

# **FACULTÉ DE MÉDECINE DE SFAX**



## **PCEM2**

# **IMMUNOLOGIE FONDAMENTALE**

Sous la direction de Pr Hatem MASMUDI

**Année universitaire : 2024 – 2025**

# SOMMAIRE

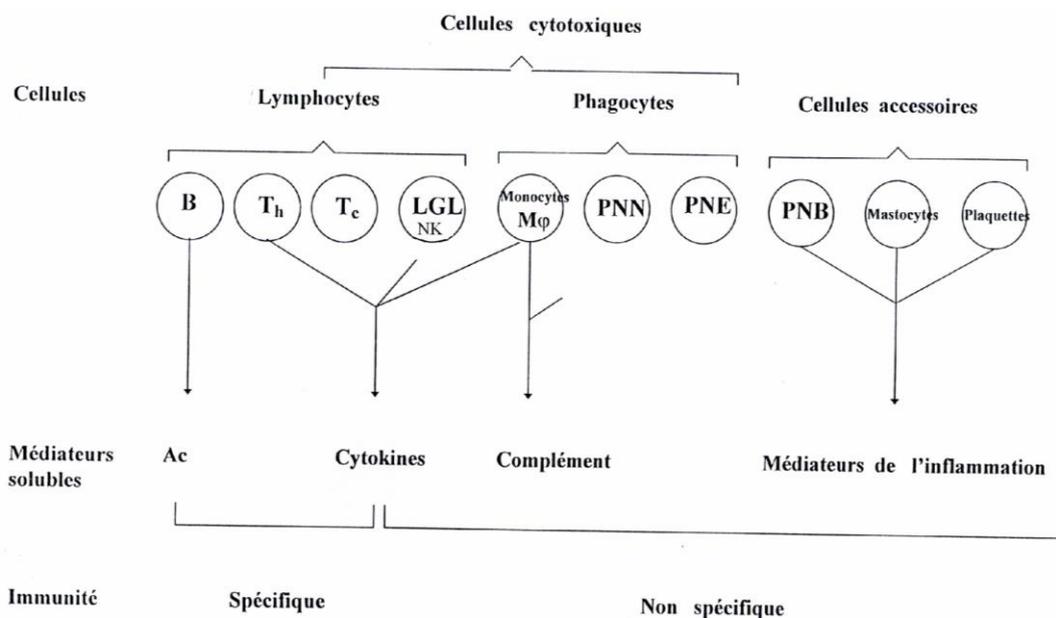
1. Introduction : historique, vue d'ensemble du système immunitaire ( page 3)
2. Les organes lymphoïdes (page 11)
3. Les antigènes (page 27)
4. Les cellules de l'immunité naturelle (page 38)
5. Le complément (page 58)
6. Les immunoglobulines (page 75)
7. Le récepteur pour l'antigène des lymphocytes T (page 108)
8. Les lymphocytes B et T : cellules de l'immunité spécifique ( page 117)
9. Le complexe majeur d'histocompatibilité (page 147)
10. Les cytokines (page 162)
11. Molécules d'adhésion et migration leucocytaire (page 176)
12. Activation et différenciation des lymphocytes T :  
    la réponse immunitaire à médiation cellulaire (page 186)
13. Activation et différenciation des lymphocytes B :  
    la réponse immunitaire à médiation humorale (page 195)
14. Les réactions d'hypersensibilité (page 207)
15. La tolérance immunitaire (page 229)
16. La régulation des réponses immunitaires (page 239)
17. La réaction antigène-anticorps (page 253)
19. Références (page 258)

# Introduction : Historique,

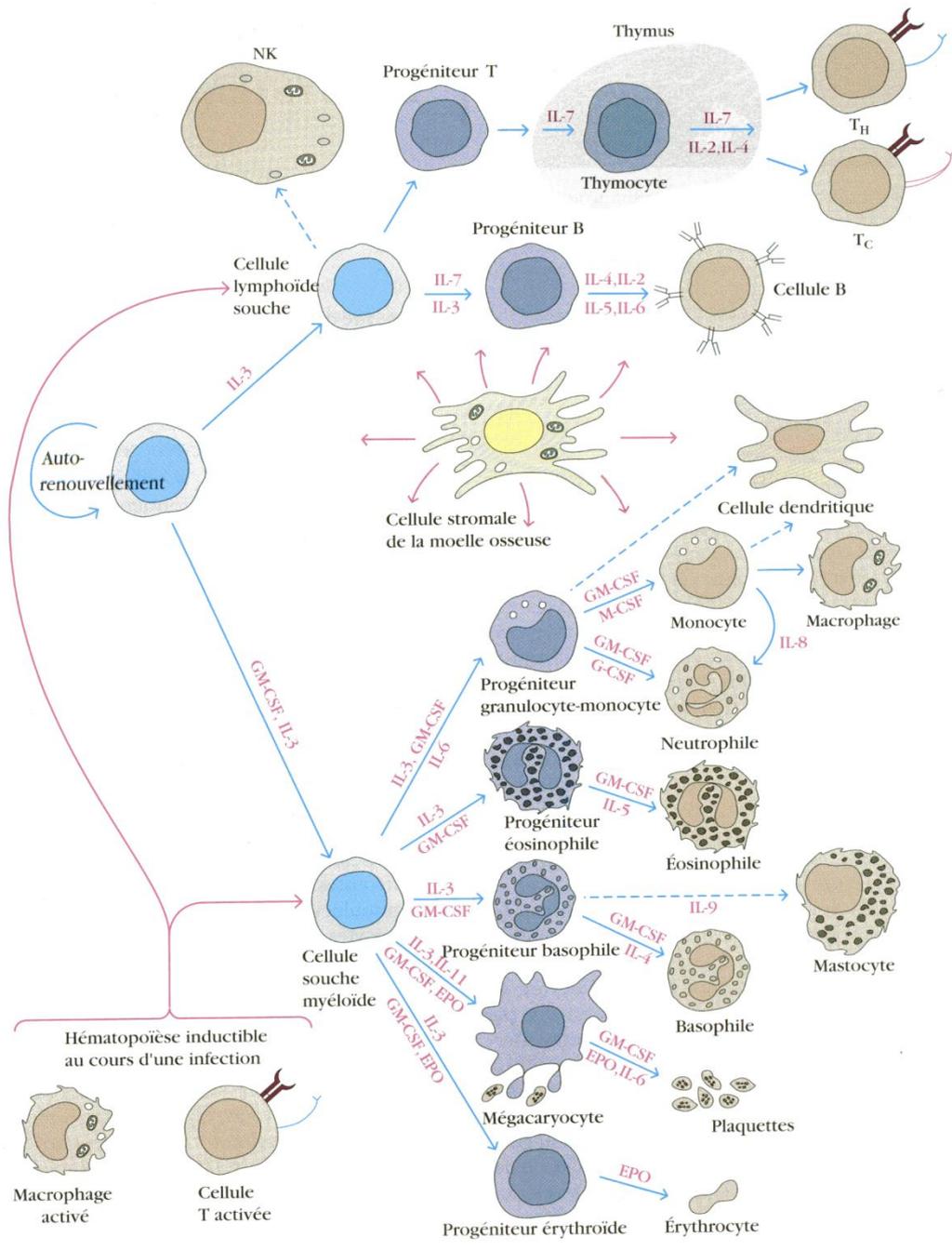
## Vue d'ensemble du système immunitaire

### IMMUNOLOGIE

- Science qui étudie les moyens et les mécanismes de défense de l'organisme contre les agressions extérieures (microbes..) et intérieures (tumeurs..)
- **Système immunitaire:**
  - substances et solubles cellules
  - résidentes dans les ≠ organes lymphoïdes ou autres
  - ou circulant dans le sang et la lymphe d'un organe ou tissu à un autre
  - fonctionnant en harmonie pour assurer l'intégrité de l'organisme face à toute agression



*Les effecteurs cellulaires et solubles du système immunitaire*



# Immunité non spécifique

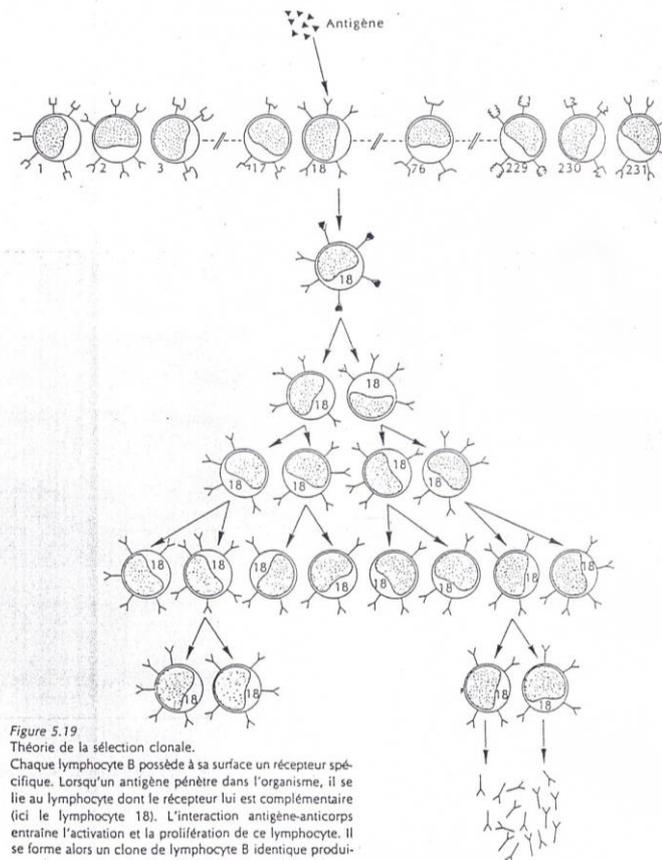
- Naturelle, innée
- Divers types d'effecteurs cellulaires et moléculaires agissant chacun contre un groupe d'agents pathogènes par le(s) même(s) mécanisme(s) sans faire la distinction entre les différents agents et sans en garder la mémoire
- Complément
- Médiateurs de l'inflammation aigue: histamine, PG, LT..
- PNN, Monocytes-M $\phi$ , PNE, NK
- PNB, Mastocytes

## CELLULES DE L'IMMUNITE NON SPECIFIQUE

- Pas de récepteur spécifique pour l'Ag
- Pas de restriction allo génique
- Pas de mémoire immunitaire
- Pas de prolifération en périphérie (sauf NK)
- Immunité naturelle ou innée :
  - Nombre de cellules immédiatement disponible élevé
  - Pas de délai, action rapide
- 3 mécanismes d'action :
  - Phagocytose
  - Cytotoxicité
  - Libération de médiateurs de l'inflammation aigue
- Origine : Moelle osseuse (hématopoïèse)

## CELLULES DE L'IMMUNITÉ SPECIFIQUE

- LB et LT: circulent dans le sang, la lymphe..à l'état naïf au repos
- Extraordinaire diversité du répertoire de reconnaissance de l'Ag:
- Expression d'un récepteur spécifique pour l'Ag polymorphique et clonalement distribué
- Capacité de prolifération en périphérie après activation par l'Ag
- Stimulation par l'Ag  $\longrightarrow$  Transformation lymphoblastique: petit lymphocyte au repos stade  $G_0 \rightarrow$  lymphoblaste phase  $G_1$  du cycle cellulaire: divisions  $\zeta$ res successives + différenciation terminale  $\longrightarrow$   $\zeta$  effectrices +++ et  $\zeta$  mémoire toutes spécifiques de l'Ag  
Adaptation de la réponse immunitaire à l'environnement



## Système immunitaire

- **Harmonie ↔ Communication :**

- Cytokines et autres substances solubles
- Molécules d'adhésion membranaire : contacts intercellulaires

**TABLEAU 2.4** Antigènes CD couramment utilisés pour distinguer les sous-populations fonctionnelles de lymphocytes

CD	Fonction	Cellule B	Cellule T		Cellule NK
			T <sub>H</sub>	T <sub>C</sub>	
CD2	Molécule d'adhésion ; transduction du signal	-	+	+	+
CD3	Élément de transduction du signal du récepteur des cellules T	-	+	+	-
CD4	Molécule d'adhésion qui se lie aux molécules de classe II du CMH ; transduction du signal	-	+	-	-
			(habituellement)	(habituellement)	
CD5	Inconnue	+	+	+	-
			(sous-ensemble)		
CD8	Molécule d'adhésion qui se lie aux molécules de classe I du CMH ; transduction du signal	-	-	+	+
			(habituellement)	(habituellement)	(variable)
CD16 (FcγRIII)	Récepteur de faible affinité pour la région Fc des IgG	-	-	-	+
CD21 (CR2)	Récepteur du complément (C3d) et du virus d'Epstein-Barr	+	-	-	-
CD28	Récepteur de la molécule B7 de costimulation sur les cellules présentatrices de l'antigène	-	+	+	-
CD32 (FcγRII)	Récepteur de la région Fc des IgG	+	-	-	-
CD35	Récepteur du complément (C3b)	+	-	-	-
CD40	Transduction du signal	+	-	-	-
CD45	Transduction du signal	+	+	+	+
CD56	Molécule d'adhésion	-	-	-	+

### Mécanismes effecteurs utilisés par le système immunitaire

#### dans la lutte contre les microbes

- **Neutralisation :** Ac, C' → virus, exotoxines bact

IgA sécrétoires: muqueuses

- **Phagocytose :** PNN, monocytes-Mφ, PNE ±

↗ par Ac, C': opsonisation

- **Cytotoxicité :** CTL, NK, PNE, C'

## Prix Nobel attribués pour des recherches en Immunologie

Année	Réциpiendaire(s)	Pays	Recherche
1901	Emil Von Behring	Allemagne	Antitoxines sériques
1905	Robert Koch	Allemagne	Immunité cellulaire contre la tuberculose
1908	Elie Metchnikoff Paul Ehrlich	Russie Allemagne	Rôle de la phagocytose (Metchnikoff) et des antitoxines (Ehrlich) dans l'immunité
1913	Charles Richet	France	Anaphylaxie
1919	Jules Bordet	Belgique	Bactériolyse médiée par le complément
1930	Karl Landsteiner	USA	Découverte des groupes sanguins humains
1951	Max Theiler	Afrique du sud	Développement du vaccin contre la fièvre jaune
1957	Daniel Bovet	Suisse	Antihistaminiques
1960	F. Macfarlane Burnet Peter Medawar	Australie UK	Théorie de la sélection clonale Découverte de la tolérance immunitaire acquise
1972	Rodney R. Porter Gerald M. Edelman	Grande Bretagne USA	Structure chimique des anticorps
1977	Rosalyn R. Yalow	USA	Développement des radio-immunodosages
1980	Georges Snell Jean Dausset Baruj Benacerraf	USA France USA	Complexe majeur d'histocompatibilité
1984	Cesar Milstein Georges F. Köhler Niels K. Jerne	Grande Bretagne Allemagne Danemark	Anticorps monoclonaux Théorie du réseau idiotypique
1987	Susumi Tonegawa	Japon	Réarrangement des gènes dans la production des anticorps
1991	E. Donnall Thomas Joseph Murray	USA USA	Immunologie des transplantations
1996	Peter C. Doherty Rolf M. Zinkernagel	Australie Suisse	Spécificités de la réponse immunitaire à médiation cellulaire
2011	Jules Hoffman, Bruce Beutler et Ralph Steinman	France USA Canada	Récepteurs de l'immunité innée (TLR) Cellules dendritiques
2018	James Allison Tasuko Honjo	USA Japon	Immunothérapie anticancer

UK: United Kingdom ou Royaume Uni, GB: Grande Bretagne

## Quelques grandes dates de l'immunologie

### L'immunité anti-infectieuse

1721	Lady Montagu	La vaccination interhumaine
1798	Edward Jenner	La vaccination bovine
1880	Louis Pasteur	Atténuation du bacille du choléra de la poule
1884	Élie Metchnikoff	La phagocytose
1885	Louis Pasteur	Le vaccin contre la rage
1890	Robert Koch	Le phénomène de Koch et la réaction d'hypersensibilité retardée
1890	Emil von Behring	Les antitoxines
1897	Paul Ehrlich	Études sur l'immunité antitoxique
1903	Maurice Arthus	L'hypersensibilité semi-retardée
1932	Gaston Ramon	L'anatoxine
1957	Alick Isaacs	L'interféron

### La sérologie

1895	Jules Bordet	Le complément
1896	Max Gruber et Herbert Durham	L'agglutination
1897	Rudolf Kraus	La précipitation
1921	Carl Prausnitz et Heinz Küstner	Les réagines
1942	Albert Coons	L'immunofluorescence
1945	Robert Coombs	L'utilisation des antiglobulines
1946	Jacques Oudin et Orjån Outcherlöny	L'immunodiffusion
1953	Pierre Grabar	L'immunoélectrophorèse
1960	Roselyn Yalow et Solomon Berson	Les dosages radio-immunologiques

### L'immunochimie

1917	Karl Landsteiner	Les haptènes
1929	Michael Heidelberger	La sérologie chimique quantitative
1938	Elvin Kabat	Les anticorps sont des gammaglobulines
1956	Jacques Oudin	Les allotypes
1958	Rodney Porter	La structure des immunoglobulines
1959	Gerald Edelman	Séquence d'une immunoglobuline
1963	Jacques Oudin et Henry Kunkel	Les idiotypes
1975	Susumi Tonegawa et Philip Leder	Les gènes des immunoglobulines
1984	Mark Davis et Tak Mak	Les gènes du récepteur des cellules T

### L'immunologie cellulaire

1942	Merrill Chase et Karl Landsteiner	Le transfert de l'hypersensibilité retardée par les cellules
1958	Mac Farlane Burnet et Niels Jerne	La théorie de sélection clonale
1958	Peter Medawar	Le phénomène de tolérance
1959	James Gowans	Le rôle des lymphocytes dans l'immunité
1962	Jacques Miller	Les effets de la thymectomie à la naissance
1970	Avrion Mitchison	La reconnaissance du porteur par les cellules T auxiliaires
1975	Cesar Milstein et George Köhler	Les hybridomes

### L'immunogénétique

1901	Karl Landsteiner	Les groupes sanguins ABO
1936	Perter Gorer	Les antigènes H-2 chez la souris
1940	Karl Landsteiner et Alexandre Wiener	Les antigènes rhésus
1948	George Snell	Les souris congéniques
1958	Jean Dausset	Les antigènes HLA
1963	Baruj Benacerraf et Hugh Mac Devitt	Les gènes de réponse immunitaire
1975	Rolf Zinkernagel et Peter Doherty	La restriction allogénique

## L'immunopathologie

- |      |                                |                                                                    |
|------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1902 | Charles Richet et Paul Portier | L'anaphylaxie                                                      |
| 1905 | Clemens von Pirquet            | La maladie sérique                                                 |
| 1956 | Ivan Roitt et Deborah Doniach  | Les auto-anticorps antithyroglobuline                              |
| 1957 | Ernest Witebsky                | L'auto-immunité                                                    |
| 1959 | Jean Hamburger et John Merrill | Les greffes de rein chez l'homme                                   |
| 1963 | C.A. Clarke                    | La prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né              |
| 1963 | Frank Dixon                    | Les glomérulonéphrites par dépôts de complexes immuns              |
| 1967 | Kimishiga et Teruka Ishizaka   | Le rôle des IgE dans l'allergie                                    |
| 1970 | Robert Good                    | Le démantèlement des déficits immunitaires congénitaux             |
| 1973 | Jon Lindstrom                  | Les anticorps antirécepteurs de l'acétylcholine dans la myasthénie |

# LES ORGANES LYMPHOIDES

Dr Hatem MASMOUDI

## I) Introduction

Les lymphocytes B et T prennent naissance, sont éduqués et stockés dans des organes spécialisés, les organes lymphoïdes.

On distingue classiquement les organes lymphoïdes primaires où a lieu la lymphopoïèse c'est à dire le processus de différenciation des lymphocytes B et T à partir de cellules souches lymphoïdes, et les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques vers lesquels migrent les lymphocytes B et T et où sont initiées et/ou amplifiées les réponses immunitaires.

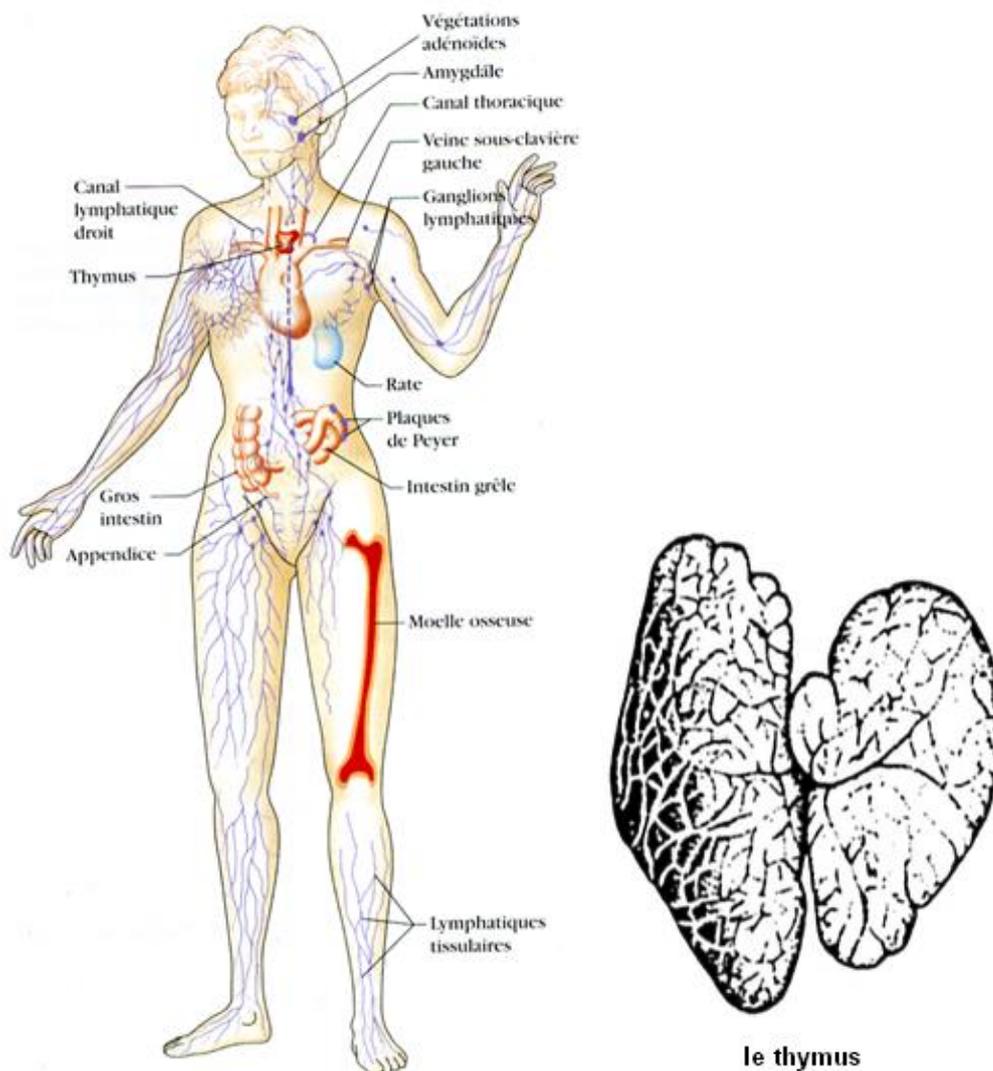
Les organes lymphoïdes comportent un système lymphatique et sanguin qui permet une circulation cellulaire interne et assure une distribution ubiquitaire des cellules impliquées dans les réponses immunitaires. Le système lymphoïde comprend donc, un contingent de cellules fixes formant la trame des différents organes et voies de circulation, et un contingent de cellules mobiles qui assurent le transport de l'information et l'intervention à distance.

Dans tous les organes lymphoïdes, les cellules stromales jouent un rôle important dans la différenciation et la maturation des précurseurs et/ou dans le développement et le maintien des fonctions des cellules matures.

C'est dans les organes lymphoïdes primaires que les lymphocytes acquièrent leur répertoire de reconnaissance de l'antigène (Ag) et apprennent à distinguer le soi du non soi. Tandis que c'est dans les organes lymphoïdes secondaires que les lymphocytes B et T interagissent entre eux et avec l'Ag.

Les organes lymphoïdes primaires sont le thymus, lieu de la différenciation des lymphocytes T ; et la moelle osseuse, lieu de différenciation des lymphocytes B chez les mammifères (équivalent de la bourse de Fabricius chez les oiseaux).

Les organes lymphoïdes secondaires sont la rate, les ganglions lymphatiques et le tissu lymphatique associé aux muqueuses ou MALT.



## II) Le thymus

Le thymus est le lieu de la différenciation des lymphocytes T à partir des cellules souches lymphoïdes provenant de la moelle osseuse. Son développement est indépendant des stimulations antigéniques.

C'est un organe lympho-épithélial issu d'une ébauche provenant des 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> poches endodermiques pharyngiennes. L'ébauche thymique épithéliale (d'origine endodermique) est pénétrée par des cellules souches (d'origine mésenchymateuse) qui proviennent successivement du sac vitellin, du foie fœtal (6 - 7<sup>ème</sup> semaine au 7<sup>ème</sup> mois de la grossesse) et de la moelle osseuse (à partir du 4<sup>ème</sup> mois). Après la naissance, la moelle osseuse est l'unique source de cellules souches lymphoïdes. L'ébauche du thymus est commune avec celle des

glandes parathyroïdes, ce qui explique la symptomatologie du syndrome de Di-Georges (ou dysplasie thymique congénitale) marquée par une hypocalcémie rebelle dès les 24 - 48 premières heures de la vie.

Situé dans la partie supérieure du médiastin antérieur reposant sur le péricarde au niveau de la naissance des gros vaisseaux aortiques, le thymus est constitué de 2 lobes reliés par un isthme médian.

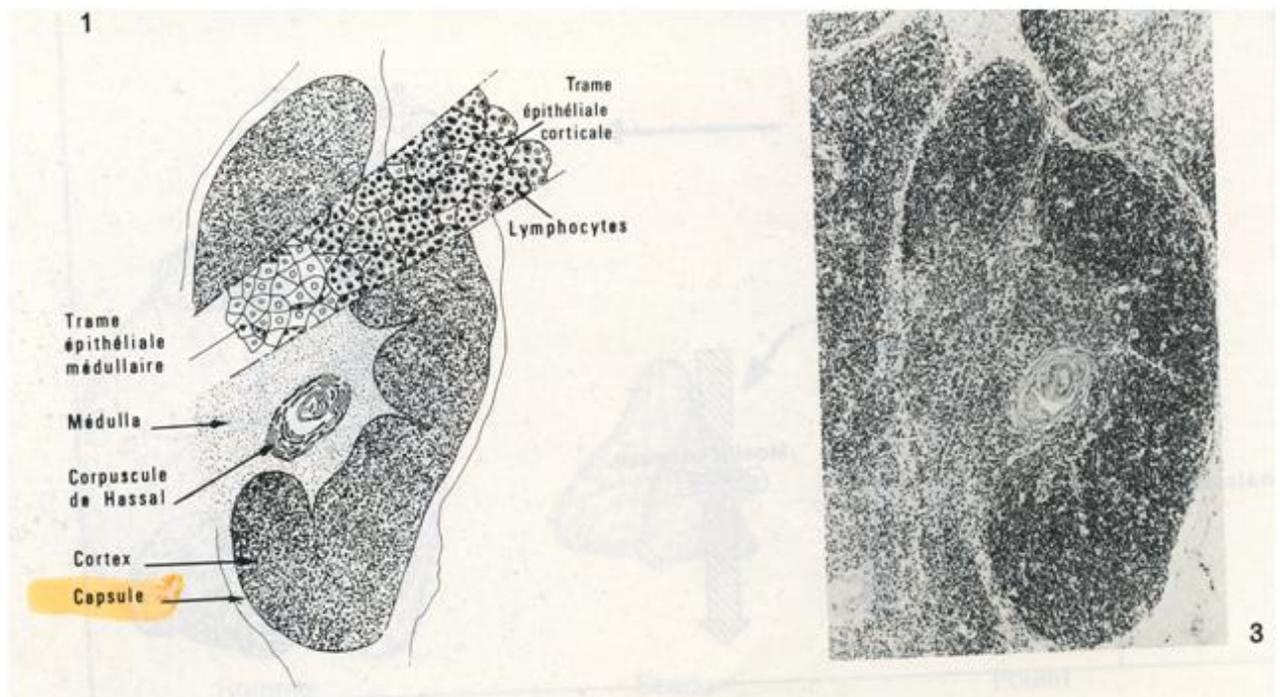
Chaque lobe thymique est découpé en lobules par des travées de tissu conjonctif qui servent de support aux vaisseaux. Chaque lobule comprend un cortex périphérique dense très riche en thymocytes (cellules lymphoïdes thymiques en cours de différenciation) et une médullaire plus claire et moins riche en thymocytes. Les thymocytes corticaux sont relativement immatures et prolifèrent activement, tandis que les thymocytes médullaires sont plus matures et prolifèrent peu.

Le stroma thymique est essentiellement constitué par des cellules épithéliales corticales et médullaires (d'origine endodermique) auxquelles sont associées des cellules réticulaires d'origine mésenchymateuse qui ont migré dans l'ébauche thymique à partir de la moelle osseuse: macrophages et cellules interdigitées (IDC pour interdigitated cells) ou interdigitantes.

Au niveau du cortex, on retrouve un type particulier de cellules épithéliales, les cellules nourricières ("Nurse cells") qui contiennent dans leur cytoplasme ou dans les multiples replis de leur membrane plasmique de nombreux thymocytes.

Dans la médullaire, les cellules épithéliales se regroupent souvent en structures arrondies où elles sont empilées et enroulées les unes sur les autres, les corpuscules de Hassal.

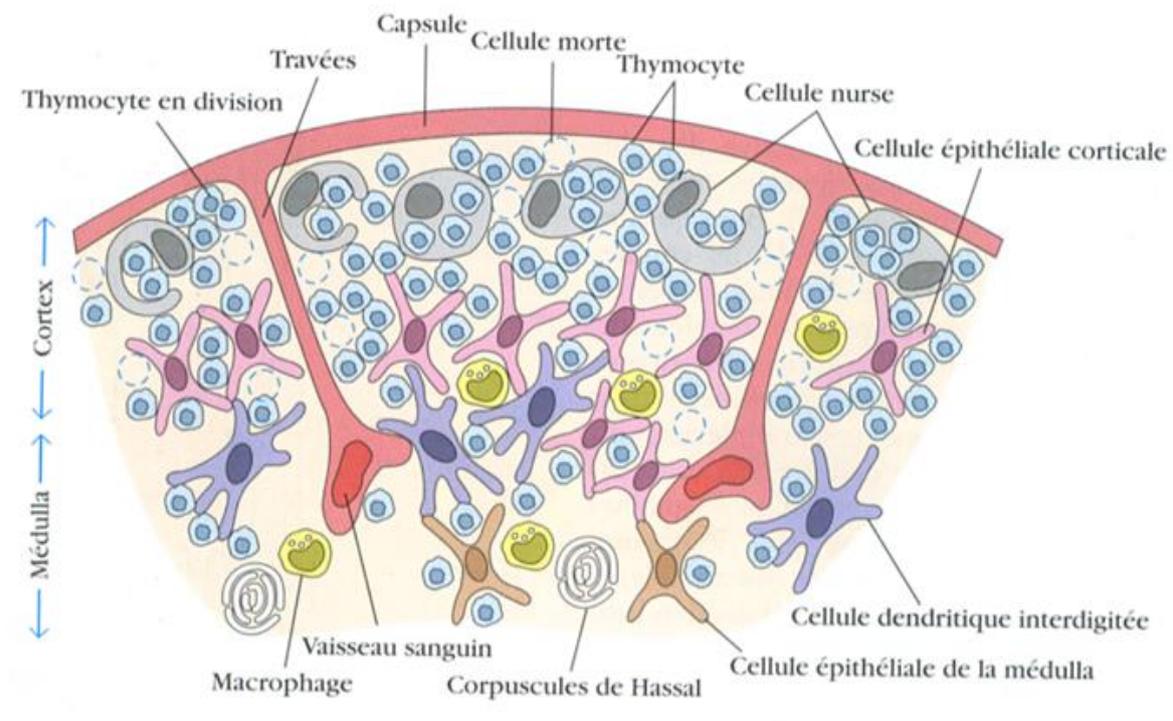
Les cellules épithéliales secrètent les hormones thymiques (thymuline, thymopoïétine et thymosine- $\alpha$ 1) et produisent certaines cytokines telles que l'IL1 (interleukine1), l'IL3, l'IL6, l'IL7 et le GM-CSF ("Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor"). Les macrophages secrètent eux aussi l'IL1, l'IL6 et le GM-CSF. Les thymocytes produisent d'autres cytokines notamment l'IL2, l'IL3,



l'IL4 et l'INF $\gamma$  (Interféron gamma). Tous ces facteurs (hormones thymiques et cytokines) constituent un réseau complexe contrôlant la différenciation, la prolifération et la maturation des cellules de la lignée T au niveau du thymus.

La maturation des lymphocytes T dans le thymus procède également de l'interaction des précurseurs en voie de différenciation avec les cellules stromales. Ces interactions font impliquer le récepteur spécifique pour l'antigène ou TCR ("T cell receptor") du côté des thymocytes et les molécules HLA classe I et classe II exprimées par les cellules stromales (cellules épithéliales, macrophages et cellules interdigitées) et les peptides du soi qu'elles présentent. Elles sont cruciales pour la différenciation des lymphocytes T et la sélection d'un répertoire T (l'ensemble des différents TCR exprimés par tous les lymphocytes T matures) restreint au CMH (complexe majeur d'histocompatibilité = système HLA chez l'homme) et non agressif pour les antigènes du soi (cf : cours Lymphocytes B et T, cours Système HLA).

Le thymus est irrigué par des artères qui se ramifient en suivant les septums inter-lobulaires et pénètrent dans les lobules au niveau de la jonction cortico-médullaire. Le parenchyme thymique n'a pas de vascularisation lymphatique et le thymus semble être à l'écart des voies de circulation des lymphocytes.

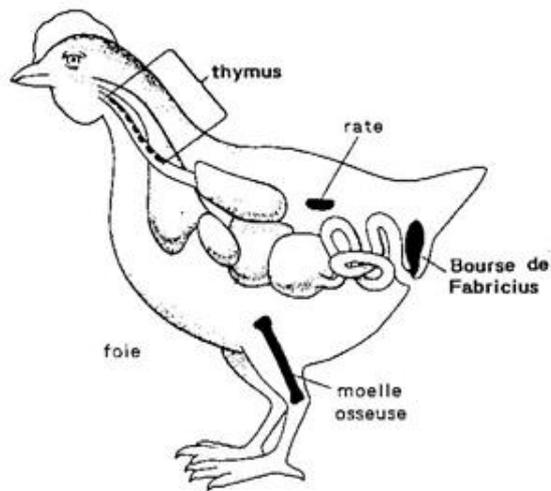


Le thymus involue avec l'âge. L'atrophie thymique porte d'abord sur le cortex qui devient de plus en plus étroit tandis que le parenchyme s'infiltré de tissu adipeux. Chez l'homme, le thymus atteint sa taille maximale à la puberté puis il s'atrophie progressivement. De 70 g en moyenne chez l'enfant, il ne pèse plus que 3 g environ chez le sujet âgé.

### III) La moelle osseuse

Chez les oiseaux, la différenciation des lymphocytes B à partir des cellules souches lymphoïdes se fait dans un organe lymphoïde bien individualisé, la bourse de Fabricius. Comme le thymus, c'est un organe lymphoïde primaire, de structure lympho-épithéliale qui involue rapidement avec l'âge et dont le développement embryonnaire, très précoce, est indépendant des stimulations antigéniques.

On a longtemps et en vain cherché un équivalent de la bourse de Fabricius chez les mammifères. Il est quasiment admis à l'heure actuelle que la différenciation des lymphocytes de la lignée B à partir des cellules souches lymphoïdes se fait chez les mammifères et plus particulièrement chez l'homme sur place au niveau de la moelle osseuse (fœtale puis adulte).

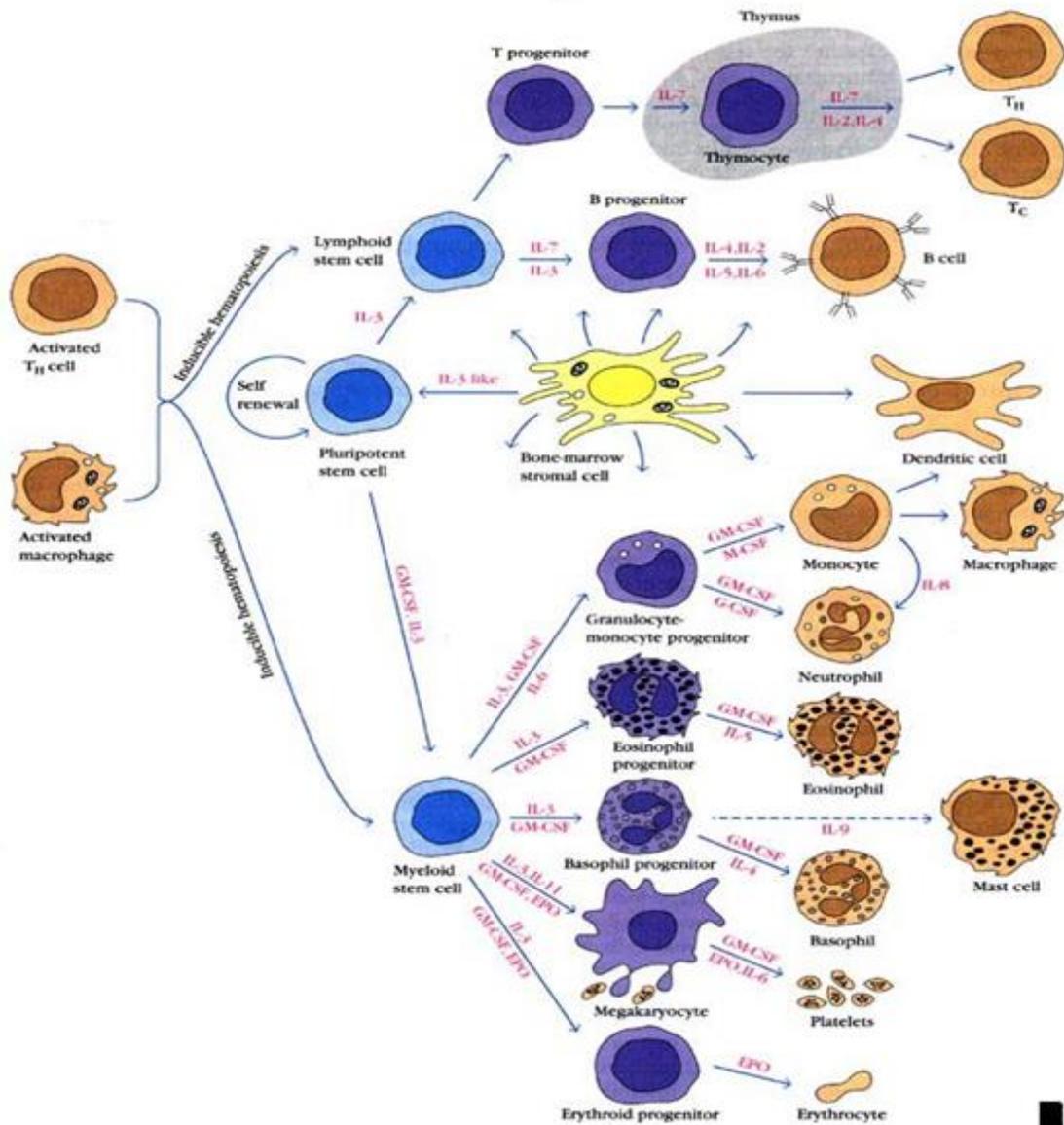


La moelle osseuse n'est pas un organe lymphoïde à proprement parler. Cependant, son importance est capitale puisque, d'une part c'est elle qui produit les cellules souches lymphoïdes et myéloïdes, d'autre part c'est à son niveau qu'a lieu la différenciation des différents précurseurs hématopoïétiques (exception faite des lymphocytes T). Initialement constituée d'éléments mésenchymateux primitifs, la moelle osseuse ne trouve sa pleine activité hématopoïétique que vers le milieu de la gestation, quand l'hématopoïèse hépatique (foie fœtal) commence à régresser.

La moelle osseuse a une répartition ubiquitaire. Elle occupe les espaces libres à l'intérieur des os. La moelle osseuse est constituée d'un système complexe de vaisseaux qui circulent au milieu du tissu hématopoïétique. Ce dernier comprend toutes les lignées de cellules circulantes et leurs précurseurs en contact étroit avec les cellules du stroma, macrophages et cellules réticulaires.

En ce qui concerne la maturation des lymphocytes B, on peut décrire une évolution centripète des cellules avec un gradient de maturation de la paroi osseuse interne jusqu'au sinus de la moelle d'où les lymphocytes B matures vont migrer vers les organes lymphoïdes périphériques.

Outre les lymphocytes B, la moelle osseuse contient de nombreux lymphocytes T et des plasmocytes. Elle peut donc aussi être considérée comme un organe lymphoïde secondaire.



#### IV) La rate

La rate est située dans la partie supérieure gauche de l'abdomen. C'est un énorme filtre interposé sur les vaisseaux sanguins. Organe lymphoïde secondaire dérivant d'un épaissement mésenchymateux, la rate répond aux Ag apportés par la circulation sanguine. Contrairement aux ganglions lymphatiques, la rate n'est pas alimentée par des vaisseaux lymphatiques.

La rate est entourée d'une capsule conjonctive qui émet des travées à l'intérieur du parenchyme splénique. Les branches de l'artère splénique entrent par le hile et pénètrent dans le parenchyme splénique en suivant le chemin tracé par les cloisons conjonctives tout en s'entourant d'un manchon lymphoïde péri-artériel qui constitue la pulpe blanche de la rate. Autour de la pulpe blanche se trouve la zone

marginale qui est une zone intermédiaire entre la pulpe blanche et la pulpe rouge. La pulpe rouge est constituée d'un réseau de sinus veineux, de vaisseaux et de cordons spléniques (cordons de Billroth).

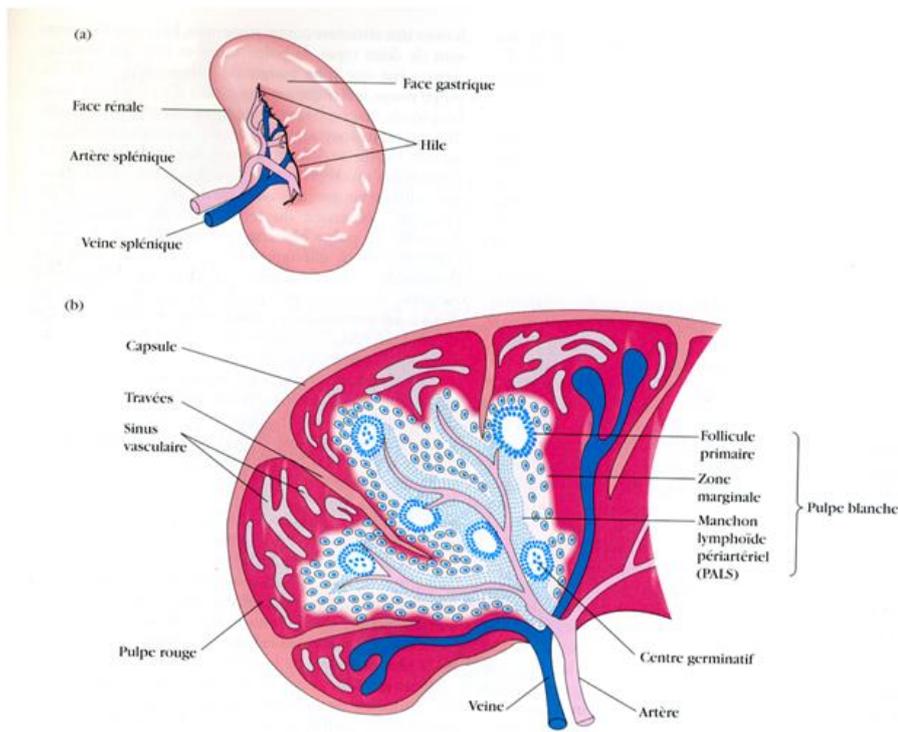
*La pulpe rouge* est impliquée dans l'élimination (assurée par les macrophages spléniques) des particules et des cellules altérées véhiculées par le sang (notamment les hématies sénescents). De plus, elle fonctionne comme un réservoir de globules rouges, de polynucléaires et de plaquettes qui peuvent être injectés dans la circulation sanguine en cas de besoin (hémorragie..).

*La pulpe blanche* correspond au tissu lymphoïde. Elle est constituée de 2 zones distinctes organisées autour d'une artériole centrale:

- le manchon lymphoïde péri-artériel dont la partie interne le long des vaisseaux est essentiellement peuplée par des lymphocytes T tandis que les lymphocytes B occupent la partie externe ;

- les follicules lymphoïdes : les follicules lymphoïdes primaires correspondent à des amas de petits lymphocytes B au repos organisés en des structures plus ou moins arrondies comprenant aussi des cellules dendritiques et des macrophages. Après un défi antigénique, le follicule primaire se réorganise et se transforme en un follicule secondaire comprenant un anneau dense de petits lymphocytes B entourant un centre germinatif (plus claire) où l'on trouve des lymphocytes B en prolifération en réponse à la stimulation antigénique à côté de quelques cellules T auxiliaires, de macrophages et de cellules dendritiques. Au cours de ces divisions cellulaires successives, les lymphocytes B activés par l'Ag font muter à une vitesse exceptionnelle les gènes des régions variables des chaînes légères et lourdes de leurs immunoglobulines. Seuls les lymphocytes B produisant les Ac qui fixent le plus fortement l'Ag (affinité élevée) seront sélectionnés pour passer à l'étape ultime de leur différenciation et se transformer soit en plasmocytes producteurs d'Ac soit en cellules B mémoire à longue durée de vie. Le reste des lymphocytes B (ceux non sélectionnés pour cause d'affinité insuffisante) meurent par apoptose (mort cellulaire programmée) et sont éliminés par les macrophages.

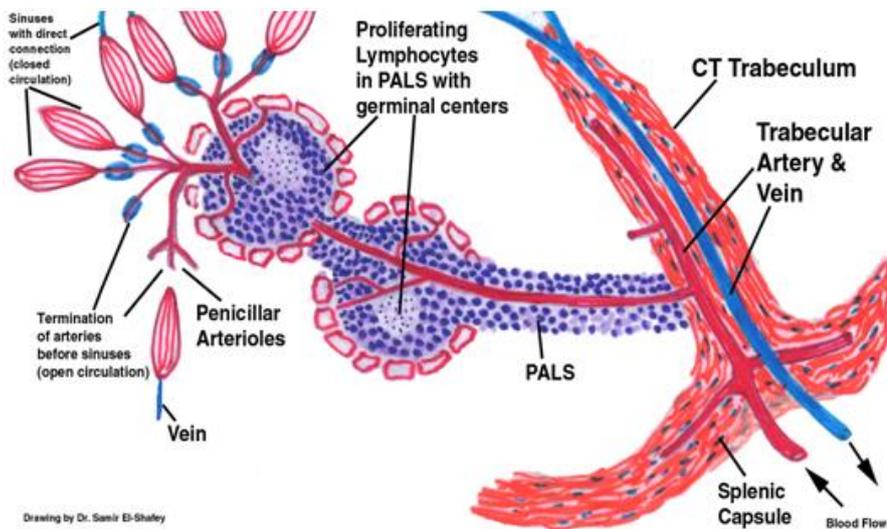
La pulpe blanche se prolonge par *la zone marginale* qui contient de nombreux lymphocytes B dont certains sont organisés en follicules lymphoïdes. La zone marginale contient également des macrophages et des cellules dendritiques.



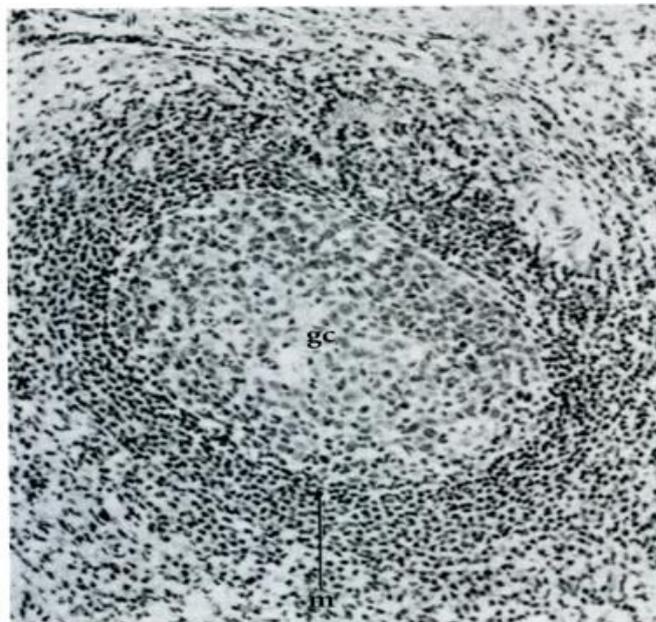
**FIGURE 2.19** Structure de la rate. (a) La rate, qui mesure environ 5 pouces (de 12 à 13 cm) de long chez l'adulte, est l'organe lymphoïde secondaire le plus gros. Elle est spécialisée dans la capture des antigènes véhiculés par le sang. (b) Coupe schématisée de la rate. L'artère splénique traverse la capsule et se divise en artérioles de plus en plus petites, qui se terminent dans des sinus vasculaires qui s'écoulent dans la veine splénique. La pulpe rouge remplie d'érythrocytes entoure les sinus. La pulpe blanche forme un manchon lymphoïde périartériel (PALS) autour des artérioles ; ce manchon contient de nombreuses cellules T. Étroitement associée au PALS, la zone marginale, région riche en cellules B, contient des follicules lymphoïdes qui peuvent se développer en follicules secondaires contenant des centres germinatifs.

Les cellules B et T ne sont pas seules dans leurs aires respectives. Ainsi, la zone T contient un réseau de cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse appelées cellules inter digitées tandis que la zone B contient un réseau de cellules dendritiques folliculaires dont les longs prolongements sont en contact avec les cellules B comme ceux des cellules inter digitées le sont avec les cellules T. Les cellules folliculaires dendritiques (FDC) semblent être spécialisées dans la capture des Ag sous forme de complexes immuns qui ne sont pas ingérés mais restent fixés intacts à leur surface pour être ainsi présentés aux cellules B.

Contrairement aux cellules interdigitées, les cellules folliculaires dendritiques ne dérivent pas de précurseurs de la moelle osseuse, ne phagocytent pas et n'expriment pas les Ag HLA classe II.



Drawing by Dr. Samir El-Shahy



**FIGURE 2.17** Follicule lymphoïde secondaire constitué d'un gros centre germinatif (gc) entouré d'un manteau dense (m) de petits lymphocytes. [D'après W Bloom et DW Fawcett, 1975, *Textbook of Histology*, 10<sup>e</sup> éd., W.B. Saunders Co.]

## V- Les ganglions lymphatiques

Ce sont des organes lymphoïdes arrondis ou réniformes de 10 à 15 mm de diamètre, isolés ou le plus souvent réunis en groupe le long du trajet des vaisseaux lymphatiques et constitués d'un parenchyme infiltré de lymphocytes et entouré d'une capsule. Organes lymphoïdes secondaires d'origine mésenchymateuse, les ganglions répondent aux Ag circulants dans la lymphe et provenant de la peau (ganglions superficiels) ou des viscères (ganglions profonds).

Le ganglion lymphatique reçoit la lymphe par les canaux lymphatiques afférents qui se jettent sous la capsule au niveau du sinus marginal ou périphérique séparant la capsule conjonctive du parenchyme ganglionnaire.

Les sinus intermédiaires du cortex se ramifient en sinus médullaires séparés les uns des autres par les cordons médullaires. Les sinus médullaires se résolvent dans le canal lymphatique efférent qui, comme la veine ganglionnaire, quitte le ganglion par le hile.

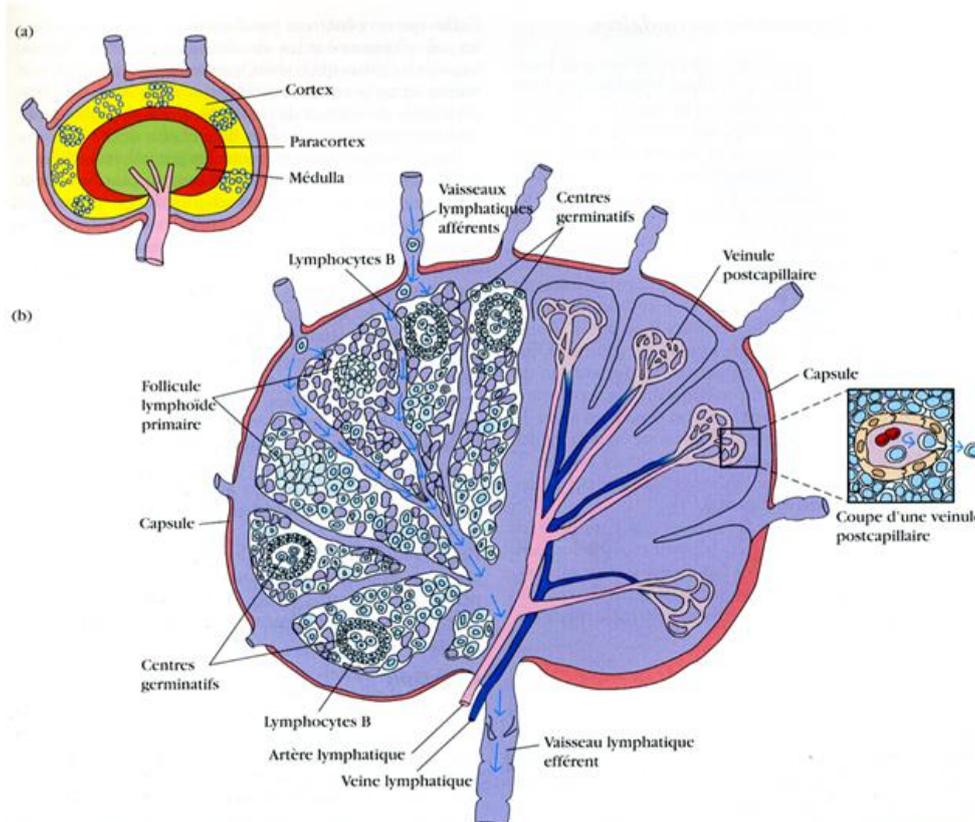
La vascularisation sanguine du ganglion est assurée par une artère ganglionnaire qui pénètre par le hile. C'est au niveau des veinules post-capillaires du cortex profond que se fait le passage des lymphocytes entre le sang et la lymphe.

Le ganglion comprend 3 zones :

- une zone corticale ou cortex périphérique riche en lymphocytes B,
- une zone para corticale ou cortex profond riche en lymphocytes T,
- une zone médullaire plus claire et moins dense en cellules, de structure cordonale avec de nombreux sinus ramifiés. Les cordons médullaires contiennent des macrophages, des plasmocytes et des lymphocytes B et T.

Le cortex externe contient de nombreux follicules lymphoïdes primaires et secondaires (avec centre germinatif). Le centre germinatif est le lieu essentiel où les lymphocytes B activés par l'Ag prolifèrent et poursuivent leur différenciation terminale aboutissant à la production de plasmocytes et de cellules B mémoire recirculantes à longue durée de vie.

Le cortex profond ou para cortex est une zone riche en lymphocytes T mais contient aussi quelques lymphocytes B qui migrent rapidement vers les zones folliculaires ou vers la médullaire. Le stroma du cortex profond est essentiellement formé de cellules interdigitées qui expriment les molécules HLA classe II et assurent la présentation des Ag aux lymphocytes T helper CD4<sup>+</sup>. Ainsi, c'est au niveau du cortex externe que se développent les réponses à médiation humorale, tandis que le cortex profond représente la zone d'initiation des réponses à médiation cellulaire telle que l'hypersensibilité retardée (HSR).



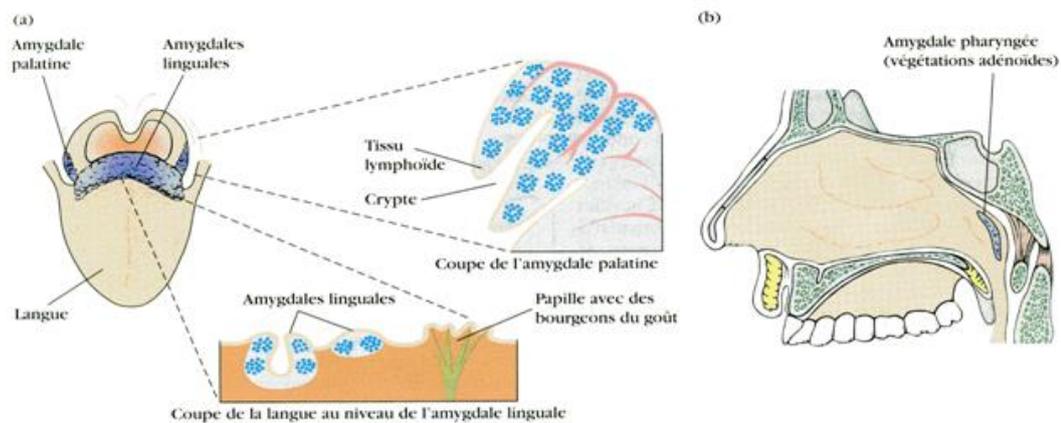
**FIGURE 2.18** Structure d'un ganglion lymphatique. (a) Les trois couches d'un ganglion lymphatique correspondent à des microenvironnements distincts. (b) Le côté gauche représente l'arrangement du réticulum et des lymphocytes au sein des différentes régions d'un ganglion lymphatique. Les macrophages et les cellules dendritiques qui captent l'antigène sont présents dans le cortex et le paracortex. Les cellules  $T_H$  sont concentrées dans le paracortex ; les cellules B sont localisées essentiellement dans le cortex, au sein des follicules et des centres germinatifs. La médulla (médullaire) est largement peuplée de plasmocytes producteurs d'anticorps. Les lymphocytes circulant dans la lymphe sont amenés aux ganglions par des vaisseaux lymphatiques afférents ; ils pénètrent dans la matrice réticulaire du ganglion ou bien ils passent à travers et quittent ce dernier par le vaisseau lymphatique efférent. Le côté droit de (b) présente l'artère lymphatique et la veine et les veinules postcapillaires. Les lymphocytes de la circulation peuvent passer des veinules postcapillaires aux ganglions par un processus appelé extravasation (*encart*).

## VI) Le système lymphoïde associé aux muqueuses

D'une surface totale de près de 400 m<sup>2</sup>, les muqueuses qui bordent les systèmes digestif, respiratoire et urogénital représentent les principaux sites d'entrée pour la plupart des pathogènes. Elles sont défendues par un groupe de tissus lymphoïdes connus collectivement sous le nom de tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT). L'importance fonctionnelle du MALT dans les défenses de l'organisme est attestée par le nombre de plasmocytes producteurs d'anticorps (beaucoup plus que ceux de la rate, des ganglions et de la moelle osseuse réunis) et la quantité d'IgA sécrétées qu'ils produisent quotidiennement (bien plus que le total des Ig sériques des 5 classes). D'un point de vue structural, le MALT comprend les amygdales, l'appendice, les plaques de Peyer et les amas de tissu lymphoïde présents dans la lamina propria et dans la sous-muqueuse des tractus

gastro-intestinal, respiratoire et urogénital. Les lymphocytes de ces amas peuvent former des agrégats diffus ou s'assembler en follicules lymphoïdes contenant souvent des centres germinatifs.

Les amygdales sont des structures nodulaires constituées d'un réseau de cellules réticulaires et de fibres. Elles contiennent une quantité considérable de tissu lymphoïde avec de nombreux centres germinatifs. Les amygdales sont retrouvées dans 3 régions de la sphère ORL : linguale, palatine et naso-pharyngée.

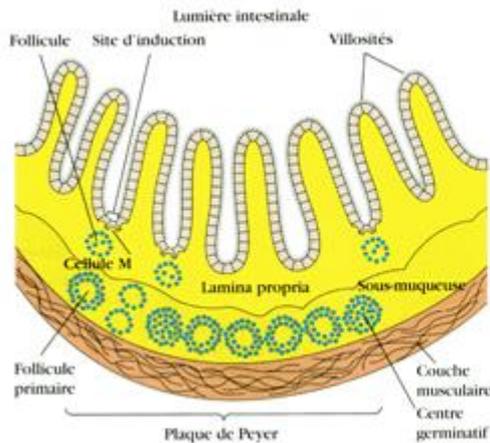


**FIGURE 2.20** Les trois types d'amygdales. (a) Position et caractéristiques internes des amygdales palatine et linguale ; (b) vue de la position des amygdales nasopharyngées (adénoïdes).

Les plaques de Peyer correspondent à des follicules lymphoïdes regroupés au niveau de la muqueuse et de la sous-muqueuse de l'intestin grêle. L'épithélium intestinal recouvrant le dôme des plaques de Peyer permet le transport des Ag de la lumière intestinale vers le tissu lymphoïde. Cette fonction est assurée par des cellules épithéliales particulières, les cellules M ("Microfold"), intercalées entre les entérocytes. La membrane basale est discontinue au niveau de la cellule M dont la membrane plasmique présente de nombreux replis où se logent des lymphocytes et des macrophages.

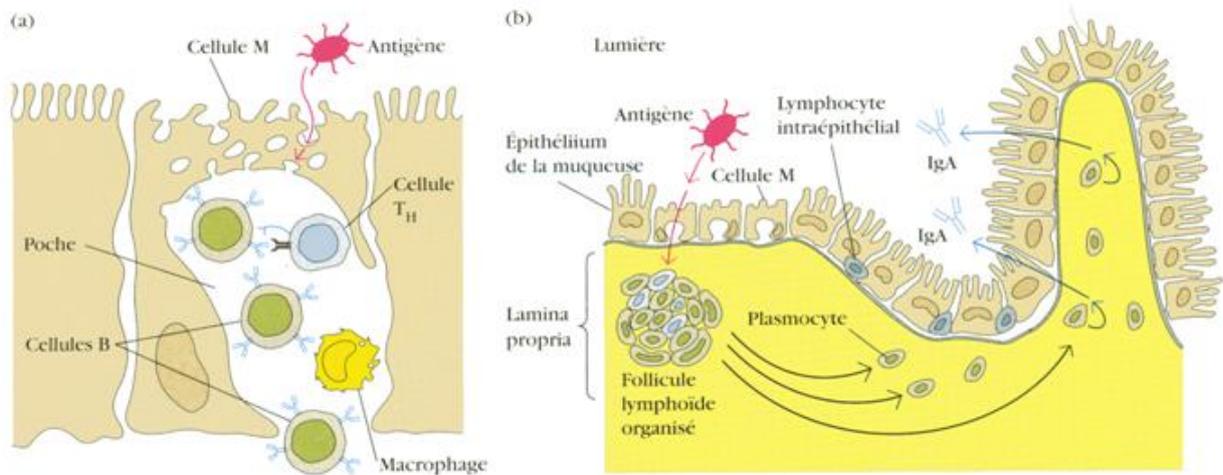
En plus de ces tissus lymphoïdes organisés, le MALT comprend les nombreux lymphocytes de la lamina propria et de la couche épithéliale des muqueuses.

La lamina propria contient en plus de nombreux plasmocytes (surtout sécréteurs d'IgA) et mastocytes, des polynucléaires (surtout éosinophiles) et des macrophages.



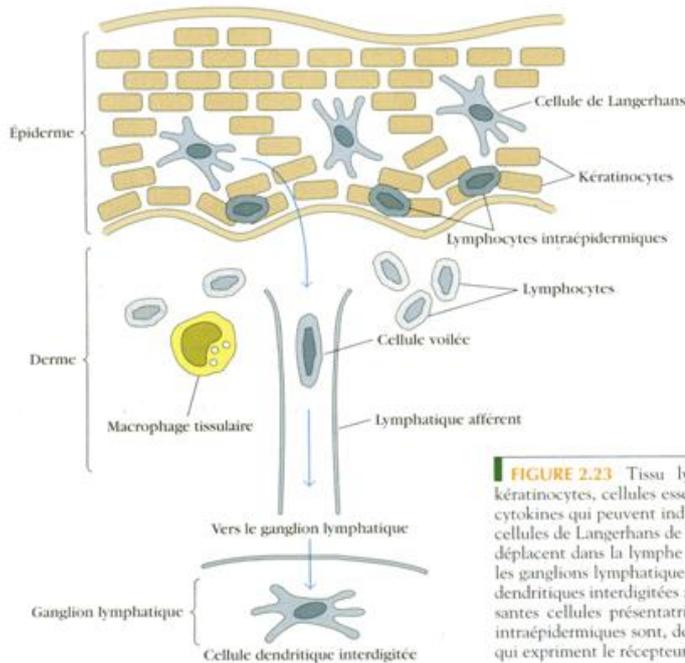
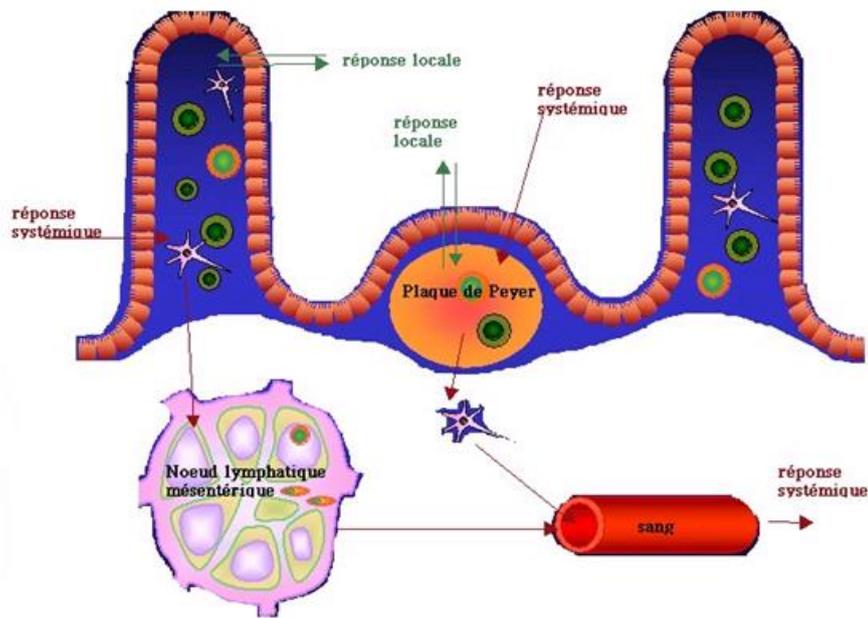
**FIGURE 2.21** Coupe schématisique de la muqueuse bordant l'intestin montrant un nodule de follicules lymphoïdes qui constitue une plaque de Peyer dans la sous-muqueuse. La lamina propria intestinale contient des amas lâches de cellules lymphoïdes et des follicules diffus.

Les lymphocytes de la couche épithéliale sont des lymphocytes T particuliers appelés lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) et qui se distinguent des lymphocytes T circulants par une proportion plus importante de cellules à TCR de type  $\gamma/\delta$  et de cellules  $CD8^+$  cytotoxiques.



**FIGURE 2.22** Structure des cellules M et production d'IgA au niveau des sites inductifs. (a) Les cellules M localisées dans les muqueuses endocytosent l'antigène venant de la lumière des tractus digestif, respiratoire et génito-urinaire. L'antigène est transporté à travers la cellule et libéré dans la grande poche basolatérale. (b) L'antigène transporté à travers la couche épithéliale par les cellules M au niveau d'un site inductif active les cellules B des follicules lymphoïdes sous-jacents. Les cellules B activées se différencient en plasmocytes producteurs d'IgA qui migrent le long de la sous-muqueuse. La couche épithéliale externe de la muqueuse contient des lymphocytes intraépithéliaux dont beaucoup d'entre eux sont des cellules T  $CD8^+$  qui expriment des  $TCR\gamma\delta$  dont la diversité pour l'antigène est limitée.

Parmi ces lymphocytes intra épithéliaux, il existe une sous population de lymphocytes T dont la différenciation, à partir des cellules souches lymphoïdes provenant de la moelle osseuse, se fait en dehors et indépendamment du thymus, vraisemblablement au niveau des plaques de Peyer.



**FIGURE 2.23** Tissu lymphoïde associé à la peau. Les kératinocytes, cellules essentielles de l'épiderme, sécrètent des cytokines qui peuvent induire une réaction inflammatoire. Les cellules de Langerhans de la peau internalisent l'antigène et se déplacent dans la lymphe (sous forme de cellules voilées) vers les ganglions lymphatiques où elles se différencient en cellules dendritiques interdigitées ; ces dernières se comportent en puissantes cellules présentatrices de l'antigène. Les lymphocytes intraépidermiques sont, de façon prédominante, des cellules T qui expriment le récepteur des cellules T  $\gamma\delta$ .

Les lymphocytes de cette lignée T « extra thymique » portent une molécule CD8  $\alpha/\alpha$  (dépourvue de la chaîne  $\beta$ ) et semblent se différencier au contact des Ag (pas de sélection positive par les molécules CMH du soi ni de sélection négative par les Ag du soi).

## VII) Circulation des lymphocytes et phénomène du « homing »

La majorité des petits lymphocytes circulent en permanence d'un organe lymphoïde à l'autre en passant par le sang et la lymphe, c'est la circulation des lymphocytes.

Considérable en intensité, la circulation des lymphocytes à travers l'organisme leur permet vraisemblablement de « patrouiller » à la recherche de leur cible : l'Ag à reconnaître spécifiquement.

Les lymphocytes B et T produits dans les organes lymphoïdes primaires migrent vers les organes lymphoïdes secondaires où ils occupent des localisations préférentielles, c'est le phénomène du homing.

Les mécanismes qui guident la migration et la circulation des lymphocytes sont très complexes et commencent à peine à se percevoir. Ils font intervenir l'interaction entre des molécules d'adhésion leucocytaire exprimées à la surface des lymphocytes (sélectine-L ou CD62L, LFA-1...) et leurs contre-structures portées par les cellules endothéliales (CD34, ICAM-1...).

# LES ANTIGENES

Pr Hatem MASMOUDI

## Objectifs éducationnels

---

1. Définir l'antigène, l'immunogénicité et l'haptène
  2. Expliquer les facteurs qui contrôlent l'immunogénicité d'un antigène
  3. Expliquer la notion de spécificité antigénique
  4. Définir la notion de réaction croisée en précisant les mécanismes
  5. Enumérer les principales classes d'antigènes en donnant des exemples
  6. Définir « le déterminant antigénique » ou « épitope » et distinguer entre épitope conformationnel et épitope séquentiel, et entre épitope immunodominant et épitope cryptique.
  7. Définir un xéno-antigène, un allo-antigène et un auto-antigène
- 

## I. DEFINITION

Un antigène (Ag) est une substance étrangère à un individu qui lorsque injectée à cet individu induit la synthèse d'anticorps (Ac) spécifiques par ce même individu. Cette définition n'est plus valable aujourd'hui, car :

- elle ne précise pas très bien ce qu'est l'Ag ;
- il existe des antigènes qui sont incapables d'entraîner la synthèse d'Ac spécifiques (sauf s'ils sont couplés à des protéines porteuses) et qui pourtant sont reconnus par des anticorps spécifiques;
- les Ag n'interagissent pas seulement avec les Ac mais aussi avec le récepteur pour l'Ag des lymphocytes T (TCR) et des lymphocytes B (BCR);
- certains Ag peuvent dans certaines conditions induire une non réponse immunitaire spécifique ou tolérance;
- l'Ag n'est pas nécessairement étranger à l'individu, il peut en effet s'agir d'un Ag du soi ou auto-Ag.

### \* Définition actuelle

Un antigène est une espèce moléculaire bien définie, isolée ou constitutive d'une cellule, d'un virus ou d'un liquide biologique et caractérisée par ses interactions spécifiques avec des molécules de reconnaissance immunologique : Ac, Ig (Immunoglobulines de surface) et/ou TCR.

## Notion de déterminant antigénique

L'Ag c'est donc une molécule. En fait, l'Ac reconnaît une petite portion de l'Ag qu'on appelle déterminant antigénique ou épitope. Chaque molécule d'Ag comporte selon sa taille un ou plusieurs déterminants antigéniques.

La valence d'un antigène est exprimée par le nombre maximum de molécules Ac qu'une molécule d'Ag peut fixer (valence  $\leq$  nombre de déterminants antigéniques). Avec son TCR ("T cell receptor"), le lymphocyte T lui aussi reconnaît une petite portion de l'Ag : un peptide de 10 à 20 acides aminés provenant de la dégradation partielle de la protéine antigénique.

