity is nevertheless introduced in the description of the activation process: the population of activated naive cells that starts proliferating has heterogeneous intracellular content. The model is hence able to describe complex behaviors as well as primary and secondary immune responses, from a qualitative point of view at this stage.

Using an intracellular network developed in a previous work [108] as well as recently obtained experimental data [38], we proposed a simplified and reduced network describing the dynamics of only two proteins, Ki67 and Bcl2, whose evolution at the single cell level is influenced by APC. These two proteins allowed to sort out CD8 T cells into four subpopulations, activated, early effector, late effector and memory cells[38] that are characterized by specific behaviors and functions (regarding proliferation and survival). By describing cell population dynamics with a cell density whose dynamics explicitly depend on the intracellular model, we built a model coupling the phenomena occurring at the population scale and the intracellular scale for CD8 T cells that efficiently describes CD8 T cell dynamics and runs much faster than agent-based models. Contrary to Prokopiou et al.[108], who modeled only the early stages of a primary response, we were able to describe the generation of memory cells (as in Terry et al.[127] and Crauste et al.[37]), but also secondary responses, and our model can be used to investigate the consequences of molecular events on the generation of memory cells.

Using a fixed point theorem, we showed existence, uniqueness and positivity (important for the model to be biologically relevant) of solutions of our mathematical model. The study of the steady states of the intracellular system showed the existence, depending on model parameters, of a stable positive steady state in the maturation space, which can represent long-lived memory cells. In this case, similarly to the work done in Friedman et al.[51, 52] for a continuous model, numerical simulations showed that CD8 T cells could

all asymptotically concentrate around that intracellular steady state (see Figure 3.7).

Numerical simulations also showed that the model behaves correctly qualitatively regarding both its ability to account for the linear differentiation scheme we adopted and its description of CD8 T cell subpopulation counts over time for both the primary and secondary responses. Obviously, a parameter estimation procedure based on experimental data would surely allow a better description of CD8 T cell counts, yet this has not been performed here because it needs technical developments and would considerably increase the size of this manuscript. Numerical resolution of the model is very fast (less than a minute on a personal laptop), which is a great advantage compared to most multiscale models of the CD8 T cell response that are based on agent-based approaches (this is the case of model in Prokopiou et al.[108], built in our group), especially in order to estimate parameter values by confronting the model to experimental data and later use the model to make predictions.

On the downside, some features of CD8 T cell responses are not described in our model. The stimulation of CD8 T cells by APC, for instance, is partly a spatial process: it depends on the position of CD8 T cells and APC in a spatial domain, since it occurs through contacts (as modeled in Prokopiou et al.[108]). In our model, all cells are uniformly stimulated by APC, not taking into account the stochastic repartition and movement of the different types of cells, yet this is compensated by the generation of a heterogeneous activated cell population at the intracellular scale (the same issue occurs for cytotoxic cells attacking APC, or leading other cells to apoptosis through the Fas-FasL interaction). In the same way, our model neglects parameter variability among cells: all cellular processes (proliferation, death) are characterized by the same parameter values for a given type of cells. This could be taken into account by using mixed effects models, in which parameters can be given a distribution law to take into account individual variability. Regarding these aspects, our model can be interpreted as the mean behavior of a model that would take these processes into account.

Also, the model does not take into account other types of cells involved in a CD8 T cell response, such as CD4 helper T cells which secrete cytokines into the environment to help other lymphocytes, or T-reg cells whose role is to prevent autoimmune responses[2]. This is however a feature common to most multiscale models, as it is difficult to reach

a high level of description while maintaining tractability (not too long simulation times, capacity to estimate parameter values, etc.) of the models. As briefly mentioned above, the model does not consider the fact that CD8 T cells encounter APC in lymph nodes and then migrate through the blood flow. The way we describe APC/CD8 T cell stimulation and the subsequent CD8 T cell response corresponds to a simplified description of what would be observed, in terms of cell counts, only in one lymphoid organ, the blood. However, such complexifications of the model could be implemented once the model has been quantitatively validated, by using the same approach.

In the next chapter, we introduce a similar model in which the biological delay induced by the chain of feedback between IL2, IL2R and Blimp-1 is further taken into account by introducing a delay into the intracellular system.

Chapter 4

A discrete multiscale model of the CD8 immune response structured by maturity

Dans ce chapitre, on présente un modèle résultant d'une modification de celui du chapitre précédent afin de décrire la dynamique intracellulaire de façon plus réaliste. Cela a pour conséquence de modifier le formalisme utilisé dans le modèle du Chapitre 3. Ce modèle a été soumis au journal M3AS (conjointement au travail présenté au Chapitre 3). La partie du modèle décrivant l'évolution des maturités des cellules T-CD8 prend maintenant la forme d'un système différentiel à retard, pour mieux modéliser l'action sur une échelle de temps plus longue de la protéine blimp-1 sur les capacités de prolifération de la cellule Martins et al. [89]. En conséquence, on ne peut plus modéliser la population de cellules comme la solution d'une équation de transport. On la modélise cependant par une densité discrète (somme de masses de Dirac), qui évoluent dans le plan de maturité (μ_1, μ_2) suivant le système à retard. L'existence des équilibres intracellulaires strictement positifs étudiée au Chapitre 3 n'est pas modifiée, mais le retard peut engendrer, pour des valeurs assez grandes, une perte de stabilité. L'apparition de solutions périodiques pour le système intracellulaire permet de générer une population de cellules mémoires hétérogènes, ce qui constitue une amélioration du modèle du Chapitre 3.

4.1 Modifications of the model presented in Chapter 3

In this model, the CD8 T-cells, except for the naive cells, are still separated into four subpopulations depending on their proliferation and survival capabilities and still follow the linear differentiation scheme from figure 3.1. The intracellular content of CD8 T cells is still described by the levels of expression μ_1 and μ_2 and the intracellular scheme remains similar to the one on figure 3.2. However, to increase the influence of the late action of the protein blimp-1 (see Martins et al. [89]), the system describing the intracellular content of the CD8 T-cells is modified to introduce a delay term. The new intracellular system is given by

$$\begin{cases} \frac{d\mu_1}{dt}(t) = \left(\frac{\gamma_{P1}P(t)}{\theta_{P1} + P(t)} + \frac{\gamma_{r1}\mu_1(t)}{\theta_{r1} + \mu_1(t)} - k_1 - \frac{\gamma_{l1}\mu_1^2(t-\tau)}{\theta_{l1}^2 + \mu_1^2(t-\tau)} \right) \mu_1(t), \\ \frac{d\mu_2}{dt}(t) = \left(\frac{\gamma_{P2}P(t)}{\theta_{P2} + P(t)} + r_2(K_2 - \mu_2(t)) - k_{12}\mu_1(t) - k_2 \right) \mu_2(t), \end{cases} \quad (4.1)$$

Given that the intracellular system is now a delay dependent system, the existence of a continuous density of cells is no longer guaranteed. We describe the population of CD8 T-cells using a discrete density, with a sum of Dirac masses whose position in the (μ_1, μ_2) space evolves according to the delay dependent speeds of maturation introduced in (4.1).

Activated, early effector, late effector and memory cell counts are represented by a weighted sum of Dirac masses, depending on time t and position (μ_1, μ_2) in the maturity space. Each cell subset is defined by the same maturity levels (see Table 3.2). Since the model is deterministic, cells with the same maturity level behave identically, and are then represented by a single Dirac mass.

Let $T > 0$ be fixed and let solve the model on the time interval $[0, T]$. Even though the number of CD8 T cells is computed in the continuous interval $[0, T]$, we assume differentiation of naive cells into activated cells occurs at discrete times. To do so, we split the time interval $[0, T]$ in q intervals of length Δt . At each time $t_k = k\Delta t$, $k \in \{1, \dots, q\}$, new activated cells may appear in the Ω_A -plane upon stimulation of naive cells by APC. One may note that the appearance of new activated cells will depend both on the number of remaining naive cells, and on the presence of pathogen that could stimulate them via APC.

We discretize the Ω_A domain to account for the generation of a heterogeneous population of activated cells following APC stimulation. The newly produced activated cells are located in a regular square of center (x_m, y_m) and of area $4\sigma_m^2$ (see Figure 3.6). This square is actually split into n^2 smaller squares, denoted squares (i, j) , $i, j \in \{1, \dots, n\}$, of area h^2 , with $h = 2\sigma_m/n$. Each square (i, j) contains one pile of activated cells, located in its center $(x_0^{i,j}, y_0^{i,j}) = (x_m - \sigma_m + (i - \frac{1}{2})h, y_m - \sigma_m + (j - \frac{1}{2})h)$. Hence, at time t_k , n^2 Dirac masses may appear in Ω_A , with different maturity values. These Dirac masses represent the pool of newly activated cells, which is a heterogeneous cell population in terms of μ_1 and μ_2 expression levels.

The amount of cells with maturity μ_1 and μ_2 is then described with a discrete density ρ , defined for $t \in [0, T]$ and $\mu_1, \mu_2 > 0$, by

$$\rho(t, \mu_1, \mu_2) = \sum_{k=1}^q \sum_{i,j=1}^n \omega^{i,j,k}(t) \delta_{X^{i,j,k}(t)}(\mu_1, \mu_2),$$

where $\delta_{X^{i,j,k}(t)}$ is the Dirac mass accounting for cells whose intracellular content is

$$X^{i,j,k}(t) = \left(\mu_1^{i,j,k}(t), \mu_2^{i,j,k}(t) \right).$$

The maturities $(\mu_1^{i,j,k}, \mu_2^{i,j,k})$ evolve according to the following system :

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{d}{dt} \mu_1^{i,j,k}(t) = v_1(P(t), \mu_1^{i,j,k}(t), \mu_1^{i,j,k}(t-\tau)), & t > t_k, \\ \frac{d}{dt} \mu_2^{i,j,k}(t) = v_2(P(t), \mu_1^{i,j,k}(t), \mu_2^{i,j,k}(t)), & t > t_k, \\ \mu_1^{i,j,k}(t) = x_0^{i,j}, & t \in [-\tau, t_k], \\ \mu_2^{i,j,k}(t) = y_0^{i,j}, & t \in [0, t_k]. \end{array} \right. \quad (4.2)$$

The weight $\omega^{i,j,k}(t)$, $(i, j, k) \in \{1, \dots, n\}^2 \times \{1, \dots, q\}$, which gives the quantity of cells

with maturities $(\mu_1^{i,j,k}(t), \mu_2^{i,j,k}(t))$ at time t satisfies

$$\begin{cases} \frac{d}{dt}\omega^{i,j,k}(t) = F(\mu_1, \mu_2, P(t), E(t))\omega^{i,j,k}(t), & t > t_k, \\ \omega^{i,j,k}(t) = 0, & t \in [0, t_k), \\ \omega^{i,j,k}(t_k) = \alpha^{i,j} \frac{\gamma_N P(t_k)}{\theta_N + P(t_k)} N(t_k) \Delta t, \end{cases} \quad (4.3)$$

with P the amount of pathogen, E the amount of effector cells, given by

$$E(t) = \sum_{k=1}^q \sum_{i,j=1}^n \omega^{i,j,k}(t) \chi_{\Omega_{EE} \cup \Omega_{LE}}(X^{i,j,k}(t)),$$

and χ_{Ω} the indicator function of Ω .

Similarly to the previous chapter, the number of naïve cells and the pathogen count at time t , respectively $N(t)$ and $P(t)$ follow :

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt}(t) = -\frac{\gamma_N P(t)}{\theta_N + P(t)} N(t), \\ \frac{dP}{dt}(t) = -k_P P(t) - \frac{\gamma_E E(t)}{\theta_E + E(t)} P(t), \end{cases} \quad (4.4)$$

Biologically, in the case of a primary immune response, before stimulation of naïve cells by APC no differentiated CD8 T cell is observable. Hence, initially all the weights are null. Upon activation of n^2 naïve cells at time t_k , the weights $\omega^{i,j,k}$, $i, j \in \{1, \dots, n\}$, become positive to describe the presence of new activated cells. The initial location of the pile of cells $\delta_{X^{i,j,k}(t)}$ does not depend on k (see above). The initial weights $\omega^{i,j,k}(t_k)$, $k \in \{1, \dots, q\}$, are proportional to the surface of the disc of center (x_m, y_m) and of radius σ_m within the square (i, j) (see Figure 3.6). The proportional constants $\alpha^{i,j}$ in (4.3) are given by

$$\alpha^{i,j} = \frac{1}{\pi \sigma_m^2} \iint_{\Omega^{i,j}} \chi_{\{(x-x_m)^2 + (y-y_m)^2 \leq \sigma_m^2\}}(x, y) dx dy,$$

with

$$\Omega^{i,j} = [x_m - \sigma_m + (i-1)h; x_m - \sigma_m + ih] \times [y_m - \sigma_m + (j-1)h; y_m - \sigma_m + jh].$$

The constants $\alpha^{i,j}$ have been normalized so that $\sum_{i,j=1}^n \alpha^{i,j} = 1$, and therefore, for $k \in$

$\{1, \dots, q\}$,

$$\sum_{i,j=1}^n \omega^{i,j,k}(t_k) = -\frac{dN}{dt}(t_k) \Delta t \simeq N(t_{k-1}) - N(t_k).$$

This indicates that the total quantity of cells activated at time t_k is a correct approximation of the number of naive cells which differentiated between times t_{k-1} and t_k .

In System (4.3), the rate F is defined similarly as in section 3.2.3.

One can notice that this population model is similar to the numerical scheme defined in Chapter 3, except that we change the rate G by F , since the terms $\frac{\partial v_1}{\partial \mu_1}$ and $\frac{\partial v_2}{\partial \mu_2}$ do not make sense anymore.

4.2 Existence, Uniqueness and Local Asymptotic Behavior

4.2.1 Existence and uniqueness

In this section, we establish a result for existence and uniqueness of solutions to System (4.2)–(4.4). We assume the positivity of all parameters of the model defined in Section 4.1.

Let $T > 0$ be fixed, as well as $\Delta t \in \mathbb{R}_+$ and $q \in \mathbb{N}$ such that $T = q\Delta t$, and $n \in \mathbb{N}$ such that the domain Ω_A contains a regular square of area $4\sigma_m^2$ split into n^2 smaller squares (see Figure 3.6 and previous section). In addition, let G be the Banach space

$$G := (C^1([-\tau, T], \mathbb{R}_+))^{qn^2} \times (C^1([0, T], \mathbb{R}_+))^{qn^2} \times (L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+))^{qn^2},$$

equipped with the norm

$$\|U\|_G = \max_{1 \leq i \leq qn^2} \left\{ \max \left(\|U_i\|_{L^\infty([-\tau, T], \mathbb{R}_+)}, \|U_{i+qn^2}\|_{L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+)}, \|U_{i+2qn^2}\|_{L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+)} \right) \right\}.$$

We successively introduce operators $\mathcal{T}_0$, $\mathcal{T}_1$, $\mathcal{T}_2$ and $\mathcal{T}_3$ to define the solutions to System (4.2)–(4.4). Let

$$\mathcal{T}_0 : V \in G \mapsto E \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+),$$

with

$$V = (V_1^{i,j,k}, V_2^{i,j,k}, V_3^{i,j,k}), i, j \in \{1, \dots, n\}, k \in \{1, \dots, q\},$$

be defined, for $t \in [0, T]$, by

$$\mathcal{T}_0(V)(t) = E(t) := \sum_{k=1}^q \sum_{i,j=1}^n V_3^{i,j,k}(t) \chi_{\Omega_{EE} \cup \Omega_{LE}}(V_1^{i,j,k}(t), V_2^{i,j,k}(t)).$$

Let

$$\mathcal{T}_1 : E \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+) \mapsto P \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+),$$

with P the unique solution to

$$\frac{dP}{dt}(t) = -k_P P(t) - \frac{\gamma_E E(t)}{\theta_E + E(t)} P(t), \quad P(0) = P_0. \quad (4.5)$$

Let

$$\mathcal{T}_2 : P \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+) \mapsto N \in C^1([0, T], \mathbb{R}_+)$$

with N the unique solution to

$$\frac{dN}{dt}(t) = -\frac{\gamma_N P(t)}{\theta_N + P(t)} N(t), \quad N(0) = N_0. \quad (4.6)$$

Let

$$\mathcal{T}_3 : (E, P, N) \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+) \times C^0([0, T], \mathbb{R}_+) \times C^1([0, T], \mathbb{R}_+) \mapsto U \in G,$$

with

$$U = (\mu_1^{i,j,k}, \mu_2^{i,j,k}, \omega^{i,j,k}), \quad i, j \in \{1, \dots, n\}, k \in \{1, \dots, q\},$$

whose components are solution of Systems (4.3) and (4.2) with the corresponding autonomous functions E , P and N .

Finally, let

$$\mathcal{T}_4 : V \in G \mapsto U = \mathcal{T}_3(\mathcal{T}_0(V), \mathcal{T}_1(\mathcal{T}_0(V)), \mathcal{T}_2(\mathcal{T}_1(\mathcal{T}_0(V)))) \in G.$$

Next, we state and prove the Lipschitz properties of the operators $\mathcal{T}_0$ to $\mathcal{T}_3$ in Lemmas 7, 8, 9 and 10, allowing us to obtain the Lipschitz property of the operator $\mathcal{T}_4$.

Lemma 7. *The operator $\mathcal{T}_0$ is well defined, continuous and for $V, \tilde{V} \in G$,*

$$\|\mathcal{T}_0(V) - \mathcal{T}_0(\tilde{V})\|_\infty \leq qn^2 \|V - \tilde{V}\|_G. \quad (4.7)$$

Proof. The result is straightforward. E is well defined and the Lipschitz property is obtained directly using rough bounds. $\square$

Lemma 8. *The operator $\mathcal{T}_1$ is well defined, continuous, uniformly bounded and*

$$\|\mathcal{T}_1(E)\|_\infty \leq P_0. \quad (4.8)$$

Moreover, for $E, \tilde{E} \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+)$,

$$\|\mathcal{T}_1(E) - \mathcal{T}_1(\tilde{E})\|_\infty \leq e^{(k_P + \gamma_E)T} \frac{\gamma_P}{\theta_E} P_0 T \|E - \tilde{E}\|_\infty. \quad (4.9)$$

Proof. To prove the existence of P , we use a Banach fixed point theorem on the mapping

$$L(P)(t) := P(0) - \int_0^t \left(k_P + \frac{\gamma_E E(s)}{\theta_E + E(s)} \right) P(s) ds, \quad t \in [0, T],$$

where L is a contraction mapping for T small enough ($T < 1/(k_P + \gamma_E)$) on $L^\infty([0, T], \mathbb{R})$, and Equation (4.5) has a unique solution on $[0, T]$. Using a standard argument, we construct the solution on $\mathbb{R}_+$ by iterating the Banach fixed point on $[T/2, 3T/2)$, $[T, 2T)$... P is well defined and continuous, therefore strictly positive for t small enough.

By contradiction, let us assume there exists t_1 such that $P(t_1) < 0$. Then, there exists $t_0 < t_1$ such that $P(t_0) = 0$ and for all $t \in (t_0, t_1)$, $P(t) < 0$. Then we have

$$\begin{aligned} P(t_1) &= P(t_0) - \int_{t_0}^{t_1} \left(k_P + \frac{\gamma_E E(s)}{\theta_E + E(s)} \right) P(s) ds \\ &= - \int_{t_0}^{t_1} \left(k_P + \frac{\gamma_E E(s)}{\theta_E + E(s)} \right) P(s) ds, \end{aligned}$$

which means $P(t_1) > 0$, hence a contradiction. We thus obtain that $0 \leq P(t) \leq P(0)$ for all $t \geq 0$ and (4.8) follows.

We now focus on proving (4.9). Given $E, \tilde{E} \in L^\infty([0, T], \mathbb{R})$, we have

$$\begin{aligned} |\mathcal{T}_1(E) - \mathcal{T}_1(\tilde{E})|(t) &\leq \int_0^t k_P |P(s) - \tilde{P}(s)| \\ &\quad + \left| \frac{\gamma_E E(s)}{\theta_E + E(s)} P(s) - \frac{\gamma_E \tilde{E}(s)}{\theta_E + \tilde{E}(s)} P(s) \right| \\ &\quad + \left| \frac{\gamma_E \tilde{E}(s)}{\theta_E + \tilde{E}(s)} P(s) - \frac{\gamma_E \tilde{E}(s)}{\theta_E + \tilde{E}(s)} \tilde{P}(s) \right| ds. \end{aligned}$$

Therefore,

$$|\mathcal{T}_1(E) - \mathcal{T}_1(\tilde{E})|(t) \leq (k_P + \gamma_E) \int_0^t |P(s) - \tilde{P}(s)| ds + P_0 T \frac{\gamma_E}{\theta_E} \|E - \tilde{E}\|_{L^\infty([0, T], \mathbb{R})}.$$

Finally, using the Gronwall inequality we obtain directly (4.9). $\square$

Lemma 9. *The operator $\mathcal{T}_2$ is well defined, continuous, uniformly bounded and*

$$\|\mathcal{T}_2(P)\|_\infty \leq N_0.$$

Moreover, for $P, \tilde{P} \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+)$,

$$\|\mathcal{T}_2(P) - \mathcal{T}_2(\tilde{P})\|_\infty \leq N_0 \frac{\gamma_N}{\theta_N} \|P - \tilde{P}\|_\infty. \quad (4.10)$$

Proof. The proof is similar to the proof of Lemma 8, except that we can directly use the Cauchy-Lipschitz theorem for existence of N for T small enough. $\square$

Lemma 10. *The operator $\mathcal{T}_3$ is well defined, continuous and for $U = (E, P, N)$, $\tilde{U} = (\tilde{E}, \tilde{P}, \tilde{N}) \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+) \times C^0([0, T], \mathbb{R}_+) \times C^1([0, T], \mathbb{R}_+)$,*

$$\|\mathcal{T}_3(U) - \mathcal{T}_3(\tilde{U})\|_G \leq K(T) T \|U - \tilde{U}\|_G, \quad (4.11)$$

with $K(T)$ a constant depending only on T (with finite values for $T = 0$) and model parameters.

Proof. Let $(i, j, k) \in \{1, \dots, n^2\}^2 \times \{1, \dots, q\}$. We first handle the definition of $\mu_1^{i,j,k}$, $\mu_2^{i,j,k}$ and $\omega^{i,j,k}$, then prove the Lipschitz properties. For both matters, the properties are obvious for $t \leq t_k$, so we consider $t > t_k$. For the existence of $\mu_1^{i,j,k}$, we apply a Banach fixed point

theorem to the mapping L_1 ,

$$\begin{aligned} L_1(\mu_1^{i,j,k})(t) &:= x_0^{i,j} + \int_{t_k}^t \left[\frac{\gamma_{P1}P}{\theta_{P1} + P}(s) + \frac{\gamma_{r1}\mu_1^{i,j,k}(s)}{\theta_{r1} + \mu_1^{i,j,k}(s)} - k_1 \right] \mu_1^{i,j,k}(s) ds \\ &\quad - \int_{t_k}^t \frac{\gamma_{l1}(\mu_1^{i,j,k}(s-\tau))^2}{\theta_{l1}^2 + (\mu_1^{i,j,k}(s-\tau))^2} \mu_1^{i,j,k}(s) ds. \end{aligned}$$

First, since $\mu_1^{i,j,k}$ is continuous, for t small enough it is positive. Noticing that

$$\left| \frac{d\mu_1^{i,j,k}}{dt} \right| \leq C_1 \mu_1^{i,j,k},$$

with $C_1 = \gamma_{P1} + \gamma_{r1} + k_1 + \gamma_{l1}$, we apply Gronwall's inequality to obtain, for t small enough,

$$x_0^{i,j} e^{-C_1 t} \leq \mu_1^{i,j,k}(t) \leq x_0^{i,j} e^{C_1 t}.$$

Therefore, $\mu_1^{i,j,k}$ is positive. Then, we notice that

$$\left\| \frac{d}{dz} \left(\frac{\gamma_{r1} z^2}{\theta_{r1} + z} \right) \right\|_{L^\infty(\mathbb{R}^+)} \leq \gamma_{r1}, \quad \left\| \frac{d}{dz} \left(\frac{\gamma_{l1} z^2}{(\theta_{l1}^2 + z^2)} \right) \right\|_{L^\infty(\mathbb{R}^+)} \leq \frac{\gamma_{l1}}{2\theta_{l1}},$$

and thus we obtain that

$$\|\mu_1^{i,j,k} - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}\|_\infty \leq \left(\gamma_{P1} + k_1 + \gamma_{l1} + \gamma_{r1} + \frac{\gamma_{l1}}{2\theta_{l1}} x_0^{i,j} e^{C_1 T} \right) T \|\mu_1^{i,j,k} - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}\|_\infty. \quad (4.12)$$

Hence L_1 is a contraction and $\mu_1^{i,j,k}$ exists and is unique for T small enough. Then, we build $\mu_1^{i,j,k}$ for all times using the same method as the one we used to build P in the proof of Lemma 8 by iterating the Banach fixed point theorem in intervals of length T ($[T/2; 3T/2], [T; 2T], \dots$).

Regarding the existence of $\mu_2^{i,j,k}$, we use the Cauchy-Lipschitz theorem and $\mu_2^{i,j,k}$ is well defined for $t > t_k$ small enough. The positivity of $\mu_2^{i,j,k}$ is obtained by noticing that $\mu_2^{i,j,k} = 0$ is a stationary solution and that $\mu_2^{i,j,k}$ is positive for t small enough. Next, let

$C_2 = \gamma_{P_2} + k_2 + r_2 K_2$. Noticing that

$$\frac{d\mu_2^{i,j,k}}{dt} \leq C_2 \mu_2^{i,j,k},$$

we have

$$\mu_2^{i,j,k}(t) \leq y_0^{i,j} e^{C_2 T}$$

and therefore μ_2 is defined and C^1 for all times.

Regarding the definition of $\omega^{i,j,k}$, the Cauchy-Lipschitz theorem gives its existence and uniqueness for $t - t_k$ small enough. Since $\omega^{i,j,k}$ is continuous for $t > t_k$, it is also positive for $t - t_k$ small enough. Next, noticing that $|d\omega^{i,j,k}/dt| \leq \|F\|_\infty$, we have

$$\omega^{i,j,k}(t_k) e^{-\|F\|_\infty(t-t_k)} \leq \omega^{i,j,k}(t) \leq \omega^{i,j,k}(t_k) e^{\|F\|_\infty(t-t_k)}.$$

Therefore $\omega^{i,j,k}(t)$ is well defined, positive and C^1 , for all $t > t_k$.

Next, we establish the Lipschitz property for the operator $\mathcal{T}_3$. Let $E, \tilde{E} \in L^\infty([0, T], \mathbb{R}_+)$, $P, \tilde{P} \in C^0([0, T], \mathbb{R}_+)$, $N, \tilde{N} \in C^1([0, T], \mathbb{R}_+)$, $V = \mathcal{T}_3(E, P, N)$ and $\tilde{V} = \mathcal{T}_3(\tilde{E}, \tilde{P}, \tilde{N})$. Let $t > t_k$.

First, regarding $\mu_1^{i,j,k}$ and $\tilde{\mu}_1^{i,j,k}$, we have for $t > t_k$,

$$\begin{aligned}
 |\mu_1^{i,j,k}(t) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(t)| &\leq \int_{t_k}^t \left| \frac{\gamma_{P1}P(s)}{\theta_{P1} + P(s)} (\mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)) \right| \\
 &\quad + \left| \left(\frac{\gamma_{P1}P(s)}{\theta_{P1} + P(s)} - \frac{\gamma_{P1}\tilde{P}(s)}{\theta_{P1} + \tilde{P}(s)} \right) \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s) \right| \\
 &\quad + \left| \left(\frac{\gamma_{l1}(\mu_1^{i,j,k}(s-\tau))^2}{\theta_{l1}^2 + (\mu_1^{i,j,k}(s-\tau))^2} \right. \right. \\
 &\quad \left. \left. - \frac{\gamma_{l1}(\tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s-\tau))^2}{\theta_{l1}^2 + (\tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s-\tau))^2} \right) \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s) \right| \\
 &\quad + \left| \frac{\gamma_{r1}\mu_1^{i,j,k}(s)}{\theta_{r1} + \mu_1^{i,j,k}(s)} \mu_1^{i,j,k}(s) - \frac{\gamma_{r1}\tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)}{\theta_{r1} + \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)} \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s) \right| \\
 &\quad + \left| \frac{\gamma_{l1}(\mu_1^{i,j,k}(s-\tau))^2}{\theta_{l1}^2 + (\mu_1^{i,j,k}(s-\tau))^2} (\mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)) \right| \\
 &\quad + k_1 |\mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)| ds,
 \end{aligned}$$

and therefore,

$$\begin{aligned}
 |\mu_1^{i,j,k}(t) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(t)| &\leq \int_{t_k}^t \frac{\gamma_{P1}}{\theta_{P1}} x_0^{i,j} e^{C_1 s} |P(s) - \tilde{P}(s)| + C_1 |\mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)| ds \\
 &\quad + x_0^{i,j} e^{C_1 T} \frac{\gamma_{l1}}{2\theta_{l1}} \int_{t_k}^t |\mu_1^{i,j,k}(s-\tau) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s-\tau)| ds.
 \end{aligned}$$

Noticing that

$$\begin{aligned}
 \int_{t_k}^t \left| \mu_1^{i,j,k}(s-\tau) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s-\tau) \right| ds &= \int_{t_k-\tau}^{t-\tau} \left| \mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s) \right| ds \\
 &= \int_{t_k}^{t-\tau} \left| \mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s) \right| ds \\
 &\leq \int_{t_k}^t \left| \mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s) \right| ds,
 \end{aligned}$$

we obtain

$$\begin{aligned}
 |\mu_1^{i,j,k}(t) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(t)| &\leq T \frac{\gamma_{P1}}{\theta_{P1}} (x_m + \sigma_m) e^{C_1 T} \|P - \tilde{P}\|_\infty \\
 &\quad + \left((x_m + \sigma_m) e^{C_1 T} \frac{\gamma_{l1}}{2\theta_{l1}} + C_1 \right) \int_{t_k}^t |\mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)| ds.
 \end{aligned}$$

Finally, using Gronwall's inequality, we obtain the Lipschitz property for $\mu_1^{i,j,k}$,

$$\|\mu_1^{i,j,k} - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}\|_\infty \leq T K_1(t) \|P - \tilde{P}\|_\infty,$$

with

$$K_1(T) = \frac{\gamma_{P1}}{\theta_{P1}} (x_m + \sigma_m) e^{C_1 T} \exp \left(\left((x_m + \sigma_m) e^{C_1 T} \frac{\gamma_{l1}}{2\theta_{l1}} + C_1 \right) T \right).$$

We do the same with $\mu_2^{i,j,k}$. We have for $t \in [t_k; T]$,

$$\begin{aligned}
 |\mu_2^{i,j,k}(t) - \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(t)| &\leq \int_{t_k}^t \left| \frac{\gamma_{P2}P(s)}{\theta_{P2} + P(s)} \mu_2^{i,j,k}(s) - \frac{\gamma_{P2}P(s)}{\theta_{P2} + P(s)} \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s) \right| \\
 &\quad + \left| \frac{\gamma_{P2}P(s)}{\theta_{P2} + P(s)} \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s) - \frac{\gamma_{P2}\tilde{P}(s)}{\theta_{P2} + \tilde{P}(s)} \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s) \right| \\
 &\quad + r_2 K_2 \left| \mu_2^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s) \right| \\
 &\quad + r_2 \left| (\mu_2^{i,j,k}(s))^2 - (\tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s))^2 \right| \\
 &\quad + k_{12} \left| \mu_1^{i,j,k}(s) (\mu_2^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s)) \right| \\
 &\quad + k_{12} \left| \mu_2^{i,j,k}(s) (\mu_1^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_1^{i,j,k}(s)) \right| \\
 &\quad + k_2 |\mu_2^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s)| ds.
 \end{aligned}$$

Hence

$$\begin{aligned}
 |\mu_2^{i,j,k}(t) - \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(t)| &\leq \int_{t_k}^t (C_2 + k_{12}(x_m + \sigma_m) e^{C_1 T} \\
 &\quad + 2r_2(y_m + \sigma_m) e^{C_2 T}) \left| \mu_2^{i,j,k}(s) - \tilde{\mu}_2^{i,j,k}(s) \right| ds \\
 &\quad + \frac{\gamma_{P2}}{\theta_{P2}} (y_m + \sigma_m) e^{C_2 T} T \|P - \tilde{P}\|_{\infty} \\
 &\quad + k_{12}(y_m + \sigma_m) e^{C_2 T} K_1(T) T^2 \|P - \tilde{P}\|_{\infty}.
 \end{aligned}$$

By using Gronwall's inequality, we obtain

$$\|\mu_2^{i,j,k} - \tilde{\mu}_2^{i,j,k}\|_{\infty} \leq T K_2(T) \|P - \tilde{P}\|_{\infty},$$

with

$$\begin{aligned}
 K_2(T) &= (y_m + \sigma_m) \left(\frac{\gamma_{P2}}{\theta_{P2}} + k_{12} T K_1(T) \right) \times \\
 &\quad \exp \left((2C_2 + k_{12}(x_m + \sigma_m) e^{C_1 T} + 2r_2(y_m + \sigma_m) e^{C_2 T}) T \right).
 \end{aligned}$$

Now, considering $\omega^{i,j,k}$, we have for $t \in [t_k; T]$,

$$\begin{aligned}
 |\omega^{i,j,k}(t) - \tilde{\omega}^{i,j,k}(t)| &\leq 2\|F\|_{\infty} \alpha^{i,j} \gamma_N N_0 e^{\|F\|_{\infty} T} \\
 &\quad + \int_{t_k}^t |\omega^{i,j,k}(s) - \tilde{\omega}^{i,j,k}(s)| \|F\|_{\infty} ds,
 \end{aligned}$$

and therefore, by applying Gronwall's inequality,

$$|\omega^{i,j,k}(t) - \tilde{\omega}^{i,j,k}(t)| \leq 2\|F\|_{\infty} \gamma_N N_0 e^{2\|F\|_{\infty} T} |\omega^{i,j,k}(t_k) - \tilde{\omega}^{i,j,k}(t_k)|.$$

We thus obtain that

$$|\omega^{i,j,k}(t) - \tilde{\omega}^{i,j,k}(t)| \leq 2\alpha^{i,j} \Delta t \|F\|_{\infty} \gamma_N N_0 e^{2\|F\|_{\infty} T} \times \left| \frac{\gamma_N P(t_k)}{\theta_N + P(t_k)} N(t_k) - \frac{\gamma_N \tilde{P}(t_k)}{\theta_N + \tilde{P}(t_k)} \tilde{N}(t_k) \right|.$$

Hence

$$\|\omega^{i,j,k} - \tilde{\omega}^{i,j,k}\|_{\infty} \leq T [K_3(T) \|P - \tilde{P}\|_{\infty} + K_4(T) \|N - \tilde{N}\|_{\infty}],$$

with

$$K_3(T) = 2 \frac{\gamma_N^2}{\theta_N} N_0^2 \|F\|_{\infty} e^{2\|F\|_{\infty} T},$$

and

$$K_4(T) = 2 \|F\|_{\infty} \gamma_N^2 N_0 e^{2\|F\|_{\infty} T}.$$

Finally, we obtain

$$\begin{aligned} \|\mathcal{T}_3(V) - \mathcal{T}_3(\tilde{V})\|_G &\leq T [(K_1(T) + K_2(T) + K_3(T)) \|P - \tilde{P}\|_{\infty} \\ &\quad + K_4(T) \|N - \tilde{N}\|_{\infty}]. \end{aligned}$$

This completes the proof. □

Now, using Lemmas 7, 8, 9 and 10 we prove the following result.