## **II. Propriétés des Ag**

### 1) Immunogénicité

C'est la capacité de l'Ag à induire une réponse immunitaire. Les Ag capables d'induire une réponse immunitaire sont dits immunogènes.

#### a) *Notion d'haptène*

Un haptène est une petite molécule organique non immunogène par elle-même, mais qui induit la synthèse d'Ac spécifiques quand elle est couplée à une protéine porteuse. Les haptènes sont donc des Ag non immunogènes, ex : DNP, TNP (di et tri nitrophénol).

#### b) *Facteurs conditionnant l'immunogénicité*

##### \*Facteurs dépendants de l'Ag :

- *origine* : à moins d'être modifiés expérimentalement ou par des facteurs d'environnement, les Ag du soi sont habituellement peu ou pas immunogènes.
- *poids moléculaire (PM)* : un Ag est d'autant plus immunogène que son PM est élevé. Les Ag de PM compris 5 et 10 kDa (kilo Daltons) sont généralement peu immunogènes. Toutefois, quelques substances de PM < 1 kDa se sont avérées immunogènes.
- *nature chimique* : les protéines et les lipopolysaccharides sont de puissants immunogènes. Les polysaccharides simples sont en général de bons immunogènes chez l'homme et la souris mais non immunogènes chez le lapin et le cobaye. Les lipides se comportent comme les haptènes.

- *complexité chimique et structurale de la molécule Ag* : les expériences menées avec des polymères synthétiques d'acides aminés ont bien montré la corrélation entre l'immunogénicité, d'une part, et la taille et la complexité chimique (1, 2, 3 acides aminés ou plus) et structurale (structure linéaire, branchée ...) de la molécule antigénique, d'autre part.

- *dose et voie d'administration* : pour chaque Ag, il existe une courbe dose-réponse propre (pour chaque voie d'administration). Des doses trop faibles ou trop élevées d'Ag, non seulement ne stimulent pas la réponse immunitaire, mais peuvent même induire un état de tolérance immunitaire : non réponse immunitaire spécifique et durable. La dose immunogène optimum est d'autant plus faible que l'Ag est plus éloigné phylogéniquement par rapport à l'hôte : ex la dose immunogène d'endotoxine bactérienne chez le lapin est de  $10^{-14}$  g, celle de la sérum albumine bovine est de  $10^{-4}$  g.

En règle générale, une administration répétitive (rappels) sur plusieurs semaines est nécessaire pour stimuler une réponse immunitaire forte. L'administration simultanée de 2 ou plusieurs antigènes peut entraîner une synergie dans la production d'Ac, tandis que l'administration de deux Ag à 2 ou 3 jours d'intervalle peut entraîner une dépression de la réponse immunitaire vis à vis du 2<sup>ème</sup> Ag.

Les voies d'administration les plus utilisées pour l'immunisation sont les voies parentérales (autres que per-os) : sous-cutanée (SC), intradermique (ID), intramusculaire (IM) et intraveineuse (IV).

- *association d'adjuvants* : les adjuvants sont des substances qui lorsqu'elles sont mélangées à un Ag, augmentent son immunogénicité. Les adjuvants sont souvent utilisés pour exalter la réponse immunitaire pour les Ag à faible immunogénicité ou disponibles en petites quantités. L'adjuvant le plus utilisé en expérimentation animale est l'adjuvant de Freund (émulsion d'eau et d'huiles minérales avec ou sans mycobactéries tuées).

- *sensibilité de l'Ag à l'apprêtement et à la présentation aux lymphocytes T* : les macromolécules qui ne peuvent pas être dégradées et présentées aux lymphocytes

T en association avec des molécules du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) sont généralement de mauvais immunogènes.

\*Facteurs dépendants de l'hôte :

- *constitution génétique* : espèce, souche, ethnie, individu
- *état physiologique* : âge, sexe, grossesse, état de santé...

**c) Notion de pro-antigène**

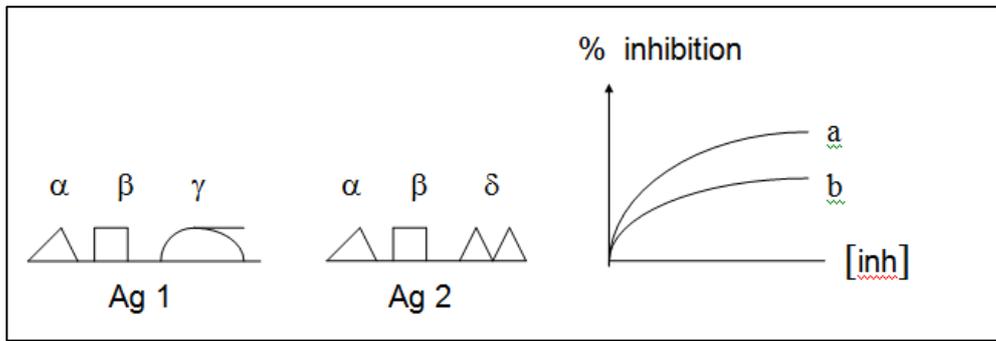
Les pro-antigènes sont des antigènes de faible PM qui deviennent immunogènes après fixation sur une protéine autologue ; à la différence des haptènes, ils entraînent surtout des réactions d'hypersensibilité retardée (HSR).  
Ex : le DNCB (di-nitro-chlorobenzène), le chrome, le nickel, l'acrylique, certains produits cosmétiques...

**2) Spécificité antigénique**

L'immunisation par deux Ag différents induit la production de deux populations différentes d'Ac qu'on appelle immun-sérums (IS) ; chaque immun-sérum est spécifique d'un Ag donné, et dans chaque immun-sérum, chaque type d'Ac est spécifique d'un déterminant antigénique bien déterminé. Ainsi par exemple, les Ac dirigés contre le virus de la rougeole se lient au virus de la rougeole mais pas à celui de la poliomyélite ou de la rage. Par conséquent ils ne protègent que contre la rougeole. De même, les Ac anti-para-amino-phenyl-glucoside sont différents des Ac anti-para-amino-phényl-galactoside. En effet et comme illustré dans le tableau 2, le système immunitaire arrive à distinguer entre ces 2 molécules qui pourtant se ressemblent tellement sur le plan de la structure et de la composition chimique en produisant contre chacune d'elle des Ac spécifiques qui ne reconnaissent pas du tout l'autre molécule.

Cette notion de spécificité antigénique a tout de même des limites. Il peut en effet y avoir une réaction croisée entre 2 Ag différents : l'Ac obtenu par immunisation avec un Ag réagit in vitro avec l'Ag immunisant (bien sûr) mais aussi avec un 2<sup>ème</sup> Ag différent de l'Ag immunisant. Cette situation peut se produire lorsque :

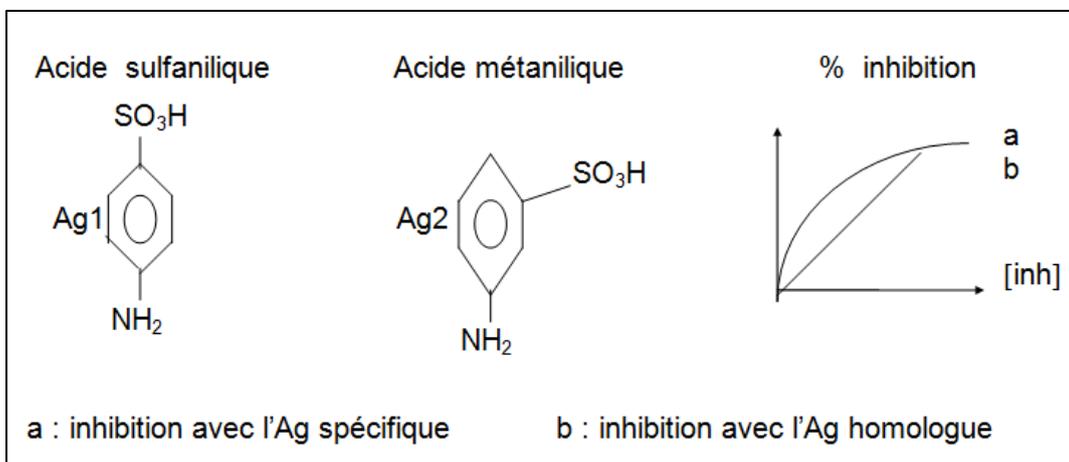
- les 2 Ag ont des déterminants antigéniques communs (fig. 1)



**Figure 1 :** Réaction croisée entre 2 Ag différents (1 et 2) ayant des déterminants antigéniques communs ( $\alpha$  et  $\beta$ )

- les 2 Ag ont des déterminants antigéniques semblables donc reconnus avec les mêmes Ac mais avec des affinités différentes (fig2).

Dans le premier cas, l'inhibition de la réaction Ag-Ac avec l'Ag homologue (donnant une réaction croisée) reste toujours nettement inférieure à celle obtenue avec l'Ag spécifique lui-même quelle que soit la concentration de l'inhibiteur (fig1). Tandis que dans le deuxième cas et avec une concentration beaucoup plus importante de l'inhibiteur, l'inhibition avec l'Ag homologue atteint le plateau obtenu avec l'Ag spécifique (fig2).



**Figure 2 :** Réaction croisée entre 2 Ag différents ayant une forte similitude au niveau de leur structure

### III- Classification des Ag

1) **Ag naturels** : trouvés tels quels dans la nature

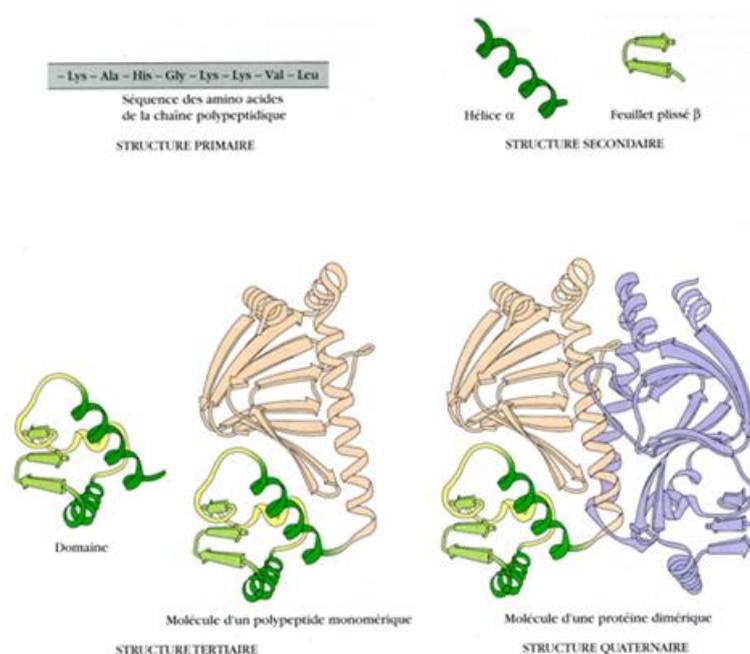
a) **Selon la nature chimique**, les Ag naturels sont classés en 4 catégories :

\*Protéines : holo et hétéro-protéines (glyco, lipo, nucléo et métallo-protéines).

Les protéines sont généralement de très bons immunogènes.

Sur les protéines fibreuses, les déterminants antigéniques sont surtout de type séquentiel : linéaires dépendant de la structure primaire, taille  $\sim$  10 à 20 acides aminés (aa).

Sur les protéines globulaires, les déterminants antigéniques sont aussi et surtout de type conformationnel : résultant de la juxtaposition dans l'espace d'aa non contigus, dépendent donc de la structure 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> voire même 4<sup>ème</sup> des protéines (figure 3).



**FIGURE 3** Les quatre niveaux de la structure des protéines. La disposition linéaire des amino acides constitue la structure primaire. Le repliement de certaines parties de la chaîne polypeptidique en des structures régulières (par exemple, les hélices  $\alpha$  et les feuillets plissés  $\beta$ ) crée la structure secondaire. La structure tertiaire se réfère au repliement des régions présentant des structures secondaires pour donner la forme d'ensemble de la molécule ou de parties de celles-ci (domaines) présentant des propriétés fonctionnelles spécifiques. La structure quaternaire résulte de l'association d'au moins deux chaînes polypeptidiques en une seule molécule protéique polymérique.

On distingue classiquement les déterminants antigéniques immuno-dominants, exposés à la surface de la molécule, des déterminants antigéniques cryptiques ou immuno-silencieux masqués dans la molécule native.

\* Polysaccharides = polysides :

Polyosides simples :

- linéaires
- arborescents (dextrane)
- branchés (polysaccharides du pneumocoque et du streptocoque)

Polyosides complexes :  $\left\{ \begin{array}{l} - \text{lipopolysaccharide (entérobactéries)} \\ - \text{glycoprotéines (groupes sanguins)} \end{array} \right.$

Les polysaccharides simples sont en général de bons immunogènes chez l'homme et la souris, mais ne sont pas immunogènes chez le lapin et le cobaye. Les polysaccharides complexes sont en général de bons immunogènes.

Les sucres immuno-dominants sont ceux qui déterminent la spécificité antigénique d'un polysaccharide et permettent de le distinguer des autres polysaccharides, du même groupe (exemple Ag A et B des groupes sanguins, Ag AO et BO des salmonelles...). Ils sont préférentiellement situés sur l'extrémité des chaînes latérales. Le sucre immuno-dominant représente le principal point de contact du déterminant antigénique avec le site de combinaison de l'Ac.

La taille du déterminant antigénique a été évaluée par Kabat à environ huit résidus de sucres.

\*Lipides : les lipides se comportent comme les haptènes.

- lipides simples = homolipides : acides gras, stérols et stéroïdes
- lipides complexes = hétérolipides : glycophospholipides, sphingolipides.

\*Acides nucléiques : Les acides nucléiques (ADN et ARN) sont en général non immunogènes. Cependant, ils peuvent devenir immunogène après fixation à un porteur tel que la sérum-albumine méthylée qui protège l'acide nucléique en évitant sa dénaturation. Les malades atteints de lupus érythémateux disséminé ont en général des auto-Ac anti ADN natif et dénaturé.

b) *Selon leur origine*, les Ag naturels sont classés en :

\*hétéro-Ag ou xéno-Ag : Ag appartenant à des espèces différentes ;

\*allo-Ag ou homo Ag : Ag appartenant à des individus différents de la même espèce ;

\*auto-Ag : Ag appartenant à l'individu lui-même.

Les xéno-Ag sont en général des Ag présents chez tous les individus de la même espèce. Les allo-Ag sont des Ag présents chez certains individus et pas d'autres de la même espèce (formes alléliques).

## 2) **Ag artificiels**

Ce sont des Ag naturels modifiés chimiquement par la fixation d'haptènes, de polypeptides synthétiques...Ex : la gélatine est très peu immunogène mais si on lui greffe des chaînes de tyrosine ou de tryptophane elle devient fortement immunogène chez le cobaye et le lapin.

## 3) **Ag synthétiques** : ce sont des Ag créés de toute pièce.

Il s'agit surtout des polypeptides synthétiques : Les homopolymères (1 seul type d'aa) sont habituellement non immunogènes. Les copolymères de 2 aa sont inconstamment immunogènes (selon les aa et l'espèce hôte). Les copolymères de 3 aa ou plus sont en général de bons immunogènes.

Les relations entre immunogénicité et structure primaire n'obéissent pas à une règle absolue. Un changement de plusieurs aa peut ne pas modifier l'immunogénicité ; alors qu'inversement, la substitution d'un seul aa peut suffire à faire perdre l'antigénicité. Il s'agit en général dans ce cas d'une substitution qui entraîne des modifications conformationnelles.

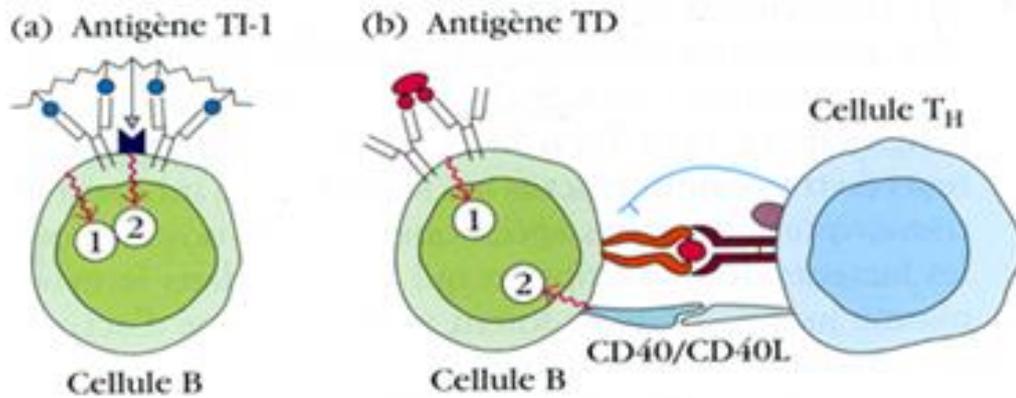
## **IV- Notion d'antigène thymo-indépendant :**

Les polymères d'aa de configuration optique D, donnent une réponse Ac par les lymphocytes B qui ne nécessite pas l'aide des lymphocytes T, on parle d'Ag thymo-indépendants (TI).

D'une façon générale, les Ag thymo-indépendants sont caractérisés par le caractère répétitif de leurs déterminants antigéniques et leur dégradation lente ; ce qui leur permet d'interconnecter facilement les Ig de surface des lymphocytes B. Il peut aussi s'agir d'activateurs polyclonaux (ou mitogènes) des lymphocytes B capables d'induire la prolifération de la quasi-totalité des clones B en se fixant sur un récepteur membranaire à leur surface.

Les Ag thymo-indépendants n'induisent ni à la commutation de classe (IgM → IgG, IgA...), ni la maturation de l'affinité des anticorps (due aux mutations somatiques) ni la différenciation en cellules B mémoire. Tous ces phénomènes nécessitent la coopération des cellules T helper (ou T auxiliaires). Exemple d'Ag

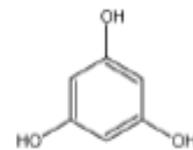
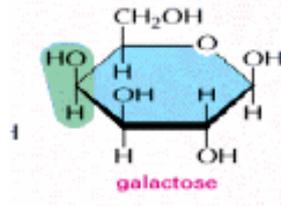
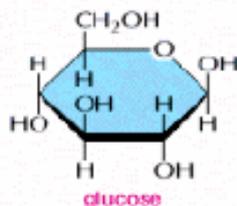
thymo-indépendant : les lipopolysaccharides des endotoxines, le polysaccharide du pneumocoque, la flagelline, le dextrane...



**Figure 4 :** réponse des lymphocytes B aux Ag thymo-dépendants (à droite) et thymo- indépendants (à gauche)

## Spécificité antigénique

- En fixant, en position para, sur un noyau phénol un résidu glucose et sur un autre noyau phénol un résidu galactose, on obtient 2 haptènes (H1 et H2) qui se ressemblent énormément : sont quasiment identiques
- Et pourtant le système immunitaire va pouvoir distinguer entre les 2 en produisant 2 types d'Ac ≠ : anti-H1 et anti-H2



- 

## Spécificité Antigénique

- 2 groupes d'animaux (souris ou lapins..) sont immunisés par le même haptène H1 fixé sur une protéine porteuse différente pour chaque groupe : OA et SA
- Les immuns sérums (IS) de chaque groupe sont testés in-vitro avec chacune des protéines porteuses seule et avec l'haptène
- Quand elle a lieu, la réaction Ag-Ac se traduit par une précipitation visible à l'œil nu
- Les résultats des 4 cases + et - prouvent que :
- les Ac anti-haptène sont ≠ des Ac anti-protéine porteuse

**Tableaux 1 et 2 : Notion de spécificité antigénique**

Réaction de précipitation de l'immun-sérum anti-haptène-protéine porteuse avec l'haptène et/ou la protéine porteuse ayant servi à l'immunisation ou leurs homologues de structure très proche (+ : indique une précipitation).

**Tableau 1**

Ag Ac	SA	OA	H1 . SA	H1 . OA
IS anti-H1.SA	+	-	++	+
IS anti-H1.OA	-	+	+	++

IS : immun-sérum      S.A : sérum albumine bovine      O.A : ovalbumine  
 H : haptène  
 H1 : para-aminophényl-glucoside  
 H2 : para-aminophényl-galactoside

**Tableau 2**

IS épuisé par Ag X : adsorbé sur Ag X : duquel on a enlevé les Ac spécifiques de l'Ag X  
 Les Ac anti-H1 sont différents des Ac anti-H2

Ag Ac	SA	SA.H1	SA.H2	H1.SA.H2
IS anti-H1.SA.H2	+	++	++	+++
IS anti-H1.SA.H2 Epuisé par SA	-	+	+	++
IS anti-H1.SA.H2 Epuisé par SA.H1	-	-	+	+
IS anti-H1.SA.H2 Epuisé par SA.H2	-	+	-	+

## Spécificité Antigénique

- Sur la même protéine porteuse (SA), on fixe les 2 haptènes qui se ressemblent tellement : H1 et H2 et on immunise avec des animaux (souris ou lapins..)
- L'IS anti- H1-SA-H2 ainsi obtenu est testé in-vitro avec la SA seule, couplée avec H1, avec H2 et avec les 2 H
- Les mêmes Rx Ag-Ac sont ensuite reproduites successivement avec l'IS adsorbé sur la SA, et sur chacun des complexes SA-H1, SA-H2 et H1-SA-H2
- Les résultats des 4 cases + et - prouvent que :
- les Ac anti-haptène H1 sont ≠ des Ac anti-haptène H2

# LES CELLULES DE L'IMMUNITE NON SPECIFIQUE

Pr Hatem MASMOUDI

## Objectifs éducationnels

---

1. Citer les différentes cellules de l'immunité non spécifique
  2. Préciser la répartition sanguine et tissulaire des cellules de l'immunité non spécifique
  3. Décrire les propriétés et les fonctions des cellules phagocytaires
  4. Décrire les caractéristiques cytomorphologiques et fonctionnelles des cellules NK
  5. Définir la notion de cellule Killer
  6. Enumérer les cellules Killer et décrire leurs fonctions
  7. Citer les cellules non phagocytaires et non cytotoxiques de l'immunité non spécifique en précisant leurs fonctions
  8. Décrire les récepteurs de l'immunité innée
- 

## I- Introduction

Contrairement aux lymphocytes B et T, les cellules de l'immunité non spécifique ou naturelle n'ont pas de récepteur spécifique pour l'antigène (pas d'Ig membranaire ni de TCR et donc pas de mémoire de l'antigène) et sont incapables de proliférer en périphérie (à l'exception d'une sous-population de cellules NK). Disponibles en grand nombre avant toute immunisation, elles peuvent agir rapidement par l'un et/ou l'autre des 3 mécanismes suivants :

- phagocytose
- cytotoxicité
- libération de médiateurs de l'inflammation aiguë

Les cellules de l'immunité non spécifique (ou naturelle) sont les polynucléaires neutrophiles (PNN) et éosinophiles (PNE), les cellules monocyto-macrophagiennes (M $\phi$ ) et les cellules NK ("Natural Killer"). Accessoirement, les polynucléaires basophiles (PNB), les mastocytes et les plaquettes participent aux défenses immunitaires non spécifiques. Comme les lymphocytes, ces cellules dérivent toutes de cellules souches hématopoïétiques.

## II- Les cellules phagocytaires

### A) Propriétés et fonctions communes aux cellules phagocytaires

#### 1) Origine

Les cellules phagocytaires (PNN et M $\phi$ ) dérivent d'un précurseur médullaire commun (CFU-GM) dont la détermination à partir de la cellule souche myéloïde dépend du GM-CSF ("Granulocyte Monocyte Colony Stimulating Factor"). Deux autres cytokines, le G-CSF et le M-CSF, sont respectivement impliquées dans la différenciation des précurseurs unipotents des granulocytes et des monocytes à partir des précurseurs bipotents de type CFU-GM (Figure 1).

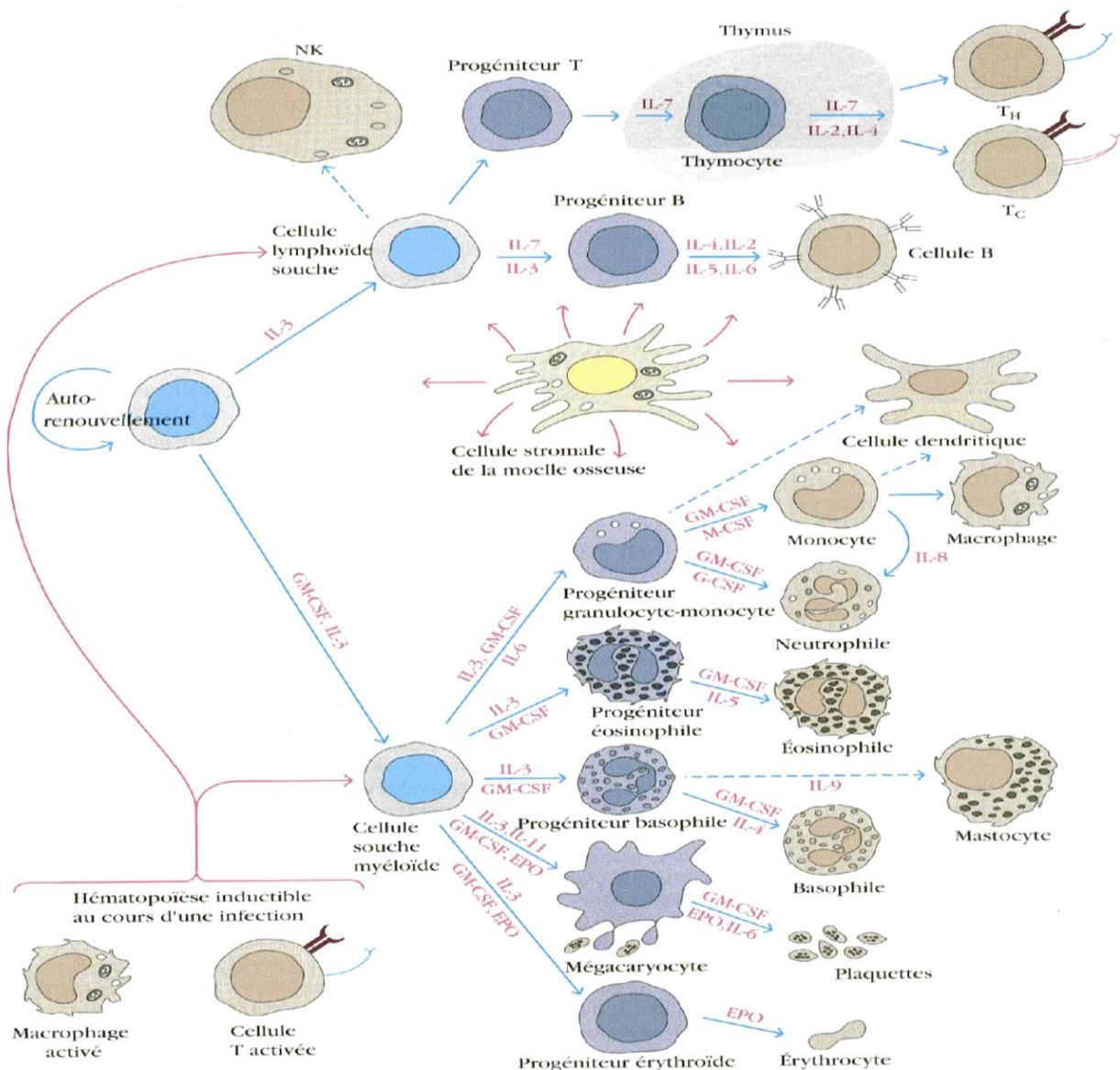


Figure 1 : Cellules de l'immunité, précurseurs et cytokines impliquées dans leur différenciation

## **2) Adhésivité**

In vivo, les cellules phagocytaires adhèrent aux cellules endothéliales et aux bactéries. In vitro, elles adhèrent aux surfaces de verre et de plastique.

L'adhésivité des cellules phagocytaires aux cellules de l'endothélium vasculaire est indispensable au processus de diapédèse (migration à travers la paroi vasculaire vers les tissus périphériques) et constitue une étape essentielle dans l'initiation et le développement de la réaction inflammatoire. Elle fait intervenir tout un ensemble de molécules d'adhésion telles que la sélectine L (ou CD62L) et l'intégrine LFA-1 (CD11a/CD18) exprimées à la surface des cellules phagocytaires et qui interagissent respectivement avec les molécules CD34 et ICAM-1 (ou CD54) sur l'endothélium vasculaire. L'importance de ces protéines d'adhésion dans l'immunité anti-infectieuse est démontrée par la gravité des déficits immunitaires héréditaires par défaut d'expression des molécules d'adhésion leucocytaire ou LAD (LAD1 : déficit portant sur l'expression des  $\beta$ 2 intégrines, LAD2 : déficit portant sur les sélectines).

L'adhésivité aux bactéries est indispensable à la phagocytose. Elle fait intervenir des récepteurs pour les lectines de la paroi bactérienne tels que le MFR ("Mannosyl-Fucosyl-Receptor") et le CD14 (récepteur pour le complexe LPS – LPS-Binding protein).

## **3) Mobilité**

Les phagocytes sont des cellules extrêmement mobiles caractérisées par leur capacité à former des pseudopodes et de quitter les vaisseaux sanguins (diapédèse) pour accéder très vite au site de l'infection. En l'absence de stimulus, le déplacement des cellules phagocytaires se fait au hasard dans toutes les directions. En présence de certains agents dits chimiotactiques tels que des peptides d'origine bactérienne, des cytokines de la famille de l'interleukine 8 (IL8, MCP-1...), l'anaphylatoxine C5a libérée lors de l'activation du complément, le leucotriène B4 (LTB4) ou le PAF (facteur d'agrégation plaquettaire), la mobilité des phagocytes est considérablement accrue et devient orientée en direction de l'agent stimulant.

#### **4) La phagocytose**

La phagocytose désigne la faculté qu'ont certaines cellules de capter, internaliser et, dans la majorité des cas, dégrader des particules inertes ou viables d'une taille  $\geq$  100 nm. Cette variété d'endocytose est désignée pinocytose pour les substrats de taille  $<$  100 nm. Chez les mammifères, la fonction de phagocytose est partagée par deux variétés de leucocytes : les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les monocytes-macrophages ( $M\phi$ ).

La phagocytose se déroule en trois étapes :

- 1- adhésion de la cellule phagocytaire au substrat à phagocyter,
- 2- ingestion ou internalisation du substrat à l'intérieur d'un phagosome,
- 3- fusion phagosome-lysosome aboutissant généralement à la destruction (ou dégradation) du substrat phagocyté. Certains micro-organismes peuvent toutefois persister et/ou se multiplier à l'intérieur du phagocyte par résistance et/ou échappement à ses effecteurs microbicides.

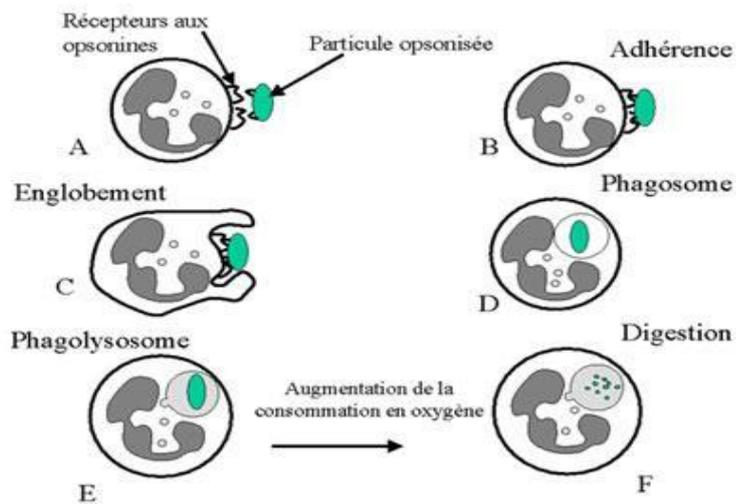
La phagocytose est grandement facilitée par l'**opsonisation** ("opsonen" en grec: préparer la nourriture) préalable de la particule ou du micro-organisme à phagocyter par des Ac spécifiques de classe IgG et/ou par des fractions du complément (C3b, C4b ou C3bi). En effet, les cellules phagocytaires expriment à leur surface chacun des trois récepteurs pour le fragment Fc des IgG (Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII et Fc $\gamma$ RIII), ainsi que le récepteur pour le C3b et le C4b (C3b-R ou CR1), et les récepteurs pour le C3bi (C3bi-R : CR3 et CR4).

L'opsonisation renforce l'adhésion de la cellule phagocytaire au substrat et facilite son ingestion et sa dégradation (fusion phagosome-lysosome). (Figure 2)

#### **Les systèmes moléculaires effecteurs de l'activité lytique des cellules**

phagocytaires relèvent de 2 types de mécanismes :

- mécanismes oxygène-dépendants faisant intervenir l'explosion respiratoire, processus métabolique aboutissant à la génération de radicaux oxygénés libres toxiques (anion superoxyde  $O_2^-$ , radical hydroxyle  $OH^\cdot$ , peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée  $H_2O_2$ ..) à partir de l'oxygène moléculaire par le complexe NADPH-oxydase. Avec les ions chlorure, le peroxyde d'hydrogène est converti en  $ClO^\cdot$  ou



*Figure 2:  tapes successives de la phagocytose*

hypochlorite, agent actif du blanchiment ménager hautement toxique pour les microbes. D'un autre côté, l'oxyde nitrique NO, puissant agent antimicrobien produit par la NO-synthétase à partir de l'arginine et de l'oxygène moléculaire en présence de NADPH, peut se combiner avec l'anion super oxyde et les radicaux hydroxyles pour donner des substances antimicrobiennes encore plus puissantes.

- mécanismes indépendants de l'oxygène et faisant intervenir l'acidification de la vacuole de phagocytose et surtout l'activité lytique des enzymes microbicides (lysozyme et autres hydrolases, élastase, cathepsine G et autres protéases), d'une part, et le pouvoir bactéricide, indépendant de leur éventuelle activité enzymatique, des protéines cationiques encore appelées protéines antibiotiques (défensines, cathepsine G..), d'autre part.

L'importance de la NADPH-oxydase et des radicaux oxygénés toxiques qu'elle génère dans l'immunité anti-infectieuse est démontrée par la gravité des infections bactériennes répétées observées chez les enfants atteints de granulomatose septique chronique ou CGD : affection héréditaire liée à un déficit génétique fonctionnel de la NADPH-oxydase (tableau 1).

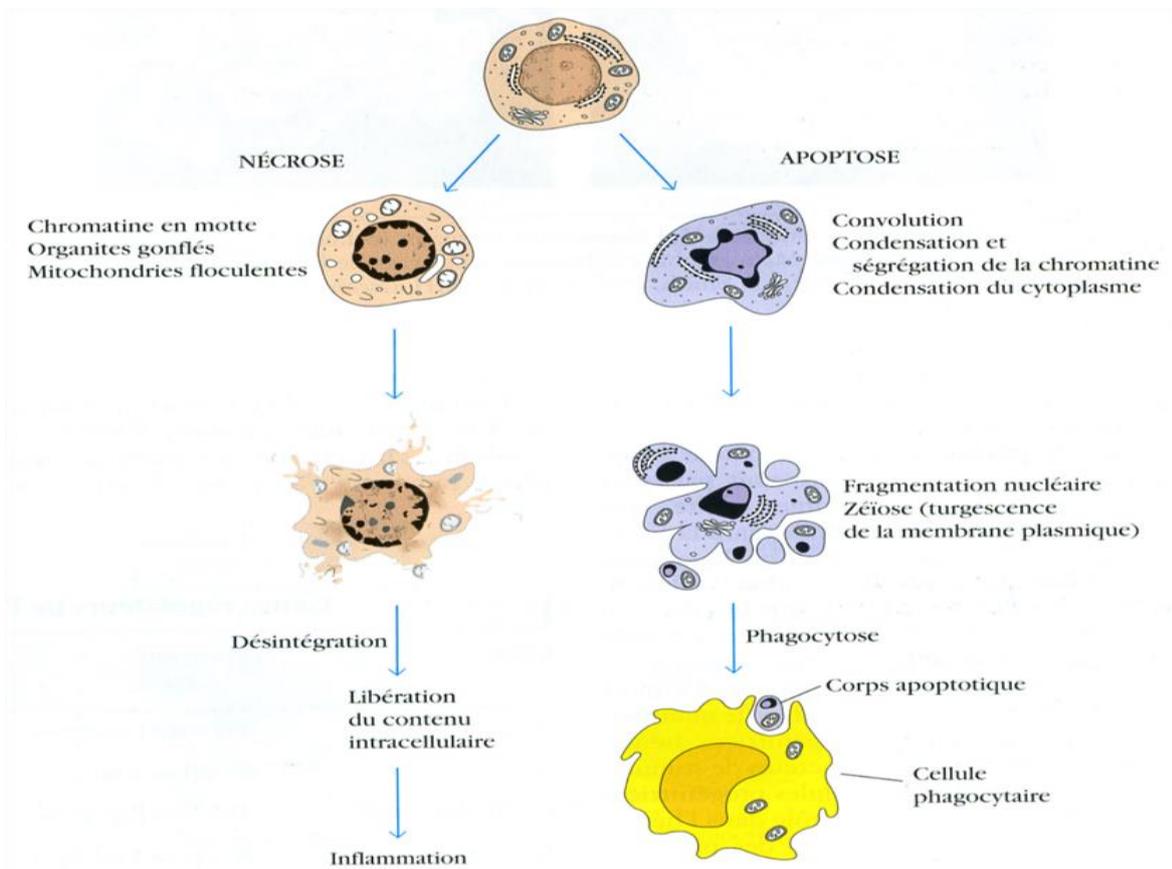
### 5) La cytotoxicité

La cytotoxicité désigne la capacité qu'ont certaines cellules de lyser d'autres cellules ou des micro-organismes sans les internaliser (il n'y a pas de phagocytose) : la cellule cytotoxique vient au contact du micro-organisme ou de la

cellule cible et déverse en sa direction le contenu lytique (lysozyme, enzymes hydrolytiques et radicaux oxygénés toxiques pour ce qui est des granulocytes et des monocytes, granzymes et perforines pour les cellules NK) de ses granules intracytoplasmiques ce qui aboutit à la lyse osmotique de la cellule cible et sa mort par un mécanisme de nécrose.

**Tableau 1 : Médiateurs de l'activité antimicrobienne et cytotoxique des macrophages et des neutrophiles**

Microbicidie dépendante de l'oxygène	Microbicidie indépendante de l'oxygène
Intermédiaires réactifs dérivés de l'oxygène	Défensines
$O_2^-$ (anion superoxyde)	Facteur de nécrose tumorale $\alpha$ (macrophage seulement)
$OH^\cdot$ (radicaux hydroxyle)	Lysozyme
$H_2O_2$ (peroxyde d'hydrogène)	Enzymes hydrolytiques
$ClO^-$ (anion hypochlorite)	
Intermédiaires réactifs dérivés de l'azote	
NO (oxyde nitrique)	
$NO_2$ (dioxyde d'azote)	
$HNO_2$ (acide nitreux)	
Autres	
$NH_2Cl$ (monochloramine)	



**Figure 3 : Comparaison des changements morphologiques qui apparaissent dans l'apoptose et la nécrose**

La cytotoxicité est une fonction partagée par les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, les M $\phi$ , les cellules NK et les lymphocytes T cytotoxiques (CTL). Les macrophages, les cellules NK comme les CTL, peuvent exercer leur effet cytotoxique par un autre mécanisme appelé apoptose et où la cellule cytotoxique ne fait que transmettre un message de mort qui est exécuté par la cellule cible. La fixation du médiateur produit par la cellule cytotoxique (ex : TNF $\alpha$ , Fas-Ligand...) sur son récepteur membranaire (TNF $\alpha$ -R, Fas..) exprimé à la surface de la cellule cible déclenche l'activation des caspases et une cascade de réactions biochimiques complexes aboutissant à la fragmentation de l'ADN avec diminution importante du volume nucléaire et cytoplasmique et mort de la cellule par apoptose (Figure 3).

## **B) Les polynucléaires neutrophiles**

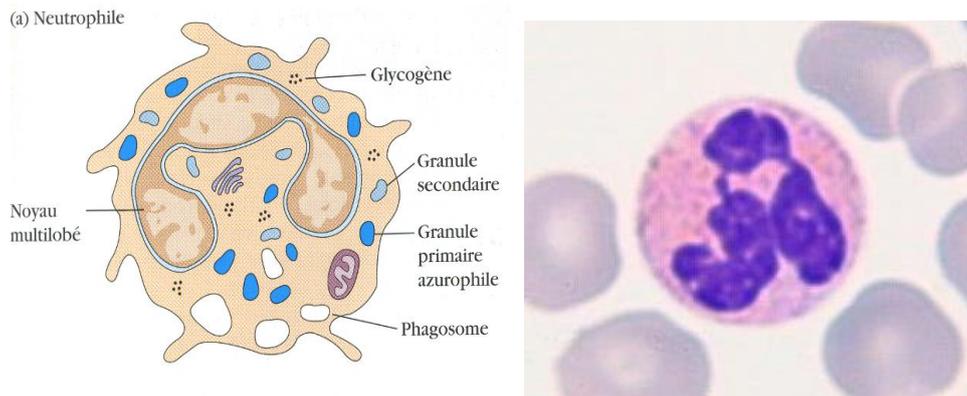
Les polynucléaires sont des cellules de 12 à 15  $\mu$ m (microns) de diamètre auxquelles la possession d'un noyau polylobé a valu la dénomination erronée de polynucléaires. Leur cytoplasme contient de nombreuses granulations d'où l'autre appellation souvent utilisée pour désigner ces cellules : granulocytes.

Selon la coloration de leurs granules intracytoplasmiques les polynucléaires ou granulocytes sont répartis en 3 types distincts :

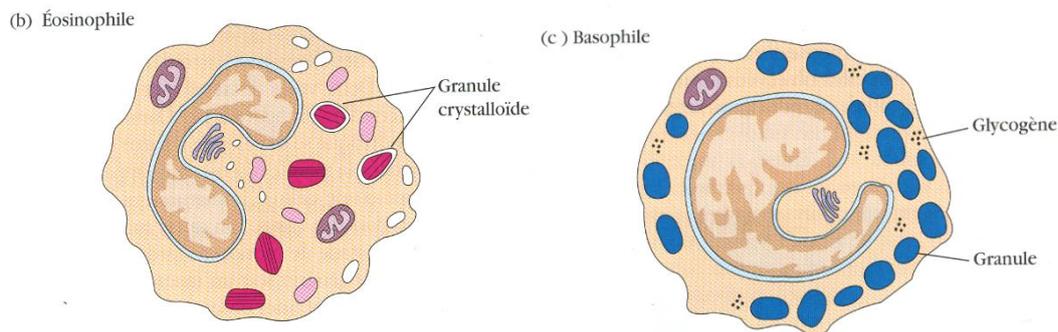
- polynucléaires neutrophiles (PNN) : cellules phagocytaires et cytotoxiques
- polynucléaires éosinophiles (PNE) : cellules cytotoxiques
- polynucléaires basophiles (PNB) : interviennent avec les mastocytes dans

les réactions d'hypersensibilité immédiate médiées par les IgE.

Les PNN représentent 50 à 70 % des leucocytes circulants et plus de 90 % des polynucléaires circulants. En cas d'infection ou de réaction inflammatoire, les PNN sont les premières cellules à arriver sur place par diapédèse. Leur durée de vie est courte de 2 à 3 jours seulement. Ils interviennent dans les infections aiguës dues à des germes à multiplication extracellulaire.



**Figure 4 :** Polynucléaire neutrophile : schéma morphologique et aspect en microscopie optique



**Figure 5 :** schémas morphologiques des polynucléaires éosinophile et basophile

### C) Les monocytes-macrophages ou phagocytes mononucléés

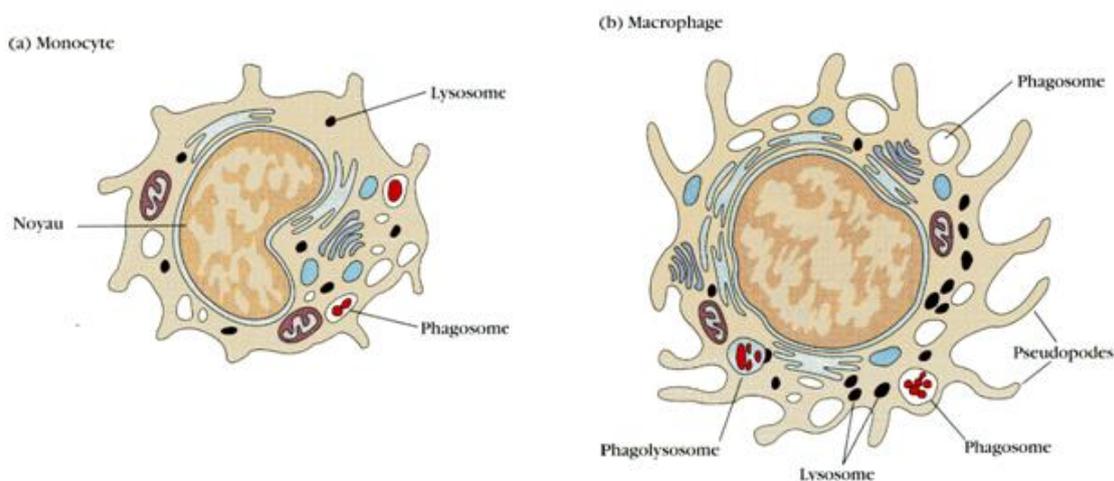
Les macrophages tissulaires forment un réseau auquel on associe les polynucléaires et les cellules endothéliales pour désigner le système réticulo-endothélial en raison de la capacité de ces cellules à fixer les colorants vitaux. Actuellement, on préfère parler des phagocytes mononucléés pour désigner les monocytes circulants et les macrophages tissulaires qui en dérivent.

Les monocytes représentent 4 à 8 % des leucocytes circulants. Ce sont des cellules de 10 à 18  $\mu\text{m}$  de diamètre avec un noyau habituellement en fer à cheval et de nombreuses granulations intracytoplasmiques.

Les monocytes ne restent que quelques heures dans le sang circulant. Ils migrent ensuite rapidement vers les différents tissus et organes et entreprennent sur place une différenciation en macrophages tissulaires (cellules bien plus volumineuses et plus actives que les monocytes circulants) adoptant parfois des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles spécifiques du tissu ou de l'organe où ils ont élu

domicile. Ainsi, l'histiocyte du tissu conjonctif, la cellule de Kupffer du foie, les cellules microgliales du cerveau, les cellules mésangiales du rein, les ostéoclastes, les macrophages spléniques, alvéolaires, pleuraux, péritonéaux etc., sont des cellules plus ou moins différentes les unes des autres mais qui dérivent toutes du monocyte circulant.

L'aspect des macrophages diffère selon leur localisation mais aussi selon leur état : résident, inflammatoire ou activé. En effet, les fonctions du macrophage et en particulier la bactéricide sont fortement augmentées après activation par les cytokines produites par les lymphocytes T helper CD4<sup>+</sup> spécifiques de l'Ag. En cas d'activation prolongée, les macrophages peuvent eux-mêmes se transformer en cellules épithélioïdes puis en cellules géantes multinucléés.



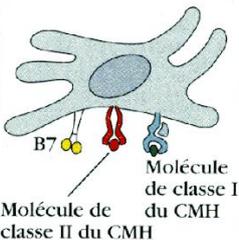
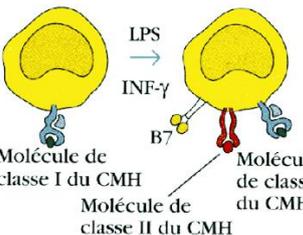
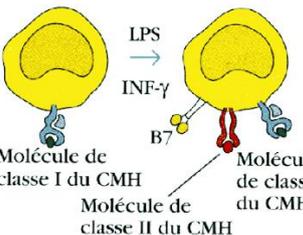
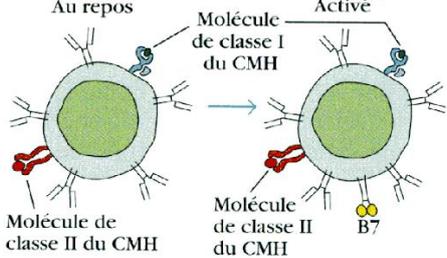
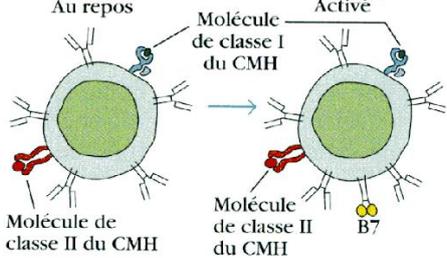
**Figure 6 :** Monocyte et macrophage : schémas et image microscopique

La durée de vie des phagocytes mononucléés est bien plus longue que celle des PNN : de plusieurs semaines à plusieurs mois. Ils interviennent surtout dans les infections chroniques dues à des germes à multiplication intracellulaire.

Le rôle et les fonctions des macrophages débordent largement des limites de la phagocytose et de la détoxification qui leurs avaient été assignées à l'origine pour s'étendre à de nombreuses autres fonctions telles que :

- la sécrétion de nombreuses cytokines : IL1, IL6, IL8, IL12, INF $\alpha$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF...

- la synthèse de médiateurs de l'inflammation aiguë : PAF, leucotriènes (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>) et prostaglandines (PGE<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>),
- la production des principaux facteurs du complément et de la coagulation et de nombreuses autres protéines plasmatiques (transferrine, α<sub>2</sub>-macroglobuline...),
- la digestion des chylomicrons et le métabolisme lipidique,
- le catabolisme des Ig et des complexes immuns,
- l'élimination des globules rouges sénescents et des lymphocytes qui meurent par apoptose dans les organes lymphoïdes primaires et secondaires et surtout
- la présentation de l'Ag aux lymphocytes T CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, les Mφ exprimant à leur surface les molécules HLA classe II

	Cellule dendritique	Macrophage		Lymphocyte B	
		Au repos	Activé	Au repos	Activé
					
Capture de l'antigène	Endocytose Phagocytose (par les cellules de Langerhans)	Phagocytose	Phagocytose	Endocytose médiée par un récepteur	Endocytose médiée par un récepteur
Expression des molécules de classe II du CMH	Constitutive (+++)	Inductible (-)	Inductible (++)	Constitutive (++)	Constitutive (+++)
Activité de costimulation	Constitutive (B7) (+++)	Inductible (B7) (-)	Inductible (B7) (++)	Inductible (B7) (-)	Inductible (B7)
Activation des cellules T	Cellules T naïves Cellules T effectrices Cellules T à mémoire	(-)	Cellules T effectrices Cellules T à mémoire	Cellules T effectrices Cellules T à mémoire	Cellules T naïves Cellules T effectrices Cellules T à mémoire

**Figure 7 : Propriétés des cellules présentatrices de l'antigène**

Ainsi, et en plus d'être un effecteur cellulaire essentiel de l'immunité non spécifique avec ses activités de phagocytose, de cytotoxicité et de libération de médiateurs de l'inflammation aiguë, le Mφ participe activement aux réponses immunitaires spécifiques en présentant l'Ag aux lymphocytes T helper CD<sub>4</sub><sup>+</sup> et en étant la principale cellule effectrice des réactions d'hypersensibilité retardée

(HSR), recrutée et activée sur place par le lymphocyte T helper. De plus, et avec les nombreuses cytokines qu'il produit, le macrophage participe à la régulation des réponses immunitaires.

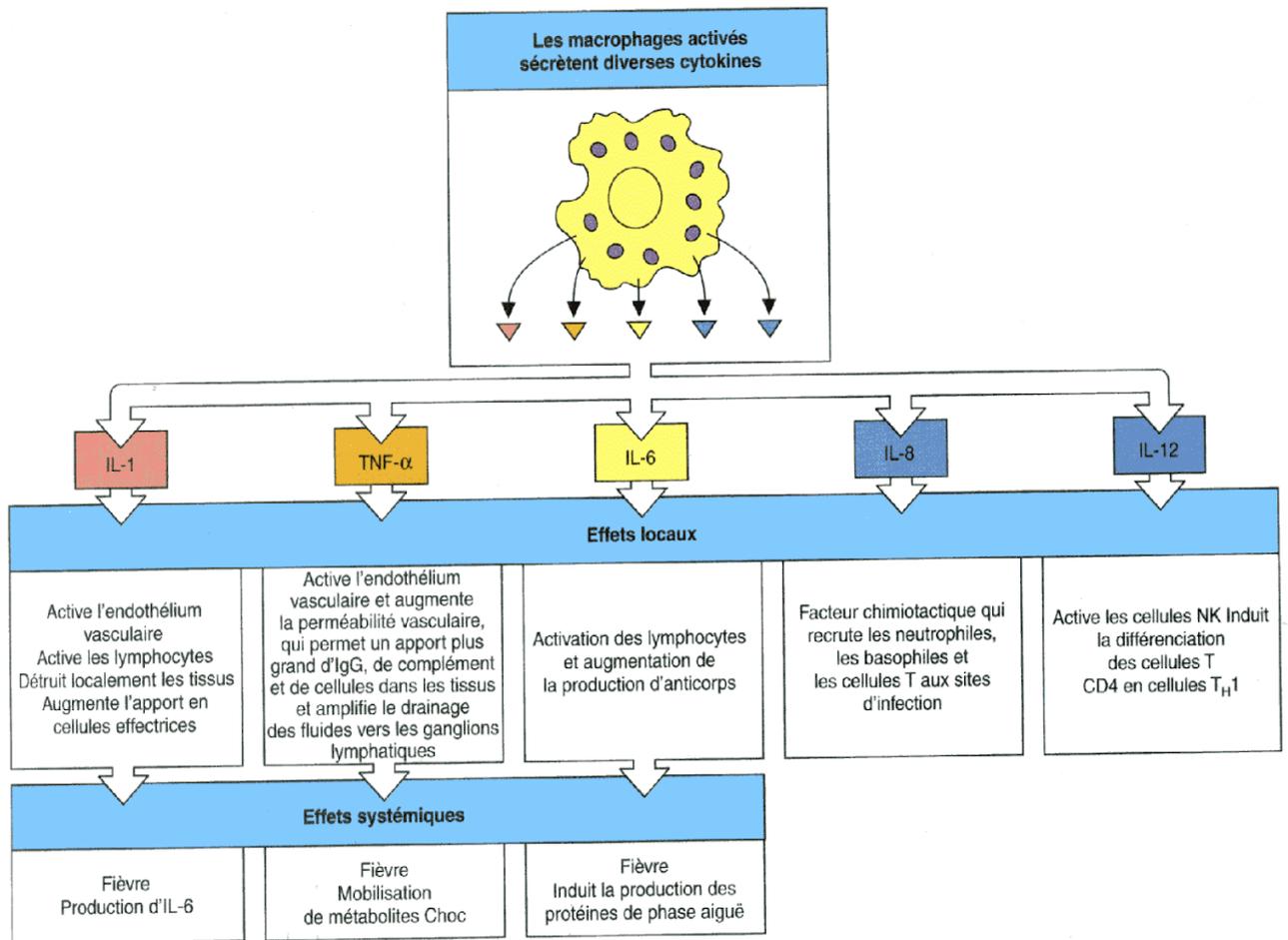


Figure 8 : cytokines sécrétées par les macrophages : effets locaux et systémiques

### III- Les polynucléaires éosinophiles

Les PNE représentent 1 à 4 % des leucocytes circulants. Leur taux augmente en cas de parasitose ou d'allergie. Les PNE du sang circulant ne représentent qu'environ 5% du pool total de PNE. Les PNE sont des cellules cytotoxiques qui agissent en libérant le contenu lytique de leurs granules intracytoplasmiques dans le milieu extracellulaire contre des cibles trop importantes pour être ingérées : vers, schistosomes...

Les PNE sont dotés d'un récepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (Fc $\epsilon$ RII = CD23) et du récepteur de moyenne affinité pour le fragment Fc des IgG (Fc $\gamma$ RII = CD32), ce qui leur permet d'agir aussi comme cellule K (ou

"killer") par cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ou ADCC) et de jouer ainsi un rôle important dans l'immunité antiparasitaire et plus particulièrement anti-helminthes.

Les PNE se différencient dans la moelle osseuse à partir d'un pro géniteur propre d'origine myéloïde sous l'effet de l'IL5.

#### **IV- Les cellules NK ou "Natural Killer"**

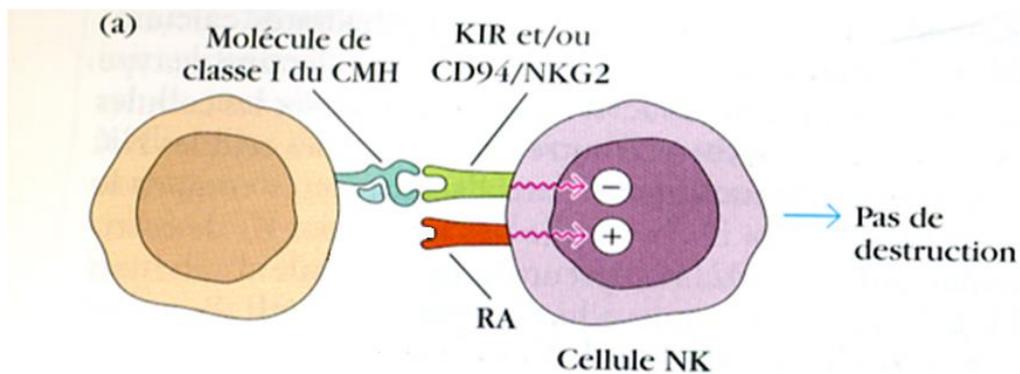
Les cellules NK (cellules tueuses naturelles) sont des cellules cytotoxiques qui tuent de façon non spécifique les cellules tumorales et les cellules infectées par des virus. L'essentiel de l'activité NK est assuré par les lymphocytes granuleux larges ou LGL qui représentent 5 à 10 % du total des lymphocytes à la numération formule sanguine (NFS).

Ce sont des cellules au même aspect que les petits lymphocytes au repos, mais de taille plus grande avec un cytoplasme bien plus développé et contenant de très nombreuses granulations. En dépit de leur ressemblance aux lymphocytes, ce ne sont ni des lymphocytes B (pas d'Ig membranaire ni de CD19 ou CD20) ni des lymphocytes T (pas de TCR ni de CD3) d'où leur ancienne dénomination de lymphocytes non B-non T ou encore de lymphocytes nuls. Les cellules NK expriment le récepteur Fc $\gamma$  d'affinité intermédiaire ou CD16 (Fc $\gamma$ -RIII), la molécule d'adhésion CD56 ou NKH1, le CD161 ou NK1.1 et des "killer cells Ig-like receptors" ou KIR. Comme les neutrophiles et les monocytes-macrophages, les cellules NK expriment les molécules d'adhésion CD11a/CD18 ou LFA-1 (exprimée sur la majorité des cellules lymphoïdes et myéloïdes), CD11b/CD18 ou CR3 et CD11c/CD18 ou CR4 (3 intégrines qui partagent la même chaîne  $\beta$  de 95 kDa : CD18).

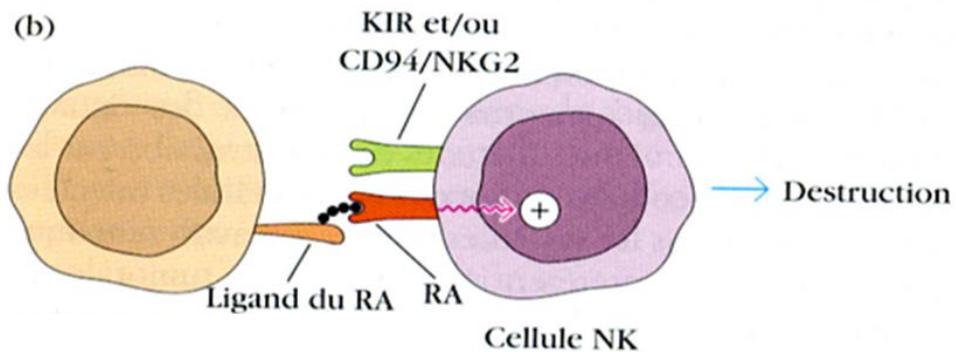
La majorité des cellules NK expriment, comme les lymphocytes T, la molécule de co-activation CD2 (ligand de LFA3 ou CD58).

La question du mode de reconnaissance des cellules cibles (à tuer) et de la distinction entre le soi et le non-soi par les cellules NK semble aujourd'hui résolue. Il est bien établi que le déclenchement de l'activité lytique des cellules NK résulte de l'interaction (la reconnaissance) de leurs récepteurs activateurs (tels que

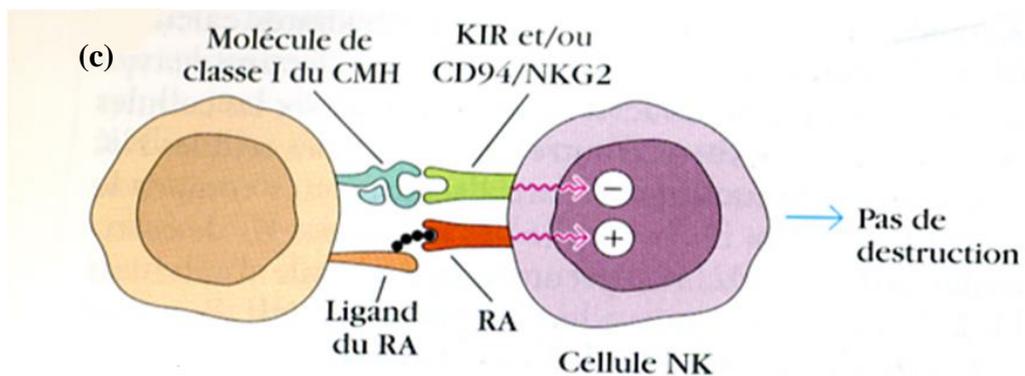
NKG2D, NKG2C) avec les ligands correspondants habituellement exprimés sur la membrane des cellules transformées (cancéreuses ou infectées par des virus) et ce en l'absence de signaux inhibiteurs. En effet, lorsque la cellule cible en face de la cellule NK est une cellule du soi normale qui exprime les molécules HLA classe I et/ou classe I like ou d'autres molécules communes du soi, l'interaction de ces molécules avec les récepteurs inhibiteurs correspondants (KIR, NKG2A...) à la surface de la cellule NK transmet un signal inhibiteur qui empêche toute activation de la cellule NK (les signaux inhibiteurs sont en règle dominants par rapport aux signaux activateurs).



Signal inhibiteur seul sans signal activateur



Signal activateur seul sans signal inhibiteur



Signal activateur et signal inhibiteur

**Figure 9 :** *Modèle de signaux opposés montrant comment l'activité cytotoxique des cellules NK est limitée aux cellules du soi altéré n'exprimant pas les molécules HLA classe I :*

- (a) Il s'agit d'une cellule normale du soi, les molécules HLA de classe I (et/ou d'autres molécules ubiquitaires du soi) présentes à la surface de la cellule du soi sont reconnues par les récepteurs inhibiteurs de la cellule NK ou KIR ("Killing Inhibitory Receptors") : la cellule NK ne tue pas, il n'y a pas de destruction de la cellule du soi normale
- (b) Il s'agit d'une cellule du soi transformée (cellule infectée par un virus ou cellule tumorale) : les néo-antigènes (d'origine virale ou de cancer) sont reconnus par les récepteurs activateurs (RA) ou KAR ("Killing Activating Receptors"). En l'absence de molécule HLA de classe I et donc de signal inhibiteur, la cellule NK est activée et tue cette cellule, il y aura donc destruction de la cellule du soi transformée
- (c) Lorsque la cellule NK reçoit en même temps les 2 signaux, activateur et inhibiteur, elle ne tue pas, le signal inhibiteur étant dominant par rapport au signal activateur. Il peut s'agir dans ce cas d'une cellule cancéreuse ou d'une cellule infectée par un virus qui exprime donc des néo-antigènes (signal activateur) tout en continuant à exprimer les molécules HLA classe I et/ou d'autres molécules ubiquitaires du soi (signal inhibiteur)

Comme les lymphocytes T cytotoxiques, les cellules NK peuvent exercer leur effet de cytolyse par exocytose granulaire (granzymes, perforines...) ou par apoptose (TNF $\alpha$ ...). L'activité cytotoxique des cellules NK est exaltée par les INF  $\alpha$  et  $\beta$ , le TNF $\beta$ , l'IL12 et l'IL15.

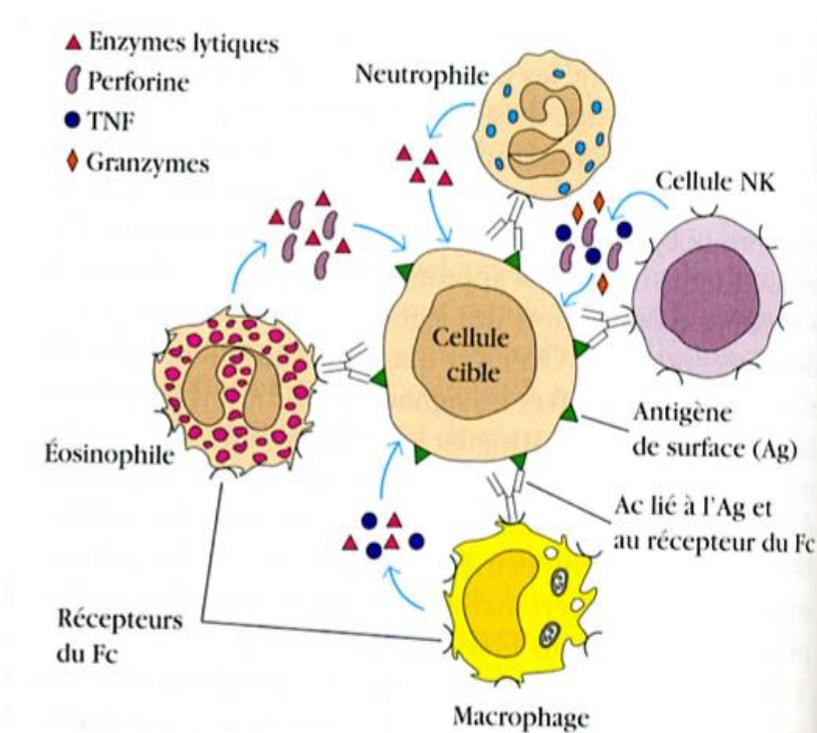
A côté des cellules NK tueuses classiques, on distingue une sous-population minoritaire de cellules NK productrices de cytokines et capables de prolifération en périphérie (comme les lymphocytes B et T). Ces cellules non tueuses expriment le CD56 à forte densité (CD56<sup>high</sup>), la chaîne  $\alpha$  du récepteur à l'IL2 ou CD25 et produisent de nombreuses cytokines : INF $\gamma$ , TNF $\alpha$  et  $\beta$ , IL10, IL3, GM-CSF...

Les cellules NK se différencient dans la moelle osseuse vraisemblablement à partir de précurseurs lymphoïdes communs sous l'influence de l'IL15.

### **V- Notion de cellules K ou "killer" :**

Les cellules K ou "killer" sont les cellules responsables de la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante ou ADCC. Il s'agit d'une fonction, l'ADCC, qui peut être exercée par différents types cellulaires : cellules NK, monocytes macrophages, PNN, PNE. Le point commun de toutes ces cellules et qui définit les cellules K est

que ce sont des cellules cytotoxiques dotées de récepteurs membranaires pour le fragment Fc des IgG (Fc $\gamma$ -RI, RII ou RIII), des IgE (Fc $\epsilon$ -RII) et/ou des IgA (Fc $\alpha$ -RI). Les cellules K peuvent ainsi tuer des cellules cibles ou des micro-organismes sur lesquels sont fixés des Ac spécifiques de classe IgG, IgE ou IgA. Grâce à leur récepteur Fc $\gamma$ -RIII (CD16), les cellules NK assurent une grande partie de l'activité de type K ou ADCC.



*Figure 10 : Cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps (ADCC)*

## **VI- Les basophiles et les mastocytes :**

Les PNB et les mastocytes sont des cellules non phagocytaires et non cytotoxiques. Elles participent aux réponses immunitaires naturelles grâce à leur capacité de produire en abondance de nombreux médiateurs de l'inflammation aiguë : histamine (stockée dans les granules intracytoplasmiques), prostaglandines (PG) et leucotriènes (LT). Elles jouent surtout un rôle clé dans les réactions d'hypersensibilité immédiate (HSI) grâce à leur récepteur membranaire de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (Fc $\epsilon$ -RI).

Les basophiles et les mastocytes se différencient dans la moelle osseuse vraisemblablement à partir d'un précurseur commun (d'origine myéloïde) que l'IL4 oriente vers la lignée basophile et l'IL9 vers la lignée mastocytaire. Les PNB restent dans le sang circulant tandis que les mastocytes gagnent rapidement les tissus périphériques où ils parachèvent leur maturation en mastocytes muqueux (muqueuses intestinale, broncho alvéolaire...) ou en mastocyte tissulaire (tissus conjonctifs).

## VII- Les Cellules dendritiques

La cellule dendritique tire son nom du fait qu'elle est couverte d'un écheveau de longues extensions membranaires qui ressemblent aux dendrites des cellules nerveuses (Figure 11) . La plupart des cellules dendritiques appréhendent l'antigène et le présentent aux cellules T<sub>H</sub>. Ces cellules peuvent être classées en fonction de leur localisation :

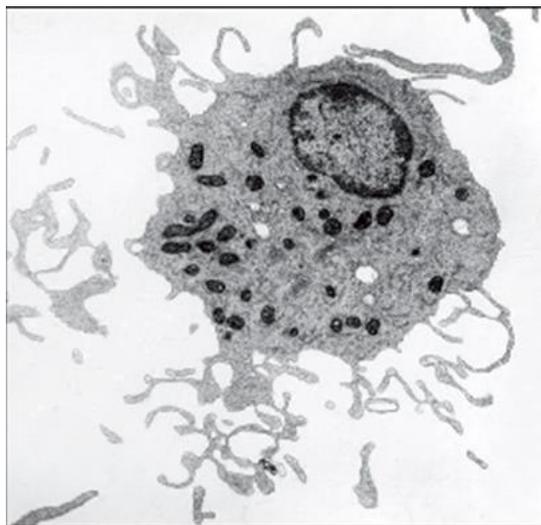
- Les cellules de Langerhans, rencontrées dans l'épiderme et les muqueuses ;
- Les cellules dendritiques interstitielles, qui peuplent la plupart des organes (cœur, poumons, foie, reins, tractus gastro-intestinal) ;
- Les cellules dendritiques inter digitées présentes dans les zones T du tissu lymphoïde secondaire et de la médullaire thymique ;
- Les cellules dendritiques circulantes qui incluent les cellules du sang, représentant 0,1% des leucocytes sanguins, et celles de la lymphe (connues sous le nom de cellules voilées).

Les cellules dendritiques, dans leurs différentes localisations, ont des formes et des fonctions différentes. En dépit de leurs différences, toutes expriment de façon constitutive des taux élevés de molécules de classe II du CMH et de membres de la famille de costimulation B7. Pour cette raison, ce sont des cellules présentatrices de l'antigène plus puissantes que les macrophages et les cellules B qui nécessitent toutes deux d'être activées avant de fonctionner comme cellules présentatrices de l'antigène (ou APC : "*antigen-presenting cells*"). Après avoir capté l'antigène dans les tissus par phagocytose ou endocytose, les cellules dendritiques migrent dans le

sang ou la lymphe et circulent en direction des différents organes lymphoïdes où elles présentent l'antigène aux lymphocytes T.

Les cellules dendritiques descendent des cellules souche hématopoïétiques par la lignée myéloïde. La ou les voies exactes prises par ces cellules sont encore en cours d'étude. Le problème majeur est de savoir si les cellules dendritiques appartiennent à la lignée monocyte/macrophage ou se développent à partir d'une lignée entièrement séparée.

Certaines observations suggèrent même que les macrophages matures et les cellules dendritiques pourraient être inter-convertibles. On pense que les différences morphologiques et fonctionnelles observées entre les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques intestinales, inter digitées ou circulantes reflètent des états de maturation différents des cellules, ainsi que les microenvironnements différents dans lesquels elles résident.