Theorem 2. *There exists a unique solution to System (4.2)–(4.4).*

Proof. Using properties (4.7) to (4.11), we obtain

$$\|\mathcal{T}_4(V) - \mathcal{T}_4(\tilde{V})\|_G \leq T K(T) \|V - \tilde{V}\|_G,$$

with

$$K(T) = T q n^2 e^{(\gamma_E + k_P)T} \frac{\gamma_E}{\theta_E} P_0 \left[K_1(T) + K_2(T) + K_3(T) + N_0 \frac{\gamma_N}{\theta_N} K_4(T) \right].$$

We deduce that for T small enough ($T < T_l$), $\mathcal{T}_4$ is a contraction on the Banach space G . A solution to System (4.3)–(4.4) is a fixed point of the operator $\mathcal{T}_4$. Hence, there exists a unique solution to this system for $t \in [0, T_l]$. We can apply the same method for any time interval of length T_l . We do so on $[T_l/2; 3T_l/2)$, $[T_l; 2T_l)$, ... and the solution exists and is unique for all times. □

Next, we focus on studying the asymptotic behavior of solutions to System (4.1) to investigate the asymptotic behavior of CD8 T cell maturity.

4.2.2 Local asymptotic stability

The existence of steady states of System (4.1) has been handled in Section 3.3.2 since these steady states are the same as the one for system (3.1). On top of that, for $\tau = 0$ the stability of these steady states has already been investigated. We now investigate the potential changes in stability of the positive steady states of System (4.1) depending on the value of τ . To do so, we look for solutions of the characteristic equation [80] related to the autonomous following system

$$\begin{cases} \frac{d\mu_1}{dt}(t) = \frac{\gamma_{r1}\mu_1(t)}{\theta_{r1} + \mu_1(t)}\mu_1(t) - k_1\mu_1(t) - \frac{\gamma_{l1}\mu_1^2(t-\tau)}{\theta_{l1}^2 + \mu_1^2(t-\tau)}\mu_1(t), \\ \frac{d\mu_2}{dt}(t) = r_2(K_2 - \mu_2(t))\mu_2(t) - k_{12}\mu_1(t)\mu_2(t) - k_2\mu_2(t). \end{cases} \quad (4.13)$$

Let define

$$f(x) = \frac{\gamma_{r1}x}{\theta_{r1} + x} \quad \text{and} \quad g(x) = k_1 + \frac{\gamma_{l1}x^2}{\theta_{l1} + x^2}.$$

System (4.13) can have up to three positive steady states (see Proposition 1). Let's assume throughout this section that $(\bar{x}, \bar{y})$ is a steady state of System (4.13), with $\bar{x} > 0$ and $\bar{y} > 0$.

Then we have:

$$\begin{cases} f(\bar{x}) - g(\bar{x}) = 0, \\ r_2(K_2 - \bar{y}) - k_{12}\bar{x} - k_2 = 0. \end{cases} \quad (4.14)$$

Proposition 3. *Assume System (4.1) has three positive steady states $(\bar{x}_1, \bar{y}_1)$, $(\bar{x}_2, \bar{y}_2)$, $(\bar{x}_3, \bar{y}_3)$, such that $\bar{x}_1 < \bar{x}_2 < \bar{x}_3$. Then $(\bar{x}_1, \bar{y}_1)$ and $(\bar{x}_3, \bar{y}_3)$ are unstable for all values of τ . Moreover, $(\bar{x}_2, \bar{y}_2)$ is stable if and only if $\tau < \tau_l$, where*

$$\tau_l = \frac{1}{\omega} \arccos\left(\frac{f'(\bar{x}_2)}{g'(\bar{x}_2)}\right), \quad \text{with} \quad \omega = \bar{x}_2 \sqrt{g'(\bar{x}_2)^2 - f'(\bar{x}_2)^2}.$$

Proof. We linearize System (4.13) and we write the corresponding characteristic equation,

$$(\lambda - f'(\bar{x})\bar{x} + g'(\bar{x})\bar{x}e^{-\lambda\tau} - f(\bar{x}) + g(\bar{x}))(\lambda - (r_2K_2 - 2r_2\bar{y} - k_2 - k_{12}\bar{x})) = 0,$$

which we can simplify using (4.14) to obtain

$$(\lambda - f'(\bar{x})\bar{x} + g'(\bar{x})\bar{x}e^{-\lambda\tau})(\lambda + r_2\bar{y}) = 0,$$

with $(\bar{x}, \bar{y})$ independent of τ .

The second term gives strictly negative eigenvalues, hence it won't affect the stability and we focus only on solving the following equation,

$$\lambda - f'(\bar{x})\bar{x} + g'(\bar{x})\bar{x}e^{-\lambda\tau} = 0. \quad (4.15)$$

Such a characteristic equation has already been studied. Necessary and sufficient conditions for stability have been given by Hayes[61], but won't provide us with an explicit critical value of τ at which a change of stability occurs.

For $\tau = 0$, the only solution of (4.15) is real and has the same sign as $f'(\bar{x}) - g'(\bar{x})$, which is positive for $\bar{x}_1$ and $\bar{x}_3$, and negative for $\bar{x}_2$. We obtain that for $\tau = 0$, $(\bar{x}_2, \bar{y}_2)$ is locally asymptotically stable and the other steady states are unstable. We now look for purely complex eigenvalues whose existence is a necessary condition to obtain a change in stability [80]. We substitute $\lambda = i\omega$ into (4.15) to obtain,

$$f'(\bar{x}) = g'(\bar{x})\cos(\omega\tau), \quad \text{and} \quad \omega = g'(\bar{x})\bar{x}\sin(\omega\tau),$$

and necessarily,

$$\omega^2 = \bar{x}^2((g'(\bar{x}))^2 - (f'(\bar{x}))^2). \quad (4.16)$$

Regarding $(\bar{x}_1, \bar{y}_1)$ and $(\bar{x}_3, \bar{y}_3)$, a purely imaginary solution would be required for the branches of eigenvalues to cross the imaginary axis to become stable. But for those steady states, $f'(\bar{x}) > g'(\bar{x})$, and therefore, this situation cannot happen.

Regarding $(\bar{x}_2, \bar{y}_2)$, a loss of stability can occur. The only possible pair of purely complex eigenvalues is given by $\lambda = \pm i\omega$, with ω determined by (4.16) (and one can easily verify that these roots are simple). Now, we prove the transversality condition to obtain a Hopf bifurcation. Using the implicit function theorem, locally around $(Re(\lambda), Im(\lambda)) = (0, \omega)$, we can express λ as a C^1 function ψ of τ . Writing $\lambda = \psi(\tau)$ into (4.15) and differen-

tiating regarding to τ , we obtain that

$$(1 - g'(\bar{x})\bar{x}\tau e^{-\psi(\tau)\tau})\psi'(\tau) = g'(\bar{x})\bar{x}\psi(\tau)e^{-\psi(\tau)\tau}.$$

Since $\bar{x} > 0$, given the definition of g , and given that $\psi(\tau) = \lambda \neq 0$, the term $g'(\bar{x})\bar{x}\psi(\tau)e^{-\psi(\tau)\tau}$ cannot be null, hence $1 - g'(\bar{x})\bar{x}\tau e^{-\psi(\tau)\tau}$ cannot be null either. We then obtain the following expression for $\psi'(\tau)$:

$$\psi'(\tau) = \frac{g'(\bar{x})\bar{x}\psi(\tau)e^{-\psi(\tau)\tau}}{1 - g'(\bar{x})\bar{x}\tau e^{-\psi(\tau)\tau}}.$$

The branch crosses the imaginary axis if and only if the real part of $\psi'(\tau)$ is strictly positive at the point $(Re(\lambda), Im(\lambda)) = (0, \omega)$ (and when τ is such that $\omega = g'(\bar{x})\bar{x}\sin(\omega\tau)$). We obtain

$$\psi'(\tau)_{/\lambda=i\omega} = \frac{g'(\bar{x})\bar{x}\omega(ic\cos(\omega\tau) + \sin(\omega\tau))(1 - g'(\bar{x})\bar{x}\tau(\cos(\omega\tau) + i\sin(\omega\tau)))}{|1 - g'(\bar{x})\bar{x}\tau\cos(\omega\tau) + ig'(\bar{x})\bar{x}\tau\sin(\omega\tau)|^2},$$

and therefore,

$$Re(\psi'(\tau)_{/\lambda=i\omega}) = \frac{\omega^2}{|1 - g'(\bar{x})\bar{x}\tau\cos(\omega\tau) + ig'(\bar{x})\bar{x}\tau\sin(\omega\tau)|^2} > 0.$$

Therefore the branch crosses the imaginary axis and the steady state that was stable for $\tau = 0$ becomes unstable for $\tau > arccos(f'(\bar{x})/g'(\bar{x}))/\omega$. This concludes the proof. $\square$

As an illustration, Figure 4.1 displays all the eigenvalues of (4.15) for $\tau \in [0, 50]$.

Existence of purely imaginary solutions to (4.15) means that periodic solutions to (4.1) emerge for $\tau = \tau_l$. In fact, we numerically observe on Figure 4.2 that this limit cycle even persists for a little while past the bifurcation point, with an amplitude that is an increasing function of τ .

In Figure 4.2 a) and b), the limit cycle's is contained within Ω_M and CD8 T-cells can become memory cells without all possessing the same intracellular content since they can concentrate along the limit cycle instead of on the steady state. In Figure 4.2 c), the limit cycle's amplitude is high enough to make the limit cycle exit Ω_M . In this case, the model doesn't reproduce qualitatively the behavior we would expect : the CD8 T-cells would oscillate between memory, activated, early effector and late effector states without encountering a new pathogen load. Hence, the choice of τ is critical to the behaviour of

this model.

In their work, Friedman et al. [51, 52] proved that the density of T cells was converging towards a sum of Dirac masses located at the intracellular steady states. In our case, we have shown that there could exist a locally asymptotically stable positive steady state for τ small enough and can expect our discrete density to similarly converge towards a sum of Dirac masses. In the case where the delay τ is large enough, this steady state loses its stability. The solution can then either converge towards one of the other stable steady states (of type $(0, \bar{y})$ or $(\bar{x}_2, 0)$, not detailed here) or be asymptotically located along the limit cycle.

We then consider the case where the steady state $(\bar{x}_2, \bar{y}_2)$ is unstable due to the delay τ , and generates a limit cycle. The convoluted density ρ_ε is then displayed on Figure 4.3 over the course of a primary and a secondary immune response.

On Figure 4.3, the emergence of a limit cycle in System (4.1) impacts the behavior of the density ρ of CD8 T cells. CD8 T cells still follow the differentiation scheme from Figure 3.1, but instead of converging towards a Dirac mass at the end of the primary response (see Figure 3.7.(c)), ρ becomes located on a closed curve in the memory compartment (see Figures 4.3.(a) to 4.3.(c)). Then, the re-introduction of APC induces a secondary response, CD8 T cells undergo activation and differentiation (Figures 4.3.(d) to 4.3.(f)), yet one observes that cells do not get activated all at once due to the heterogeneity of memory cells observed in Figure 4.3.(c). Instability of intracellular dynamics then leads to a qualitative CD8 immune response more in agreement with biological observations than when the steady state is stable, by allowing maintenance of a heterogeneous memory cell population at the end of the primary response.

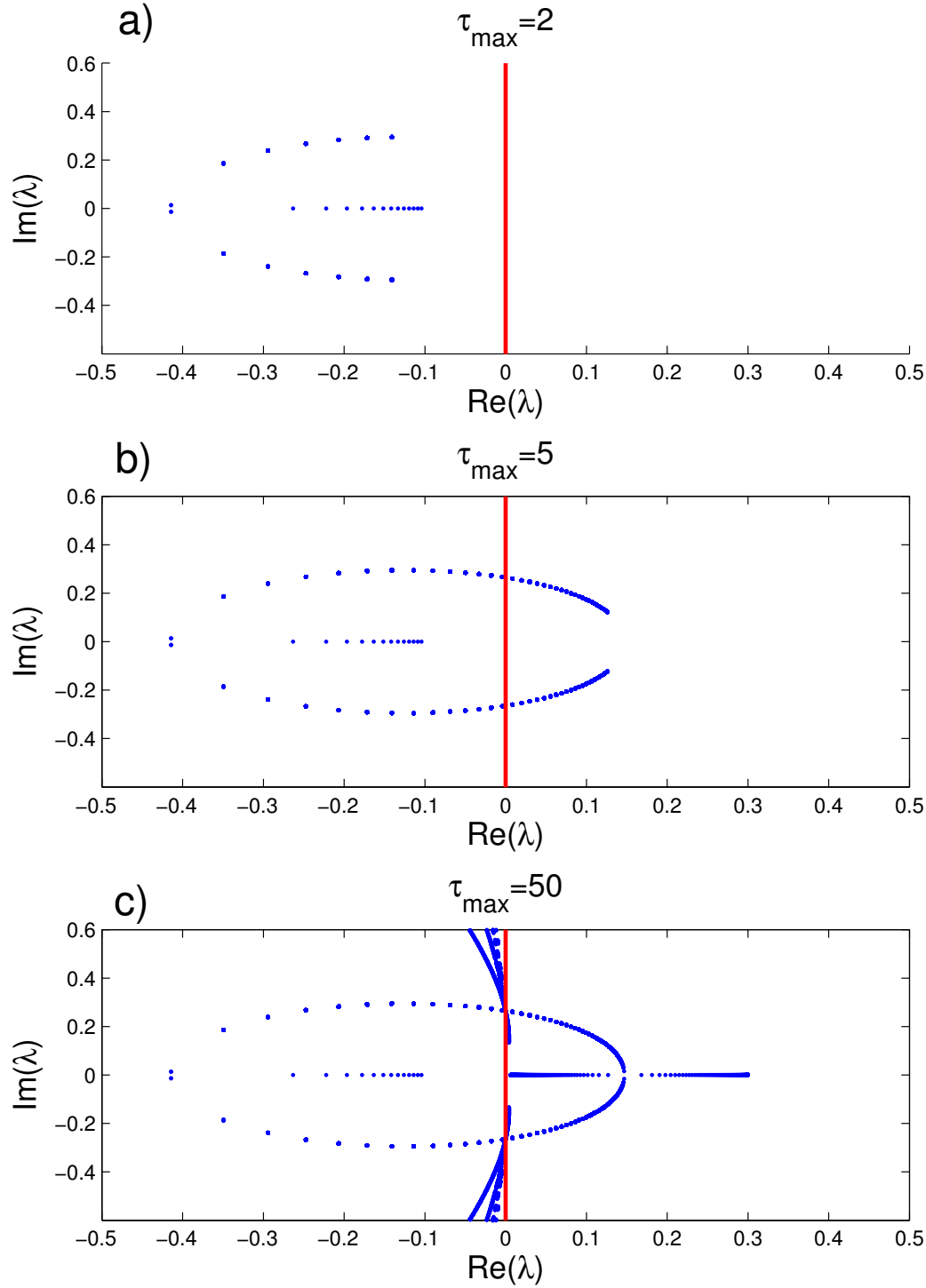


Figure 4.1 – **Eigenvalues of the characteristic equation (4.15) for $\tau \in [0; \tau_{\max}]$.** Parameter values were chosen such that $f'(\bar{x})\bar{x} = 0.3$, $g'(\bar{x})\bar{x} = 0.4$. For τ small enough (a)), all branches are in the half plane $\text{Re}(\lambda) < 0$. Then, the first branch crosses the imaginary axis at $(0, \omega)$ where $\omega = \bar{x}\sqrt{g'(\bar{x})^2 - f'(\bar{x})^2}$ (b)). All branches cross at the same point as shown in Proposition 3 (c)). For τ large enough, there even exist strictly positive eigenvalues.

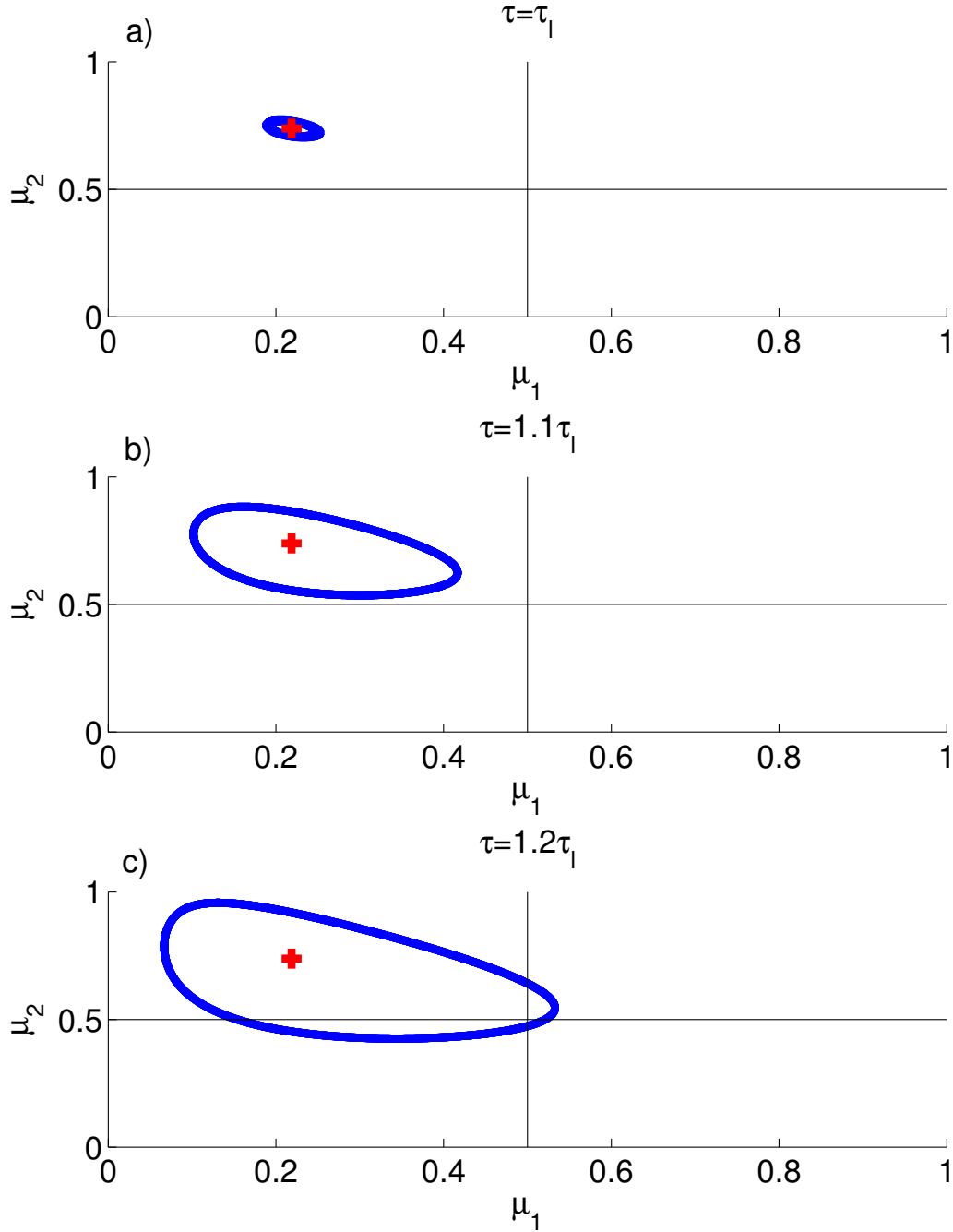


Figure 4.2 – **Periodic solutions of system (4.1) for different values of $\tau > \tau_l$** The steady state (x_2, y_2) is represented by a red cross and the limit cycle is drawn in blue. Figures 4.2 a), b) and c) represent the limit cycle that appears for $\tau = \tau_l$ due to the Hopf bifurcation shown before for different values of τ . The parameter values chosen are the same as in Table 3.4 and $\tau_l = 0.8951$.

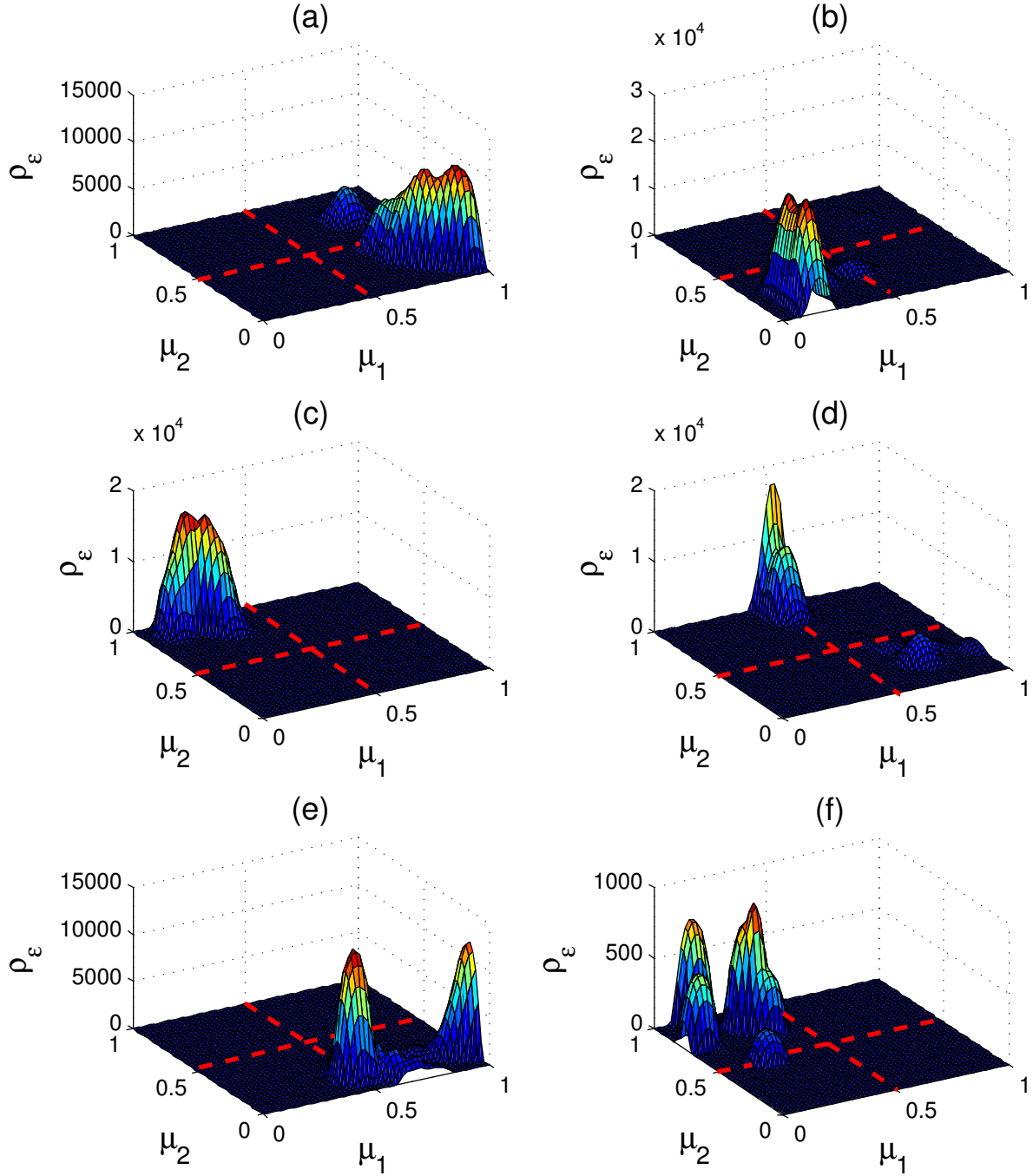


Figure 4.3 – **Simulation of ρ_ε in the case where (x_2, y_2) is an unstable positive steady state.** Legend is similar to Figure 3.7, except that in the memory phase (Figures (c) and (f)) one clearly observes that memory cells present more heterogeneity thanks to the limit cycle appearing in the (μ_1, μ_2) -space. The parameter values chosen are the same as in Table 3.4, and $\tau = \tau_l = 0.8951$.

4.3 Discussion

In this chapter, we presented a slightly modified version of the model presented in Chapter 3. Though adding a delay term to the intracellular system might seem a small modification in design, the formalism of the model is largely modified since a proper density ρ , solution of a transport equation, is no longer defined. We described the CD8 T-cells population using the notations introduced for the numerical simulations of the model presented in the previous chapter. The density of cells is now a sum of Dirac masses that move according to delay dependent speeds of maturations.

This modification also impacts the results of the model, as the stable positive steady state we used to describe quiescent memory cells in Chapter 3 is no longer stable when the delay τ is high enough. However this analytical property is of use to better qualitatively reproduce the immune response. Indeed, in the case where a limit cycle appears in the (μ_1, μ_2) maturation plane, CD8 T-cells will concentrate along this limit cycle, allowing the model to generate an heterogeneous memory cells population. The fact that our model is able to generate such a memory cells population, even though this model is fully deterministic, is a nice trait which comforts us in the choice made in this Chapter, initially motivated by biological reasons, to add delay to the intracellular model.

However, the choice of the value of τ is critical. If τ is too small, this model doesn't generate the heterogeneity we seek, as (x_2, y_2) is asymptotically stable. If τ is too high, the model allows memory cells to become activated again without encountering new APC, which is not biologically relevant at all. The choice of the intracellular parameters of the models described in Chapters 3 and 4 is difficult as the conditions to obtain the sought steady states are not easy to obtain. But in Chapter 4, the choice of τ seems even more critical, as a small variation of this parameter can either make this model better than the previous one, or worse.

This issue with the choice of the intracellular parameters will be further discussed in the next Chapter as we seek parameters for which the model presented in this chapter reproduces quantitatively biological data of the immune response. The model roughly presents thirty parameters, which have been adjusted for the simulations shown in this paper to qualitatively reproduce a CD8 T cell response. We have access to biological data

of the CD8 T cell subpopulation counts in response to vaccinia virus infection in mice (data also used in Crauste et al.[38]). The high number of parameters, even though we can set values for a few ones, requires an appropriate method. We plan to use Kriging methods to build a metamodel of our model, based on a planned exploration of the parameter space. The computation time being very low, we can run a decent number of simulations to build our metamodel. After parameter estimation, the model should provide us with an efficient tool to investigate specific questions, regarding for instance the influence of molecular events on the cell population behavior, or the design of optimal vaccination strategies.

Chapitre 5

Calibration à base de Krigeage de modèles de réponse immunitaire T-CD8

Résumé

Dans ce chapitre, nous nous intéressons à la validation quantitative de modèles de la réponse immunitaire T-CD8. Pour les modèles considérés, nous cherchons un jeu de paramètres calibrant le modèle afin qu'il reproduise les données biologiques de réponse immunitaire primaire T-CD8 dont nous disposons. L'espace des paramètres à explorer est vaste et cette recherche nécessite habituellement un grand nombre de simulations du modèle et une méthodologie adaptée. Pour des modèles possédant un grand nombre de paramètres, ou nécessitant des temps de calcul longs, l'obtention d'un tel jeu de paramètres est donc difficile. Pour contourner cette difficulté, nous utilisons un métamodèle qui interpole statistiquement les résultats du modèle lors de cette recherche. Le métamodèle fournit en un temps très bref une estimation des résultats du modèle pour un grand nombre de jeux de paramètres. À l'aide d'un algorithme adapté, nous utilisons ce métamodèle pour explorer l'espace des paramètres et pour obtenir un jeu de paramètres satisfaisant en des temps raisonnables. Nous présentons en détail nos choix relatifs à la construction et à l'utilisation du métamodèle. Puis, nous appliquons cette méthode au modèle de Crauste et al. [38] pour validation, avant de l'appliquer au modèle présenté au Chapitre 4. Dans les deux cas, la méthode fournit rapidement un jeu de paramètres, certes non optimal, mais permettant toutefois d'observer que le modèle permet une reproduction quantitative de la réponse immunitaire primaire T-CD8.

Abstract

In this chapter, we investigate the quantitative validation of models of the immune CD8 response. We look for a set of parameters for which the model reproduces the biological data at our disposal. The space of parameters that needs to be explored is vast and this search usually requires a large number of simulations of the model and an adapted methodology. For models having a large number of parameters, or requiring long calculation times, it is difficult to obtain such a set of parameters. To bypass this difficulty, we use a metamodel that statistically interpolates the results of the model during this search. After construction and validation, the metamodel provides, in a very short time, an estimation of the model's results for a large number of parameter sets. Using a suitable algorithm, we use this metamodel to explore the parameter space and to obtain a satisfying set of parameters in reasonable time. We present in detail our choices concerning the construction and use of the metamodel. Then, we apply this method to the model built by Crauste et al. [38] for validation, before applying it to the model presented in Chapter 4. In both cases, the method provides a non-optimal set of parameters, which shows, nonetheless, that the model is able to reproduce quantitatively the primary CD8 immune response.

Dans ce chapitre, on s'intéresse à la calibration d'un modèle de la réponse immunitaire par lymphocytes T-CD8. Cette calibration a pour but de déterminer les valeurs de paramètres du modèle qui donnent les résultats les plus proches (dans un sens à préciser) des données biologiques observées. Le modèle est vu comme une boîte noire prenant en entrée un certain nombre de paramètres et renvoyant en sortie le nombre de cellules T-CD8 de chaque sous-population (naïves, activées, early effectrices, late effectrices et mémoires).