*Figure 11 : Aspect en microscopie optique d'une cellule dendritique*

Un autre type de cellule dendritique, la cellule dendritique folliculaire (FDC), semble avoir une origine et une fonction différentes des cellules dendritiques présentatrices de l'antigène décrites ci-dessus. Les FDC ("Follicular Dendritic Cells") n'expriment pas les molécules de classe II du CMH et, par conséquent, ne fonctionnent pas comme cellules présentatrices de l'antigène pour l'activation des cellules Th. Ces cellules dendritiques ont été dénommées ainsi en

raison de leur localisation exclusive dans les structures organisées des ganglions, appelées follicules lymphoïdes, qui sont riches en cellules B. Bien qu'elles n'expriment pas de molécules de classe II, les cellules dendritiques folliculaires expriment des taux élevés de récepteurs membranaires des anticorps et du complément. On pense que la liaison des complexes antigène-anticorps par ces récepteurs facilite l'activation des cellules B dans les ganglions et joue un rôle dans le développement des cellules B à mémoire dans le follicule.

### **VIII- Les récepteurs de l'immunité innée**

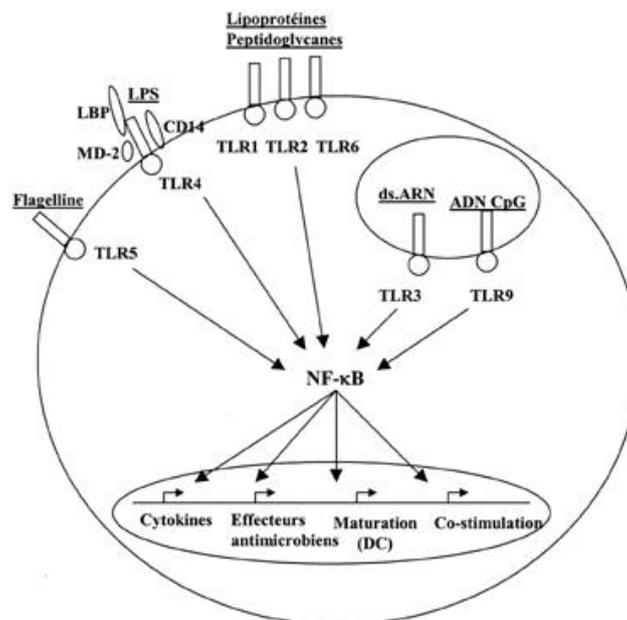
Bien que le système immunitaire naturel n'ait pas la spécificité étroite de l'immunité adaptative ni la mémoire immunologique qui est associée, il peut distinguer le soi du non-soi. Des motifs moléculaires réguliers et répétés sont habituellement présents à la surface des micro-organismes mais absents des cellules de l'hôte (acide lipotéichoïque des parois des bactéries Gram<sup>+</sup>, lipopolysaccharide de la membrane externe des bactéries Gram<sup>-</sup>, répétitions de dinucléotides CpG non méthylés de l'ADN bactérien, ARN double brin exprimé par les virus au cours de leur cycle vital...). Ces structures répétitives sont en général appelées « motifs moléculaires liés aux pathogènes » ou PAMP ("*Pathogen-Associated Molecular Patterns*") et les récepteurs qui les reconnaissent à la surface des macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques... « récepteurs de reconnaissance de motifs » ou **PRR** ("*Pattern Recognition Receptors*").

Contrairement aux récepteurs d'antigène des lymphocytes B et T, les récepteurs du système immunitaire inné ne sont pas distribués d'une manière clonale ; un assortiment donné de récepteurs est présent sur toutes les cellules de même type. Contrairement aux récepteurs d'antigène. La liaison des composants du pathogène par ces récepteurs suscite des réponses très rapides, qui deviennent opérationnelles sans le délai imposé par la nécessité pour les lymphocytes activés de proliférer et de se différencier au cours du développement d'une réponse immune adaptative. Les récepteurs du système d'immunité innée exercent plusieurs fonctions différentes. Beaucoup sont des récepteurs phagocytaires qui stimulent l'ingestion des pathogènes qu'ils reconnaissent. Certains sont des récepteurs chimiotactiques,

qui guident les cellules jusqu'au foyer infectieux. Une troisième fonction est l'induction de la production de molécules effectrices qui influencent le déclenchement et la nature de toute réponse immunitaire adaptative subséquente. Un de ces récepteurs est la lectine liant le mannose (**MBL**, "*Mannan-Binding Lectin*"), présente comme protéine libre dans le plasma sanguin et qui peut déclencher la voie du complément dite des lectines. Le pathogène est reconnu et distingué du soi par la MBL en raison d'une orientation et d'un espacement particuliers de certains de ses résidus glucidiques, disposition que l'on ne retrouve pas sur les cellules de l'hôte. Une fois formé, le complexe MBL-pathogène est capté par des phagocytes, soit par des interactions directes avec la MBL ou par des récepteurs des phagocytes pour le complément, qui lui aussi s'est attaché au pathogène. Le résultat est la phagocytose et la lyse du pathogène ainsi que l'induction d'autres réponses cellulaires comme la production de chimiokines. Un second groupe de récepteurs de phagocytose, nommés récepteurs « éboueurs » ("*scavenger receptors*"), reconnaît divers polymères anioniques ainsi que des lipoprotéines de basse densité acétylées. Ces récepteurs forment une famille hétérogène, comprenant au moins six formes moléculaires. Tous les récepteurs qui reconnaissent des molécules spécifiques de pathogènes n'induisent pas nécessairement la phagocytose. La séquence des polypeptides bactériens commence de manière typique par un résidu de méthionine formylée, et le récepteur de fMet-Leu-Phe (**fMLP**) des macrophages et des neutrophiles lie ces peptides *N*-formylés. Ce récepteur est de type chimiotactique et son engagement guide les neutrophiles vers le foyer infectieux. Les récepteurs de type Toll ou **TLR** ("*Toll-Like Receptors*") sont des récepteurs de signalisation qui distinguent différents types de pathogènes et contribuent au choix d'une réponse immunitaire appropriée. On a décrit 10 gènes *TLR* chez la souris et chez l'homme, et chacune des 10 protéines correspondantes (TLR 1, TLR 2...) est destinée à reconnaître un assortiment distinct de motifs moléculaires qui sont normalement absents chez les vertébrés normaux. Ces motifs sont caractéristiques de composants de micro-

organismes pathogènes à l'un ou l'autre stade de l'infection. Bien que la diversité des récepteurs de type Toll soit limitée, ils peuvent reconnaître des éléments de la plupart des microbes pathogènes.

Certains TLR mammaliens sont des récepteurs de surface, tandis que d'autres sont situés à l'intérieur de la cellule et insérés dans la membrane des endosomes, où ils détectent la présence des pathogènes ou de leurs composants ingérés par endocytose ou macropinocytose.



**Figure 8:** Les membres de la famille des TLRs reconnaissent des patterns microbiens et participent à l'activation des réponses immunitaires innées et adaptées.

# LE COMPLEMENT

Pr Hend Hachicha

Pr Hatem MASMOUDI

---

## Objectifs éducationnels

1. Définir le complément
  2. Enumérer les 3 voies d'activation du complément et en citer les composants
  3. Enumérer les activateurs des différentes voies d'activation du complément
  4. Décrire en s'aidant de schémas les séquences d'activation des différentes voies
  5. Connaître les facteurs et les mécanismes de régulation du complément
  6. Citer les récepteurs cellulaires du complément
  7. Préciser pour chaque récepteur le(s) composant(s) du complément reconnu(s) et les principales cellules qui l'expriment
  8. Décrire en s'aidant de schémas les fonctions biologiques du complément
- 

## I - INTRODUCTION

### 1- Historique

La découverte du complément remonte à l'observation faite par Buchner en 1880, de la présence dans le sérum normal d'une substance à activité bactéricide qu'il appelle " alexine".

Plus tard en 1898, Bordet remarque que le pouvoir bactériolytique in vitro d'un immun sérum disparaît, après chauffage à 56°C et est restauré par simple addition de sérum frais. Bordet a ainsi démontré que l'activité bactéricide provient de l'action conjointe de 2 substances :

- L'une thermostable et spécifique de l'antigène immunisant appelée bactériolysine par Bordet et qui n'est autre que l'anticorps.

- L'autre thermolabile et non spécifique (présente dans le sérum normal). Bordet l'appelle "complément". Elle se révèle par la suite identique à l'alexine de Buchner.

### 2- Définition et généralités

Le complément est un système biologique constitué par un ensemble de protéines sériques dont l'activation mutuelle en cascade engendre diverses activités biologiques.

Dans le sérum normal, ces protéines sont à l'état natif (exception faite du facteur D). L'activation du système peut se faire par 2 voies différentes :

- la voie classique, sur laquelle se greffe la voie des lectines et
- la voie alterne qui se rejoignent en un tronc commun final aboutissant à la formation du complexe d'attaque de membrane ou " MAC".

Les composants du système s'activent mutuellement en cascade c'est à dire qu'un constituant activé par le composant précédent devient lui-même activateur du composant suivant et ainsi de suite.

Le complément participe à la réponse immunitaire spécifique et à la réaction Inflammatoire. La plupart des activités biologiques résultant de l'activation du complément dépendent de l'interaction de ses constituants ou de leurs fragments de clivage avec des récepteurs cellulaires spécifiques.

Le complément a pour vocation d'être activé rapidement et de façon localisée. Les conséquences biologiques de l'activation du système peuvent être aussi bien bénéfiques que néfastes pour l'organisme, ce qui implique l'existence de mécanismes efficaces d'amplification et de contrôle de l'activité.

### **3 - Nomenclature**

- Les composants du complément sont appelés C1, C2, ..., C9 selon l'ordre chronologique de leur découverte.

- Les fragments de clivage sont désignés par l'adjonction d'une lettre minuscule a, b, c ou d (ex : C3a, C3b ...)

- Les produits ayant une activité enzymatique (généralement sérine-estérase) sont marqués par une barre horizontale (ex :  $\overline{C1s}$ ,  $\overline{C4b2a}$  ...)

- Les fragments inactivés sont affectés de la lettre i (ex : C3bi = iC3b)

- Les composants propres à la voie alterne sont désignés par des lettres majuscules : P, B et D. Il en est de même pour certains facteurs de régulation : H, I...

## II - LA VOIE CLASSIQUE D'ACTIVATION DU COMPLEMENT

La voie classique est activée principalement par les complexes antigène-anticorps (Ag-Ac) impliquant des IgM ou des IgG, (chez l'homme surtout IgG3 et IgG1, pas IgG4). Dans le cas des IgG, le complexe immunitaire doit comporter au moins 2 molécules d'Ac. L'interaction Ag-Ac entraîne des modifications allostériques de la molécule d'immunoglobuline (Ig) qui démasquent le site de fixation de C1q sur le fragment Fc de la molécule d'Ig (domaines CH2 pour les IgG et CH4 pour les IgM).

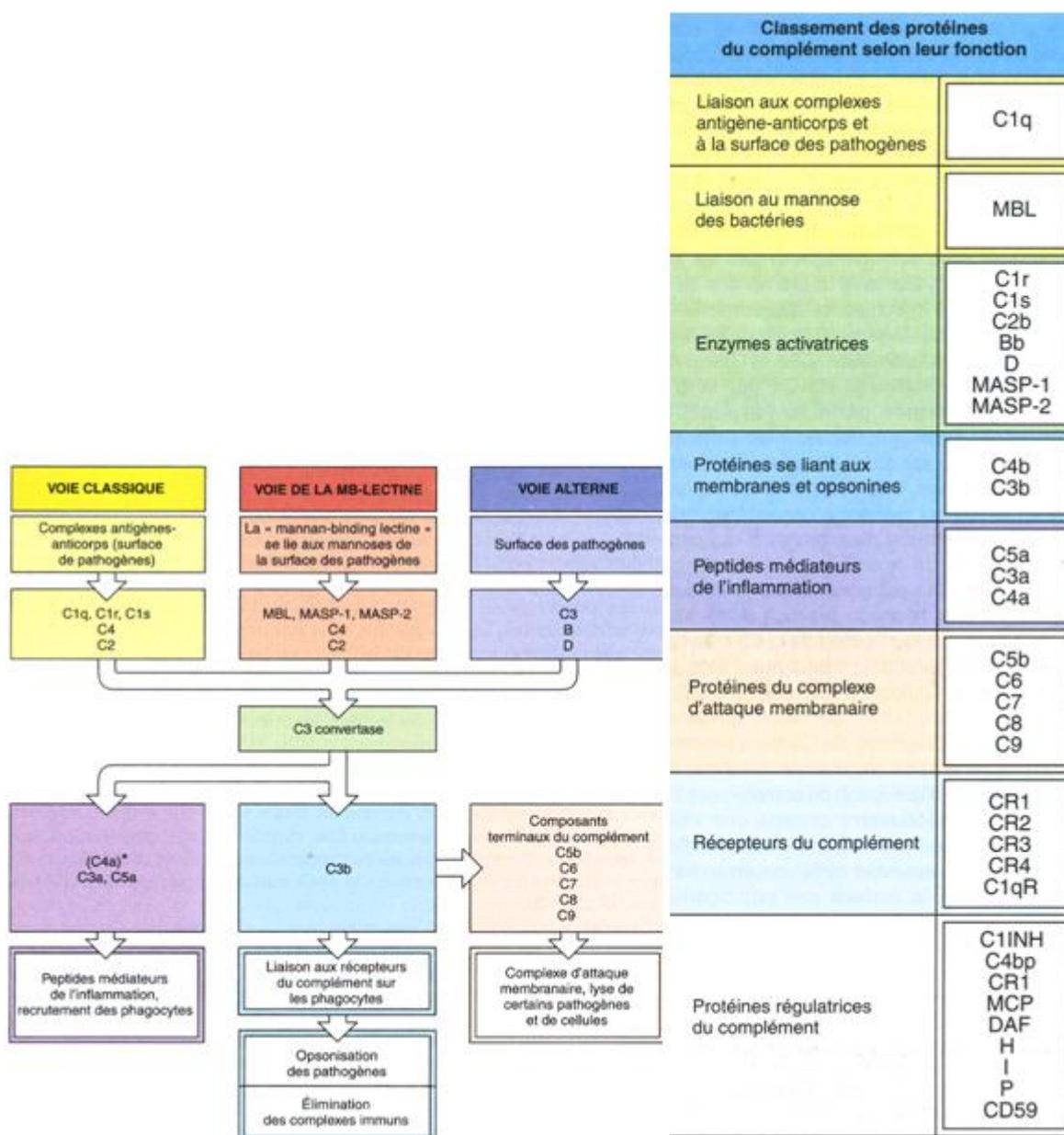


Figure 1 : Activation du complément et principales protéines impliquées

La voie classique peut secondairement être activée, en l'absence de complexe Ag-Ac, par des endotoxines bactériennes, des protéines virales, l'ADN, la CRP ("C-Reactive Protein"), l'héparine (abondamment produite par les mastocytes pulmonaires) ...

### 1- L'activation de C1

C1 est un complexe macromoléculaire composé de 2 sous-unités : C1q et un tétramère formé de 2 molécules C1r et 2 molécules C1s ( $C1 = C1q-C1r_2-C1s_2$ )

La liaison multivalente de C1q avec un activateur de la voie classique favorise (en présence de  $Ca^{++}$ ) son interaction avec le tétramère C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub>, stabilise le complexe ainsi obtenu (C1q-1r<sub>2</sub>-1s<sub>2</sub>) et déclenche le clivage et l'auto-activation de C1r.

C1r ainsi activé clive C1s en 2 fragments dont un qui porte l'activité enzymatique sérine-estérase :  $\overline{C1s}$

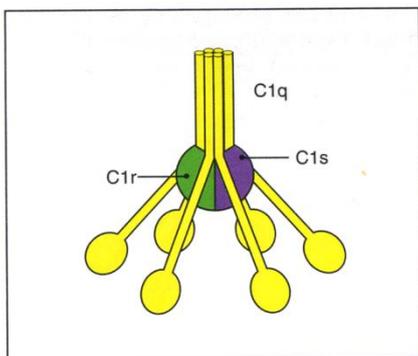


Figure 2 : complexe macromoléculaire C1

### 2 - La C3 convertase classique

C1s clive C4 en 2 fragments : l'anaphylatoxine C4a, et un fragment C4b porteur d'un site labile de fixation covalente aux membranes cellulaires ou aux IgG des complexes immuns, et d'un site d'interaction avec C2.

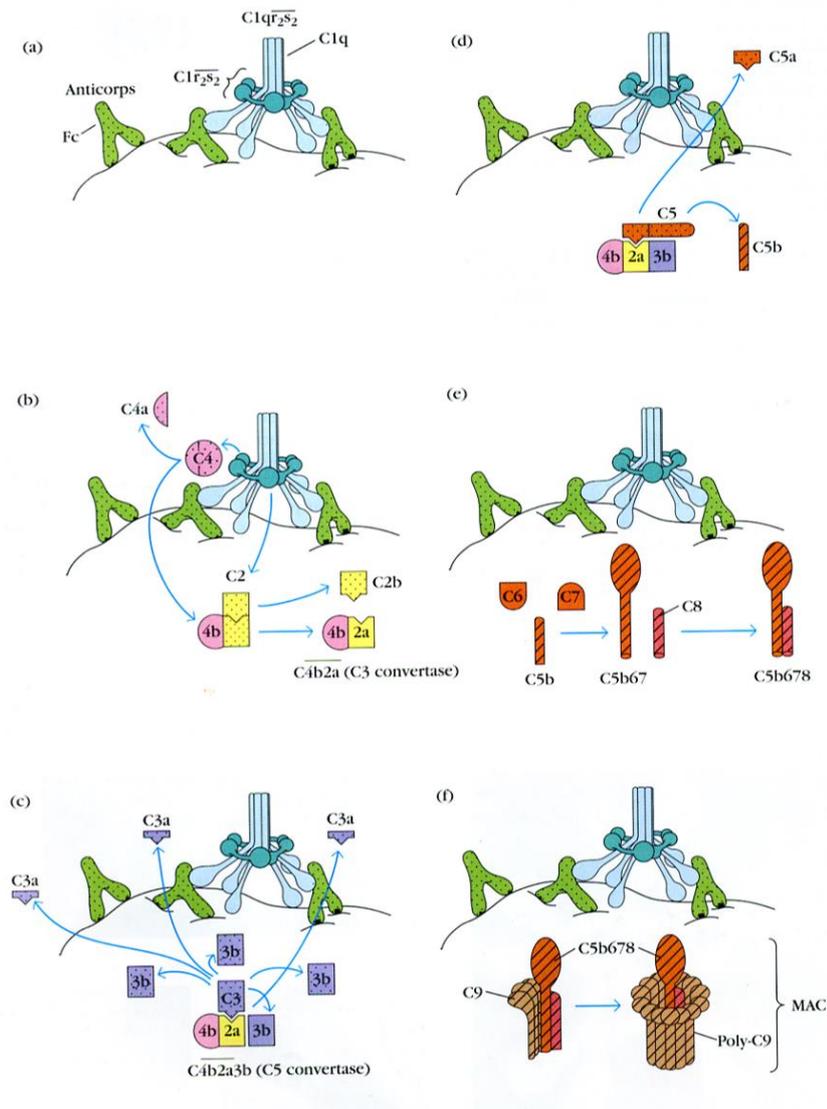
C2 qui est clivée par  $\overline{C1s}$  en un fragment C2b à activité de type kinine et un fragment C2a qui reste associé à C4b pour former la C3 convertase classique  $\overline{C4b2a}$  dont l'activité enzymatique est portée par C2a.

### 3 - La C5 convertase classique

$\overline{C4b2a}$  clive C3 en 2 fragments : l'anaphylatoxine C3a qui est libéré et un fragment C3b qui se fixe sur la paroi bactérienne. La liaison de plusieurs molécules

C3b à proximité de la C3 convertase classique aboutit à la formation de la C5 convertase classique  $\overline{C4b2a(3b)_n}$  dont l'activité enzymatique est portée par C2a.

La C5 convertase classique clive C5 en 2 fragments : l'anaphylatoxine C5a et un fragment C5b qui porte un site labile de liaison avec C6.



**Figure 3 :** voie classique d'activation du complément

### III- LA VOIE ALTERNE D'ACTIVATION DU COMPLEMENT

La voie alterne est activée en l'absence de complexe Ag-Ac par diverses particules et substances biologiques : des bactéries gram négatif, des cellules infectées par des virus, des levures, des lipopolysaccharides, des IgA agrégées, le venin de cobra ...

La voie alterne constitue un moyen de défense anti-infectieuse de première ligne, en place avant même le développement d'une immunité spécifique.

On distingue 2 phases dans le mécanisme d'activation de la voie alterne : une phase initiale qui a lieu de façon spontanée et indépendamment de la présence d'activateurs, et une phase amplificatrice soumise à une régulation très stricte et qui ne peut fonctionner qu'à la surface de particules activatrices.

Le C3 natif est une glycoprotéine de 195 KDa de PM composée de 2 chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  liées par des ponts disulfures. Le C3 est de loin le composant du complément le plus fortement représenté dans le plasma avec une concentration de l'ordre de 1 g/l.

Le facteur B est une globuline monocaténaire thermolabile de 93 KDa de PM. Il porte le site enzymatique des C3 et C5 convertases alternes.

Le facteur D est une sérine-estérase de 24 KDa de PM, présente dans le plasma sous forme active à une concentration de l'ordre de 1 mg/ml.

Le facteur P est une glycoprotéine de 220 KDa de PM constituée de 4 sous-unités identiques réunies par des liaisons non covalentes. La properdine stabilise les C3 et C5 convertases alternes, leur durée de vie passe ainsi de 2 à 30 min.

## **1 - La C3 convertase alterne**

La C3 convertase alterne initiale est obtenue à partir de molécules de C3 dites C3b-like ou C3(H<sub>2</sub>O) qui sont produites, en permanence et en toute petites quantités, par l'hydrolyse spontanée d'un pont thiol-ester interne fragile de la chaîne  $\alpha$  de la molécule de C3 natif. Les molécules de "C3b-like" ainsi obtenues lient le facteur B et s'associent au composant D (qui circule sous forme activée) pour former un complexe capable de cliver C3 en C3a et C3b. Ainsi, la C3 convertase alterne initiale libre en permanence dans le plasma de très petites quantités de C3b qui, en l'absence d'activateurs, est immédiatement inactivé par le facteur I en C3bi.

En présence d'activateurs, le C3b ainsi formé, se dépose sur une surface cellulaire dite activatrice (pauvre en acide sialique) et, en présence de Mg<sup>++</sup>, lie le facteur B

qui peut alors être clivé par le facteur D en 2 fragments, un fragment Ba libéré dans le milieu et un fragment Bb qui reste associé à C3b pour constituer la C3 convertase alterne amplificatrice :  $\overline{C3bBb}$ . La C3 convertase alterne amplificatrice est stabilisée par la properdine.

## 2 - La C5 convertase alterne

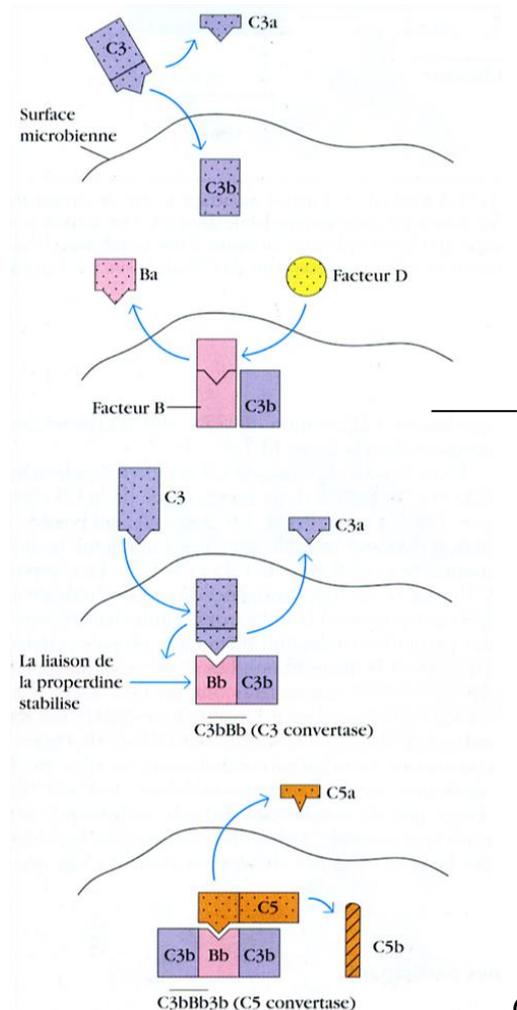
La C3 convertase alterne clive C3 en C3a et C3b. Le dépôt de plusieurs molécules de C3b sur la surface cellulaire à proximité de  $\overline{C3bBb}$  aboutit à la formation de la C5 convertase alterne  $\overline{C3bBb(C3b)_n}$  qui clive C5 en C5a et C5b (Figure 4).

## IV - LA VOIE DES LECTINES

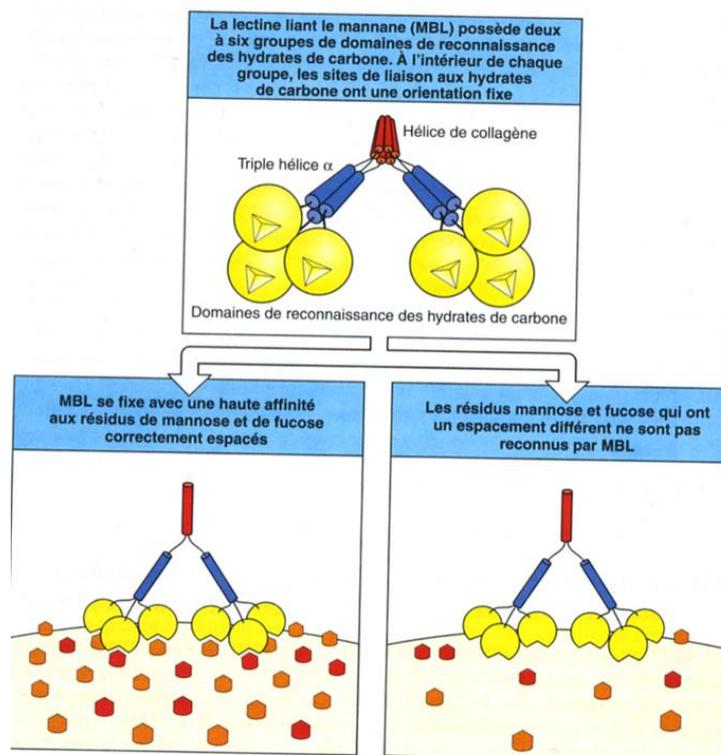
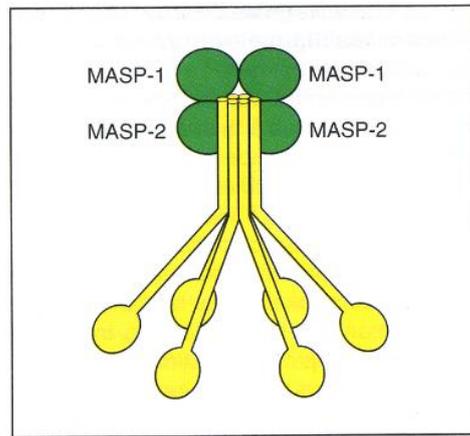
Il s'agit d'une voie d'activation homologue à la voie classique récemment identifiée et qui utilise une protéine à 6 têtes similaire à C1q, la lectine liant le mannane ou MBL (Figure5), pour initier la cascade du complément.

La MBL se lie spécifiquement aux résidus de mannose et d'autres sucres à la surface de nombreux pathogènes ; ce qui active les sérine-protéases MASP-1 et MASP-2 ("*MBL associated serine protease*") qui lui sont associées dans le cadre d'un complexe semblable au complexe C1 : le complexe MBL.

Ainsi activées, MASP-1 et MASP-2 clivent C4 et C2 de la même manière que C1s dans la voie classique conduisant à la formation de la même C3 convertase  $\overline{C4b2a}$ .



**Figure 4 :** voie alterne d'activation du complément

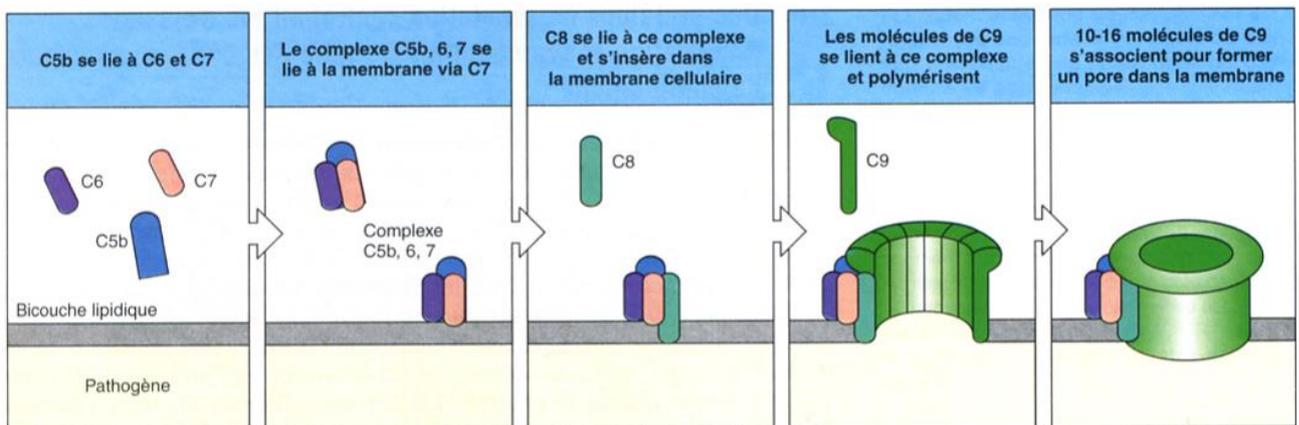
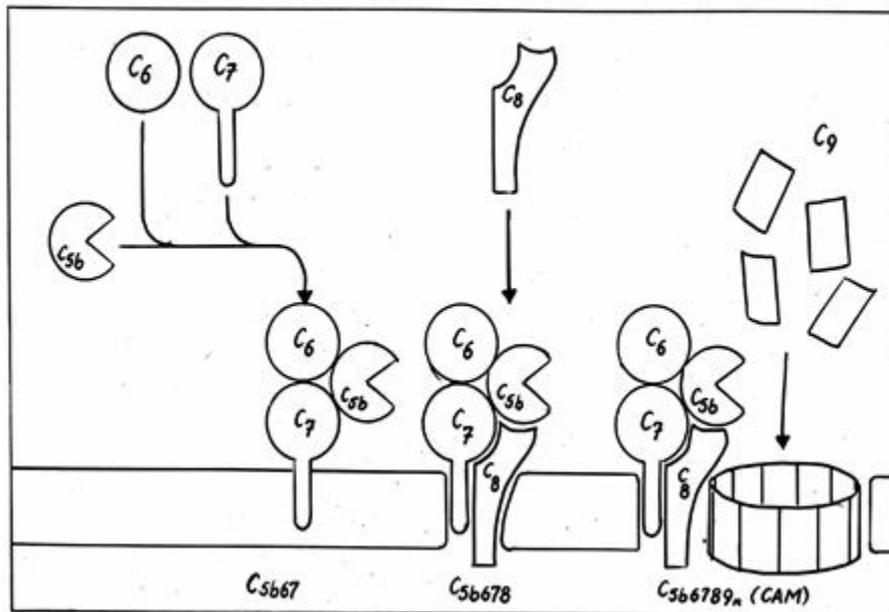


**Figure 5 :** schéma de la lectine liant le mannane ou MBL (les résidus de sucre sont agencés d'une manière différente (non reconnue par la MBL) à la surface des cellules eucaryotes.

## V- LE COMPLEXE D'ATTAQUE DE LA MEMBRANE ("MAC")

C5b formé par les C5 convertases classique et/ou alterne se lie à C6 et forme avec lui un complexe stable qui se dépose sur une surface cellulaire. Le complexe C5b-6 fixe C7 qui subit un changement de conformation le rendant hydrophobe. Le complexe C5b-6-7 s'insère alors donc dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire et fixe C8. Le complexe C5b-8 a une activité lytique très lente qui est accélérée par la polymérisation de C9. En effet, sur le complexe C5b-8 viennent se polymériser plusieurs molécules de C9 qui vont rapidement se repousser par

hydrophobie aboutissant à la formation du complexe d'attaque de la membrane  $\overline{C5b-9}$ . Ce dernier en forme de manchon circulaire, s'insère dans la membrane cellulaire et creuse un véritable tunnel transmembranaire aboutissant à la lyse osmotique de la cellule. S'il s'agit d'une cellule nucléée, sa lyse nécessite l'action prolongée et simultanée de plusieurs complexes  $\overline{C5b-9}$ .



*Figure 6 : Schémas de la voie lytique du complément*

## VI - RECEPTEURS MEMBRANAIRES POUR LE COMPLEMENT

\* **CR1 = C3b-R = CD35 :**

CR1 est le récepteur membranaire du C3b. C4b est capable de se lier au CR1 mais avec une affinité bien plus faible par rapport au C3b.

CR1 est présent principalement sur :

- les polynucléaires et les monocytes-M $\phi$  → opsonisation, phagocytose,
- les globules rouges → épuration des complexes immuns.

\* **CR2 = C3d-R = CD21** : lie la partie C3d des fragments iC3b, C3dg et C3d du C3 et sert aussi de récepteur à l'interféron  $\alpha$  (INF $\alpha$ ) et au virus d'Epstein Barr (EBV).

CR2 est exprimé principalement sur les lymphocytes B, les cellules dendritiques et les cellules épithéliales du nasopharynx (le virus EBV est un des principaux facteurs favorisant le cancer du nasopharynx).

\* **CR3 = CD11b/CD18** : lie le fragment iC3b (C3b inactivé). C'est une intégrine de la famille des molécules d'adhésion leucocytaire constituée d'une chaîne  $\alpha$  de 170 KDa (CD11b) et de la chaîne  $\beta$ 2 des intégrines (CD18) de 95 KDa partagée par LFA1 (CD11a/CD18) et CR4. CR3 est exprimé par les monocytes-M $\phi$ , les PNN et les cellules NK.

\* **CR4 = CD11c/CD18 = p150-95** : lie le fragment C3bi. C'est une intégrine impliquée dans les phénomènes d'adhésion leucocytaire et constituée d'une chaîne  $\alpha$  de 150 KDa et de la chaîne  $\beta$ 2 de 95 KDa.

CR4 est exprimé principalement sur les macrophages tissulaires et accessoirement sur les PNN, les monocytes et les cellules NK.

Comme LFA1 (CD11a/CD18), CR3 et CR4 interagissent avec la molécule d'adhésion intercellulaire 1 ou ICAM1 (CD54).

\* **C3a/C4a-R et C5a-R** :

Exprimés sur les polynucléaires basophiles (PNB) et les mastocytes, ils lient les anaphylatoxines (C3a et C4a, ou C5a) entraînant la dégranulation de ces cellules et la libération d'histamine. C3a/C4a-R et C5a-R sont aussi exprimés sur les cellules phagocytaires (PNN et monocytes-M $\phi$ ) auxquelles ils transmettent un signal chimiotactique et activateur.

**Tableau 1 : Récepteurs du complément**

Récepteur	Ligands majeurs	Activité	Distribution cellulaire
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Bloque la formation de la C3 convertase ; lie les complexes immuns aux cellules	Érythrocytes, neutrophiles, monocytes, macrophages, éosinophiles, cellules dendritiques folliculaires, cellules B et certaines cellules T
CR2 (CD21)	C3d, C3dg,* iC3b	Partie du corécepteur des cellules B ; se lie au virus d'Epstein-Barr	Cellules B, certaines cellules T
CR3 (CD11b/18)	iC3b	Se lie aux molécules d'adhésion cellulaire des neutrophiles, facilitant ainsi leur extravasation ; masquent les complexes immuns, augmentant ainsi leur phagocytose	Monocytes, macrophages, neutrophiles, cellules NK et certaines cellules T
CR4 (CD11c/18)			
Récepteur du C3a/C4a	C3a, C4a	Induit la dégranulation des mastocytes et des basophiles	Mastocytes, basophiles, granulocytes
Récepteur du C5a	C5a	Induit la dégranulation des mastocytes et des basophiles	Mastocytes, basophiles, granulocytes, monocytes, macrophages, plaquettes, cellules endothéliales

\* Le clivage du C3dg par les protéases sériques génère le C3d et le C3g.

## VII - REGULATION DU SYSTEME DU COMPLEMENT

### 1 - Régulation intrinsèque ou endogène

La durée de vie très courte (de l'ordre de la milliseconde pour C3b) de certains complexes ou composants activés et leur tendance spontanée à la dissociation (ou "decay") constituent une limitation endogène de l'activation du système du complément. Ainsi le C2a se dissocie spontanément du complexe C4b2a en perdant irréversiblement son activité enzymatique. De même le fragment Bb se dissocie spontanément du complexe C3bBb en perdant lui aussi son activité...

### 2 - Régulation extrinsèque ou exogène

Il existe un certain nombre de protéines plasmatiques et de récepteurs membranaires qui contrôlent l'activité du complément :

#### a) Facteurs plasmatiques

\*Le C1-Inh (ou inhibiteur de la C1-estérase) :

- Se lie au C1r et au C1s dès qu'ils sont activés, bloque leur activité sérine-estérase et les dissocie du C1 q.

\*La C4bp (ou C4 "binding protein")

- En se liant au C4b libre, elle l'empêche d'interagir avec C2a et le rend accessible à l'action du facteur I.
- En se liant au C4b lié au C2a, elle chasse C2a et permet le clivage de C4b par le facteur I. L'instabilité intrinsèque de la C3-convertase classique est donc accélérée par la C4bp.

\* Le facteur I (ou inactivateur de C3b et C4b) :

- Clive le C4b lié à la C4bp ou à la MCP ("*membrane cofactor protein*") en C4c et C4d
- Inactive le C3b lié au facteur H ou au CR1 (C3b-R) en C3bi, puis clive ce dernier en C3c et C3 dg.

\* La properdine (ou facteur P) :

- En se liant spécifiquement au complexe C3bBb, elle le stabilise et augmente d'environ dix fois sa durée de vie.

\* Le facteur H :

- Sur une surface dite non activatrice (riche en acide sialique), le facteur H se lie au C3b avec beaucoup plus d'affinité que le facteur B et ainsi il dissocie la C3 convertase alterne C3bBb et prévient sa formation.

L'instabilité intrinsèque de la C3 convertase alterne est donc tempérée par la properdine et accélérée par le facteur H.

- H sert de cofacteur à l'inactivation et au clivage de C3b par le facteur I.

\* La protéine S (ou vitronectine) :

- Elle se lie de façon irréversible au complexe C5b-6-7 et empêche ainsi son insertion dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire. Le complexe S-C5b-7 ainsi formé peut interagir avec C8 et C9, mais la protéine S empêche la polymérisation du C9 au contact du complexe S-C5b-8.

**b) Protéines et récepteurs membranaires**

\* Le DAF ("*Decay accelerating factor*" ou CD 55)

-Le facteur accélérant la dissociation est une protéine membranaire présente sur toutes les cellules du sang (exceptées les cellules NK), et sur les cellules endothéliales et épithéliales.

- Il accélère la dissociation spontanée de la C3 convertase classique C4b2a et, à un moindre degré, celle de la C3 convertase alterne C3bBb

\* Le CR 1 (C3b-R = CD35)

- En fixant C3b avec une forte affinité, le CR1 accélère la dissociation spontanée des C3 et C5 convertases classique et alterne et prévient leur formation.

- Il sert de cofacteur dans le clivage de C3b et C4b par le facteur I. En effet, C4b est capable de se lier au CR1 mais avec une affinité bien plus faible par rapport au C3b.

\*La MCP (" Membrane Cofactor Protein ") :

La MCP est une glycoprotéine largement distribuée sur toutes les cellules sanguines à l'exception des globules rouges, sur les cellules endothéliales, épithéliales et sur les fibroblastes. La MCP fixe le C4b et le rend ainsi accessible à la dégradation par le facteur I. La MCP peut lier le C3b et favoriser ainsi sa dégradation par le facteur I. Ainsi, le DAF (dissociation), la MCP (cofacteur pour la dégradation) et le CR1 (les deux à la fois) exercent au niveau des membranes cellulaires le rôle joué au niveau du plasma par les facteurs C4bp (voie classique) et H (voie alterne) dans la régulation de l'activation du complément.

\* Le HRF ("*homologous restricting factor*") :

Le HRF correspond en fait à deux facteurs membranaires qui participent à la restriction homologue du complexe terminal, c'est à dire à la protection des cellules de l'hôte contre les effets de l'activation du MAC.

Il s'agit de la protéine liant C8 ou C8bp et de la protectine ou CD59. Ces deux facteurs se lient au C8 et empêchent la polymérisation de C9 et l'insertion du MAC dans la membrane cellulaire.

**Tableau 2 : Protéines régulatrices du système du complément**

Protéines	Type de protéine	Voie concernée	Fonction immunitaire
Inhibiteur du C1 (C1inh)	Soluble	Classique	Inhibiteur des sérine protéases ; provoque la dissociation du C1r <sub>2</sub> s <sub>2</sub> du C1q
Protéine de liaison au C4b (C4bBP)*	Soluble	Classique et lectine	Bloque la formation de la C3 convertase en se liant au C4b ; cofacteur du clivage du C4b par le facteur I
Facteur H*	Soluble	Alterne	Bloque la formation de la C3 convertase en se liant au C3b ; cofacteur du clivage du C3b par le facteur I
Récepteur du complément du type 1 (CR1)*	Membranaire	Classique, alterne et lectine	Bloque la formation de la C3 convertase par liaison au C4b ou au C3b ; cofacteur du clivage catalysé par le facteur I du C4b ou du C3b
Cofacteur protéique membranaire (MCP)*			
Facteur accélérateur de la dissociation (DAF)*	Membranaire	Classique, alterne et lectine	Accélère la dissociation du C4b <sub>2a</sub> et du C3bBb (C3 convertases classique et alterne)
Facteur I	Soluble	Classique, alterne et lectine	Sérine protéase : clive le C4b ou le C3b en utilisant le C4bBP, le CR1, le facteur H, le DAF ou le MCP comme cofacteur
Protéine S	Soluble	Terminale	Se lie au C5b67 soluble et prévient son insertion dans la membrane cellulaire
Facteur de restriction homologue (HRF)	Membranaire	Terminale	Se lie au C5b678 sur les cellules autologues, bloquant ainsi la liaison du C9
Inhibiteur membranaire de la lyse réactive (MIRL)			
Inactivateur des anaphylatoxines	Soluble	Effectrice	Inactive l'activité d'anaphylatoxine du C3a, du C4a et du C5a par élimination carboxypeptidasique N du résidu Arg C-terminal

## VIII- LES EFFETS BIOLOGIQUES DU COMPLEMENT :

### 1/ Défense anti-infectieuse :

#### a) Bactériolyse, virolyse et lyse des cellules infectées par des virus :

- Le complément est l'agent cytotoxique de la réaction Ag-Ac
- L'activation du complément à la surface des bactéries conduit au complexe d'attaque membranaire C5b-9 qui, avec l'aide du lysozyme et en présence d'Ac à la surface des bactéries, est capable de lyser celles-ci.

- De nombreux virus activent le complément par les voies classique et/ou alterne et sont ainsi lysés par le complexe C5b-9 en présence d'Ac spécifiques à leur surface.

- Les cellules infectées par une grande variété de virus sont lysées par le complément en présence d'Ac dirigés contre les Ag viraux exprimés à leur surface.

#### b) Opsonisation, stimulation de la phagocytose :

Lorsque les bactéries activent le complément par les voies classique ou alterne, des fragments C3b, C4b et C3bi se déposent à leur surface et permettent ainsi aux cellules phagocytaires (PNN, monocytes et macrophages) qui portent des récepteurs membranaires spécifiques de ces fragments du complément (CR1, CR3 et CR4) d'adhérer plus facilement à ces bactéries, l'adhésion étant la première étape de la phagocytose.

*c) Neutralisation virale :*

De nombreux virus activent la voie classique du complément même en l'absence d'Ac. Les composants C1q, C4 et C3 activés se déposent à la surface du virus et forment une enveloppe protéique qui interfère avec l'attachement du virus à la cellule cible et sa pénétration à l'intérieur de celle-ci.

**2/ Action pro-inflammatoire :**

Le complément joue un rôle important dans le déclenchement de l'inflammation à proximité du site de son activation. Cet effet est essentiellement sous la dépendance des anaphylatoxines C4a, C3a et surtout C5a, libérées lors de l'activation du complément et qui interagissent avec les récepteurs cellulaires C3a/C4a-R et C5a-R présents sur les mastocytes, les P.N.B et les cellules phagocytaires (Figure 9). Ces anaphylatoxines sont rapidement clivées dans le sang par la N-carboxypeptidase plasmatique qui limite ainsi la diffusion de leurs effets et favorise le développement local de l'inflammation.

Seul l'effet chimiotactique de C5a est conservé après clivage par la carboxypeptidase-N en C5-des-arg.

D'autres fragments ou complexes libérés ou formés lors de l'activation du complément participent à l'action pro-inflammatoire du complément. Ainsi le C2b encore appelé C2-kinine induit une augmentation de la perméabilité capillaire, et le complexe C5b-9 est capable d'activer la phospholipase-A2 membranaire et donc d'induire la libération, par la cellule cible, de divers médiateurs de l'inflammation aiguë dérivés de l'acide arachidonique (leucotriènes, prostaglandines...).

Les principaux effets pro-inflammatoires des anaphylatoxines sont :

\* Contraction du muscle lisse qui se traduit par une vasoconstriction des veinules postcapillaires avec augmentation de la perméabilité capillaire et une bronchoconstriction.

\* Libération d'histamine, par les PNB et les mastocytes, qui vient accentuer l'augmentation de la perméabilité capillaire et la bronchoconstriction.

\* Chimiotactisme et activation des polynucléaires et des monocytes : C5a attire les polynucléaires et les monocytes du sang circulant vers le site de l'inflammation puis induit la libération par les cellules phagocytaires ainsi recrutées d'enzymes lysosomiales et de radicaux oxygénés toxiques.

### 3/ Solubilisation et épuration des complexes immuns :

#### a) Solubilisation :

Les molécules de C3b et de C4b fixées sur les complexes immuns (Ag-Ac) s'intercalent entre les Ac et empêchent ainsi les interactions Fc-Fc, cruciales dans le processus de d'agrégation des complexes immuns et leur précipitation.

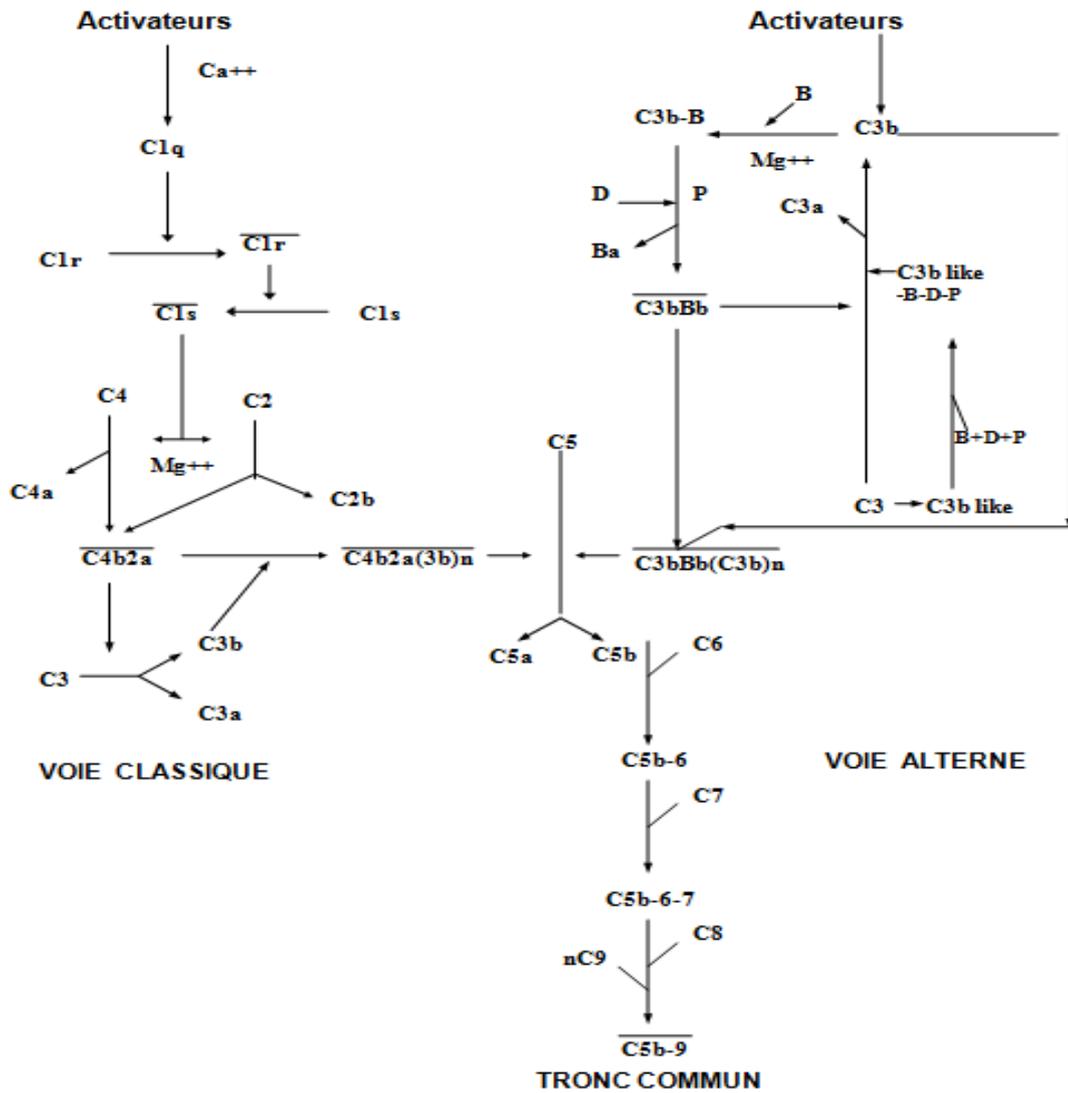
#### b) Épuration :

Les complexes immuns opsonisés par du C3b ou C4b se lient au CR1 des érythrocytes (quantitativement prédominants dans le sang par rapport aux phagocytes) qui les transportent vers le foie et la rate où ils sont dissociés des GR avant d'être dégradés par les macrophages. Chez les malades atteints de lupus érythémateux disséminé (LED), le nombre de récepteur CR1 à la surface des GR est souvent fortement abaissé.

Tableau 3 : Effets biologiques du complément

Effets	Facteurs	Médiateurs ou cellules impliqués
Lyse des bactéries et des virus	C5-b9	Ac
Opsonisation ↑ phagocytose	C3b, C4b, iC3b	PNN, Monocytes / Mφ
Chimiotactisme Activation des cellules phagocytaires	C5a, C3a	→ enzymes lysosomiales
Neutralisation des virus	C3b, C1q, C4b	
Dégranulation des basophiles et des mastocytes	C5a, C3a	PNB, Mastocytes → Histamine
Solubilisation des complexes immuns	C3b, C4b	
Épuration des Complexes immuns	C3b, C4b	GR ⇒ Mφ (foie, rate)

## ACTIVATION DU COMPLEMENT (Schéma de synthèse)



# LES IMMUNOGLOBULINES : STRUCTURE ET FONCTIONS

Dr Hatem MASMOUDI

---

## Objectifs éducationnels

1. Définir les immunoglobulines
  2. Citer les classes et les sous classes d'Ig chez l'Homme
  3. Décrire la structure et les différentes composantes d'une molécule d'immunoglobuline
  4. Préciser les fonctions des différents fragments et domaines d'une molécule d'Ig
  5. Préciser la composition normale en Ig dans le sérum humain
  6. Préciser les fonctions effectrices des différentes classes et sous-classes d'Ig
  7. Décrire l'ontogénie des différentes classes d'Ig
  8. Définir et expliquer le polymorphisme antigénique des Ig
  9. Décrire les mécanismes à l'origine de la diversité des anticorps
  10. Expliquer le phénomène d'exclusion allélique
  11. Décrire le mécanisme de la commutation isotypique
  12. Distinguer entre Ac polyclonal et Ac monoclonal en précisant les méthodes d'obtention et les avantages de chacun de ces 2 types de réponse Ac in vivo et/ou in vitro
  13. Enumérer les composants (récepteur et corécepteur) du récepteur spécifique pour l'Ag du lymphocyte B en précisant leurs fonctions respectives
  14. Décrire le rôle des anticorps dans l'immunité anti-infectieuse.
- 

## I) Introduction

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines globulaires produites exclusivement par les lymphocytes B et les plasmocytes et douées de multiples activités biologiques, en particulier l'activité anticorps (Ac) : aptitude à se fixer spécifiquement et de façon réversible à une espèce moléculaire donnée ou antigène (Ag). Les Ig sont présentes sous 2 formes :

- une forme circulante : dans le sérum et les liquides interstitiels ;
- une forme membranaire : à la surface des lymphocytes B.

Leur activité Ac d'une part, et les fonctions effectrices dont elles sont douées (fixation du complément, cytophilie, transfert placentaire) d'autre part, confèrent aux Ig un rôle primordial dans la réponse immunitaire.

## II) Structure des Ig

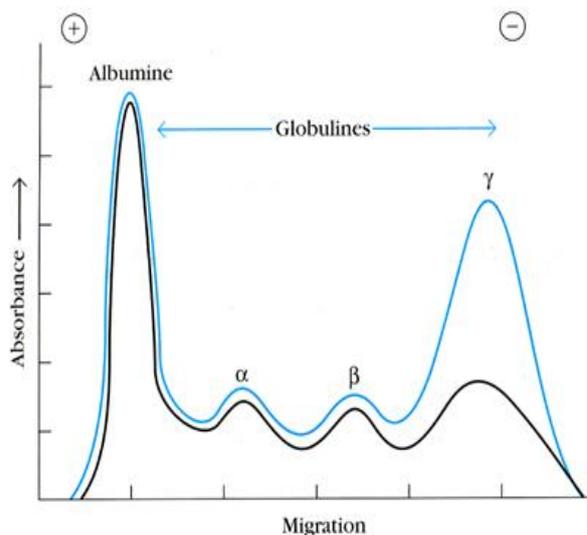
### 1) Structure multicaténaire des Ig, les classes et sous-classes

On distingue, chez les mammifères, 5 classes d'Ig qui diffèrent par leurs caractéristiques physicochimiques, biologiques et antigéniques : IgG, IgA, IgM, IgE et IgD.

Les IgG sont largement majoritaires dans le sérum des vertébrés supérieurs (70 à 75 % des Ig sériques).

**KABAT** : Electrophorèse du sérum d'un lapin avant et après immunisation par l'ovalbumine  $\Rightarrow$  augmentation importante du taux des gammaglobulines.

Absorption de l'immun sérum sur l'ovalbumine  $\Rightarrow$  disparition du pic  $\gamma$  à l'électrophorèse (Figure 1). Kabat en conclut que les Ac anti-ovalbumine sont des  $\gamma$  globulines.



**Figure 1** Démonstration expérimentale de la présence des anticorps dans la fraction  $\gamma$ -globulinique des protéines sériques. Après que des lapins aient été immunisés avec de l'ovalbumine (OVA), leurs antisérums étaient poolés et soumis à une électrophorèse qui séparait les protéines sériques selon leur charge électrique et leur masse. La ligne bleue représente le profil électrophorétique d'un antisérum non traité. La ligne noire montre le profil d'un antisérum incubé avec de l'OVA afin d'éliminer l'anticorps anti-OVA, puis soumis à l'électrophorèse [d'après A Tiselius et EA Kabat, 1939, *J. Exp. Med.* 69:119.]

Par la suite, on s'est rendu compte que d'autres Ac pouvaient avoir une migration électrophorétique  $\beta$  voire même  $\alpha$ , d'où l'introduction du terme immunoglobulines (Ig) pour désigner les Ac.

**EDELMAN** : Réduction alkylation puis chromatographie sur gel de sephadex en milieu dissociant d'une préparation purifiée d'IgG  $\Rightarrow$  2 pics à 50 kDa (kilo Daltons) et à 25 kDa  $\Rightarrow$  l'IgG, molécule de 150 kDa environ de poids moléculaire (PM), est composée de 4 chaînes polypeptidiques :

- 2 chaînes lourdes H identiques (H pour "heavy",  $PM \approx 50$  kDa).

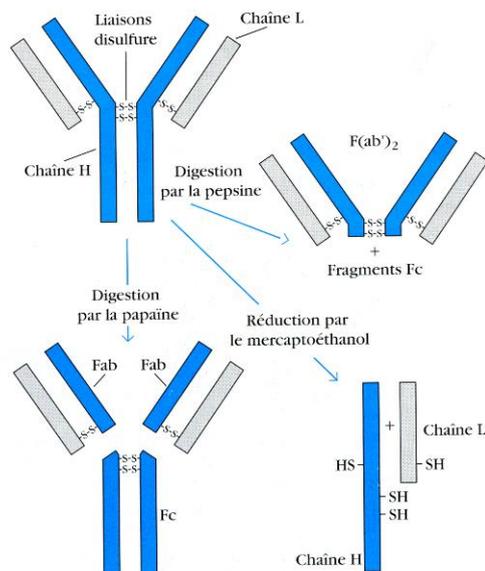
- 2 chaînes légères L identiques (L pour "light",  $PM \approx 25$  kDa).

Les chaînes sont reliées entre elles par des ponts disulfures (inter-caténares) et des liaisons de faible énergie.

**PORTER** : Clivage enzymatique par la papaine d'une préparation purifiée d'IgG puis chromatographie sur CM-cellulose à pH acide  $\Rightarrow$  3 pics de 50 kDa de PM environ chacun (figure 2) :

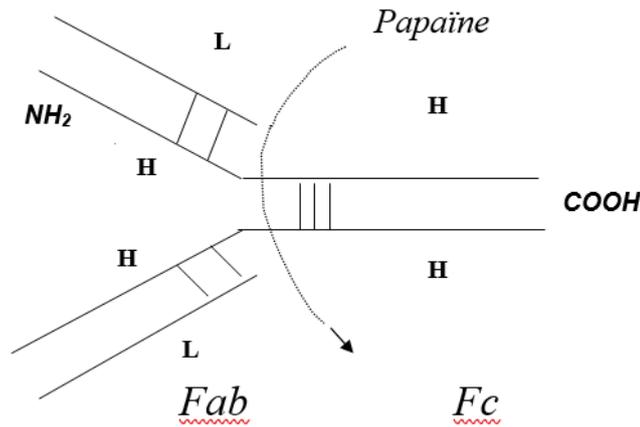
- 2 pics correspondant à des fragments portant chacun un site Ac, fragments Fab ("antigen binding")

- 1 pic correspondant à un fragment assez homogène et cristallisable à froid, fragment Fc.



**Figure 2** : Prototype de la structure de l'IgG, proposé par Porter en 1962, montrant la structure en Y et les liaisons disulfure inter-chaînes. Les fragments produits par différents traitements sont aussi indiqués. Les chaînes légères (L) sont en gris et les chaînes lourdes (H) en bleu.

La confrontation des résultats de ces deux types d'approches permet à PORTER de proposer son modèle topologique linéaire et symétrique pour la structure des IgG (figure 3).



**Figure3** : Modèle topologique de Porter pour la structure des IgG

Les autres classes d'Ig sont toutes construites selon le même modèle  $(L_2H_2)_n$ , où  $n$  varie de 1 à 5.

$n = 1$  pour les IgG, IgE, IgD et pour les IgM membranaires.

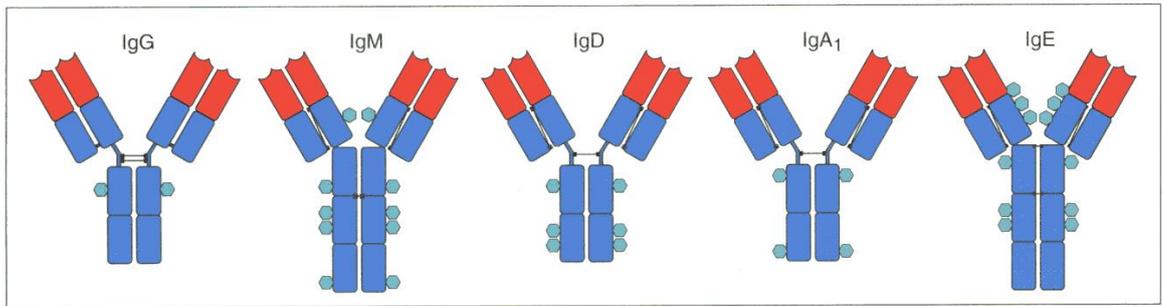
$n = 5$  pour les IgM sériques avec chaîne J ("joining") reliant les 5 monomères  $L_2H_2$ .

$1 \leq n \leq 3$  pour les IgA avec chaîne J reliant les di et les trimères et, pour les IgA sécrétoires, une pièce sécrétoire S produite par la cellule épithéliale de la muqueuse et qui protège l'IgA de l'action lytique des enzymes digestives.

La caractéristique de classe est déterminée par la nature de la chaîne lourde :  $\gamma$  pour les IgG,  $\alpha$  pour les IgA,  $\mu$  pour les IgM,  $\epsilon$  pour les IgE et  $\delta$  pour les IgD.

Les classes d'Ig diffèrent les unes des autres par :

- Le nombre et la position des ponts disulfure inter-caténaires (figure 4 : lignes noires).
- La longueur de la région charnière (Les IgM et les IgE n'ont pas de région charnière)
- Le nombre de domaines de la chaîne lourde (les IgM et les IgE ont un domaine supplémentaire au niveau de leur chaîne lourde).
- La distribution des sites de N-glycosylation (figure 4 : hexagones turquoise).



**Figure 4 :** Organisation structurale des monomères des principaux isotypes humains.

La pepsine clive la molécule d'IgG en un fragment  $F(ab)'_2$  qui conserve l'activité Ac (capable, comme l'Ig entière, de se fixer sur l'Ag spécifique) sans les ennuis et problèmes éventuels dus au fragment Fc qui est découpé en plusieurs petits segments désignés Fc'. Il est à noter que le fragment Fab seul est incapable de se fixer sur l'Ag.

Il existe deux types de chaînes légères : Kappa ( $\kappa$ ) et lambda ( $\lambda$ ) pouvant s'associer indifféremment à l'une ou l'autre des 5 types de chaînes lourdes. Le pourcentage relatif des chaîne  $\kappa$  et  $\lambda$  varie suivant les espèces. Ainsi, chez l'homme le rapport  $\kappa/\lambda$  est de 60/40. On connaît un seul isotype  $\kappa$  et 4 isotypes (sous-classes)  $\lambda$  chez l'homme.

On a décrit à l'intérieur de certaines classes d'Ig l'existence de sous-classes qui diffèrent légèrement entre elles par leurs propriétés antigéniques, physicochimiques et biologiques. Ainsi, on distingue chez l'homme 4 sous-classes d'IgG (IgG1 à IgG4) et 2 sous-classes d'IgA (IgA1 et IgA2).

Comme les classes, les sous-classes traduisent un polymorphisme multigénique. Elles coexistent chez tous les individus de l'espèce.

## 2) Structure primaire des Ig, région variable et région constante

L'analyse de la structure fine des Ig a largement bénéficié des méthodes et techniques d'obtention d'Ac monoclonaux (protéines de myélome, Ac produits par les hybridomes), et du séquençage protéique de plusieurs chaînes légères Kappa humaines (HILSCHMANN et CRAIG).

En comparant la séquence en acides aminés (aa) de plusieurs chaînes

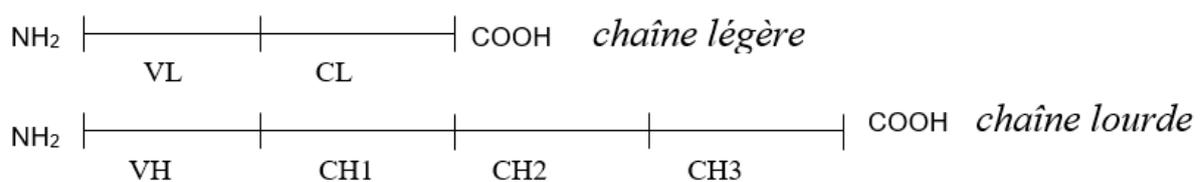
légères Kappa ( $\kappa$ ) humaines (chaînes légères  $\kappa$  monoclonales sous forme de protéinurie de Bence Jones obtenues chez des malades atteints de myélome à chaînes légères  $\kappa$ ), HILSCHMANN et CRAIG ont constaté que la séquence de la moitié N-terminale ( $\approx 110$  aa) est relativement variable d'une chaîne à l'autre, alors que celle de la moitié C-terminale est très conservée. Ils ont appelé la moitié N-terminale, région variable de Kappa ou  $V\kappa$ , et la moitié C-terminale, région constante de Kappa ou  $C\kappa$ .

Cette notion de région variable et région constante a été vérifiée pour la chaîne légère lambda et les différents types de chaînes lourdes.

Ainsi, la chaîne légère lambda est composée d'une région variable  $V\lambda$  de 110 aa environ, différente de  $V\kappa$ , et d'une région constante  $C\lambda$  de 110 aa environ, différente de  $C\kappa$ .

Les chaînes lourdes sont composées d'une région variable  $VH$  de 110 aa environ et d'une région constante  $CH$  de 330 à 440 aa selon la classe (les chaînes  $\mu$  et  $\epsilon$  sont plus longues) (figure 5).

Contrairement aux chaînes légères où la région variable porte la marque de la classe  $\kappa$  ou  $\lambda$ , pour les chaînes lourdes, c'est la région constante  $CH$  et elle seule qui caractérise et définit la classe et la sous-classe de la chaîne lourde.



**Figure 5 :** Région variable, région constante et domaines

Les régions variables  $V\kappa$ ,  $V\lambda$  et  $VH$  sont construites selon le même schéma. On y distingue deux types de positions selon que les résidus d'aa sont relativement conservés ou au contraire fortement variables. Les positions fortement variables sont regroupées dans 3 sections occupant des localisations sensiblement homologues pour les chaînes H et L et que l'on appelle régions hypervariables ou

régions déterminant la complémentarité ("complementarity determining regions" ou CDR) et ce en raison de leur implication directe dans la géométrie du site Ac.

Les régions hypervariables sont séparées par les régions de charpente ("framework") qui n'expriment qu'un bruit de fond de variabilité. Les régions de charpente représentent 80 % environ de la région variable, elles constituent l'armature de cette région.

### **3) Notion de domaine, superfamille des immunoglobulines**

L'analyse des séquences des chaînes légères et des chaînes lourdes des Ig a montré l'existence en nombre variable de ponts disulfure à l'intérieur de chaque chaîne : 2 pour les chaînes légères, 4 à 5 pour les chaînes lourdes selon la classe. Ces ponts disulfures intra-caténaires sont extrêmement difficiles à réduire et essentiels au repliement et à l'activité des Ig. Ils sont disposés d'une manière caractéristique : chaque pont est présent tout entier sur un segment de 110 résidus d'aa environ et relie des résidus cystéine séparés par 60 positions environ formant ainsi une boucle d'une soixantaine de résidus (figure 6).

En étudiant la séquence de fragments Fc d'IgG, HILL a le premier remarqué l'existence d'homologies internes dans la structure des Ig. Cette observation a été confirmée par EDELMAN avec la détermination de la première séquence complète d'une IgG humaine. EDELMAN a appelé domaine, chaque segment d'homologie interne de 110 aa. Chaque domaine possède son autonomie thermodynamique qui lui permet d'acquérir sa conformation propre indépendamment des autres. D'autre part, chaque domaine est codé par un gène (un segment génétique, voir plus loin) et a été sélectionné au cours de l'évolution pour une fonction particulière.

#### **Fonction**

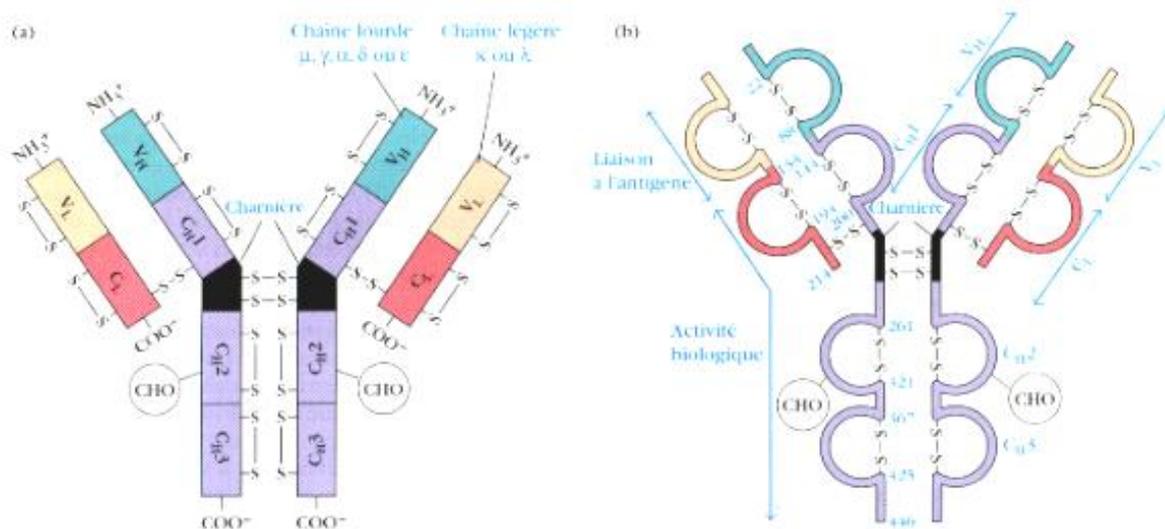
- Ac (liaison à l'Ag)
- Fixation du C4b
- Fixation du C1q
- Cytophilie
- Transfert placentaire

#### **Domaine**

- VH + VL
- CH 1
- CH 2 (IgG) et CH4 (IgM)
- CH 2+CH 3
- CH 2 + CH 3

Par la suite, il s'est avéré que cette organisation structurale, biochimique et génétique en domaines est valable pour un très grand nombre de protéines exprimées par des cellules du système immunitaire ou en dehors (TCR, Fc-R, HLA, Ig $\alpha$ , Ig $\beta$ , CD3, CD4, CD8, ICAM, LFA3...).

Le terme de superfamille des Ig a donc été introduit pour désigner toutes ces protéines qui, comme les Ig, ont une structure caractéristique en domaines. Les gènes codant ces protéines de la superfamille des Ig dériveraient tous de la duplication d'un seul et même gène ancestral commun codant pour un polypeptide d'une centaine d'acides aminés comportant un pont disulfure reliant 2 cystéines séparées par une soixantaine de résidus.



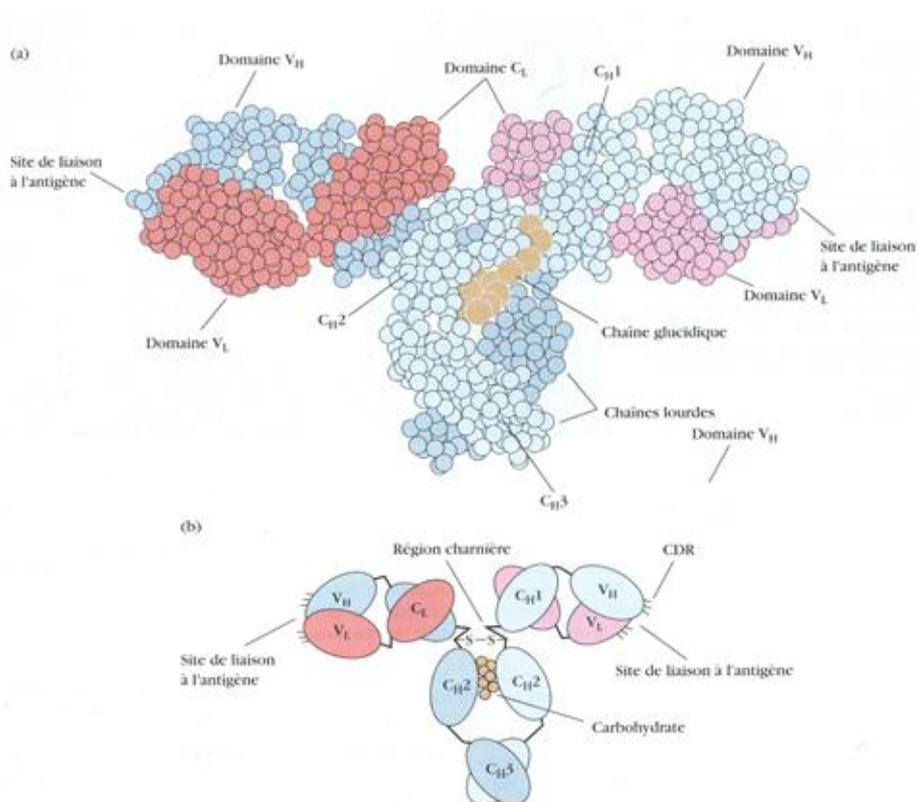
**Figure 6** Représentation schématique de la structure des immunoglobulines dérivée de l'étude des séquences des amino acides. (a) Chaque chaîne lourde et chaque chaîne légère d'une molécule d'immunoglobuline contient une région amino terminale variable (V) constituée de 100-110 amino acides qui diffère d'un anticorps à un autre. Le reste de chaque chaîne de la molécule, les régions constantes (C) (rouge et violet), présente une variation limitée qui définit les deux sous-types des chaînes légères et les cinq sous-classes des chaînes lourdes. Certaines chaînes lourdes ( $\gamma$ ,  $\delta$  et  $\alpha$ ) contiennent aussi une région charnière riche en proline (noire). (b) Les chaînes lourdes et les chaînes légères sont repliées en domaines, contenant chacun environ 110 résidus amino acides et une liaison disulfure intrachaîne qui forme une boucle de 60 amino acides. Les domaines amino-terminaux, qui correspondent aux régions V, se fixent à l'antigène ; les fonctions effectrices sont médiées par les autres domaines. Les chaînes lourdes  $\mu$  et  $\epsilon$ , qui n'ont pas de région charnière, contiennent un domaine supplémentaire dans le milieu de la molécule.