L'optimisation d'un grand nombre de paramètres (≥ 10) est un processus long et nécessitant une stratégie d'exploration de l'espace des paramètres et un grand nombre de simulations numériques. En fonction du temps de calcul nécessaire à chaque simulation numérique du modèle, il est avantageux de passer par un modèle statistique du modèle mathématique (métamodèle) pour mener cette stratégie d'exploration (Faivre et al. [48], Jones et al. [71]). Nous faisons le choix ici d'obtenir ce métamodèle par la méthode du Krigeage (Cressie [39], Matheron [91]), qui, en considérant les sorties déterministes du modèle comme des réalisations de processus Gaussiens, permet l'estimation statistique de la réponse du modèle. Le métamodèle donne ainsi de façon très efficace, une estimation d'un très grand nombre de résultats issus des simulations du modèle. Ces estimations fournissent des pistes d'exploration de l'espace des paramètres, que l'on valide en simulant le modèle pour les paramètres qui semblent les plus prometteurs.

Notre démarche d'utilisation d'un métamodèle comporte les phases suivantes :

1. Une phase de construction initiale durant laquelle on évalue d'abord les résultats du modèle en un nombre de points de l'espace des paramètres bien choisis (plan d'expérience numérique). Ces résultats du modèle sont ensuite utilisés pour construire le métamodèle initial à base de Krigeage.
2. Une phase de validation du métamodèle, sur une base de points sélectionnés aléatoirement pour évaluer la capacité du métamodèle à reproduire les résultats du modèle.
3. Une phase d'amélioration continue, durant laquelle on explore l'espace des paramètres à l'aide du métamodèle pour chercher des jeux de paramètres permettant de reproduire au mieux les données biologiques. A chaque itération d'exploration, le métamodèle indique quelques points présentant le potentiel d'amélioration par

rapport au minimum courant. Les résultats du modèle sont évalués en ces points, qui sont ensuite utilisés pour améliorer le métamodèle. On répète ce procédé jusqu'à obtenir un minimum satisfaisant.

Dans ce chapitre, nous présentons tout d'abord les données biologiques utilisées, obtenues par l'équipe de Jacqueline Marvel à l'INSERM de Lyon. Puis nous posons le problème d'optimisation à résoudre pour minimiser l'écart entre les sorties du modèle et ces mêmes données biologiques. Ensuite, nous détaillons nos choix concernant le processus de construction initiale, de validation et d'amélioration du métamodèle. Enfin, nous appliquons cette méthode de recherche de jeux de paramètres d'abord au modèle de Crauste et al. [38], pour validation de la méthode, puis à celui présenté au Chapitre 4.

Dans tous ce chapitre, les temps de calcul mentionnés correspondent à des temps obtenus par simulations sur une machine portable, tournant sous un système d'exploitation Windows 7 (64 bits), et équipée d'un processeur Intel Core i7-3740QM cadencé à 2.70Ghz et de 16Go de mémoire vive.

5.1 Critère d'optimisation

5.1.1 Données biologiques

Les données utilisées sont les mêmes que celles utilisées par Crauste et al. [38]. En utilisant les marqueurs biologiques Ki67, Bcl2 et CD44, les auteurs comptent le nombre de cellules naïves, activées, early effectrices, late effectrices et mémoires dans des souris à qui on a injecté une souche du virus *Vaccinia* par voies intranasales. On saigne ensuite ces souris à différents jours (plusieurs souris en même temps), et on compte par cytométrie de flux le nombre de cellules T-CD8 de chaque sous populations (naïves, activées, early effectrices, late effectrices et mémoires). Les données se présentent donc sous la forme suivante : pour chaque temps de mesure (8 en tout), on dispose d'une moyenne et d'un écart type du nombre de cellules T-CD8 comptées (un point de données correspondant à plusieurs souris). Pour certains jours le prélèvement ne comporte pas de données pour certaines sous populations puisque le nombre de cellules pour ces sous populations est en dessous du seuil de détection. Les données biologiques sont représentées sur la figure

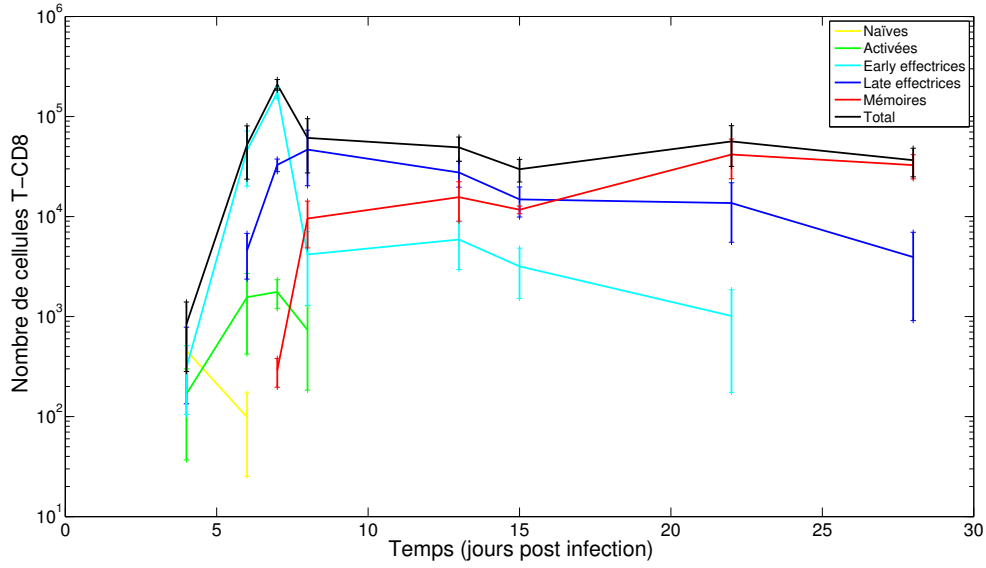


FIGURE 5.1 – **Nombre de cellules T-CD8 de chaque sous population dans des souris infectées par *vaccinia*.** Chaque point de mesure correspond à plusieurs souris. Les données représentées correspondent à la moyenne et l'écart type mesurés sur ces souris.

5.1.

5.1.2 Critère d'optimisation

On considère ici un modèle mathématique comportant $d \in \mathbb{N}^*$ paramètres p_i , $i = 1, \dots, d$, et dont la simulation permet l'obtention du nombre de cellules de chaque sous-population présentée précédemment aux jours de mesure de nos données biologiques. On souhaite trouver, si possible, le jeu de paramètres permettant au modèle de reproduire aussi précisément que possible les données biologiques à notre disposition. De façon similaire à ce qui a été fait par Crauste et al. [38], on travaille sur les données et les résultats du modèle transformés par un log en base 10. Cette modification permet une meilleure comparaison des résultats du modèle avec les données biologiques dans les cas où les variations des données sont de grande amplitude.

Ensuite, pour poser notre problème d'optimisation, nous introduisons les notations suivantes :

- Pour $k = 1, \dots, 8$, on note t_k le jour auquel on a fait la mesure numéro k .
- En considérant une sous population générale notée X ($X \in \{N, A, EE, LE, M, T\}$), on note I_X le sous ensemble de $\{1, \dots, 8\}$ contenant les numéros des jours auxquels on

- a des données pour les cellules de la sous population X . Par exemple, ici $I_N = \{1; 2\}$.
- Pour $k \in I_X$, on note $\overline{X}_k$, la moyenne empirique du log en base 10 du nombre de cellules T-CD8 de la sous population X mesurée au jour k et σ_{X_k} l'écart type du log en base 10 du nombre de cellules T-CD8 de la sous population X mesuré au jour k (de même pour les autres sous populations).
 - Pour $k \in I_X$, on note $X(t_k)$ le log en base 10 du nombre de cellules obtenu par simulation du modèle au temps t_k .
 - Pour $i = 1, \dots, m$, on note $[a_i; b_i]$ les bornes de notre intervalle de recherche pour le paramètre p_i .

Le critère choisi permettant de mesurer l'écart entre les résultats du modèle et les données biologiques pour les cellules de la population X est noté R_X^2 et est défini par

$$R_X^2 = \sum_{k \in I_X} \left(\frac{X(t_k) - \overline{X}_k}{\sigma_{X_k}} \right)^2.$$

Ces quantités représentent les sommes des écarts au sens des moindres carrés entre les données biologiques et les résultats du modèle pour chaque sous population. La pondération par les écarts types via les poids $\frac{1}{\sigma_{X_k}}$ permet de pénaliser les écarts du modèle pour les points de mesure en lesquels les données biologiques ont un faible écart type.

Le critère final permettant de quantifier la reproduction des données biologiques par le modèle est la minimisation de la quantité

$$R^2 = R_N^2 + R_A^2 + R_{EE}^2 + R_{LE}^2 + R_M^2 + R_T^2. \quad (5.1)$$

Dans la suite, on cherche donc à trouver le jeu de paramètres $(p_1, \dots, p_d) \in [a_1; b_1] \times \dots \times [a_d; b_d]$ qui minimise R^2 . A une bijection près (notée ϕ_p), on peut ramener cet espace des paramètres à l'espace $[0; 1]^d$. Pour l'explication de la démarche, nous considérerons donc que nous nous plaçons dans $[0; 1]^d$. Pour les applications au modèle de Crauste et al. [38] et à celui présenté au chapitre 4, nous reviendrons à l'espace initial $[a_1; b_1] \times \dots \times [a_d; b_d]$.

5.2 Construction, validation, amélioration continue et utilisation d'un métamodèle

Nous présentons dans cette section une méthode générale pour la construction, validation et utilisation d'un métamodèle. En particulier, nous discutons et détaillons les différents choix qui s'offrent à nous durant ce procédé.

5.2.1 Krigeage ordinaire

On considère un modèle de type boîte noire (où la sortie ne possède pas d'expression explicite des entrées) prenant en entrée un élément $x \in [0; 1]^d$ et renvoyant en sortie un réel Z . On notera $Z(x)$ la sortie du code correspondant à l'entrée x . On considère aussi que l'on connaît m observations $Z(x_1), \dots, Z(x_m)$ du modèle, correspondant aux m entrées $x_1, \dots, x_m$.

L'idée de la méthode de Krigeage est de supposer que la réponse du modèle dépend de la position spatiale de X , et de considérer la sortie (déterministe) $Z(x)$ du modèle comme un champ aléatoire sous la forme,

$$Z(x) = \mu(x) + W(x),$$

où μ est la tendance déterministe et W est un processus Gaussien centré de variance σ^2 et de fonction de covariance C , vérifiant donc

$$\forall x, x' \in [0; 1]^d, \text{Cov}(x, x') = C(x, x')$$

et

$$\forall x \in [0; 1]^d, \text{Cov}(x, x) = C(x, x) = \sigma^2.$$

De plus, la covariance est supposée stationnaire, c'est à dire que

$$\forall x, x' \in \mathbb{R}^d, C(x, x') = c(x - x')$$

où c est une fonction d'une variable de $\mathbb{R}^d$ à valeurs dans $\mathbb{R}$.

On note $Z_o = \begin{pmatrix} Z_1 \\ \dots \\ Z_m \end{pmatrix}$ le vecteur des observations, $x_o = (x_1, \dots, x_m)$ les points d'observation correspondants, $M_o = \begin{pmatrix} \mu(x_1) \\ \dots \\ \mu(x_m) \end{pmatrix}$ la tendance aux points d'observation et Σ_o la matrice de covariance définie par

$$\forall i, j \in \{1, \dots, m\}, (\Sigma_o)_{i,j} = C(x_i, x_j).$$

Avec ces notations et les propriétés des processus Gaussiens, Z_o est un vecteur Gaussien et

$$Z_o \hookrightarrow \mathcal{N}(M_o, \Sigma_o).$$

Maintenant considérons un nouveau point $x' \in [0; 1]^m$, pour lequel la valeur $Z' = Z(x')$ est inconnue. La loi jointe du couple (Z_o, Z') est donnée par

$$(Z_o, Z') \hookrightarrow \mathcal{N} \left(\begin{pmatrix} M_o \\ \mu(x') \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} \Sigma_o & b(x') \\ {}^t b(x') & \sigma^2 \end{pmatrix} \right),$$

où

$$b(x') = \begin{pmatrix} C(x', x_1) \\ \dots \\ C(x', x_m) \end{pmatrix} \in \mathbb{R}^m.$$

Le prédicteur de Krigeage est donné par $\hat{Z}(x') = \mathbb{E}(Z' | Z(x_o) = Z_o)$, ce qui donne avec les notations définies ci-dessus,

$$\hat{Z}(x') = \mu(x') + {}^t b(x') \Sigma_o^{-1} (Z_o - M_o). \quad (5.2)$$

On définit aussi la variance de Krigeage en x' (notée MSE, pour Mean Squared Error) par

$$MSE(x') = \sigma^2 - {}^t b(x') \Sigma_o^{-1} b(x'). \quad (5.3)$$

L'e prédicteur de Krigeage s'interprète comme l'espérance de tous les processus Gaussiens de moyenne μ et de matrice de covariance C passant par les m observations données. Cet estimateur est l'estimateur linéaire (au sens où il s'exprime comme une combinaison linéaire des observations), sans biais, qui minimise la variance de prédiction. En considérant un estimateur linéaire général, à qui on impose d'être sans biais, de posséder des moments d'ordre 1 et 2, et de minimiser cette variance de prédiction, on tombe sur les formules explicites du Krigeage présentées en (5.2)-(5.3) (voir Matheron [91]).

Le prédicteur et sa variance de prédiction sont exprimés explicitement et sont donc calculables dès lors que l'on connaît la fonction de tendance μ et la fonction de covariance C (ou c). Concernant la fonction de tendance, on choisit d'utiliser une fonction constante (notée ici μ_0), il s'agit du krigeage dit ordinaire. Concernant le choix de la covariance, il y a plusieurs possibilités. Soit $h = (h_1, \dots, h_m)$. Les quatres possibilités les plus utilisées sont

- Covariance exponentielle : $c(h) = \sigma \prod_{k=1}^m \exp\left(-\frac{h_i}{\theta_i}\right) = \sigma \exp\left(-\sum_{k=1}^d \frac{h_i}{\theta_i}\right)$.
- Covariance de matern 3/2 : $c(h) = \sigma \prod_{k=1}^m \left(1 + \frac{\sqrt{3}h_i}{\theta_i}\right) \exp\left(-\frac{\sqrt{3}h_i}{\theta_i}\right)$.
- Covariance de matern 5/2 : $c(h) = \sigma \prod_{k=1}^m \left(1 + \frac{\sqrt{5}h_i}{\theta_i} + \frac{5h_i^2}{3\theta_i^2}\right) \exp\left(-\frac{\sqrt{5}h_i}{\theta_i}\right)$.
- Covariance Gaussienne : $c(h) = \sigma \prod_{k=1}^m \exp\left(-\left(\frac{h_i}{\theta_i}\right)^2\right) = \sigma \exp\left(-\sum_{k=1}^d \left(\frac{h_i}{\theta_i}\right)^2\right)$.

Les réels θ_i (ainsi que le paramètre μ_0) sont appelés hyperparamètres du métamodèle. Lors de la construction du métamodèle à base de Krigeage, on spécifie la forme de la covariance souhaitée, et les hyperparamètres sont estimés par maximum de vraisemblance. Pour la construction de nos modèles de Krigeage, nous utilisons la toolbox oodace (voir Couckuyt et al. [35, 36]), qui permet sous Matlab la construction de tels métamodèles et gère l'estimation des hyperparamètres à partir des observations.

La forme de la covariance choisie influe fortement sur la régularité des processus Gaussiens considérés. La régularité de la fonction c est directement reliée à la régularité de ces processus. Dans la liste ci-dessus, les covariances sont présentées par ordre croissant de régularité. Les covariances de matern offrent un bon compromis entre la covariance exponentielle, très irrégulière, et la covariance Gaussienne très régulière. Dans la section 5.2.5, nous illustrons l'impact des différents choix de covariance sur les processus gaussiens passant par les observations sur un exemple en une dimension.

Il est important de noter que la variance de prédiction ne dépend pas du tout des valeurs observées, mais seulement des points d'observation $(x_1, \dots, x_m)$ choisis. La disposition de ces points est cruciale : une répartition équitable de ces points dans l'espace $[0; 1]^m$ est primordiale pour minimiser la variance de prédiction. Cependant, un trop grand nombre de points et d'observations peut poser deux problèmes. Premièrement, avec un grand nombre d'observations, l'obtention des hyperparamètres par maximum de vraisemblance est plus couteuse en temps de calcul. Deuxièmement, l'évaluation du prédicteur et de la variance de prédiction nécessite l'inversion de la matrice Σ_o , dont le coût augmente avec m .

On ne peut donc pas choisir aveuglément un très grand nombre de points dans $[0; 1]^d$. Plus la dimension d de l'espace exploré est grande, plus le nombre de points nécessaires est important. La répartition des points d'observation (aussi appelée plan d'expérience) doit donc faire l'objet d'une attention toute particulière pour trouver un plan qui couvre de façon uniforme l'espace $[0; 1]^d$. Dans la section suivante, on s'intéresse à la construction de tels plans d'expérience.

5.2.2 Plans d'expérience

On s'intéresse à l'obtention de plans d'expérience dans le but de construire un méta-modèle à base de Krigeage. On conserve les notations de la section précédente. Le but est de couvrir de façon uniforme l'espace $[0; 1]^d$, qui représente, à une bijection près, l'espace des paramètres du modèle numérique considéré.

Dans le cadre de l'exploration d'un espace de paramètres, une catégorie de plans d'expérience intéressante est la catégorie des plans LHS (Latin Hypercube Sample) introduits par McKay et al. [93]. Si l'on représente notre plan d'expérience par une matrice $X \in \mathcal{M}_{m,d}(\mathbb{R})$ à coefficients dans $[0; 1]$, dont chaque ligne représente les coordonnées dans $[0; 1]^d$ d'un point du plan, un plan LHS se caractérise par

$$\forall j \in \{1; \dots; d\}, \forall k \in \{1; \dots; m\}, \exists! i \in \{1; \dots; m\}, X_{i,j} \in \left[\frac{k-1}{m}; \frac{k}{m} \right].$$

Cette propriété caractéristique des plans LHS assure une bonne répartition lors des projections en une dimension sur chacune des coordonnées. Dans notre cas, le plan d'ex-

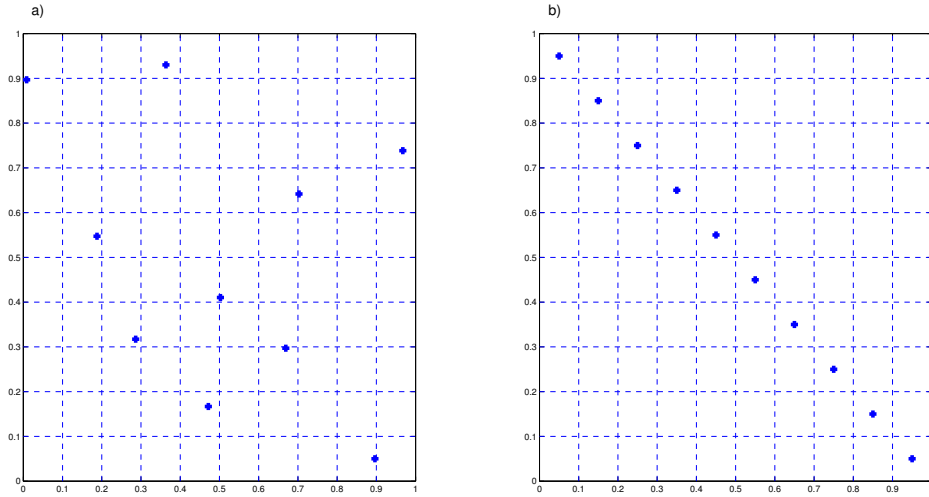


FIGURE 5.2 – **Deux exemples de plans LHS à dix points en deux dimension.** Pour chacune des deux dimensions, la projection en une dimension du plan d'expérience ne comporte qu'un point dans chaque subdivision en dix segments.

périence représente les jeux de paramètres qui seront les points d'observation. L'utilisation d'un plan LHS assure donc que tout un éventail de valeurs seront prises par chaque paramètre. Pour l'illustrer, nous présentons à la figure 5.2 deux exemples de plans LHS en deux dimensions à 10 points.

Les plans LHS assurent tous de bonnes projections en une dimension mais pas forcément une répartition homogène des points dans l'espace $[0, 1]^d$, comme en témoigne la figure 5.2. Les deux plans qui y sont présentés sont tous deux des plans de type LHS. Cependant le plan de la figure 5.2 b) présente une répartition bien moins homogène que celui de la figure 5.2 a).

La quantification de cette uniformité du plan passe par l'utilisation de critères. Les principaux critères sont présentés par Pronzato and Müller [109]. Parmi les critères de distance, on trouve par exemple le critère du minimax, qui consiste à minimiser le maximum de la distance de chaque point au reste du plan, et celui du maximin qui consiste à maximiser le minimum des distances entre deux de ces points. L'obtention de plans d'expérience minimax ou maximin optimaux est délicate en grandes dimensions.

Nous nous intéressons ici au critère de discrédance L^2 centrée, qui est un critère d'uniformité, introduit par Hickernell [62] et défini par

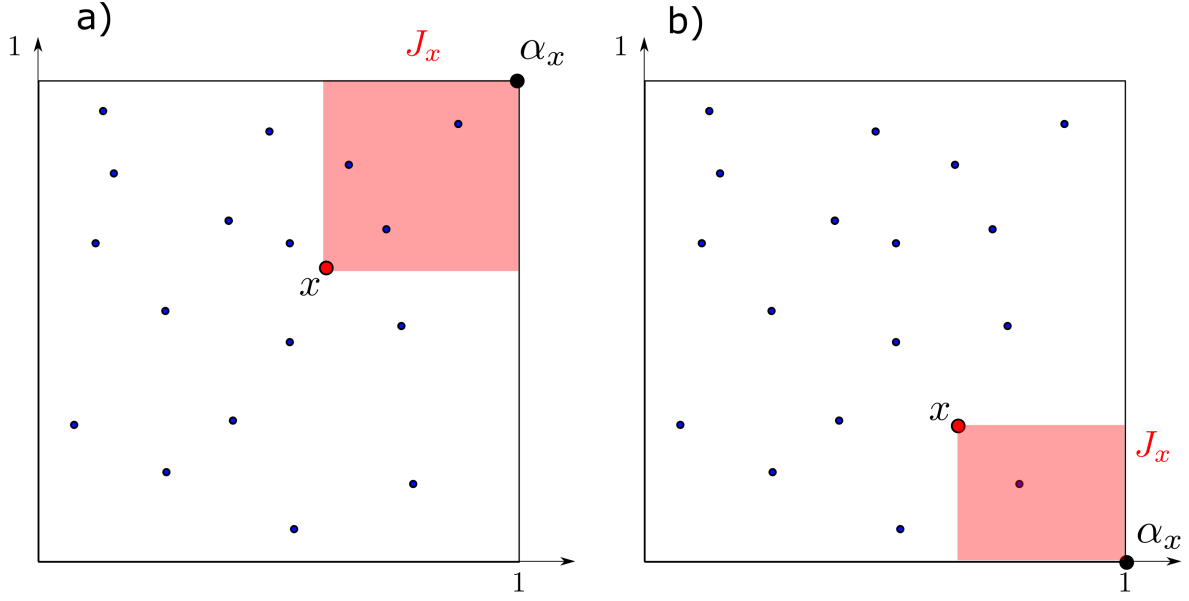


FIGURE 5.3 – **Illustrations de la définition de J_x dans le cas où $d = 2$.** Pour $x \in [0, 1]^2$, on construit J_x comme le carré dont les sommets opposés sont x et le sommet du carré $[0; 1]^2$ le plus proche de x , noté α_x .

$$CL_2(X) = \sum_{u \in \mathcal{P}(\{1; \dots; d\}) \setminus \emptyset} \int_{C^u} \left| \frac{N_{x,u}}{m} - \text{Vol}(J_{x,u}) \right| dx, \quad (5.4)$$

où u parcourt l'ensemble des parties non vides de $\{1; \dots; d\}$, C^u est l'hypercube unité correspondant aux coordonnées dont les numéros sont des éléments de u . Concernant les définitions de $N_{x,u}(X)$ et $J_{x,u}$, pour $x \in [0; 1]^d$, notons $\alpha_x = (a_{x,1}, \dots, a_{x,d})$ le sommet de l'hypercube $[0; 1]^d$ qui est le plus proche de x , et J_x le sous ensemble de $[0, 1]^d$ défini par

$$J_x = \left\{ y \in [0; 1]^d, \forall j \in \{1; \dots; d\}, \min(a_{x,j}, x_j) \leq y_j \leq \max(a_{x,j}, x_j) \right\}.$$

Des exemples en deux dimensions de J_x sont donnés à la figure 5.3. Enfin, $J_{x,u}$ est la projection de J_x sur C^u , et $N_{x,u}(X)$ est le nombre de points de la projection sur C^u du plan d'expérience X (notée X_u) qui sont aussi dans $J_{x,u}$ (voir Fang et al. [49]).

Pour expliquer la formule de définition de la discrédance L^2 centrée, commençons par expliquer le terme $\left| \frac{N_{x,u}}{m} - \text{Vol}(J_{x,u}) \right|$. Pour $x \in [0, 1]^d$ et $u \subset \{1; \dots; d\} \setminus \emptyset$, ce terme représente l'écart entre le ratio de points du plan d'expérience présents dans $J_{x,u}$ par le nombre de points total m et le volume de $J_{x,u}$, $\text{Vol}(J_{x,u})$, c'est à dire le ratio théorique de points du plan d'expérience présents dans $J_{x,u}$ pour un plan théoriquement uniforme (car l'hypercube $[0; 1]^d$ est de volume 1). Puis, en intégrant pour x dans C^u , et en sommant pour

tout choix de jeu de coordonnées u , ce critère permet de s'assurer de l'uniformité pour chaque projection du plan d'expérience.

Ainsi, contrairement au minimax et au maximin, ce critère prend en compte non seulement l'uniforme répartition du plan sur $[0, 1]^d$, mais aussi l'uniformité de la répartition des points du plan dans tous les ensembles J_x pour $x \in [0, 1]^d$ et pour n'importe quelle projection sur un jeu de coordonnées. Cette propriété est fondamentale pour l'obtention de jeux de paramètres *via* cette méthode : en fonction de la sensibilité du modèle aux paramètres, certains paramètres auront une très grande influence sur la sortie du modèle. En cas de projection insuffisamment uniforme sur l'espace de ces paramètres là, le risque de passer à côté d'un jeu de paramètres permettant une bonne reproduction des données par le modèle est encore plus grand. D'où l'intérêt que la répartition des points du plan d'expérience soit uniforme sur chaque projection possible parmi les d coordonnées.

Ces propriétés ont été illustrées par Damblin et al. [43], qui ont comparé les discrèpances des projections en deux dimensions de plans LHS à 100 points et d dimensions (d variant de 2 à 54) optimisés pour différents critères (minimax, maximin, discrèpance L^2 centrée, autres discrèpances...). Les plans LHS optimisés les plus robustes pour l'uniformité de leurs projections en deux dimensions sont les plans optimisés pour la discrèpance L^2 centrée. Ainsi, pour la suite de ce chapitre, nous ne considérerons que la discrèpance L^2 centrée, que nous nommerons simplement discrèpance.

Pour calculer la discrèpance pour un plan d'expérience $X = (x_{i,j})_{1 \leq i \leq m, 1 \leq j \leq d}$, Hickernell [62] a obtenu l'expression analytique suivante

$$\begin{aligned}
 CL2(X) = & \left(\frac{13}{12}\right)^d - \frac{2}{m} \sum_{i=1}^m \prod_{j=1}^d \left(1 + \frac{1}{2} \left|x_{i,j} - \frac{1}{2}\right| - \frac{1}{2} \left|x_{i,j} - \frac{1}{2}\right|^2\right) \\
 & + \frac{1}{m^2} \sum_{i=1}^m \sum_{k=1}^m \prod_{j=1}^d \left(1 + \frac{1}{2} \left|x_{i,j} - \frac{1}{2}\right| + \frac{1}{2} \left|x_{k,j} - \frac{1}{2}\right| - \frac{1}{2} |x_{i,j} - x_{k,j}|\right),
 \end{aligned} \tag{5.5}$$

fournissant un moyen de calcul en $\mathcal{O}(m^2)$ opérations.

Passons maintenant à l'obtention d'un plan d'expérience de type LHS et possédant une discrèpance minimale. Jin et al. [70] proposent un algorithme pour optimiser la discrèpance d'un plan LHS déjà construit. Cet algorithme repose sur le principe suivant : en considérant un plan de type LHS, et en permutant la coordonnée numéro j de deux points de ce plan, on obtient un plan qui est toujours de type LHS. L'algorithme ESE

TABLEAU 5.1 – Discrépance L^2 centrée moyenne de toutes les projections en deux dimensions pour différents plans LHS à 100 points et d dimensions, pour quelques valeurs de d . Les valeurs de Damblin et al. [43], rapportées dans ce tableau pour comparaison, sont approximatives car lues sur une courbe.

d	Discrépance des projections en deux dimensions	Valeur de Damblin et al. [43]
2	0,0072	$\approx 0,006$
10	0,0099	$\approx 0,009$
26	0,0120	$\approx 0,012$
42	0,0142	$\approx 0,014$
54	0,0152	$\approx 0,015$

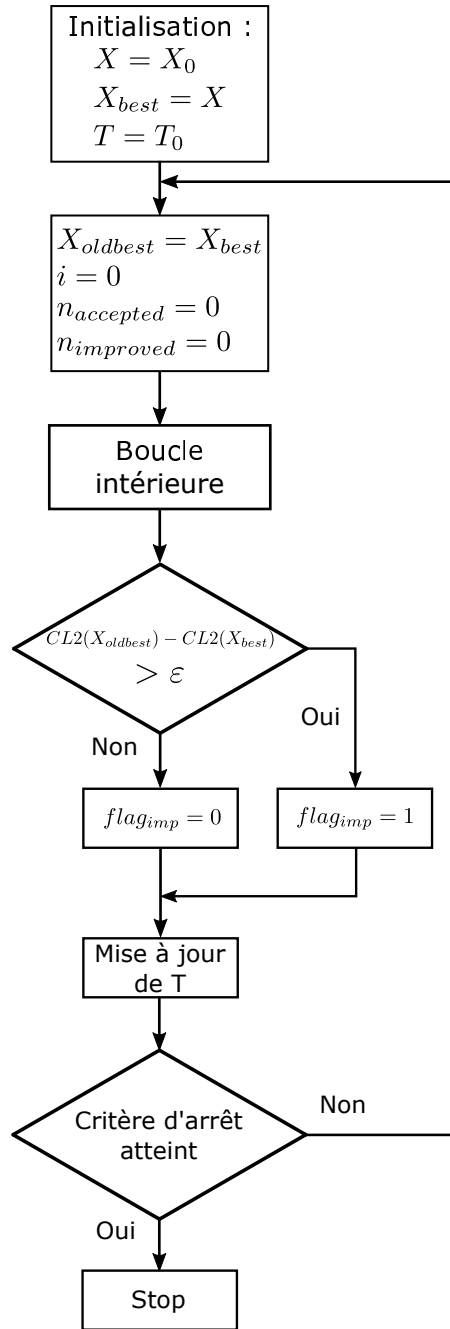
(enhanced stochastic evolutionnary algorithm) est une évolution de l'algorithme SE (stochastic evolutionnary algorithm) présenté par Saab and Rao [116]. Ces deux algorithmes se basent sur une heuristique d'optimisation de type recuit simulé (voir Aarts and van Laarhoven [1]). Dans l'algorithme SE, on abaisse progressivement la température comme dans un recuit classique permettant de passer d'une phase de type exploration à une phase de type intensification. L'algorithme ESE laisse la possibilité à la température de remonter lorsqu'il s'estime bloqué dans un minimum local.

De plus, Jin et al. [70] présentent une méthode de calcul de la discrépance d'un plan d'expérience obtenu par permutation d'une même coordonnée de deux points de ce plan, à partir de la discrépance du plan précédent. Cette méthode ne nécessite que $\mathcal{O}(m)$ comparé à $\mathcal{O}(m^2)$ pour le calcul de la discrépance d'un nouveau plan. L'algorithme ESE nécessite d'évaluer un grand nombre de discrépances sur des plans de type LHS obtenus les uns à partir des autres *via* ce type de permutations. Grâce à cette méthode de mise à jour de la discrépance, l'algorithme voit son temps d'exécution considérablement réduit.