#### 4) Structure tridimensionnelle des Ig, le site actif

L'étude en microscopie électronique de la structure des Ig a montré qu'elles ont effectivement la forme d'un Y dont les bras sont constitués par les 2 fragments Fab et le pied par le fragment Fc. Les fragments Fab font un angle variable par

articulation autour de la région médiane flexible qui connecte les fragments Fab et Fc et qu'on appelle région charnière ou "*hinge region*".

L'utilisation de la technique de diffraction des rayons X a permis une connaissance approfondie de la structure des Ig (POLJAK). L'IgG est composée de 12 régions globulaires (4 pour chaque fragment Fab et 4 pour le fragment Fc) correspondant chacune à un domaine (figure 7). Chaque domaine possède la même organisation spatiale générale : 7 segments de feuillets plissés  $\beta$  réunis les uns aux autres par des boucles ou des hélices de longueur variable et organisés en 2 plans sensiblement parallèles (un plan de 4 et l'autre de 3 segments) reliés entre eux par un pont disulfure intra-caténaire. C'est au niveau des boucles qu'on retrouve les parties les plus variables des Ig.



**Figure 7** Les interactions entre les domaines des chaînes séparées d'une molécule d'immunoglobuline sont essentielles pour la structure quaternaire de cette dernière. (a) Modèle de la molécule d'IgG, basé sur une analyse cristallographique par rayons X, montrant les associations entre les domaines. Chaque boule pleine représente un résidu amino acide ; les boules brunes plus grosses sont des carbohydrates (glucides). Les deux chaînes légères sont représentées en rouge clair, les deux chaînes lourdes en bleu. (b) Représentation schématique montrant les interactions entre les domaines des chaînes lourdes et des chaînes légères. Remarquer que les domaines  $C_{H2}/C_{L2}$  font protrusion en raison de la présence des carbohydrates (brun) à l'intérieur. La protrusion rend ce domaine plus accessible, ce qui lui permet d'entrer en interaction avec des molécules telles que certains composants du complément. [Partie (a) d'après EW Silverton et al., 1977, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 74:514]

Concernant le site Ac, les résultats préalablement obtenus grâce aux techniques d'hybridation moléculaire et de marquage d'affinité ont été confirmés par l'analyse de la diffraction aux rayons X de complexes Ag-Ac cristallisés :

- la chaîne lourde et la chaîne légère participent à l'architecture du site Ac (site partagé) ;
- ce sont précisément les régions hypervariables qui forment le site Ac (figure 8).

Ainsi, et alors que pour toutes les autres protéines les variations semblent tolérées uniquement dans les parties non essentielles, pour les Ac c'est au niveau de la partie la plus essentielle de la molécule, à savoir le site actif, qu'on retrouve les variations les plus importantes. Ce qui est tout à fait compréhensible puisque ce sont justement ces variations qui font naître la diversité des Ac.



**Figure 8** Structure tridimensionnelle d'une hormone octapeptidique (l'angiotensine II) complexée au fragment Fab d'un anticorps monoclonal, fragment qui est l'unité de liaison à l'antigène de la molécule d'anticorps. Le peptide angiotensine II est représenté en rouge, la chaîne lourde en bleu et la chaîne légère en violet. [D'après KC Garcia et al., 1992, Science 257:502.]

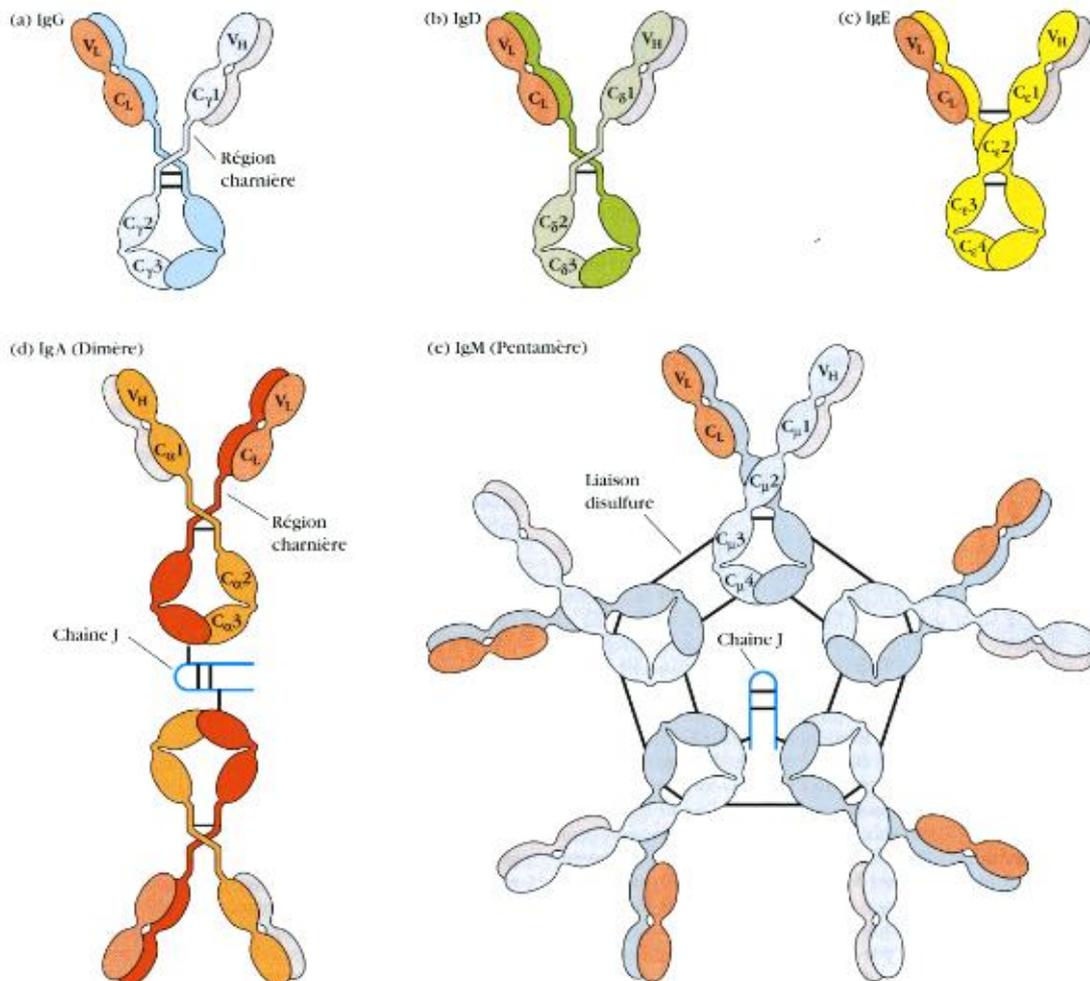
### 5) Dualité structurale et fonctionnelle des Ig

Les Ig exercent 2 types de fonction, la fonction Ac et des fonctions effectrices. Cette dualité fonctionnelle des Ig a pour support leur dualité structurale: la fonction Ac est assurée par les régions variables des Ig (domaines VH et VL) alors que les fonctions effectrices sont dues aux régions constantes des Ig (domaines CH et CL).

### III) Propriétés physico-chimiques et biologiques des Ig (Tableau I et Figure 9)

## 1) IgG

- 70 à 75 % du total des Ig sériques soit une concentration sérique de 7 à 14 g/l
- Monomère  $H_2L_2$
- 4 sous classes : IgG1 à IgG4 (IgG1 = 2/3 des IgG) (figure 10)
- Fixent le complément (sauf IgG4)
- Traversent la barrière placentaire (IgG2  $\pm$ )
- Cytophiles vis à vis des cellules phagocytaires : IgG1 et IgG3 surtout, IgG4  $\pm$

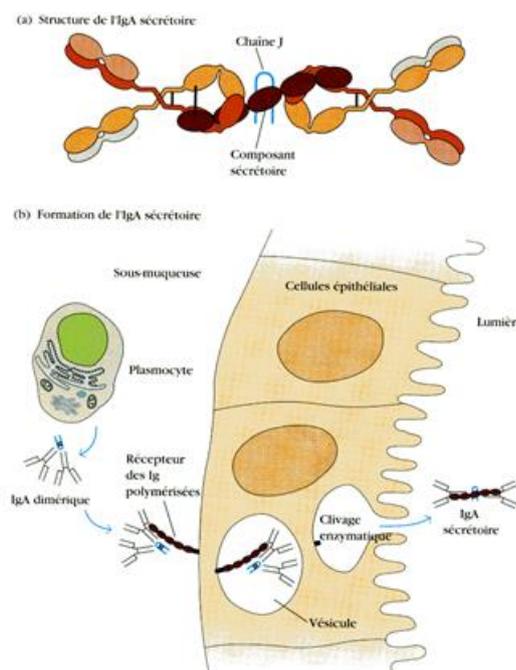


**Figure 9** Structures générales des cinq classes majeures d'anticorps sécrétés. Les chaînes légères sont représentées en rose, les ponts disulfure sont indiqués par des lignes noires épaisses. Remarquer que les chaînes lourdes de l'IgG, de l'IgA et de l'IgD (bleu, orange et vert, respectivement) contiennent quatre domaines et une région charnière, tandis que les chaînes lourdes de l'IgM et de l'IgE (violet et jaune, respectivement) contiennent cinq domaines mais pas de région charnière. Les formes polymériques de l'IgM et de l'IgA contiennent un polypeptide, appelé chaîne J, qui est lié par deux liaisons disulfure à la région Fc de deux monomères différents. L'IgM sérique est toujours un pentamère ; la plus grande partie de l'IgA sérique existe sous forme monomère, bien que certains dimères, trimères et même tétramères soient parfois présents. Les liaisons disulfure intrachânes et les liaisons disulfure reliant les chaînes légères et les chaînes lourdes ne sont pas représentées dans ces figures.

## 2) IgA

- 15 à 20 % du total des Ig sériques (2 à 4 g/l chez l'adulte)

- 2 types : IgA sériques et IgA sécrétoires
- 2 sous classes : IgA1 et IgA2. Les IgA2 représentent 7 % des IgA sériques mais près de la moitié des IgA sécrétoires.
- IgA sériques : essentiellement sous forme monomérique.
- IgA sécrétoires : essentiellement sous forme de dimère  $(H_2L_2)_2$ , avec chaîne J (jonction) et pièce sécrétoire S produite par les cellules épithéliales ; sont retrouvées dans les sécrétions nasales, salivaires, trachéo-bronchiques, gastro-intestinales et urogénitales, ainsi que dans le colostrum et le lait maternel (fig. 11).
- Les IgA sont capables, sous forme agrégée, d'activer la voie alterne du complément.
- Les IgA sont cytophiles pour les M $\phi$ , les PNN et les PNE (Fc $\alpha$ RI = CD89).



**Figure 11** Structure et formation de l'IgA sécrétoire. (a) L'IgA sécrétoire est constituée d'au moins deux molécules d'IgA qui sont unies par covalence à une chaîne J et au composant sécrétoire. Le composant sécrétoire contient cinq domaines de type immunoglobulinique et il est lié à l'IgA dimérique par une liaison disulfure entre son cinquième domaine et l'une des chaînes lourdes de l'IgA. (b) L'IgA sécrétoire est formée lors du transport à travers les cellules épithéliales des muqueuses. L'IgA dimérique se lie au récepteur des Ig polymérisées sur la membrane basolatérale d'une cellule épithéliale et elle est internalisée par endocytose médiée par un récepteur. Après transport du complexe récepteur-IgA vers la surface luminale, le récepteur des Ig polymérisées est clivé enzymatiquement, ce qui libère le composant sécrétoire lié à l'IgA dimérique.

### 3) IgM

- Représentent 10 % environ du total des Ig sériques : 1 à 2 g/l.
- Structure pentamérique  $(H_2L_2)_5$  avec une chaîne J (jonction) et sans région charnière, les IgM n'ont pas de région charnière.
- La chaîne lourde  $\mu$  comporte un domaine C $\mu$ 4 supplémentaire.
- Les IgM fixent très bien le complément mais ne traversent pas la barrière placentaire et ne sont pas cytophiles vis à vis des cellules phagocytaires.

- Les IgM sont les premiers à apparaître lors de la réponse humorale (réponse primaire), par la suite et en règle générale, les IgG et les IgA prennent la relève : c'est le phénomène de commutation isotypique ou "Switch".
- L'IgM existe aussi sous une forme monomérique à la surface des lymphocytes B, IgM membranaire ou de surface.

**Tableau I:** Caractéristiques physicochimiques et propriétés biologiques des différentes classes et sous-classes d'Immunoglobulines

<b>Caractéristiques physicochimiques et propriétés biologiques</b>	<b>IgG1</b>	<b>IgG2</b>	<b>IgG3</b>	<b>IgG4</b>	<b>IgA1</b>	<b>IgA2</b>	<b>IgM</b>	<b>IgE</b>	<b>IgD</b>
<b>Poids moléculaire (KDa)</b>	150	150	150	150	160/ 385	160/ 385	970	188	184
<b>Chaîne lourde</b>	$\gamma$ 1	$\gamma$ 2	$\gamma$ 3	$\gamma$ 4	$\alpha$ 1	$\alpha$ 2	$\mu$	$\epsilon$	$\delta$
<b>Taux sérique normal (g/l)</b>	7 à 14				2 à 4		1 à 2	0,0005	0,03
<b>Demi vie dans le sérum in vivo (jours)</b>	23	23	8	23	6	6	5	2,5	3
<b>Activation de la voie classique du complément</b>	+	+/-	++	-	-	-	+++	-	-
<b>Passage à travers le placenta</b>	+	+/-	+	+	-	-	-	-	-
<b>Présence sur la membrane des lymphocytes B matures</b>	-	-	-	-	-	-	+	-	+
<b>Liaison aux récepteurs Fc des phagocytes</b>	++	+/-	++	+	+	+	-	-	-
<b>Induction de la dégranulation des mastocytes</b>	-	-	-	-	-	-	-	++	-

Les niveaux d'activité sont indiqués comme suit : ++ = élevée ; + = modérée ; +/- = faible ; - = aucune

#### 4) IgE

- Présentes à l'état de traces dans le sérum humain normal ( $\approx 0,0005$  g/l, 100 milles fois moins que les IgG !)

- Les IgE n'ont pas de région charnière et leur chaîne lourde  $\epsilon$  comporte un domaine C $\epsilon$ 4 supplémentaire.
- Les IgE sont cytophiles vis à vis des PNE, des monocytes-M $\phi$  et des plaquettes qui toutes expriment un récepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (Fc  $\epsilon$ -RII ou CD23)  $\Rightarrow$  les IgE jouent un rôle important dans l'immunité anti-parasitaire (anti-helminthes).
- Les IgE sont cytophiles vis à vis des polynucléaires basophiles (PNB) et des mastocytes qui expriment un récepteur de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (Fc $\epsilon$ - RI)  $\Rightarrow$  les IgE jouent un rôle essentiel dans les réactions d'hypersensibilité immédiate (asthme, rhume des foins, choc anaphylactique...). Les PNE activés (par les cytokines, chémokines...) expriment ce récepteur de forte affinité.

### 5) **IgD**

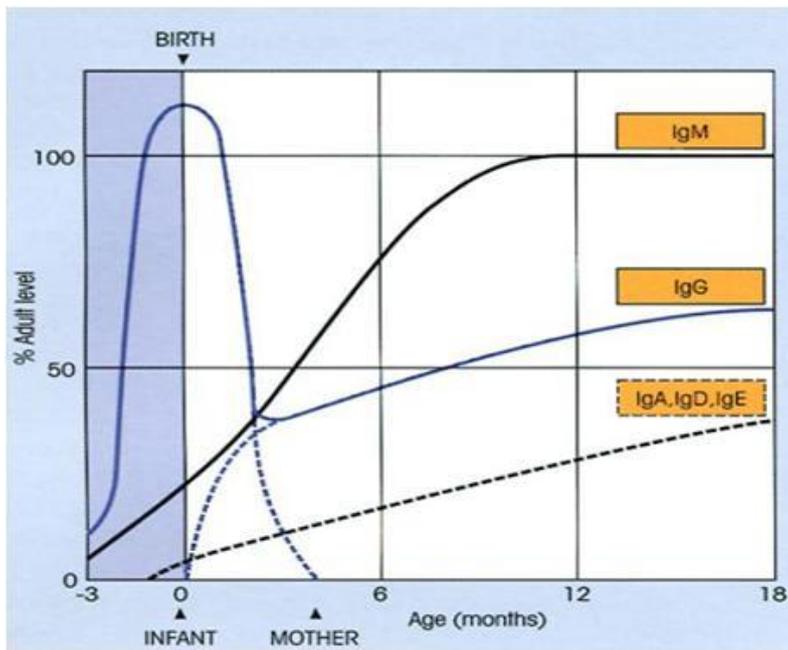
- Représentent moins de 1 % des Ig sériques,  $\approx$  0,03 g/l
- Rôle peu connu pour les IgD sériques.
- L'IgD membranaire représente, avec l'IgM membranaire, l'essentiel des Ig de surface des lymphocytes B.

## IV) **Phylogénie et Ontogénie des Ig**

Le développement du système immunitaire est progressif des vertébrés primitifs (une seule classe d'Ig qui ne fixe pas le complément) aux mammifères (5 classes d'Ig avec diverses fonctions effectrices).

La production des IgM suivie de celle des IgG commence entre la 10<sup>ème</sup> et la 15<sup>ème</sup> semaine de la vie fœtale. Les IgM sont les premiers à atteindre le niveau de l'adulte (8 à 12 mois) suivis des IgG (2 à 4 ans) puis des IgA (4 à 8 ans) (fig. 12).

Pendant les 3 premiers mois de la vie, l'essentiel des Ig du sang circulant du nouveau-né est représenté par les IgG maternelles transmises par voie fœto-placentaire et dont le taux baisse progressivement à partir de la naissance.



**Figure 12** : évolution du taux sérique des Ig chez le nouveau-né humain

## V) Polymorphisme génétique et propriétés antigéniques des Ig

Les Ac ou Ig sont des glycoprotéines, donc de bons Ag. Comme les autres glycoprotéines, les Ig portent des déterminants antigéniques.

On distingue trois types de déterminants antigéniques sur les Ig (figure 13):

### 1) Déterminants isotypiques

Présents chez tous les individus de la même espèce. Ils caractérisent l'espèce, la classe et la sous classe de l'Ig. Ils sont portés par les régions constantes des chaînes H et L. Ils traduisent un polymorphisme multigénique (9 loci CH chez l'Homme)

### 2) Déterminants allotypiques

Pour une classe ou une sous classe d'Ig donnée, ces déterminants sont variables d'un groupe d'individus à un autre au sein de la même espèce. Ils sont transmis selon les lois mendéliennes. Chez l'hétérozygote, les 2 allèles sont phénotypiquement exprimés. La variation allotypique traduit un polymorphisme multi-allélique mettant en jeu plusieurs allèles au même locus (ex : série Gm pour les IgG, Inv pour les chaînes  $\kappa$ ...).

Chaque allèle correspond au niveau de la molécule d'Ig à une ou plusieurs

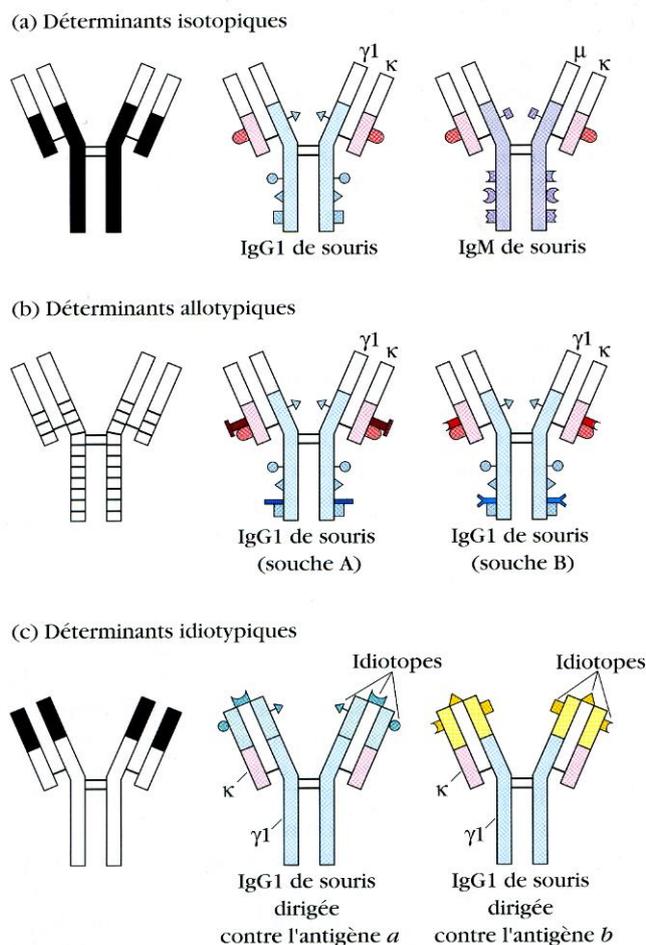
spécificités ou déterminants allotypiques qui constituent le motif allotypique ou allotype.

### 3) Déterminants idiotypiques

Ce sont des déterminants antigéniques particuliers aux Ac dirigés contre un Ag donné et synthétisés par un individu ou un groupe d'individus donnés.

Les déterminants idiotypiques sont localisés dans les régions variables VH et VL, ils varient donc chez le même individu d'un Ac à l'autre en fonction de la spécificité antigénique et, pour le même Ag, d'un individu à l'autre en fonction de la combinaison VH-VL utilisée pour produire l'Ac spécifique.

L'isotypie et l'allotypie sont des propriétés partagées par les autres protéines ; tandis que l'idiotypie est une propriété particulière aux Ig. L'ensemble des déterminants idiotypiques exprimés à la surface des régions VH et VL d'un Ac constituent l'idiotype de cet Ac.



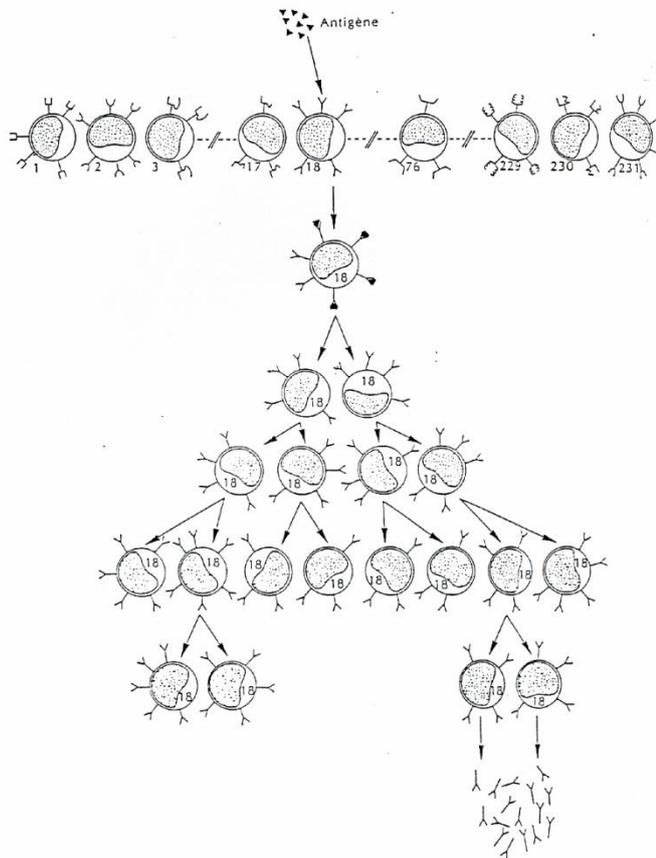
**Figure 13** : Déterminants antigéniques des Ig

## VI) Origine de la diversité des Ac, gènes codant pour les Ig

L'homme est capable de produire des Ac spécifiques contre n'importe lequel des millions d'Ag différents présents dans la nature, ou même contre les nouveaux antigènes synthétiques qu'il n'a jamais rencontrés au cours de son évolution. On estime qu'un individu produit plus d'Ac différents que de différents types d'autres protéines pour l'ensemble de l'organisme.

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce polymorphisme. Au début on a avancé l'hypothèse que l'Ac est une molécule modulable et que l'Ag induirait une transformation de la structure de cette molécule de façon à faire apparaître un site Ac qui lui est complémentaire: théories informatives.

Les progrès de la biologie moléculaire dans les années 50-60 ont discrédité cette hypothèse: l'Immunoglobuline est une protéine et à ce titre elle ne peut que traduire l'information génétique inscrite dans l'ADN. Les théories informatives ont donc été abandonnées au profit des théories sélectives de BURNET et JERNE (figure 14).



**Figure 14 :** Théorie de la sélection clonale

Pour Burnet et Jerne, chaque lymphocyte B ne peut produire qu'un seul type d'Ac et porte à sa surface un seul type de récepteur pour l'Ag (Ig membranaire) tous deux spécifiques d'un seul et même Ag. Lorsqu'un Ag pénètre dans l'organisme, il sélectionne et stimule la prolifération exclusive des clones de lymphocytes qui le reconnaissent spécifiquement.

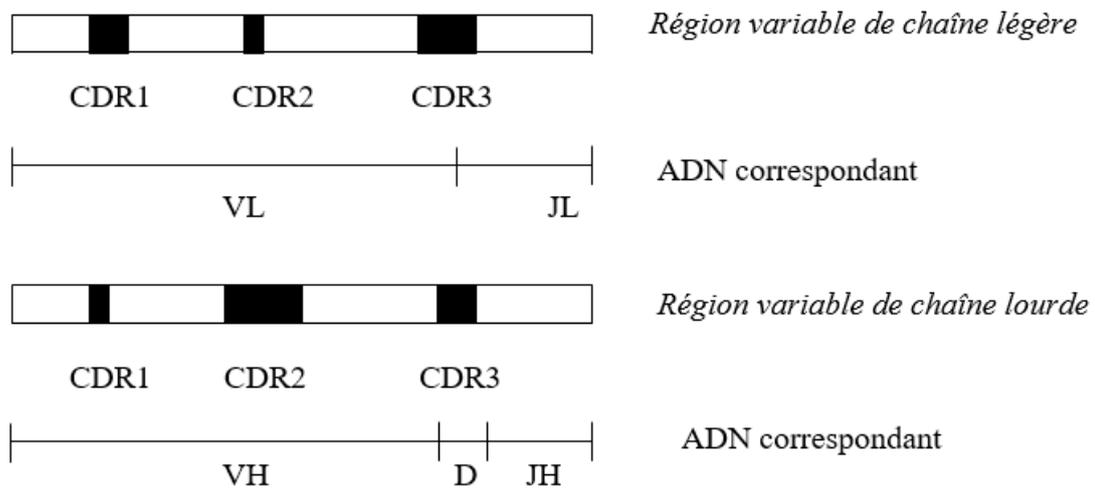
Cette théorie dite théorie de la sélection clonale suppose que chaque individu possède ou peut produire autant de types ou de clones de lymphocytes B qu'il existe d'Ag différents. Dans le cadre des théories sélectives, deux hypothèses ont été avancées par différents auteurs pour expliquer cela.

Les hypothèses germinales expliquent la diversité par un grand nombre de gènes inscrits dans le génome. Les hypothèses somatiques expliquent la diversité par les mutations somatiques survenant lors de l'ontogénèse des lymphocytes B à partir d'un nombre minimum de gènes V.

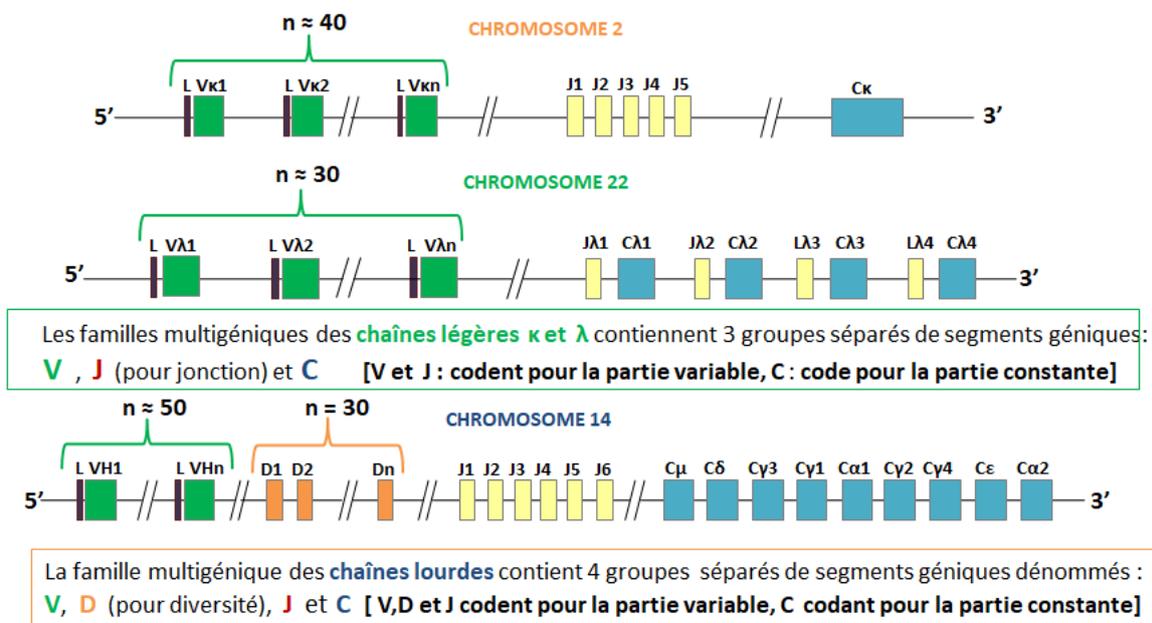
Avec la connaissance de plus en plus approfondie de la structure et de l'expression des gènes codant pour les Ig, on s'est acheminé vers une solution médiane entre ces deux hypothèses tout en reconnaissant un rôle important aux recombinaisons génétiques.

L'hypothèse de DREYER et BENETT émise pour expliquer le paradoxe de la grande variabilité de la région V contrastant avec la forte conservation de la région C a été rapidement confirmée par les travaux de TONEGAWA. La région variable et la région constante de chaque chaîne lourde ou légère sont codées chacune par un gène différent. De plus, la région variable est elle-même codée par 2 ou 3 gènes différents, 2 gènes, VL et JL, pour les chaînes légères (le gène J - pour jonction- codant pour les dix derniers aa du côté C-terminal) et 3 gènes, VH, D et JH, pour les chaînes lourdes (le gène D - diversité - codant pour 2 à 10 acides aminés interposés entre le segment VH et le segment JH) (figure 15).

Les gènes codant pour les Ig sont portés par 3 chromosomes différents, chromosome 2 pour les gènes de la chaîne légère  $\kappa$ , chromosome 22 pour ceux de la chaîne légère  $\lambda$  et chromosome 14 pour les gènes de la chaîne lourde H (ceci chez l'homme).



**Figure 15 :** Segments d'ADN codant pour les régions variables de chaînes légères et de chaînes lourdes où sont indiquées les zones hypervariables CDR.

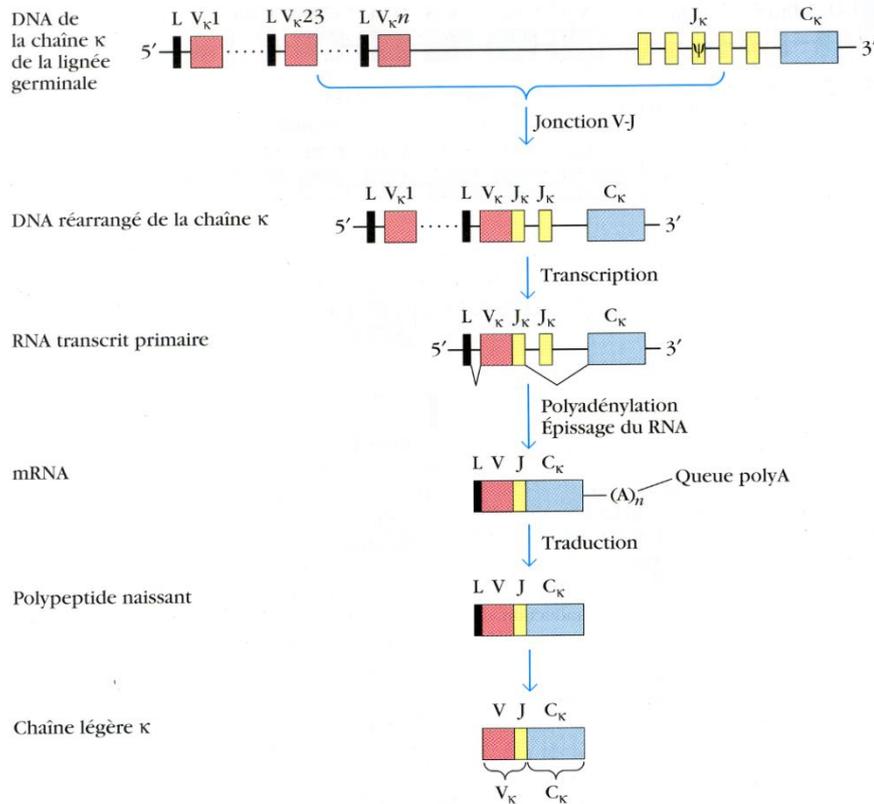


**Figure 16 :** organisation multigénique des gènes des Ig

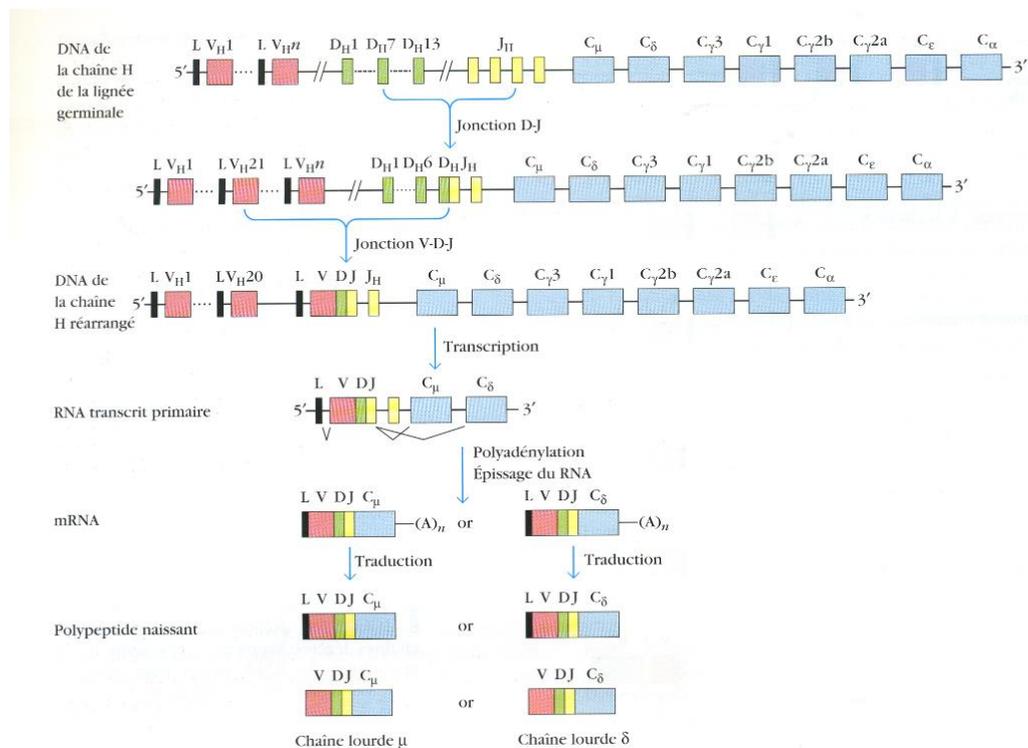
Au niveau des cellules ne synthétisant pas d'Ac (cellules germinales, cellules somatiques autres que les lymphocytes B et les plasmocytes), les gènes ou plutôt les segments génétiques (V, D et J) codant pour un même type de chaîne ( $\kappa$ ,  $\lambda$  ou H) occupent des positions éloignées sur le même chromosome (Figure 16).

Au niveau des lymphocytes B et des plasmocytes, un gène V, un gène D (pour les chaînes lourdes seulement), un gène J et un gène C se trouvent

rapprochés par des mécanismes de recombinaison génétique et rassemblés en un gène fonctionnel actif VJ-C ou VDJ-C (Figures 17 et 18).



**Figure 17 :** réarrangements géniques en vue de la synthèse d'une chaîne légère κ



**Figure 18 :** réarrangements géniques en vue de la synthèse d'une chaîne lourde d'Ig (souris)

Ainsi donc, la génération de la diversité des Ac peut s'expliquer par 5 mécanismes :

**1) Diversité germinale : Familles multigéniques germinales de gènes V (duplication des gènes V)**

Chaque gène VH ou VL est présent sur le chromosome correspondant en de très nombreux exemplaires, on compte chez l'Homme 30 à 50 gènes V et 4 à 6 gènes J pour chaque type de chaîne  $\kappa$ ,  $\lambda$  et H ; le gène D existe en une trentaine d'exemplaires (figure 16).

**2) Diversité combinatoire : Recombinaisons V-J et V-D-J**

La région variable VH est codée par 3 segments génétiques V, D et J ; il devient ainsi possible, avec les 50 gènes V, 6 gènes J et 30 gènes D et grâce aux recombinaisons génétiques aléatoires V-D-J, d'avoir jusqu'à 9000 gènes VH fonctionnels différents (Tableau II).

**Tableau II** : Effet cumulé des diversités germinale, combinatoire et associative\*

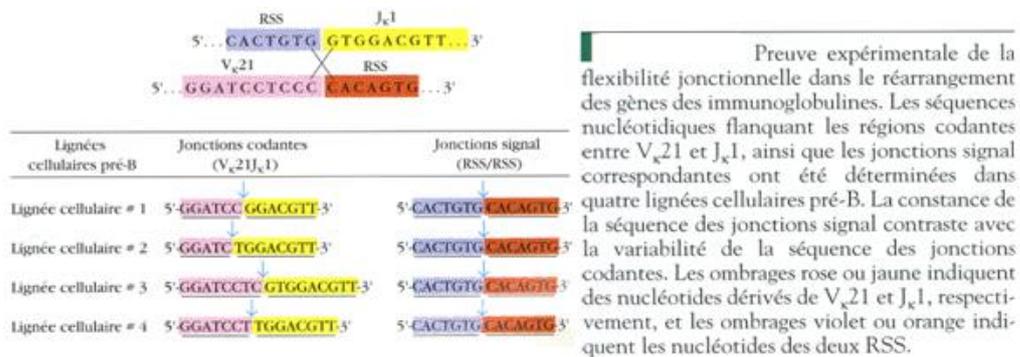
Segment génique	Chaîne lourde	Chaîne Kappa	Chaîne Lambda
V	50	40	30
D	30	0	0
J	6	5	4
Jonction V-J ou V-D-J	9000	200	120
Association Chaîne lourde et légère	$9\ 000 \times (200 + 120) \approx 3 \times 10^6$ *		

\* la diversité jonctionnelle et les mutations somatiques augmentent de façon exponentielle ces chiffres

**3) Diversité jonctionnelle : Variabilité de la jonction V-J et V-D-J lors de la recombinaison**

Les enzymes qui coupent l'ADN lors des recombinaisons ne sont pas très précises et peuvent ne pas le faire exactement à l'extrémité du gène V, D ou J à

couper ; la jonction peut ainsi fluctuer de quelques nucléotides en 3' ou en 5'. De plus et juste avant que les ligases ne raccommodent les 2 bouts d'ADN à joindre, la TdT ("terminal desoxynucleotidyl-transferase") peut venir rajouter quelques nucléotides de part et d'autre de la jonction (figure 19).



**Figure 19 : Diversité jonctionnelle**

#### 4) Association des chaînes lourdes et légères

Le site Ac étant partagé (VH et VL) et les chaînes légères ubiquitaires, une même région variable VH peut être associée indifféremment à l'une ou l'autre des régions variables V<sub>κ</sub> ou V<sub>λ</sub> constituant autant d'Ac différents. Ainsi, pour n combinaisons possibles V<sub>κ</sub>-J<sub>κ</sub>, p combinaisons possibles V<sub>λ</sub>-J<sub>λ</sub> et q combinaisons possibles VH-D-JH, le nombre de combinaisons VH-VL (donc d'Ac) possibles est de (n + p) x q.

Cette diversité associative est significativement amplifiée lors de l'ontogénie des lymphocytes B (et T aussi) lorsque la grande cellule pré-B (ou pré-B initiale) qui vient d'achever le réarrangement V-D-J et qui exprime une chaîne lourde μ, se met à se diviser 4 à 6 fois de suite avant d'amorcer le réarrangement des gènes de chaînes légères, chaque chaîne μ aura ainsi la possibilité de s'associer à une chaîne légère différente dans chacune des 16 à 64 petites cellules pré-B ainsi obtenues.

#### 5) Mutations somatiques

A la différence des mécanismes précédents communs avec les lymphocytes T et qui ont tous lieu dans la moelle osseuse au cours de la différenciation des lymphocytes B, ce dernier mécanisme est propre aux lymphocytes B et se déroule

en périphérie au cours des divisions cellulaires successives des lymphocytes B activés par la reconnaissance de l'Ag spécifique.

En effet, la plupart des lymphocytes B expriment des gènes V qui ont subi des mutations somatiques ponctuelles. Il existerait, en effet, un mécanisme actif d'hyper-mutation au niveau de la lignée lymphocytaire B (environ 1000 fois plus de mutations que dans les autres cellules somatiques). L'événement mutationnel serait associé au cours de la différenciation terminale du lymphocyte B à la commutation isotypique ou " *Switch* " (IgM vers IgG et IgA) et permettrait l'obtention de variants de l'Ac ayant une meilleure affinité pour l'Ag.

## **VII) Exclusion allélique ou haploïdie fonctionnelle**

Bien qu'ayant potentiellement la possibilité d'avoir 2 réarrangements productifs (un sur chacun des 2 chromosomes homologues) des gènes des chaînes lourdes et 4 pour les gènes des chaînes légères, le lymphocyte B n'arrive à réaliser qu'un seul réarrangement productif aussi bien pour les gènes des chaînes lourdes que pour les gènes des chaînes légères.

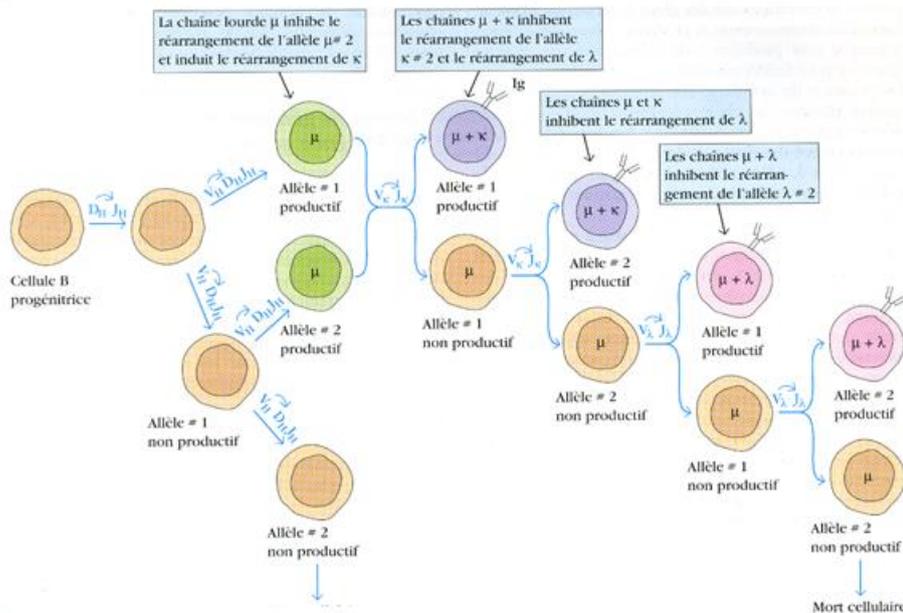
L'explication largement acceptée à l'heure actuelle à ce phénomène d'exclusion allélique est que le réarrangement des gènes H,  $\kappa$  et  $\lambda$  est ainsi ordonné (H puis  $\kappa$  puis  $\lambda$ ) au cours de l'ontogénèse du lymphocyte B et régulé par les produits de recombinaison selon un mécanisme de " *feed back* " actif (modèle ordonné régulé) (figures 20, 21).

## **VIII) Commutation isotypique ou " *Switch* "**

Au cours de l'ontogénèse du lymphocyte B, le premier gène fonctionnel qui se forme et s'exprime est un gène VH-D-JH-C qui code pour une chaîne  $\mu$ . Ultérieurement, le même gène VH-D-JH peut s'associer et/ou s'exprimer avec un autre gène CH pour former un autre type de chaîne lourde. Ce phénomène qui permet le changement de la région constante de la chaîne lourde tout en maintenant la même région variable est connu sous le nom de commutation isotypique ou " *Switch* ". Il fait intervenir des réarrangements supplémentaires au niveau de

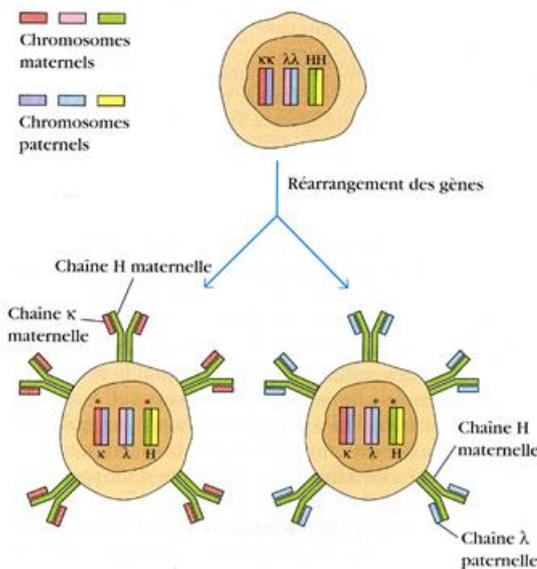
l'ADN : recombinaison intrachromosomique éliminant le gène  $C\mu$  et les gènes CH précédant celui à exprimer.

Des séquences particulières appelées S ("Switch") ont été mises en évidence en 5' de chaque gène CH sauf C $\delta$ .

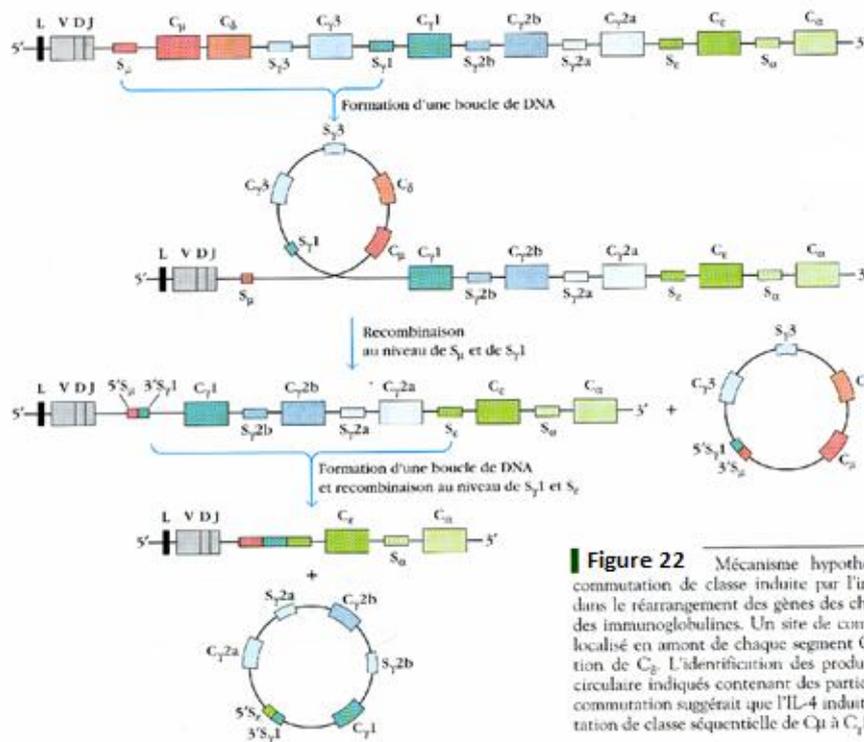


**Figure 20** Modèle d'explication de l'exclusion allélique. Les gènes des chaînes lourdes se réarrangent en premier et dès qu'un réarrangement productif des gènes des chaînes lourdes s'effectue, la protéine  $\mu$  produite prévient le réarrangement de l'autre allèle de chaîne lourde et initie le réarrangement des gènes des chaînes légères. Chez la souris, le réarrangement des gènes des chaînes légères  $\kappa$  précède celui des gènes  $\lambda$ , comme il est montré ici. Chez l'Homme, cependant, un réarrangement  $\kappa$

ou un réarrangement  $\lambda$  peut se produire dès qu'un réarrangement productif des chaînes lourdes a eu lieu. La formation d'une immunoglobuline complète inhibe le réarrangement ultérieur des gènes des chaînes légères. Lorsqu'un réarrangement non productif a lieu pour un allèle, la cellule tente alors le réarrangement de l'autre allèle. [Adapté de GD Yancopoulos et FW Alt, 1986, *Annu. Rev. Immunol.* 4:339.]



**Figure 21** En raison de l'exclusion allélique, les gènes des chaînes lourdes ou des chaînes légères des immunoglobulines d'un seul chromosome parental sont exprimés dans une cellule. Ce processus assure qu'une cellule B sera spécifique d'un épitope donné. La sélection de l'allèle de chaque paire qui sera réarrangé pour produire un gène fonctionnel se fait au hasard. Ainsi, l'immunoglobuline exprimée peut contenir une chaîne maternelle et une chaîne paternelle ou encore les deux chaînes peuvent dériver d'un seul parent. Seules les cellules B et les cellules T présentent une exclusion allélique. Les astérisques (\*) indiquent les allèles exprimés.



**Figure 22** Mécanisme hypothétique de la commutation de classe induite par l'interleukine 4 dans le réarrangement des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines. Un site de commutation est localisé en amont de chaque segment  $C_{\mu}$ , à l'exception de  $C_{\delta}$ . L'identification des produits d'excision circulaire indiqués contenant des parties des sites de commutation suggèrerait que l'IL-4 induit une commutation de classe séquentielle de  $C_{\mu}$  à  $C_{\gamma 1}$  puis à  $C_{\gamma 2}$ .

La commutation isotypique a lieu à la fin de la réponse Ac primaire et lors de la réponse secondaire (2<sup>ème</sup> contact avec le même Ag).

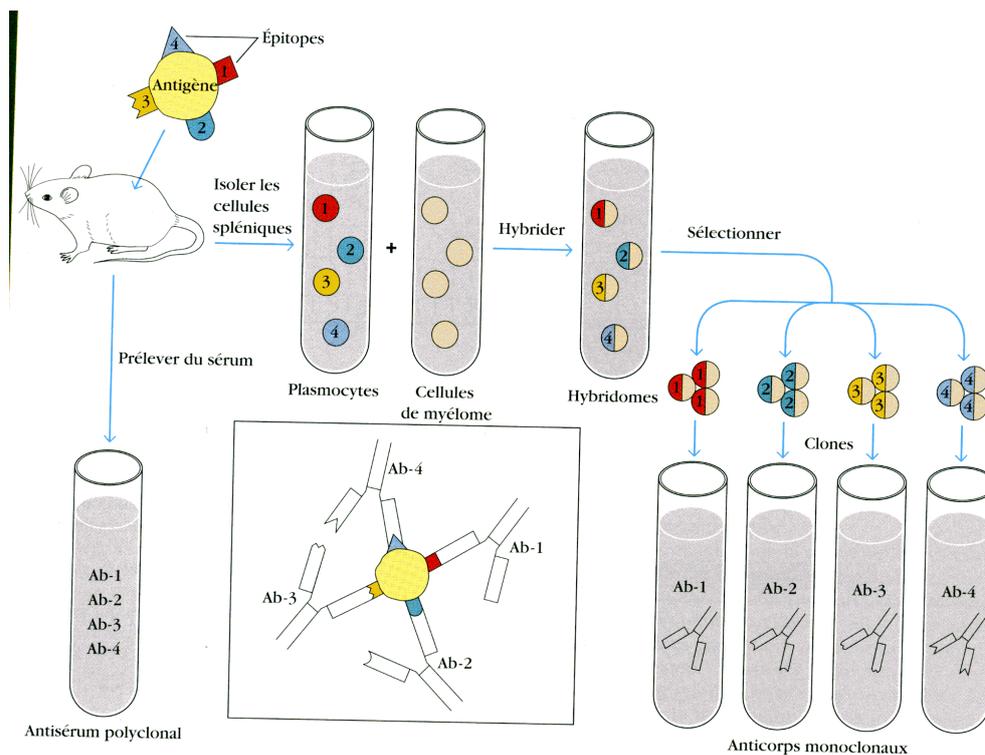
Les lymphocytes T interviennent dans le switch directement (contact B-T : CD40-CD40L) ou par le biais de certaines cytokines.

## IX) Anticorps monoclonaux

La plupart des antigènes possèdent de nombreux épitopes et, par conséquent, induisent la prolifération de différents clones de cellules B. Les Ac sériques ainsi obtenus sont constitués d'un mélange d'Ac, chacun d'eux étant spécifique d'un épitope. Ces Ac hétérogènes retrouvés dans l'immun-sérum (sérum de l'individu immunisé) sont appelés Ac polyclonaux. Une telle **réponse anticorps polyclonale** facilite la localisation, la phagocytose et la lyse médiée par le complément ou par une cellule K d'un antigène ou d'une cellule cible. Une telle réponse a clairement des avantages pour l'organisme *in vivo*. Malheureusement, l'hétérogénéité des Ac réduit souvent l'efficacité de l'antisérum dans différentes utilisations *in vitro*. Pour la plupart des applications en recherche, en diagnostic et en thérapeutique, les

**anticorps monoclonaux**, dérivés d'un clone unique et donc spécifiques d'un seul épitope, sont préférables.

La purification biochimique directe d'un Ac monoclonal à partir du sérum ou d'une préparation d'anticorps polyclonaux n'est pas réalisable. En 1975, Georges Köhler et Cesar Milstein ont conçu une méthode pour préparer un Ac monoclonal. En fusionnant une cellule B productrice d'Ac (normale activée) et une cellule de myélome (un lympho-plasmocyte cancéreux prétraité pour être non sécrétant), ils ont été capables de créer une cellule hybride, appelée **hybridome**, qui possède les propriétés d'immortalité de la cellule de myélome et sécrète l'Ac produit par la cellule B. Les clones de cellules d'hybridome qui en résultent et qui sécrètent chacun de très grandes quantités du seul et même Ac monoclonal peuvent être cultivés indéfiniment (figure 23).



**Figure 23 :** Le sérum polyclonal conventionnel produit en réponse à un antigène complexe contient un mélange d'anticorps, spécifique chacun d'un des quatre épitopes différents présents sur l'antigène représenté ici. En revanche, un anticorps monoclonal, dérivé d'un seul plasmocyte, est spécifique d'un épitope bien déterminé de la molécule d'antigène. Les grandes lignes de la méthode de base pour l'obtention d'un anticorps monoclonal sont illustrées sur ce schéma. L'astuce trouvée par les inventeurs de la technique pour être sûr que, pour tout puits de la plaque de culture où il y aura des cellules qui poussent, celles-ci ne peuvent l'avoir fait qu'à partir d'une seule et unique cellule au départ, est (l'astuce) de diluer les cellules hybrides dans le milieu de culture à une concentration de  $1/300 \mu\text{l}$  avant de répartir dans les plaques de culture à raison de  $100 \mu\text{l}$ /puits, comme ça on est sûr qu'il ne peut y avoir au départ qu'une cellule tous les 3 puits !

## X) Récepteurs pour le fragment Fc des Ig

Divers types de cellules effectrices expriment des récepteurs pour le fragment Fc des Ig (Fc-R). Il existe différents types de Fc-R (Fc $\gamma$ -R, Fc $\epsilon$ -R et Fc $\alpha$ -R) capables chacun de fixer, avec une plus ou moins forte affinité, le fragment Fc des Ig d'une même classe (IgG, IgE et IgA respectivement) indépendamment de leur spécificité antigénique et chaque type ou lignée cellulaire exprime un assortiment particulier de ces récepteurs.

Les récepteurs pour le fragment Fc des Ig font partie de la superfamille des Ig.

Le tableau III présente les différents Fc-R avec l'isotype d'Ig reconnu, l'affinité de cette liaison, la distribution cellulaire et la ou les fonctions effectrices mises en jeu (après fixation) pour chacun.

**Tableau III : Récepteurs membranaires pour le fragment Fc des Ig**

Récepteur	Classe d'Ig	Affinité	Distribution cellulaire	Fonctions
Fc $\gamma$ RI = CD64	IgG	Forte (10 <sup>-8</sup> M)	M $\phi$ , DC (PN N et PNE activés)	Oponisation
Fc $\gamma$ RII = CD32		Moyenne (2x10 <sup>-6</sup> M)	PNN, M $\phi$ , PNE, plaquettes	Phagocytose
Fc $\gamma$ RIII=CD16		Faible (5x10 <sup>-5</sup> M)	PNN, M $\phi$ , NK, PNE	ADCC
Fc $\epsilon$ RI	IgE	Forte (10 <sup>-9</sup> à 10 <sup>-10</sup> M)	Mastocytes, PNB (PNE activés)	HSI (type I)
Fc $\epsilon$ RII = CD23		Faible 10 <sup>-6</sup> M	PNE, M $\phi$	ADCC
Fc $\alpha$ RI= CD89	IgA	Moyenne (10 <sup>-7</sup> M)	M $\phi$ , PNN (PNE activés)	Phagocytose ADCC

## XI) Fonctions des immunoglobulines

La réponse immunitaire est basée sur des phénomènes de reconnaissance moléculaire se développant en solution ou à la surface des cellules. Les Ig jouent un rôle essentiel dans la réponse immunitaire puisqu'elles fonctionnent à

la fois comme récepteur soluble ou membranaire. L'Ag est reconnu par les domaines variables des chaînes lourdes et légères, les domaines constants étant eux reconnus, après liaison de l'Ag, par divers systèmes effecteurs tels que le complément, les récepteurs cellulaires pour le fragment Fc des Ig et les récepteurs placentaires.

### **1) Récepteur pour l'Ag**

La plupart des récepteurs membranaires sont composés d'une chaîne polypeptidique unique assurant à la fois les fonctions de reconnaissance et celles de couplage aux effecteurs intracellulaires. De manière contrastée, le récepteur pour l'Ag du lymphocyte B (BCR), tout comme celui du lymphocyte T (TCR), est un complexe multicaténaire où les fonctions de reconnaissance et les fonctions de couplage aux effecteurs intracellulaires sont attribuées à des chaînes polypeptidiques distinctes.

La fixation de l'Ag sur l'Ig de surface (sIg) du lymphocyte B provoque l'activation, la prolifération et la différenciation terminale de cette cellule.

Après la fixation spécifique de l'Ag sur le site Ac des Ig membranaires et le pontage de celles-ci, la transmission du signal d'activation au lymphocyte B est assurée par un complexe moléculaire analogue à celui qui entoure le récepteur de l'Ag à la surface du lymphocyte T ou TCR (figures 24, 25). Ce complexe comprend un hétérodimère

covalent  $Ig\alpha-Ig\beta$  (ou MB1-B29 correspondant aux CD79 a et b). Le lymphocyte B activé devient sensible aux signaux permettant sa prolifération par divisions cellulaires successives et sa différenciation terminale en plasmocyte sécréteur d'Ac ou en lymphocyte B mémoire à longue durée de vie. Ces signaux sont fournis par les interactions cellulaires directes avec le lymphocyte T helper spécifique du même Ag ou par l'intermédiaire des cytokines qu'il secrète.

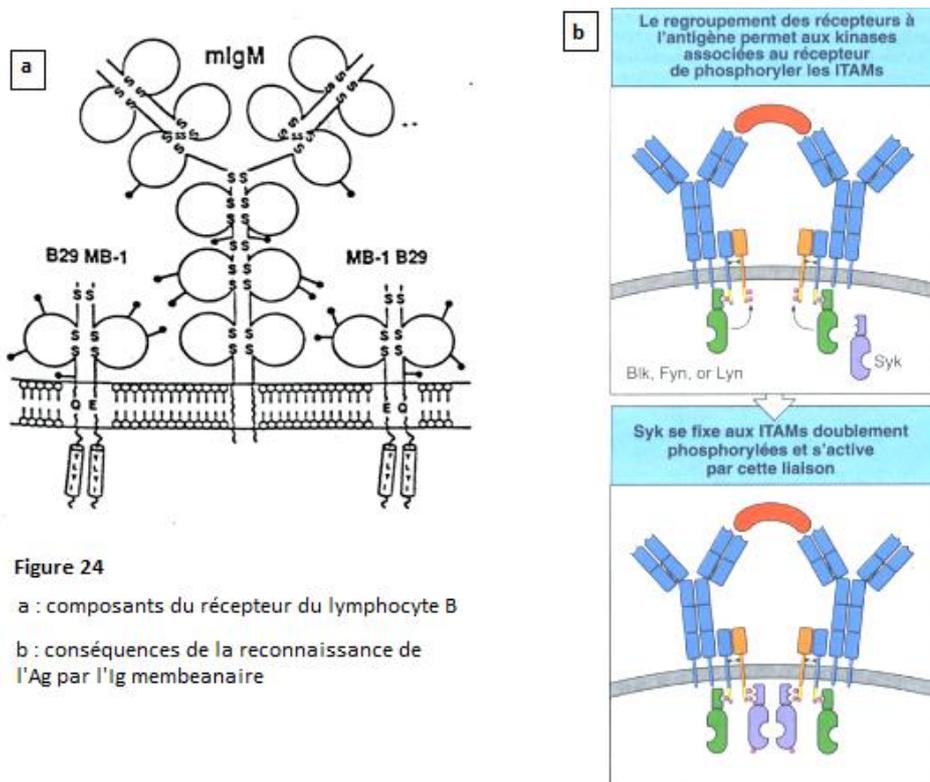


Figure 24

a : composants du récepteur du lymphocyte B

b : conséquences de la reconnaissance de l'Ag par l'Ig membranaire

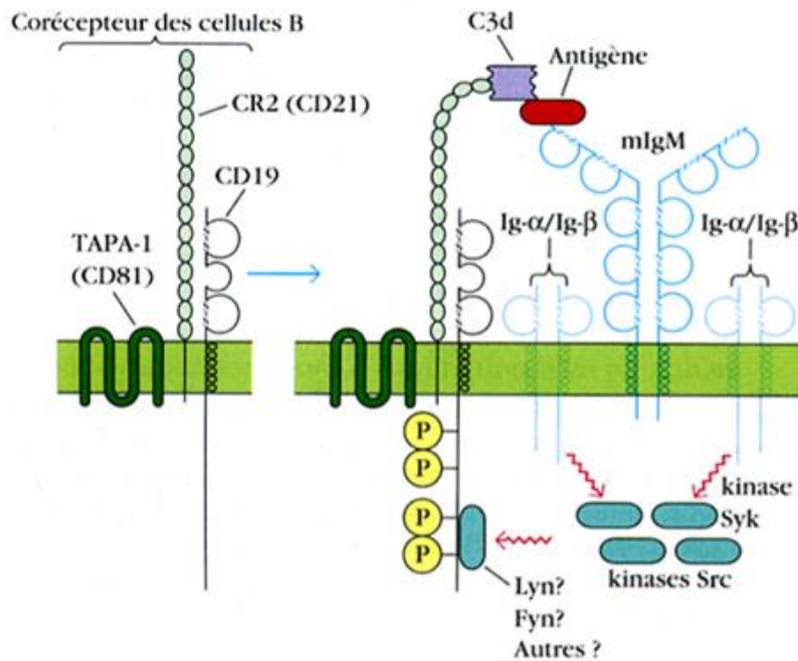


Figure 25 :

corécepteur des cellules B, composition et rôle dans l'activation du lymphocyte B

## 2) Rôle des anticorps dans l'immunité anti-infectieuse

### a) Neutralisation des exotoxines bactériennes

Elle a été à l'origine des premières applications de prophylaxie anti-infectieuse par la sérothérapie et la vaccination. L'Ac fixé sur la toxine prévient la fixation cellulaire et la pénétration de la toxine et/ou de ses sous-unités (exotoxines

tétanique, diphtérique et botulinique).

### **b) Bactériolyse dépendante du complément**

Les Ac de classe IgG ou IgM fixés sur la paroi de certaines bactéries gram négatif (*Neisseria gonorrhoeae* et *Méningitidis*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*...) entraînent la lyse bactérienne par action du complexe C5-b9 du complément. En dehors du *Neisseria*, l'action du complément doit être associée à l'action lytique du lysozyme sur les couches sous-jacentes de la paroi bactérienne.

### **c) Opsonisation et stimulation de la phagocytose**

Les Ac jouent un rôle important dans les mécanismes cellulaires de défense antibactérienne en facilitant la phagocytose des bactéries à multiplication extracellulaire (pneumocoques, streptocoques, staphylocoques, certains méningocoques et entérobactéries...)

Les Ac fixés sur les bactéries favorisent leur ingestion par les cellules phagocytaires (polynucléaires et monocytes-macrophages) en permettant l'ancrage des bactéries par fixation du fragment Fc des Ig sur les récepteurs membranaires spécifiques des cellules phagocytaires (figure 26). Cette action des Ac est complétée et renforcée par la participation des fragments C3b, C4b et iC3b du complément. Les cellules phagocytaires portent à leur surface les 3 types de récepteurs pour le fragment Fc des IgG (Fc $\gamma$ -RI = CD64, Fc $\gamma$ -RII = CD32 et Fc $\gamma$ -RIII = CD16) ainsi que les récepteurs pour les fragments C3b, C4b (CR1 = CD35) et iC3b (CR3 = CD11b/CD18 et CR4 = CD11c/CD18) du complément.

### **d) Neutralisation des virus**

L'Ac fixé sur le virus prévient la fixation cellulaire et la pénétration du virus (figure 27). C'est un mécanisme important dans l'immunité de guérison des infections virales dues à des virus à dissémination extracellulaire. De plus, les Ac jouent un rôle essentiel dans l'immunité de prévention des infections virales (ex : Ac anti-HBs induits par le vaccin contre l'hépatite B)

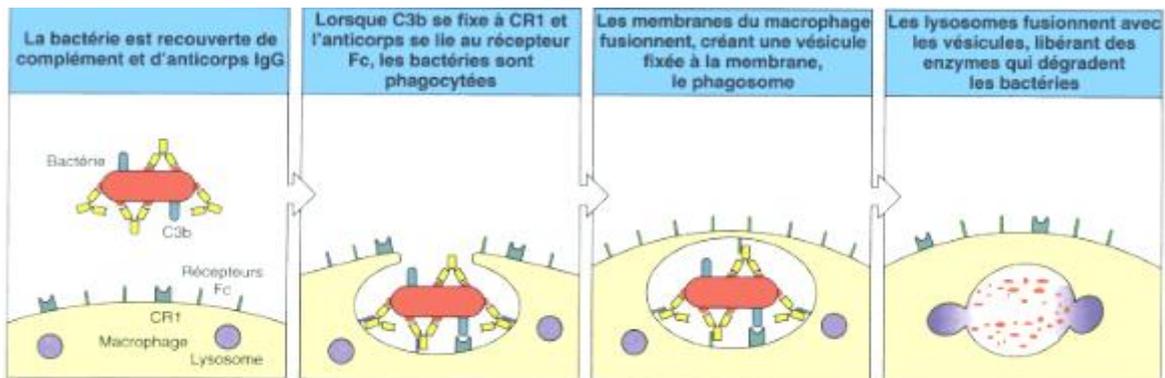


Figure 26

**Les récepteurs Fc et les récepteurs du complément des phagocytes induisent la capture et la dégradation des bactéries couvertes d'anticorps.** De nombreuses bactéries résistent à la phagocytose par les macrophages et les neutrophiles. Les anticorps fixés à ces bactéries permettent qu'elles soient ingérées et dégradées grâce à l'interaction entre les domaines Fc des anticorps recouvrant la surface bactérienne avec les récepteurs Fc de la surface des phagocytes. La fixation de l'anticorps induit aussi l'activation du système du complément et la fixation des composants du complément à la surface bacté-

rienne. Ceux-ci peuvent interagir avec les récepteurs du complément (par exemple CR1) sur le phagocyte. Les récepteurs Fc et les récepteurs du complément entrent en synergie pour induire la phagocytose. En effet, les bactéries recouvertes d'anticorps de type IgG et de complément sont plus facilement ingérées que celles qui ne sont recouvertes que d'anticorps IgG. La fixation des récepteurs Fc et des récepteurs du complément envoie un signal au phagocyte pour augmenter l'activité phagocytaire, fusionner les lysosomes et les phagosomes et amplifier l'activité bactéricide.

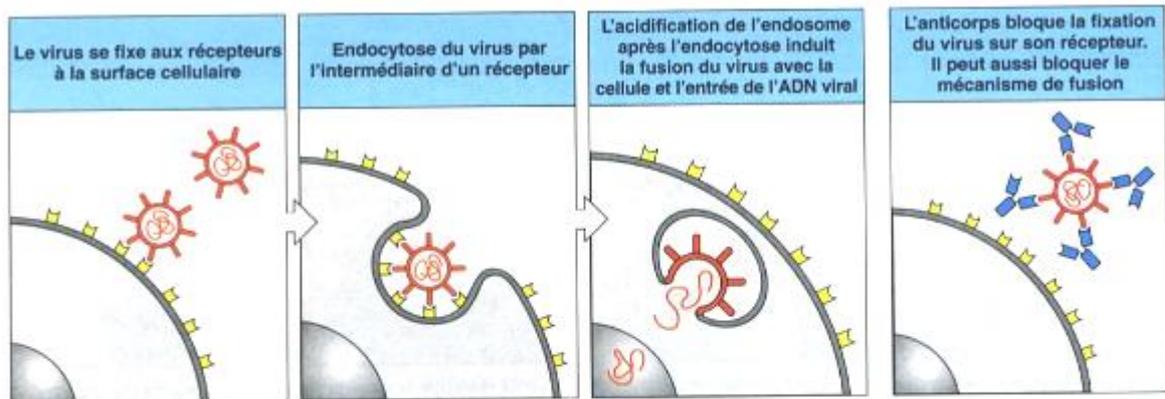


Figure 27

**L'infection virale des cellules peut être bloquée par des anticorps neutralisants.** La multiplication d'un virus dans une cellule nécessite que le virus ait introduit ses gènes dans la cellule. La première étape de cette entrée est généralement la fixation du virus à un récepteur de la surface cellulaire. L'entrée des virus enveloppés dans le cytoplasme, comme le montre la figure, nécessite la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire. Pour certains virus, la

fusion a lieu à la surface de la cellule (non montré). Pour d'autres, la fusion ne peut se produire que dans l'environnement plus acide des endosomes, comme on le voit sur la figure. Les virus non enveloppés peuvent aussi se fixer à des récepteurs membranaires, ils entrent dans le cytoplasme en détruisant les endosomes. Les anticorps fixés à la surface virale neutralisent le virus, inhibant à la fois sa fixation à la cellule et dès lors son entrée dans la cellule.