Nous présentons sur les Figures 5.4 et 5.5 un résumé du fonctionnement de l'algorithme ESE (voir Jin et al. [70] pour plus de précisions).

Cet algorithme a déjà été implémenté en langage R par Picheny et Ginsbourger [106], Dupuy et al. [46], et ré-implémenté en Matlab pour l'utilisation faite dans ce chapitre. Pour valider notre implémentation, nous reproduisons les résultats de Damblin et al. [43] qui donnent dans leurs travaux la discrépance moyenne de toutes les projections en deux dimensions pour différents plans LHS à d dimensions (d variant de 2 à 54) optimisés pour ce critère. Nos résultats, affichés dans le tableau 5.1, sont en accord avec ceux présentés par Damblin et al. [43], ce qui valide cette implémentation.

Boucle extérieure



Boucle intérieure

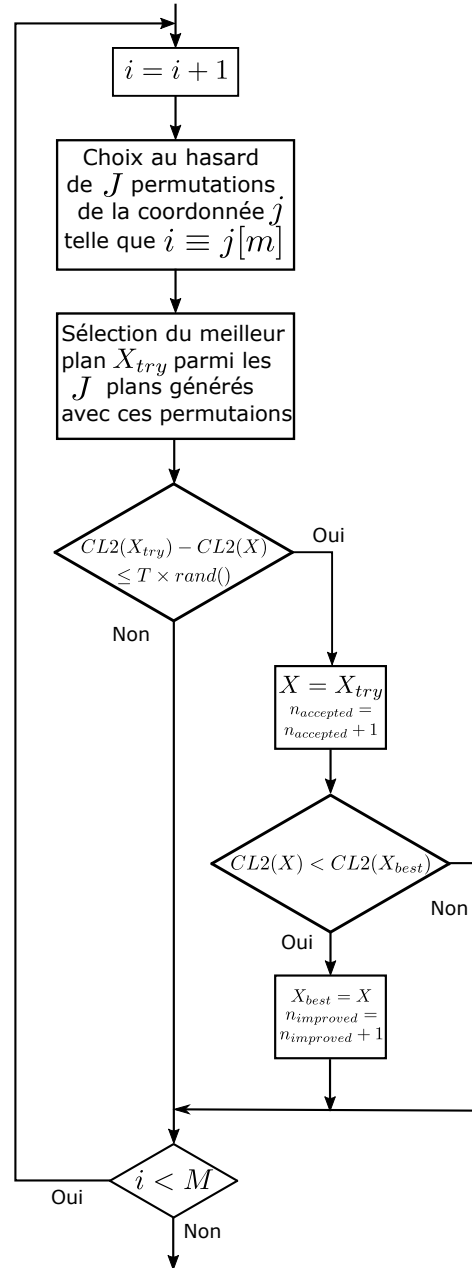


FIGURE 5.4 – **Organigramme de l'algorithme ESE** (adapté de Jin et al. [70]). L'algorithme comporte une boucle extérieure, qui elle même contient une boucle intérieure. Le détail du bloc "Mise à jour de T" est donné à la figure 5.5. A chaque itération de la boucle extérieure, l'algorithme exécute M fois la boucle intérieure. Dans chacune de ces itérations de boucle intérieure, on teste J permutations d'une coordonnée de deux points du plan. Le meilleur plan d'expérience parmi les J est ensuite comparé au meilleur plan depuis le début de l'algorithme. Puis, en fonction du nombre de plans acceptés ($n_{accepted}$) et du nombre de plans présentant une amélioration de la discrédance ($n_{improved}$) durant ces M itérations, la température de l'heuristique de recuit simulé évolue suivant l'organigramme présenté à la Figure 5.5 et influera sur la boucle intérieure suivante au niveau de la sélection du plan X_{try} , candidat à l'amélioration du plan d'expérience X_{best} .

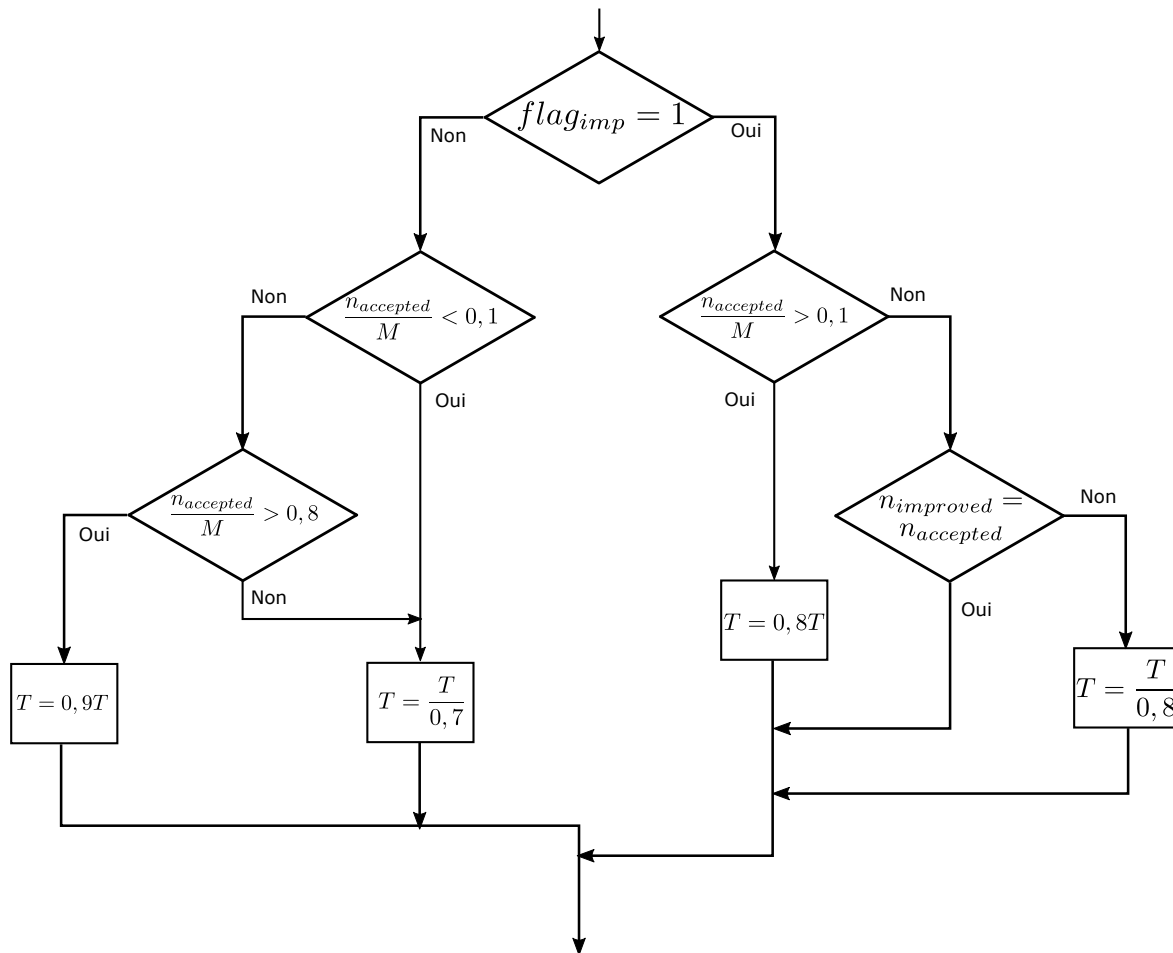


FIGURE 5.5 – **Organigramme de la mise à jour de la température de l’algorithme ESE.** La température T est mise à jour en fonction de la valeur $flag_{imp}$. Si $flag_{imp} = 1$ (c’est à dire que l’on vient d’améliorer le plan d’expérience), l’algorithme ESE entre en phase d’intensification (partie droite de la figure), durant laquelle seuls des plans d’expérience avec une discrédance plus faible ou très légèrement plus élevée sont pris en compte. Sinon, l’algorithme ESE entre en phase d’exploration (partie gauche de la figure), propice à la sortie des minima locaux, durant laquelle des plans de discrédance plus élevée que celle du meilleur plan courant sont pris en compte. Ce fonctionnement permet une alternance entre les phases d’intensification et d’exploration, en fonction des améliorations ou non du plan d’expérience.

Nous présentons maintenant sur quelques exemples en deux dimensions les différences entre des plans générés aléatoirement, des plans LHS quelconques et des plans LHS optimisés pour la discrédance, tous comportant 100 points (Figure 5.6).

Pour observer les différences de discrédances sur ces trois catégories de plans, nous calculons la discrédance pour 10000 plans générés aléatoirement, ainsi que pour 10000 plans LHS quelconques (non optimisés), toujours en dimension 2 et avec 100 points. Pour les plans aléatoires, nous obtenons une discrédance moyenne de 0,598 et un écart type de 0,0163. Pour les plans LHS quelconques, la moyenne est 0,0174 et l'écart type est 0,0038. Comparés avec la discrédance obtenue pour le plan LHS optimisé, ces résultats permettent de justifier le choix de plans de type LHS optimisés pour la discrédance pour notre application à la calibration de modèles.

5.2.3 Validation

Une fois construit à partir de données du modèle observées sur un plan d'expérience, le métamodèle à base de Krigeage doit être validé avant de pouvoir être exploité. L'erreur en les points utilisés pour la construction du métamodèle est nulle. Pour observer qualitativement si le métamodèle peut être validé, on peut tracer les prédictions du métamodèle en fonction des données observées sur un certain nombre de points en lesquels on possède des données qui n'ont pas servi à construire le métamodèle.

Si l'on veut une validation plus quantitative, on peut calculer le coefficient de prédictivité Q^2 défini par

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^s (Z_i - \hat{Z}_i)^2}{\sum_{i=1}^s (\bar{Z} - Z_i)^2},$$

où les $Z_i, i = 1 \dots, s$ sont les données observées supplémentaires (autres que celles utilisées pour construire le métamodèle), $\hat{Z}_i$ les prédictions du métamodèle en ces points d'observations et $\bar{Z}$ la moyenne des données observées supplémentaires (Faivre et al. [48], Ginsbourger [56]). Ce coefficient s'interprète comme la partie de la variance expliquée par le métamodèle. Plus ce coefficient est proche de 1, plus le métamodèle est satisfaisant.

Enfin, il peut arriver qu'il ne soit pas possible d'obtenir des données supplémentaires pour calculer ce coefficient de prédictivité (par exemple si le code de calcul est très lourd,

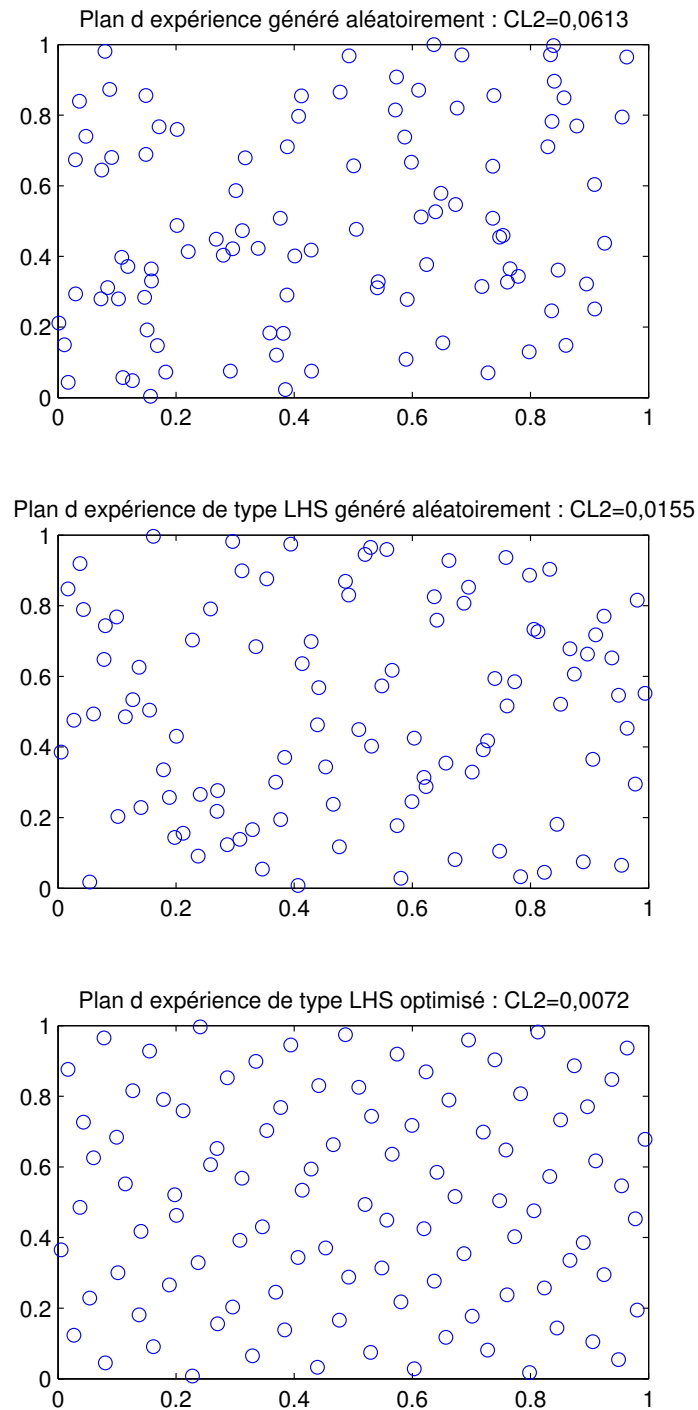


FIGURE 5.6 – **Comparaisons de trois plans d'expérience à 100 points en deux dimensions.** Les trois plans ci-dessus sont un plan généré aléatoirement, un plan LHS quelconque et un plan LHS optimisé pour la discrédance, ainsi que leur discrédance respective. Le plan LHS quelconque présente une discrédance bien plus faible que celle du plan aléatoire. Mais le plan présentant la plus faible discrédance est le plan LHS optimisé. En deux dimensions, la différence d'uniformité est visible directement dans ces trois cas là.

ou si le métamodèle sert à prédire les résultats d'une expérience physique particulièrement coûteuse). Dans ce cas, on adopte une stratégie de type "leave one out" (LOO), qui consiste à construire m métamodèles à base de Krigeage, chacun en enlevant un point du plan d'expérience. Ensuite on compare la prédiction des métamodèles en chaque point enlevé et on compare avec les données observées en ces points (Faivre et al. [48]).

Dans notre cas, les codes de calculs ne sont pas assez lourds pour recourir à une stratégie de type LOO. De plus, quand d est suffisamment grand, le nombre de points m pour obtenir un métamodèle satisfaisant est trop élevé et la construction d'un seul métamodèle est suffisamment coûteuse pour éviter d'en construire m supplémentaires. Nous validerons donc nos métamodèles à l'aide du coefficient de prédictivité Q^2 .

5.2.4 Amélioration continue du métamodèle

Après sélection d'un plan d'expérience, construction et validation du métamodèle à base de Krigeage, on utilise ce métamodèle pour résoudre notre problème d'optimisation en le substituant au modèle. Le métamodèle est continuellement enrichi en lui ajoutant à chaque étape des points d'observations et des données observées sélectionnées à partir des résultats du métamodèle. Les critères de sélection de ces points sont divers : on peut choisir le point ayant la plus grande MSE, c'est à dire celui où le métamodèle est le moins précis possible; on peut aussi choisir le point en lequel le métamodèle donne le résultat minimal (Faivre et al. [48], Ginsbourger [56], Jones et al. [71]).

Cependant ces deux stratégies présentent des lacunes : la première va permettre un raffinement du métamodèle en les points où il est le moins précis, et donc les minima indiqués par le métamodèle auront plus de chances d'être de vrais minima. Cette amélioration du métamodèle a un coût puisque chaque ajout de point d'observation au métamodèle nécessite sa reconstruction et donc le re-calcul des hyperparamètres, puisqu'un seul point en plus peut grandement modifier leurs valeurs. Dès lors, l'ajout de points qui n'ont pas vocation à être des minima engendre un coût de calcul important pour une stratégie qui peut nécessiter l'ajout de nombreux points avant d'être efficace. La seconde va orienter l'ajout de points ayant plus de chances d'être des minima locaux, le risque étant de rester enfermé dans un minimum local (Faivre et al. [48], Ginsbourger [56], Jones et al. [71]).

Pour combiner ces deux approches, Mockus et al. [99] introduisent l'expected improvement (EI). L'improvement en un point $x \in [0; 1]^d$ est la variable aléatoire définie par

$$I(x) = \left(\min_{i=1, \dots, m} Z_i - Z(x) \right)^+,$$

où $Z(x)$ représente une variable aléatoire suivant une loi normale d'espérance $\hat{Z}(x)$ et de variance $MSE(x)$, toutes deux définies par le Krigeage, et les Z_i sont les observations à partir desquelles on a bâti le métamodèle. Ensuite, l'expected improvement en ce point x est l'espérance de $I(x)$,

$$EI(x) = \mathbb{E}[I(x)].$$

La quantité $EI(x)$ représente l'espérance de l'amélioration du minimum actuel en ajoutant ce point. Elle prend en compte à la fois les valeurs observées, et la variance de prédiction, ce qui constitue un bon compromis entre les deux méthodes citées précédemment. De plus, l'EI peut être calculé facilement grâce à la formule analytique suivante (voir Jones et al. [71]) :

$$EI(x) = \left(\min_{i=1, \dots, m} Z_i - \hat{Z}(x) \right) \Phi \left(\frac{\min_{i=1, \dots, m} Z_i - \hat{Z}(x)}{\sqrt{MSE(x)}} \right) + \sqrt{MSE(x)} \phi \left(\frac{\min_{i=1, \dots, m} Z_i - \hat{Z}(x)}{\sqrt{MSE(x)}} \right)$$

où ϕ et Φ représentent respectivement la densité de la loi normale centrée réduite et sa fonction de répartition.

Un critère dérivé de l'expected improvement est le critère $q - EI$, ou EI multi-points, présenté par Ginsbourger et al. [57] défini pour un q -uplet de points de $[0; 1]$, $x^1, \dots, x^q$, par

$$q - EI(x^1, \dots, x^q) = \max_{i=1, \dots, q} EI(x^i).$$

Ce critère sélectionne un q -uplet de points en fonction du maximum de l'expected improvement de ses points. Comparée à la stratégie à base d'expected improvement, la stratégie d'amélioration à base de $q - EI$ enrichit le métamodèle de plusieurs points à la fois, dont l'un possède un bon expected improvement. Cela permet à la fois l'intensification

(un point qui a de bonnes chances d'améliorer le minimum actuel) et l'exploration ($q - 1$ points *a priori* quelconques).

Contrairement au calcul de l'EI, le calcul du q -EI ne possède pas *a priori* de formule explicite et doit être évalué par la méthode de Monte Carlo (Ginsbourger et al. [57]), ce qui engendre des coûts de calcul supplémentaires, bien que son calcul puisse facilement être parallélisé. Ginsbourger et al. [57] proposent aussi une formule analytique pour le calcul du critère 2-EI, puis Chevalier and Ginsbourger [32] proposent une formule analytique générale pour le calcul du $q - EI$, mais ces derniers suggèrent un calcul à base de méthode de Monte Carlo lorsque $q \geq 10$ pour plus d'efficacité (ce qui est le cas dans les deux applications présentées aux sections 5.3 et 5.4).

La stratégie d'amélioration continue est la suivante : à partir d'un plan d'expérience initial (points d'observations), et des résultats du modèle associés (observations), nous construisons un premier métamodèle à base de Krigage et prenons comme minimum le minimum des observations. Concernant le nombre de points du plan d'expérience initial, Jones et al. [71] suggèrent un nombre de points (au moins) égal à $10d$ ("règle des $10d$ "), c'est à dire dix fois la dimension de l'espace des paramètres. A partir de ce métamodèle, nous sélectionnons un point d'observation possédant l'EI le plus élevé parmi un ensemble de points choisi au hasard, ou (dans le cas du q -EI) un q -uplet de points d'observation possédant le q -EI le plus élevé parmi un ensemble de q -uplets de points choisis au hasard. Ce ou ces points d'observation sont ajoutés au plan d'expérience initial, et on construit à l'aide des observations déjà obtenues et des nouvelles observations, un nouveau métamodèle à base de Krigage. Le nouveau minimum obtenu est le minimum des observations précédentes et de la (ou des) nouvelles observations. On répète ce procédé jusqu'à obtenir un minimum en dessous du seuil fixé.

Nous proposons une stratégie hybride entre celle à base d'EI et celle à base de q -EI, que nous nommerons stratégie à base de q -1EI. Notre stratégie consiste à sélectionner, parmi l'ensemble de points choisi au hasard, les q points ayant le meilleur EI. L'avantage par rapport à celle à base de q -EI est que l'EI se calcule explicitement et donc plus rapidement. L'aspect d'intensification est assuré par la sélection des points avec le meilleur EI. L'aspect d'exploration repose sur l'imprécision du métamodèle : parmi les q points sélectionnés, certains le seront grâce à une variance élevée et leur ajout comblera les lacunes

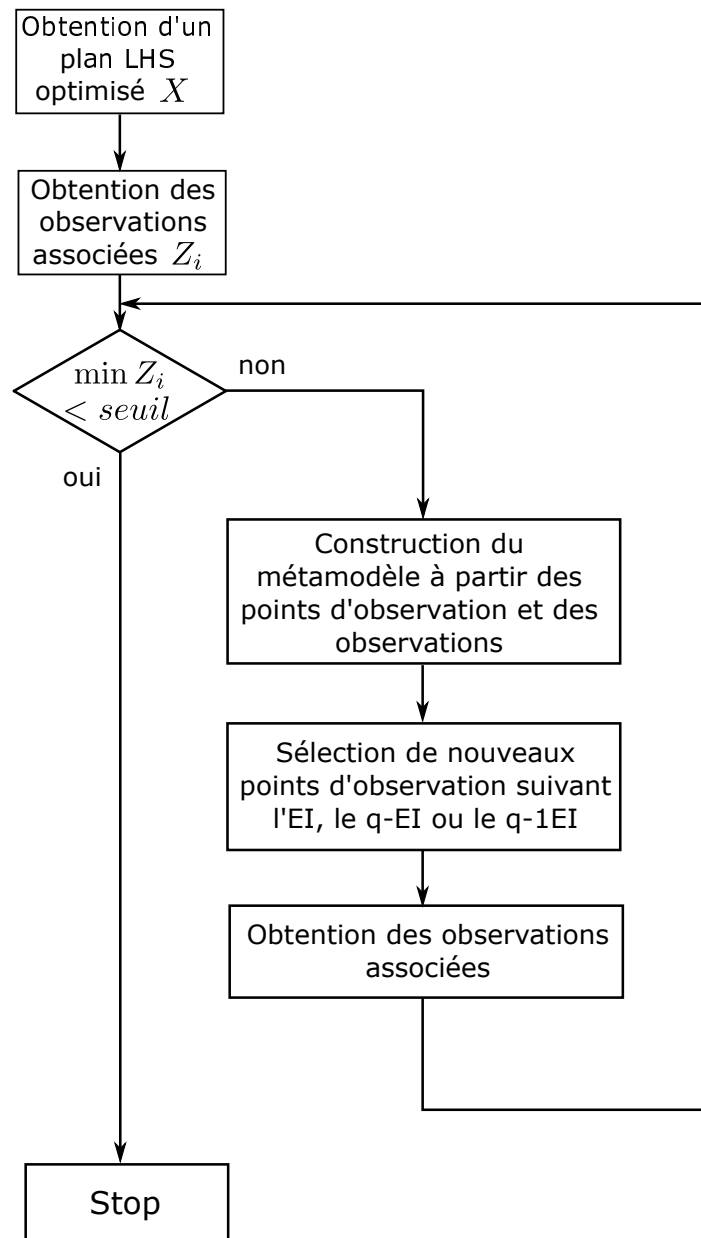


FIGURE 5.7 – **Algorithme d'optimisation EGO.** La construction initiale d'un plan LHS optimisé pour la discrédance constitue le premier jeu de points d'observation. Ce jeu, et les observations (résultats du modèle) qui lui sont associés permettent la construction d'un métamodèle permettant d'estimer les résultats du modèle. Les points d'observation et les observations sont ensuite enrichis par sélection de nouveaux points sélectionnés suivant les critères EI, q-EI ou q-1EI grâce au métamodèle. On continue ce procédé jusqu'à ce que le minimum des observations (qui correspondent aux valeurs de R^2) soit inférieur au seuil fixé.

du métamodèle. En pratique, sur les deux applications proposées en fin de chapitre (Sections 5.3 et 5.4), nous avons observé que l'utilisation du critère q-1EI est la plus efficace des trois.

Nous résumons l'algorithme (dit EGO par Jones et al. [71]) de recherche d'un minimum avec ces trois méthodes à la Figure 5.7.

Pour plus de clarté, nous présentons ensuite sur deux exemples simples ($d = 1$ et $d = 2$) les notions et méthodes introduites jusque là dans ce chapitre.

5.2.5 Exemples

Nous présentons deux exemples, un avec $d = 1$, et l'autre avec $d = 2$. Sur le premier, nous illustrons le prédicteur de Krigeage, la valeur de la MSE, les intervalles de confiance qui en découlent, et les stratégies d'amélioration continue *via* l'EI et le q-EI. Sur le second, nous illustrons l'utilisation de plans de type LHS (qui n'a pas vraiment de sens en une dimension), l'importance de l'optimisation du plan d'expérience initial et la sélection de points d'observation *via* q-1EI pour l'amélioration continue du métamodèle.

Un exemple en une dimension

Nous illustrons tout d'abord les éléments cités dans ce chapitre sur un exemple en une dimension. Soit

$$\begin{aligned} f_1 : [0; 1] &\longrightarrow \mathbb{R} \\ x &\longmapsto \sin(30(x - 0,9)^4) \cos(2(x - 0,9)) + \frac{x-0,9}{2} \end{aligned}$$

dont le graphe est donné à la figure 5.8.

Premièrement, nous sélectionnons une base d'apprentissage générée aléatoirement à 10 points (pour les besoins de l'exemple, nous n'optimisons pas l'uniformité du plan initial). Puis nous construisons à partir de ces données d'observation quatre métamodèles à base de Krigeage, chacun correspondant à l'un des quatre types de covariance présentés en section 5.2.1. Ces constructions ont été effectuées sous Matlab à l'aide du package Oodace (Couckuyt et al. [35, 36]). Les prédicteurs de Krigeages, MSE correspondants sont présentés aux Figures 5.9 à 5.12. Nous calculons aussi le critère de prédictivité Q^2 sur 10000 points choisis aléatoirement dans $[0; 1]$ pour chacun de ces métamodèles à base de Krigeage. Les valeurs de Q^2 correspondantes sont résumées dans le Tableau 5.2.

Au vu des coefficients de prédictivité Q^2 , les deux métamodèles les plus intéressants sont ceux où la covariance est exponentielle ou de matern 3/2. En observant les variances

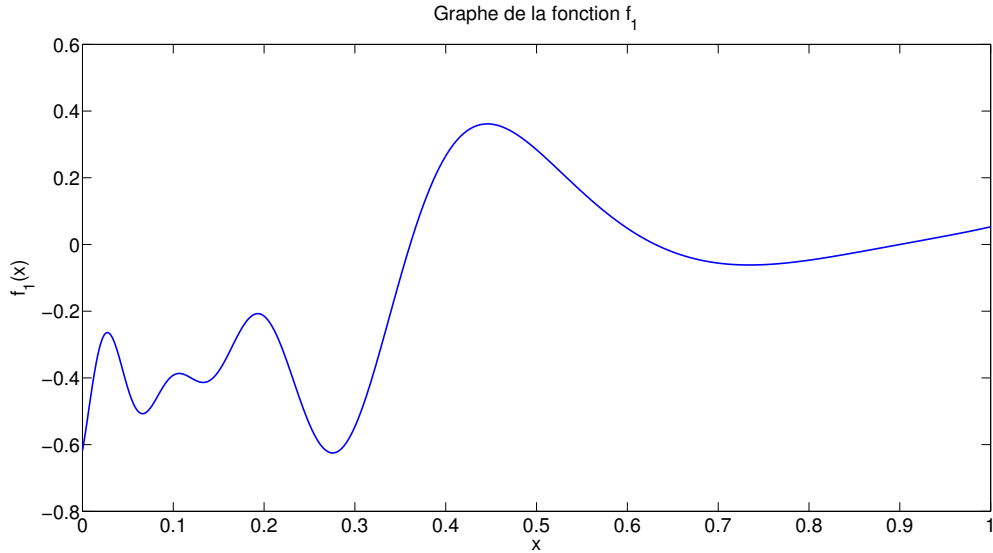


FIGURE 5.8 – **Graphe de la fonction f_1 considérée pour cet exemple.** f_1 possède un unique minimum global en $x_{min} = 0,7345$, qui vaut $y_{min} = -0,615$ et plusieurs minima locaux. Elle constitue une bonne fonction test pour les méthodes présentées dans ce chapitre.

TABLEAU 5.2 – Valeurs du coefficient de prédictivité Q^2 pour les quatre covariances considérées.

Covariance	Q^2
Gauss	0,8155
Exponentielle	0,8732
Matern 3/2	0,8787
Matern 5/2	0,8321

de prédiction respectives (Figures 5.10 et 5.11), le choix de covariance qui nous semble le plus intéressant est celui de la covariance de matern 3/2.

Pour $x \in [0, 1]$, il est intéressant de tracer aussi l'intervalle de confiance à 95%, $[a(x), b(x)]$ directement tiré du Krigeage construit. Les bornes de cet intervalle sont données par $a(x) = \hat{Z}(x) - 1,96\sqrt{MSE(x)}$ et $b(x) = \hat{Z}(x) + 1,96\sqrt{MSE(x)}$, découlant directement du fait que pour $x \in [0, 1]$ fixé, $Z(x)$ suit une loi normale d'espérance $\hat{Z}(x)$ et de variance $MSE(x)$. Pour la covariance de matern 3/2, nous affichons cet intervalle de confiance pour $x \in [0, 1]$ à la figure 5.13.

Illustrons maintenant les stratégies d'amélioration continue du métamodèle à base d'EI et de q-EI. Nous présentons sur la Figure 5.14 l'évolution du prédicteur de Krigeage et la valeur de $EI(x)$ pour $x \in [0, 1]$ au cours du processus d'amélioration. Nous présentons aussi l'évolution du coefficient de prédictivité Q^2 et du minimum des observations obtenu au cours des ajouts à la figure 5.15.

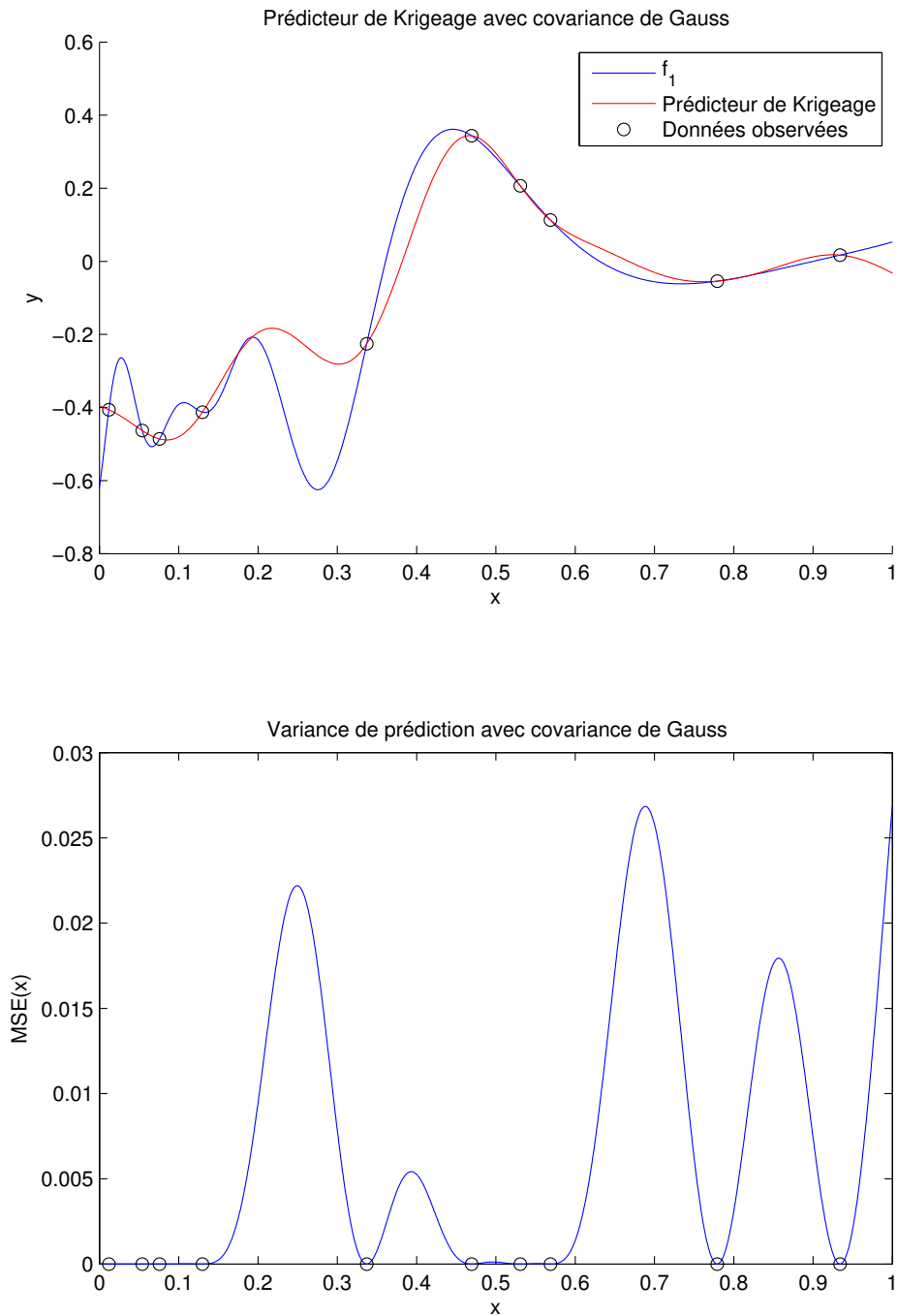


FIGURE 5.9 – **Prédicteur de Krigage et variance de prédiction avec une covariance de Gauss.** La variance de prédiction est élevée entre deux points distants et ne dépend pas des valeurs observées mais seulement de la position des points d'observation. On remarque que la variance aux points d'observations est nulle, ce qui est logique vu que le prédicteur est exact en les points d'observation.

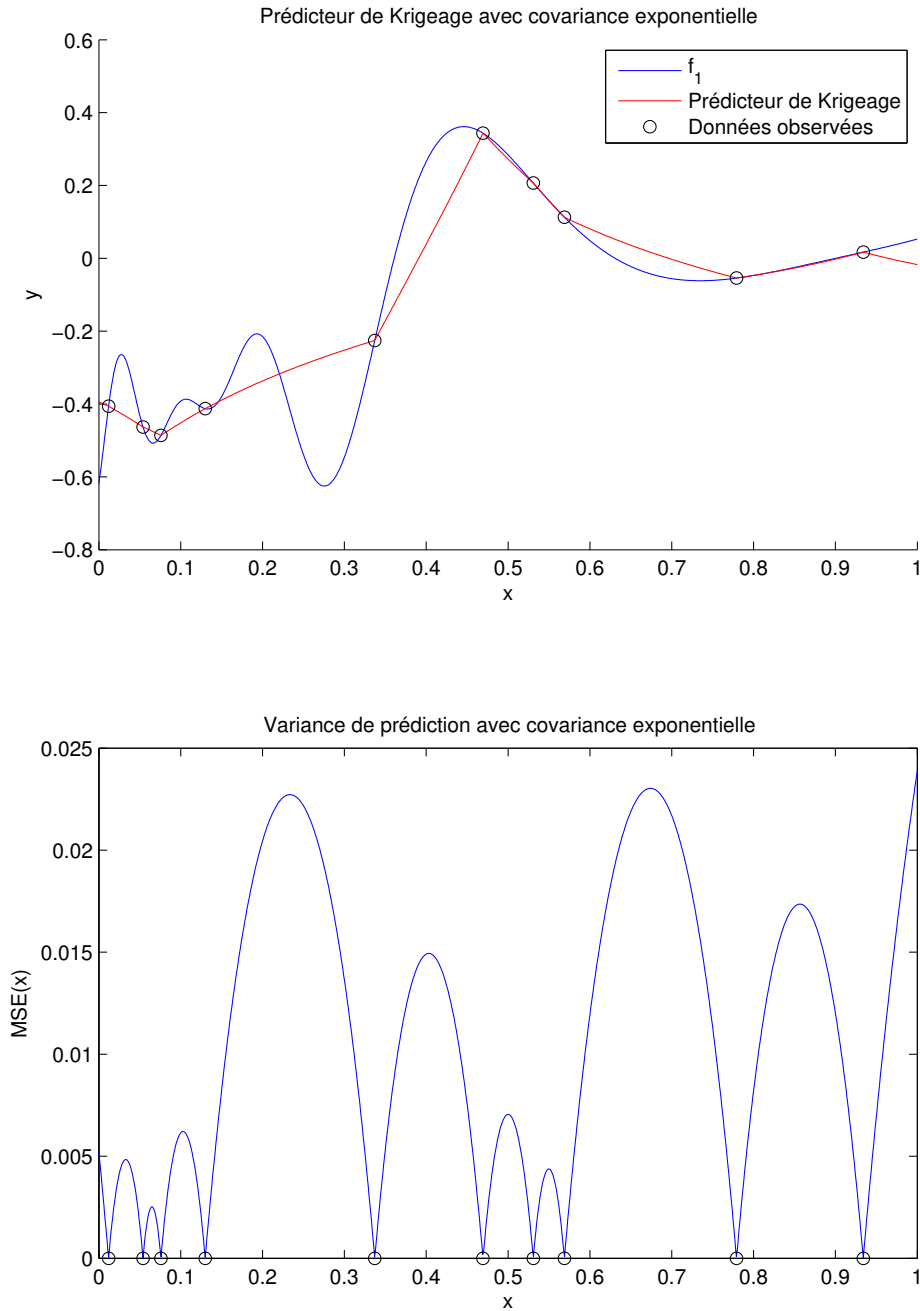


FIGURE 5.10 – **Prédicteur de Krigage et variance de prédiction avec une covariance exponentielle.** La régularité du prédicteur de Krigage avec une covariance exponentielle est plus faible que dans le cas où la covariance est gaussienne (Figure 5.9). La variance de prédiction est élevée entre deux points distants et ne dépend pas des valeurs observées mais seulement de la position des points d'observation. On remarque que la variance aux points d'observations est nulle, ce qui est logique vu que le prédicteur est exact en les points d'observation. La variance de prédiction est cependant plus élevée que dans le cas où la covariance est gaussienne (Figure 5.9).

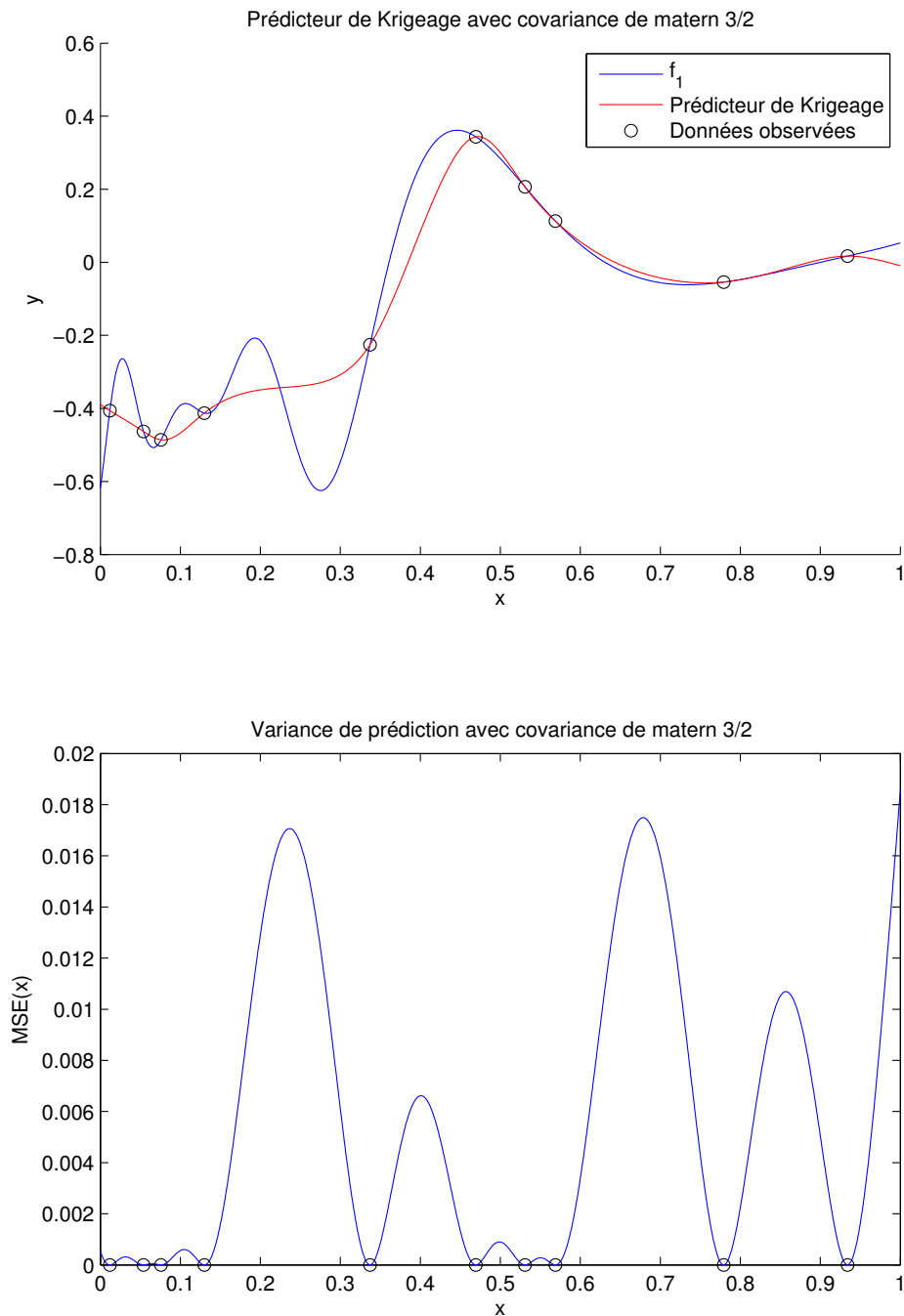


FIGURE 5.11 – **Prédicteur de Krigage et variance de prédiction avec une covariance de matern 3/2.** La variance de prédiction est élevée entre deux points distants et ne dépend pas des valeurs observées mais seulement de la position des points d'observation. On remarque que la variance aux points d'observations est nulle, ce qui est logique vu que le prédicteur est exact en les points d'observation. La variance de prédiction est plus faible globalement que dans les cas où la covariance est gaussienne (Figure 5.9) et exponentielle (Figure 5.10).

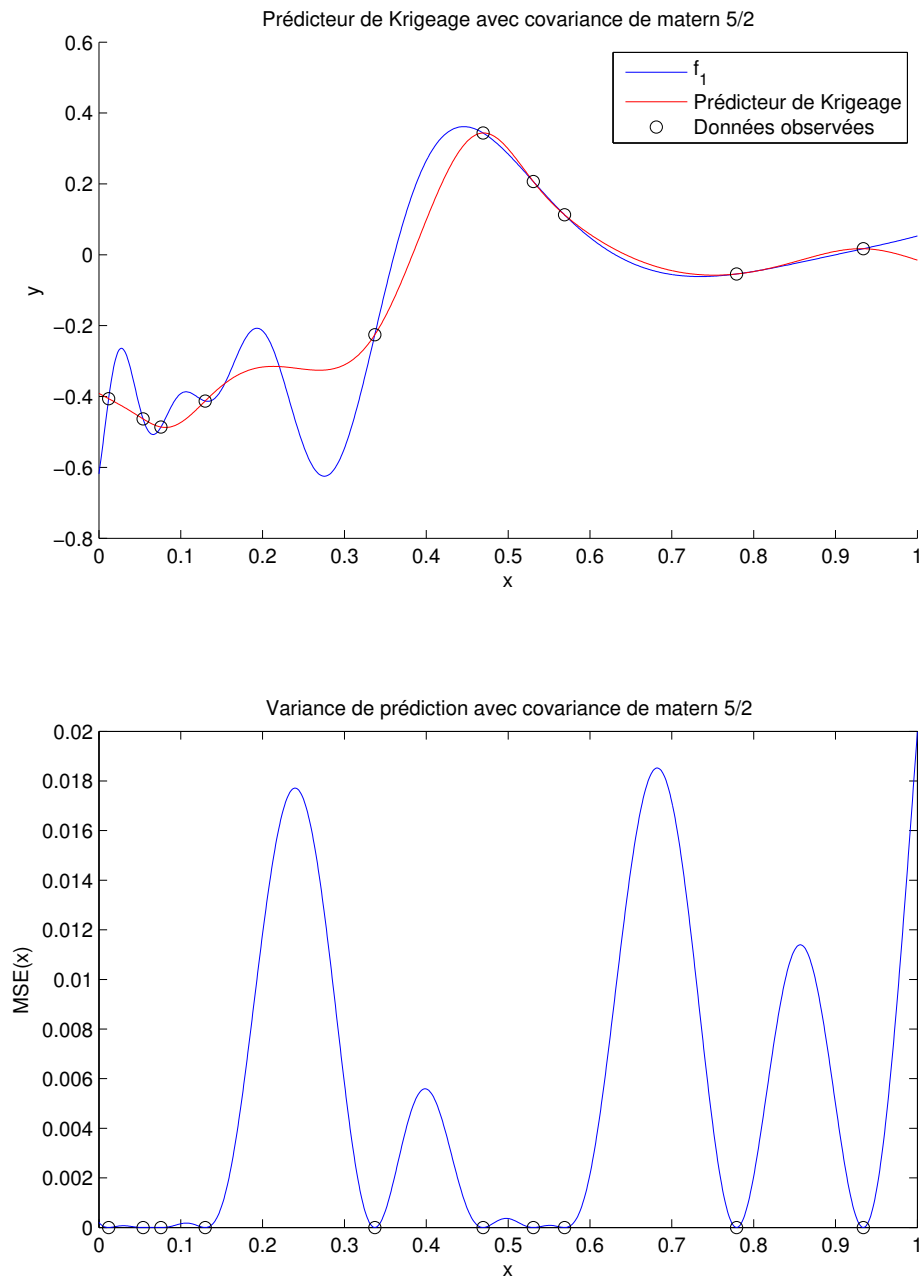


FIGURE 5.12 – **Prédicteur de Krigage et variance de prédiction avec une covariance de matern 5/2.** La variance de prédiction est élevée entre deux points distants et ne dépend pas des valeurs observées mais seulement de la position des points d'observation. On remarque que la variance aux points d'observations est nulle, ce qui est logique vu que le prédicteur est exact en les points d'observation.

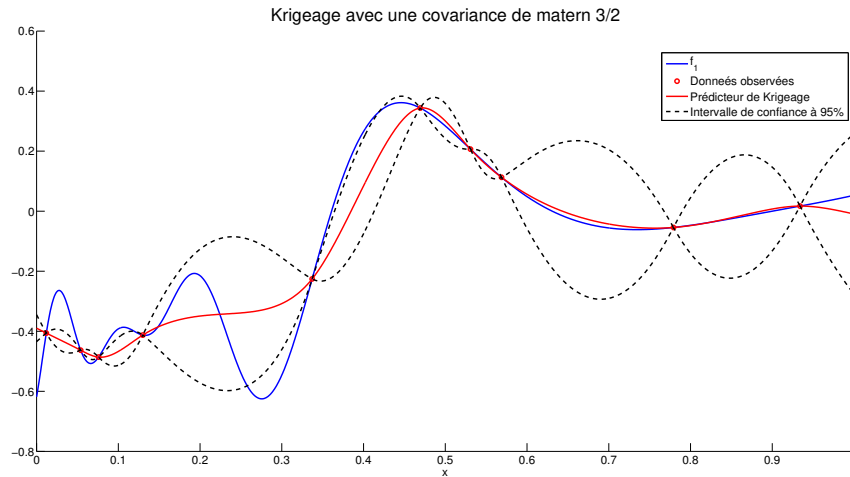


FIGURE 5.13 – **Prédicteur de Krigeage et intervalle de confiance à 95%.** L'intervalle de confiance à 95% permet d'estimer la réponse du modèle dans les zones ne comportant pas de points d'observations. Son amplitude est directement liée à la variance d'observation $MSE(x)$.

Sur la Figure 5.14, on observe qu'après cinq itérations, le minimum global est trouvé. L'expected improvement évolue à chaque reconstruction du métamodèle et ses valeurs maximales se concentrent d'abord autour d'un minimum local. Une fois cette zone explorée par l'ajout de points d'observations proches du minimum local, le point présentant l'expected improvement le plus haut est le minimum global et est donc rajouté en tant qu'observation à la dernière étape. On observe aussi sur la Figure 5.15 une amélioration globale mais non monotone de Q^2 et une valeur très satisfaisante après 5 améliorations, ainsi que l'obtention du minimum global après cinq itérations.

Prenons maintenant le même problème avec une stratégie à base de q-EI, avec $q = 2$, ce qui signifie que à chaque étape, on rajoute deux points d'observation, dont l'un possède l'expected improvement maximal parmi les points considérés. L'autre point permet potentiellement une exploration des zones négligées par le métamodèle qui peuvent tout de même contenir un minimum. A chaque itération, on évalue par la méthode de Monte-Carlo le 2-EI de 1000 couples de points choisis aléatoirement dans $[0; 1]^2$. Le couple de points ajouté est celui dont l'un des points possède le maximum des EI évalués parmi les 2000 points. De façon similaire au cas de la stratégie à base d'EI, nous présentons sur la Figure 5.16 l'évolution du prédicteur de Krigeage et la valeur de $EI(x)$ pour $x \in [0, 1]$ au cours du processus d'amélioration. Nous présentons aussi l'évolution du coefficient de prédictivité Q^2 et du minimum des observations obtenu au cours des ajouts à la figure

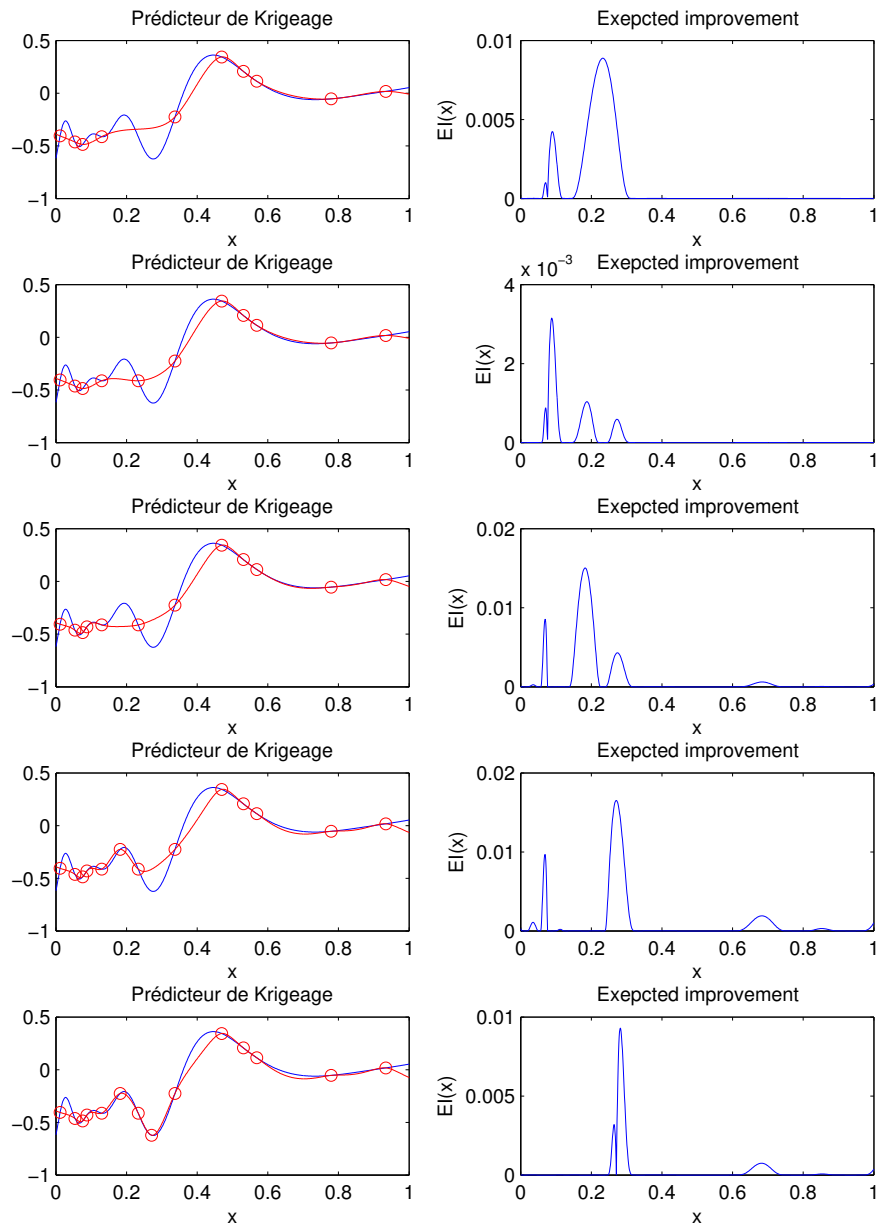


FIGURE 5.14 – Evolution du prédicteur de Krigage et de l'expected improvement au cours de l'amélioration continue du métamodèle par ajout de cinq points sélectionnés par leur expected improvement et ajoutés un par un. La colonne de gauche donne le prédicteur de Krigage, la colonne de droite l'expected improvement. Chaque ligne correspond à un ajout de point en partant initialement du métamodèle montré à la Figure 5.13. A chaque étape, le point ajouté correspond à celui présentant l'expected improvement le plus élevé à la ligne précédente.

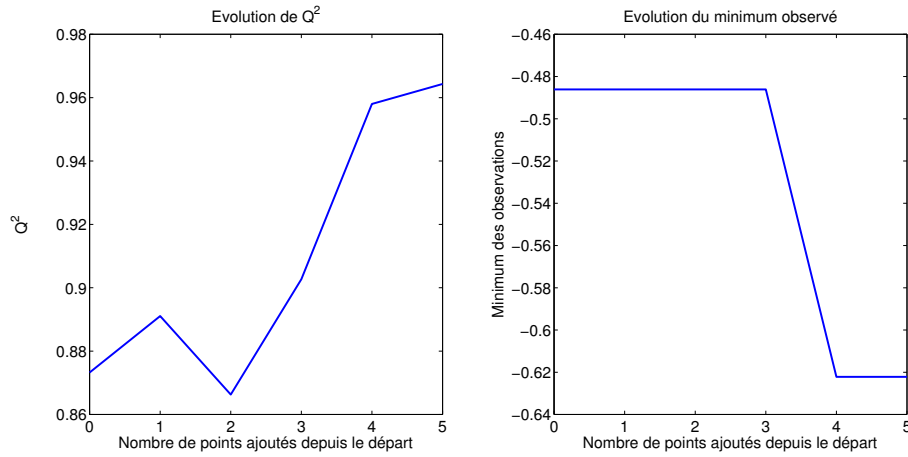


FIGURE 5.15 – Evolution du coefficient de prédictivité Q^2 et du minimum des observations au cours de l'amélioration continue du métamodèle par ajout de cinq points sélectionnés par leur expected improvement et ajoutés un par un. La figure de gauche donne l'évolution de Q^2 et la figure de droite l'évolution du minimum observé.

5.17.

L'obtention du minimum global nécessite aussi 5 étapes, mais compte tenu que l'on a rajouté 10 points d'observation aux 10 points déjà présents, le coefficient de prédictivité est plus élevé après cinq étapes de 2-EI qu'après 5 étapes d'EI.

Cette propriété est importante en dimension plus grande, puisque le nombre de points nécessaires pour obtenir un métamodèle qui possède un bon coefficient Q^2 est bien plus important. Ainsi, l'estimation de l'EI directement liée au métamodèle, est incertaine et les points présentant un bon EI ne seront pas forcément des points permettant de diminuer le minimum observé. L'aspect exploratoire du q-EI permettra en plus d'affiner le métamodèle petit à petit dans les cas où la dimension de l'espace à explorer est plus élevée.

Un exemple en dimension 2

Nous présentons maintenant plus succinctement un exemple en deux dimensions, pour illustrer l'importance d'optimiser le plan d'expérience qui nous servira de base d'observation initiale et l'obtention d'un minimum à base de q-1EI. Considérons la fonction f_2 définie, pour $(x, y) \in [0; 1]^2$ par

$$f_2(x, y) = \left(4 - 2, 1(4x - 2)^2 + \frac{(4x - 2)^4}{3} \right) (4x - 2)^2 + (4x - 2)(2y - 1) + (-4 + 4(2y - 1)^2)(2y - 1)^2,$$

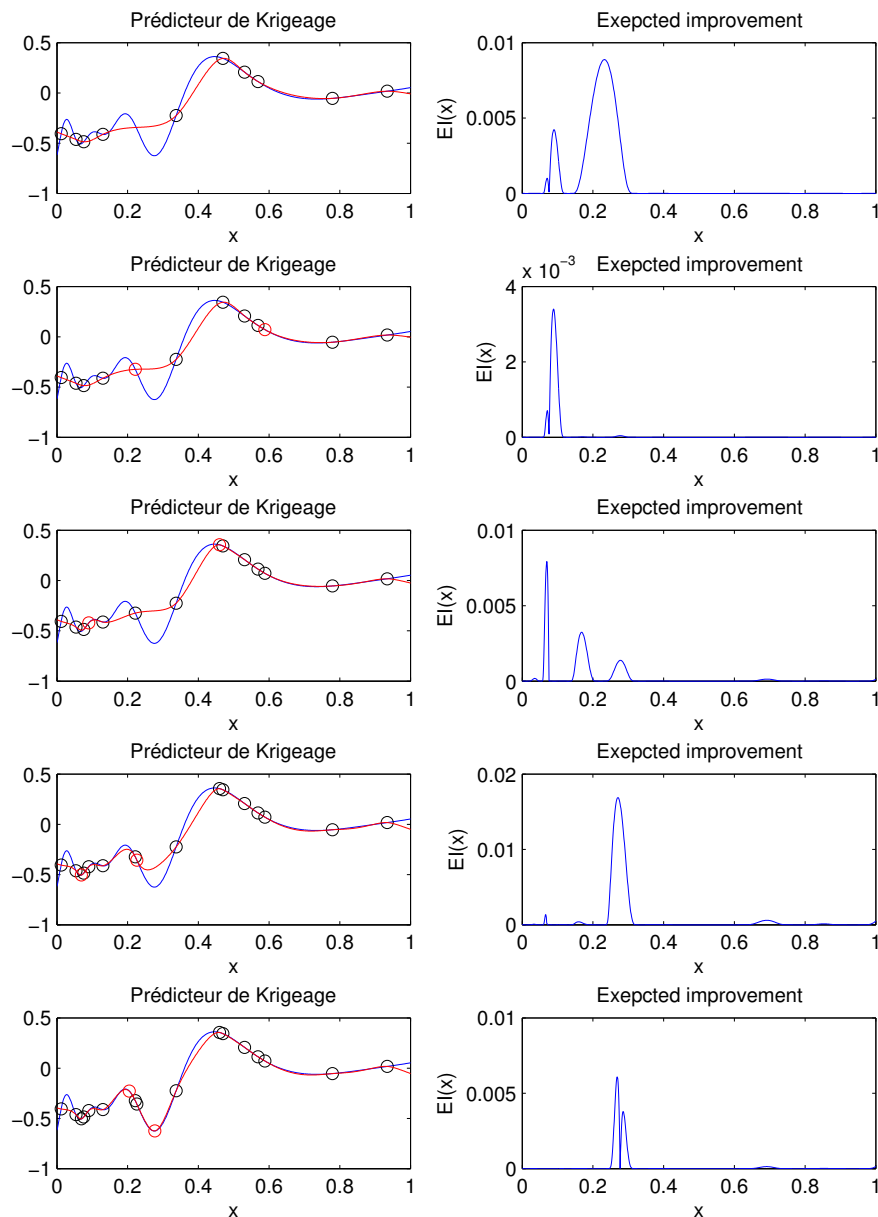


FIGURE 5.16 – Évolution du prédicteur de Krigage et de l'expected improvement au cours de l'amélioration continue du métamodèle par ajout de cinq couples points sélectionnés par leur 2-EI et ajoutés un par un. La colonne de gauche donne le prédicteur de Krigage, la colonne de droite l'expected improvement. Chaque ligne correspond à l'ajout d'un couple de points, dont l'un présente un expected improvement élevé à la ligne précédente, en partant initialement du métamodèle montré à la Figure 5.13. Le couple de points rajoutés à chaque étape est affiché en rouge, tandis que les anciens points d'observations sont en noir.

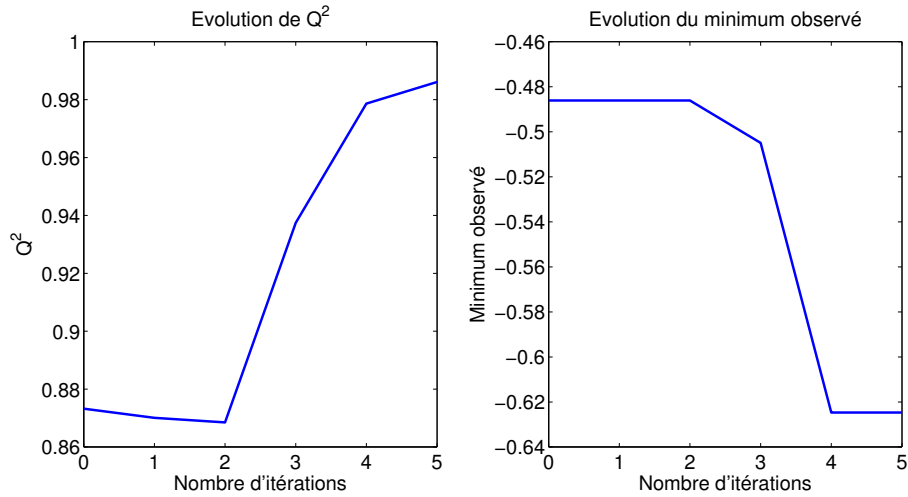


FIGURE 5.17 – Évolution du coefficient de prédictivité Q^2 et du minimum des observations au cours de l'amélioration continue du métamodèle par ajout de cinq couples points sélectionnés par leur 2-EI et ajoutés un par un. La figure de gauche donne l'évolution de Q^2 et la figure de droite l'évolution du minimum observé.

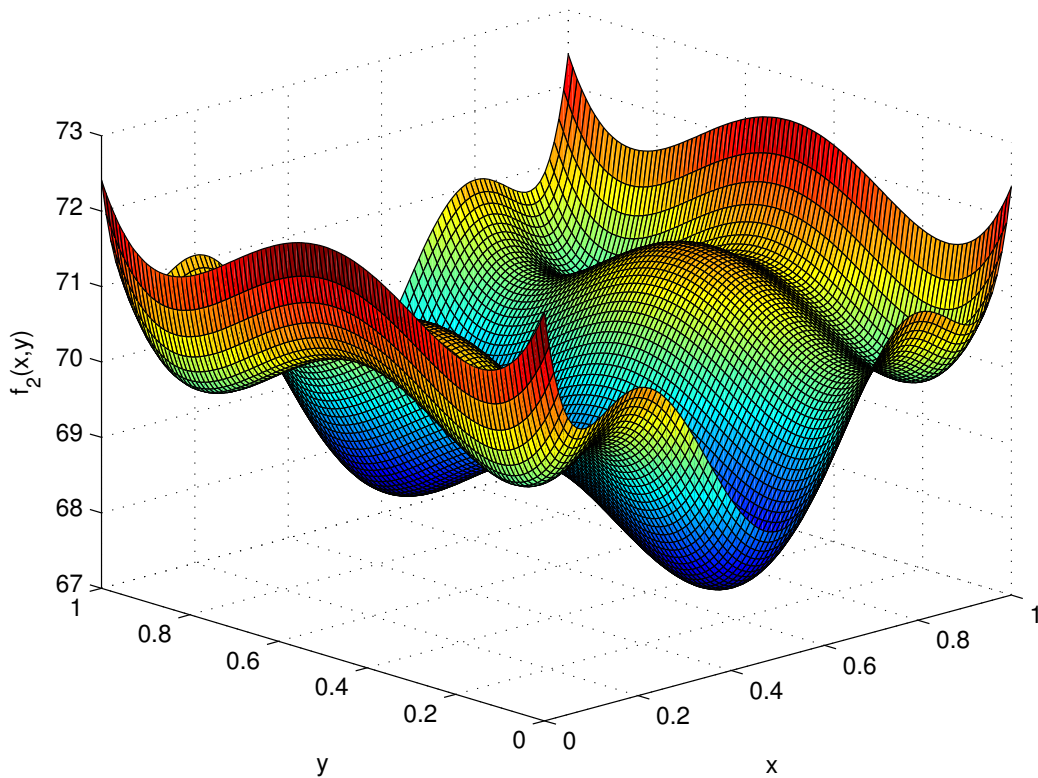


FIGURE 5.18 – **Graphe de la fonction f_2 considérée pour cet exemple.** f_2 possède deux minima globaux en $(x_{min,1}, y_{min,1}) = (0,5224; 0,1437)$ et $(x_{min,2}, y_{min,2}) = (0,4775; 0,8563)$, qui vaut $y_{min} = -1,0316$ et quatre minima locaux non globaux.

et dont la représentation graphique est donnée à la Figure 5.18.