### e) Cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC)

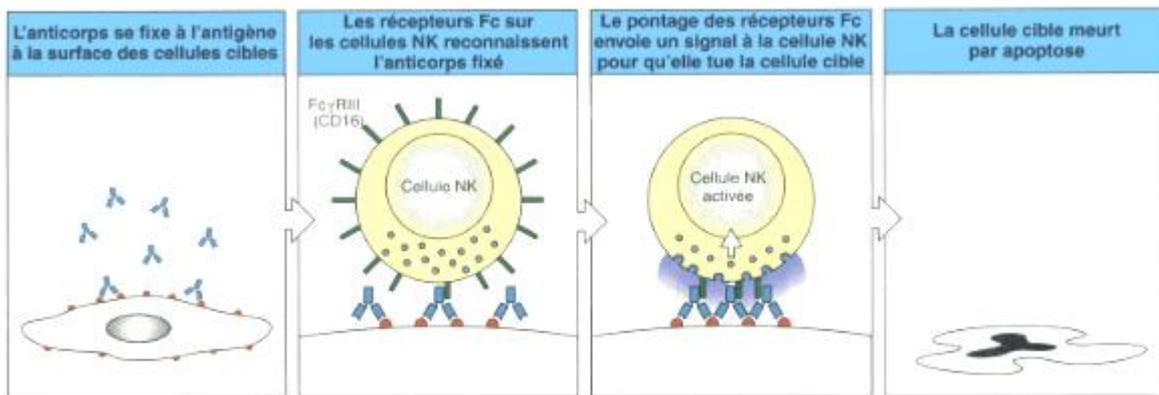
Ce type de cytotoxicité est dû aux cellules K ou cellules "Killer".

Les cellules K sont des cellules cytotoxiques pourvues de récepteurs membranaires pour le fragment Fc des Ig.

Grâce à ses récepteurs pour le fragment Fc des Ig, la cellule K s'attache indirectement au micro-organisme recouvert d'Ac spécifiques en liant le fragment Fc de ces Ac. La cellule K ainsi activée libère des substances lytiques qui tuent le micro-organisme. L'Ac assure ainsi la spécificité de l'action lytique, qui elle, est exercée par la cellule K.

Ce mécanisme d'ADCC semble intervenir dans le contrôle de certaines

infections virales. Les Ac impliqués sont de classe IgG, les cellules killer sont surtout des cellules NK (figure 28).

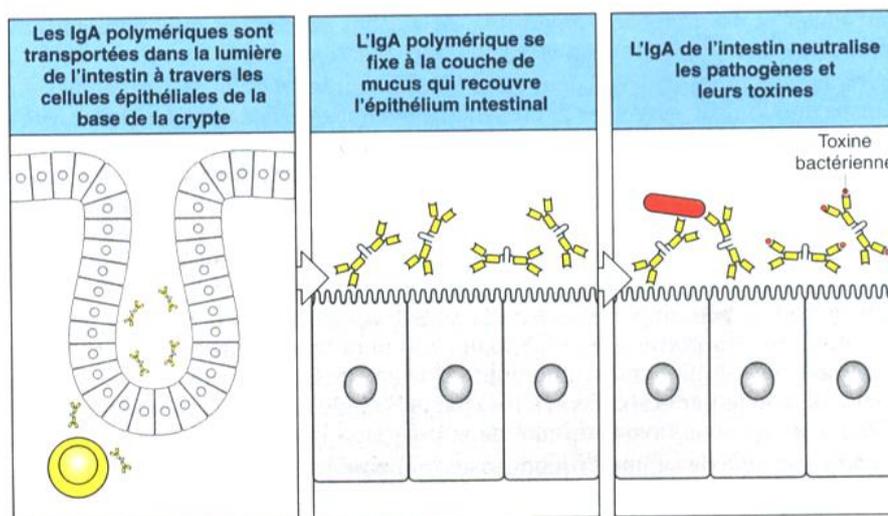


**Figure 28**  
 Les cellules cibles recouvertes d'anticorps peuvent être tuées par les cellules NK par le mécanisme de cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC). Les cellules NK (voir chapitre 2) sont des cellules lymphoïdes non-T non-B avec de grands granules qui possèdent le récepteur Fc $\gamma$ RIII (CD16) à leur surface. Lorsque ces cellules rencontrent une cellule recouverte d'anticorps de type IgG, elles tuent rapidement la cellule cible. L'importance de l'ADCC dans la défense de l'hôte ainsi que dans les lésions tissulaires est encore controversée.

Ce mécanisme joue un rôle très important dans le contrôle de nombreuses infections parasitaires. Les Ac impliqués peuvent être de classe IgG ou IgE. L'essentiel de l'activité Killer est dû aux macrophages et aux PNE.

#### f) Prévention de la fixation des micro-organismes sur les cellules épithéliales des muqueuses

En se fixant sur les micro-organismes pathogènes, les IgA sécrétoires empêchent leur fixation sur les cellules épithéliales des muqueuses (digestives, bronchiques, urogénitales, etc.) et par la même le démarrage du processus infectieux (figure 29).



**Figure 29** : rôle des IgA dans l'immunité des muqueuses

**g) Expulsion des vers intestinaux par hypersensibilité immédiate  
(HSI ou type I de Gell et Coombs)**

Dans les infections intestinales à nématodes ou à cestodes, l'expulsion des vers s'accompagne d'une hyperplasie mastocytaire de la muqueuse intestinale, d'une hypersécrétion de mucus et d'une forte réaction inflammatoire locale. Le rejet des parasites coïncide avec la dégranulation des mastocytes.

Les mastocytes expriment une forte densité de récepteurs de haute affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-R1). La fixation des vers sur les Ac spécifiques de classe IgE, liés par leur fragment Fc sur la membrane des mastocytes intestinaux, active ces cellules.

L'activation des mastocytes se traduit, d'une part, par la libération immédiate des médiateurs stockés dans leurs granules intracytoplasmiques et, d'autre part, par la libération dans un deuxième temps de médiateurs néoformés dérivés des phospholipides membranaires. Ces médiateurs stockés et néosynthétisés sont responsables, directement et/ou par l'intermédiaire des cellules qu'ils recrutent, de la réaction inflammatoire locale et de l'hypersécrétion de mucus qui contribuent à l'expulsion des parasites.

# LE RECEPTEUR POUR L'ANTIGENE DU LYMPHOCYTE T

Dr Hatem MASMOUDI

---

## Objectifs éducationnels

1. Décrire la structure du récepteur pour l'antigène du lymphocyte T : le TCR et le CD3
  2. Préciser les fonctions de chacune de ces 2 composantes et celle des molécules accessoires
  3. Définir la notion de super-antigène
  4. Décrire l'organisation et l'expression des gènes codant pour le TCR
  5. Décrire les différents mécanismes à l'origine de la diversité du TCR
- 

## I- Introduction

La différence majeure qui sépare les vertébrés des animaux inférieurs au niveau du système immunitaire est l'apparition des cellules lymphoïdes qui sont :

- dotées de récepteurs spécifiques pour l'antigène (Ag), BCR correspondant aux immunoglobulines de surface (sIg) ou membranaires (Igm) pour les lymphocytes B et TCR ("T Cell Receptor") pour les lymphocytes T,
- capables de prolifération en périphérie.

Chaque lymphocyte B ou T n'exprime à sa surface qu'un seul type de récepteur dirigé contre un Ag bien déterminé. Mais, pris globalement, les lymphocytes sont caractérisés par l'extraordinaire diversité de leur répertoire de reconnaissance de l'Ag. Lorsqu'un Ag étranger pénètre dans l'organisme, il va se fixer sur (ou il est pris en charge par) le ou les lymphocytes B et T qui le reconnaissent spécifiquement. Les lymphocytes ainsi sélectionnés sont activés et vont entrer dans une phase d'expansion clonale et de différenciation terminale aboutissant à la mise en place de différents types de réponses immunitaires toutes ciblées contre l'Ag de départ. C'est là l'essence même des réponses immunitaires spécifiques (humorales et cellulaires). La fixation de l'Ag sur ses récepteurs membranaires spécifiques à la surface des lymphocytes constitue ainsi le point de départ des réponses immunitaires spécifiques.

## II- Structure du récepteur pour l'Ag du lymphocyte T

La plupart des récepteurs hormonaux et autres sont formés d'une seule chaîne polypeptidique qui assure à la fois les fonctions de reconnaissance (fixation de l'hormone...) et celles de couplage aux effecteurs intracellulaires notamment aux protéines G.

Par contre, le récepteur pour l'Ag des lymphocytes T (comme celui des lymphocytes B) est un complexe multimoléculaire formé de plusieurs chaînes polypeptidiques intimement liées entre elles et où les fonctions de reconnaissance (fixation de l'Ag) et les fonctions de couplage (transmission du signal d'activation) sont assurées par des chaînes polypeptidiques différentes :

- les fonctions de reconnaissance sont assurées par le TCR (ou  $T_i$ ) ;
- les fonctions de couplage sont assurées par le CD3 (ou T3).

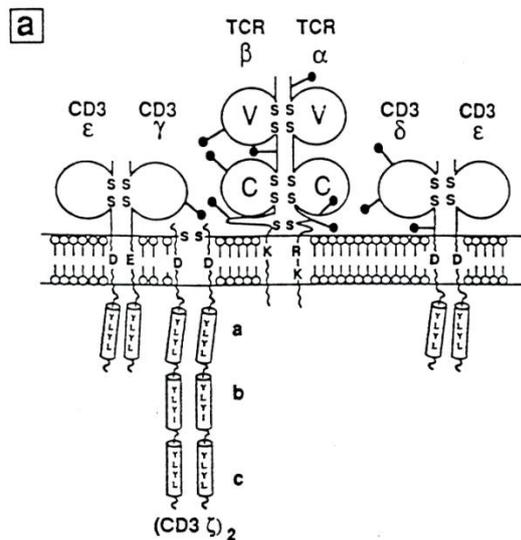
### **1) Le TCR**

C'est un hétérodimère formé de 2 chaînes polypeptidiques ( $\alpha$  et  $\beta$ , ou  $\gamma$  et  $\delta$ ) qui sont exprimées de façon exclusive à la surface des lymphocytes T. Chaque lymphocyte T exprime à sa surface plusieurs copies strictement identiques d'un seul type de TCR, soit  $\alpha/\beta$  soit  $\gamma/\delta$ . Les lymphocytes T à TCR de type  $\gamma/\delta$  sont prédominants au cours de l'embryogénèse. Chez l'adulte, ils ne représentent que 5 à 10 % des lymphocytes T circulants et sont retrouvés surtout au niveau des épithéliums des muqueuses (lymphocytes intra-épithéliaux ou IEL). Le TCR est constitué de 2 chaînes polypeptidiques de 40 à 60 KDa chacune. Chaque chaîne comporte une longue portion extracellulaire, une portion transmembranaire et une très courte portion intracytoplasmique. La portion extracellulaire est constituée de 2 régions, une région variable V et une région constante C, correspondant chacune à un domaine d'une centaine d'acides aminés avec un pont disulfure interne. La fixation de l'Ag en association avec une molécule HLA est assurée par les 2 régions variables qui comporte chacune 4 zones hypervariables HV1, HV2, HV3 et HV4.

### **2) Le CD3**

C'est un complexe formé de 4 types de chaînes polypeptidiques ( $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  et  $\xi$ ) associées sous forme de paires de part et d'autre du TCR ( $\gamma\epsilon$ ,  $\delta\epsilon$  et  $\xi\xi$ ). Les

portions extracellulaires des chaînes  $\gamma$ ,  $\delta$  et  $\epsilon$  ont une structure en domaine. La portion intracytoplasmique de chacune des chaînes  $\gamma$  (gamma),  $\delta$  (delta),  $\epsilon$  (epsilon) et  $\zeta$  (zêta) du CD3 contient au moins une copie d'un domaine fonctionnel d'une vingtaine d'acides aminés appelé ITAM ("Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif"), incluant la séquence consensus (YXXL/I) 2 et assurant le couplage aux effecteurs intracellulaires et par la même, la transmission du signal d'activation.



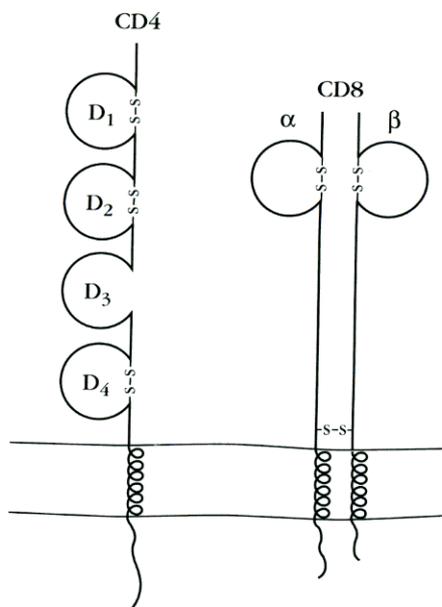
### III- Fonctions du récepteur pour l'Ag du lymphocyte T

#### 1) Reconnaissance de l'Ag

Elle est assurée par le TCR représenté par l'hétérodimère  $\alpha/\beta$  ou  $\gamma/\delta$ . Contrairement à l'Ig membranaire du lymphocyte B, le TCR comporte un seul site de reconnaissance. Ce sont les régions variables et plus particulièrement les zones hypervariables HV1, HV2, HV3 et HV4 qui assurent la reconnaissance de l'Ag. Cette reconnaissance est restreinte par les molécules codées par le complexe majeur d'histocompatibilité (MHC) qui correspond au système HLA chez l'homme. En effet, le TCR reconnaît à la fois l'Ag et une zone polymorphe (variable) de la molécule HLA (classe I pour les lymphocytes TCD8<sup>+</sup> et classe II pour les lymphocytes TCD4<sup>+</sup>). La reconnaissance de l'Ag par le lymphocyte T

nécessite donc un contact cellulaire direct entre le lymphocyte T et la cellule qui présente l'Ag.

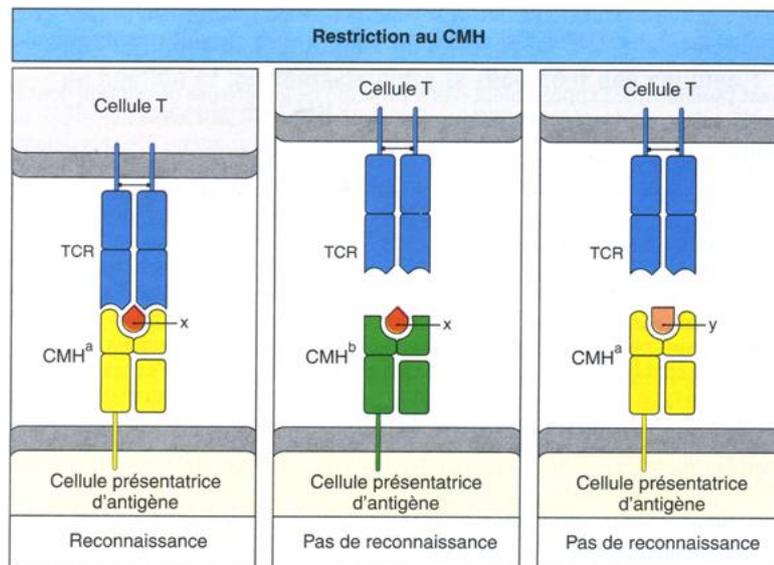
Ce contact initié par l'interaction spécifique TCR-Ag, est renforcé et stabilisé par des molécules d'adhésion intercellulaire notamment CD4 et CD8 qui reconnaissent une portion monomorphe des molécules HLA classe II et classe I respectivement, mais aussi LFA-1 (ou CD11a/CD18), CD2 et CD28 qui interagissent respectivement avec ICAM-1 (ou CD54), LFA-3 (ou CD58) et B7/BB1 (ou CD80) à la surface de la cellule qui présente l'Ag.



**FIGURE 9.10** Structure générale des corécepteurs CD4 et CD8. Le CD8 peut prendre la forme d'un hétérodimère  $\alpha\beta$  ou celle d'un homodimère  $\alpha\alpha$ . La molécule de CD4 monomérique contient quatre domaines présentant le repliement immunoglobulinique, tandis que chaque chaîne de la molécule de CD8 contient un seul domaine présentant le repliement immunoglobulinique.

Généralement, le lymphocyte T ne reconnaît pas l'Ag natif mais un peptide antigénique de 10 à 20 acides aminés environ obtenu après dégradation partielle de la molécule native et exprimé à la surface d'une cellule du soi en association avec une molécule HLA du soi, c'est la restriction allogénique.

Le peptide antigénique est logé à l'intérieur d'une sorte de niche ou de poche à la surface de la molécule HLA. Sur le même Ag, les lymphocytes T et les lymphocytes B ne reconnaissent pas la même structure. Les expériences de Mitchinson l'ont bien démontré dans le modèle haptène-protéine porteuse : le lymphocyte T se fixe sur la protéine porteuse, tandis que le lymphocyte B se fixe sur l'haptène.



**Fig. 5.16 La reconnaissance des antigènes par les cellules T est restreinte par le CMH.** Le récepteur à l'antigène des cellules T (TCR) reconnaît un complexe formé du peptide et du CMH. En conséquence, une cellule T spécifique d'un peptide x et d'un allèle du CMH particulier, CMH<sup>a</sup> (à gauche), ne reconnaîtra pas le complexe du même peptide x avec le CMH<sup>b</sup> (au centre) ou le complexe du peptide y avec le CMH<sup>a</sup> (à

droite). La reconnaissance conjointe du peptide et du CMH est appelée restriction par le CMH, parce que la molécule du CMH « restreint » la capacité de reconnaissance antigénique de la cellule T. Cette restriction peut soit résulter d'un contact direct entre la molécule du CMH et le récepteur de la cellule T ou être un effet indirect du polymorphisme du CMH sur les peptides qui se fixent ou sur la conformation du complexe.

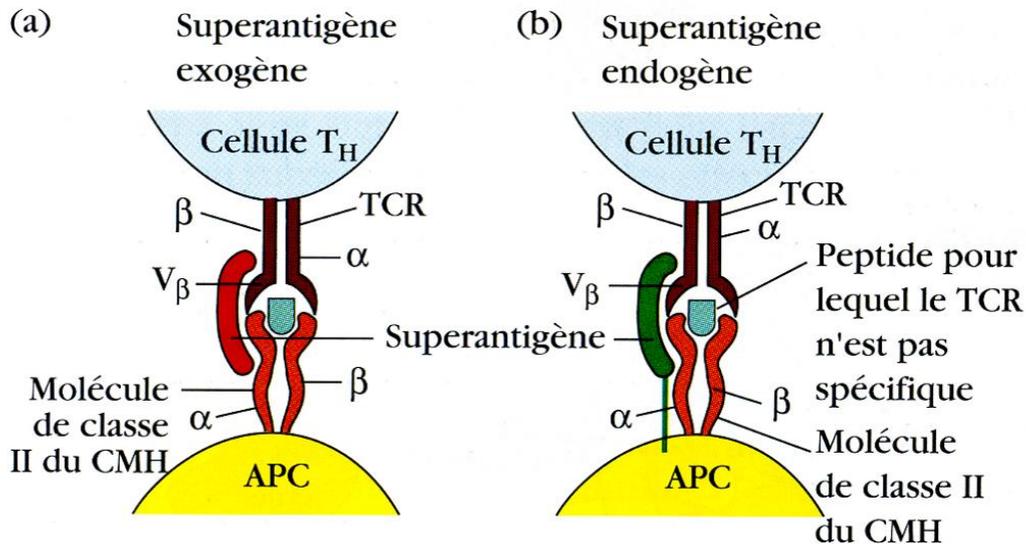
### \* Notion de super Ag :

Il s'agit d'antigènes d'origine bactérienne ou virale qui se lient à la molécule HLA et au TCR d'une façon tout à fait différente de ce qui vient d'être décrit. Le super Ag reste à l'état natif (pas de dégradation partielle) et se lie à la molécule HLA non pas au niveau de la niche à peptide mais latéralement. De même, il se fixe au TCR non pas au niveau du site de reconnaissance spécifique mais latéralement au niveau de la chaîne V $\beta$ . Le super Ag active ainsi un très grand nombre de lymphocytes T exprimant le même gène V indépendamment de la spécificité de leur TCR. La reconnaissance du super Ag n'est pas restreinte par les molécules codées par le complexe majeur d'histocompatibilité.

### 2) *Transmission du signal d'activation*

Elle est assurée par les portions intracellulaires du complexe CD3 et plus particulièrement par les domaines fonctionnels de type ITAM contenant la séquence consensus (YXXL/I)<sub>2</sub>. La fixation de l'Ag sur le TCR déclenche l'activation quasi-immédiate d'une ou de plusieurs tyrosine-kinases (p59-fyn, ZAP70...) couplées aux portions intracellulaires des chaînes  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  et  $\xi$  du CD3 et

qui assurent la phosphorylation de plusieurs substrats intracellulaires. Une cascade de réactions biochimiques complexes aboutit ainsi à l'activation du gène de l'interleukine 2 (IL2), point de départ de l'activation du lymphocyte T.



**FIGURE 10.16** Liaison (pontage) d'un récepteur des cellules T et de molécules de classe II du CMH médiée par un superantigène. Un superantigène se lie à tous les TCR porteurs d'une séquence  $V_{\beta}$  particulière, indépendamment de la spécificité antigénique de ces derniers. (a) Les superantigènes exogènes sont des protéines solubles sécrétées par les bactéries ; parmi ceux-ci figurent diverses exotoxines. (b) Les superantigènes endogènes sont des protéines incluses dans la membrane produites par certains virus ; parmi eux figurent les antigènes Mls codés par le virus de la tumeur mammaire de la souris.

#### IV- Organisation et expression des gènes codant pour le TCR

Les gènes codant pour le TCR sont organisés en 4 groupes de gènes portés chez l'homme par les chromosomes 7 et 14. Les gènes codant pour les chaînes  $\beta$  et  $\gamma$  sont portés par le chromosome 7. Ils occupent des positions éloignées sur ce chromosome. Les gènes codant pour les chaînes  $\alpha$  et  $\delta$  sont portés par le chromosome 14. Chez l'homme comme chez la souris, les gènes  $\delta$  sont intégrés dans le locus  $\alpha$ .

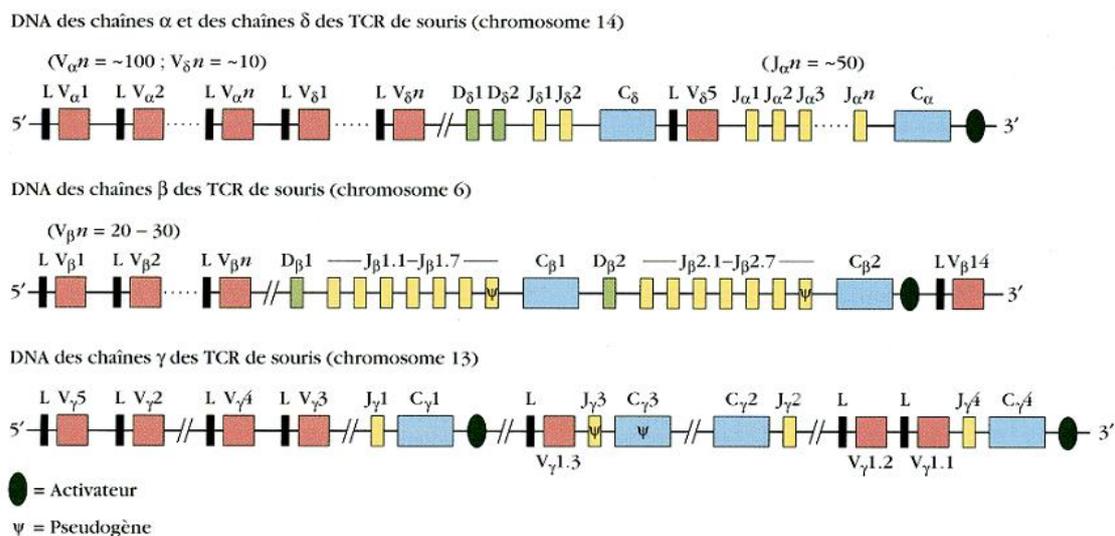
La région constante de chacune des chaînes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  est codée par un segment génétique. La région variable est codée, comme pour les Ig, par

2 segments génétiques : V et J pour les chaînes  $\alpha$  et  $\gamma$ , et 3 segments génétiques : V, D et J pour les chaînes  $\beta$  et  $\delta$ .

Pour chaque type de chaîne  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou  $\delta$ , les segments génétiques V, D et J sont présents en de multiples exemplaires sur les chromosomes 7 ou 14. Ces multiples copies sont organisées en librairies V, D et J qui occupent des positions éloignées sur l'ADN en configuration germinale.

Lors de la différenciation et de la maturation intra-thymique des lymphocytes T, il se produit un réarrangement génétique entre un segment  $V\alpha$  (ou  $V\gamma$ ) et un segment  $J\alpha$  (ou  $J\gamma$ ) qui se traduit par la jonction des 2 segments génétiques V et J choisis et la délétion de l'ADN les séparant. Parallèlement, se produisent successivement 2 autres réarrangements similaires au niveau des gènes  $\beta$  (ou  $\delta$ ) : D avec J puis V avec DJ.

Le réarrangement VJ ou VDJ entraîne l'activation du gène  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou  $\delta$  correspondant et la transcription d'un ARN messager initial ou primaire VJ-C ou VDJ-C. L'épissage de l'intron entre VJ (ou VDJ) et C sur cet ARN donne l'ARN messager mature ou secondaire qui est traduit en une chaîne polypeptidique  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou  $\delta$ .



**FIGURE 9.5** Organisation des segments génétiques des chaînes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  des TCR de souris de la lignée germinale. Chaque segment génétique C est constitué d'une série d'exons et d'introns qui ne sont pas représentés. L'organisation des segments génétiques des TCR chez l'Homme est semblable, bien que le nombre des divers segments génétiques diffère dans certains cas (voir le tableau 9.1). [Adapté de D Raullet, 1989, *Annu. Rev. Immunol.* 7:175, et M Davis, 1990, *Annu. Rev. Biochem.* 59:475.]

## V- Origine de la diversité des TCR

Le système immunitaire doit répondre à la diversité du monde microbien par une grande diversité d'Ac et de TCR spécifiques. Les mécanismes à l'origine de la diversité des TCR sont identiques à ceux déjà décrits pour les Ig à l'exception des mutations somatiques qui n'interviennent pas au niveau des TCR :

- diversité germinale
- diversité jonctionnelle
- diversité combinatoire
- diversité associative

**TABLEAU 9.1 Familles multigéniques des TCR chez l'homme**

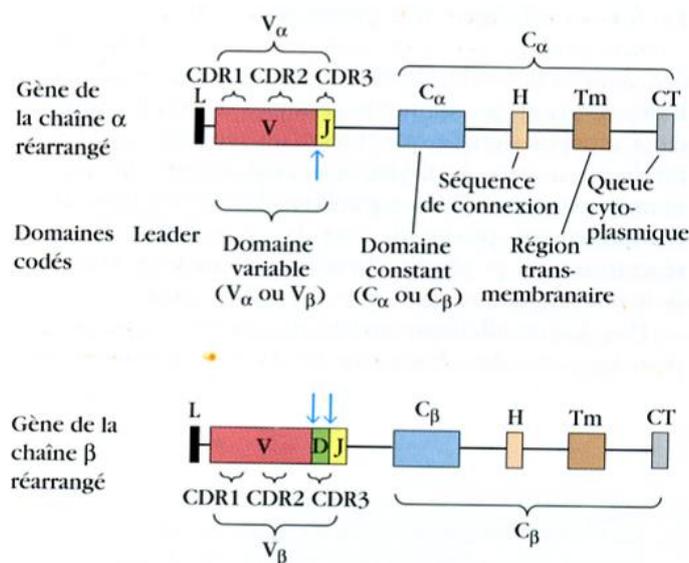
Gène	Chromosome	N° des segments géniques			
		V	D	J	C
Chaîne $\alpha$	14	50		70	1
Chaîne $\delta^*$	14	3	3	3	1
Chaîne $\beta^\ddagger$	7	57	2	13	2
Chaîne $\gamma^\ddagger$	7	14		5	2

\* Les segments géniques de la chaîne  $\delta$  sont localisés entre les segments  $V_\alpha$  et  $J_\alpha$ .

† Il y a deux unités répétitives contenant chacune 1  $D_\beta$ , 6 ou 7  $J_\beta$  et 1  $C_\beta$ .

‡ Il y a deux unités répétitives contenant chacune 2 ou 3  $J_\gamma$  et 1  $C_\gamma$ .

Source : D'après PAH Moss *et al.*, 1992, *Annu. Rev. Immunol.* 10:71.



**FIGURE 9.7** Représentation schématique des gènes réarrangés des TCR  $\alpha\beta$  montrant les exons qui codent les divers domaines du récepteur des cellules T  $\alpha\beta$  et la position approximative des CDR. La diversité jonctionnelle (flèches verticales) crée la CDR3 (voir la figure 9.8). Les structures des gènes réarrangés des chaînes  $\gamma$  et  $\delta$  sont semblables bien qu'une diversité jonctionnelle supplémentaire puisse se produire dans les gènes des chaînes  $\delta$ .

## **VI- Conclusion**

Les lymphocytes T jouent un rôle essentiel dans les réponses immunitaires soit comme cellules effectrices de l'immunité à médiation cellulaire (cytotoxicité et hypersensibilité retardée), soit comme cellules régulatrices de l'immunité humorale ou à médiation cellulaire ou aussi de l'activité des cellules NK, des macrophages...

Dans tous les cas de figures, l'activation des lymphocytes T est déclenchée par la fixation de l'Ag sur le récepteur spécifique TCR qui joue ainsi un rôle essentiel dans l'initiation et la spécificité des réponses immunitaires.

Contrairement aux Igm des lymphocytes B, le TCR a un seul site actif et ne reconnaît pas l'Ag natif en solution, mais un peptide antigénique provenant de la dégradation partielle de l'Ag et présenté à la surface d'une cellule cible ou d'une cellule présentatrice de l'Ag en association avec une molécule HLA classe I ou classe II. La transmission du signal d'activation à l'intérieur du lymphocyte T est assurée par le CD3.

# LES LYMPHOCYTES B & T : CELLULES DE L'IMMUNITÉ SPECIFIQUE

Dr Hatem MASMOUDI

---

## Objectifs éducationnels

1. Décrire les caractères communs aux lymphocytes (L) T et B en précisant ceux qui les distinguent des cellules de l'immunité non spécifique
  2. Citer les éléments du microenvironnement médullaire nécessaires à la maturation du LB
  3. Préciser les principales caractéristiques des différents stades de maturation des LB
  4. Décrire la séquence des phénomènes de réarrangement selon le stade de maturation du LB
  5. Citer les principales molécules de surface exprimées à chaque stade de maturation du LB
  6. Enumérer les composants du BCR en précisant la fonction de chacun d'eux et le mode de reconnaissance de l'Ag par le lymphocyte B
  7. Citer les éléments du microenvironnement thymique nécessaires à la maturation du LT
  8. Préciser les principales caractéristiques des différents stades de maturation des LT
  9. Décrire la séquence des phénomènes de réarrangement à chaque stade de maturation du LT
  10. Citer les principales molécules de surface exprimées à chaque stade de maturation du LT
  11. Expliquer le phénomène de sélection positive en en précisant l'aboutissement
  12. Expliquer le phénomène de sélection négative en en précisant l'aboutissement
  13. Citer les marqueurs membranaires du lymphocyte T au repos et après activation
  14. Préciser les caractéristiques des sous populations de lymphocytes T et B
- 

## I- INTRODUCTION

Le système immunitaire a évolué de façon à reconnaître spécifiquement les micro-organismes et les éliminer. Les animaux inférieurs ont des mécanismes de défense peu élaborés. Ils produisent des protéines peu spécifiques permettant d'agglutiner un certain nombre de microbes et possèdent des cellules phagocytaires

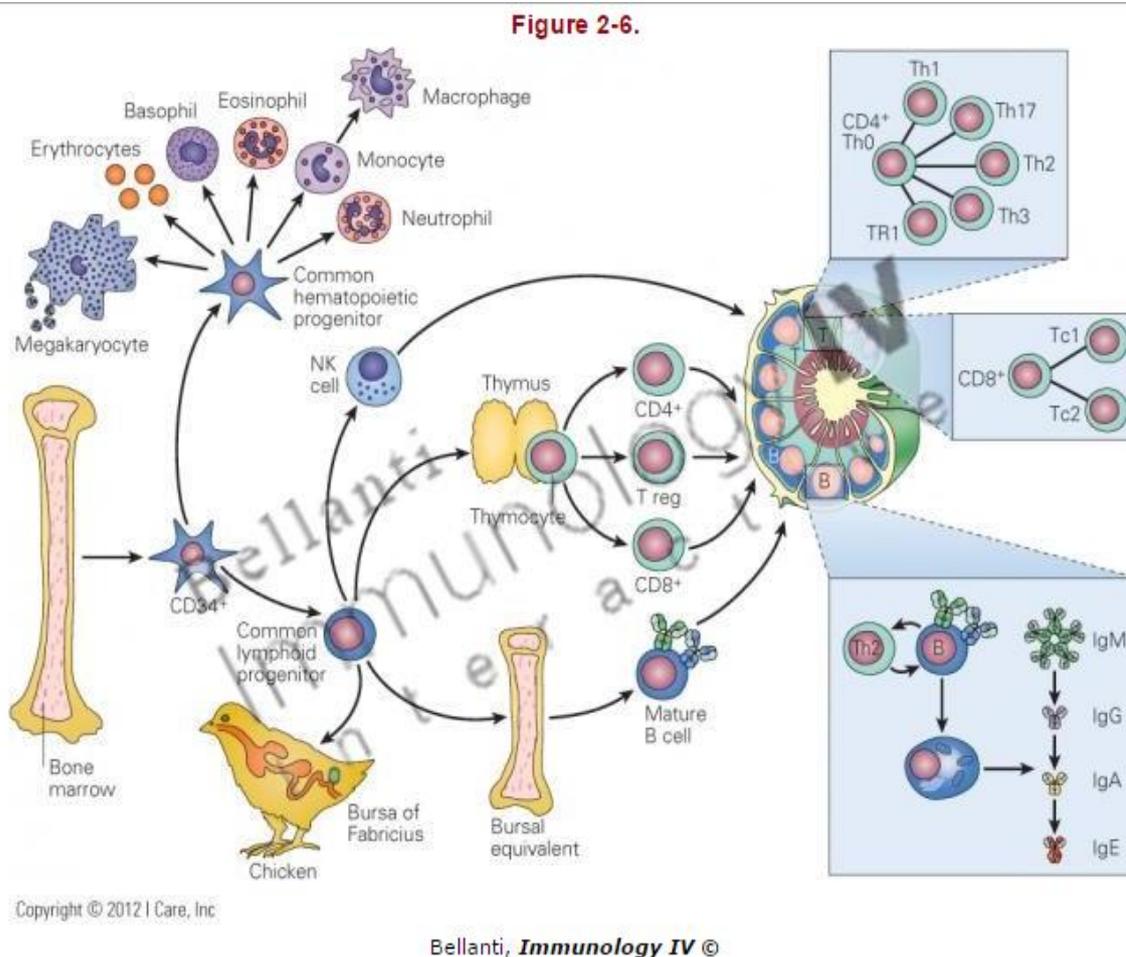
capables de capter et de dégrader les microbes (immunité non spécifique). Les vertébrés ont en plus des cellules pouvant chacune reconnaître un antigène (Ag) différent grâce à un récepteur membranaire spécifique. Ces cellules circulantes au repos, sont capables, après activation par la reconnaissance spécifique de l'Ag, de proliférer par divisions cellulaires successives tout en poursuivant leur différenciation (maturation terminale) pour donner naissance à de très nombreuses cellules effectrices, toutes dirigées contre le même Ag de départ. La réponse immunitaire devient ainsi ciblée et adaptée à l'Ag ou au micro-organisme agresseur. Les cellules qui assurent cette immunité spécifique ou adaptative sont les cellules lymphoïdes ou lymphocytes.

## **II- Caractères communs aux lymphocytes**

Les lymphocytes B et T sont produits dans les organes lymphoïdes primaires à partir de cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse ou progéniteurs lymphoïdes communs (CLP: "Commun Lymphoïd Progenitors"). Issus des cellules souches multipotentes ou hématopoïétiques (HSC: "Hematopoïetic Stem Cells"), les CLP donnent naissance aux lymphocytes T et B mais aussi aux cellules NK. Les cellules souches hématopoïétiques sont à l'origine de toutes les cellules sanguines via les 2 principales voies : myéloïde et lymphoïde. Elles sont caractérisées par leur grande capacité d'auto-renouvellement, leur potentiel de différenciation en de multiples lignées, et la présence à leur surface du marqueur CD34.

Les HSC CD34<sup>+</sup> circulent en tout petit nombre dans le sang circulant et peuvent être collectées, à l'aide d'un "Cell Sorter" (cytomètre en flux avec trieur de cellules), pour être utilisées chez les patients atteints d'hémopathie maligne comme source de progéniteurs cellulaires pour reconstituer la moelle osseuse après chimio/radiothérapie. Par ailleurs et lorsqu'elles se retrouvent dans des microenvironnements tissulaires adéquats, les HSC pluripotentes CD34<sup>+</sup> peuvent se différencier en différents types cellulaires tissu-spécifiques : hépatocytes, neurones, cellules musculaires, endothéliales...

Au cours de la vie fœtale, les HSC proviennent successivement du sac vitellin, du foie fœtal puis de la moelle osseuse qui dès le 7<sup>ème</sup> mois de la grossesse devient le site exclusif de l'hématopoïèse.



Les lymphocytes sont des cellules ubiquitaires. L'organisme humain compte environ  $10^{12}$  lymphocytes représentant 1 à 2 % du poids corporel et répartis entre le sang, les organes lymphoïdes et les différents tissus. Les lymphocytes représentent 20 à 40 % des globules blancs ou leucocytes circulants chez l'adulte (valeur normale des globules blancs chez l'adulte : 5 à 8 milles/ $\text{mm}^3$  ; chez l'enfant : 6 à 12 milles en fonction de l'âge).

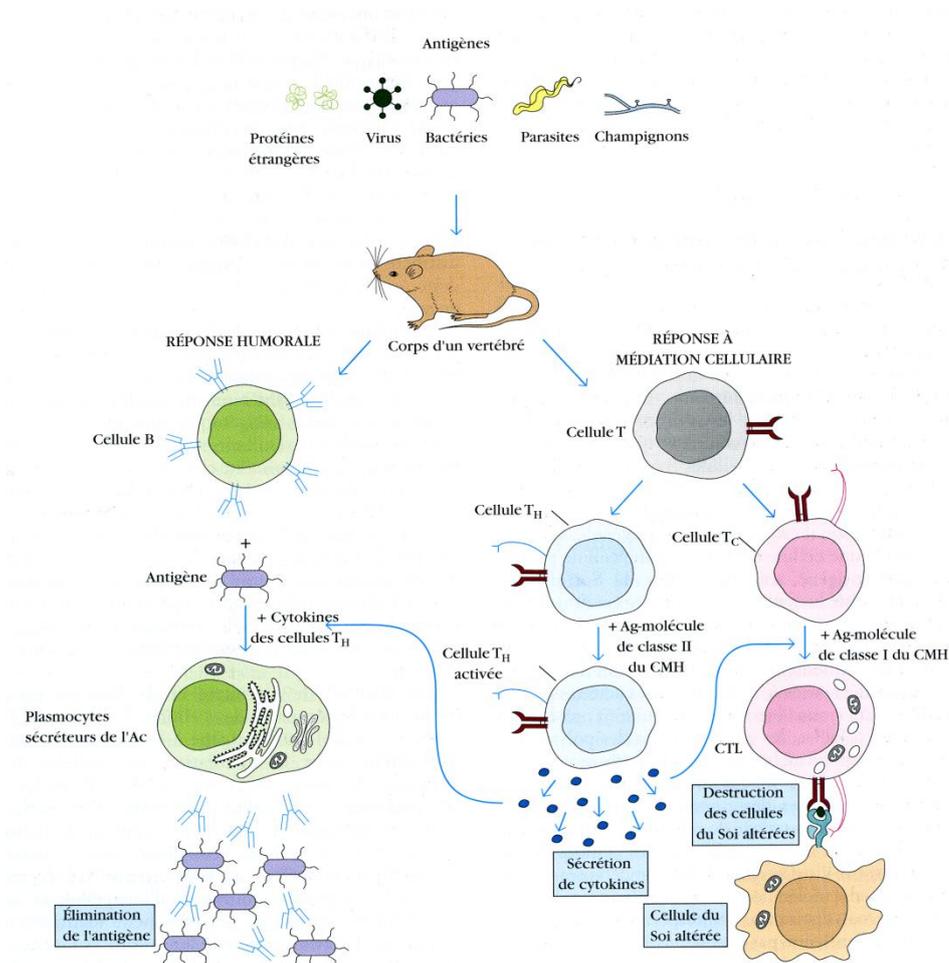
10 à 15 % des lymphocytes comptabilisés avec la NFS correspondent en fait aux lymphocytes granuleux larges (LGL) ou non B-non T responsables de l'activité NK ("Natural Killer") et qui font partie des cellules de l'immunité non spécifique.

Le petit lymphocyte circulant est une cellule arrondie de 6 à 8  $\mu\text{m}$  de diamètre avec un noyau à chromatine dense et un cytoplasme réduit à une mince couronne périphérique et pauvre en organelles.

Les lymphocytes circulants se ressemblent tous sur le plan morphologique. Mais cette homogénéité apparente cache une grande hétérogénéité. On distingue ainsi deux grandes populations de lymphocytes différents par leur site de différenciation, la nature de leur récepteur membranaire pour l'Ag et le mode de reconnaissance, leurs marqueurs membranaires et leurs fonctions :

- les lymphocytes B (B pour bourse de Fabricius), support de l'immunité humorale médiée par les anticorps et transmissible par le sérum et qui représentent 5 à 15 % des lymphocytes circulants,

- les lymphocytes T (T pour thymus), support de l'immunité à médiation cellulaire (cytotoxicité et hypersensibilité retardée) transmissible par transfert de cellules et non de sérum et qui représentent 70 à 85 % des lymphocytes circulants.



Les lymphocytes sont des cellules à "turnover" rapide,  $10^9$  lymphocytes soit un millième du pool total de lymphocytes sont ainsi renouvelés quotidiennement chez l'adulte. La majorité des lymphocytes (80 à 90 %) sont donc des cellules à durée de vie relativement courte de l'ordre de 1 à 3 semaines, tandis que 10 à 20 % des lymphocytes sont des cellules à longue durée de vie (quelques mois à plusieurs années) ou cellules mémoire.

Les lymphocytes B et T sont les cellules de l'immunité spécifique caractérisées par :

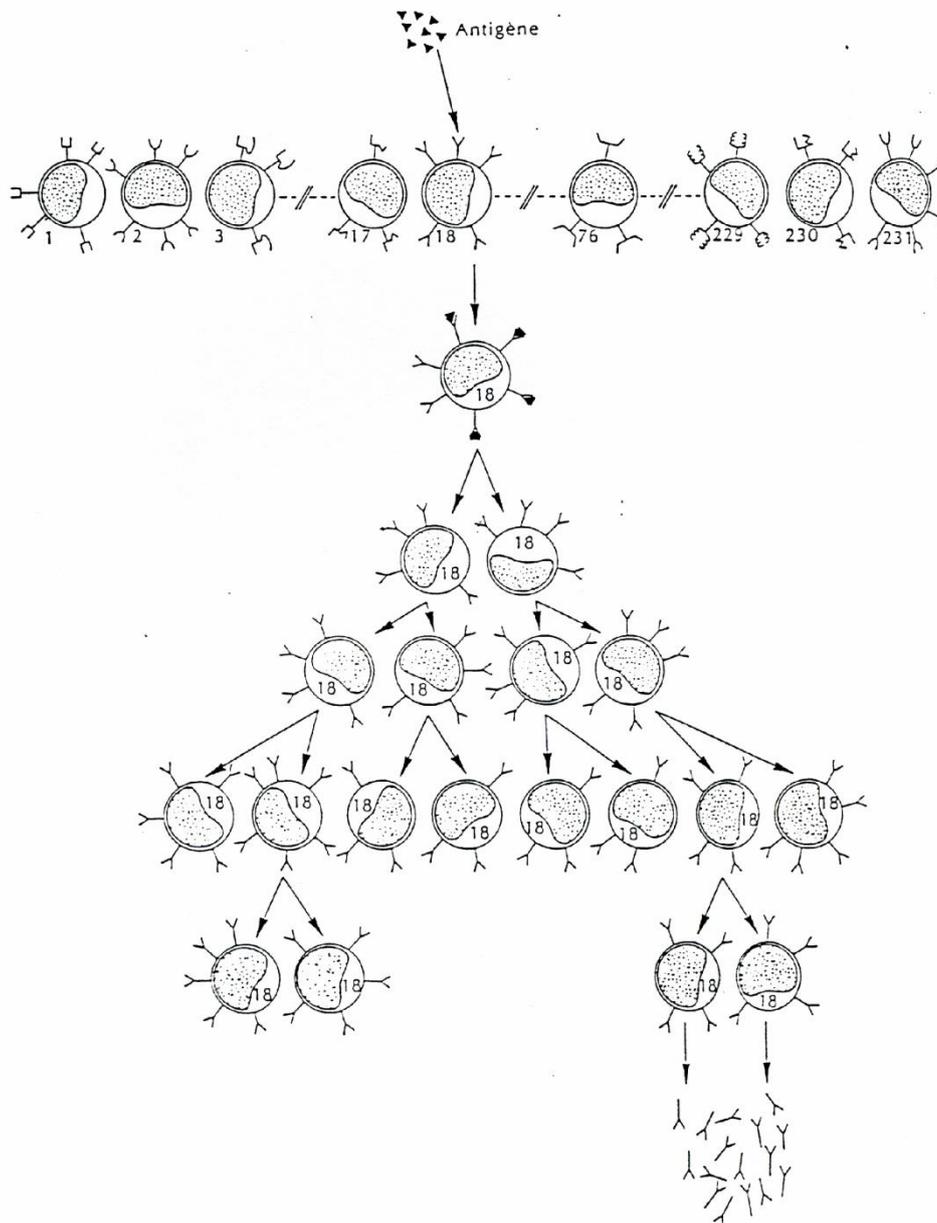
- L'extraordinaire diversité de leur répertoire de reconnaissance de l'Ag ( $10^{15}$  à  $10^{18}$  récepteurs différents pour l'Ag peuvent ainsi être exprimés chez chaque individu),
- La distribution clonale de ces récepteurs (chaque lymphocyte exprime à sa surface des milliers de récepteurs pour l'Ag mais qui sont tous des copies du seul et même récepteur avec la même et unique combinaison VH-VL
- Leur capacité de prolifération en périphérie après activation par l'Ag.

En effet et à la différence de la plupart des autres cellules de l'organisme, les lymphocytes ne peuvent atteindre le stade terminal de leur différenciation qu'à la faveur d'une stimulation par l'Ag. Celle-ci se traduit par une prolifération cellulaire intense associée à une différenciation progressive vers le stade terminal de maturation.

Ce mécanisme est indispensable à l'adaptation de la réponse immunitaire de l'organisme à son environnement. En l'absence de stimulation antigénique, le lymphocyte meurt en quelques jours (1 à 3 semaines) par un mécanisme de mort cellulaire programmée ou apoptose.

L'activation du lymphocyte suite à la reconnaissance spécifique de l'Ag se traduit habituellement par une décondensation de la chromatine et une augmentation importante de la taille et des activités métaboliques de la cellule : le petit lymphocyte au repos, en phase  $G_0$ , devient un lymphoblaste en phase  $G_1$  du cycle cellulaire ; c'est la transformation lymphoblastique. Elle est immédiatement suivie d'une phase de prolifération par divisions cellulaires (passage de  $G_1$  à S,  $G_2$  puis

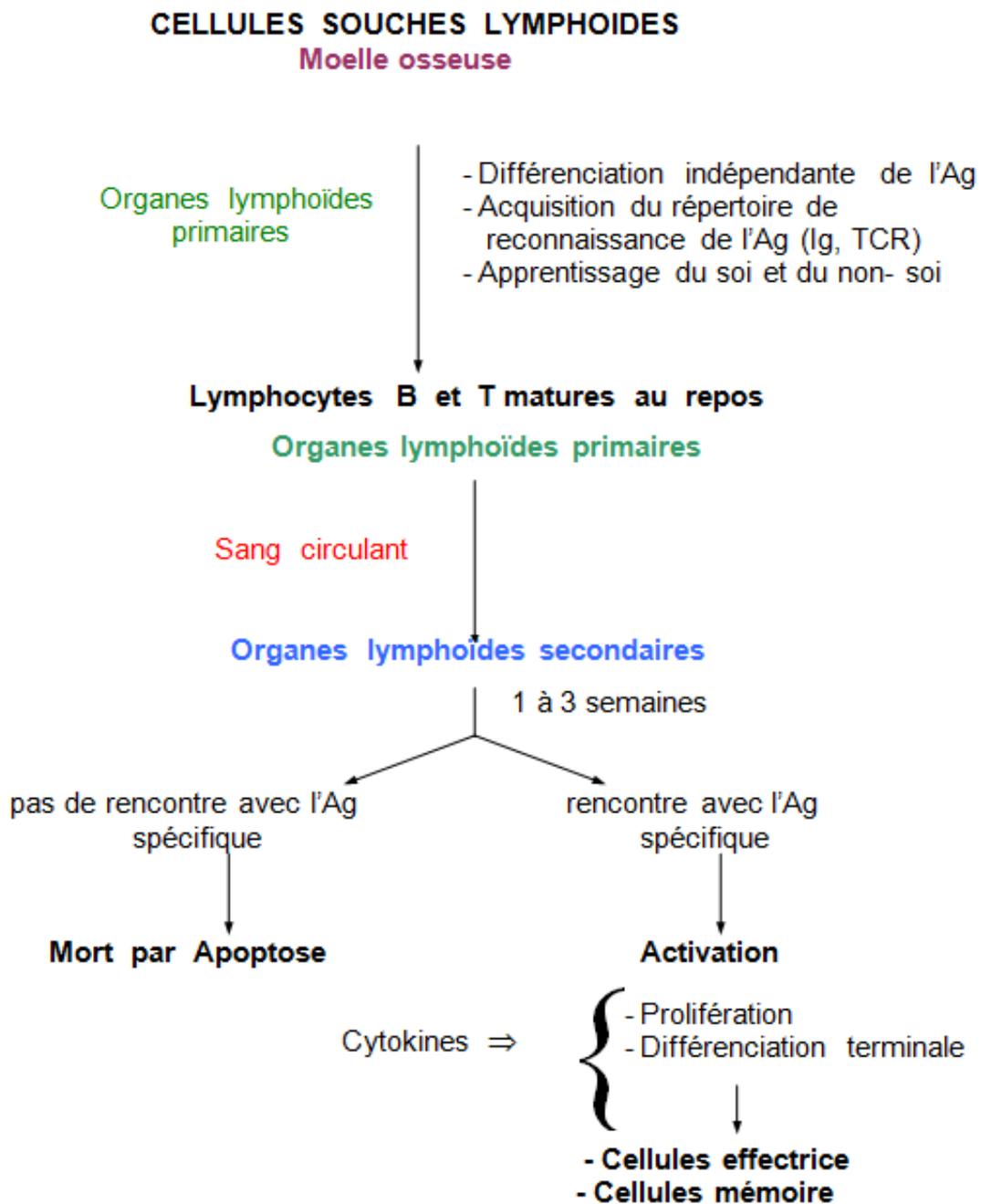
M) successives accompagnées d'une différenciation terminale aboutissant à la production de très nombreuses cellules effectrices (plasmocytes, lymphocytes T cytotoxiques, lymphocytes T helper ou auxiliaires, lymphocytes T régulateurs) et d'un certain nombre de cellules mémoire.



*Figure 5.19*  
Théorie de la sélection clonale.  
Chaque lymphocyte B possède à sa surface un récepteur spécifique. Lorsqu'un antigène pénètre dans l'organisme, il se lie au lymphocyte dont le récepteur lui est complémentaire (ici le lymphocyte 18). L'interaction antigène-anticorps entraîne l'activation et la prolifération de ce lymphocyte. Il se forme alors un clone de lymphocyte B identique produisant des anticorps possédant le même site actif. Il se forme aussi des cellules mémoires (M).

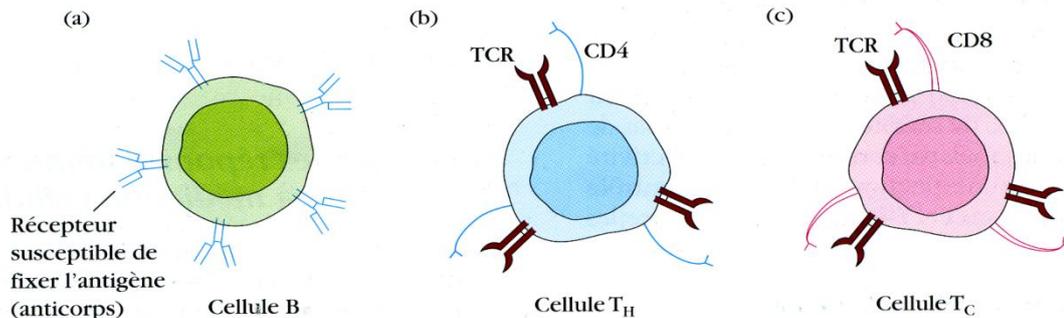
Le développement du système lymphoïde B et T comporte ainsi deux phases :

- une première phase (différenciation initiale ou maturation) indépendante de l'Ag se déroule au niveau des organes lymphoïdes primaires ou centraux et consiste à générer, à partir des cellules souches lymphoïdes, des lymphocytes B et T matures diversifiés ;



*Figure 1 : Schéma de la différenciation des lymphocytes B et T*

- une deuxième phase (activation et différenciation terminale) dépendante des stimulations antigéniques a lieu au niveau des organes lymphoïdes secondaires et/ou des tissus périphériques et permet de produire, à partir des lymphocytes B et T matures au repos (ou naïfs) activés par l'Ag spécifique, des cellules effectrices et des cellules mémoire.



**FIGURE 1.5** Molécules membranaires caractéristiques des lymphocytes. (a) Les cellules B ont environ  $10^5$  molécules d'anticorps membranaire par cellule. Toutes les molécules d'anticorps d'une cellule B donnée ont la même spécificité antigénique et peuvent entrer directement en interaction avec l'antigène. (b) Les cellules T portant le CD4 (cellules CD4<sup>+</sup>) ne reconnaissent que les antigènes liés à des molécules de classe II du CMH. (c) Les cellules T portant le CD8 (cellules CD8<sup>+</sup>) ne reconnaissent que l'antigène associé à des molécules de classe I du CMH. En général, les cellules T CD4<sup>+</sup> agissent comme cellules auxiliaires et les cellules T CD8<sup>+</sup> comme cellules cytotoxiques. Les deux types de cellules T expriment, par cellule, environ  $10^5$  molécules de récepteur des cellules T (TCR) susceptibles de fixer l'antigène ; ces derniers sont tous identiques et possèdent la même spécificité antigénique.

### III- Les lymphocytes B

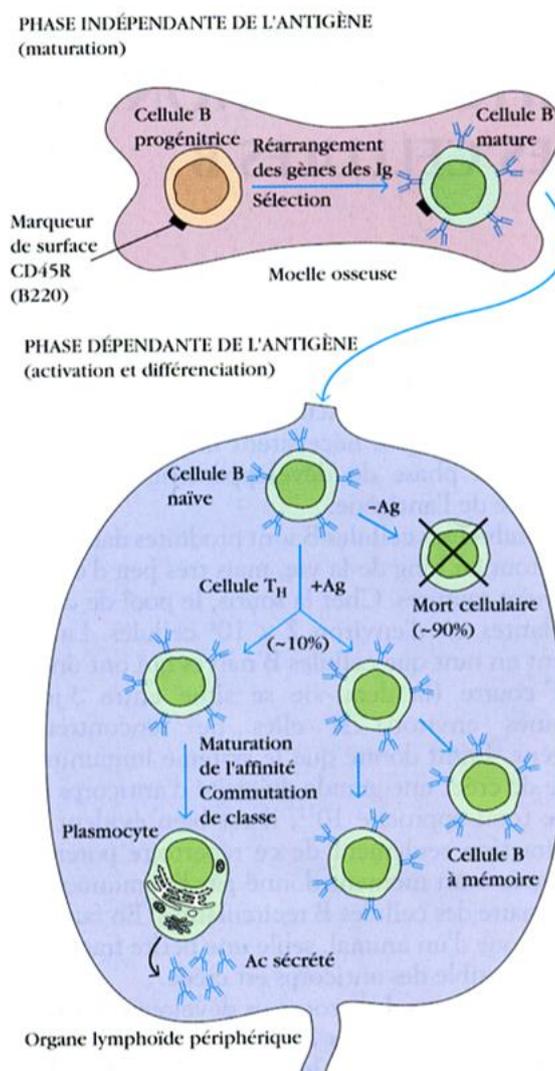
#### 1- Ontogénie

Chez les oiseaux, la lymphopoïèse B a lieu au niveau d'un organe lympho-épithélial accolé au cloaque et assurant exclusivement cette fonction (différenciation des lymphocytes B à partir des cellules souches lymphoïdes) : la **Bourse de Fabricius**. La bursectomie néonatale entraîne chez le poulet une agammaglobulinémie permanente (absence de lymphocytes B matures et donc d'Ac). Chez le mouton et d'autres ruminants, l'ontogénèse des lymphocytes B a lieu au niveau du tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT "Gut Associated Lymphoid Tissue") et plus particulièrement au niveau des plaques de Peyer iléales.

Chez l'homme, comme chez la souris, la lymphopoïèse B se déroule au niveau de la moelle osseuse ("**B**one marrow") qui prend progressivement le relais au foie fœtal dès le milieu de la gestation.

Le principal événement au cours de l'ontogénèse des lymphocytes B est le **réarrangement des gènes des Ig** (les cellules souches lymphoïdes ont leurs gènes

des Ig et du TCR en configuration germinale non réarrangée). Chez les animaux utilisant les organes et tissus lymphoïdes associés à l'intestin pour produire les lymphocytes B (poulet, mouton, lapin...), le réarrangement est utilisé au cours de la vie embryonnaire et pendant un temps très court après la naissance : l'organe primaire perd sa potentialité lymphopoïétique et/ou involue au bout de six mois à un an. La diversité est complétée par des mécanismes agissant après réarrangement (conversion génique ou mutations somatiques) et les cellules B périphériques se maintiennent grâce à leur capacité d'auto-renouvellement.



Chez l'homme comme chez la souris, il y a réarrangement continu des gènes des Ig et production permanente de lymphocytes B pendant toute la vie au niveau de la moelle osseuse. Les cellules stromales de la moelle osseuse jouent un

rôle essentiel dans le développement et la différenciation des cellules de la lignée B par les interactions membranaires (ex : SCF ou "Stem Cell Factor" à la surface de la cellule stromale qui interagit avec son récepteur c-kit à la surface de la cellule pro-B activant ainsi la division cellulaire et induisant l'expression du récepteur de l'IL7) et la production de cytokines notamment l'interleukine 7 (IL7).

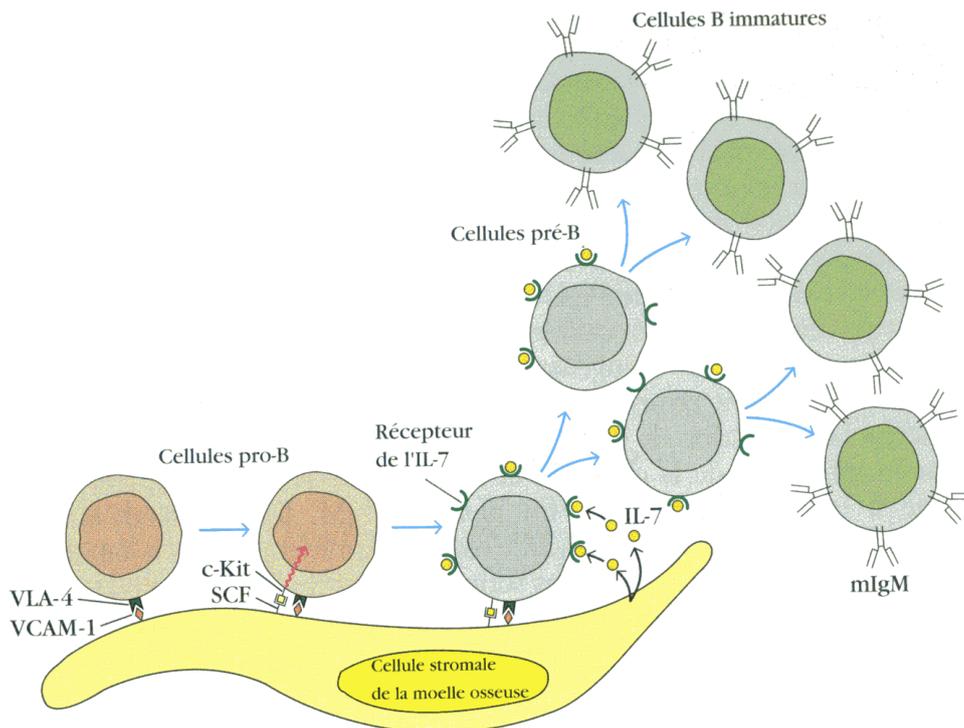
La différenciation des cellules de la lignée B est associée à une prolifération cellulaire active. Cependant, la majorité des cellules B qui se développent dans la moelle osseuse (plus de 75 %) subissent un processus de mort cellulaire programmée ou apoptose aboutissant à leur phagocytose par les macrophages médullaires. Seules les cellules ayant réussi un réarrangement productif de leurs gènes d'Ig et dont l'Ac produit n'est pas dirigé contre un auto-Ag exprimé au niveau de la moelle osseuse sont autorisées à gagner la circulation sanguine.

Au cours de sa maturation dans la moelle osseuse, la cellule souche lymphoïde engagée dans la lignée B passe successivement par 4 stades, la dernière étape étant souvent accomplie en dehors de la moelle au niveau des organes lymphoïdes secondaires :

**- la cellule pro-B (pro génitrice B) :** elle dérive directement de la cellule souche lymphoïde ou CLP avec les gènes des Ig en configuration germinale. Le réarrangement des gènes des chaînes lourdes est entamé dès le stade pro-B, d'abord par la jonction D-JH suivie à la fin du stade pro-B par la jonction VH-DJH permettant la production d'une chaîne  $\mu$  intracytoplasmique, caractéristique essentielle du stade suivant dit pré-B. Les protéines activant la recombinaison RAG1 et RAG2 de même que la TdT (l'enzyme qui permet l'addition de N-nucléotides) sont produites tout au long du stade pro-B.

La cellule pro-B exprime le récepteur de l'IL7 (IL7-R) ainsi que le c-kit : récepteur du facteur de croissance SCF exprimé sur les cellules stromales de la moelle osseuse.

Les molécules de transduction du signal  $Ig\alpha$  et  $Ig\beta$  (CD79 a et b) et le CD19 (associé avec le CD21 au récepteur de la cellule B mature) sont exprimés tout au long de la maturation des cellules de la lignée B dès le stade pro-B.



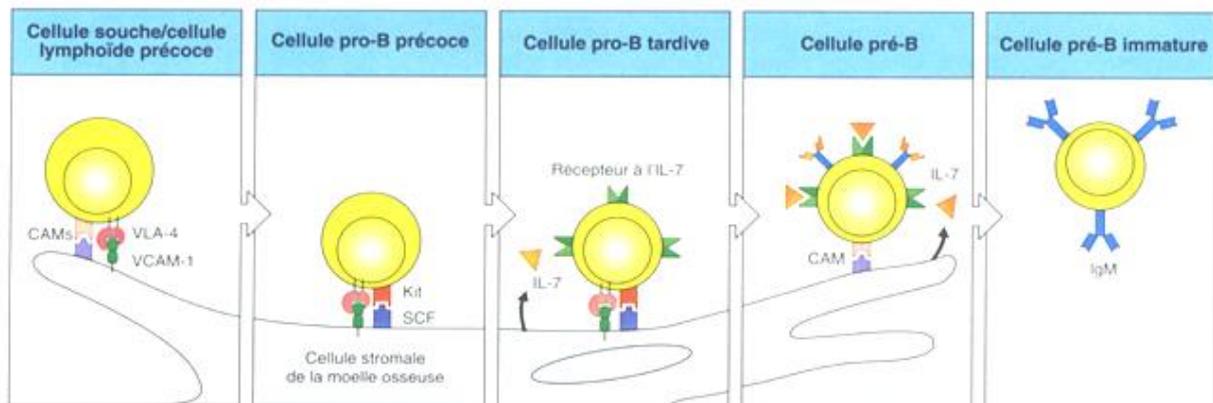
**FIGURE 11.2** Les cellules stromales de la moelle osseuse sont nécessaires à la maturation des progéniteurs des cellules B en précurseurs des cellules B. Les cellules pro-B se lient aux cellules stromales par l'intermédiaire d'une interaction entre le VCAM-1 de la cellule stromale et le VLA-4 de la cellule pro-B. Cette interaction favorise la liaison du c-Kit des cellules pro-B au facteur de croissance des cellules souches (SCF) de la cellule stromale. Cette interaction déclenche un signal, médié par l'activité tyrosine kinase du c-Kit, qui stimule dans la cellule pro-B l'expression des récepteurs de l'IL-7. L'IL-7 libérée de la cellule stromale se lie ensuite aux récepteurs de l'IL-7, ce qui induit la cellule pro-B à effectuer sa maturation en cellule pré-B. Les cellules pré-B commencent à proliférer en raison de leur stimulation par l'IL-7, puis se différencient finalement en cellules B immatures.

- **la cellule pré-B (précurseur B)** : la cellule pré-B est d'abord une cellule de grande taille caractérisée par la présence de la chaîne  $\mu$  intracytoplasmique. La chaîne  $\mu$  s'associe à 2 protéines V pré-B et  $\lambda 5$  qui se lient de façon non covalente pour constituer une pseudo-chaîne légère ou chaîne légère de substitution ("Surrogate Light Chain" ou SLC). L'ensemble  $\mu$ -VpréB- $\lambda 5$  exprimé à la surface de la cellule pré-B en association avec les chaînes  $Ig\alpha$ - $Ig\beta$  constitue le récepteur pré-B ou pré-BCR.

La grande cellule pré-B se met à se diviser plusieurs fois (4 à 6) de suite en diminuant de volume pour donner plusieurs petites cellules pré-B (amplification importante de la diversité associative) où le réarrangement est poursuivi sur les gènes des chaînes légères kappa puis lambda (en cas d'échec des réarrangements

kappa). Lorsqu'un assemblage  $V\kappa-J\kappa$  ou  $V\lambda-J\lambda$  en phase de lecture est obtenu, une chaîne légère  $\kappa$  ou  $\lambda$  est produite. La chaîne légère  $\kappa$  ou  $\lambda$  ainsi produite s'associe avec la chaîne lourde  $\mu$  pour constituer l'IgM membranaire qui sera exprimée en surface en association avec l'hétérodimère  $Ig\alpha/Ig\beta$ . L'expression de l'IgM sur la membrane annonce le passage au stade suivant, celui de cellule B immature avec arrêt de production des protéines RAG1 et RAG2. La TdT est beaucoup moins active au niveau des jonctions VJ des chaînes légères et sa production cesse bien avant celle des protéines RAG.

L'expression du récepteur de l'IL7 se poursuit au stade pré-B, celle du c-kit est relayée par le CD25, chaîne  $\alpha$  du récepteur de l'IL2 permettant avec les chaînes constitutives  $\beta$  et  $\gamma$  l'obtention du récepteur de forte affinité IL2-R.

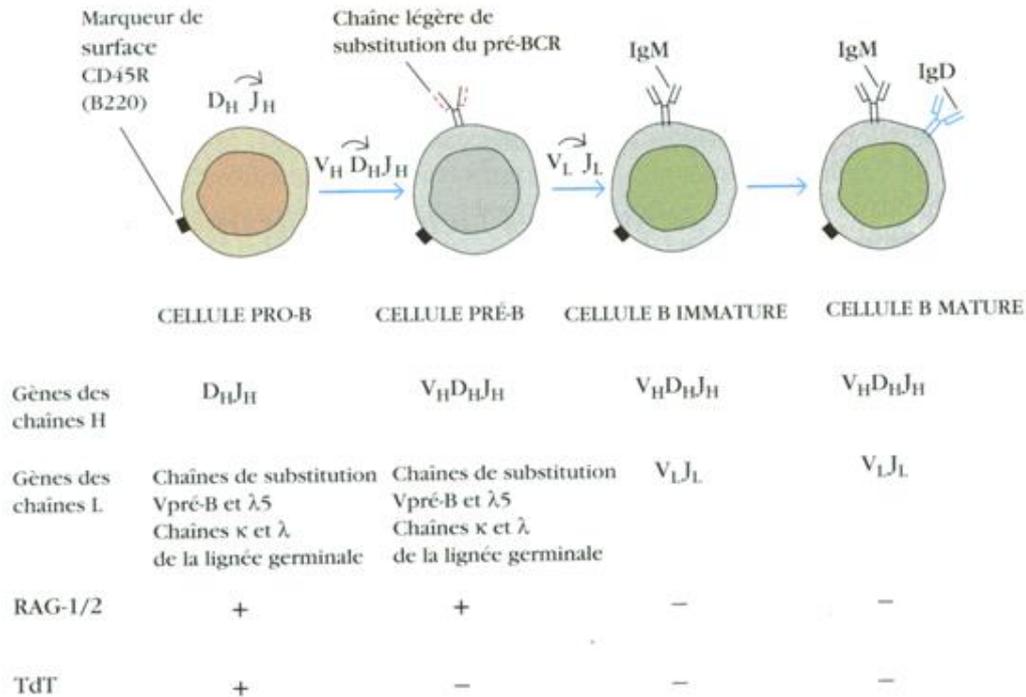


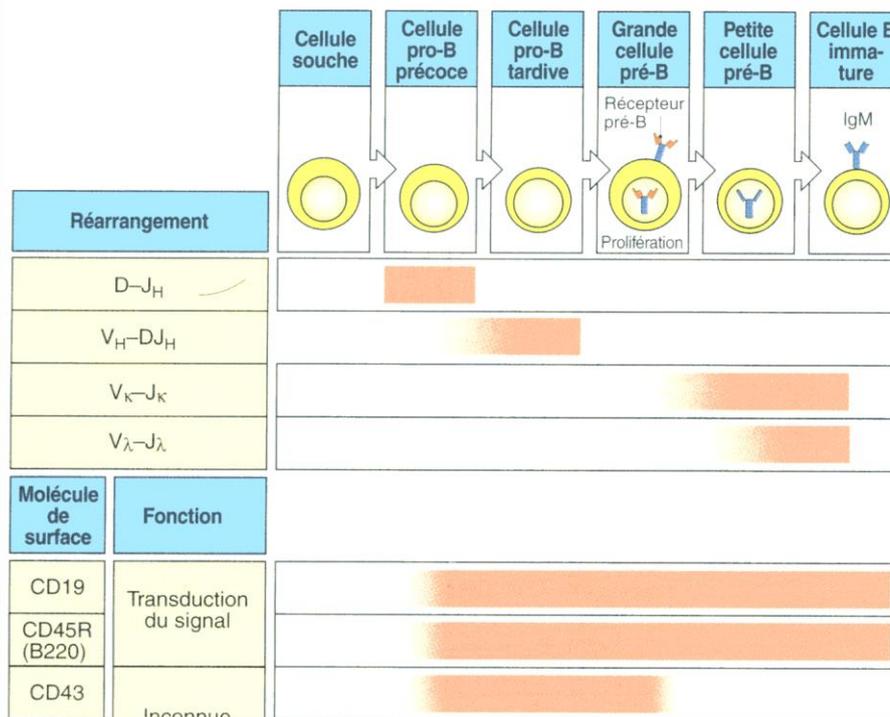
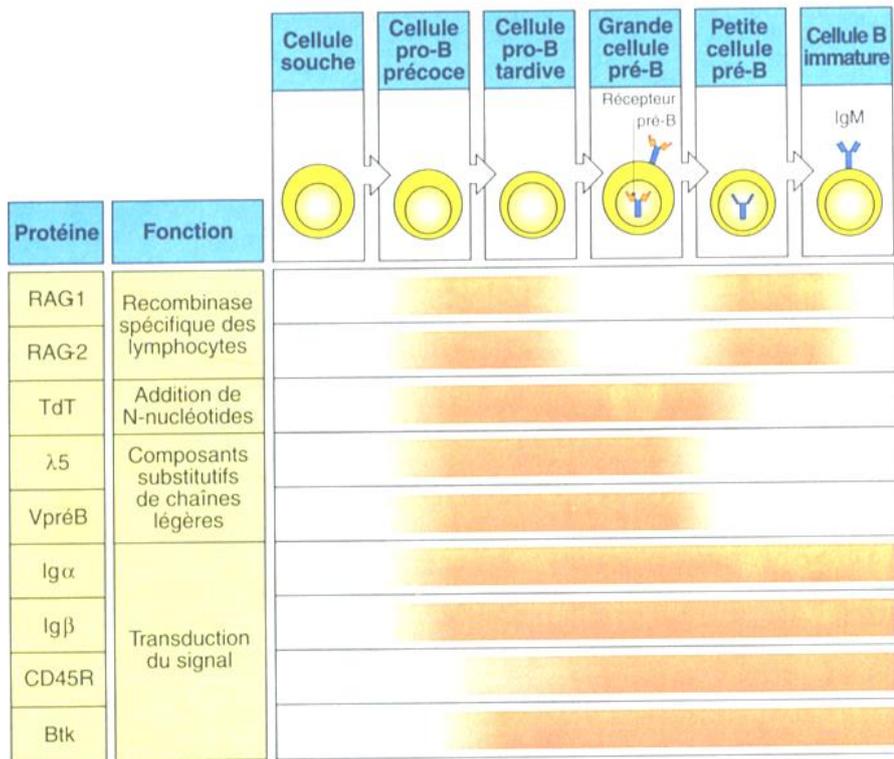
- **la cellule B immature** : définie par l'expression de l'IgM membranaire en association avec les chaînes  $Ig\alpha-Ig\beta$  (CD79 a et b), la cellule B immature subit le processus de sélection négative aboutissant à la délétion clonale des lymphocytes B dont l'IgM membranaire interagit avec une forte affinité avec un antigène du soi exprimé dans la moelle osseuse (ou au niveau des organes lymphoïdes périphériques). Dans la moelle osseuse, la cellule B exprimant une IgM auto-réactive peut être sauvée de la délétion clonale en "éditant" une nouvelle copie de jonction V-J lui permettant d'exprimer une autre chaîne légère. La cellule B immature n'exprime plus  $V_{pr\acute{e}B}-\lambda 5$ , CD25 ni l'IL7-R ;

	Cellule souche	Cellule pro-B précoce	Cellule pro-B tardive	Grande cellule pré-B	Petite cellule pré-B	Cellule B immature	Cellule B mature
Gènes de chaîne H	Configuration germinale	Réarrangement D-J	Réarrangement V-DJ	VDJ réarrangé	VDJ réarrangé	VDJ réarrangé	VDJ réarrangé
Gènes de chaînes L	Configuration germinale	Configuration germinale	Configuration germinale	Configuration germinale	Réarrangement V-J	VJ réarrangé	VJ réarrangé
Ig de surface	Absente	Absente	Absente	Chaîne $\mu$ transitoirement à la surface participant au récepteur pré-B. Principalement intracellulaire	Chaîne $\mu$ intracellulaire	IgM exprimée à la surface	IgD et IgM synthétisées à partir de transcrits épissés alternativement

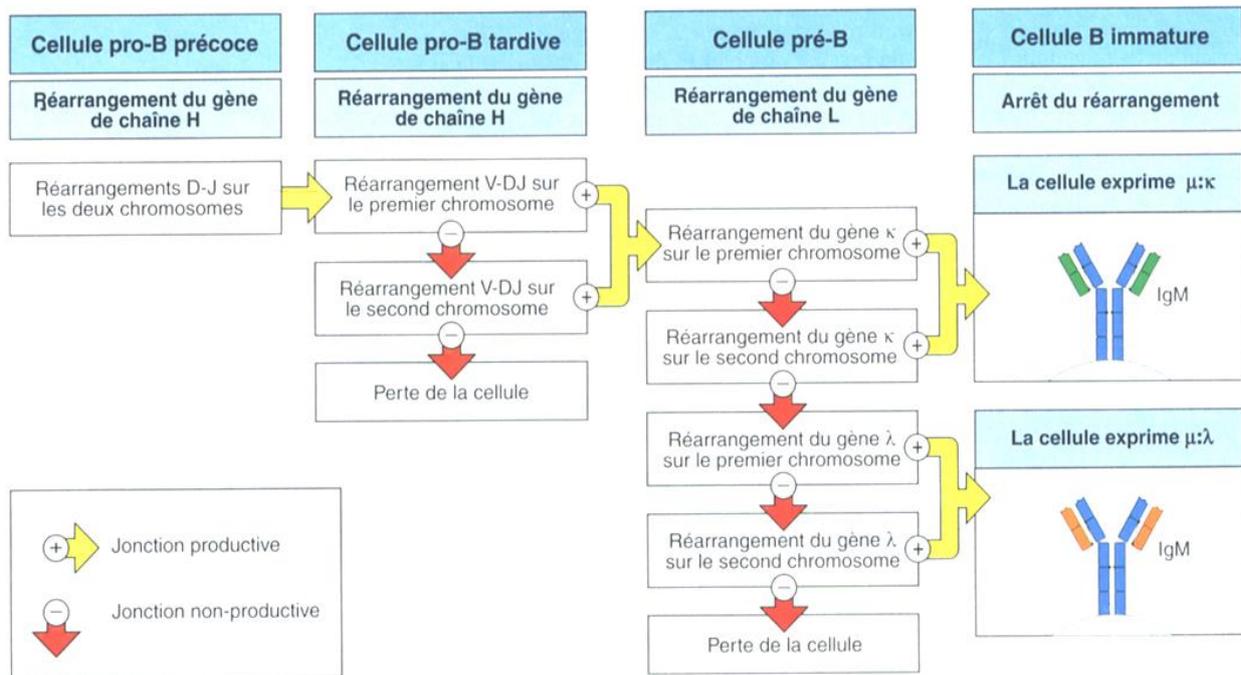
**Fig. 7.5 Le développement des cellules de la lignée B passe par différents stades marqués par le réarrangement et l'expression des gènes d'immunoglobulines.** La cellule souche n'a pas encore commencé à réarranger ses segments de gènes d'immunoglobulines (Ig); ils sont dans la configuration germinale comme ils le sont dans toutes les cellules non lymphoïdes. Le locus de chaîne lourde (chaîne H) se réarrange d'abord. Le réarrangement d'un segment de gène D avec un segment de gène  $J_H$  se produit tôt dans les cellules pro-B, aboutissant aux cellules pro-B tardives, dans lesquelles le réarrangement  $V_H$  avec  $DJ_H$  se produit. Un réarrangement correct  $VDJ_H$  conduit à l'expression d'une chaîne lourde complète d'immunoglobuline faisant partie du récepteur pré-B, qui se trouve principalement dans le cytoplasme et dans une moindre mesure à la surface de la cellule. Une fois

produite, la cellule est stimulée pour devenir une grande cellule pré-B qui se divise activement. Les grandes cellules pré-B cessent alors de se diviser et deviennent de petites cellules pré-B quiescentes, à partir desquelles cesse l'expression des chaînes légères substitutives et apparaît la chaîne lourde  $\mu$  seule dans le cytoplasme. Quand les cellules redeviennent petites, elles réexpriment les protéines RAG et commencent à réarranger les gènes de chaînes légères (chaîne L). Quand elles ont assemblé correctement un gène de chaîne légère, elles deviennent des cellules B immatures qui expriment une IgM complète à la membrane. Les cellules B matures produisent une chaîne lourde  $\delta$  en même temps qu'une chaîne lourde  $\mu$ , par un mécanisme d'épissage alternatif, et expriment en plus une IgD à la surface de la cellule.





- **la cellule B mature** : La transcription des gènes des immunoglobulines est étendue jusqu'au segment C $\delta$ . Ainsi, l'épissage alternatif permettra la co-expression en surface d'IgM et d'IgD qui caractérise le stade B mature ou lymphocyte B naïf.

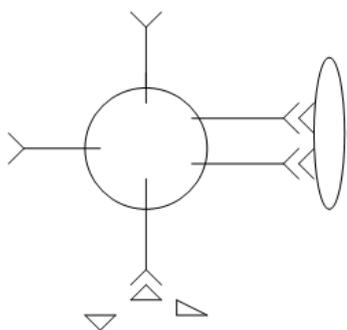


**Fig. 7.14 Étapes du réarrangement des gènes des immunoglobulines au cours desquelles les cellules peuvent être perdues.** Le programme de développement réarrange habituellement le locus de chaîne lourde (chaîne H) et puis les locus de chaînes légères (chaînes L). Les cellules sont autorisées à progresser vers le stade suivant quand un réarrangement productif a été réussi. Chaque réarrangement a environ une chance sur trois d'être correct, mais si la première

tentative n'est pas productive, le développement est suspendu et il y a possibilité d'une tentative supplémentaire ou plus. Les possibilités de réarrangements répétés sont plus grandes pour les locus de chaînes légères (voir Fig. 7.16), de façon à ce que peu de cellules soient perdues entre les stades de cellules pré-B et B immatures par rapport au passage du stade pro-B au stade pré-B.

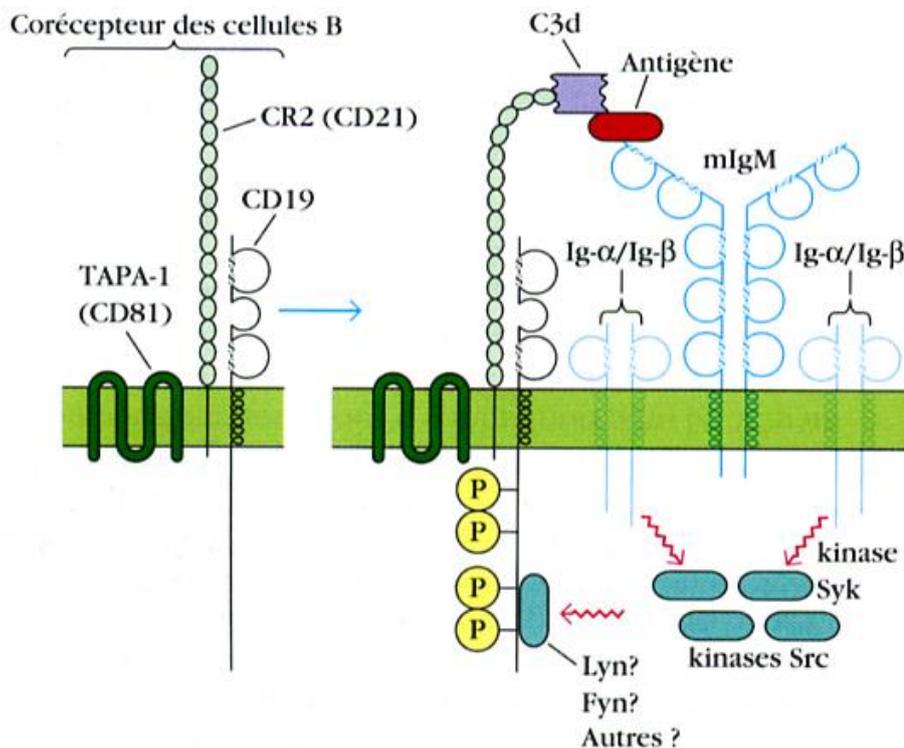
## 2/ Récepteur membranaire pour l'Ag et mode de reconnaissance

Le récepteur spécifique pour l'Ag du lymphocyte B (LB) est l'Ig membranaire. Le lymphocyte B reconnaît l'Ag dans sa forme native, seul (pas de restriction HLA) en solution ou à la surface d'un micro-organisme ou d'une cellule. L'Ig membranaire est associée à la surface du lymphocyte B avec l'hétérodimère  $Ig\alpha$ - $Ig\beta$  (CD79a-CD79b) qui assure la transmission du signal d'activation à l'intérieur du lymphocyte B (cf cours les immunoglobulines : structure et fonctions).



- Ag natif
- En suspension ou à la surface d'une cellule ou d'un micro-organisme

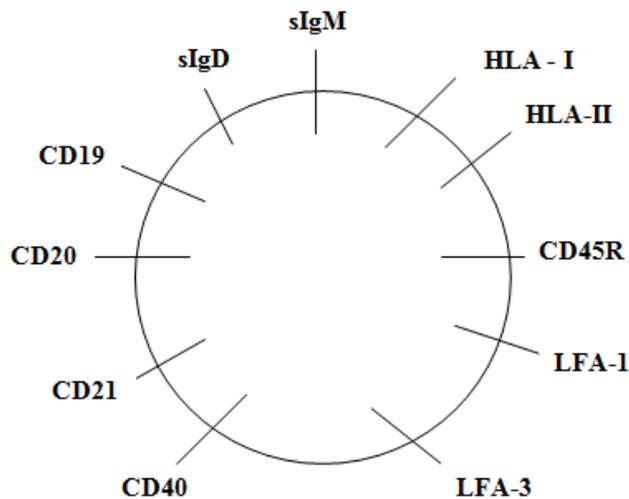
Le corécepteur des lymphocytes B est constitué des molécules CD19, CD81 et CD21 (correspondant au CR2) qui sont constamment exprimées à la surface du LB à côté du BCR. En se liant au C3d fixé sur l'Ag, le CD21 permet de stabiliser la liaison de l'Ig membranaire à l'Ag et ainsi d'abaisser le seuil d'affinité pour le LB.



### 3/ Marqueurs membranaires

Le lymphocyte B mature au repos exprime en plus de l'Ig de surface, les molécules HLA classe I et classe II, les antigènes de différenciation CD19, CD20, CD21 = CR2, CD22, CD32 = FcγRII, CD35 = CR1, CD40 (interagit avec CD40L, son "ligand" sur les cellules T), CD45R et les molécules d'adhésion leucocytaires LFA-1 = CD11a/CD18 et LFA3 = CD58.

Parmi ces marqueurs membranaires et en plus de l'Ig membranaire qui définit le lymphocyte B, seul CD19 est spécifique des cellules de la lignée B et exprimé par tous les lymphocytes B matures : on parle de marqueur pan-B. En plus de ces marqueurs, le **lymphocyte B activé** va exprimer CD23 (Fcε-RII), CD25 (IL2-Rα) et CD80 (ou B7-1 : ligand de CD28) et CD10.



*Figure : Marqueurs membranaires du lymphocyte B mature au repos*

#### ***4/ Fonctions***

Les lymphocytes B et surtout les plasmocytes qui en dérivent sont des cellules spécialisées dans la production d'Ac. Le lymphocyte B est ainsi le support de l'immunité humorale.

Le lymphocyte B exprime les molécules HLA classe II et peut ainsi présenter aux lymphocytes T helper CD4<sup>+</sup> des peptides antigéniques provenant de la dégradation partielle de l'Ag natif qu'il capte grâce aux sites Ac de son Ig membranaire.

#### ***5/ Sous-populations***

Il existe chez l'homme comme chez la souris une sous-population minoritaire de lymphocytes B dits B1 ou B CD5<sup>+</sup> et caractérisés, en plus de l'expression de CD5 (Ly1b chez la souris), par leur capacité d'auto-renouvellement en périphérie notamment dans le péritoine où elles sont majoritaires et la production d'anticorps de classe IgM qui sont généralement poly-spécifiques et de faible affinité. Les lymphocytes B1 expriment peu ou pas d'IgD membranaires et répondent faiblement aux Ag protéiques et beaucoup mieux aux Ag glucidiques.

### **IV- Les lymphocytes T**

#### ***1- Ontogénie***

Les lymphocytes T se différencient dans le thymus à partir de cellules

souches lymphoïdes provenant de la moelle osseuse (ou du foie fœtal pendant les premiers mois de gestation). La migration des cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse dans le thymus est un phénomène continu. Le rôle central du thymus dans la production des lymphocytes T est démontré par l'immunodéficience sévère observée chez la souris après thymectomie néonatale (J. Miller) ou associée à l'aplasie thymique congénitale chez l'homme (syndrome de Di-Georges). Le thymus involue progressivement à partir de la puberté et le nombre de cellules T se maintient chez l'adulte et le sujet âgé par division de lymphocytes T matures en dehors du thymus. La différenciation intra-thymique des cellules de la lignée T est associée à une prolifération active induite par l'IL1 et l'IL7 produites par les cellules du stroma thymique, l'IL2 produite par les thymocytes ( $\gamma/\delta$  T en cours de différenciation dans le thymus) et l'IL3 produite par les 2 types de cellules. Il existe vraisemblablement un gradient de maturation des thymocytes du cortex externe vers la médullaire des lobules thymiques.

Le principal évènement au cours de la différenciation initiale (intra-thymique) ou maturation des cellules de la lignée T est le **réarrangement des gènes du TCR** permettant l'obtention d'un lymphocyte T mature à TCR de type  $\alpha/\beta$  ou de type  $\gamma/\delta$ . Les lymphocytes T $\gamma/\delta$  semblent dériver directement des précurseurs T précoces doubles négatifs CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>. Il en est de même pour une sous-population de lymphocytes T dite TNK exprimant un récepteur  $\alpha/\beta$  de diversité très limitée et portant le marqueur NK1.1 communément trouvé sur les cellules NK. Ces 2 sous-populations minoritaires de lymphocytes T (T  $\gamma/\delta$  et TNK  $\alpha/\beta$ ) quittent le thymus à l'état de lymphocytes T matures double négatifs CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> ; tandis que la grande majorité des lymphocytes T produits dans le thymus sont des cellules T  $\alpha/\beta$  simples positives CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> exprimant un TCR hautement diversifié et dont la filiation intra-thymique peut schématiquement être subdivisée en 3 grandes étapes articulées autour de l'expression ou non des marqueurs CD4 et CD8 :

**-Cellules double négatives CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup> (ou pro-T) :** elles dérivent directement des cellules souches lymphoïdes avec les gènes du TCR en configuration germinale.

La cellule pro-T double négative CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> commence par exprimer ckit, la TdT

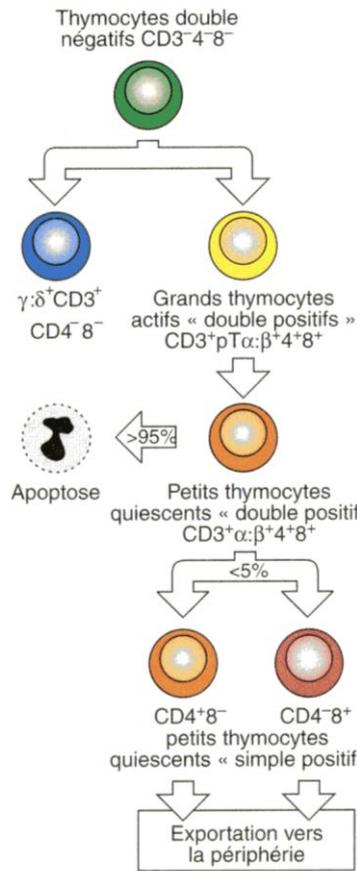
et le complexe de transduction de signal spécifique des lymphocytes T, le CD3. Par la suite, elle exprime CD25 et les protéines RAG1 et RAG2 ce qui permet d'amorcer le réarrangement des gènes  $\beta$  (en même temps que celui des gènes  $\gamma$  et  $\delta$ ). La jonction d'un segment D avec un segment J est suivie par la jonction d'un segment V. Lorsqu'un assemblage VDJ- $\beta$  en phase de lecture est obtenu (la cellule peut faire jusqu'à 4 tentatives pour obtenir un réarrangement productif), une chaîne  $\beta$  est produite dans le cytoplasme où elle s'associe avec la chaîne  $\alpha$  de substitution pré-T $\alpha$  (ou pT $\alpha$ ) et les chaînes du CD3. L'ensemble  $\beta$ -pT $\alpha$ -CD3 exprimé à la surface du thymocyte constitue le récepteur pré-T ou pré-TCR.

L'expression de ckit, CD25 et des protéines RAG1 et RAG2 est arrêtée. La cellule double négative exprime CD2 et se met à proliférer (comme le fait la grande cellule pré-B dans la moelle osseuse) ce qui permet pour chaque réarrangement VDJ $\beta$  productif d'avoir plusieurs cellules (avec la même chaîne  $\beta$ ) qui au stade suivant pourront chacune faire son propre réarrangement VJ $\alpha$  et exprimer ainsi des chaînes  $\alpha$  différentes ; la diversité associative se trouve ainsi fortement amplifiée.

Comme mentionné plus haut, le réarrangement des gènes du TCR a lieu simultanément au niveau des gènes  $\beta$ ,  $\delta$  et  $\gamma$ . On pense que les thymocytes qui arrivent à faire un réarrangement productif sur  $\delta$  puis sur  $\gamma$  arrêtent les réarrangements des gènes  $\beta$  et se différencient en lymphocytes T  $\gamma/\delta$

CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup> ; tandis que les lymphocytes qui arrivent à faire un réarrangement  $\beta$  productif leur permettant d'exprimer le pré-TCR bloquent les réarrangements sur les gènes  $\delta$  et  $\gamma$  et poursuivent dans la voie  $\alpha/\beta$ .

**-Cellules double positives CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>** : elles dérivent directement des cellules doubles négatives en prolifération. En plus du pré-TCR (comprenant le CD3) et de CD2, ces cellules expriment simultanément les 2 corécepteurs des cellules T : CD4 et CD8. Lorsque les grands thymocytes doubles positifs cessent de proliférer et deviennent de petits thymocytes doubles positifs, la transcription des gènes RAG1 et RAG2 est relancée de façon transitoire, ce qui permet de poursuivre le



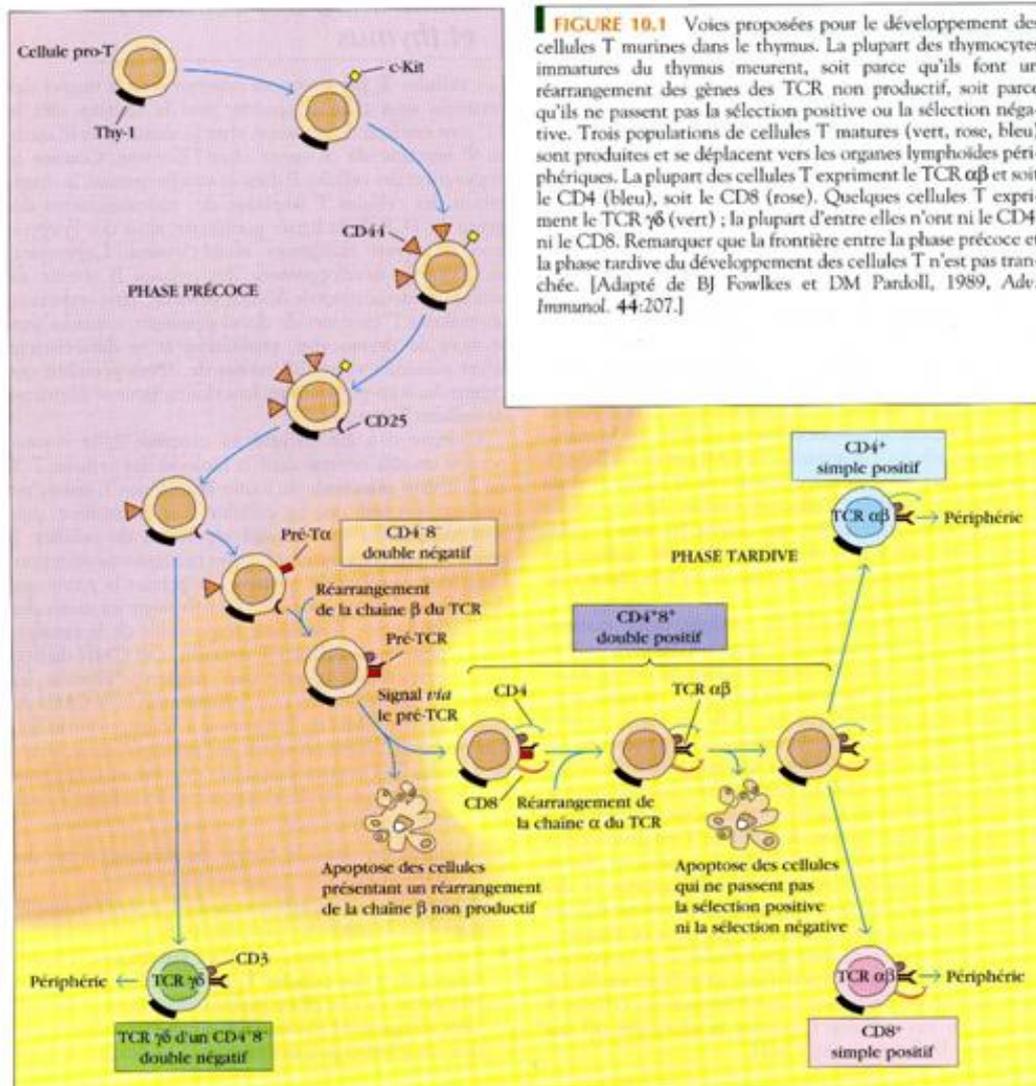
**Fig. 7.11 Les changements des molécules à la surface de la cellule permettent de distinguer les populations de thymocytes à différentes étapes de maturation.** Les molécules de surface les plus importantes pour l'identification des sous-populations de thymocytes sont CD4, CD8, et les molécules du complexe du récepteur (CD3 et les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  du récepteur de la cellule T). Les populations cellulaires les plus précoces du thymus n'expriment aucun de ces marqueurs. Elles sont appelées thymocytes double négatifs, car ils n'expriment ni CD8, ni CD4. Ces précurseurs donnent naissance aux deux lignées de cellules T, la population minoritaire des cellules T  $\gamma:\delta$  (sans CD4, ni CD8, même matures), et la lignée majoritaire des cellules T  $\alpha:\beta$ . Le développement prospectif des cellules T  $\alpha:\beta$  passe par des stades où CD4 et CD8 sont exprimés tous les

deux par la même cellule ; elles sont appelées thymocytes double positifs. Les cellules T double positives expriment d'abord le récepteur pré-T (pT $\alpha:\beta$ ). Ces cellules grossissent et se divisent. Plus tard, elles deviennent de petites cellules quiescentes double positives sur lesquelles s'exprime en faible densité le récepteur de cellule T ( $\alpha:\beta$ ). La plupart des thymocytes (97 %) meurent dans le thymus après être devenues des petites cellules double positives. Les cellules dont les récepteurs avec les molécules du CMH du soi perdent l'expression de CD4 ou de CD8 et augmentent le niveau d'expression du récepteur de la cellule T. Elles deviennent des thymocytes simple positifs, qui, après maturation, sont exportés du thymus comme des lymphocytes T CD8 ou des lymphocytes T CD4.

réarrangement sur les gènes  $\alpha$ . La production de la TdT se poursuit de façon continue jusqu'à l'obtention d'un réarrangement VJ $\alpha$  productif permettant l'expression d'un TCR  $\alpha/\beta$  en faible densité, à la surface du petit thymocyte double positif CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> qui est maintenant prêt pour subir l'épreuve de la sélection positive. Les gènes de la chaîne  $\alpha$  subissent des réarrangements successifs jusqu'à ce qu'une sélection positive ou la mort cellulaire intervienne.

Seuls les thymocytes dont le TCR est capable de reconnaître l'une ou l'autre des molécules HLA du soi exprimé par les cellules stromales thymiques (en l'occurrence, les cellules épithéliales du cortex) recevront les signaux nécessaires pour poursuivre leur différenciation et échapper à la mort cellulaire programmée (ou apoptose) : c'est la sélection positive qui permet d'adapter le répertoire de TCR de chaque individu à son haplotype (sa combinaison de molécules) HLA et ainsi de mettre en place la restriction allogénique. Les thymocytes dont le TCR interagit

avec une molécule HLA classe I perdent la molécule CD4 tandis que ceux dont le TCR interagit avec une molécule HLA classe II perdent CD8.

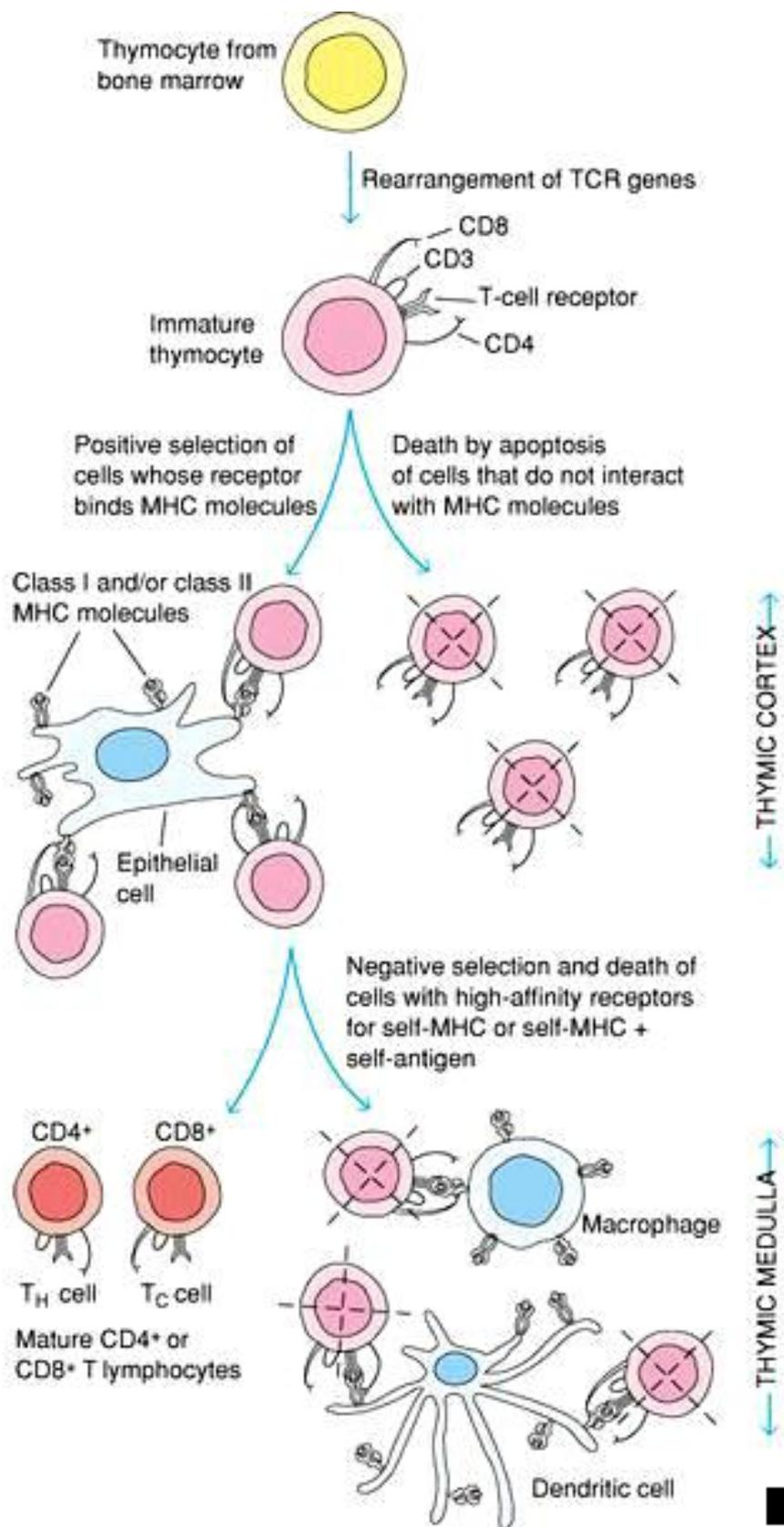


**Figure :** Représentation schématique de la sélection négative qui permet de mettre en place la restriction allogénique en ne gardant, pour chaque individu, que les lymphocytes T dont le TCR interagit avec ses propres molécules HLA.

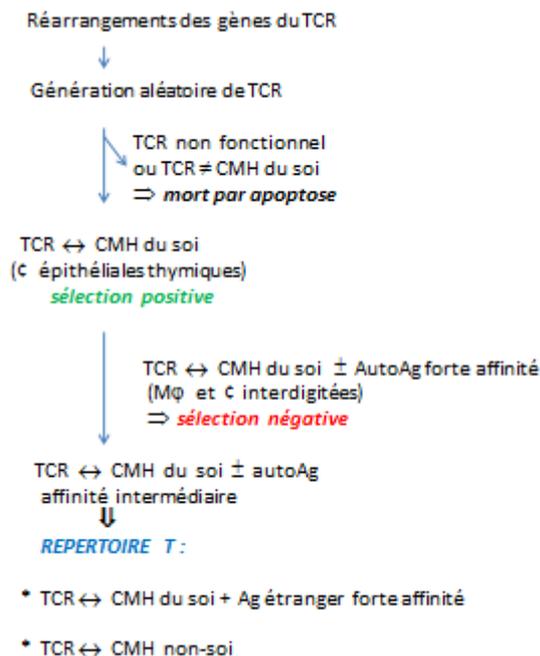
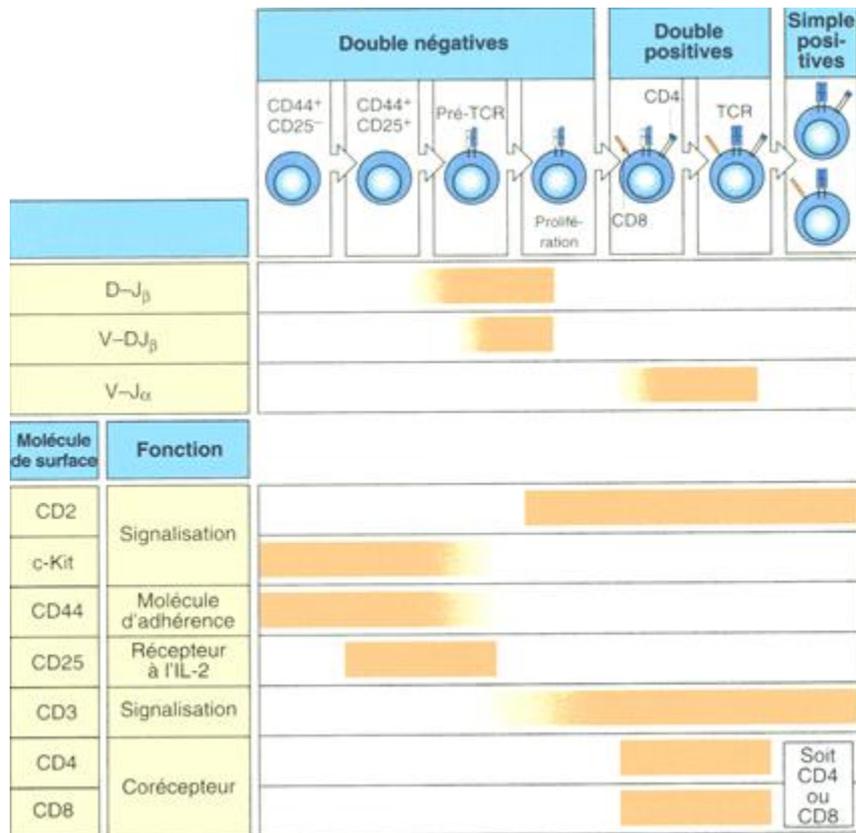
- **Cellules simple positives** : encore appelées thymocytes immatures, ces cellules qui expriment soit CD4 soit CD8 en plus de CD2 et du complexe CD3/TCR $\alpha\beta$  (exprimé à faible densité) sont retrouvées au niveau de la médullaire thymique. La sélection négative entamée au stade précédent se poursuit : les lymphocytes dont le TCR interagit avec une forte affinité avec une molécule HLA, seule ou avec un peptide antigénique du soi, exprimée par les cellules stromales thymiques (macrophages et cellules interdigitées) sont tués ; c'est la délétion clonale qui permet d'éliminer une bonne partie des lymphocytes T (LT) auto-réactifs et qui représente le premier mécanisme de tolérance au soi. Les thymocytes ayant passé avec succès les épreuves de la sélection positive et de la sélection négative expriment à forte densité le complexe CD3-TCR $\alpha/\beta$  et quittent le thymus sous forme de lymphocytes T matures simple positifs CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup>. On estime que plus de 90% des thymocytes n'arrivent pas à maturation et meurent par apoptose soit parce qu'ils ne sont pas arrivés à effectuer un réarrangement productif des gènes du TCR soit parce qu'ils n'ont pas été sélectionnés positivement ou enfin parce qu'ils ont été éliminés par la sélection négative. Les LT auto-réactifs avec un TCR de forte affinité pour l'Ag du soi peuvent être convertis en Treg naturels CD4<sup>+</sup>/ CD25<sup>+</sup>/ FOXP3<sup>+</sup> et échapper ainsi à la délétion clonale.

Le gène AIRE ("auto-immune regulator") code pour un facteur activateur de la transcription qui induit l'expression par les cellules épithéliales de la médullaire thymique ("medulla-thymic epithelial cells" ou mTECs) de nombreux auto-Ag de divers organes périphériques, ce qui permet d'élargir l'éventail des auto-Ag rencontrés par les LT immatures dans le thymus.

Les mutations du gène AIRE se traduisent par un syndrome auto-immun appelé APECED pour "*auto-immune poly-endocrinopathy with candidiasis and ectodermal dysplasia*".



**Figure :** Etapes successives de la sélection du répertoire des lymphocytes T dans le thymus : sélection positive (restriction allogénique) et sélection négative (délétion clonale)



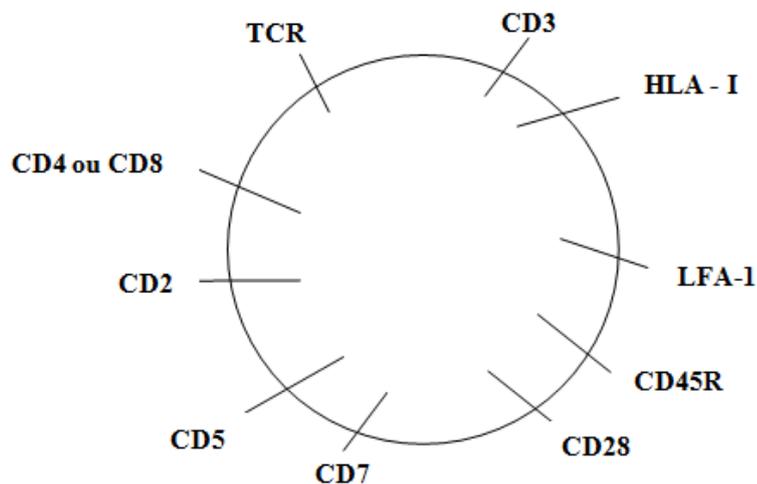
### Récepteur pour l'Ag et mode de reconnaissance

Le récepteur spécifique pour l'Ag du lymphocyte T est le TCR, hétérodimère  $\alpha/\beta$  ou  $\gamma/\delta$ . Les deux types de TCR sont exprimés de façon mutuellement exclusive. Plus de 90 % des lymphocytes T circulants de l'adulte expriment un TCR de type

$\alpha/\beta$  qui reconnaît l'Ag présenté à la surface d'une cellule du soi en association avec une molécule HLA classe I ou classe II. Il s'agit en général, non pas de l'Ag natif, mais d'un peptide d'une dizaine d'acides aminés provenant de la dégradation partielle de la molécule antigénique native.

### 3- Marqueurs membranaires

Le lymphocyte T périphérique au repos exprime en plus du complexe TCR/CD3, les molécules HLA classe I, LFA-1, CD2, CD5, CD7, CD28 et CD45R. Plus de 90 % des lymphocytes T périphériques expriment soit CD4 soit CD8 et 5 à 10 % sont des cellules double négatives CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup>.



*Figure : Marqueurs membranaires du lymphocyte T mature au repos*

**TABLEAU 9.3** Quelques molécules accessoires des cellules T

Nom	Ligand	Fonction		
		Adhésion	Transduction du signal	Membre de la superfamille des Ig
CD4	Classe II du CMH	+	+	+
CD8	Classe I du CMH	+	+	+
CD2 (LFA-2)	CD58 (LFA-3)	+	+	+
LFA-1 (CD11a/CD18)	ICAM-1 (CD54)	+	?	+ / (-)
CD28	B7	?	+	+
CTLA-4	B7	?	+	-
CD45R	CD22	+	+	+
CD5	CD72	?	+	-

30 à 35% environ des lymphocytes T périphériques sont de phénotype CD8<sup>+</sup>, tandis que 60 à 65 % sont de phénotype CD4<sup>+</sup>.

Après **activation**, le lymphocyte T exprime un certain nombre de nouveaux marqueurs membranaires notamment les molécules HLA classe II, CD25 (IL2-R $\alpha$ ) et CD40-L (ligand du CD40 exprimé à la surface des LB).

#### ***4-Fonctions***

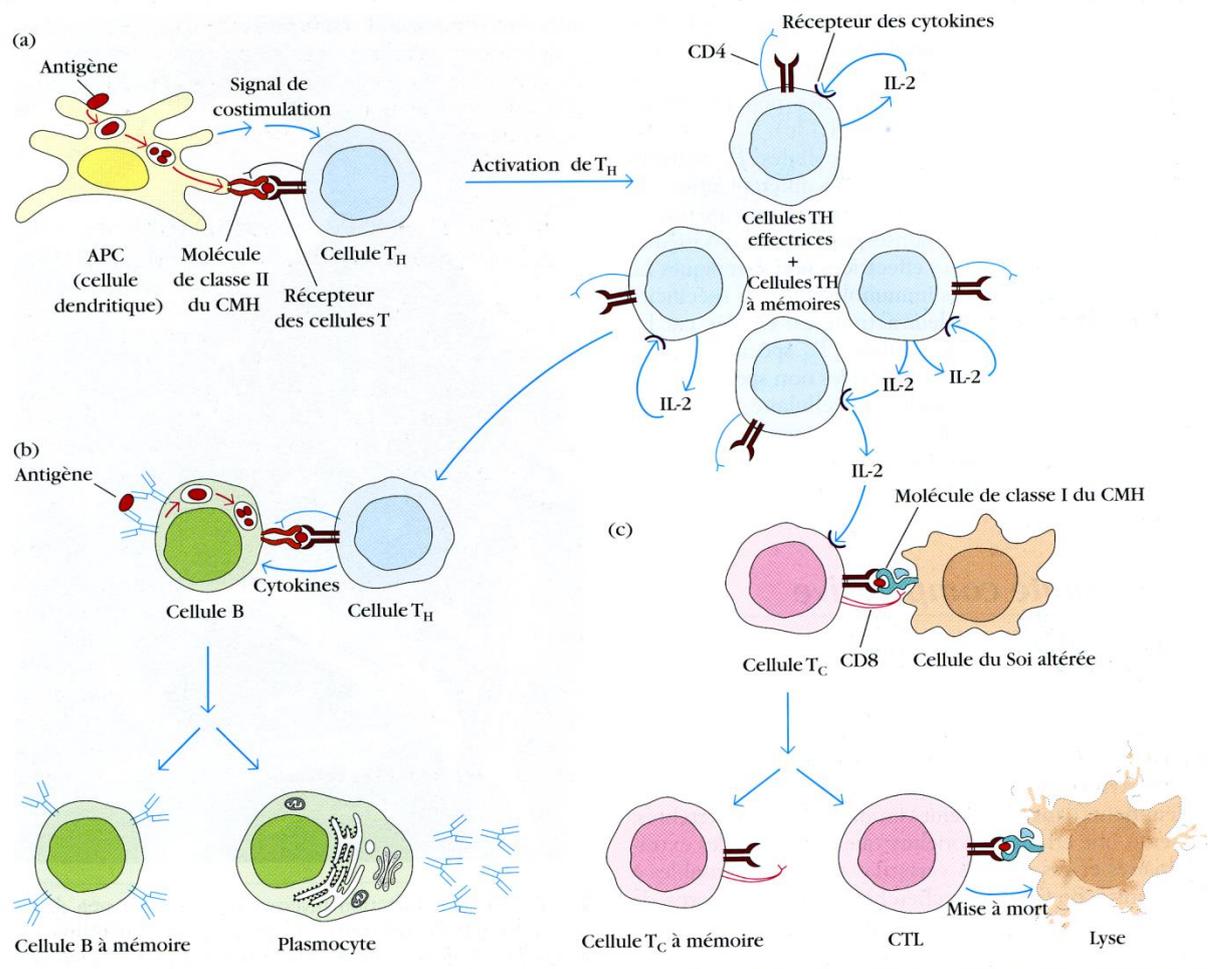
Les lymphocytes T sont le support de l'immunité à médiation cellulaire. Les lymphocytes T cytotoxiques (Tc) ou CTL sont les cellules effectrices de la **cytotoxicité à médiation cellulaire** tandis que les lymphocytes T helper (Th) ou auxiliaires sont les cellules effectrices des réactions **d'hypersensibilité retardée** (HSR). En règle générale, les lymphocytes T cytotoxiques sont de phénotype CD8<sup>+</sup> tandis que les lymphocytes T helper sont de phénotype CD4<sup>+</sup>.

Les LT cytotoxiques CD8<sup>+</sup> jouent un rôle central dans le phénomène d'immuno-surveillance. En effet, les cellules du soi ne sont pas des entités figées, ce sont des cellules vivantes qui se renouvellent continuellement. Chaque cellule soumet en permanence un échantillon de chaque protéine synthétisée à la dégradation partielle et la présentation antigénique via la voie de présentation endogène ou de l'exocytose. Il y a par conséquent une présentation permanente des peptides du soi avec les molécules HLA classe I à la surface des cellules de l'organisme, ces peptides sont considérés comme une carte d'identité des cellules du soi. Les LT cytotoxiques surveillent en permanence la nature des peptides présentés et dès qu'une cellule est infectée par un virus ou transformée en cellule cancéreuse, les nouveaux peptides anormaux (viraux ou tumoraux) ainsi exprimés à sa surface sont reconnus par les LT cytotoxiques spécifiques qui vont ainsi être activés et tuer cette mauvaise cellule infectée par un virus ou devenue cancéreuse.

En plus de leur fonction de cellules effectrices de l'immunité à médiation cellulaire, les lymphocytes T jouent un rôle central dans la régulation et le contrôle des réponses immunitaires spécifiques et non spécifiques et de l'hématopoïèse. Ce rôle est essentiellement attribué aux lymphocytes T helper capables avec les multiples cytokines qu'ils produisent, non seulement de recruter sur place et

d'activer les macrophages et diverses autres cellules (hypersensibilité retardée), mais aussi d'aider la prolifération et la différenciation terminale des lymphocytes B pour la production d'Ac ou des pré-CTL pour la cytotoxicité à médiation cellulaire, de stimuler la prolifération et l'activité cytotoxique des cellules NK, de réguler l'hématopoïèse...

**FIGURE 1.13** Interactions cellulaires impliquées dans l'induction des réponses immunitaires. L'activation (APC = cellule présentatrice de l'antigène) et la prolifération des cellules  $T_H$  (a) sont nécessaires au déclenchement d'une réponse humorale (b) et d'une réponse à médiation cellulaire contre des cellules du Soi altérées (c).



En fonction du profil de cytokines qu'ils produisent, on distingue chez l'homme comme chez la souris, 2 principales sous-populations de lymphocytes T helper :

- les lymphocytes T helper de type **Th1** secrètent l'IL2, l'INF $\gamma$  et le TNF $\beta$  et sont essentiellement impliqués dans la coopération avec les CTL (cytotoxicité à

médiation cellulaire) et les macrophages (HSR). Les lymphocytes TH1 sont donc particulièrement impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire.

- les lymphocytes T helper de type **Th2** produisent l'IL4, l'IL5, l'IL6, l'IL10 et l'IL13 et sont donc préférentiellement concernés par la coopération avec les lymphocytes B (immunité humorale).

Les 2 types de lymphocytes T helper secrètent l'IL3 et le GM-CSF permettant de stimuler l'hématopoïèse et la cytokine pro-inflammatoire TNF $\alpha$  permettant d'amorcer la réaction inflammatoire.

### Notion de lymphocytes T suppresseurs ou T régulateurs

La réalité du phénomène de suppression et l'existence de lymphocytes T exerçant des fonctions suppressives ont été démontrées depuis les années 70 par des expériences d'induction et de transfert de tolérance à hautes et à basses doses d'Ag. On a pendant longtemps attribué abusivement cette fonction de suppression aux LT cytotoxiques CD8<sup>+</sup> qui étaient ainsi désignés LT cytotoxiques/suppresseurs (Tc/s). Cependant toutes les tentatives cherchant, depuis plus de 40 ans, à identifier une sous population de lymphocytes T spécialisés dans la suppression ont été vaines et tout laisse à penser que plusieurs sous-populations de lymphocytes T peuvent exercer une fonction suppressive au même titre que d'autres activités. L'identification des sous-populations Th1 et Th2 parallèlement à la caractérisation de cytokines à fonction suppressive (IL10, TGF- $\beta$ ...) a conforté cette vision et la plupart des auteurs utilisent maintenant le terme de lymphocytes **T régulateurs** (Treg) pour désigner ces lymphocytes T qui contrôlent les fonctions des autres lymphocytes et qui sont habituellement des cellules T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup>.

### *5/ Sous-populations :*

A côté des **lymphocytes T  $\alpha/\beta$  conventionnels** qui représentent près de 90% des lymphocytes T périphériques et sont caractérisés par l'expression d'un TCR de type  $\alpha/\beta$  avec l'une ou l'autre des 2 molécules corécepteurs CD4 ou CD8 et la reconnaissance de peptides antigéniques présentés en association à des molécules

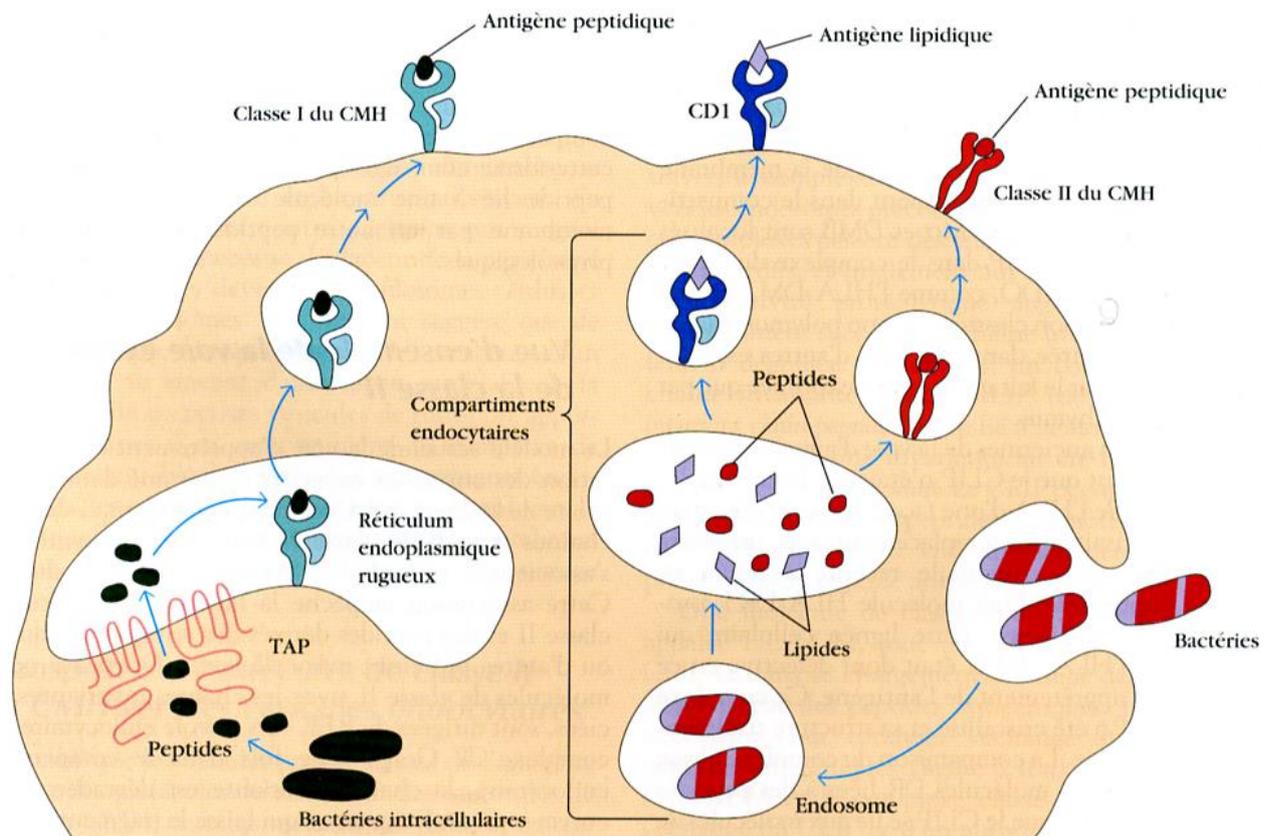
HLA classe I ou classe II, il existe 2 sous-populations minoritaires de lymphocytes T : les lymphocytes T  $\gamma/\delta$  et les lymphocytes TNK.

Les **cellules T  $\gamma/\delta$**  représentent moins de 5% des lymphocytes T périphériques mais constituent la population principale des cellules T de la peau et des muqueuses.

Les lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) sont habituellement des lymphocytes T  $\gamma/\delta$  CD8<sup>+</sup>, les autres cellules T  $\gamma/\delta$  sont des cellules T double négatives CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup>

Le mode de reconnaissance de l'antigène et les fonctions des cellules T  $\gamma/\delta$  ne sont pas encore clairement établis. Une bonne partie de ces cellules expriment un TCR de diversité limitée et restent fixés (ne circulent pas) dans les sites tissulaires épithéliaux où elles ont élu domicile. Certaines cellules T  $\gamma/\delta$  peuvent avec leur TCR lier directement des protéines antigéniques sans nécessiter d'apprêtement ni de présentation par les molécules du CMH, d'autres cellules T  $\gamma/\delta$  se lient à des antigènes mycobactériens non peptidiques, d'autres enfin peuvent médier la lyse des cellules tumorales de façon non restreinte au CMH en fonctionnant comme des cellules NK.

Les **cellules TNK (ou NKT)** se présentent comme une petite population de lymphocytes T  $\alpha/\beta$  CD4<sup>+</sup> ou double négatifs CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup> qui se distinguent des lymphocytes T  $\alpha/\beta$  conventionnels par l'expression du marqueur NK1.1 (CD161) des cellules NK, un répertoire TCR de diversité très limité (avec une chaîne  $\alpha$  quasi-invariante et une chaîne  $\beta$  de diversité restreinte), la reconnaissance de l'antigène avec une molécule de CMH non classique, le CD1d et la réponse rapide aux sollicitations antigéniques par la production explosive d'un large éventail de cytokines. Les cellules NKT semblent avoir pour vocation de reconnaître des antigènes glyco-lipidiques.



**Figure:** Rôle des molécules CD1 (HLA I like) dans la présentation des Ag glycolipidiques

## V- Conclusion

Les cellules lymphocytaires de notre système immunitaire entreprennent au cours de leur différenciation un réarrangement intensif de leur génome afin d'obtenir un répertoire illimité et adapté de molécules réceptrices aux antigènes : les récepteurs des lymphocytes T et les anticorps produits par les lymphocytes B. Bien que nécessaire à l'établissement de notre défense immunitaire contre les pathogènes, cet exercice a un prix puisqu'il met en danger l'intégrité du génome et de fait, les lymphomes et leucémies sont parmi les néoplasies les plus fréquentes chez l'être humain.

La lymphopoïèse fait appel à des mécanismes génétiques bien connus, mais aussi à des mécanismes épigénétiques. Les modifications épigénétiques peuvent contribuer de façon significative à la leucémogénèse ou à la lymphomagénèse si elles se produisent de façon anormale. Cette compréhension nouvelle est la source de nouvelles voies thérapeutiques.

# LE SYSTEME HLA

## Complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme

Dr Hatem MASMOUDI

### Objectifs éducationnels

---

1. Définir le système HLA
  2. Décrire la structure des molécules HLA classe I et classe II
  3. Préciser la distribution cellulaire des molécules HLA classe I et des molécules HLA classe II
  4. Décrire les voies intracellulaires de biosynthèse des molécules HLA classe I et des molécules HLA classe II
  5. Décrire l'organisation génétique de la région HLA
  6. Expliquer le polymorphisme des gènes HLA
  7. Connaître les fonctions des molécules du système HLA
  8. Citer les applications en médecine et en génétique des populations du système HLA
- 

### I- Historique et introduction

En 1936, avec des expériences de greffe de peau et de transplantation de tumeurs entre souris de lignées différentes, Gorer a mis en évidence un facteur de rejet (résistance) des greffes : il s'agissait pour Gorer d'un nouveau groupe érythrocytaire exprimé par les cellules normales et les cellules tumorales qu'il appela antigène 2 (Ag II).

En 1943, Medawar montre que le rejet est un phénomène immunologique : le 2<sup>ème</sup> rejet est plus rapide et plus intense que le premier.

En 1948, en utilisant des souris congéniques (différentes au niveau du gène étudié, identiques au niveau de tous les autres gènes), Snell a établi que le rejet est déterminé par un système génétique transmis selon les lois mendéliennes qu'il appelle système d'histocompatibilité II ou H2.

En 1958, Dausset a montré qu'il existe à la surface des leucocytes humains des Ag semblables aux Ag H2 de la souris : les Ag HLA ("*Human Leucocyte Antigens*"). Les Ag HLA comme les Ag H2 sont des glycoprotéines codées par les

gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC : "Major Histocompatibility Complex") : système HLA chez l'homme et système H2 chez la souris.

Complexe, parce que constitué d'un très grand nombre de gènes regroupés sur un court segment chromosomique.

Majeur, parce qu'en cas d'incompatibilité, le rejet de greffe est rapide avec production d'Ac spécifiques. Il existe d'autres systèmes d'histocompatibilité dits mineurs : en cas d'incompatibilité, le rejet est lent et sans production d'Ac.

Histocompatibilité, puisque intervient dans l'acceptation ou le refus des greffes allogéniques.

Pendant très longtemps, le complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH a été associé au rejet des greffes allogéniques. Ce n'est qu'à partir de 1974 avec les travaux de Zinkernagel et Doherty sur la restriction allogénique et la réponse cytotoxique des lymphocytes T qu'on a commencé à comprendre le véritable rôle physiologique du CMH : les gènes du CMH codent pour des glycoprotéines membranaires qui assurent la présentation de l'Ag aux lymphocytes T. Les molécules codées par les gènes du CMH jouent donc un rôle fondamental dans la réponse immunitaire spécifique au même titre que les Ig et le TCR comme en témoignent les rares cas de déficit immunitaire profond dû à un défaut d'expression des molécules HLA ("*Bare lymphocyte syndrome*" ou syndrome des lymphocytes dénudés).

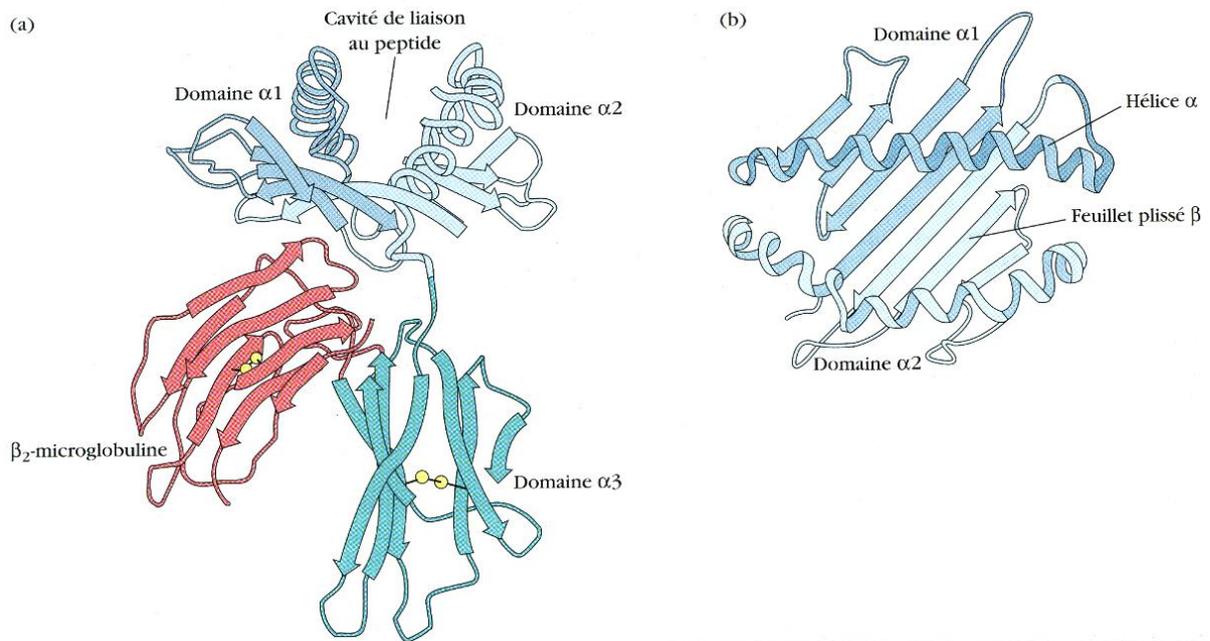
On distingue 2 classes de molécules HLA différentes par leur structure, leur distribution cellulaire, leurs voies intracellulaires de biosynthèse, les gènes qui les gouvernent et le type de lymphocytes auxquels elles présentent l'Ag : HLA classe I : A, B et C ; HLA classe II : DR, DQ et DP.

## **II- Les molécules HLA classe I**

### ***1) Structure***

Les molécules HLA classe I (A, B et C) sont composées chacune de 2 chaînes polypeptidiques, une chaîne lourde  $\alpha$  transmembranaire de 43 KDa de PM liée de façon non covalente mais avec une forte affinité à une chaîne légère extracellulaire

de 12,5 KDa de PM, non glycosylée et monomorphe : la  $\beta_2$  microglobuline. Le polymorphisme des molécules HLA classe I est porté par la chaîne  $\alpha$  dont la portion extracellulaire comporte 3 domaines :  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  et  $\alpha_3$ . La  $\beta_2$  microglobuline a, elle aussi, une structure en domaine (figure 1).



**Figure 1 :** Représentations de la structure tridimensionnelle des domaines externes d'une molécule de l'HLA humain d'après une analyse cristallographique par rayons X. (a) Vue latérale dans laquelle les brins  $\beta$  sont représentés sous la forme de flèches épaisses et les hélices  $\alpha$  sous la forme de rubans en spirales. Les liaisons disulfure sont représentées par deux sphères interconnectées. Les domaines  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  interagissent pour former la cavité de liaison au peptide. Remarquer la structure en repliement immunoglobulinique du domaine  $\alpha_3$  et de la  $\beta_2$ -microglobuline. (b) Les domaines  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  sont vus par le haut, ce qui montre la cavité de liaison au peptide constituée d'une base de brins  $\beta$  antiparallèles et de côtés formés d'hélices  $\alpha$ . Dans les molécules de classe I, cette cavité peut recevoir des peptides contenant 8-10 résidus.

## 2) Distribution cellulaire

Les molécules HLA classe I sont exprimées à la surface de la quasi-totalité des cellules nucléées de l'organisme à l'exception des neurones, des spermatozoïdes, des cellules trophoblastiques et des tubules rénaux. Les molécules HLA classe I sont absentes aussi au niveau de l'os, du cartilage et de la cornée. Elles sont faiblement détectées sur les cellules endocrines, la muqueuse gastrique, le myocarde, le muscle strié et les hépatocytes. Les érythrocytes (cellules anucléées) n'expriment pas de molécules HLA I ; tandis que les plaquettes (proviennent de la défragmentation des mégacaryocytes, cellules nucléées) les expriment. L'expression quantitative varie selon le type cellulaire et le stade de différenciation. Elle peut être augmentée par certaines cytokines notamment l' $\text{INF}\gamma$

et le TNF $\alpha$ . Elle peut être fortement diminuée dans le cas de certains cancers (les cellules cancéreuses échappent ainsi à l'action cytotoxique des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>).

### ***3) voies intracellulaires de biosynthèse et partenaires antigéniques***

Les molécules HLA classe I présentent des peptides du soi, normaux ou transformés (virus, cancer). Leur synthèse suit la voie de l'exocytose (figure 3).

La chaîne lourde  $\alpha$  et la  $\beta$ 2 microglobuline sont synthétisées et assemblées dans le réticulum endoplasmique. La protéine endogène ou d'origine virale est dégradée dans le cytosol par le protéasome dont 2 éléments, LMP2 et LMP7, sont codés dans le CMH. Le peptide antigénique d'une dizaine d'acides aminés est acheminé du cytosol dans le réticulum endoplasmique grâce à des pompes à peptides codées par les gènes TAP1 et TAP2 intégrés eux aussi dans le CMH.

Le trio  $\beta$ 2 microglobuline-chaîne lourde  $\alpha$ -peptide antigénique formé dans le réticulum endoplasmique s'y associe successivement à diverses molécules chaperonnes (calnexine, calréticuline..) formant un complexe qui traverse l'appareil de Golgi (où la chaîne  $\alpha$  est glycosylée) avant d'être exprimé à la surface de la cellule. Le peptide antigénique est logé dans une sorte de niche ou sillon au sommet des domaines  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2 de la chaîne  $\alpha$ .

### ***4) Présentation de l'antigène***

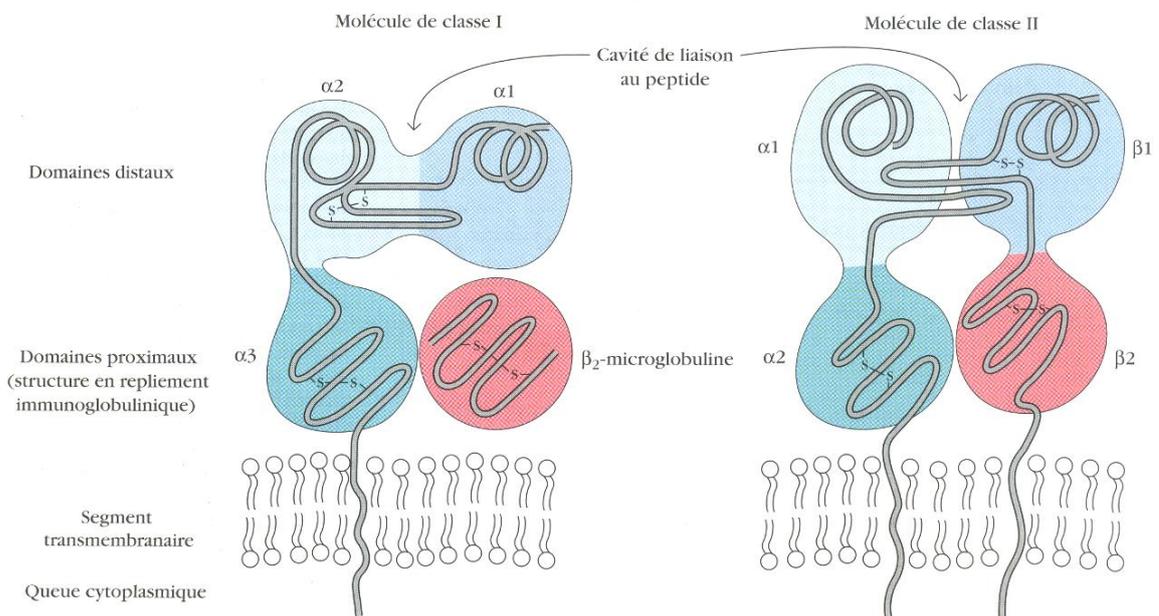
Les molécules HLA classe I présentent l'Ag aux lymphocytes T CD8<sup>+</sup>. Le TCR (hétérodimère  $\alpha/\beta$  ou  $\gamma/\delta$ ) reconnaît à la fois le peptide antigénique et une région polymorphe des domaines  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2 de la molécule HLA classe I. CD8 se lie à une région monomorphe du domaine  $\alpha$ 3. Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> correspondent en grande partie à des lymphocytes T cytotoxiques ou CTL.

## **III- Les molécules HLA classe II**

### ***1) Structure***

Les molécules HLA classe II (DR, DQ et DP) sont composées chacune de 2 chaînes polypeptidiques transmembranaires glycosylées et polymorphes, une chaîne  $\alpha$  de 31 à 34 KDa de PM et une chaîne  $\beta$  de 26 à 29 KDa de PM.

Comme les molécules HLA classe I, les molécules HLA classe II ont une structure en domaine et font partie de la superfamille des Ig. La région extracellulaire de chacune des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  est formée de 2 domaines  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  pour la chaîne  $\alpha$ ,  $\beta 1$  et  $\beta 2$  pour la chaîne  $\beta$ . La chaîne  $\beta$  est globalement plus polymorphe que la chaîne  $\alpha$  (figure 2).



**Figure 2 :** Représentations schématiques des molécules de classe I ou de classe II du CMH, montrant les domaines externes, le segment transmembranaire et la queue cytoplasmique. La cavité de liaison au peptide est formée par les domaines distaux des molécules de classe I ou de classe II. Les domaines proximaux possèdent la structure de base du repliement immunoglobulinique ; ainsi, les molécules de classe I ou de classe II du CMH sont considérées comme des membres de la superfamille des immunoglobulines.

## 2) Distribution cellulaire

Les molécules HLA classe II ont une distribution cellulaire restreinte aux cellules dites présentatrices d'Ag :

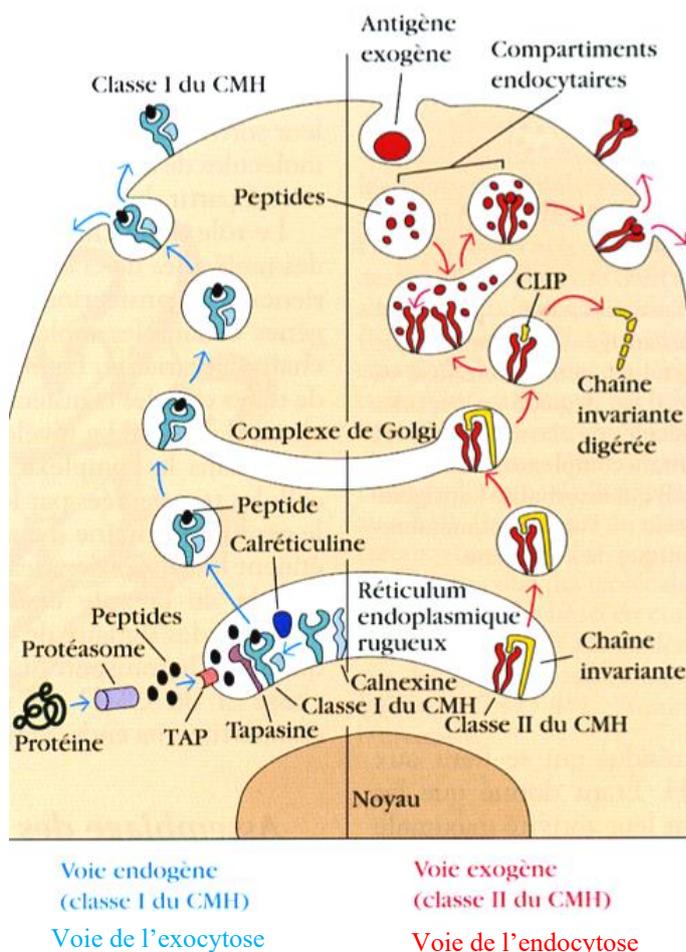
- Les monocytes-macrophages
- Les cellules dendritiques
- Les lymphocytes B
- Les lymphocytes T activés
- Les cellules épithéliales thymiques

Les monocytes et les macrophages tissulaires n'expriment de forts taux de molécules HLA classe II qu'après avoir réagi avec l'Ag et été activés par les cytokines produites par les lymphocytes T helper.

L'expression des molécules HLA classe II peut être induite et/ou augmentée par certaines cytokines notamment l'INF $\gamma$  et le TNF $\alpha$ . Une expression aberrante des molécules HLA classe II est observée dans certaines maladies auto-immunes au niveau de l'organe atteint.

### 3) Voies intracellulaires de biosynthèse et partenaires antigéniques

Les molécules HLA classe II présentent des peptides antigéniques d'origine exogène (bactérie, toxine...). Leur synthèse suit la voie de l'endocytose (figure 3).



**Figure 3 :** Modèle des voies séparées de présentation de l'antigène pour des antigènes endogènes (vert) ou exogènes (rouge). Le mode d'entrée de l'antigène dans les cellules et le site d'apprêtement de l'antigène semblent déterminer l'association des peptides antigéniques et des molécules de classe I du CMH dans le réticulum endoplasmique rugueux, ou des molécules de classe II dans les compartiments endocytaires.

Les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  sont synthétisées et assemblées dans le réticulum endoplasmique où elles se lient à la chaîne invariante  $I_i$  : une chaîne polypeptidique de 31 kDa de PM qui empêche la fixation de peptides endogènes.