TABLEAU 5.3 – Valeurs du coefficient de prédictivité Q^2 pour le métamodèle correspondant à f_2 en fonction du type de plan d'expérience choisi. Dans le cas des plans aléatoires et LHS quelconques, le Q^2 obtenu est moyenné sur 1000 plans.

Type de plan à 20 points	Q^2
Aléatoire	0,7370
LHS quelconque	0,7718
LHS optimisé	0,8415

Pour cette fonction, nous évaluons le critère de prédictivité Q^2 de :

1. 1000 métamodèles construits à partir de 1000 plans d'expérience à 20 points générés aléatoirement.
2. 1000 métamodèles à 20 points construits à partir de 1000 plans d'expérience de type LHS quelconques.
3. un métamodèle à 20 points construit à partir d'un plan d'expérience LHS optimisé.

Nous comparons les Q^2 moyens obtenus pour chaque cas et les résultats obtenus sont regroupés au Tableau 5.3.

On observe que le plan de Krigeage est de bien meilleure qualité s'il est construit avec un plan LHS optimisé. On utilise ensuite l'algorithme de recherche du minimum avec sélection des points par critère de q-1EI, avec $q = 10$. Nous affichons sur la Figure 5.19 la position des points du plan d'expérience initial ainsi que celle des points ajoutés pour les quatre premières étapes de l'algorithme.

Sur la Figure 5.19, on remarque que l'un des points cherché est approché très rapidement (étape 1), ceci étant dû au fait que l'un des points du plan d'expérience est proche de ce point, et donc le métamodèle y est très précis. A l'étape 2, on remarque que deux points (en haut à gauche et en bas à droite) sont sélectionnés malgré leur distance aux points cherchés. Ils possèdent en fait un grand MSE car le métamodèle n'est pas précis dans ces zones là. A cette même étape, le métamodèle est aussi enrichi de points proches du second point cherché. Aux étapes 3 et 4, le métamodèle est majoritairement enrichi de points proches des points cherchés, même si quelques points, comme à l'étape 2, sont sélectionnés par l'imprécision du métamodèle. Il est aussi intéressant de noter que le métamodèle ne se laisse pas bernier par les quatre minima locaux illustrés à la Figure 5.18.

Nous présentons aussi sur la Figure 5.20 l'évolution du minimum observé et celle du

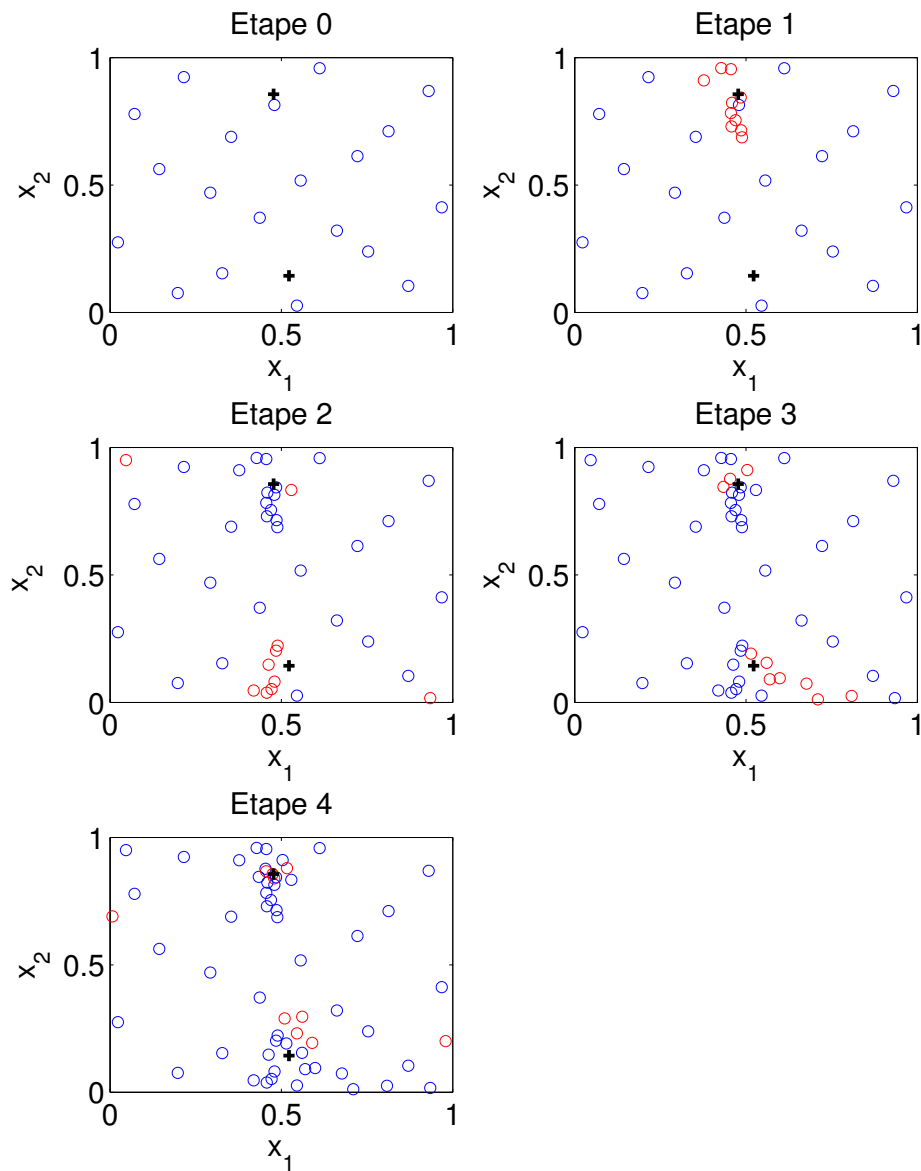


FIGURE 5.19 – Évolution des points d'observation au cours de quatre étapes d'algorithme 10-1EI. Les croix noires représentent la position des deux minima globaux. A chaque étape, les dix points rajoutés, sélectionnés comme les dix points présentant le meilleur EI parmi 250 points choisis aléatoirement, sont en rouge.

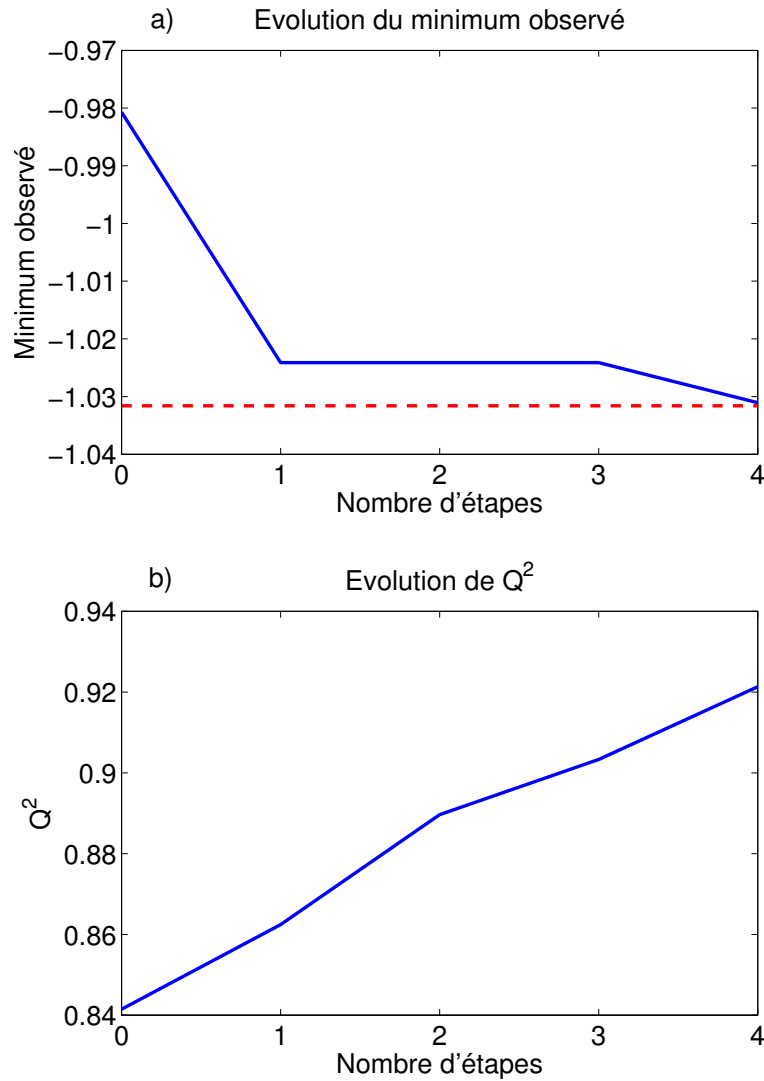


FIGURE 5.20 – **Évolution du minimum observé et de Q^2** . En a), l'évolution du minimum observé est tracé en bleu et la valeur du minimum global est en rouge. En b), l'évolution du coefficient de prédictivité est tracée en bleu.

coefficient de prédictivité Q^2 .

Après quatre étapes, le minimum global est trouvé. L'amélioration continue du méta-modèle a aussi permis une amélioration de son coefficient de prédictivité Q^2 , notamment en utilisant des points d'observation localisés dans des zones où le métamodèle était imprécis.

Nous passons maintenant à l'application de cette méthode à des cas concrets, à savoir une calibration des modèles de Crauste et al. [38] et du Chapitre 4.

5.3 Application au modèle de Crauste et al. [38]

Nous appliquons la méthode de recherche de jeux de paramètres introduite dans ce chapitre au modèle de Crauste et al. [38]. Le but ici est de valider cette méthode en comparant les résultats obtenus avec ceux présentés par les auteurs.

5.3.1 Rappel du modèle

Nous représentons le modèle final considéré par Crauste et al. [38] (obtenu en groupant les deux paramètres μ_L et δ_{LM} dans (1.5))

$$\begin{aligned}
 \frac{dN}{dt} &= -\mu_N N - \delta_{NE} P N, \\
 \frac{dE}{dt} &= \delta_{NE} P N + [\rho_E P - \mu_{EE} E - \mu_{EL} L - \delta_{EL}] E, \\
 \frac{dL}{dt} &= \delta_{EL} E - [\mu_{LL} L + \mu_{LE} E + \delta_{LM}] L, \\
 \frac{dM}{dt} &= -\mu_M M + \delta_{LM} E, \\
 \frac{dP}{dt} &= [\rho_P P - \mu_{PE} E - \mu_{PL} L - \mu_P^0] P,
 \end{aligned} \tag{5.6}$$

avec les conditions initiales $N(0) = N_0$, $E(0) = 0$, $L(0) = 0$, $M(0) = 0$ et $P(0) = 1$. La quantité de pathogène à l'instant initial a été normalisée pour réduire le nombre de paramètres (P_0 étant difficile à estimer). Le nombre de paramètres s'établit à 15 (14 dans les équations et une condition initiale). Nous détaillons ensuite les valeurs minimales et maximales considérées pour chaque paramètre.

5.3.2 Espace de paramètres

Nous donnons dans le Tableau 5.4 les bornes de l'espace des paramètres considéré.

Les valeurs a_i et b_i , pour $i = 1, \dots, m$, ont été choisies pour que chaque phénomène considéré dans (5.6) puisse avoir des ordres de grandeur similaires. Par exemple, les taux $\mu_{EL} E L$ et $\delta_{EL} E$ interviennent dans l'équation correspondant à l'évolution du nombre de cellules early effectrices. Étant donné les ordres de grandeur envisagés pour E et L , les bornes de l'espace des paramètres μ_{EL} et δ_{EL} sont ajustées pour que les taux correspondant varient sur la même plage de valeurs.

TABLEAU 5.4 – Valeurs des bornes de l'espace de paramètres considérés pour le modèle (5.6).

i	p_i	a_i	b_i
1	μ_N	10^{-2}	10
2	δ_{NE}	10^{-4}	1
3	ρ_E	10^{-2}	5
4	μ_{EE}	10^{-8}	10^{-4}
5	μ_{EL}	10^{-8}	10^{-4}
6	δ_{EL}	10^{-4}	10
7	μ_{LL}	10^{-8}	10^{-4}
8	μ_{LE}	10^{-8}	10^{-4}
9	δ_{LM}	10^{-4}	10
10	μ_M	10^{-9}	10^{-2}
11	ρ_P	10^{-3}	5
12	μ_{PE}	10^{-8}	10^{-3}
13	μ_{PL}	10^{-8}	10^{-3}
14	μ_P	10^{-4}	10
15	N_0	10^4	$2 \cdot 10^4$

Pour ramener l'hypercube $[0; 1]^d$ à $[a_1; b_1] \times \cdots \times [a_d; b_d]$ nous utilisons l'application

$$\begin{aligned} \phi_p : \quad [0; 1]^{15} &\longrightarrow [a_1; b_1] \times \cdots \times [a_{15}; b_{15}] \\ x = (x_1, \dots, x_{15}) &\longmapsto (p_1, \dots, p_{15}) \end{aligned}$$

où

$$\forall i \in \{1; \dots; 15\}, p_i = 10^{(\log_{10}(b_i) - \log_{10}(a_i))x_i + \log_{10}(a_i)}$$

de façon à ce que $\phi_p(0, \dots, 0) = (a_1, \dots, a_{15})$ et $\phi_p(1, \dots, 1) = (b_1, \dots, b_{15})$. Le choix de cette fonction permet une représentativité égale des ordres de grandeur des paramètres, ce que n'aurait pas permis une transformation linéaire.

Par exemple, pour le paramètre δ_{NE} correspondant à $x_3 \in [0; 1]$, on transforme tout d'abord $[0, 1]$ en $[-4; 0]$ via l'application $\varphi_{1,3} : x_3 \mapsto 4x_3 - 4$, puis on transforme $[-4; 0]$ en $[10^{-4}; 1]$ via l'application $\varphi_2 : y \mapsto 10^y$. De cette façon, si $X_3 \hookrightarrow \mathcal{U}([0; 1])$ et $Y_3 = \varphi_2 \circ$

$\varphi_{1,3}(X_3)$, alors

$$P(10^{-4} \leq Y \leq 10^{-3}) = P(10^{-3} \leq Y \leq 10^{-2}) = P(10^{-2} \leq Y \leq 10^{-1}) = P(10^{-1} \leq Y \leq 1).$$

Le système d'équations différentielles (5.6) ne possède pas de solution définie pour tous temps pour tous les jeux de paramètres de $[a_1; b_1] \times \dots \times [a_{15}; b_{15}]$. Les paramètres en cause sont les taux de prolifération du pathogène et des cellules T-CD8 early effectrices, respectivement ρ_P et ρ_E . Pour des valeurs très hautes de ces paramètres, on ne peut pas simuler ce système. Cependant, aucune détermination analytique de l'ensemble des paramètres ne permettant pas de simuler le modèle n'a été menée. Empiriquement et par la méthode de Monte Carlo, sur 10^5 jeux de paramètres sélectionnés de façon aléatoire dans $[0; 1]^{15}$, nous estimons à $\frac{1}{3}$ la proportion d'éléments $x \in [0; 1]^{15}$ menant à des jeux de paramètres pour lesquels le système (5.6) explose en temps fini. En conséquence, un tiers du volume de l'hypercube $[0; 1]^{15}$ ne peut pas être exploré en termes de résultats du modèle. En conséquence, la qualité du métamodèle à base de Krigeage construit sera moindre sur cette partie de $[0; 1]^{15}$, puisqu'il n'est pas possible de fournir au métamodèle les données de sortie du modèle correspondantes.

Nous détaillons ensuite les choix relatifs à la construction et à l'amélioration continue du métamodèle.

5.3.3 Protocole

Pour la construction du métamodèle à base de Krigeage, nous choisissons un plan initial LHS optimisé pour la discrédance à 300 points. Compte tenu qu'environ un tiers de ces points seront inexploitable cela laissera environ 200 points pour le plan initial, ce qui laisse une certaine marge par rapport à la règle des $10d$.

Les données sont obtenues *via* simulation numérique du système (5.6) sous Matlab, au moyen du solver numérique ode23 qui adapte automatiquement le pas de temps de résolution et permet une estimation au minimum quadratique de l'erreur numérique. L'utilisation de ce solver permet d'obtenir un pas de temps optimal qui assure une réso-

TABLEAU 5.5 – Valeurs du coefficient de prédictivité Q^2 pour le métamodèle correspondant au modèle décrit par (5.6) en fonction de la covariance choisie. L'évaluation de Q^2 a été faite sur un même échantillon de 1000 points sélectionnés aléatoirement dans $[0; 1]^{15}$ et pour lesquels la réponse du modèle était calculable.

Covariance	Q^2
Gauss	$\approx 10^{-7}$
Exponentielle	$\approx 10^{-7}$
Matern 3/2	0,8574
Matern 5/2	0,8446

lution à la fois rapide et correcte de chaque simulation du modèle, et qui évite d'avoir à adapter le pas de temps de la résolution à la main en fonction des valeurs de paramètres.

Pour choisir la covariance, nous construisons, comme dans le cas de l'exemple en une dimension, quatre métamodèles à partir de ce plan d'expérience, chacun correspondant à l'une des covariances mentionnées dans la Section 5.2.1. Nous évaluons le coefficient de prédictivité Q^2 dans chacun des cas, sur une base de 1000 points sélectionnés aléatoirement. Les résultats sont affichés dans le Tableau 5.5. Les métamodèles à base de covariance gaussienne et exponentielle sont inutilisables et échouent à reproduire les sorties du modèle. Les métamodèles à base de covariance de matern 3/2 et 5/2 proposent des résultats sensiblement similaires. Nous choisissons d'utiliser la covariance de Matern 3/2.

Enfin, pour l'amélioration continue, nous utilisons la méthode du q-1EI présentée dans la Section 5.2.4. La raison de ce choix provient du fait qu'un tiers de l'hypercube $[0; 1]$ ne pourra pas être exploré à l'aide du modèle, ce qui se traduira par une forte imprécision du métamodèle dans cette zone. En conséquence, les points de cette zone auront une très forte variance et donc un expected improvement haut.

La méthode de l'EI qui rajoute un point à la fois ne permettrait pas de faire progresser le modèle puisque, n'ayant pas de donnée correspondant au point à ajouter au plan d'expérience faute de pouvoir simuler le modèle, aucun point ne serait ajouté. La méthode du q-EI aurait des travers similaires : enrichir le métamodèle d'un q-uplet de points pour lequel le point qui a l'EI le plus élevé correspond à un jeu de paramètres pour lequel le modèle diverge reviendrait juste à lui ajouter des points aléatoires. Certes, cela améliorerait sa précision, mais en vue de l'efficacité de la méthode, ce n'est pas idéal.

Concernant la méthode du q-1EI, parmi les q points sélectionnés, nous n'ajoutons que

ceux pour lesquels le modèle ne diverge pas. Cela permet d'enrichir le modèle avec des points prometteurs vis à vis du problème d'optimisation posé, assurant l'intensification. Pour l'exploration, parmi les points ajoutés, certains le seront dans des zones où la prédiction n'est pas précise mais où l'EI est élevé à cause de la forte variance de prédiction.

Nous présentons ensuite les résultats obtenus pour la calibration de ce modèle.

5.3.4 Résultats

Dans cette section nous présentons les résultats obtenus, les comparons avec ceux de Crauste et al. [38] et examinons l'efficacité de la méthode mise en place.

L'optimisation du plan LHS à 300 points en 15 dimensions a nécessité environ quatre minutes pour 30 itérations de l'algorithme ESE. La discrédance obtenue après optimisation est égale à 0,1668, comparée à une discrédance de 0,2401 du plan LHS avant optimisation. L'évaluation des résultats du modèle pour un jeu de paramètres nécessite en moyenne 0,07 secondes (estimé sur 10000 jeux de paramètres choisis aléatoirement et pour lesquels le modèle ne diverge pas). Après élimination des points pour lesquels le modèle diverge, il ne reste que 197 points. Ces points et les données correspondantes sont utilisés pour construire un premier métamodèle à base de Krigeage (covariance de matern 3/2).

Nous présentons à la figure 5.21 les données de simulation pour l'obtention d'un jeu de paramètres acceptable (temps de calcul, évolution du minimum observé, nombre de points ajoutés à chaque étape).

En ayant fixé un seuil acceptable de R^2 à 35, l'obtention d'un jeu de paramètres acceptable nécessite 23 itérations (10 itérations avec $q = 10$ et 13 itérations avec $q = 50$). Le temps de calcul total associé est inférieur à deux heures. On constate aussi que le temps de construction du métamodèle augmente fortement au fur et à mesure que le nombre de points d'observation augmente, illustrant la nécessité d'un compromis entre précision et rapidité d'obtention. L'augmentation du temps nécessaire à la prédiction par le métamodèle de 100000 sorties du modèle est due à la nécessité d'inverser la matrice de covariance associée (voir (5.2)–(5.3)) dont la taille augmente avec le nombre d'observations. La valeur de R^2 obtenue (31,9) ne peut pas être comparée en l'état à celle obtenue par Crauste et al. [38] (19,9), qui ne prennent pas en compte, en plus des quatre autres populations, la po-

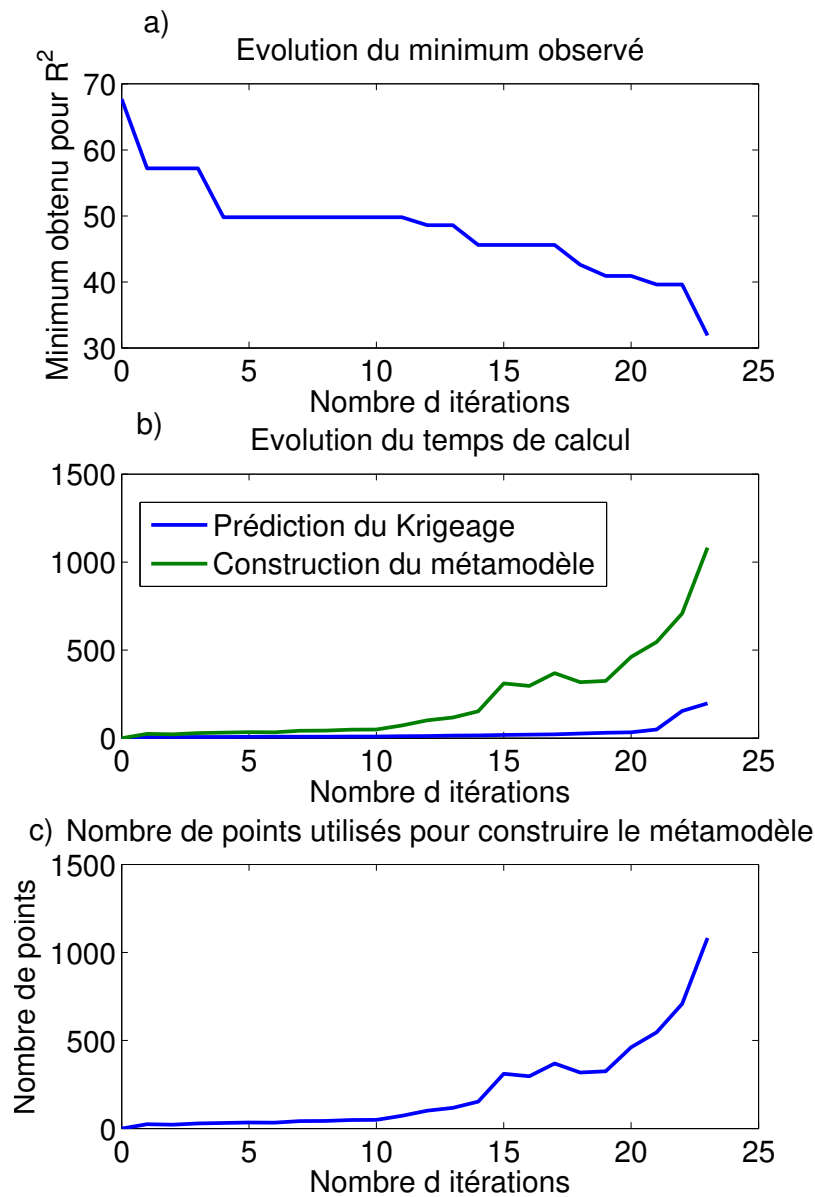


FIGURE 5.21 – **Données de simulation pour l'obtention d'un jeu de paramètres permettant au modèle (5.6) de reproduire les données biologiques de la Figure 5.1.** La figure a) présente l'évolution du minimum observé pour la valeur de R^2 , jusqu'à obtenir une valeur en dessous du seuil fixé (35). La Figure b) présente l'évolution des coûts de calcul principaux, à savoir le temps d'obtention des prédictions du Krigage pour 100000 points choisis aléatoirement et le temps de calcul pour l'obtention du métamodèle dont le nombre d'observations est donné à la Figure c). Pour les dix premières itérations, on ajoute jusqu'à 10 points (en enlevant ceux pour lesquels le modèle diverge), puis à partir de l'itération 11, on ajoute jusqu'à 50 points à chaque itération.

TABLEAU 5.6 – Valeurs des paramètres du modèle (5.6) correspondant au meilleur critère R^2 obtenus et comparaison avec ceux estimés par Crauste et al. [38].

i	Paramètre	Valeur obtenue	Valeur de Crauste et al. [38]
1	μ_N	0,3137	0,75
2	δ_{NE}	0,0106	0,009
3	ρ_E	1,4857	0,64
4	μ_{EE}	$8,825 \cdot 10^{-7}$	$2,15 \cdot 10^{-5}$
5	μ_{EL}	$4,817 \cdot 10^{-6}$	0
6	δ_{EL}	$5,05 \cdot 10^{-2}$	0,59
7	μ_{LL}	$5,664 \cdot 10^{-7}$	$7,5 \cdot 10^{-6}$
8	μ_{LE}	$3,747 \cdot 10^{-7}$	$3,6 \cdot 10^{-8}$
9	δ_{LM}	0,1021	0,025
10	μ_M	$6,9 \cdot 10^{-3}$	0
11	ρ_P	$4,1 \cdot 10^{-3}$	0,15
12	μ_{PE}	$1,157 \cdot 10^{-6}$	$1,8 \cdot 10^{-7}$
13	μ_{PL}	$8,219 \cdot 10^{-5}$	$1,8 \cdot 10^{-5}$
14	μ_P	10^{-3}	$5,5 \cdot 10^{-2}$
15	N_0	1428	≈ 8500

pulation totale de cellules T-CD8. Si l'on retranche à notre valeur de R^2 la valeur de R_T^2 , nous obtenons 22,95 ce qui est comparable à la valeur obtenue par Crauste et al. [38].

La reproduction des données biologiques par le modèle est très satisfaisante. La faible variance des données à jour 8 impose une grosse contrainte pour la minimisation de R^2 à cause d'un poids élevé dans (5.1).

Enfin, nous comparons dans le Tableau 5.6 le jeu de paramètres obtenu avec celui obtenu par Crauste et al. [38]. Les paramètres ne sont pas quasi identiques pour deux raisons. Premièrement le critère à optimiser n'est pas le même puisque Crauste et al. [38] n'ont pas pris en compte R_T^2 dans leur calcul de R^2 . De plus, notre méthode ne prétend pas faire de l'estimation paramétrique mais plutôt de la calibration, c'est à dire vérifier, de façon rapide, si le modèle peut reproduire les données, ou s'il faut le modifier. Notre jeu de paramètres obtenu n'est donc pas optimal.

En utilisant un protocole similaire à celui développé dans cette section, nous calibrons le modèle du Chapitre 4.

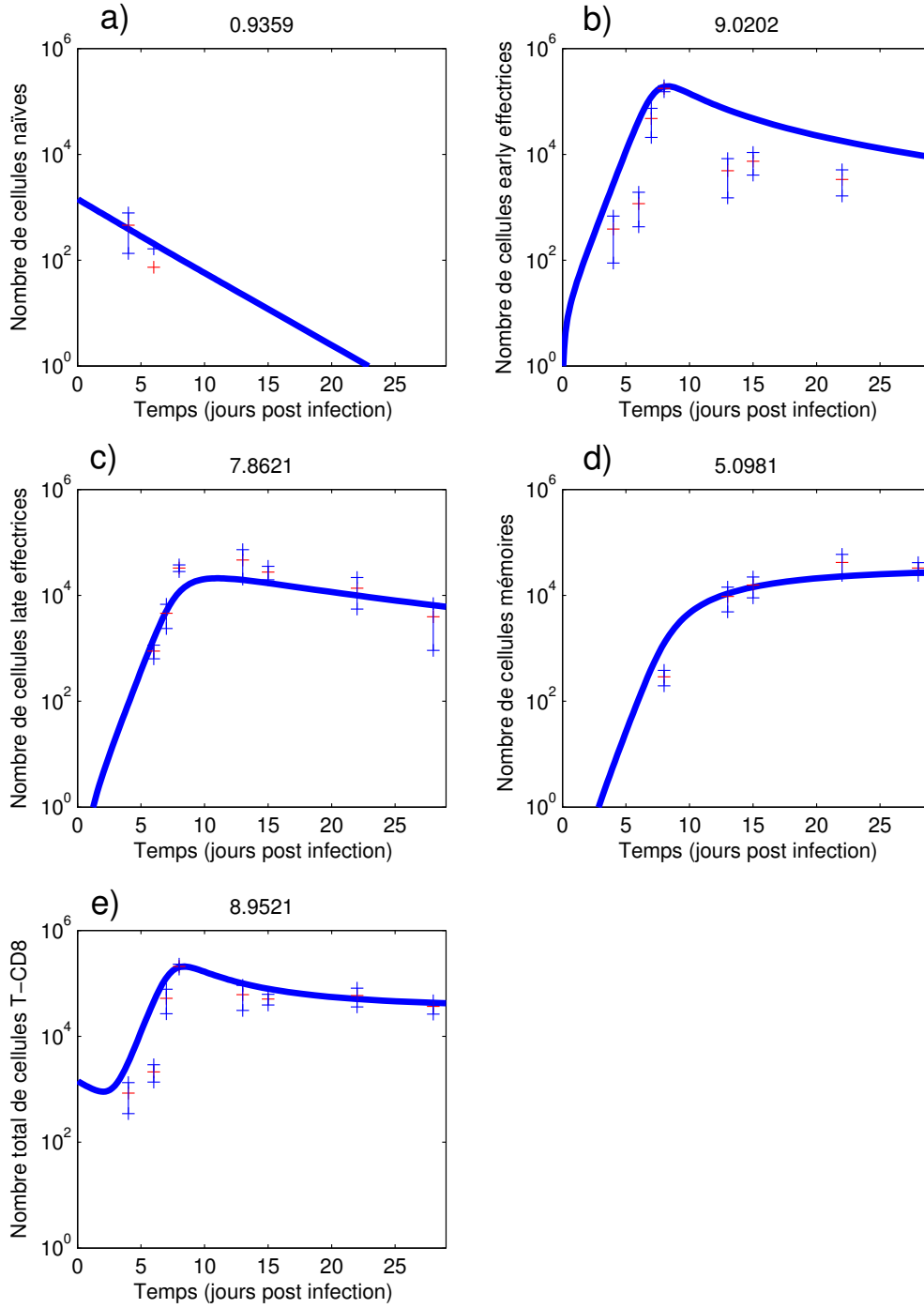


FIGURE 5.22 – **Meilleure reproduction des données obtenue.** Le nombre de cellules naïves (a)), early effectrices (b)), late effectrices (c)), mémoires (d)) et le nombre total de cellules T-CD8 (e)) obtenus par simulation du modèle pour le meilleur jeu de paramètres obtenu sont affichés. Le titre de chaque figure donne la valeur du critère R_X correspondant.