Le trimère  $\alpha$ - $\beta$ - $I_i$  est transporté à travers l'appareil de Golgi vers un endolysosome contenant des protéines endocytées par la cellule. Dans le compartiment endolysosomal à pH acide, la chaîne invariante est dissociée et dégradée, ce qui permet l'association d'un peptide antigénique de 13 à 17 acides aminés provenant de la dégradation partielle d'une protéine exogène endocytée. Le complexe  $\alpha$ - $\beta$ -peptide antigénique est exprimé à la surface cellulaire.

#### 4) Présentation de l'antigène

Les molécules HLA classe II présentent l'Ag aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup>. Le TCR reconnaît en même temps le peptide antigénique et une zone variable des domaines N-terminaux  $\alpha 1$  et  $\beta 1$  de la molécule HLA classe II ; CD4 interagit avec une région monomorphe du domaine  $\beta 2$  (2<sup>ème</sup> domaine de la chaîne  $\beta$  de la molécule HLA classe II).

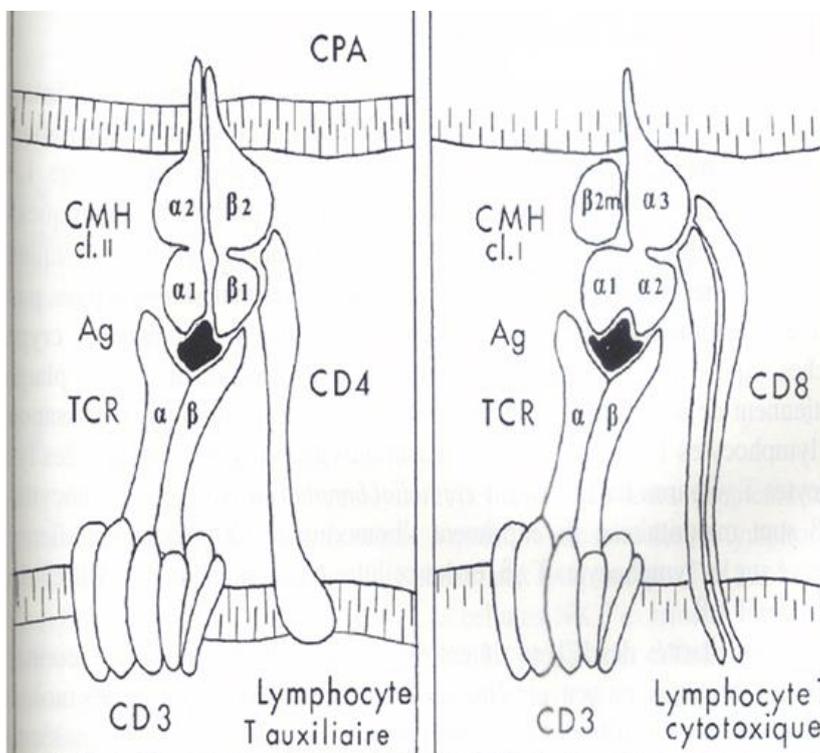
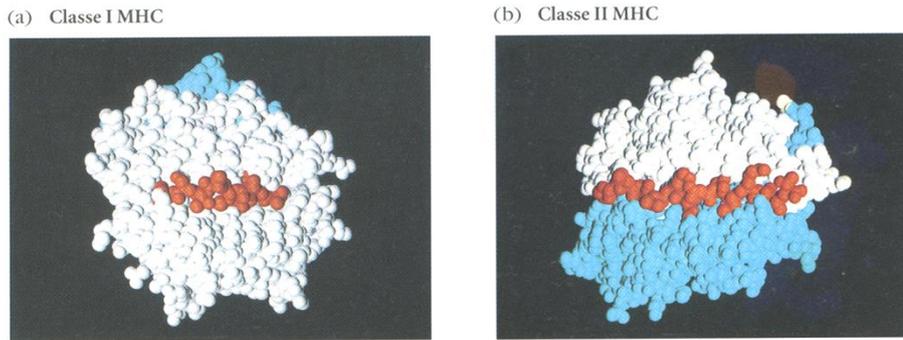


Figure 2 : Reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T  
L'antigène (Ag) associé à des molécules de présentation, les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH, est reconnu par les lymphocytes T CD4 (molécules du CMH de classe II) ou T CD8 (molécules de classe I).



**FIGURE 7.10** Molécules de classe I et molécules de classe II du CMH liées à des peptides. (a) Modèle compact d'une molécule de classe I humaine HLA-A2 (blanc) et d'un peptide (brun) venant de la transcriptase inverse de l'HIV (résidus amino acides 309-317) dans la cavité de liaison. La  $\beta_2$ -microglobuline est représentée en bleu, les séquences au-dessus du peptide appartiennent au domaine  $\alpha 1$ , celles qui sont en-dessous appartiennent au domaine  $\alpha 2$ . (b) Modèle compact d'une molécule de classe II humaine HLA-DR1 avec la chaîne DR $\alpha$  représentée en blanc et la chaîne DR $\beta$  en bleu. Le peptide (brun) dans la cavité de liaison vient de l'hémagglutinine de la grippe (résidus amino acide 306-318). [D'après DA Vignali et J Strominger, 1994, *The Immunologist* 2:112.]

## IV- Les gènes du système HLA

### 1) Organisation génétique de la région HLA

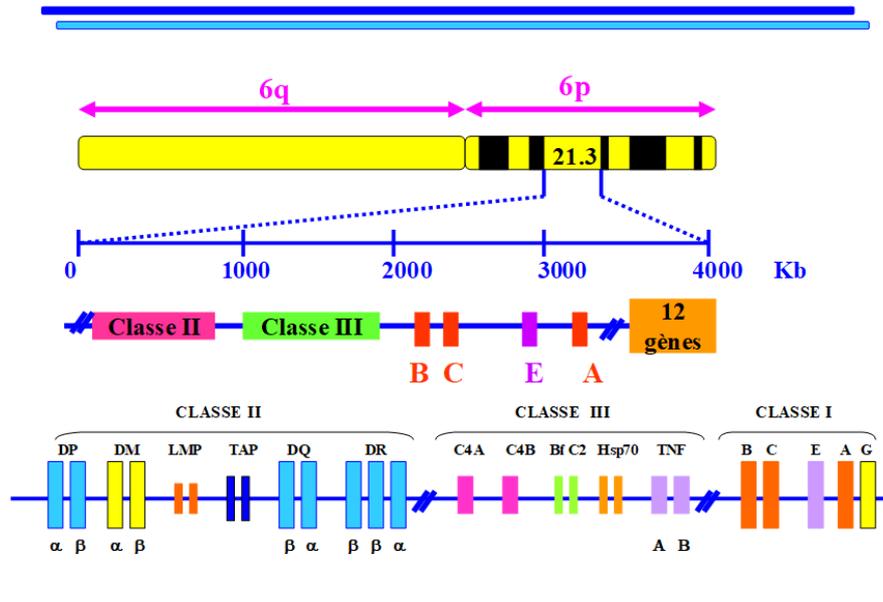
Les gènes du système HLA sont regroupés sur un segment chromosomique de 4000 kb (kilobases) environ appelé région HLA et porté par le bras court du chromosome 6 (figure 4). Seules la  $\beta_2$ -microglobuline et la chaîne invariante Ii sont codées en dehors de cette région HLA par des gènes portés respectivement par les chromosomes 15 et 5 chez l'homme. La région chromosomique HLA est subdivisée en 3 sous-régions :

- en position télomérique, la sous-région HLA classe I s'étend sur 2000 kb environ
- en position centromérique, la sous-région HLA classe II s'étend sur 1000 kb  $\approx$
- entre les deux, la sous-région HLA classe III qui s'étend sur 1000 kb environ et comporte, entre autres, les gènes C4A, C4B, BF et C2 du complément, les gènes TNF-A et TNF-B codant pour les TNF  $\alpha$  et  $\beta$ , les gènes Cyp-21A et B codant pour la 21-hydroxylase, le gène de la HSP70 ("Heat Shock Protein").

La sous-région HLA classe I comprend les gènes A, B et C codant pour la chaîne  $\alpha$  des molécules HLA classe I-A, B et C.

La sous-région HLA classe II comprend les gènes DRA, DRB, DQA, DQB, DPA et DPB codant pour les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  des molécules HLA classe II-DR, DQ et DP.

## LA RÉGION HLA (1)



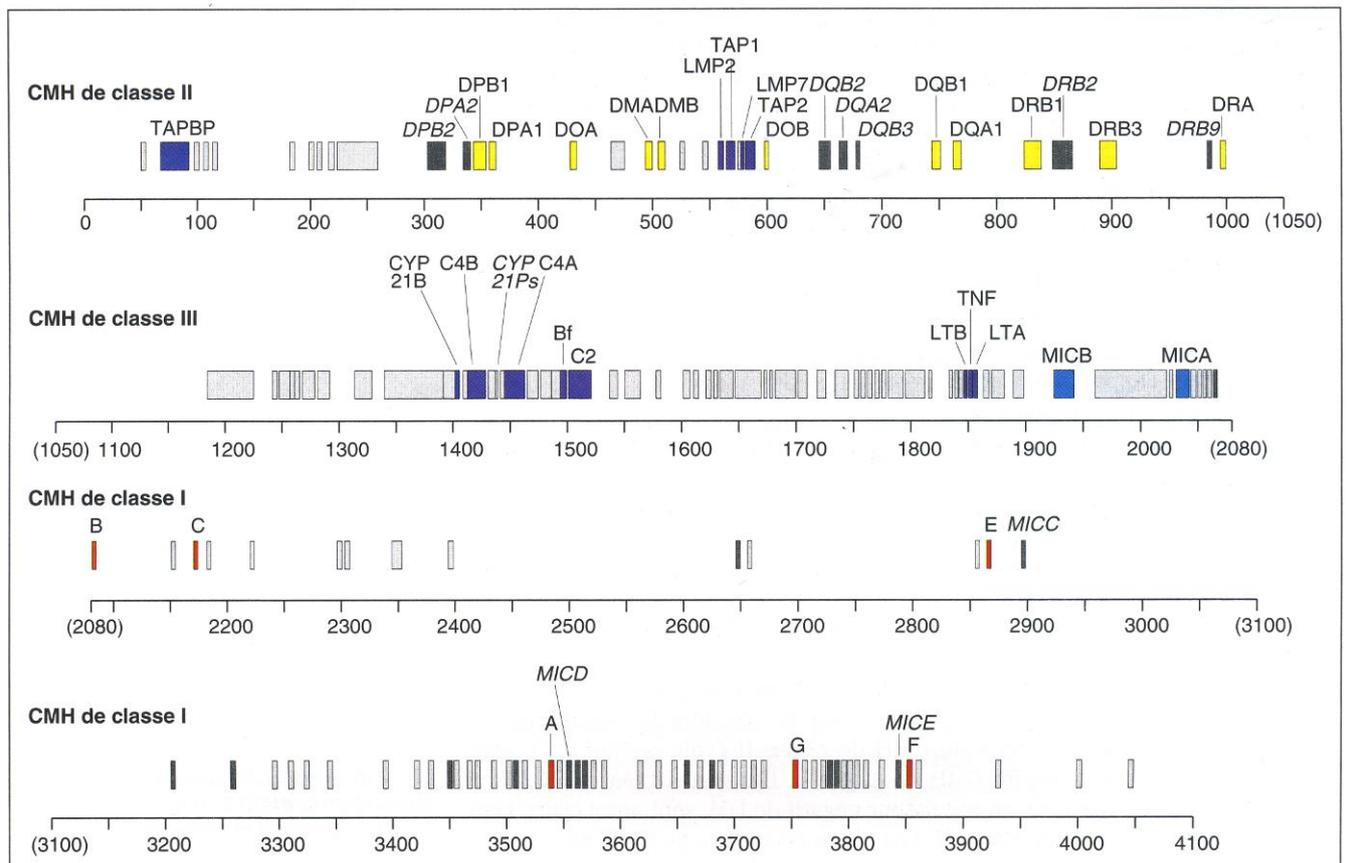
**Figure 3 :** Représentation schématique de l'organisation génétique de la région HLA

Les gènes HLA classe I et classe II ont une structure en exons (séquences codantes) séparés par des introns (séquences non codantes) qui reflète la structure en domaines des chaînes polypeptidiques.

Les gènes TAP1, TAP2, LMP2 et LMP7 sont inclus dans la sous-région HLA classe II.

A côté des gènes A, B, C, DR, DQ et DP codant pour des molécules HLA classiques, la région HLA comporte d'autres gènes de classe I : E, F, G, H... et de classe II : DN, DO... codant pour des molécules HLA dites non classiques de signification encore mal connue.

De plus, la région HLA est caractérisée par l'existence de très nombreux pseudogènes et gènes non transcrits.



**Figure 4 : Carte détaillée du CMH humain.** L'organisation des régions du CMH humain de classe I, de classe II et de classe III du CMH humain est illustrée, avec des distances génétiques approximatives données en milliers de paires de base (kb). La plupart des gènes des régions de classe I et de classe II sont mentionnés dans le texte. Les gènes supplémentaires indiqués dans les régions de classe I (par exemple E, F et G) sont des gènes de type classe I, codant pour les molécules de classe IB ; les gènes supplémentaires de classe II sont des pseudogènes. Les gènes représentés dans la région de classe III codent les protéines du complément C4 (deux gènes, notés C4A et C4B), C2 et le facteur B (noté Bf) aussi bien que des gènes qui codent

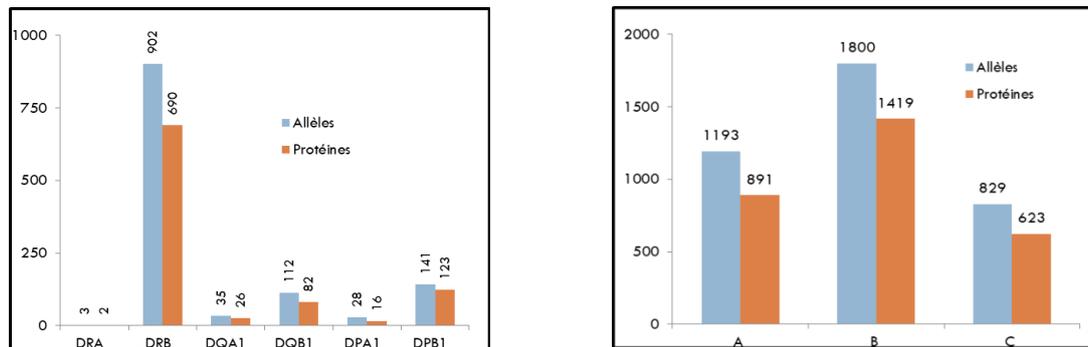
pour le facteur- $\alpha$  de nécrose tumorale (TNF) et les lymphotoxines (LTA, LTB). Le gène codant la 21-hydroxylase (noté CYP21B), une enzyme impliquée dans la synthèse des stéroïdes, est étroitement lié aux gènes C4. Les gènes notés en italiques et grisés sont des pseudogènes. Les gènes du CMH de classe I sont en rouge, excepté les gènes MIC, colorés en bleu ; ils sont distincts des autres gènes de type classe I et sont soumis à des contrôles transcriptionnels différents. Les gènes du CMH de classe II sont en jaune. Les gènes dans la région du CMH de classe II qui ont des fonctions immunes sans relation avec les gènes du CMH de classe I et de classe II sont colorés en violet.

## 2) Polymorphisme génétique du système HLA

Une des caractéristiques majeures du système HLA est son extraordinaire polymorphisme génétique. Il est ainsi exceptionnel voire impossible de trouver deux sujets non apparentés qui soient strictement identiques au niveau de tous leurs gènes HLA (figure 4).

Le polymorphisme commence au niveau isotypique (duplication des gènes) puisque les molécules HLA sont codées (au niveau de chaque chromosome 6) par pas moins de 3 gènes (3 loci) pour la classe I et 3 paires de gènes pour la classe II. Mais c'est aussi et surtout au niveau allotypique ou allélique que ce polymorphisme est le plus largement exprimé avec un nombre d'allèles

extraordinairement élevé pour chacun des loci (plus de 5000 allèles pour HLA-A et plus de 7000 allèles pour HLA-B et plus de 2000 pour HLA DR..).



**Figure 5 :** Polymorphisme allélique (gènes HLA) et allotypique (molécules HLA) du système HLA (d'après : IMGT/HLA Database, Juillet 2010)

Ainsi et avec 9 loci (gènes) sur chaque chromos 6 et des dizaines, centaines voire milliers d'allèles pour chacun de ces gènes, le nombre de combinaisons possibles d'allèles HLA sur chaque chromosome 6 (haplotypes différents) devient extraordinairement élevé: de l'ordre de  $2,5 \times 10^{19}$  avec le nombre d'allèles identifiés jusqu'à 2010 (figure 5), sachant que chaque année de nombreux nouveaux allèles sont découverts.

Au polymorphisme allélique et isotypique, s'ajoute un polymorphisme haplotypique au niveau de la sous-région DR. Cette dernière comporte, en effet, un gène DRA monomorphe codant pour la chaîne DR $\alpha$  et un gène DRB1 codant pour une chaîne DR $\beta$  exprimé seul ou associé à un autre gène DRB fonctionnel (DRB-3, 4 ou 5) et/ou à un ou plusieurs pseudogènes DRB (DRB-2, 6, 7, 8 et 9). On a ainsi identifié 5 groupes haplotypiques DR.

Ce polymorphisme génétique du système HLA est prolongé au niveau biochimique par les complémentations possibles en cis (ex : chaîne  $\alpha$  de DR et chaîne  $\beta$  de DQ produites par le même chromosome) ou en trans (chaîne  $\alpha$  produite par un chromosome et chaîne  $\beta$  produite par le chromosome homologue) générant des molécules HLA hybrides.

### ***3) Transmission et expression des gènes HLA***

La transmission des gènes HLA de parents à enfants se fait en bloc dans 99 % des cas : le pourcentage de recombinaison est de 1 %.

Leur expression se fait de façon codominante : pour chaque locus, les 2 gènes allèles portés par chacun des deux chromosomes 6 homologues s'expriment.

#### ***4) Notion de déséquilibre de liaison***

Certains allèles d'un locus sont associés préférentiellement et bien plus souvent que ne le voudrait le simple hasard à certains allèles d'un autre locus. La fréquence de l'association des 2 allèles chez un même individu est ainsi supérieure au produit  $p \times q$  de leurs fréquences géniques respectives.

Ex : A1 - B8, A3 - B7, B8 - DR3, B7 - DR2

### **Fonctions du système HLA**

#### ***1) Présentation de l'Ag aux lymphocytes T***

Les molécules HLA jouent un rôle fondamental dans la réponse immunitaire spécifique en assurant la présentation de l'Ag au récepteur TCR des lymphocytes T. Les molécules HLA classe I présentent l'Ag aux lymphocytes TCD8<sup>+</sup>, tandis que les molécules HLA classe II présentent l'Ag aux lymphocytes TCD4<sup>+</sup>. Les lymphocytes T ne reconnaissent l'Ag que lorsqu'il est présenté par des cellules exprimant les mêmes molécules HLA (lymphocytes T et cellules présentatrices provenant du même sujet ou de deux sujets ayant le même haplotype HLA) : c'est la restriction allogénique.

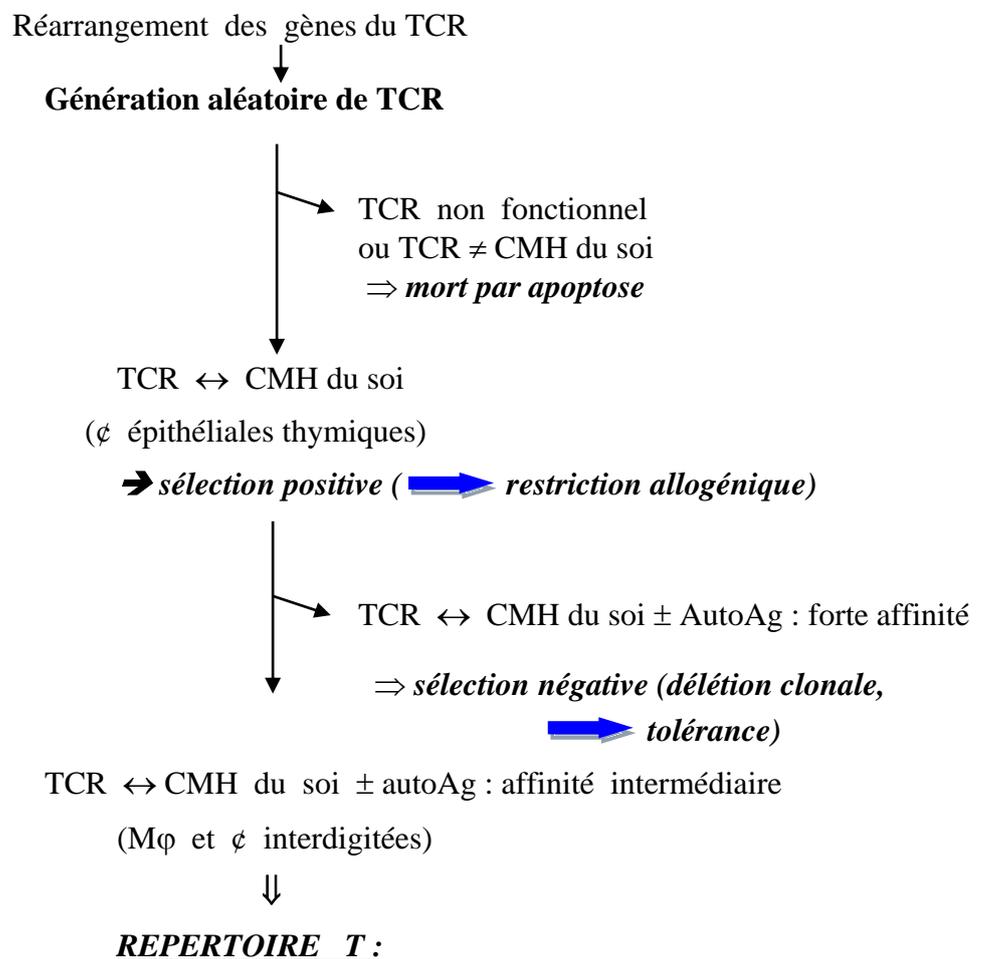
#### ***2) Sélection du répertoire des lymphocytes T***

Lors de la différenciation intra-thymique des lymphocytes T, les réarrangements aléatoires des gènes du TCR produisent une grande variété de thymocytes exprimant divers types de TCR : des TCR reconnaissant les Ag du soi et des TCR reconnaissant les allo-Ag et autres Ag étranger, des TCR reconnaissant l'Ag dans le contexte de molécules HLA étrangères et des TCR reconnaissant l'Ag dans le contexte de molécules HLA du soi. Seuls les thymocytes exprimant un TCR reconnaissant l'Ag dans le contexte d'une molécule HLA du soi sont sélectionnés positivement (leur prolifération est favorisée). Non sélectionnés, les

autres cellules (thymocytes exprimant un TCR non fonctionnel ou reconnaissant l'Ag en association avec une molécule HLA étrangère) meurent par apoptose.

Parmi les cellules sélectionnées positivement, celles dont le TCR réagit avec une forte affinité avec une molécule HLA du soi et/ou un auto-Ag exprimé dans le thymus subissent une sélection négative (elles sont éliminées).

La sélection intra-thymique du répertoire des lymphocytes T permet ainsi l'obtention de lymphocytes T matures pouvant faire la distinction entre le soi et le non-soi (tolérance) et reconnaissant l'Ag dans le contexte de molécules HLA du soi (restriction allogénique). Les molécules HLA jouent un rôle central dans cette sélection (figure 5).



\* TCR ↔ CMH du soi + Ag étranger forte affinité

\* TCR ↔ CMH non-soi

**Figure 5 :** Sélection intra-thymique du répertoire des lymphocytes T

« Le thymus ignore ce qui est inutile, sélectionne ce qui est utile et détruit ce qui est dangereux » (V. Bohmer).

### **3) Contrôle génétique de la réponse immunitaire**

Il est maintenant bien établi que les gènes Ir ("*Immune response*") initialement décrits par Benacerraf et Mac Devit chez la souris, correspondent aux gènes classe II du CMH. Pour un peptide antigénique donné, les sujets qui ont dans leurs gènes HLA classe II la combinaison qui permet d'avoir une molécule capable de fixer le peptide antigénique concerné pour le présenter aux lymphocytes Th spécifiques répondront vigoureusement à cet Ag en produisant des Ac et en développant une hypersensibilité retardée. A l'inverse, les sujets qui n'ont pas parmi leurs gènes HLA la combinaison qui permet d'avoir une molécule qui fixe le peptide antigénique concerné, ne peuvent pas répondre à ce peptide même s'ils ont les lymphocytes T avec le TCR adéquat. La conception de vaccins composés de peptides doit tenir compte de ce contrôle par les gènes HLA de la réponse immunitaire. Une des difficultés à surmonter est l'opposition entre le caractère individuel de la réponse immunitaire, dépendant du phénotype HLA, et l'obligation pour le vaccin d'être applicable à toute la population.

## **V- Applications en médecine et en génétique des populations**

### **1) Transplantation d'organes**

La compatibilité HLA entre donneur et receveur d'une transplantation est un élément important de son succès. Le rejet des greffes est contrôlé par le CMH responsable d'un rejet rapide avec production d'Ac, et par de nombreux Ag mineurs qui provoquent un rejet plus lent et sans production d'Ac.

### **2) Association HLA-maladies**

Certaines maladies sont liées au système HLA parce que le gène responsable est hébergé dans la région HLA. C'est le cas de l'hémochromatose idiopathique, de l'insuffisance surrénale congénitale par déficit en 21-hydroxylase (21-OH), et des déficits des fractions C2 et C4 du complément.

De très nombreuses maladies auto-immunes sont associées à un ou plusieurs allèles HLA. L'allèle en question est retrouvé chez les malades avec une fréquence bien plus élevée que dans la population générale. Ainsi, la spondylarthrite ankylosante

est associée à l'allèle HLA B27 avec un risque relatif de 88, la maladie cœliaque est associée à DQ2 avec un risque relatif de 60...

### ***3) Exclusion de paternité***

En médecine légale, les études de paternité sont basées principalement sur l'analyse des groupes sanguins et de l'haplotype HLA. Les gènes HLA étant transmis en bloc selon un mode autosomique co-dominant avec un pourcentage de recombinaison de 1 % seulement, le typage HLA du père présumé, de la mère et de l'enfant permet en cas de discordance de rejeter la paternité, sinon, c'est le recours à l'analyse de l'ADN qui permet généralement d'avoir une réponse claire

### ***4) Génétique des populations***

Le polymorphisme du système HLA est un outil extrêmement puissant pour l'étude de la génétique des populations humaines.

# LES CYTOKINES

*Dr Arwa KAMOUN*

*Dr Sawsan FEKI*

*Pr Hafedh MAKNI*

---

## Objectifs éducationnels

1. Définir les cytokines et leur fonction générale
  2. Connaître les principales caractéristiques moléculaires et fonctionnelles des cytokines
  3. Préciser la classification fonctionnelle des cytokines
  4. Expliquer le rôle des cytokines dans l'immunité innée et l'immunité spécifique
  5. Déterminer l'intérêt des cytokines en pathologie humaine
- 

## I- Introduction

Les réponses immunitaires résultent de la coopération entre des populations cellulaires distinctes (lymphocytes T, lymphocytes B, macrophages...). Ces cellules communiquent entre elles par 2 mécanismes principaux :

- L'interaction spécifique entre des molécules complémentaires des membranes cellulaires (CD2/LFA-3, LFA-1/ICAM-1, B7/CD28, CD40/CD40L).
- La mise en jeu de molécules solubles telles que les hormones, les leucotriènes et prostaglandines, les anaphylatoxines du système du complément, mais aussi et surtout un ensemble de médiateurs solubles appelés cytokines.

Les cytokines sont des protéines, le plus souvent glycosylées, dont la synthèse est souvent inductible (principalement en réponse à un signal activateur). Elles agissent souvent en un très court rayon d'action autour de la cellule qui les sécrète. Elles activent ou modifient le comportement des cellules cibles après interaction avec des récepteurs de surface spécifiques.

Actuellement, plus de 50 cytokines sont décrites.

## **II- Caractéristiques générales**

### **1- Caractéristiques moléculaires**

#### **a. Caractéristiques biochimiques**

Les cytokines sont de petites protéines, le plus souvent glycosylées, dont le poids moléculaire (PM) est compris entre 15 et 50 KDa, à l'exception de la famille des chimiokines dont le PM est de 8 KDa seulement.

Généralement, les cytokines agissent sous forme de monomère, quelques rares cytokines présentent une forme active dimérique (IL-5) ou trimérique (TNF).

#### **b. Formes moléculaires**

La majorité des cytokines sont sécrétées dès la fin de leur synthèse aboutissant à la libération de la forme soluble ; à l'exception de l'IL-1 et du TNF qui peuvent être stockés dans la cellule sous forme d'un précurseur et être exprimés à la membrane.

### **2- Sources cellulaires**

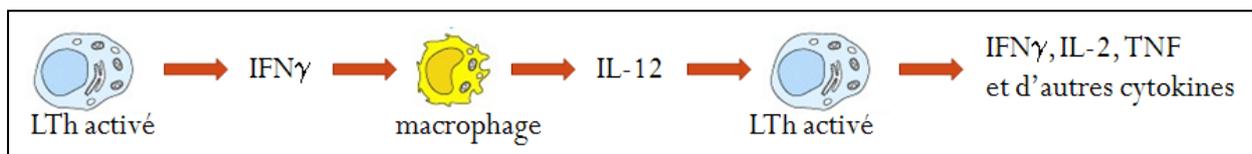
Les cellules productrices sont extrêmement variées. Les sources cellulaires principales sont les leucocytes, particulièrement les lymphocytes TCD4<sup>+</sup> et les monocytes-macrophages.

Chaque type cellulaire peut produire différentes cytokines, et une même cytokine peut être produite par différents types cellulaires.

### **3- Production**

Les cytokines sont produites en réponse à un signal d'activation cellulaire, en petite quantité et de façon transitoire à l'exception des cellules stromales de la moelle osseuse et du thymus qui contrôlent le développement des cellules hématopoïétiques et des mastocytes qui accumulent le TNF $\alpha$  dans leurs granules cytoplasmiques.

Parmi les signaux inducteurs de la production des cytokines, les cytokines elles-mêmes tiennent une place importante, ainsi, elles sont le plus souvent produites en cascade (figure 1).



**Figure 1 :** Cytokines : Production en cascade

Les cytokines fonctionnent donc en réseau et agissent en boucles : il s'agit de boucles d'amplification de leur production ou au contraire de boucles rétroactives d'inhibition de leur synthèse.

Les cytokines agissent sur des cellules pré-activées, ceci permet de préserver la spécificité de la réponse immunitaire à l'Ag stimulant.

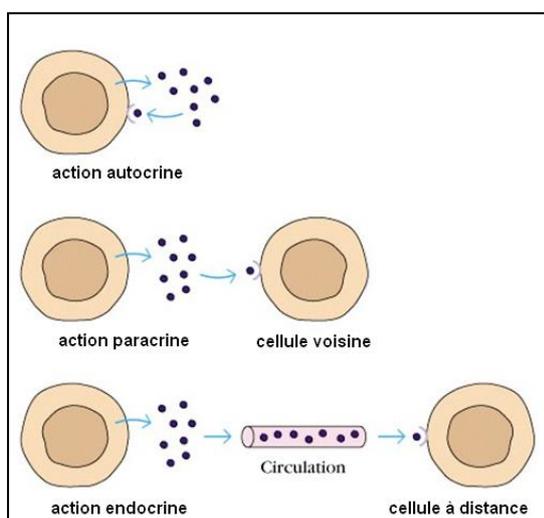
La production est faible pour la majorité des cytokines qui agissent à des doses pharmacologiques dans l'environnement immédiat, sur les cellules avoisinantes.

Les cytokines pro-inflammatoires sont produites en abondance sous l'influence de systèmes d'amplification.

#### 4- Modes d'action

On décrit 3 modes d'action des cytokines (figure 2) :

- Activité autocrine : lorsque la cytokine agit sur la cellule productrice elle-même, c'est le cas de l'IL2 produit par les lymphocytes T.
- Activité paracrine : lorsque la cytokine agit localement sur un autre type cellulaire que la cellule productrice (toutes les cytokines).
- Activité endocrine : lorsque la cytokine agit à distance sur sa cellule cible (cytokines inflammatoires).



**Figure 2 :** Cytokines : Modes d'action

## 5- Pléiotropie / Redondance/ Synergie/ Antagonisme

### a. Pléiotropie

C'est la propriété d'avoir des activités biologiques variées sur plusieurs types de cellules. Elle s'explique par le fait que plusieurs types cellulaires possèdent des récepteurs spécifiques pour une même cytokine (Figure 3).

### b. Redondance

C'est le fait qu'une activité biologique donnée peut résulter de l'effet de cytokines distinctes (figure 3).

### c. Synergie

Les effets combinés de 2 cytokines sont supérieurs à la somme de leurs effets individuels séparés.

### d. Antagonisme

La capacité d'une cytokine d'inhiber un effet biologique (Figure 4).

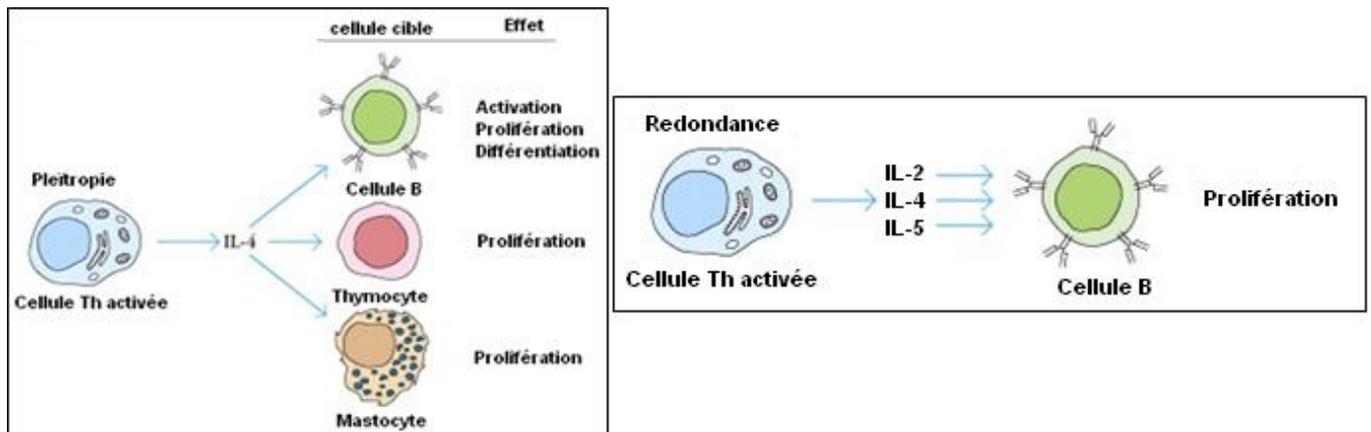


Figure 3 : Pléiotropie et redondance des cytokines

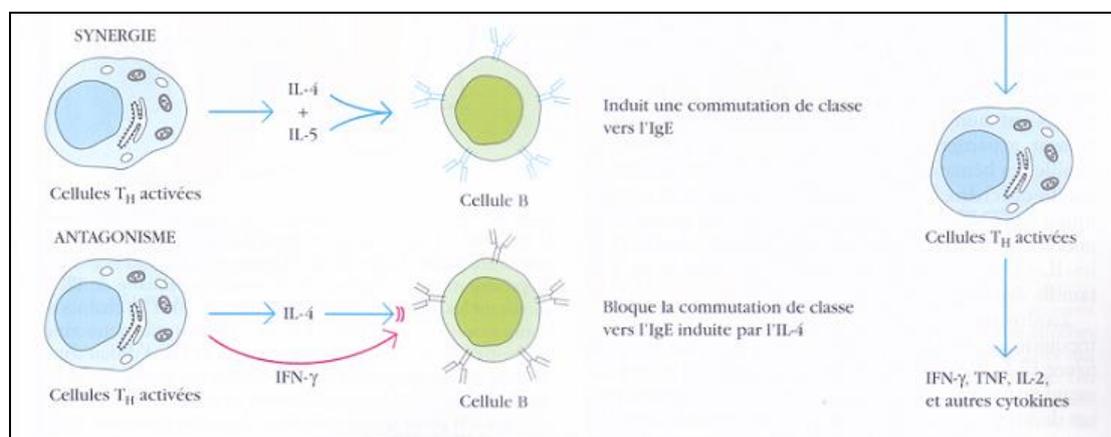


Figure 4 : Synergie et antagonisme des cytokines

### **III- Classification fonctionnelle des cytokines**

Les cytokines sont impliquées dans la régulation des principales fonctions cellulaires.

La liaison d'une cytokine à son récepteur peut entraîner différents types de réponse selon la cellule, son degré d'activation et son degré de différenciation.

Les cytokines peuvent être classées en fonction de la réponse dans laquelle elles sont impliquées :

- Les cytokines de l'immunité innée et de la réaction inflammatoire
- Les cytokines de l'hématopoïèse
- Les cytokines de l'immunité spécifique

#### **1- Cytokines de l'immunité innée et de la réaction inflammatoire**

Les cytokines pro-inflammatoires sont :  $TNF\alpha$ , IL-1, IL-6.

##### **a. Les TNF ou facteurs de nécrose tumorale**

Deux TNF ("Tumor Necrosis Factor") ont été décrits : le  $TNF\alpha$  (ou cachectine) et le  $TNF\beta$  (ou lymphotoxine).

Les TNF existent sous 2 formes : membranaire et soluble (après clivage enzymatique de la forme membranaire).

Le  $TNF\alpha$  est la première cytokine libérée lors d'une réaction inflammatoire.

Les propriétés biologiques du  $TNF\alpha$  sont multiples :

- Il augmente l'adhésion des leucocytes aux endothéliums vasculaires
- Il active les neutrophiles et costimule les lymphocytes T et B.
- Il stimule les monocytes/M $\phi$  pour leur faire sécréter d'autres cytokines

A plus fortes doses, et après passage dans le sang :

- Il entraîne la fièvre (par les prostaglandines synthétisées par les cellules hypothalamiques),
- Il augmente la sécrétion de l'IL1 et d'IL6 dans la circulation,

- Il induit la synthèse des protéines de la phase aiguë de l'inflammation dont la CRP ("C Reactive Protein"),
- Il active le système de la coagulation,
- Au cours des maladies inflammatoires chroniques ou néoplasiques, il est responsable de la cachexie. En cas de septicémie à germes gram négatif, il est responsable du choc septique.
- Une activité biologique majeure est celle de provoquer la lyse des cellules tumorales.

### b. L'interleukine 1

L'IL-1 joue un rôle essentiel dans la réaction inflammatoire et dans l'induction des réponses immunitaires spécifiques (figure 5). C'est un signal coactivateur des lymphocytes T.

C'est aussi un puissant inducteur de la sécrétion de l'IL-6.

Une molécule antagoniste du récepteur est connue pour l'IL-1 : IL-1ra ("receptor-antagonist). Elle est produite par les monocytes et les cellules endothéliales quelques heures après la sécrétion d'IL-1. Elle se fixe sur le même récepteur que l'IL-1, et bloque ainsi par compétition la fixation de l'IL-1.

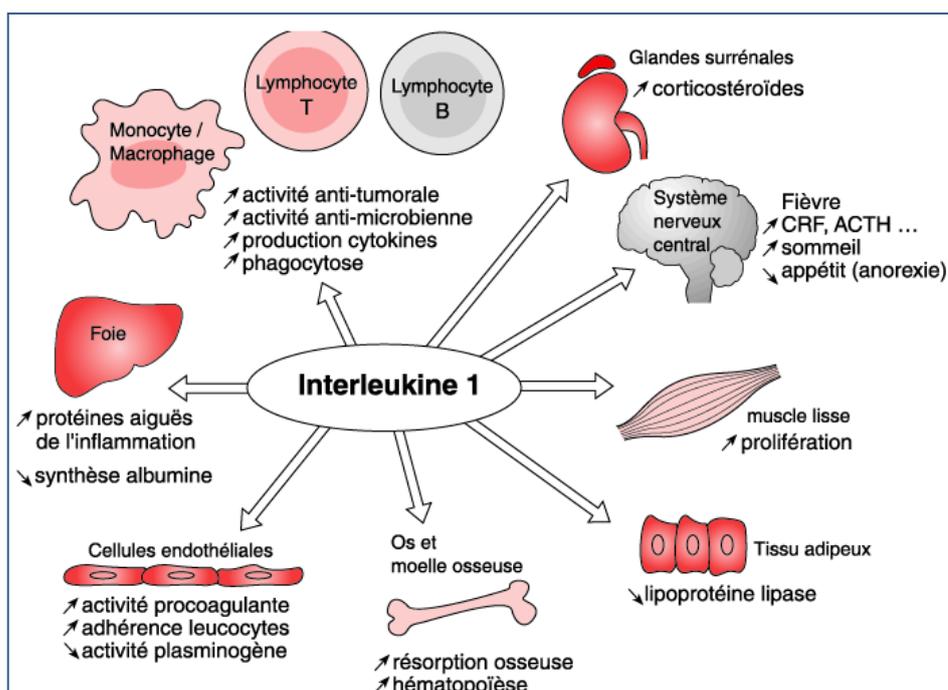


Figure 5 : Activités biologiques de l'interleukine 1

### c. L'interleukine 6

IL-1 et TNF sont des inducteurs puissants de la sécrétion d'IL-6.

L'IL-6 est le principal inducteur des protéines de la phase aiguë de l'inflammation. Elle a un rôle pyrogène.

C'est aussi un facteur de différenciation terminale des lymphocytes B.

Elle active les lymphocytes T et intervient dans l'activation des stades précoces de l'hématopoïèse.

### d. Les chémokines

C'est un ensemble de cytokines de faible PM (8 à 10 KDa). Elles sont définies par leur capacité à activer les leucocytes et surtout les recruter (c'est à dire à induire leur migration active) vers le site de sécrétion des cytokines : c'est le chimiotactisme. Elles exercent cette fonction par liaison à des récepteurs spécifiques exprimés par les cellules.

La classification des chémokines est basée sur leur séquence d'acides aminés, on distingue ainsi les  $\alpha$  chémokines et les  $\beta$  chémokines.

—  $\alpha$  chémokines : Le chef de file est l'IL-8 qui est chimiotactique vis-à-vis des neutrophiles. Elle est produite principalement par les monocytes/M $\phi$ .

Lors d'une réaction inflammatoire induite par le LPS (lipopolysaccharide), on observe successivement la production de TNF $\alpha$ , d'IL-1 puis d'IL-6 et d'IL-8. Le TNF $\alpha$  joue un rôle déterminant dans cette cascade, puisque l'administration d'Ac anti-TNF $\alpha$  entraîne un blocage de la synthèse des autres cytokines (figure 6).

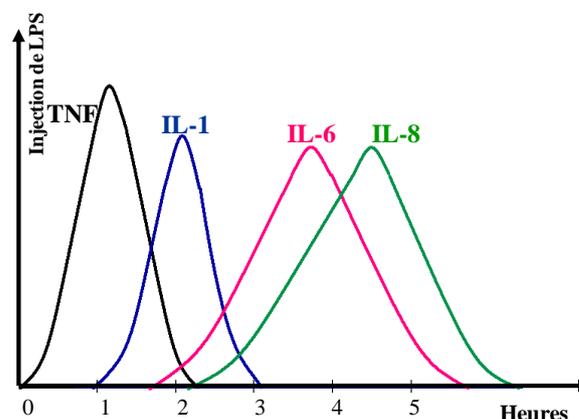


Figure 6 : TNF  $\alpha$  et cascade des cytokines de l'inflammation

—  $\beta$  chémokines : les  $\beta$  chémokines exercent leur pouvoir attractif vis-à-vis de nombreuses cellules.

#### **e. Les interférons**

Les interférons sont des cytokines qui ont en commun leur action antivirale par blocage de la traduction des ARNm viraux.

Chez l'Homme, deux types d'IFN sont connus.

— Les IFN type I regroupent l'IFN $\alpha$  et l'IFN $\beta$  qui partagent le même récepteur.

Les IFN type I possèdent une action antivirale et antiproliférative. De plus, ils augmentent l'expression des molécules HLA classe I, préparant ainsi les cellules à l'action des lymphocytes T cytotoxiques (Tc).

L'IFN $\alpha$  possède un rôle antitumoral (anti-cancéreux), et de ce fait il est utilisé dans le traitement de certains cancers.

— Les IFN type II sont représentés par l'IFN $\gamma$ , ce dernier est produit par les lymphocytes T et les cellules NK. Le récepteur de l'IFN $\gamma$  est différent de celui des IFN type I.

L'IFN $\gamma$  possède une faible activité antivirale. Il augmente l'expression cellulaire des molécules HLA classe I, et induit l'expression des molécules HLA classe II sur certaines cellules. Il augmente les capacités cytotoxiques des macrophages, des lymphocytes T et des cellules NK.

#### **f. L'interleukine 12**

L'IL-12 est essentiellement produite par les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques en réponse aux bactéries et parasites intracellulaires et au LPS.

Elle joue un rôle essentiel dans l'induction des réponses Th1 et l'inhibition des réponses Th2. C'est un stimulant global de l'immunité à médiation cellulaire.

#### **g. Facteurs de croissance**

Ce groupe renferme de nombreuses molécules telles que le PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes), l'EC-PDGF (facteur de croissance des cellules endothéliales) et le FGF (facteur de croissance des fibroblastes).

Le TGF  $\beta$  ("transforming growth factor  $\beta$ ") est l'exemple type d'une cytokine anti-inflammatoire, il joue un rôle important dans la suppression des réactions immunitaires :

- stimule l'angiogenèse et la synthèse des composants de la matrice extracellulaire,
- inhibe l'activation des lymphocytes T, des macrophages et des cellules NK,
- inhibe l'expression des molécules HLA classe II.

## **2- Cytokines de l'hématopoïèse**

Il s'agit des CSF ou "colony stimulating factors" qui contrôlent la différenciation et la maturation des cellules souches hématopoïétiques aussi bien dans la moelle osseuse et le thymus qu'en périphérie.

### **a. Interleukine 3**

L'IL-3 ou multi-CSF : intervient dans le développement des lignées érythrocytaire, mégacaryocytaire et myélomonocytaire. Elle stimule également la différenciation des basophiles et des monocytes.

### **b. Interleukine 7**

L'IL-7 est produite par les cellules du stroma médullaire et thymique.

Elle participe à la lymphopoïèse en induisant la prolifération des cellules pré-B et pré-T.

### **c. Interleukine 5**

L'IL-5 est un facteur de croissance des éosinophiles.

### **d. Interleukine 4**

L'IL-4 stimule la croissance et la différenciation des mastocytes et des PNB.

Elle stimule aussi la prolifération des lymphocytes B activés.

### **e. CSF**

Les facteurs stimulant les colonies (CSF) sont au nombre de 3 :

- GM-CSF : stimule la prolifération des précurseurs des monocytes et des granulocytes (PNN) et active les monocytes.
- G-CSF : est le facteur de croissance des PNN (granulocytes)
- M-CSF : est le facteur de croissance des monocytes

## f. EPO

L'érythropoïétine est produite par les cellules péritubulaires des reins. Elle active l'érythropoïèse. Son absence explique l'anémie des insuffisants rénaux terminaux.

### 3- Cytokines de l'immunité spécifique

Les cytokines produites par les lymphocytes T auxiliaires ou helper CD4<sup>+</sup> jouent un rôle important pour orienter la réponse immune vers l'immunité humorale ou l'immunité à médiation cellulaire.

On distingue différentes sous populations de lymphocytes T helper (Th) (Figure 7) qui représentent le stade ultime de la différenciation du lymphocyte T CD4<sup>+</sup> suite à la stimulation antigénique. Elles dérivent d'une cellule Th0 (Lymphocyte T auxiliaire en cours de différenciation) qui dérive à son tour d'une cellule Th naïve, productrice d'IL2. La différence entre ces sous populations de lymphocytes Th repose sur la nature des cytokines sécrétées.

On distingue ainsi classiquement deux principales sous populations de lymphocytes Th:

**Les cellules Th1** → sécrétion des cytokines : IL-2, INF $\gamma$  et TNF $\beta$ .

**Les cellules Th2** → sécrétion des cytokines : IL-4, IL-5, IL-6, IL10 et IL-13.

Cytokines communes aux Th1 et Th2 : TNF $\alpha$  (inflammation), IL-3 et GM-CSF (hématopoïèse).

Les cellules Th1 et Th2 exercent par le biais des cytokines qu'elles produisent un effet de contre-régulation réciproque. Ainsi, l'INF $\gamma$  produit par les cellules Th1 antagonise les cellules Th2, tandis que l'IL-4 et l'IL-10 produites par les cellules Th2 bloquent l'activité des cellules Th1.

Plus récemment, d'autres sous-populations de lymphocytes Th ont été décrites : essentiellement **les lymphocytes Th17** et les lymphocytes T régulateurs (Treg).

La sous-population Th17 est caractérisée par la sécrétion de diverses cytokines : surtout l'IL17 mais aussi l'IL21 et l'IL22.

**Les cellules Treg** jouent un rôle important dans la régulation des réponses immunitaires via l'immunosuppression induite par les principales cytokines qu'elles sécrètent : l'IL10 et le TGF $\beta$ .

La différenciation vers un des profils Th dépend de plusieurs facteurs : l'Ag lui-même, la cellule présentatrice de l'antigène et les cytokines présentes dans l'environnement :

-L'IL-12 est le principal facteur de différenciation des lymphocytes Th dans la voie Th1.

-L'IL-4 est essentielle pour la différenciation Th2. Elle est produite par les lymphocytes Th2 eux-mêmes et les mastocytes.

-Le TGF $\beta$ , seul, induit la différenciation vers la voie Treg, et en association avec l'IL6 vers la voie Th17.

### a. Interleukine-2

L'IL-2 est produite essentiellement par les lymphocytes Th CD4<sup>+</sup> activés, et dans une moindre mesure, par les lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, les cellules dendritiques, les cellules NK et NK-T.

Elle stimule la prolifération des lymphocytes T et B et la production d'Ig, cependant, elle n'influence pas la commutation isotypique.

L'IL-2 active les cellules NK en les transformant en LAK ("lymphokine activated killer cells").

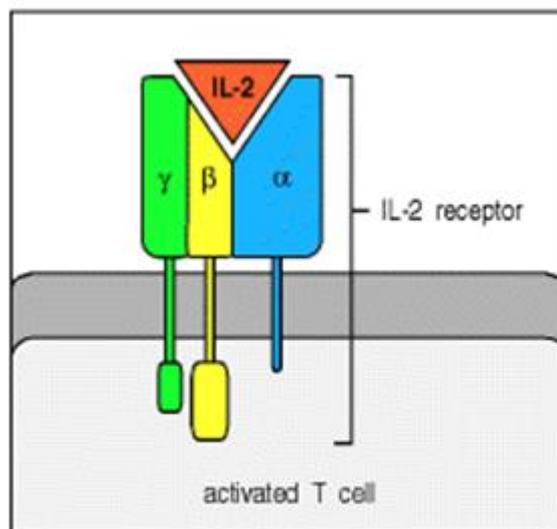


Figure 8.19. High-affinity IL-2 receptors are three-chain structures that are produced only on activated T cells. On resting T cells, the  $\beta$  and  $\gamma$  chains are expressed constitutively. They bind IL-2 with moderate affinity. Activation of T cells induces the synthesis of the  $\alpha$  chain and the formation of the high-affinity heterotrimeric receptor. The  $\beta$  and  $\gamma$  chains show similarities in amino acid sequence to cell-surface receptors for growth hormone and prolactin, both of which also regulate cell growth and differentiation.

Le récepteur de l'IL-2 est une molécule formée de 3 sous-unités :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ .

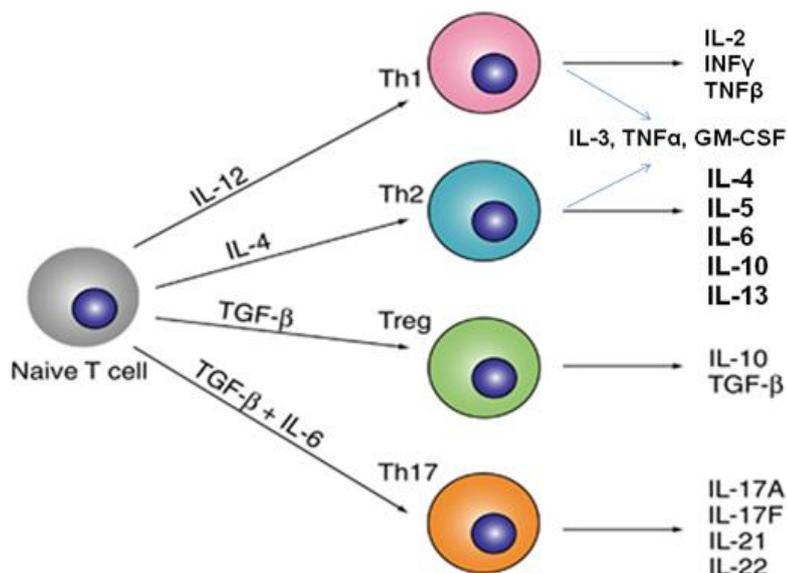
Les chaînes  $\beta$  et  $\gamma$  sont exprimées de façon constitutive à la surface des cellules. L'expression de la chaîne  $\alpha$  (CD25) est induite après activation cellulaire, pour donner le récepteur de forte affinité.

L'IL-2 libérée par les lymphocytes T activés agit préférentiellement comme facteur de croissance autocrine sur les cellules productrices.

L'IL-2 a aussi une action paracrine sur les cellules T avoisinantes pré-activées.

### b. Interleukine 15

L'IL-15 a des actions voisines de l'IL-2. C'est la cytokine majeure de la différenciation des cellules NK.



**Figure 7 :** Différentes sous-populations lymphocytaires productrices de cytokines

### c. Les interleukines 4, 5, 10 et 13

Ces cytokines sont produites essentiellement par les lymphocytes Th2.

**1. IL-4 :** à côté des lymphocytes T auxiliaires, L'IL-4 est également produite par les mastocytes.

Facteur de croissance et de différenciation des lymphocytes Th2 et des lymphocytes B, elle provoque la commutation isotypique des Ig vers la classe IgE. L'IL4 est aussi un facteur de croissance des basophiles et des mastocytes.

**2. L'IL-13** présente une certaine homologie avec l'IL-4. Elle stimule la production d'IgE.

**3. L'IL-5** est un facteur de différenciation des polynucléaires éosinophiles (PNE).

4. L'IL-10 inhibe la synthèse d'IFN et des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF)

Elle inhibe l'expression des molécules HLA classe II.

Sur la lignée B, elle induit la différenciation terminale en plasmocytes, et favorise la commutation isotypique vers la production d'IgA.

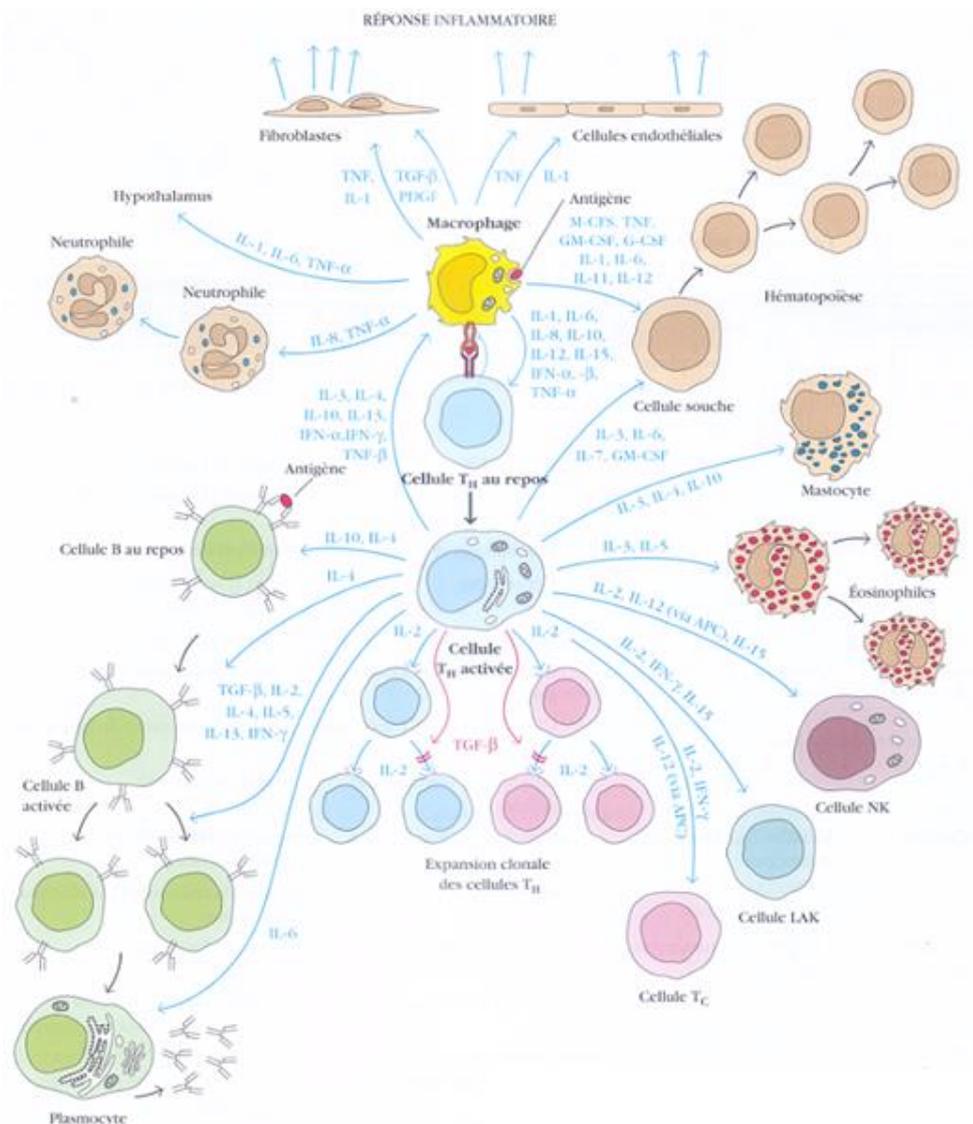


Figure 8 : Réseau de cytokines produites par les lymphocytes Th et les macrophages

#### IV- Intérêt des cytokines en pathologie humaine

L'étude du rôle des cytokines dans les différentes pathologies inflammatoires, auto-immunes, infectieuses et autres ont permis :

- d'une part de participer à la compréhension de la physiopathologie de ces maladies
- d'autre part de cibler ces cytokines pour le traitement de certaines de ces pathologies : exemple le traitement INF pour les hépatites virales B (inhibition de l'ADN du virus et activation des enzymes antivirales, action immunomodulatrice en activant les cellules immunitaires), les anti-TNF pour les maladies rhumatismales (polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante...) et inflammatoires (maladies inflammatoires chroniques de l'intestin...).

### **V- Conclusion**

Les cytokines constituent un grand groupe de protéines qui sont les messagers de l'immunité. Elles sont produites non seulement par les cellules du système immunitaire, mais aussi par de nombreux autres types cellulaires ce qui permet d'intégrer la réponse immunitaire au sein de l'organisme entier et de son homéostasie interne.

Chaque cytokine peut être produite par un grand nombre de cellules différentes et agit en se fixant sur un récepteur à la surface des cellules cibles.

Les cytokines agissent selon le mode paracrine, mais certaines peuvent agir aussi selon le mode autocrine ou endocrine.

Les actions des cytokines sont multiples. On les trouve notamment impliquées dans le développement du système immunitaire, et plus généralement dans le contrôle de son homéostasie, dans les processus inflammatoires et dans la modulation des activations cellulaires.

Les chémokines sont un groupe à part de molécules informatives du système immunitaire qui ont des propriétés chimiotactiques. Elles guident les cellules de l'immunité dans leur déplacement et assurent la présence d'une cellule au bon endroit au bon moment.

# MOLECULES D'ADHESION ET MIGRATION LEUCOCYTAIRE

*Pr Hafedh MAKNI*

*Dr Arwa KAMMOUN*

## Objectifs éducationnels

---

1. Citer les 4 familles des molécules d'adhésion et en donner des exemples
  2. Décrire le phénomène d'extravasation des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes
  3. Identifier les changements morphologiques et fonctionnels induits par l'IL-8 sur les polynucléaires neutrophiles
- 

### **I- Introduction**

Les leucocytes se déplacent d'une partie du corps à une autre. C'est particulièrement vrai pour les lymphocytes qui circulent continuellement dans le sang et la lymphe et, de concert avec les autres types de leucocytes, migrent dans les tissus au niveau des sites d'infection ou de lésion tissulaire. Cette recirculation, non seulement augmente la probabilité pour que des lymphocytes spécifiques d'un antigène particulier rencontrent ce dernier, mais aussi elle est essentielle au développement d'une réponse inflammatoire.

Ce chapitre traite des molécules d'adhésions et des molécules solubles (chémokines) qui jouent un rôle important dans la migration des leucocytes.

### **II- Recirculation des lymphocytes**

Les lymphocytes ont une capacité remarquable de recirculation.

Ils passent continuellement du sang ou de la lymphe dans les divers organes lymphoïdes.

Le processus de recirculation continu des lymphocytes permet qu'un nombre maximal de lymphocytes arrive à rencontrer l'antigène spécifique et entrer en interaction avec lui.

La recirculation augmente considérablement les chances pour que les quelques lymphocytes engagés contre un antigène donné entrent en contact avec cet antigène et poursuivent le processus de leur différenciation terminale pour donner des plasmocytes et des lymphocytes T helper, cytotoxiques ou régulateurs.

### **III- Molécules d'adhésion cellulaire**

L'endothélium vasculaire joue un rôle important de **gardien**, en contrôlant le mouvement vers les tissus des molécules transportées par le sang et les leucocytes. Pour que les leucocytes circulants pénètrent dans un tissu inflammatoire ou dans les organes lymphoïdes périphériques, ils doivent adhérer aux cellules endothéliales qui bordent les parois des vaisseaux sanguins puis passer entre ces cellules endothéliales ; ce processus est appelé extravasation.

Les cellules endothéliales expriment des molécules d'adhésion cellulaire spécifiques des leucocytes ou CAM ("Cell Adhesion Molecules"). Certaines de ces protéines membranaires sont exprimées de façon constitutive ; d'autres ne le sont qu'après stimulation par des cytokines produites au cours d'une réponse inflammatoire.

Les lymphocytes re-circulants, les monocytes et les granulocytes portent des récepteurs qui se lient aux CAM de l'endothélium vasculaire, ce qui leur permet de passer dans les tissus.

En plus de leur rôle dans l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales vasculaires, les CAM des leucocytes servent aussi à augmenter la force des interactions fonctionnelles entre les cellules du système immunitaire. Diverses molécules d'adhésion contribuent ainsi aux interactions entre les cellules Th et les APC, les cellules Th et les cellules B, et les CTL et les cellules cibles.

Les CAM appartiennent à quatre familles de protéines : la famille des sélectines, la famille des mucine-like, la famille des intégrines et la superfamille des immunoglobulines.

#### **1- Famille des sélectines**

Ce sont des glycoprotéines membranaires qui ont un domaine distal semblable à une lectine, ce qui permet à ces molécules de se lier à des groupes glucidiques spécifiques.

La famille des sélectines inclut trois molécules : L (pour leucocyte), E (pour endothélium) et P (pour plaquette). La plupart des leucocytes circulant expriment

la sélectine-L, tandis que la sélectine-E et la sélectine-P le sont à la surface des cellules endothéliales vasculaires.

Les sélectines sont responsables de l'adhésion initiale des leucocytes à l'endothélium vasculaire.

## **2- Famille des mucine-like**

Les mucines constituent un groupe de protéines riches en sérine et en thréonine qui sont très fortement glycosylées. Elles présentent des ligands osidiques sialylés aux sélectines. Par exemple, la sélectine L des leucocytes reconnaît les oses sialylés de deux molécules mucine-like (CD34 et GlyCAM-1) exprimées à la surface de certaines cellules endothéliales des ganglions lymphatiques.

## **3- Famille des intégrines**

Les intégrines sont des protéines hétérodimériques constituées d'une chaîne  $\alpha$  et d'une chaîne  $\beta$ . Elles sont exprimées par les leucocytes.

Elles facilitent l'adhérence à l'endothélium vasculaire ainsi que d'autres interactions intercellulaires.

Les intégrines se lient aux différentes CAM de la superfamille des immunoglobulines exprimées le long de l'endothélium vasculaire.

Les intégrines jouent un rôle important dans l'extravasation des leucocytes. Ceci est bien démontré par le déficit en adhésion leucocytaire ou LAD ("leucocyte adhesion deficiency").

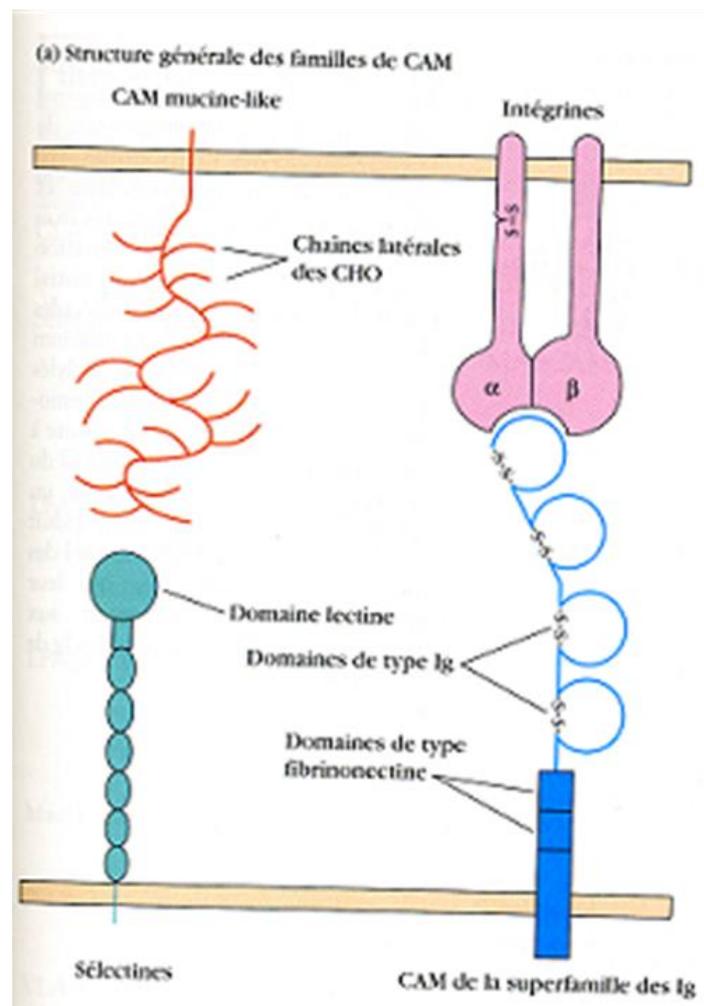
Exemples d'intégrines qui interviennent dans les phénomènes de migration leucocytaire :

- LFA-1 ("lymphocyte function associated antigen" 1) ou CD11a/CD18 ( $\alpha$ L $\beta$ 2), exprimée sur tous les leucocytes, ligands : ICAM-1 (CD54) et ICAM-2 (CD102) = molécules d'ancrage aux endothéliums
- Mac-1 ou CD11b/CD18 ( $\alpha$ M $\beta$ 2) correspond au CR3 (récepteur du facteur C3bi du complément)

- $\alpha X\beta 2$  ou CD11c/CD18 : correspond au CR4 (récepteur du facteur C3bi du complément)
- VLA-4 ( $\alpha 4\beta 1$ ) : se lie à VCAM-1 VLA-4 ("very late antigen" 4) : exprimé sur les lymphocytes, se lie à VCAM-1 ("vascular cell adhesion molecule") à la surface des cellules endothéliales.

ICAM-1 (CD54) et ICAM-2 (CD102) sont les ligands des 3  $\beta 2$  intégrines : CD11a-CD18, CD11b-CD18 et CD11c-CD18 qui partagent la même chaîne  $\beta$  de 95 KDa (CD18) mais expriment, chacune, une chaîne  $\alpha$  différente (CD 11a, b, et c).

CD11b-CD18 (CR3) et CD11c-CD18 (CR4) sont en même temps des récepteurs pour le C3bi exprimés à la surface des cellules phagocytaires et impliqués dans l'opsonisation.



#### **4- Superfamille des immunoglobulines**

Diverses molécules d'adhésion contiennent un nombre variable de domaines de type immunoglobulinique et sont donc classées dans la superfamille des immunoglobulines. Appartiennent à ce groupe : ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 et VCAM, qui sont exprimés sur les cellules endothéliales vasculaires. Elles se lient à diverses molécules d'intégrines.

#### **IV- Extravasation des neutrophiles**

Lorsqu'une réponse inflammatoire se développe, diverses cytokines, ainsi que d'autres médiateurs de l'inflammation, agissent sur les vaisseaux sanguins locaux, induisant alors une expression accrue des CAM des endothéliums. On dit alors que l'endothélium vasculaire est activé ou inflammatoire.

Les neutrophiles sont généralement le premier type de cellules à se lier à l'endothélium activé et à passer dans les tissus. Les neutrophiles liés doivent ensuite pénétrer à travers la couche endothéliale et migrer dans le tissu sous-jacent, c'est l'extravasation.

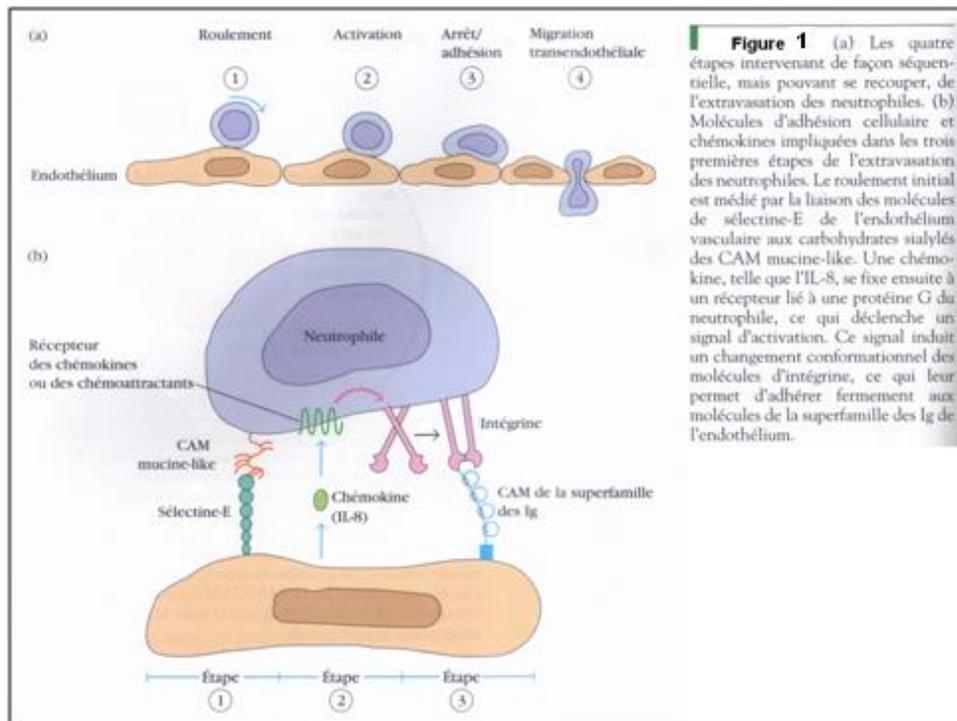
Le processus d'extravasation des neutrophiles peut être divisé en quatre étapes successives :

- Roulement
- Activation grâce à un stimulus par des chémoattractants
- Arrêt et adhésion
- Migration transendothéliale

Les lymphocytes, les monocytes et les éosinophiles effectuent leur extravasation par un processus semblable. (*Figure 1*)

#### **1- Roulement ("Rolling")**

Dans la première étape, les neutrophiles s'attachent de façon lâche à l'endothélium par une interaction de faible affinité carbohydate-sélectine. Lors d'une réponse inflammatoire, des cytokines et d'autres médiateurs agissent sur



l'endothélium local en induisant l'expression de molécules d'adhésion de la famille des sélectines. Les sélectine-E et P se lient aux molécules d'adhésion cellulaire mucine-like de la membrane des neutrophiles. Cette interaction attache brièvement le neutrophile à la cellule endothéliale, mais le puissant flux sanguin détache rapidement le neutrophile. Ce processus se répète plusieurs fois de telle façon que le neutrophile culbute le long de l'épithélium, ce type de liaison est appelé roulement.