5.4 Application au modèle du Chapitre 4

Après validation de la méthode de recherche de paramètres sur le modèle (5.6), nous appliquons la même méthode au modèle présenté au Chapitre 4.

5.4.1 Espace de paramètres

Il n'est pas possible ici d'obtenir un jeu de paramètres comprenant tous les paramètres du modèle. Techniquement, rien n'empêche d'appliquer la même méthode à un modèle avec plus de 30 paramètres (à part peut être un temps de calcul plus long). Mais ici, c'est la façon dont nous avons construit ce modèle qui pose problème.

En effet, l'influence des paramètres intracellulaires du modèle est telle que pour beaucoup de jeux de paramètres, il n'y a jamais de cellules early effectrices ou late effectrices, voire même jamais de cellules mémoires. De plus, la nature même des données biologiques à notre disposition ne permettra pas d'obtenir des informations viables sur ces paramètres là. Un jeu de paramètres intracellulaires doit permettre l'obtention successive des sous populations activées, early effectrices, late effectrices et mémoires. Il doit, pour $\tau = 0$, permettre l'existence d'un équilibre stable strictement positif (x_2, y_2) dans le plan (μ_1, μ_2) et être tel que les maturités ne puissent pas diverger (voir Figure 3.5). Enfin, la position de (x_2, y_2) doit être idéalement dans Ω_{EE} quand P est maximal ($P = P_0$), et se déplacer petit à petit vers Ω_M lorsque P diminue. De cette façon, quand la quantité de pathogènes est élevée, les cellules tout juste activées se dirigent vers Ω_{EE} , prolifèrent et combattent le pathogène. Puis, quand la quantité de pathogène diminue, ces cellules se dirigent vers Ω_M en passant par Ω_{LE} , suivant le déplacement de l'équilibre stable (x_2, y_2) (voir Figure 3.3).

Par une méthode de Monte Carlo, nous estimons la proportion de jeux de paramètres intracellulaires vérifiant ces conditions sur 10^6 jeux de paramètres choisis aléatoirement. Sur ces 10^6 jeux, seuls 9 vérifient ces propriétés. En utilisant naïvement la méthode du Krigeage pour l'intégralité des paramètres du modèle, le métamodèle se construit à partir d'énormément de valeurs de R^2 très hautes car correspondant à des sorties du modèle pour lesquelles une ou plusieurs des sous populations considérées n'apparaîtraient pas. Dans ce cas, le métamodèle obtenu renvoie des résultats quasi constants et trop élevés,

et ne détecte pas du tout les minima recherchés. Les paramètres intracellulaires choisis au Tableau 3.4 vérifient ces conditions. Nous fixons donc les paramètres correspondants et leur donnons les valeurs du Tableau 5.7. Nous donnons ensuite dans le Tableau 5.8 les bornes $(a_i)_{1 \leq d}$ et $(b_i)_{1 \leq d}$ de l'espace des paramètres considérées.

Ces bornes ont été choisies de façon à pouvoir faire de chaque phénomène considéré un phénomène minoritaire ou majoritaire en fonction des valeurs de paramètres.

5.4.2 Protocole

Dans le Chapitre 4, les simulations numériques du Système (4.2)–(4.4) étaient effectuées *via* une méthode d'Euler explicite et le pas de temps était ajusté à la main. Étant donné que la recherche de paramètres nécessite un grand nombre de simulations du modèle, nous automatisons la résolution numérique du modèle au moyen du solveur dde23 sous Matlab.

La transformation de l'hypercube $[0; 1]^{15}$ en $[a_1; b_1] \times \cdots \times [a_d; b_d]$ est effectuée avec la même fonction ϕ_p que dans la Section 5.3. Cette fois-ci, il n'y a pas de zone de l'hypercube pour laquelle le modèle diverge.

Comme dans le cas de la Section 5.3, nous choisissons un plan initial de type LHS optimisé pour la discrédance à 200 points (soit une discrédance de 0,2100 contre 0,2972 initialement). Concernant les métamodèles à base de Krigeage, nous utilisons une co-variance de type matern 3/2. Enfin, pour l'amélioration continue du métamodèle, nous utilisons le critère du q-1EI avec $q = 30$. A chaque étape, les 30 points ajoutés aux points d'observation sont sélectionnés en fonction de leur EI parmi 50000 points choisis au hasard.

5.4.3 Résultats

Nous avons fixé le seuil à atteindre pour R^2 à 60, sachant que le modèle est bien plus complexe que celui avec lequel nous avons travaillé dans la Section 5.3, et qu'il comporte une sous population en plus, donc un R^2 forcément plus élevé. Au bout de 12 itérations, l'algorithme trouve un jeu de paramètres pour lequel $R^2 = 52,27$. L'algorithme nécessite en tout 560 évaluations du modèle (200 initiales et 30 pour chacune des 12 itérations). Le

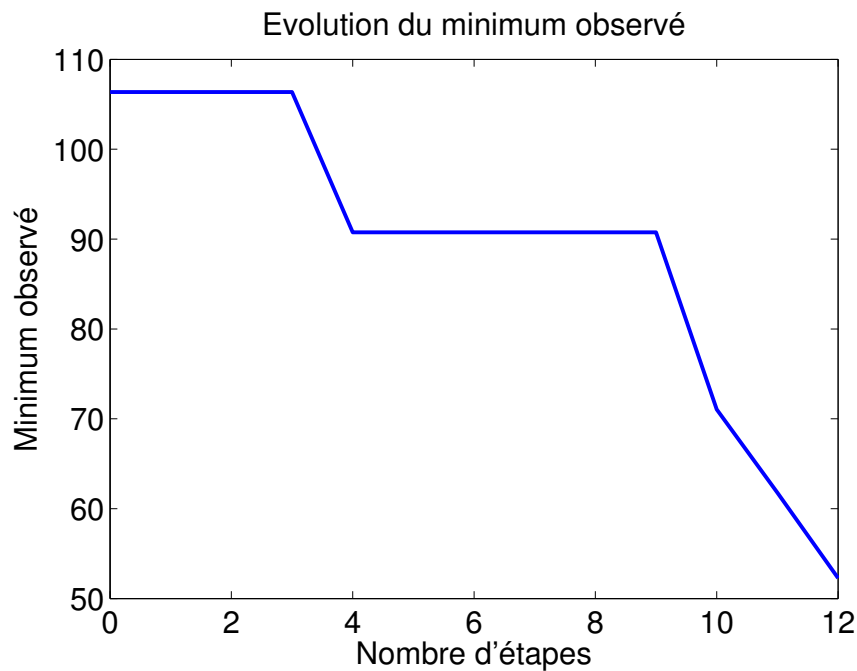


FIGURE 5.23 – **Evolution du minimum observé pour la valeur de R^2** . Le seuil fixé est $R^2 = 60$. En 12 étapes, l'algorithme permet l'obtention d'un jeu de paramètres pour lequel $R^2 = 52,27$

temps moyen d'évaluation du modèle est de 11,7 secondes soit un temps total pour l'évaluation du modèle légèrement inférieur à deux heures. Les 13 constructions des métamodèles à base de Krigeage successifs ont nécessité entre 32 et 200 secondes, pour un total de 25 minutes. L'évaluation de l'expected improvement pour les 600000 points considérés au cours de l'algorithme ne nécessite qu'un peu moins de 5 minutes. Sur un modèle comme celui là, l'algorithme total nécessite environ un temps de calcul de 2h30 contre en moyenne 48 jours de calcul pour évaluer la réponse du modèle à chacun des 600000 jeux de paramètres correspondants. Sur un modèle comme celui-ci, qui n'est pas très gourmand en temps de calcul, l'utilisation du métamodèle pour ce problème d'optimisation est déjà très avantageuse.

Nous affichons à la Figure 5.23 l'évolution du minimum observé au cours des itérations, et à la Figure 5.24 le nombre de cellules T-CD8 de chaque sous population de cellules pour le meilleur jeu de paramètres trouvé.

Enfin, nous donnons dans le Tableau 5.9 les valeurs de paramètres obtenues.

Biologiquement, les courbes obtenues à la Figure 5.24 ne sont pas totalement cohérentes. Premièrement, le nombre de cellules naïves obtenu est totalement incohérent. La décroissance du nombre de cellules naïves est trop faible. Cela est dû au fait que l'obten-

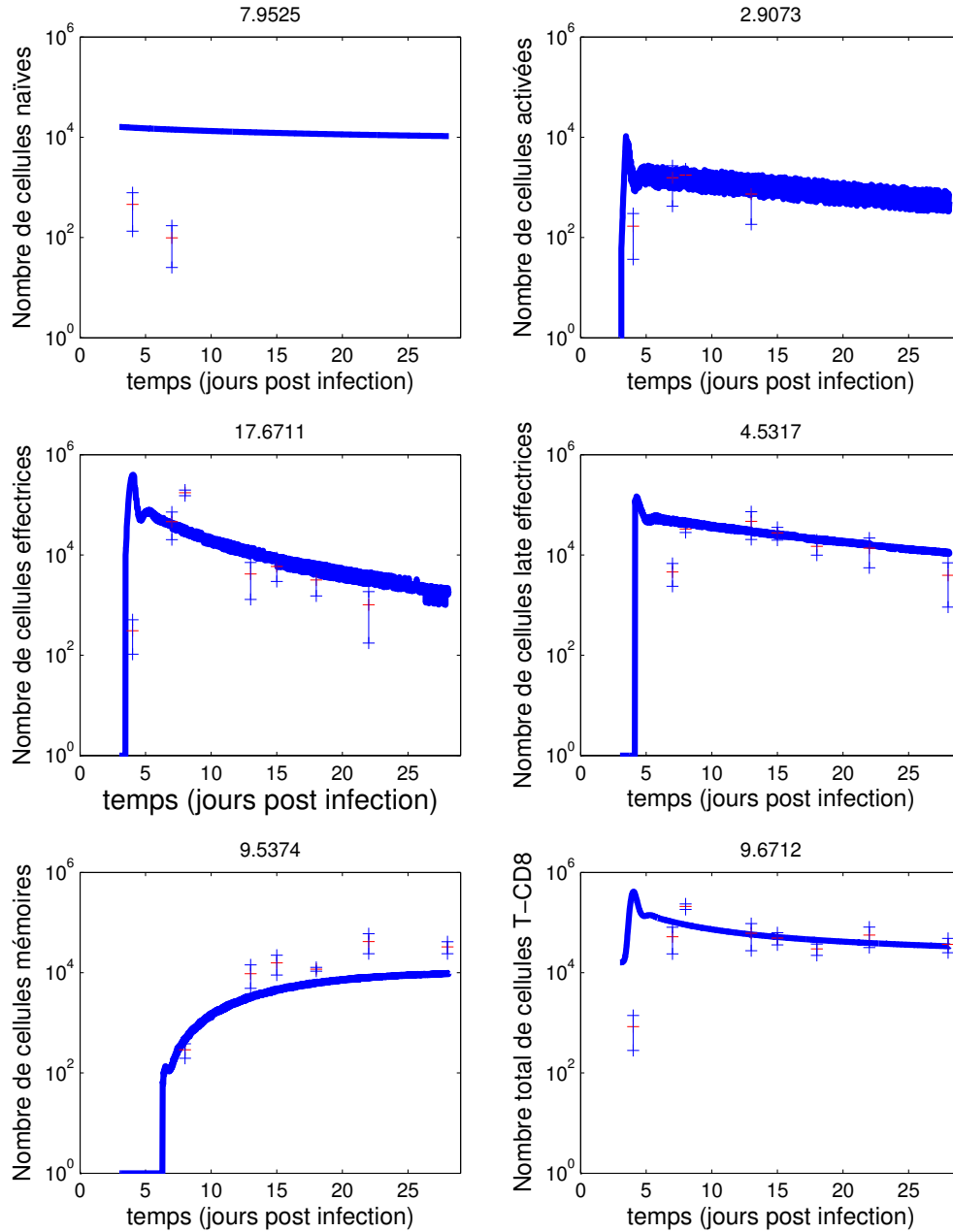


FIGURE 5.24 – **Meilleure reproduction des données obtenue.** Le nombre de cellules naïves (a)), activées (b)), early effectrices (c)), late effectrices (d)), mémoires (e)) et le nombre total de cellules T-CD8 (f)) obtenus par simulation du modèle pour le meilleur jeu de paramètres obtenu sont affichés. Le titre de chaque figure donne la valeur du critère R_X correspondant.

tion d'un nombre de cellules activées et effectrices non nul passé jour 10 post infection nécessite que le réservoir de cellules naïves ne soit pas totalement vidé. Les petites oscillations observées pour les cellules activées et early effectrices sont aussi une anomalie causée par le jeu de paramètres intracellulaire fixé. Enfin, le pic de la réponse est atteint quelques jours trop tôt.

Néanmoins, les résultats du modèle concernant toutes les populations, exception faite de ceux relatifs aux cellules naïves, sont satisfaisants. Les ordres de grandeurs attendus sont globalement respectés. L'algorithme a poursuivi sa recherche après l'obtention de ce jeu de paramètres pour 28 itérations supplémentaires mais n'a pas trouvé de jeu correspondant à une valeur de R^2 plus faible encore. Le jeu de paramètre obtenu, étant donné sa rapidité d'obtention et le résultat auquel il correspond, est acceptable en l'état.

TABLEAU 5.7 – Valeurs des paramètres fixées au préalable pour le calibrage du modèle. Les valeurs sont identiques à celles du Tableau 3.4. Le retard τ est pris égal à τ_l (valeur critique de τ à partir de laquelle on observe l'apparition d'un cycle limite pour le système intracellulaire) pour générer de l'hétérogénéité dans la population de cellules mémoires.

Type de paramètre	Paramètre	Valeur
Intracellulaire	γ_{r1}	2,51
	θ_{r1}	0,0626
	γ_{l1}	3
	θ_{l1}	0,2383
	k_1	0,58
	γ_{P1}	1,6
	θ_{P1}	$3 \cdot 10^4$
	τ	0,8951
	K_2	1,37
	r_2	0,91
	k_2	0,078
	γ_{P2}	1,1
	θ_{P2}	10^5
	k_{12}	2,27
Domaines	α	0,5
	β	0,5
Source	x_m	0,8
	y_m	0,75
	σ_m	0,05
Simulation	n	1
	Δt	0,2238
	T	28,1

TABLEAU 5.8 – Valeurs des bornes de l'espace de paramètres considérés pour le modèle du Chapitre 4.

i	Paramètre	a_i	b_i
1	γ_N	10^{-1}	20
2	θ_N	10^3	10^6
3	N_0	10^2	20000
4	γ_E	10^{-1}	20
5	θ_E	10^4	10^6
6	k_P	10^{-2}	2
7	P_0	10^2	10^6
8	γ_d	10^{-2}	10
9	γ_{AICD}	10^{-2}	10
10	θ_{AP}	10^4	10^6
11	θ_{A2}	10^{-2}	5
12	γ_{div}	10^{-1}	10
13	θ_{div}	10^{-2}	10
14	γ_F	10^{-2}	10
15	θ_F	10^4	10^6

TABLEAU 5.9 – Meilleur jeu de paramètres obtenu pour le modèle du Chapitre 4.

i	Paramètre	Valeur
1	γ_N	0,2500
2	θ_N	$1,1333.10^5$
3	N_0	$1,6082.10^4$
4	γ_E	0,3329
5	θ_E	48831.10^5
6	k_P	0,0357
7	P_0	$1,8862.10^4$
8	γ_d	0,0103
9	γ_{AICD}	3,7186
10	θ_{AP}	$2,5398.10^5$
11	θ_{A2}	3,3588
12	γ_{div}	23,4991
13	θ_{div}	0,1645
14	γ_F	7,5464
15	θ_F	$1,5526.10^5$

5.5 Discussion

La méthode mise en place dans ce chapitre a permis d'obtenir des résultats semblables à ceux de Crauste et al. [38] en moins de deux heures. Bien que ce modèle n'ait pas besoin de métamodèle pour être calibré grâce à ses faibles temps de simulation, il constitue un bon exemple d'utilisation et de validation de la méthode choisie. Les résultats obtenus ne sont pas optimaux, mais ils le sont de manière efficace. L'implémentation de l'algorithme n'a pas été optimisée, ce qui laisse entrevoir des possibilités d'exécution plus rapide. Malgré le fait qu'une partie de l'hypercube ne puisse pas être explorée, le métamodèle construit permet une estimation assez précise des réponses du modèle.

Sur le modèle du chapitre 4, l'application est plus complexe mais plus légitime puisque l'évaluation des résultats du modèle peut prendre entre quelques secondes et quelques minutes en fonction des valeurs des paramètres. Les paramètres correspondant à la modélisation de l'échelle intracellulaire doivent être fixés, sans quoi, trop de jeux de paramètres ne permettent pas l'apparition des populations early effectrices, late effectrices ou même mémoires. Dans ces cas là, le métamodèle cherche à interpoler des valeurs de R^2 hautes et très proches les unes des autres et, sauf coup de chance, ne détecte pas les rares minima. Après validation sur le modèle de Crauste et al. [38], pour $d = 15$ paramètres, le fait de ne chercher à obtenir que les paramètres qui correspondent à l'échelle de la population de cellules permet de se ramener aussi à l'obtention de $d = 15$ paramètres.

Nous obtenons un résultat qui correspond à une valeur acceptable de R^2 . Toutefois, ce résultat pour ce modèle n'est pas totalement cohérent biologiquement, avec une trop faible diminution du nombre de cellules naïves. Des modifications semblent nécessaires, notamment dans la description de l'injection des cellules naïves dans le domaine des cellules activées pour arriver à reproduire le nombre de cellules activées, early effectrices et late effectrices entre jour 10 et jour 28 après infection sans observer une faible diminution du nombre de cellules naïves. La forte sensibilité du modèle aux paramètres intracellulaires (notamment α et β), et leur influence sur la cinétique des sous populations considérées ne permet pas de les découpler complètement des paramètres de la population de cellules. Ainsi fixer les paramètres intracellulaires contraint fortement ceux de l'échelle de la population de cellules.

Dans les deux applications proposées, le temps de calcul pour obtenir les résultats des modèles considérés n'est pas très important (entre 2h et 2h30) et, même si des heuristiques classiques d'optimisation pourraient être appliquées (algorithme génétique, recuit simulé...), le gain de temps grâce au métamodèle est déjà très important dans le cas du second modèle. L'utilisation d'un métamodèle serait encore plus pertinente sur des modèles à base d'agents dont le temps de simulation est habituellement très important. Cependant, le modèle du Chapitre 2 n'est pas déterministe et dans ce cas là, il faudrait appliquer un autre type de Krigeage, le Krigeage avec observations bruitées.

Dans notre approche du problème d'optimisation, nous avons considéré un même poids pour les R_X^2 et calculé R^2 comme la somme des résidus R_X^2 . Pour la suite, il pourra être intéressant d'exprimer R^2 comme une combinaison linéaire des R_X^2 , introduisant ainsi des poids. La reproduction des données des cellules mémoires et effectrices (early + late) semble bien plus cruciale que celle des données relatives aux cellules naïves. Une autre piste est d'utiliser des métamodèles à base de co-Krigeage, qui considère plusieurs sorties interdépendantes. Chaque sous population aurait ainsi son propre métamodèle.

Enfin, un dernier avantage de notre approche est d'introduire l'analyse de sensibilité aux paramètres (voir Faivre et al. [48]). Même si c'est un peu prématuré sur le modèle du Chapitre 4, vu que nous avons fixé les paramètres intracellulaires, le métamodèle à base de Krigeage construit peut très facilement permettre une analyse de sensibilité en se substituant encore une fois au modèle. Des outils adaptés sont même déjà implémentés dans la toolbox Oodace utilisée. Par contre, étant donné les résultats très satisfaisants sur le modèle de Crauste et al. [38], ce serait la prochaine étape de cette étude.

Chapitre 6

Bilan et perspectives

Dans ce manuscrit, nous avons tout d'abord présenté trois modèles de la réponse immunitaire par les lymphocytes T-CD8. Ces trois modèles, possédant chacun des formalismes différents, sont construits avec la même idée en tête : modéliser la réponse immunitaire sur plusieurs échelles (intracellulaire, destin de la cellule, population de cellules) et interconnecter les modélisations de ces trois échelles.

Avec une première approche individu centré, nous avons construit au Chapitre 2 un modèle hybride multi-agents/continu dans lequel le contenu intracellulaire de la cellule, régulé par un système différentiel dérivé d'un réseau moléculaire inféré de la littérature biologique, influe sur le destin de la cellule et sur le milieu extra-cellulaire. En retour, les cellules T-CD8 voient leur contenu intracellulaire modifié par le milieu extra-cellulaire et les liaisons physiques qu'elles peuvent former entre elles ou avec une APC. L'appartenance de chaque cellule T-CD8 aux sous populations de cellules naïves, activées ou early effectrices, et donc leurs capacités cytotoxiques ou non, est aussi déterminée par leur contenu intracellulaire. Le modèle comporte une part de stochasticité dans les déplacement des cellules, leurs liaisons, la répartition du contenu intracellulaire à la division... Ce modèle décrit très bien les premières phases de la réponse immunitaire primaire pour un faible nombre de cellules (cas pour lequel une description individu centrée est pertinente). Le coût de calcul de ce modèle est très élevé. De plus, il ne décrit ni la génération de cellules mémoires, ni les réponses secondaires.

En changeant d'approche mathématique, nous avons ensuite construit au Chapitre 3 un modèle dans lequel la population de cellules T-CD8 est représentée par une densité

structurée en maturités. A partir du réseau moléculaire proposé au Chapitre 2, nous avons inféré un réseau moléculaire réduit et lui avons associé un système différentiel ordinaire qui régule les dynamiques des deux maturités μ_1 et μ_2 . Ces deux maturités représentent respectivement les capacités de prolifération et de survie de la cellule et évoluent suivant des vitesses de maturation v_1 et v_2 définies par le système différentiel sus-cité. La population de cellules est décrite par une densité qui vérifie une équation de transport dans l'espace (μ_1, μ_2) des maturités et dont les vitesses d'évolution sont v_1 et v_2 . Dans ce modèle aussi, l'échelle intracellulaire et l'échelle de la population de cellules sont interconnectées. L'analyse mathématique assure l'existence, l'unicité, et la positivité (importante pour que le modèle soit biologiquement cohérent) et précise le comportement du système régulant la dynamique intracellulaire et son comportement en temps long. En utilisant une méthode de type particulaire, nous simulons ce modèle avec des temps de simulation très courts (de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes). Ces simulations montrent que le modèle reproduit qualitativement, en fonction des paramètres considérés (étude analytique à l'appui), la réponse primaire et les réponses secondaires suivantes, ce qui est un progrès par rapport au modèle du Chapitre 2, en ce qui concerne la population totale de cellules mais aussi les sous populations considérées. En revanche, ce modèle décrit le comportement moyen d'une population de cellules et la stochasticité du modèle du chapitre précédent, ainsi que la position spatiale des agents ont disparu. Enfin, la population de cellules mémoires générée est concentrée autour d'une même valeur intracellulaire, déterminée par le comportement en temps long du système intracellulaire, et est donc très homogène. En cas de réponse secondaire, toutes les cellules mémoires générées par la réponse primaire vont donc réagir en même temps, ce qui n'est pas biologiquement cohérent.

En se basant sur des considérations biologiques, nous ajoutons au Chapitre 4 un retard dans le système intracellulaire du Chapitre 3. La définition de la densité de cellules telle qu'elle a été posée au Chapitre 3 ne tient plus mais nous adaptons le modèle pour la définir comme une densité discrète. L'étude de l'impact du retard sur le comportement en temps long du système intracellulaire montre l'apparition de solutions périodiques pour ce système pour des valeurs du retard suffisamment élevées. L'influence du système intracellulaire sur la population de cellules permet de générer une population hétérogène

de cellules mémoires, les cellules se concentrant sur le cycle limite au lieu d'un point d'équilibre stable du système intracellulaire ce qui corrige l'un des défauts du modèle du Chapitre 3. De plus, le modèle reproduit aussi qualitativement les réponses primaire et secondaires.

Enfin, dans le Chapitre 5, nous utilisons une méthode de calibration de modèles utilisant un métamodèle qui se substitue au modèle. Après présentation et validation sur le modèle de Crauste et al. [38], nous utilisons cette méthode sur le modèle du Chapitre 4. Pour ces deux modèles, le résultat obtenu est satisfaisant mais non optimal. Concernant le premier modèle, nous avons pu comparer avec succès nos résultats avec ceux des auteurs. Concernant le modèle du Chapitre 4, après avoir fixé les paramètres intracellulaires, le calibrage a permis de montrer que ce modèle était capable de reproduire quantitativement la réponse immunitaire primaire. Dans les deux cas, le temps nécessaire à la calibration est très faible (entre 2h et 2h30) et l'utilisation du métamodèle pour gagner en efficacité, malgré un temps de calcul non excessif, est déjà pertinente.

Concernant les évolutions futures, à l'aide du modèle calibré, nous pouvons maintenant explorer ce qu'il se produit lors des réponses immunitaires secondaires. En effet, nous n'avons pas de données biologiques qui pourraient nous permettre de calibrer notre modèle sur une réponse secondaire. L'idée est de le calibrer sur la réponse primaire comme au Chapitre 5, puis d'utiliser le modèle pour prédire les réponses secondaires suivantes. C'est l'avantage d'avoir développé dans les Chapitres 3 et 4 un même modèle pour les deux types de réponse. Bien sûr, une calibration sur les deux types de réponse à la fois nous fournirait avec plus de certitudes des valeurs de paramètres. En l'état, étant donné la forte sensibilité des résultats du modèle à certains paramètres intracellulaires (en particulier les seuils définissant les sous populations α et β difficilement estimables biologiquement) on peut difficilement obtenir de meilleurs résultats sur ces deux modèles. Le modèle est sur-paramétré, et la très faible quantité de jeux de paramètres intracellulaires permettant un comportement global qualitativement satisfaisant en est l'illustration.

Une évolution qui pourrait permettre de simplifier ces deux modèles serait de les réduire à une variable de structure. Cette construction plus artificielle que celle menée dans ce manuscrit, permettrait une étude analytique du modèle plus poussée, et une réduction du nombre de paramètres intracellulaires. La variable de structure forcerait les cellules à

passer, plus ou moins vite en fonction de la quantité de pathogènes, consécutivement par tous les stades de différenciation modélisés réglant ainsi le problème mentionné au Chapitre 5.

D'un point de vue modélisation, une évolution intéressante du travail présenté dans ce manuscrit serait d'interfacer le modèle à base d'agents du Chapitre 2 avec celui du Chapitre 3 ou 4. Le premier décrit bien les petites populations de cellules, tandis que les autres décrivent un comportement moyen, ce qui convient bien pour de grandes populations. Étant donné l'évolution du nombre total de cellules T-CD8, on pourrait imaginer commencer la simulation avec le modèle à base d'agents, puis basculer vers le modèle structuré lors de la phase de prolifération, avant de revenir au premier modèle après la phase de contraction.

Enfin, et c'était le but initial de ce travail, l'utilisation de ces modèles pour mettre au point des stratégies de vaccination efficaces passe par l'utilisation de modèles calibrés. Concernant le modèle du Chapitre 4, la modélisation de l'AICD rend le problème intéressant puisqu'une charge trop élevée de pathogène va avoir tendance à éliminer les cellules T-CD8 et sera donc contre productive. Se pose aussi la question du planning de vaccination : est-il préférable de vacciner une seule fois? Plusieurs fois? Existe-il un temps optimal entre deux vaccinations pour maintenir le nombre de cellules mémoires au cours du temps? Toutes ces questions peuvent maintenant être étudiées grâce aux modèles proposés. La boucle présentée en début de manuscrit est (presque) bouclée.

Bibliographie

- [1] E. H. L. Aarts and P. J. M. van Laarhoven. Statistical Cooling : A General Approach to Combinatorial Optimization Problems. *Philips Journal of Research*, 40 :193–226, 1985. [164](#)
- [2] Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, and Shiv Pillai. *Basic Immunology : Functions and Disorders of the Immune System*. Elsevier/Saunders, Philadelphia, PA, fourth edition edition, 2014. [15](#), [16](#), [17](#), [18](#), [19](#), [83](#), [84](#), [89](#), [90](#), [124](#)
- [3] D. Alemani, F. Pappalardo, M. Pennisi, S. Motta, and V. Brusici. Combining cellular automata and Lattice Boltzmann method to model multiscale avascular tumor growth coupled with nutrient diffusion and immune competition. *J. Immunol. Methods*, 376(1-2) :55–68, 2012. [87](#)
- [4] G. Altan-Bonnet and R.N. Germain. Modeling T Cell Antigen Discrimination Based on Feedback Control of Digital ERK Responses. *PLoS Biology*, 3(11) :e356, October 2005. [26](#), [86](#)
- [5] M.H. Andersen, D. Schrama, P. Thor Straten, and J.C. Becker. Cytotoxic t cells. *J Invest Dermatol.*, 126 :32–41, 2006. [61](#)
- [6] B.R. Angermann, F. Klauschen, A.D. Garcia, T. Prustel, F. Zhang, R.N. Germain, and M. Meier-Schellersheim. Computational modeling of cellular signaling processes embedded into dynamic spatial contexts. *Nat Meth.*, 9(4) :283–289, 2012. [77](#)
- [7] Rustom Antia, Carl T. Bergstrom, Sergei S. Pilyugin, Susan M. Kaech, and Rafi Ahmed. Models of CD8+ Responses : 1. What is the Antigen-independent Proliferation Program. *Journal of Theoretical Biology*, 221(4) :585–598, April 2003. [8](#), [22](#), [26](#), [32](#), [34](#), [35](#), [36](#), [40](#), [56](#), [84](#), [85](#), [88](#)

- [8] Rustom Antia, Vitaly V. Ganusov, and Rafi Ahmed. The role of models in understanding CD8+ T-cell memory. *Nature Reviews. Immunology*, 5(2) :101–111, February 2005. [20](#), [22](#), [26](#), [84](#), [85](#), [119](#)
- [9] Victor Appay and Sarah L Rowland-Jones. Lessons from the study of T-cell differentiation in persistent human virus infection. *Seminars in Immunology*, 16(3) : 205–212, June 2004. [20](#), [83](#), [85](#)
- [10] J. Arsenio, B. Kakaradov, P.J. Metz, S.H. Kim, G.W. Yeo, and J.T. Chang. Early specification of CD8+ T lymphocyte fates during adaptive immunity revealed by single cell gene-expression analyses. *Nat. Immunol.*, 15 :365–372, 2014. [21](#), [85](#)
- [11] M. Bajenoff, J. Egen, L.Y. Koo, J.P. Laugier, F. Brau, N. Glaichenhaus, and R.N. Germain. Stromal cell networks regulate lymphocyte entry, migration, and territoriality in lymph nodes. *Immunity*, 25 :989–1001, 2006. [55](#)
- [12] V. Baldazzi, F. Castiglione, and M. Bernaschi. An enhanced agent based model of the immune system response. *Cellular Immunology*, 244(2) :77–79, December 2006. [48](#)
- [13] V. Baldazzi, P. Paci, M. Bernaschi, and F. Castiglione. Modeling lymphocytes homing and encounters in lymph nodes. *BMC Bioinformatics.*, 10(387), 2009. [57](#)
- [14] A.L. Bauer, T.L. Jackson, and Y. Jiang. A cell-based model exhibiting branching and anastomosis during tumor-induced angiogenesis. *Biophys J.*, 92 :3105–21, 2007. [65](#)
- [15] J.B. Beltman, A.F. Maree, and R.J. de Boer. Spatial modelling of brief and long interactions between t cells and dendritic cells. *Immunol Cell Biol.*, 85 :306–14, 2007. [56](#)
- [16] Samuel Bernard. How to Build a Multiscale Model in Biology. *Acta Biotheoretica*, 61 (3) :291–303, September 2013. [42](#)
- [17] M. Bernaschi and F. Castiglione. Design and implementation of an immune system simulator. *Computers in Biology and Medicine*, 31(5) :303–331, September 2001. [26](#), [45](#), [48](#), [86](#)

- [18] M. Bernaschi, S. Succi, and F. Castiglione. Large-scale cellular automata simulations of the immune system response. *Physical Review. E, Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 61(2) :1851–1854, February 2000. [86](#)
- [19] C. Bidot, F. Gruy, C.-S. Haudin, F. El Hentati, B. Guy, and C. Lambert. Mathematical Modeling of T-Cell Activation Kinetic. *Journal of Computational Biology*, 15(1) : 105–128, January 2008. [22](#), [26](#), [27](#), [51](#)
- [20] G. Bogle and P.R. Dunbar. Agent-based simulation of T-cell activation and proliferation within a lymph node. *Immunol Cell Biol.*, 88 :172–9, 2010. [57](#)
- [21] Philippe Bouillet and Lorraine A. O'Reilly. CD95, BIM and T cell homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 9(7) :514–519, July 2009. [24](#), [61](#), [95](#)
- [22] P. Bousso. T-cell activation by dendritic cells in the lymph node : lessons from the movies. *Nat Rev Immunol.*, 8(9) :675–84., 2008. [55](#), [63](#), [65](#), [72](#)
- [23] P. Bousso and E. Robey. Dynamics of CD8+ T cell priming by dendritic cells in intact lymph nodes. *Nat Immunol.*, 4(6) :579–85., 2003. [65](#), [72](#)
- [24] Dirk Brenner, Peter H. Krammer, and Rüdiger Arnold. Concepts of activated T cell death. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 66(1) :52–64, April 2008. [24](#), [95](#)
- [25] V. R. Buchholz, M. Flossdorf, I. Hensel, L. Kretschmer, B. Weissbrich, P. Graf, A. Verschoor, M. Schiemann, T. Hofer, and D. H. Busch. Disparate Individual Fates Compose Robust CD8+ T Cell Immunity. *Science*, 340(6132) :630–635, May 2013. [21](#), [40](#), [56](#), [66](#), [85](#)
- [26] V.R. Buchholz, M. Flossdorf, I. Hensel, L. Kretschmer, B. Weissbrich, P. Graf, A. Verschoor, M. Schiemann, T. Hofer, and D.H. Busch. Disparate individual fates compose robust CD8+ T cell immunity. *Science*, 340 :630–635, 2013. [85](#)
- [27] A. Cappuccio, P. Tieri, and F. Castiglione. Multiscale modelling in immunology : A review. *Briefings in Bioinformatics*, March 2015. [44](#), [86](#)
- [28] A. Cappuccio, P. Tieri, and F. Castiglione. Multiscale modelling in immunology : A review. *Brief. Bioinformatics*, 17(3) :408–418, 2016. [86](#)

-
- [29] Filippo Castiglione. Agent based modeling. *Scholarpedia*, 1(10) :1562, 2006. [43](#)
- [30] J.T. Chang, E.J. Wherry, and A.W. Goldrath. Molecular regulation of effector and memory T cell differentiation. *Nat. Immunol.*, 15 :1104–1115, 2014. [20](#), [85](#)
- [31] Alina Chertock and Alexander Kurganov. On a practical implementation of particle methods. *Applied Numerical Mathematics*, 56(10-11) :1418–1431, October 2006. [111](#)
- [32] Clément Chevalier and David Ginsbourger. Fast Computation of the Multi-Points Expected Improvement with Applications in Batch Selection. In Giuseppe Nicosia and Panos Pardalos, editors, *Learning and Intelligent Optimization*, volume 7997, pages 59–69. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2013. [171](#)
- [33] Arvind Chhabra. Mitochondria-centric activation induced cell death of cytolytic T lymphocytes and its implications for cancer immunotherapy. *Vaccine*, 28(29) : 4566–4572, June 2010. [24](#), [95](#)
- [34] Albert Cohen and Benoit Perthame. Optimal Approximations of Transport Equations by Particle and Pseudoparticle Methods. *SIAM Journal on Mathematical Analysis*, 32(3) :616–636, January 2000. [111](#)
- [35] I. Couckuyt, A. Forrester, D. Gorissen, F. De Turck, and T. Dhaene. Blind Kriging : Implementation and performance analysis. *Advances in Engineering Software*, 49 : 1–13, July 2012. [159](#), [173](#)
- [36] Ivo Couckuyt, Tom Dhaene, and Piet Demeester. oodace toolbox : A flexible object-oriented kriging implementation. *Journal of Machine Learning Research*, 15 :3183–3186, 2014. [159](#), [173](#)
- [37] F. Crauste, E. Terry, I. Le Mercier, J. Mafille, S. Djebali, T. Andrieu, B. Mercier, G. Kanneko, C. Arpin, J. Marvel, and O. Gandrillon. Predicting pathogen-specific CD8 T cell immune responses from a modeling approach. *Journal of Theoretical Biology*, 374 :66–82, June 2015. [26](#), [37](#), [38](#), [39](#), [40](#), [84](#), [118](#), [123](#)
- [38] F. Crauste, J. Mafille, L. Boucinha, S. Djebali, O. Gandrillon, J. Marvel, and C. Arpin. Identification of nascent memory CD8 T cells and modeling of their ontogeny. *Cell*

- Systems (accepted, in press), 2017. [7](#), [17](#), [21](#), [22](#), [23](#), [25](#), [26](#), [39](#), [40](#), [41](#), [52](#), [84](#), [85](#), [88](#), [89](#), [90](#), [91](#), [92](#), [93](#), [118](#), [123](#), [150](#), [152](#), [154](#), [155](#), [156](#), [186](#), [187](#), [191](#), [193](#), [202](#), [203](#), [207](#)
- [39] Noel A. C. Cressie. *Statistics for Spatial Data : Cressie/Statistics*. Wiley Series in Probability and Statistics. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, September 1993. [153](#)
- [40] F. Cruz-Guilloty, M.E. Pipkin, I.M. Djuretic, D. Levanon, J. Lotem, M.G. Lichtenheld, Y. Groner, and A. Rao. Runx3 and T-box proteins cooperate to establish the transcriptional program of effector CTLs. *J Exp Med.*, 206 :51–59, 2009. [72](#), [74](#), [78](#)
- [41] W. Cui and S.M. Kaech. Generation of effector CD8+ T cells and their conversion to memory T cells. *Immunol Rev.*, 236 :151–66., 2010. [55](#), [62](#)
- [42] W. Cui, N.S. Joshi, A. Jiang, and S.M. Kaech. Effects of signal 3 during CD8 T cell priming : Bystander production of IL-12 enhances effector T cell expansion but promotes terminal differentiation. *Vaccine*, 27 :2177–2187, 2009. [21](#), [85](#)
- [43] G Damblin, M Couplet, and B Iooss. Numerical studies of space-filling designs : Optimization of Latin Hypercube Samples and subprojection properties. *Journal of Simulation*, 7(4) :276–289, November 2013. [163](#), [164](#)
- [44] Courtney L. Davis and Frederick R. Adler. Mathematical models of memory CD8+ T-cell repertoire dynamics in response to viral infections. *Bulletin of Mathematical Biology*, 75(3) :491–522, March 2013. [86](#)
- [45] R. J. De Boer, M. Oprea, R. Antia, K. Murali-Krishna, R. Ahmed, and A. S. Perelson. Recruitment Times, Proliferation, and Apoptosis Rates during the CD8+ T-Cell Response to Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *Journal of Virology*, 75(22) :10663–10669, November 2001. [8](#), [26](#), [29](#), [30](#), [32](#), [33](#), [36](#), [40](#), [84](#), [88](#), [118](#)
- [46] Delphine Dupuy, Céline Helbert, and Jessica Franco. **DiceDesign** and **DiceEval** : Two R Packages for Design and Analysis of Computer Experiments. *Journal of Statistical Software*, 65(11), 2015. [164](#)

- [47] Katherine E. Ewings, Ceri M. Wiggins, and Simon J. Cook. Bim and the pro-survival Bcl-2 proteins : Opposites attract, ERK repels. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 6(18) : 2236–2240, September 2007. [8](#), [25](#), [27](#), [28](#), [61](#), [86](#), [91](#), [93](#)
- [48] Robert Faivre, Bertrand , Stéphanie Mahévas, David Makowski, and Herve Monod. *Analyse de sensibilité et exploration de modèles*. Collection Savoir-Faire. Editions Quae, 2013. [153](#), [167](#), [169](#), [203](#)
- [49] Kai-Tai Fang, Chang-Xing Ma, and Peter Winker. Centered L_2 -discrepancy of random sampling and Latin hypercube design, and construction of uniform designs. *Mathematics of Computation*, 71(237) :275–297, October 2000. [162](#)
- [50] Ofer Feinerman, Garrit Jentsch, Karen E Tkach, Jesse W Coward, Matthew M Hathorn, Michael W Sneddon, Thierry Emonet, Kendall A Smith, and Grégoire Altan-Bonnet. Single-cell quantification of IL-2 response by effector and regulatory T cells reveals critical plasticity in immune response. *Molecular Systems Biology*, 6, November 2010. [23](#), [24](#), [27](#), [57](#), [60](#), [61](#), [66](#), [68](#), [78](#), [86](#)
- [51] Avner Friedman, Chiu-Yen Kao, and Chih-Wen Shih. Asymptotic phases in a cell differentiation model. *Journal of Differential Equations*, 247(3) :736–769, August 2009. [8](#), [26](#), [44](#), [45](#), [46](#), [47](#), [51](#), [87](#), [101](#), [108](#), [116](#), [123](#), [145](#)
- [52] Avner Friedman, Chiu-Yen Kao, and Chih-Wen Shih. Asymptotic limit in a cell differentiation model with consideration of transcription. *Journal of Differential Equations*, 252(10) :5679–5711, May 2012. [26](#), [44](#), [45](#), [46](#), [51](#), [87](#), [101](#), [108](#), [116](#), [123](#), [145](#)
- [53] VV. Ganusov. Discriminating between different pathways of memory CD8+ T cell differentiation. *J. Immunol.*, 179(8) :5006–5013, 2007. [22](#), [84](#), [85](#), [88](#)
- [54] X. Gao, C. Arpin, J. Marvel, SA. Prokopiou, O. Gandrillon, and F. Crauste. IL-2 sensitivity and exogenous IL-2 concentration gradient tune the productive contact duration of CD8(+) T cell-APC : A multiscale modeling study. *BMC Syst. Biol.*, 10(1) : 77, 2016. [87](#), [88](#)
- [55] C. Gerlach, J.C. Rohr, L. Perie, N. van Rooij, J.W. van Heijst, A. Velds, J. Urbanus, S.H.

- Naik, H. Jacobs, J.B. Beltman, and et al. Heterogeneous differentiation patterns of individual cd8+ t cells. *Science*, 340 :635–639, 2013. [66](#)
- [56] David Ginsbourger. *Multiplés métamodèles pour l'approximation et l'optimisation de fonctions numériques multivariées*. PhD thesis, 2009. [167](#), [169](#)
- [57] David Ginsbourger, Rodolphe Le Riche, and Laurent Carraro. Kriging Is Well-Suited to Parallelize Optimization. In Lim Meng Hiot, Yew Soon Ong, Yoel Tenne, and Chi-Keong Goh, editors, *Computational Intelligence in Expensive Optimization Problems*, volume 2, pages 131–162. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2010. [170](#), [171](#)
- [58] JA. Glazier and F. Graner. Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells. *Phys Rev E*, 47(3) :2128–2154, 1993. [56](#)
- [59] C. Gong, J.T. Mattila, M. Miller, J.L. Flynn, J.J. Linderman, and D. Kirschner. Predicting lymph node output efficiency using systems biology. *J Theor Biol.*, 335 :169–84, 2013. [56](#)
- [60] A. D. Guerrero, R. L. Welschhans, M. Chen, and J. Wang. Cleavage of Anti-Apoptotic Bcl-2 Family Members after TCR Stimulation Contributes to the Decision between T Cell Activation and Apoptosis. *The Journal of Immunology*, 190(1) :168–173, January 2013. [24](#), [95](#)
- [61] N. D. Hayes. Roots of the Transcendental Equation Associated with a Certain Difference-Differential Equation. *Journal of the London Mathematical Society*, s1-25(3) :226–232, July 1950. [143](#)
- [62] Fred J. Hickernell. A generalized discrepancy and quadrature error bound. *Mathematics of Computation of the American Mathematical Society*, 67(221) :299–322, January 1998. [161](#), [163](#)
- [63] David A. Hildeman, Yanan Zhu, Thomas C. Mitchell, John Kappler, and Philippa Marrack. Molecular mechanisms of activated T cell death in vivo. *Current Opinion in Immunology*, 14(3) :354–359, June 2002. [24](#), [95](#)

-
- [64] Thomas Höfer, Oleg Krichevsky, and Grégoire Altan-Bonnet. Competition for IL-2 between Regulatory and Effector T Cells to Chisel Immune Responses. *Frontiers in Immunology*, 3, 2012. [24](#), [27](#), [57](#), [66](#), [68](#), [72](#), [74](#), [78](#), [86](#)
- [65] K.K. Hoyer, H. Doms, L. Barron, and A.K. Abbas. Interleukin-2 in the development and control of inflammatory disease. *Immunol Rev.*, 226 :19–28, 2008. [22](#), [60](#), [61](#)
- [66] D. Huh and J. Paulsson. Non-genetic heterogeneity from stochastic partitioning at cell division. *Nat Genet.*, 43 :95–100, 2011. [66](#)
- [67] Clifford M. Hurvich and Chih-Ling Tsai. Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*, 76(2) :297, 1989. [40](#)
- [68] E.S. Hwang, J.H. Hong, and L.H. Glimcher. IL-2 production in developing Th1 cells is regulated by heterodimerization of RelA and T-bet and requires T-bet serine residue 508. *J Exp Med.*, 202 :1289–1300, 2005. [61](#), [62](#)
- [69] AM. Intlekofer, EJ. Wherry, and SL. Reiner. Not-so-great expectations : Re-assessing the essence of T-cell memory. *Immunol. Rev.*, 211 :203–213, 2006. [83](#), [84](#)
- [70] Ruichen Jin, Wei Chen, and Agus Sudjianto. An efficient algorithm for constructing optimal design of computer experiments. *Journal of Statistical Planning and Inference*, 134(1) :268–287, September 2005. [163](#), [164](#), [165](#)
- [71] Donald R. Jones, Matthias Schonlau, and William J. Welch. Efficient global optimization of expensive black-box functions. *Journal of Global Optimization*, 13(4) : 455–492, 1998. [153](#), [169](#), [170](#), [171](#), [172](#)
- [72] S. Kaech and W. Cui. Transcriptional control of effector and memory CD8+ T cell differentiation. *Nat. Rev. Immunol.*, 12 :749–761, 2012. [21](#), [84](#), [85](#)
- [73] Susan M. Kaech and Rafi Ahmed. Memory CD8+ T cell differentiation : Initial antigen encounter triggers a developmental program in naive cells. 2(5) :415–422, May 2001. [19](#), [20](#), [84](#), [119](#)
- [74] A. Kanhere, A. Hertweck, U. Bhatia, M.R. Gökmen, E. Perucha, I. Jackson, G.M. Lord, and R.G. Jenner. T-bet and GATA3 orchestrate Th1 and Th2 differentiation through

- lineage-specific targeting of distal regulatory elements. *Nat Comm.*, 3(1268), 2012. [61](#), [62](#)
- [75] J. Kelly, R. Spolski, K. Imada, J. Bollenbacher, S. Lee, and W.J. Leonard. A role for Stat5 in CD8+ T cell homeostasis. *J Immunol.*, 170 :210–7, 2003. [23](#), [24](#), [61](#)
- [76] Peter S. Kim, Doron Levy, and Peter P. Lee. Modeling and Simulation of the Immune System as a Self-Regulating Network. In *Methods in Enzymology*, volume 467, pages 79–109. Elsevier, 2009. [42](#)
- [77] T. K. Kim, L. S. St. John, E. D. Wieder, J. Khalili, Q. Ma, and K. V. Komanduri. Human Late Memory CD8+ T Cells Have a Distinct Cytokine Signature Characterized by CC Chemokine Production without IL-2 Production. *The Journal of Immunology*, 183 (10) :6167–6174, November 2009. [26](#), [45](#), [48](#), [84](#), [90](#)
- [78] DE. Kirschner and JJ. Linderman. Mathematical and computational approaches can complement experimental studies of host-pathogen interactions. *Cell Microbiol.*, 11 :531–539, 2009. [86](#)
- [79] Denise E. Kirschner, Stewart T. Chang, Thomas W. Riggs, Nicolas Perry, and Jennifer J. Linderman. Toward a multiscale model of antigen presentation in immunity. *Immunological Reviews*, 216 :93–118, April 2007. [26](#), [44](#), [47](#), [86](#)
- [80] Yang Kuang. *Delay Differential Equations with Applications in Population Dynamics*. Academic Press, Boston, 1993. [142](#), [143](#)
- [81] A. Lanzavecchia and F. Sallusto. Lead and follow : the dance of the dendritic cell and T cell. *Nat Immunol.*, 5 :1201–2, 2004. [66](#)
- [82] E. Larsson, C. Sander, and D. Marks. mrna turnover rate limits sirna and microrna efficacy. *Mol Syst Biol.*, 6, 2010. [67](#)
- [83] Lisa. L. Lau, Beth D. Jamieson, T. Somasundaram, and Rafi Ahmed. Cytotoxic T-cell memory without antigen. *Nature*, 369(6482) :648–652, June 1994. [30](#)
- [84] Q. Li, P.J. Skinner, S.J. Ha, L. Duan, T.L. Mattila, A. Hage, C. White, D.L. Barber, L. O’Mara, P.J. Southern, C.S. Reilly, J.V. Carlis, C.J. Miller, R. Ahmed, and A.T. Haase.

- Visualizing antigen-specific and infected cells in situ predicts outcomes in early viral infection. *Science*, 323 :1726–9, 2009. [55](#)
- [85] W. Liao, J.X. Lin, and W.J. Leonard. Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy. *Immunity*, 38(1) :13–25, 2013. [62](#)
- [86] J.J. Linderman, T. Riggs, M. Pande, M. Miller, S. Marino, and D.E. Kirschner. Characterizing the dynamics of CD4+ T cell priming within a lymph node. *J Immunol.*, 184, 2010. [65](#), [66](#), [78](#)
- [87] R.L. Lindquist, G. Shakhar, D. Dudziak, H. Wardemann, T. Eisenreich, M.L. Dustin, and M.C. Nussenzweig. Visualizing dendritic cell networks in vivo. *Nat Immunol.*, 5 :1243–50, 2004. [66](#)
- [88] Tommaso Lorenzi, Rebecca H. Chisholm, and Jean Clairambault. Tracking the evolution of cancer cell populations through the mathematical lens of phenotype-structured equations. *Biology Direct*, 11(1), December 2016. [44](#)
- [89] Gisl  ine A. Martins, Luisa Cimmino, Jerry Liao, Erna Magnusdottir, and Kathryn Calame. Blimp-1 directly represses *Il2* and the *Il2* activator *Fos* , attenuating T cell proliferation and survival. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(9) :1959–1965, September 2008. [23](#), [52](#), [60](#), [61](#), [93](#), [127](#), [128](#)
- [90] D. Masopust, V. Vezys, A.L. Marzo, and L. Lefran  ois. Preferential localization of effector memory cells in nonlymphoid tissue. *Science*, 291 :2413–2417, 2001. [20](#), [85](#), [90](#), [91](#)
- [91] G. Matheron. Random Functions and their Application in Geology. In Daniel F Merriam, editor, *Geostatistics*, pages 79–87. Springer US, Boston, MA, 1970. [153](#), [159](#)
- [92] M.P. Matheu, J.R. Teijaro, K.B. Walsh, M.L. Greenberg, D. Marsolais, I. Parker, H. Rosen, M.B. Oldstone, and M.D. Cahalan. Three phases of cd8 t cell response in the lung following h1n1 influenza infection and sphingosine 1 phosphate agonist therapy. *PLoS ONE*, 8(3) :e58033. doi : 10.1371/journal.pone.0058033., 2013. [55](#)

- [93] M. D. McKay, W. J. Conover, and R. J. Beckman. A comparison of three methods for selection values of input variables in the analysis of output from a computer code. *Technometrics*, 15 :239–245, 1979. [160](#)
- [94] L.M. McLane, P.P. Banerjee, G.L. Cosma, G. Makedonas, E.J. Wherry, J.S. Orange, and M.R. Betts. Differential localization of t-bet and eomes in cd8 t cell memory populations. *J Immunol.*, 7 :3207–15, 2013. [61](#), [62](#)
- [95] Yongguo Mei, Vida Abedi, Adria Carbo, Xiaoying Zhang, Pinyi Lu, Casandra Philipson, Raquel Hontecillas, Stefan Hoops, Nathan Liles, and Josep Bassaganya-Riera. Multiscale modeling of mucosal immune responses. *BMC Bioinformatics*, 16(Suppl 12) :S2, 2015. [43](#)
- [96] T.R. Mempel, S.E. Henrickson, and U.H. von Andrian. T cell priming by dendritic cells in lymph nodes occurs in three distinct phases. *Nature*, 427 :154–159, 2004. [72](#), [74](#), [78](#)
- [97] M.J. Miller, A.S. Hejazi, S.H. Wei, M.D. Cahalan, and I. Parker. T cell repertoire scanning is promoted by dynamic dendritic cell behavior and random T cell motility in the lymph node. *PNAS*, 101 :998–1003, 2004. [65](#), [67](#), [69](#)
- [98] Henry P. Mirsky, Mark J. Miller, Jennifer J. Linderman, and Denise E. Kirschner. Systems biology approaches for understanding cellular mechanisms of immunity in lymph nodes during infection. *Journal of Theoretical Biology*, 287 :160–170, October 2011. [42](#)
- [99] Jonas Mockus, Vytautas Tiesis, and Antanas Zilinskas. *The application of Bayesian methods for seeking the extremum*. North-Holand, 1978. [170](#)
- [100] S. Motta, F. Castiglione, P. Lollini, and F. Pappalardo. Modelling vaccination schedules for a cancer immunoprevention vaccine. *Immunome Res*, 1(1) :5, 2005. [87](#)
- [101] S.N. Mueller and R.N. Germain. Stromal cell contributions to the homeostasis and functionality of the immune system. *Nat Rev Immunol.*, 9 :618–29, 2009. [55](#)
- [102] Kaja Murali-Krishna, John D Altman, M Suresh, David J.D Sourdiv, Allan J Zajac, Joseph D Miller, Jill Slansky, and Rafi Ahmed. Counting Antigen-Specific CD8 T

- Cells : A Reevaluation of Bystander Activation during Viral Infection. *Immunity*, 8 (2) :177–187, February 1998. [17](#), [18](#), [19](#), [29](#), [31](#), [37](#), [83](#), [84](#), [118](#)
- [103] Lisa N. Murillo, Michael S. Murillo, and Alan S. Perelson. Towards multiscale modeling of influenza infection. *Journal of Theoretical Biology*, 332 :267–290, September 2013. [43](#)
- [104] Sirus Palsson, Timothy P Hickling, Erica L Bradshaw-Pierce, Michael Zager, Karin Jooss, Peter J O'Brien, Mary E Spilker, Bernhard O Palsson, and Paolo Vicini. The development of a fully-integrated immune response model (FIRM) simulator of the immune response through integration of multiple subset models. *BMC Systems Biology*, 7(1) :95, 2013. [43](#)
- [105] Benoît Perthame. *Transport Equations in Biology*. Frontiers in Mathematics. Birkhäuser Basel, Basel, 2007. [32](#), [44](#), [87](#)
- [106] Victor Picheny and David Ginsbourger. Noisy kriging-based optimization methods : A unified implementation within the DiceOptim package. *Computational Statistics & Data Analysis*, 71 :1035–1053, March 2014. [164](#)
- [107] C.R. Plumlee, J.J. Obar, S.L. Colpitts, E.R. Jellison, W.N. Haining, L. Lefrançois, and K.M. Khanna. Early Effector CD8 T Cells Display Plasticity in Populating the Short-Lived Effector and Memory-Precursor Pools Following Bacterial or Viral Infection. *Sci. Rep.*, 5 :12264, 2015. [21](#), [85](#)
- [108] Sotiris Prokopiou, Loic Barbarroux, Samuel Bernard, Julien Mafille, Yann Leverrier, Christophe Arpin, Jacqueline Marvel, Olivier Gandrillon, and Fabien Crauste. Multiscale Modeling of the Early CD8 T-Cell Immune Response in Lymph Nodes : An Integrative Study. *Computation*, 2(4) :159–181, September 2014. [53](#), [87](#), [88](#), [89](#), [92](#), [123](#), [124](#)
- [109] Luc Pronzato and Werner G. Müller. Design of computer experiments : Space filling and beyond. *Statistics and Computing*, 22(3) :681–701, May 2012. [161](#)
- [110] N. Rapin, O. Lund, M. Bernaschi, and F. Castiglione. Computational immunology

- meets bioinformatics : The use of prediction tools for molecular binding in the simulation of the immune system. *PLoS ONE.*, 5(4), 2010. [77](#)
- [111] N. Rapin, O. Lund, and F. Castiglione. Immune system simulation online. *Bioinformatics*, 27(14) :2013–2014, 2011. [86](#)
- [112] P. A. Raviart. An analysis of particle methods. In Franco Brezzi, editor, *Numerical Methods in Fluid Dynamics*, volume 1127, pages 243–324. Springer Berlin Heidelberg, 1985. [111](#), [115](#)
- [113] T. Riggs, A. Walts, N. Perry, L. Bickle, J.N. Lynch, A. Myers, J. Flynn, J.J. Linderman, M.J. Miller, and D.E. Kirschner. A comparison of random vs. chemotaxis driven contacts of t cells with dendritic cells during repertoire scanning. *J Theor Biol.*, 250 : 732–751, 2008. [57](#)
- [114] IM. Rouzine, K Murali-Krishna, and R Ahmed. Generals die in friendly fire, or modeling immune response to HIV. *J. Computational and Appl. Math.*, 184 :258–274, 2005. [84](#)
- [115] C.S.D. Roxburgh and D.C. McMillan. The role of the in situ local inflammatory response in predicting recurrence and survival in patients with primary operable colorectal cancer. *Cancer Treatment Reviews*, 38(5) :451–466, August 2012. [91](#)
- [116] Y.G. Saab and V.B. Rao. Combinatorial optimization by stochastic evolution. *IEEE Transactions on Computer-Aided Design of Integrated Circuits and Systems*, 10(4) : 525–535, April 1991. [164](#)
- [117] F. Sallusto, D. Lenig, R. Forster, M. Lipp, and A. Lanzavecchia. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*, 401 :708–712, 1999. [20](#), [21](#), [85](#), [90](#)
- [118] D. Sayar, M. Ketzinel, L. Gerez, C. Silberberg, A. Reshef, and R. Kaempfer. Expression of the human IL-2 receptor on lymphocytes involves rapid turnover of its p55 alpha-subunit. *J Immunol.*, 145 :2946–2949, 1990. [67](#)

-
- [119] H.J. Shin, J.B. Lee, S.H. Park, J. Chang, and Lee C.W. T-bet expression is regulated by egr1-mediated signaling in activated t cells. *Clin Immunol.*, 131(3) :385–94, 2009. [61](#), [62](#)
- [120] K.A. Smith. The structure of IL2 bound to the three chains of the IL2 receptor and how signaling occurs. *Med Immunol.*, 5(3), 2006. [68](#), [78](#)
- [121] G.C. Starling, J. Bajorath, J. Emswiler, J.A. Ledbetter, A. Aruffo, and P.A. Kiener. Identification of amino acid residues important for ligand binding to fas. *J Exp Med.*, 185 :1487–92, 1997. [78](#)
- [122] A. Stéphanou and V. Volpert. Hybrid Modelling in Biology : A Classification Review. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 11(1) :37–48, 2016. [44](#)
- [123] M.V. Stipdonk, E. Lemmens, and S. Schoenberger. Naive CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation. *Nat. Immunol.*, 2 :423–429, 2001. [84](#)
- [124] Brandon M. Sullivan, Amy Juedes, Susanne J. Szabo, Matthias von Herrath, and Laurie H. Glimcher. Antigen-driven effector CD8 T cell function regulated by T-bet. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (26) :15818–15823, December 2003. [23](#), [24](#), [61](#), [95](#)
- [125] MH. Swat, GL. Thomas, JM. Belmonte, A. Shirinifard, D. Hmeljak, and JA. Glazier. Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. *Methods Cell Biol.*, 110 :325–366, 2012. [51](#), [53](#), [65](#)
- [126] S.J. Szabo, S.T. Kim, G.L. Costa, X. Zhang, C.G. Fathman, and L.H. Glimcher. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*, 100 :655–669, 2000. [61](#), [62](#)
- [127] Emmanuelle Terry, Jacqueline Marvel, Christophe Arpin, Olivier Gandrillon, and Fabien Crauste. Mathematical model of the primary CD8 T cell immune response : Stability analysis of a nonlinear age-structured system. *Journal of Mathematical Biology*, 65(2) :263–291, August 2012. [8](#), [26](#), [35](#), [36](#), [37](#), [40](#), [56](#), [84](#), [123](#)

- [128] Juilee Thakar, Mary Poss, Reka Albert, Grainne H. Long, and Ranran Zhang. Dynamic models of immune responses : What is the ideal level of detail? *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 7(1) :35, 2010. [42](#)
- [129] Joseph Miller Thomas. Sturm's Theorem for Multiple Roots. *National Mathematics Magazine*, 15(8) :391, May 1941. [102](#)
- [130] Marianne J. B. van Stipdonk, Edward E. Lemmens, and Stephen P. Schoenberger. Naive CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation. 2(5) :423–429, May 2001. [19](#), [31](#), [119](#)
- [131] Qing Wang, David J Klinke, and Zhijun Wang. CD8 + T cell response to adenovirus vaccination and subsequent suppression of tumor growth : Modeling, simulation and analysis. *BMC Systems Biology*, 9(1), December 2015. [86](#)
- [132] B. Webster, E.H. Ekland, L.M. Agle, S. Chyou, R. Ruggieri, and T.T. Lu. Regulation of lymph node vascular growth by dendritic cells. *J Exp Med.*, 203 :1903–13, 2006. [57](#)
- [133] M.A. Williams and M.J. Bevan. Effector and memory CTL differentiation. *Annu Rev Immunol.*, 25 :171–92, 2007. [55](#)
- [134] A. L. Woelke, J. von Eichborn, M. S. Murgueitio, C. L. Worth, F. Castiglione, and R. Preissner. Development of immune-specific interaction potentials and their application in the multi-agent-system VacImm. *PLoS ONE*, 6(8) :e23257, 2011. [86](#)
- [135] J. Wu and E.S. Tzanakakis. Contribution of stochastic partitioning at human embryonic stem cell division to NANOG heterogeneity. *PLoS ONE*, 7(11) :e50715. doi : 10.1371/journal.pone.0050715., 2012. [65](#)
- [136] A. Yates, R. Callard, and J. Stark. Combining cytokine signalling with T-bet and GATA-3 regulation in Th1 and Th2 differentiation : a model for cellular decision-making. *J Theor Biol.*, 231 :181–96, 2004. [67](#), [68](#)
- [137] Crystal J. J. Yeo and Douglas T. Fearon. T-bet-mediated differentiation of the activated CD8+ T cell. *European Journal of Immunology*, 41(1) :60–66, January 2011. [24](#), [60](#), [61](#), [95](#)

AUTORISATION DE SOUTENANCE

Vu les dispositions de l'arrêté du 25 mai 2016,

Vu la demande des Directeurs de Thèse

Messieurs M. ADIMY et P. MICHEL

et les rapports de

M. B. AINSEBA

Professeur - IMB - Université de Bordeaux - 3 ter place de la Victoire - case 36 - 33076
Bordeaux cedex

et de

Mme C. PIO-FERREIRA

Associated professor HDR - Depto. De Biostatistica - IBB - Universidade Estadual Paulista -
Unesp - 18618-970 Botucatu - Brésil

Monsieur BARBARROUX Loïc

est autorisé à soutenir une thèse pour l'obtention du grade de **DOCTEUR**

Ecole doctorale INFOMATHS

Fait à Ecully, le 20 juin 2017

P/Le directeur de l'E.C.L.
La directrice des Etudes