## 2- Activation

Lorsque le neutrophile roule, il est activé par divers chémo-attractants. Ce sont soit des constituants permanents de la surface des cellules endothéliales ou des constituants sécrétés localement par les cellules impliquées dans la réponse inflammatoire.

Parmi les chémo-attractants, figurent des cytokines chémo-attractives, appelées chémokines. Deux chémokines impliquées dans le processus d'activation sont l'interleukine 8 (IL-8) et la protéine inflammatoire des macrophages (MIP-1 $\beta$ ). D'autres chémo-attractants n'appartiennent pas au groupe de chémokines, tels que le facteur d'activation des plaquettes (PAF), les produits de coupure du

complément (C5a, C3a et C5b67) et divers peptides N-formylés produits par la rupture des protéines bactériennes au cours d'une infection.

La liaison de ces chémoattractants aux récepteurs de la membrane des neutrophiles déclenche un signal d'activation. Ce signal induit un changement conformationnel des molécules d'intégrines de la membrane du neutrophile, ce qui augmente leur affinité pour les molécules d'adhésion de la superfamille des Ig à la surface de l'endothélium.

### **3- Arrêt et adhésion**

L'interaction ultérieure entre les intégrines et les CAM de la superfamille des Ig stabilise l'adhésion des neutrophiles à la surface de la cellule endothéliale, ce qui permet aux neutrophiles d'adhérer fermement à la cellule endothéliale.

### **4- Migration trans-endothéliale**

Par la suite, le neutrophile migre à travers la paroi des vaisseaux vers les tissus où il est guidé par les facteurs chimiotactiques.

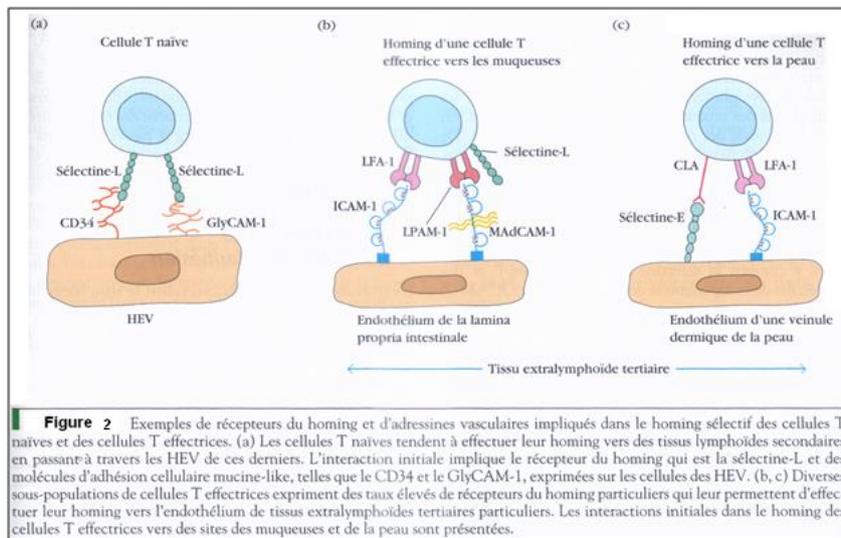
### **V- Extravasation des lymphocytes**

Divers sous-groupes de lymphocytes présentent une extravasation dirigée au niveau des sites inflammatoires et des organes lymphoïdes secondaires.

La recirculation des lymphocytes est ainsi soigneusement contrôlée afin d'assurer que des populations appropriées de cellules B et T soient recrutées dans les différents tissus.

Comme pour les neutrophiles, l'extravasation des lymphocytes implique des interactions entre de nombreuses molécules d'adhésion cellulaire. Le processus dans son ensemble est semblable à celui qui se produit lors de l'extravasation des neutrophiles. Il comprend quatre étapes : roulement, activation, arrêt et adhésion, et migration trans-endothéliale. (*Figure 2*)

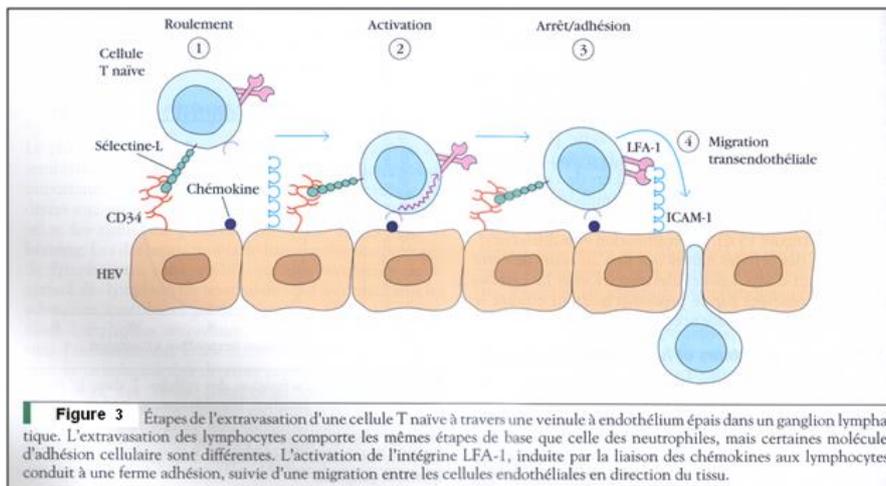
Le homing des lymphocytes est médié par des récepteurs de la surface des lymphocytes re-circulants. Ces récepteurs reconnaissent les adressines vasculaires des endothéliums de divers tissus lymphoïdes secondaires, et les adressines des endothéliums des sites d'inflammation.



Ces récepteurs dirigent la circulation des diverses populations de lymphocytes vers des tissus lymphoïdes ou inflammatoires particuliers, ils sont appelés récepteurs du "homing".

### 1- Lymphocytes naïfs

Ils ne représentent pas de préférence pour un type particulier de tissu lymphoïde secondaire (recirculation constante à travers les différents tissus).  
(Figure 3)



### 2- Lymphocytes effecteurs et lymphocytes à mémoire

Les profils du "homing" des lymphocytes effecteurs et des lymphocytes à mémoire diffèrent de ceux des lymphocytes naïfs :

Les cellules effectrices tendent à se localiser dans les régions d'infection en reconnaissant l'endothélium vasculaire activé et les molécules de chémoattractants générées au cours de la réponse inflammatoire.

Les lymphocytes à mémoire se localisent sélectivement dans le type de tissu où ils ont rencontré pour la première fois l'antigène. Ceci assure qu'une cellule à mémoire particulière retournera aux tissus où elle aura le plus de chances de rencontrer à nouveau le même antigène.

## **VI- Les Chémokines**

Les chémokines constituent une superfamille de petits polypeptides constitués de 90 à 130 aa.

Elles contrôlent sélectivement l'adhésion, la chimiotaxie et l'activation de nombreux types de populations et de sous populations de leucocytes.

Par conséquent, elles sont les principaux régulateurs du trafic des leucocytes.

Les chémokines font que les leucocytes se déplacent vers divers sites tissulaires en induisant l'adhérence de ces cellules à l'endothélium vasculaire. Après avoir migré dans les tissus, les leucocytes sont attirés vers les concentrations localement élevées de chémokines.

En quelques secondes, l'addition d'une chémokine appropriée à des leucocytes provoque :

- des changements de leur forme.
- une plus grande adhésivité des leucocytes aux parois endothéliales par activation des intégrines leucocytaires.
- la formation de radicaux oxygénés microbicides dans les phagocytes.
- la libération du contenu des granules : des protéases des neutrophiles et des macrophages, de l'histamine des basophiles, et des protéines cytotoxiques des éosinophiles.

## **VII- Conclusion**

La migration des leucocytes dans les tissus inflammatoires ou dans les organes lymphoïdes nécessite une interaction entre les molécules d'adhésion cellulaire (CAM) de l'endothélium vasculaire et celles des cellules circulantes. La plupart de ces CAM appartiennent à l'une ou l'autre des quatre familles de protéines : les sélectines, la famille des mucine-like, les intégrines et la superfamille des Ig.

Les sélectines et les CAM mucine-like entrent en interaction les unes avec les autres. Les intégrines exprimées sur les leucocytes interagissent avec les CAM de la superfamille des Ig exprimées sur les cellules endothéliales.

Les neutrophiles sont le premier type de cellules à passer de la circulation sanguine dans les sites d'inflammation. L'extravasation des neutrophiles et des lymphocytes implique quatre étapes : roulement, activation, adhésion, puis migration trans-endothéliale. Les chémokines agissent comme chémoattractants et comme molécules activatrices durant l'extravasation des leucocytes.

# LA REPONSE IMMUNITAIRE A MEDIATION CELLULAIRE

*Pr Hafedh MAKNI  
Dr Arwa KAMOUN*

## Objectifs éducationnels

1. Enumérer les différentes sous populations lymphocytaires T effectrices au cours de l'IMC.
2. Enumérer les principales interactions moléculaires impliquées dans la présentation de l'antigène.
3. Déterminer les signaux d'activation des cellules T.
4. Décrire brièvement les différentes étapes de l'IMC.

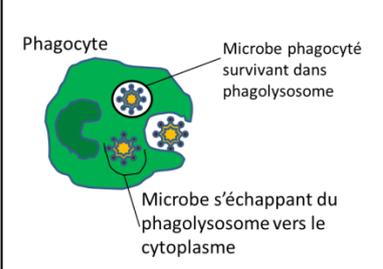
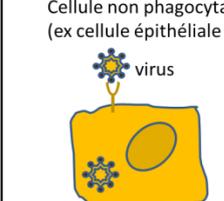
## I- Introduction

L'immunité à médiation cellulaire a pour rôle de combattre des infections provoquées par des microbes intracellulaires. Ce type d'immunité est assuré par les lymphocytes T.

Les microbes peuvent être ingérés par les phagocytes et survivre dans les vacuoles (phagolysosomes), ou s'échapper dans le cytoplasme où ils sont insensibles aux mécanismes microbicides des phagocytes.

Les virus peuvent se lier à des récepteurs cellulaires et se répliquer dans le cytoplasme des cellules infectées.

Certains virus provoquent des infections latentes, au cours desquelles des protéines virales sont produites dans les cellules infectées.

Microbes intracellulaires	Exemples
 <p>Phagocyte</p> <p>Microbe phagocyté survivant dans phagolysosome</p> <p>Microbe s'échappant du phagolysosome vers le cytoplasme</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Bactéries intracellulaires<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Mycobactéries</li><li>✓ Listéria</li><li>✓ Légionelle</li></ul></li><li>▪ Champignons<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Cryptococcus neoformans</li></ul></li><li>▪ Protozoaires<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Leishmania</li><li>✓ Trypanosoma cruzi</li></ul></li></ul>
 <p>Cellule non phagocytaire (ex cellule épithéliale)</p> <p>virus</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Virus (tous)</li><li>▪ Rickettsies</li><li>▪ Protozoaires<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Plasmodium falciparum</li><li>✓ Cryptosporidium parvum</li></ul></li></ul>

## II- Différentes phases des réponses des lymphocytes

Les réponses des lymphocytes T contre les antigènes microbiens associés aux cellules se composent d'une série d'étapes consécutives qui entraînent une augmentation du nombre de lymphocytes T spécifiques de l'antigène et la conversion des cellules T naïves en cellules effectrices.

Les lymphocytes T naïfs rencontrent pour la première fois les antigènes protéiques dans les organes lymphoïdes périphériques.

En même temps, les lymphocytes T reçoivent des signaux complémentaires de la part des microbes ou des réactions immunitaires innées dirigées contre ces microbes.

En réponse à ces stimuli, les lymphocytes T spécifiques de l'antigène commencent à sécréter diverses cytokines.

Certaines cytokines stimulent la prolifération des lymphocytes T spécifiques de l'antigène (Ag).

Le résultat de cette prolifération est une augmentation rapide du nombre des lymphocytes spécifiques de l'antigène, un processus portant le nom d'**expansion clonale**.

Une grande partie de ces lymphocytes activés subit un processus de **différenciation** en lymphocytes T effecteurs dont la fonction est d'éliminer les microbes.

Les autres cellules filles des lymphocytes T ayant proliféré en réponse à l'antigène se différencient en lymphocytes T mémoire dont la durée de vie est longue.

### I- Reconnaissance de l'antigène et costimulation

L'initiation des réponses par les lymphocytes T (LT) nécessite que de multiples récepteurs situés sur les LT reconnaissent des ligands se trouvant sur les CPA (cellules présentatrices d'antigènes) :

La reconnaissance par le TCR spécifique du peptide antigénique présenté par une molécule CMH est le point de départ de toute réponse immunitaire à médiation cellulaire, sans cette interaction spécifique TCR-Ag-CMH, il n'y a pas d'activation du LT.

La force de cette liaison spécifique TCR-Ag-CMH est relativement faible (en moyenne 100 fois moins que celle de la liaison Ag-Ac voire plus), elle doit donc être rapidement renforcée et stabilisée par d'autres liaisons non spécifiques entre des molécules d'adhésion cellulaires des LT et leurs ligands exprimés à la surface des CPA (LFA1-ICAM1, CD2-LFA3...) (figure 2).

En plus du signal d'activation représenté par la reconnaissance de l'Ag spécifique, le LT a besoin de recevoir de façon concomitante un deuxième signal dit de co-activation ou costimulation (B7-CD28...) pour être activé....

### **1- Reconnaissance des peptides associés aux molécules CMH**

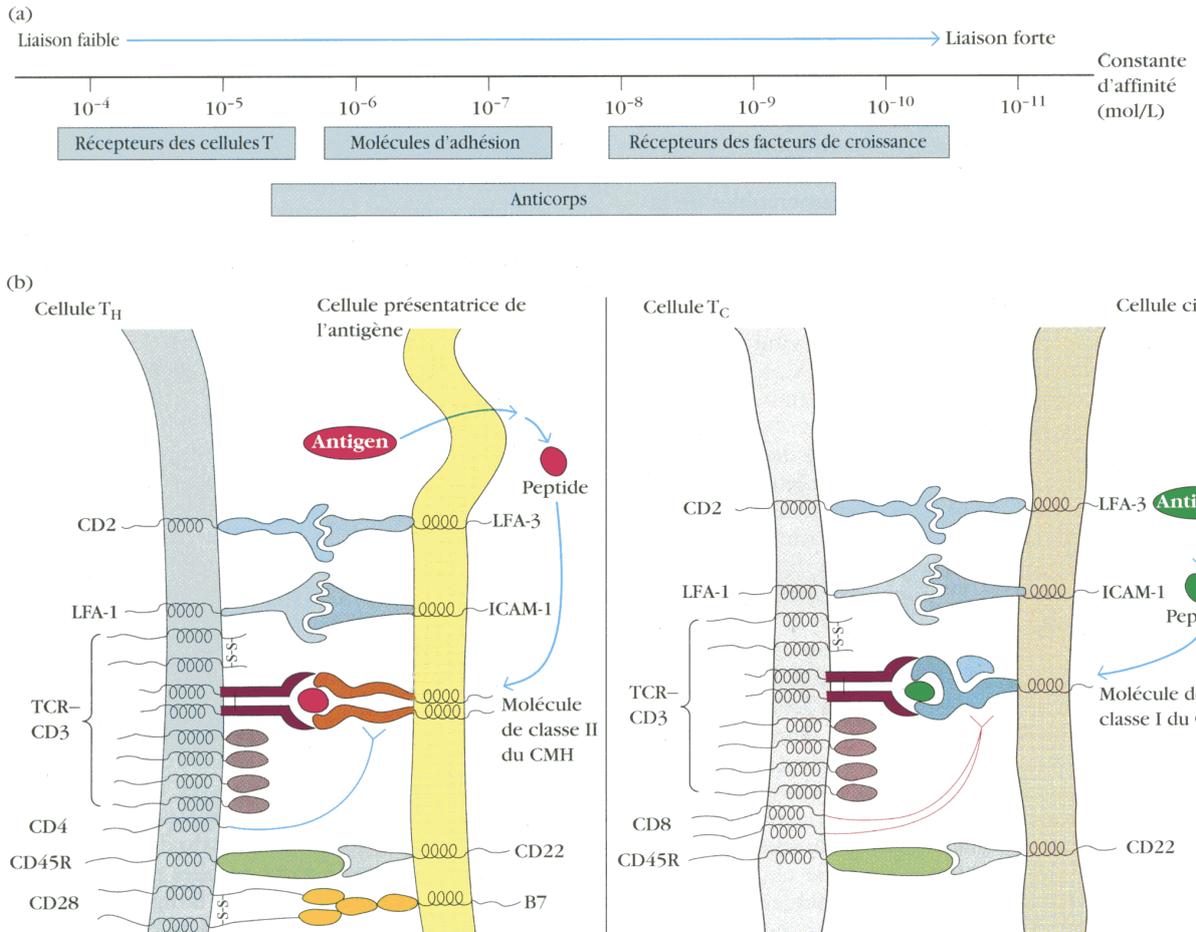
Le TCR et le corécepteur CD4 ou CD8 reconnaissent ensemble le complexe formé par les Ag peptidiques et les molécules du CMH sur les CPA (figure 2).

Cette reconnaissance constitue le premier signal, ou signal d'initiation, induisant l'activation des lymphocytes T.

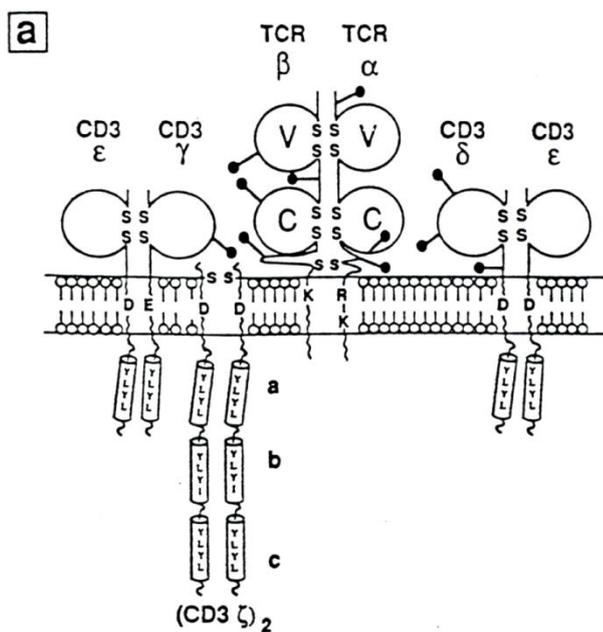
Des molécules différentes des LT reconnaissent l'Ag et délivrent le signal à l'intérieur de la cellule à la suite de la reconnaissance de cet Ag.

Le TCR et le CD3 forment le complexe du TCR ; la fonction de reconnaissance de l'antigène est assurée par les chaînes variables  $\alpha$  et  $\beta$  du TCR, tandis que la fonction de signalisation est effectuée par les portions intracellulaires des chaînes  $\gamma$  (gamma),  $\delta$  (delta),  $\epsilon$  (epsilon) et  $\zeta$  (zéta) du CD3 (figure 3).

La fixation immédiate du corécepteur CD4 ou CD8 sur la portion monomorphe de la molécule HLA classe II ou classe I contribue à stabiliser la liaison entre le TCR et le complexe HLA-peptide et participe à la transduction du signal d'activation. Les signaux biochimiques déclenchés dans les LT par la reconnaissance de l'Ag entraînent l'activation de différents facteurs de transcription qui stimulent l'expression de gènes codant pour des cytokines, des récepteurs de cytokines, et d'autres molécules participant aux réponses des LT.



**Figure 2** : Rôle des molécules d'adhésion et des corécepteurs dans la stabilisation de la liaison TCR-Ag-HLA



**Figure 3** : Complexe TCR-CD3

## **2- Rôle des molécules d'adhésion dans l'activation des LT**

Les molécules d'adhésion présentes sur les LT reconnaissent leurs ligands sur les CPA et stabilisent la liaison des LT aux CPA.

La plus importante de ces molécules d'adhésion appartient à la famille des intégrines et s'appelle LFA-1 ("*leukocyte function associated antigen-1*") dont le ligand sur les CPA porte le nom d'ICAM-1 ("*inter-cellular adhesion molecule-1*" ou CD54).

L'adhésion assurée par les intégrines est essentielle pour la capacité des LT à se lier aux CPA présentant les Ag microbiens.

Les intégrines exercent également un rôle important pour diriger la migration des LT effecteurs de la circulation sanguine vers les sites d'infection.

## **3- Rôle de la Costimulation dans l'activation des LT**

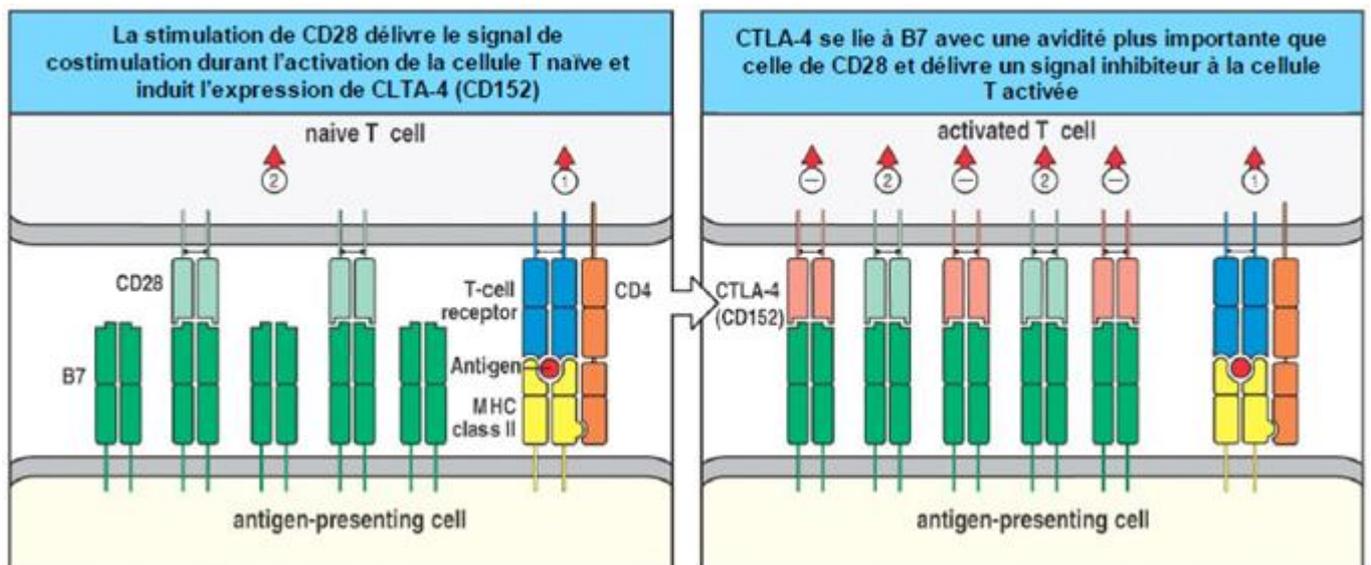
L'activation complète des LT dépend de la reconnaissance des molécules de costimulation se trouvant sur les CPA.

Les protéines CD80 (B7-1) et CD86 (B7-2) exprimées sur les CPA sont reconnues par un récepteur appelé CD28, qui est exprimé sur les LT.

En l'absence d'interaction entre CD28 et B7, l'engagement du TCR seul n'est pas en mesure d'activer les LT, et peut même conduire à une absence permanente de réponse des LT (état d'anergie).

Une signalisation impliquant le TCR et CD28 induit aussi l'expression de CD40-Ligand (ou CD40-L : CD154) à la surface du LT. La liaison de CD40-L au CD40 exprimé sur les CPA induit une augmentation de l'expression de CD80/CD86, qui à son tour renforce le signal induit par CD28. Une boucle positive d'activation s'établit et induit une forte prolifération des LT spécifiques de l'Ag. Un rétrocontrôle est nécessaire afin d'empêcher une prolifération incontrôlée.

Pour ce faire, la signalisation TCR/CD28 induit également l'expression plus tardive de la molécule CTLA-4 ("*Cytotoxic T Lymphocyte Antigen*" 4 : CD152) qui se lie à CD80/CD86 avec une plus forte affinité que CD28 et transmet un signal d'inhibition de la boucle positive d'activation décrite ci-dessus (figure 4).



**Figure 4 :** Contrôle du signal de costimulation par CTLA-4

L'activation des LT cytotoxiques  $CD8^+$  est stimulée par la reconnaissance des peptides associés aux molécules de classe I du CMH et nécessite une costimulation pouvant provenir de l'interaction CD28-B7 et/ou des cytokines produites par les LT auxiliaires ou Th.

## II- Réponse des lymphocytes T aux antigènes et à la costimulation

### 1- Sécrétion de cytokines et expression des récepteurs de cytokines

En réponse à l'Ag et aux costimulateurs, les LT et en particulier les T helper  $CD4^+$  secrètent rapidement plusieurs types de cytokines qui présentent des activités diverses. La première cytokine produite après une à deux heures est l'IL-2.

Quelques heures après l'activation par les Ag et les molécules de costimulation, les LT produisent la troisième chaîne (chaîne  $\alpha$  ou CD25) du récepteur pour l'IL-2 qui devient complet et en mesure de se lier fortement à l'IL-2 (récepteur de haute affinité).

La principale action de l'IL 2 (anciennement appelée "T Cell Growth Factor") est de stimuler la prolifération des LT.

### 2- Expansion clonale

Un à deux jours après l'activation, les LT commencent à proliférer, ce qui entraîne une expansion des clones spécifiques de l'Ag.

L'activation des LT CD8<sup>+</sup> peut nécessiter la collaboration des LT CD4<sup>+</sup>, qui sont activés à proximité, afin de produire l'IL-2 dont ils ont besoin pour leur prolifération.

Au pic de certaines infections virales, qui peut survenir une semaine après l'infection, jusqu'à 10-20 % de tous les lymphocytes présents dans les organes lymphoïdes secondaires peuvent être spécifiques du virus en cause.

### **3- Différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes effecteurs**

Les **Lymphocytes T auxiliaires CD4<sup>+</sup>** se différencient en lymphocytes effecteurs spécifiques de l'Ag qui expriment des molécules de surface (récepteurs de cytokines) et produisent des cytokines dont la fonction principale est d'activer les macrophages (réactions d'hypersensibilité retardée) et les LB (réponse Ac).

Les lymphocytes T helper CD4<sup>+</sup> peuvent se différencier en sous populations de cellules effectrices (TH1 et TH2) qui produisent différents groupes de cytokines assurant des fonctions variées.

Le développement des lymphocytes TH 1 et TH2 n'est pas un processus aléatoire, mais il est régulé par les stimuli que reçoivent les LT CD4<sup>+</sup> naïfs lorsqu'ils rencontrent les antigènes microbiens.

Les macrophages et les cellules dendritiques répondent à la présence de nombreuses bactéries et virus en produisant une cytokine appelée IL-12 qui favorise la différenciation des LT en sous population TH1, qui produit ensuite de l'IFN- $\gamma$  dont le rôle est d'activer les macrophages, mais aussi les LT cytotoxiques (Tc ou CTL) et les cellules NK, afin qu'ils détruisent les microbes.

Si le microbe infectieux ne déclenche pas la production d'IL-12 par les CPA, le cas des helminthes par exemple, les lymphocytes T eux même produisent de l'IL-4, qui induit leur différenciation en sous population TH2. L'IL4 peut provenir aussi des mastocytes et des cellules NK et NKT

**Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup>** sont activés par l'Ag, les molécules de costimulation et les cytokines produites par les LT CD4<sup>+</sup> et les CPA. Ils se différencient en lymphocytes T cytotoxiques (Tc) qui ont la capacité de migrer vers le tissu où se situent les cellules cibles.

Dans les tissus, les lymphocytes Tc ou CTL ("Cytotoxic T Lymphocytes") reconnaissent et détruisent spécifiquement les cellules infectées ou tumorales présentant des peptides antigéniques associés aux molécules HLA classe I. À ce stade, les Tc ne nécessitent plus de costimulation ni de coopération avec les LT CD4<sup>+</sup> auxiliaires.

Les lymphocytes Tc exercent leur action cytotoxique par 2 mécanismes (figure 5) :

- **Dégranulation** : exocytose de molécules toxiques (perforine, granzymes A et B) contenues dans des granules intracytoplasmiques du lymphocyte Tc. La perforine forme des pores de taille nanométrique dans la membrane de la cellule cible permettant l'entrée des granzymes. La mort cellulaire est ensuite déclenchée suite au clivage par les granzymes de diverses molécules effectrices et/ou régulatrices de l'apoptose (*e.g.* caspases), ce qui induit l'activation des voies apoptotiques, aboutissant à la fragmentation de l'ADN de la cellule cible et la mort de celle-ci.
- Le deuxième mécanisme de cytotoxicité passe par l'engagement de récepteurs à domaines de mort tels que Fas ou CD95 (expression de Fas-L ou CD178 par les Tc) ou le TNF $\alpha$ -R (synthèse de TNF $\alpha$  par les Tc), ce qui entraîne la mort des cellules cibles par déclenchement de l'apoptose intracellulaire via la voie des caspases.

Une fraction des LT activés par l'Ag se différencie en **lymphocyte T mémoire** à longue durée de vie. Les lymphocytes mémoire survivent même après que l'infection a été éradiquée et que l'antigène a disparu.

Les lymphocytes mémoire constituent un groupe de lymphocytes qui attend le retour de l'infection.

## **I- Conclusion**

Les lymphocytes T sont les cellules de l'immunité à médiation cellulaire, ils permettent de lutter contre les germes intracellulaires, qui peuvent être des microbes ingérés par les phagocytes et vivant à l'intérieur de ces cellules ou bien des microbes ayant infecté des cellules non phagocytaires.

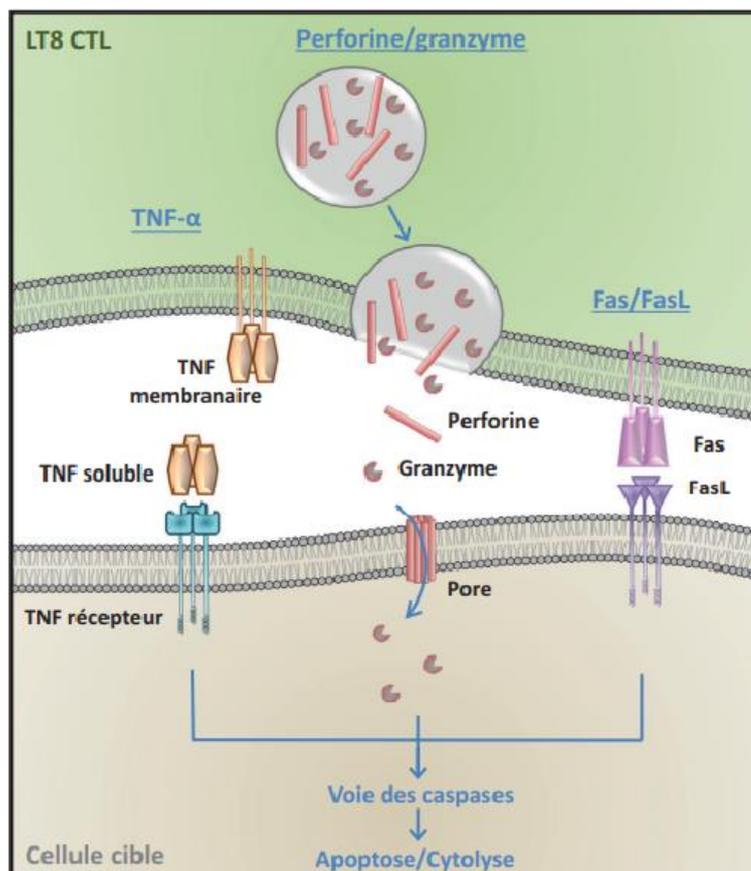


Figure 5 : Mécanismes moléculaires de la cytotoxicité des lymphocytes T cytotoxiques

La reconnaissance de l'antigène par le TCR déclenche des signaux qui sont délivrés à l'intérieur des lymphocytes par des molécules associées au TCR (CD3) et par les corécepteurs CD4 ou CD8 qui reconnaissent respectivement les molécules de classe II ou de classe I du CMH.

En réponse à la reconnaissance de l'antigène et à la costimulation, les lymphocytes T secrètent des cytokines qui, pour certaines, induisent la prolifération des lymphocytes T stimulés par l'antigène et pour d'autres assurent les fonctions effectrices des lymphocytes T.

Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> reconnaissent les peptides d'antigènes protéiques intracellulaires (cytoplasmiques) et peuvent nécessiter la collaboration des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> pour se différencier en lymphocytes T cytotoxiques (Tc). La fonction des Tc est de détruire les cellules transformées : cellules cancéreuses ou produisant des antigènes microbiens cytoplasmiques.

# IMMUNITÉ À MÉDIATION HUMORALE

Dr Arwa KAMOUN

Pr Hafedh MAKNI

## Objectifs éducationnels

---

1. Schématiser le récepteur de l'antigène des lymphocytes B
  2. Décrire les différentes étapes de la réponse humorale contre les antigènes thymo-dépendants
  3. Préciser le rôle des lymphocytes T dans la réponse humorale contre les antigènes thymo-dépendants
  4. Distinguer entre réponse primaire et réponse secondaire
  5. Citer les caractéristiques de la réponse humorale contre les antigènes thymo-indépendants
- 

### I- Introduction

La production d'Ac est la réponse la plus adaptée à la neutralisation des exotoxines bactériennes ou des virus durant la phase extracellulaire de leur développement.

Les complexes Ag-Ac activent la voie classique du complément qui tue les bactéries et les virus.

De plus, les Ac facilitent la capture des Ag et leur dégradation ultérieure par les cellules phagocytaires exprimant un récepteur pour la région Fc des Ig.

Enfin, les Ac stimulent les cellules ayant un récepteur pour la région Fc, lorsqu'elles interagissent avec les complexes Ag-Ac, les fonctions phagocytaires et cytotoxiques sont activées de même que la mise en place d'une réaction inflammatoire nécessaire au recrutement des effecteurs cellulaires.

La production des Ac est la conséquence de l'activation des lymphocytes B porteur d'une mIg (Ig membranaire) spécifique pour l'Ag.

L'activation des lymphocytes B (LB) et leur différenciation se déroulent en plusieurs étapes (figure 1) :

- La première est la reconnaissance de l'Ag, qui met en jeu le récepteur B et qui initie la phase d'activation
- Phase d'activation des LB

- Expansion de clones spécifiques de l'Ag
- Différenciation en plasmocytes sécrétant d'Ac et en cellules B mémoire.

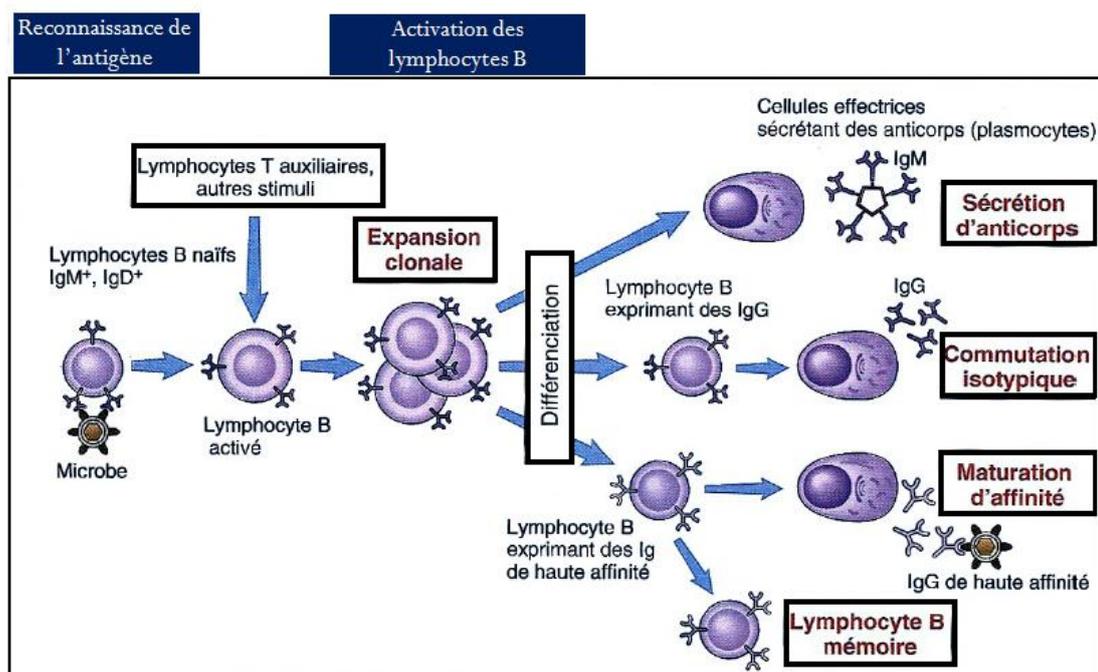
Les réponses Ac dirigées contre différents Ag sont classées en Thymo-dépendants et thymo-indépendants, selon qu'elles nécessitent ou non la collaboration des lymphocytes T (LT).

## II- Réponse aux Ag thymo-dépendants

Les protéines sont typiquement des Ag T-dépendants.

Les LB reconnaissent sur ces Ag des épitopes superficiels souvent de type conformationnel.

Les LT reconnaissent des peptides, fragments issus de la dégradation de la molécule antigénique, et apprêtés par une cellule qui peut être un LB spécifique du même Ag.



**Figure 9** : Phases successives des réponses immunitaires humorales

### 1- Reconnaissance de l'Ag

Les réponses immunitaires humorales sont initiées lorsque les LB reconnaissent l'Ag spécifique (Ag natif, en suspension ou à la surface d'une cellule ou d'un micro-organisme). Cette reconnaissance a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires.

### **a. Récepteur B**

Le récepteur de l'Ag du LB (BCR : "B Cell Receptor"), consiste en un complexe macromoléculaire incluant :

- Une Ig de membrane (mIg)
- Des molécules de signalisation : les molécules  $Ig\alpha$  (CD79a) et  $Ig\beta$  (CD79b) associées en un hétérodimère et qui portent des motifs d'activation ITAM ("Immunoreceptor Tyrosine Based Activation Motif") dans leurs domaines cytoplasmiques.

Après liaison à l'Ag, le BCR des cellules sélectionnées transmet les signaux par plusieurs voies métaboliques qui passent par la phosphorylation sur les motifs ITAM des  $Ig\alpha$  et  $\beta$  et l'activation en chaînes de kinases, aboutissant à l'expression de plusieurs gènes cellulaires.

La transduction des signaux assurée par le BCR nécessite le pontage ("cross-linking") d'au moins deux molécules de récepteur.

### **b. Corécepteur**

Plusieurs molécules présentes à la surface des LB sont impliquées dans leur activation, lors de l'engagement de leur BCR. Trois d'entre elles forment un complexe de transduction, le complexe CD19/CD21/CD81 qui constitue le corécepteur des LB (figure 2) :

- CD19 : est le 1er marqueur de différenciation B exprimé à la surface des cellules en développement. Il comporte un domaine cytoplasmique porteur d'un motif ITAM
- CD21 ou CR2: récepteur du composant C3d généré par clivage protéolytique du C3. Le C3d peut se trouver sous forme de dépôts sur la paroi des bactéries, ou associé à l'Ag dans les complexes immuns.
- CD81 ou TAPA-1.

Le complexe CD19/CD21/CD81 joue un rôle important dans l'activation des LB en diminuant le seuil d'affinité de l'IgM pour l'Ag nécessaire pour stimuler les LB naïfs, et ce notamment grâce à la fixation du CR2 sur le C3d déposé sur l'Ag (fixé

par une liaison covalente) qui permet de stabiliser l'interaction Ac-Ag lorsque l'affinité pour l'Ag de l'IgM est faible.

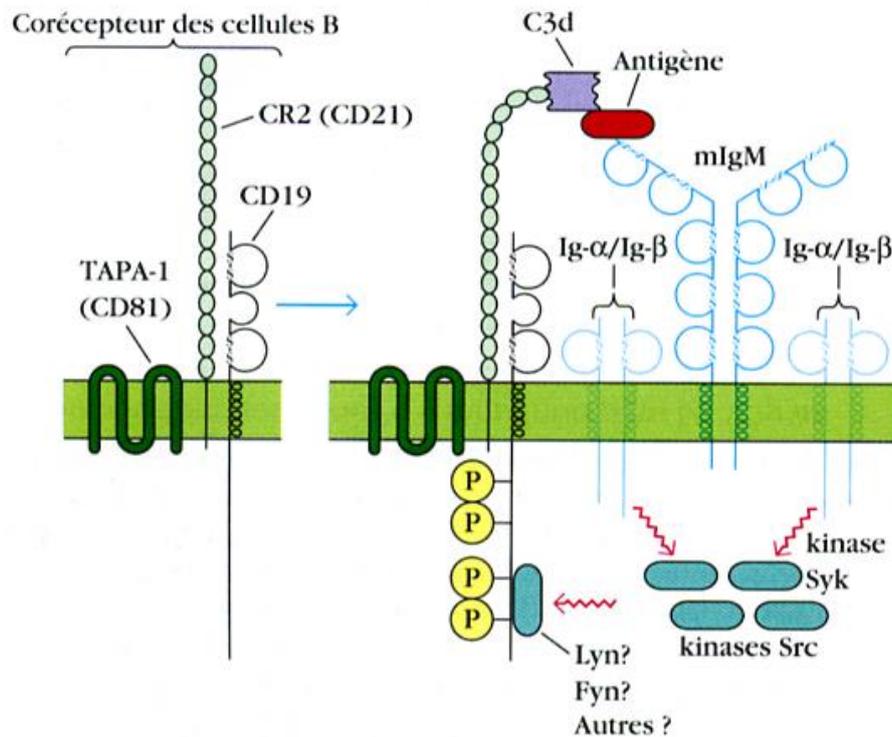


Figure 2 : Corécepteur associé au récepteur de l'antigène du lymphocyte B

## 2- Stimulation des lymphocytes B par l'Ag

Dans les organes lymphoïdes périphériques, les LB activés :

- entrent dans le cycle de division cellulaire
- et augmentent l'expression de certaines molécules de surface : les molécules de classe II du CMH, les molécules de la famille B7 : B7.1 (CD80) et B7.2 (CD86) et des récepteurs de cytokines (figure 3).

## 3- Rôle des lymphocytes T auxiliaires dans les réponses humorales

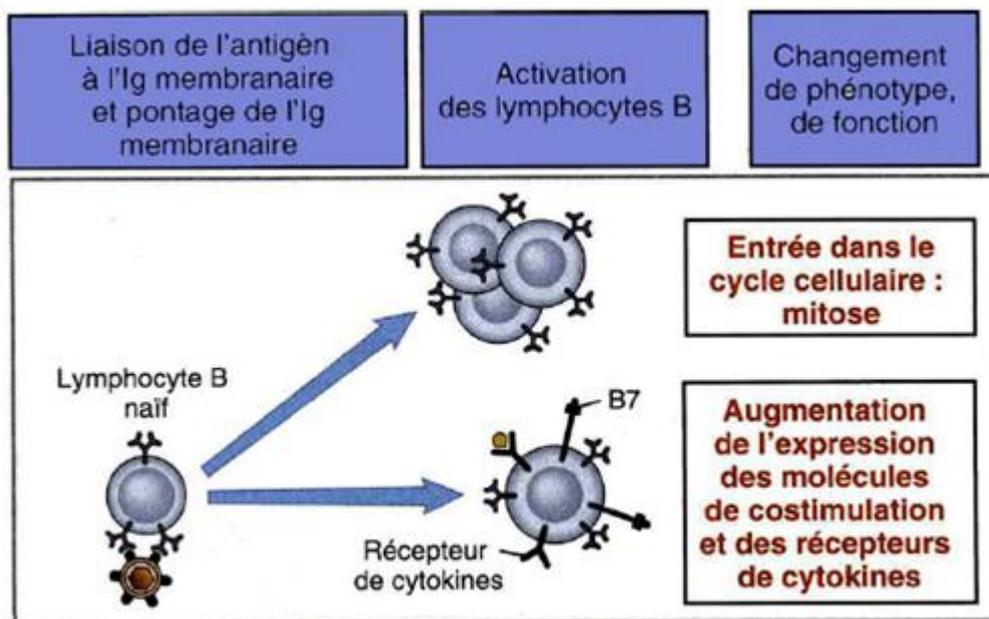
Pour qu'un Ag protéique stimule une réponse Ac, les LB et les LT auxiliaires spécifiques de cet Ag doivent interagir dans les organes lymphoïdes. Cette interaction stimule la prolifération et la différenciation des LB.

### a. Activation et migration des lymphocytes T auxiliaires

Les LT naïfs CD4<sup>+</sup> sont activés suite à la reconnaissance de l'Ag spécifique présenté par les CPA professionnelles dans les zones riches en LT des tissus lymphoïdes périphériques.

→ Ils prolifèrent → se différencient en lymphocytes T helper (Th).

Certains LT différenciés migrent vers les bords des follicules lymphoïdes, tandis que les LB stimulés par l'Ag à l'intérieur des follicules commencent à migrer vers l'extérieur (vers les LT).



D'après AK. Abbas et A. Lichtman. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Campus référence. Elsevier. 2005

**Figure 3 :** Conséquences fonctionnelles de l'activation des lymphocytes B par l'Ag

### b. Présentation des Ag par les lymphocytes B aux lymphocytes T helper

L'interaction T-B s'établit à l'interface entre les aires T et B à la périphérie des follicules lymphoïdes.

#### ✓ Interactions cognitives

Les LB qui se lient aux Ag protéiques par l'intermédiaire de leurs Igm spécifiques, ingèrent ces Ag par endocytose, les apprêtent, et présentent les peptides associés avec les molécules HLA classe II, afin qu'ils soient reconnus par les lymphocytes Th CD4<sup>+</sup> spécifiques.

➔ Les LB se comportent en tant que cellules présentatrices d'Ag. Le LT et le LB reconnaissent des épitopes différents du même Ag protéique : épitope conformationnel pour le LB et séquentiel pour le LT.

#### ✓ **Interactions non spécifiques**

En plus des molécules d'adhérence (ICAM-1, LFA-1 et LFA-3), le LB activé exprime des molécules de costimulation de la famille B7, il délivre ainsi au LT des signaux impliqués dans l'activation de gènes de cytokines et la production de facteurs qui conduisent à sa différenciation.

Le LT activé exprime le ligand de CD40 (CD40-L) et délivre en retour des signaux par la voie CD40-L/CD40 vers le LB ce qui aboutit à :

- La prolifération des LB (expansion clonale)
- La différenciation de certains LB en plasmocytes à courte durée de vie, sécréteurs d'Ac (IgM) de faible affinité

Parallèlement, les LT activés prolifèrent et sécrètent des facteurs de croissance à fonction autocrine (IL-2), et des facteurs de croissance et de différenciation des LB (IL-4, IL-5, IL-6...) (figure 4).

#### **4- Formation d'un centre germinatif**

Le centre germinatif est le lieu de prolifération des LB activés, de maturation d'affinité du BCR pour l'Ag, de la commutation isotypique des Ig et la différenciation des LB activés en plasmocytes et en cellules mémoires (figure 5).

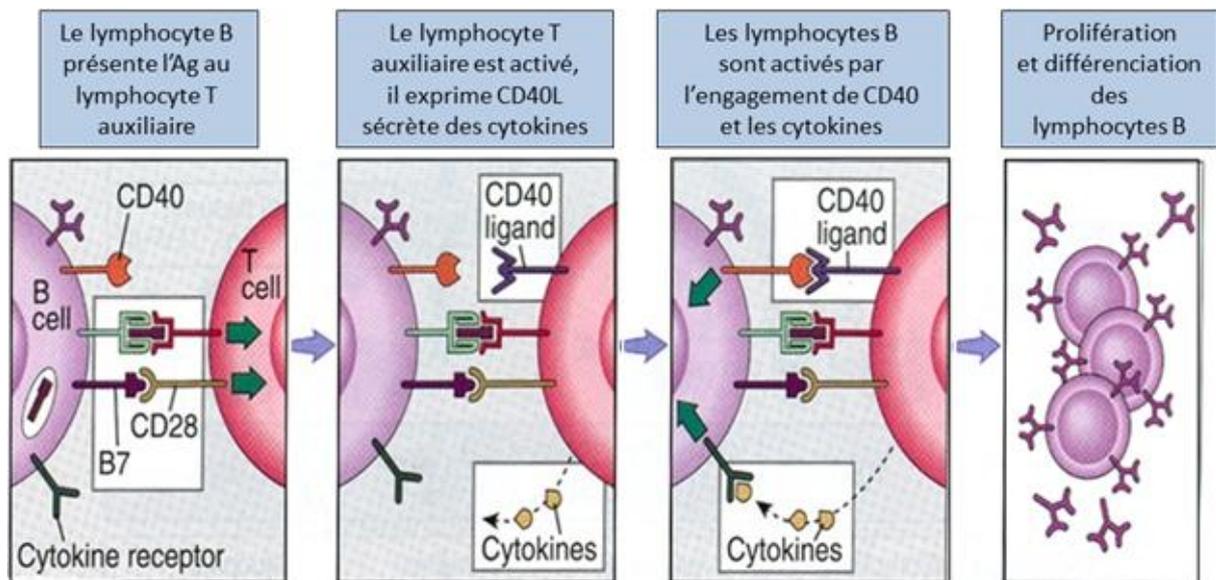
##### **a. Expansion clonale**

Des cellules B et T activés migrent vers les follicules primaires. Ces derniers se développent alors en follicules secondaires.

Les LB subissent une expansion massive (centroblastes) qui aboutit à la formation du centre germinatif.

Les centroblastes se retrouvent au niveau de la zone sombre du centre germinatif.

Leurs descendants, les centrocytes, sont de petites cellules qui ne se divisent pas et qui expriment une Igm : les centrocytes migrent vers la zone claire du centre germinatif.



**Figure 4 :** Mécanismes d'activation des lymphocytes B par les lymphocytes T helper

### b. Maturation d'affinité

La maturation d'affinité survient dans les centres germinatifs. Elle résulte des hypermutations somatiques des gènes codant pour les Ig, suivie par la sélection, par les cellules dendritiques folliculaires, des LB de haute affinité pour l'Ag présenté.

#### ✓ **Hypermutation :**

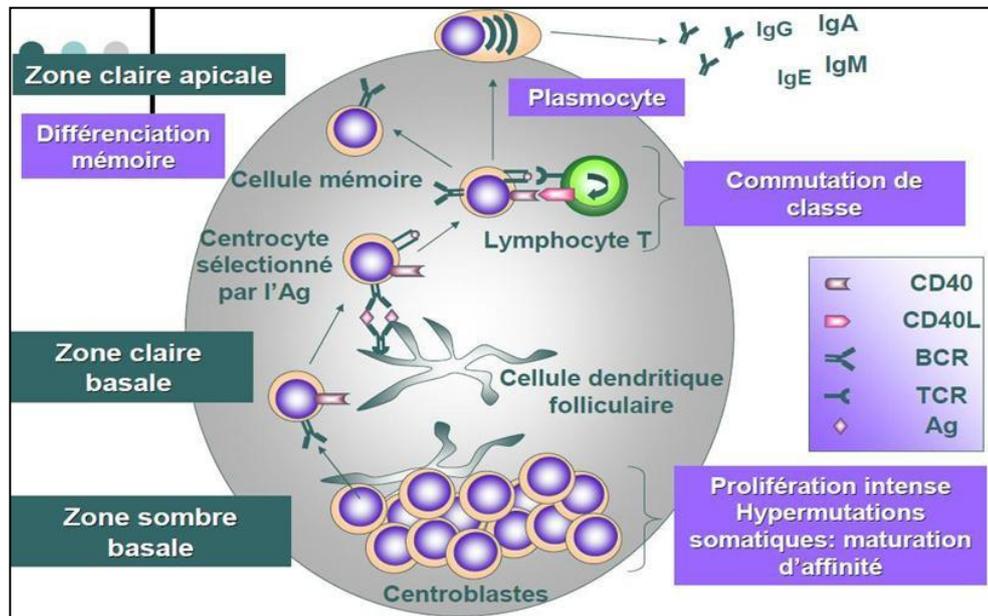
Les mutations somatiques surviennent dans les centroblastes avec une fréquence 1000 fois supérieure au taux normal de mutations. Elles sont limitées aux gènes codant les régions variables des chaînes lourdes et légères (VH et VL) des Ig.

#### ✓ **Sélection :**

Au niveau de la zone claire du centre germinatif, les centrocytes peuvent capturer l'Ag présenté à la surface des cellules dendritiques folliculaires. Seuls les centrocytes ayant un récepteur de forte affinité pour l'Ag reçoivent un signal de survie. Les autres (affinité faible ou nulle pour l'Ag) meurent par apoptose. Les centrocytes sélectionnés sont capables d'apprêter l'Ag et de le présenter aux LT helper, l'engagement de CD40 à ce niveau est essentiel pour la commutation isotypique.

Au niveau de la zone claire, les centrocytes subissent une différenciation en deux types de descendants : les plasmoblastes et les cellules B mémoire.

Les plasmoblastes quittent le centre germinatif et migrent vers la médullaire du ganglion lymphatique où ils se différencient en plasmocytes qui sécrètent les Ac.



**Figure 5 :** centre germinatif, prolifération et différenciation des lymphocytes B

## 5- Différenciation des lymphocytes B

### a. Commutation isotypique

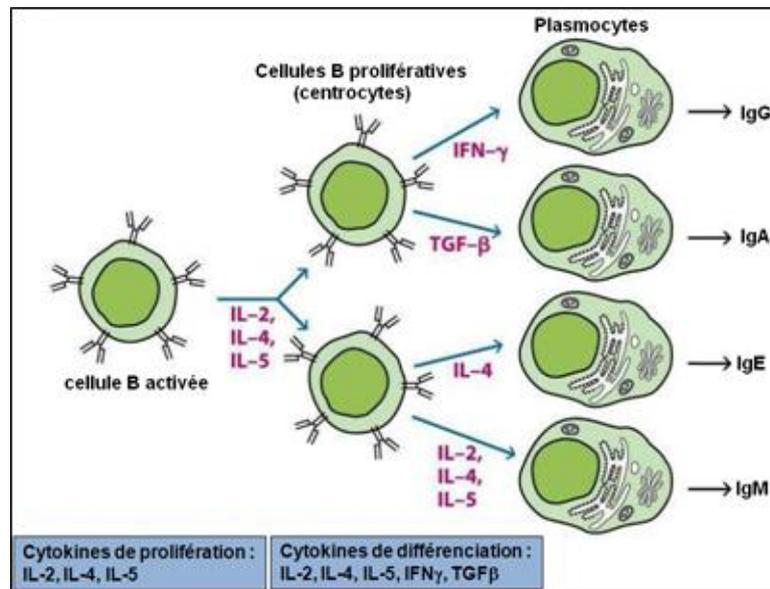
La commutation de classe résulte de l'utilisation par une même cellule mais à des temps différents de gènes CH distincts.

Mécanisme : recombinaison avec délétion d'un segment génique (ADN), qui amène le complexe VDJ (voisin du gène  $C\mu$ ) au contact d'un autre gène constant de chaîne lourde.

Le rôle des LT est double dans la commutation isotypique :

- Par la délivrance du signal activateur via l'interaction CD40/CD40-L avec les centrocytes
- Par la synthèse de cytokines impliquées dans l'orientation vers la production des différentes classes d'Ig (figure 6) :
  - L'IL-4 et l'IL-13 stimulent la différenciation des LB en cellules productrices d'IgE.
  - L'IFN $\gamma$  inhibe la production d'IL-4 et donc celle des IgE, il favorise le switch vers les IgG

- Le TGF $\beta$  abondant au niveau des tissus muqueux, est responsable du switch orienté vers la production d'IgA



**Figure 6** : rôle des cytokines dans la commutation isotypique

### b. Différenciation plasmocytaire

La différenciation plasmocytaire s'accompagne de nombreux changements morphologiques qui correspondent à l'engagement du plasmocyte dans la production d'Ac en grande quantité.

La transition de la forme membranaire à la forme sécrétée des Ig correspond à un processus de maturation de l'ARN avec épissage du transcrite primaire et élimination des deux derniers exons codant le segment transmembranaire et les derniers acides aminés cytoplasmiques de la chaîne lourde.

### c. Différenciation en lymphocytes B mémoires

Parmi les centrocytes sélectionnés, certains se différencient en LB mémoire à vie longue, qui supporteront la réponse immunitaire anamnétique lors d'une rencontre ultérieure avec l'Ag.

Les LB naïfs n'expriment que l'IgM et l'IgD ; tandis que les LB mémoires expriment l'un des autres isotypes (IgG ou IgA).

## III- Réponse Ac contre les Ag Thymo-indépendants

Les polysaccharides, les lipides et les autres Ag non protéiques déclenchent des réponses anticorps sans la participation des LT auxiliaires (figure 7).

Les Ag polysaccharidiques et lipidiques contiennent souvent des alignements multivalents du même épitope; → pontages ("Cross-linking") entre plusieurs récepteurs d'Ag sur un LB spécifique → activation des LB de façon suffisante pour stimuler leur prolifération et leur différenciation sans nécessiter la collaboration avec les LT. Les Ac produits sont d'isotype IgM.

La réponse humorale à ces Ag se caractérise par l'absence de commutation de classe et l'absence de mémoire immunitaire.

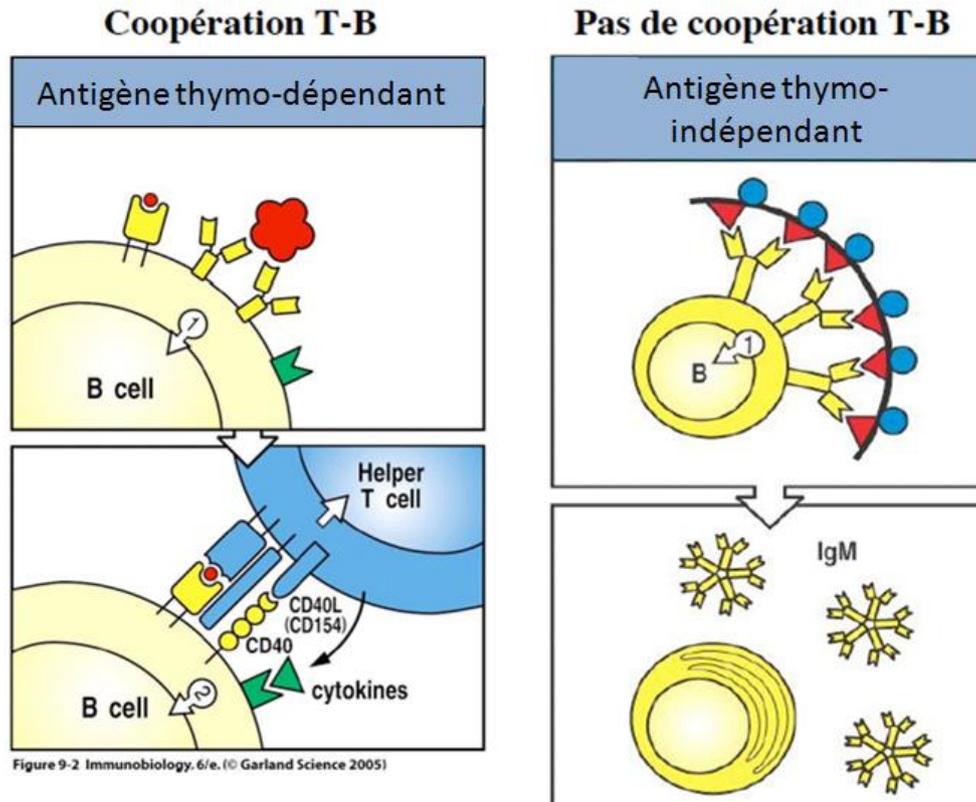


Figure 7 : Réponses Ac contre les Ag Thymo-dépendants et Thymo-indépendants

#### IV- Réponse humorale primaire et secondaire

##### 1- Réponse humorale primaire

Elle correspond à la 1<sup>ère</sup> introduction d'un Ag étranger dans un organisme.

Après une phase de latence de durée variable (24 heures à 2 semaines), apparaissent des Ac circulants : d'abord de classe IgM puis de classe IgG (48 h après les IgM).

Le taux des IgG croît progressivement aboutissant à un plateau (dépassant la valeur du pic IgM) qui dure plusieurs semaines avant de décroître lentement.

## 2- Réponse humorale secondaire

Elle survient chez un sujet pré-immunisé, lors d'un nouveau contact avec l'Ag.

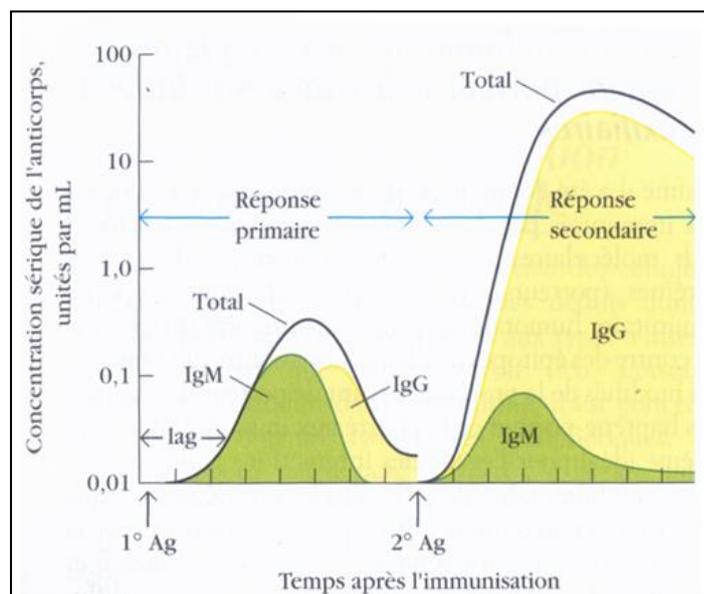
Elle est liée au phénomène de mémoire immunitaire

Cette mémoire s'établit lors de la réponse Ac primaire et est spécifique. Ainsi, seule l'introduction du même Ag entraîne une réponse de type secondaire.

Des doses minimales d'Ag suffisent à déclencher la réponse anamnétique qui est :

- plus précoce (phase de latence plus courte)
- plus intense (taux d'Ac plus élevé)
- plus prolongée (le taux élevé d'Ac va persister plus longtemps parfois même indéfiniment)
- Les anticorps produits sont d'emblée des IgG parfois des IgA.

En règle générale, à chaque nouvelle immunisation, on assiste à un accroissement de l'affinité des Ac pour l'Ag immunisant (figure 8).



**Figure 8** : Réponses Ac primaire et secondaire

## V- Conclusion

L'immunité humorale est assurée par les Ac, qui neutralisent les micro-organismes extracellulaires et leurs toxines et contribuent à les éliminer.

Les Ag protéiques activent les lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, qui stimulent les réponses des LB. Les LB spécifiques d'un Ag se lient à celui-ci, l'internalisent et l'apprêtent, puis

présentent les peptides liés aux molécules de classe II du CMH à des LT également spécifiques de cet Ag. Les LT helper expriment CD40-L et sécrètent des cytokines, qui agissent ensemble pour stimuler fortement la prolifération et la différenciation terminale des LB.

La commutation isotypique dépend de l'engagement CD40/CD40-L et des cytokines sécrétées.

La maturation d'affinité est le processus par lequel l'affinité des Ac pour des Ag protéiques augmente avec la durée ou la répétition de l'exposition à l'Ag.

Ce processus se déroule lorsque certains LB activés migrent dans les follicules et constituent les centres germinatifs. A cet endroit, les LB prolifèrent et leurs gènes codant les régions variables des Ig subissent d'importantes mutations somatiques.

L'Ag est présenté par les cellules dendritiques folliculaires dans les centres germinatifs. Les LB qui reconnaissent l'Ag avec une forte affinité sont sélectionnés et se différencient en plasmocytes producteurs d'Ac et en LB mémoires.

Les polysaccharides, les lipides et les autres Ag non protéiques sont qualifiés d'Ag Thymo-indépendants, car ils induisent des réponses Ac ne nécessitant pas la coopération des LT.

# LES REACTIONS D'HYPERSENSIBILITE

Dr Sawsan FEKI  
Pr Hatem MASMOUDI

## Objectifs éducationnels

---

1. Définir l'hypersensibilité et préciser la classification de Gell et Coombs des réactions d'hypersensibilité
  2. Citer les exemples en pathologie humaine des différents types de réactions d'hypersensibilité
  3. Définir l'allergie et préciser les signes cliniques correspondants
  4. Expliquer les mécanismes physiopathologiques effecteurs des réactions d'hypersensibilité impliquées dans l'allergie
  5. Citer brièvement les modalités d'exploration clinique et paraclinique devant une suspicion d'allergie
- 

## I-Définition et classification des réactions d'hypersensibilité

On appelle hypersensibilité une réponse immunitaire exagérée ou inappropriée à un antigène (Ag) donné, responsable de lésions tissulaires et qui se manifeste lors d'une deuxième exposition à cet Ag.

Gell et Coombs, en 1963, ont classé les réactions d'hypersensibilité en 4 types différents par la nature des effecteurs, le type de manifestations observées et le délai de leur apparition :

- type I : hypersensibilité immédiate (HSI)
- type II : hypersensibilité cytotoxique dépendante d'anticorps (Ac)
- type III : hypersensibilité à complexes immuns ou semi-retardée
- type IV : hypersensibilité retardée (HSR) ou à médiation cellulaire.

S'il est vrai que, l'hypersensibilité immédiate ou anaphylactique provoque dans la plupart des cas des désordres physiopathologiques dans l'organisme, il n'en est pas toujours de même pour les 3 autres types d'hypersensibilité qui sont simplement le reflet d'une certaine immunité. Ces différents types d'hypersensibilité participent, isolés ou associés, à la réponse immunitaire générale de l'organisme.

Le terme allergie a été introduit par Von Pirquet en 1906, pour désigner les réactions d'hypersensibilité retardée de type tuberculinique. Mais l'usage de ce terme a prévalu dans son sens pathologique : l'allergie est actuellement assimilée à la maladie allergique et correspond aux réactions d'hypersensibilité provoquées par des Ag habituellement bien tolérés par la majorité des individus, c'est à dire essentiellement les réactions d'hypersensibilité immédiate.

La place des maladies allergiques en pathologie humaine est de plus en plus importante. D'abord sur le plan numérique, puisque on estime à plus de 20% l'incidence de ces affections dans les pays industrialisés. Ensuite en ce qui concerne la gravité, puisque l'éventail des maladies allergiques comprend des accidents comme le choc anaphylactique susceptible de tuer en quelques minutes et des maladies comme l'asthme dont le retentissement, chez l'enfant, peut compromettre la croissance et qui, à tout âge, peut mener à l'insuffisance respiratoire.

## **II-Hypersensibilité type 1 ou hypersensibilité immédiate**

### ***1) Le choc anaphylactique expérimental***

Richet et Portier, en 1902, injectent par voie intraveineuse à un chien, en vue de l'immuniser, des substances toxiques extraites de l'anémone de mer. La première injection est bien tolérée (injection sensibilisante), l'extrait antigénique est administré à très faible dose pour justement éviter les effets toxiques. La 2<sup>ème</sup> injection, 10 à 21 jours après, déclenche un état de choc immédiat avec chute de la tension artérielle, dyspnée, vomissements et diarrhée... La mort de l'animal survient dans les 30 mn. A l'autopsie, on découvre une intense dilatation des veines notamment dans la région hépatique. Richet et Portier ont introduit le terme d'anaphylaxie (par opposition à prophylaxie) pour désigner ce type de réaction inattendue.

### ***2) Mécanisme de l'hypersensibilité immédiate (HSI)***

La première injection de l'Ag entraîne la production d'Ac spécifiques de classe IgE. Ces Ac se fixent par leurs fragments Fc aux récepteurs membranaires

de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-RI) présents en grand nombre sur les mastocytes tissulaires et sur les polynucléaires basophiles du sang circulant.

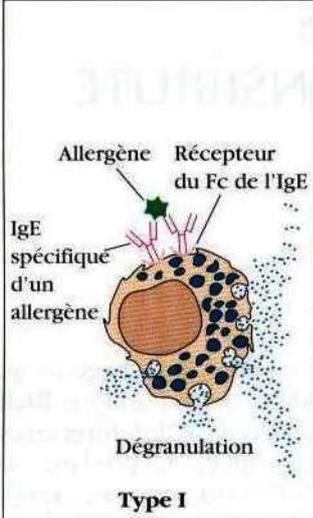
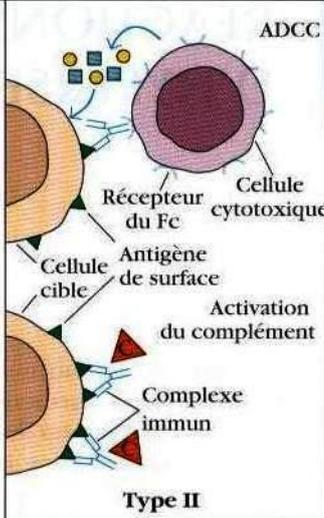
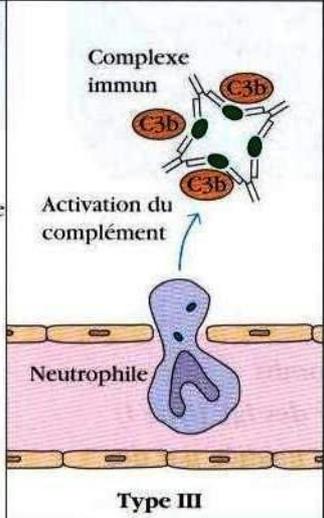
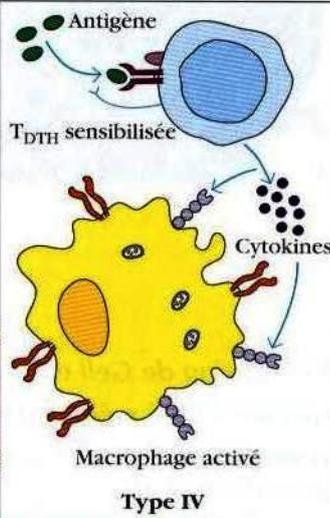
 <p><b>Type I</b></p>	 <p><b>Type II</b></p>	 <p><b>Type III</b></p>	 <p><b>Type IV</b></p>
<p>Hypersensibilité médiée par l'IgE</p>	<p>Hypersensibilité cytotoxique médiée par l'IgG</p>	<p>Hypersensibilité médiée par un complexe immunitaire</p>	<p>Hypersensibilité à médiation cellulaire</p>
<p>L'Ag induit la formation de liaisons croisées entre les IgE liées aux mastocytes ou aux basophiles avec libération de médiateurs vasoactifs</p>	<p>L'Ac dirigé contre les antigènes de surface de la cellule médie la destruction des cellules par l'activation du complément ou l'ADCC</p>	<p>Les complexes Ag-Ac déposés dans divers tissus induisent l'activation du complément, puis une réponse inflammatoire médiée par l'infiltration massive de neutrophiles</p>	<p>Les cellules T<sub>DTH</sub> sensibilisées libèrent des cytokines qui activent les macrophages ou les cellules T<sub>C</sub> qui médient une lésion cellulaire directe</p>
<p>Les manifestations typiques incluent celles de l'anaphylaxie systémique et celles de l'anaphylaxie localisée, telles que le rhume des foins, l'asthme, l'urticaire, les allergies alimentaires et l'eczéma</p>	<p>Les manifestations typiques incluent les réactions transfusionnelles, l'érythroblastose fœtale et l'anémie hémolytique auto-immune</p>	<p>Les manifestations typiques incluent la réaction d'Arthus localisée et des réactions généralisées, telles que la maladie sérique, la vascularite nécrosante, la glomérulonéphrite, la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé</p>	<p>Les manifestations typiques incluent la dermatite de contact, les lésions tuberculeuses et le rejet des greffes</p>

FIGURE 16.1 Les quatre types de réponses d'hypersensibilité.

L'Ag injecté une deuxième fois va immédiatement réagir avec le fragment Fab de ces Ac IgE adsorbés par leur fragment Fc à la surface des mastocyte et des PNB, ce qui déclenche l'activation de ces cellules.

Ainsi activés, les mastocytes et les polynucléaires basophiles (PNB) libèrent immédiatement les *médiateurs préformés* et *stockés* dans leurs granules cytoplasmiques (histamine, sérotonine, NCF-A, ECF-A...) et se mettent à en produire d'autres, *néoformés* ou néosynthétisés (médiateurs lipidiques : prostaglandines, leucotriènes, PAF ; et cytokines : IL3, IL4, IL5, TNFα...) qu'ils libèrent dans un deuxième temps.

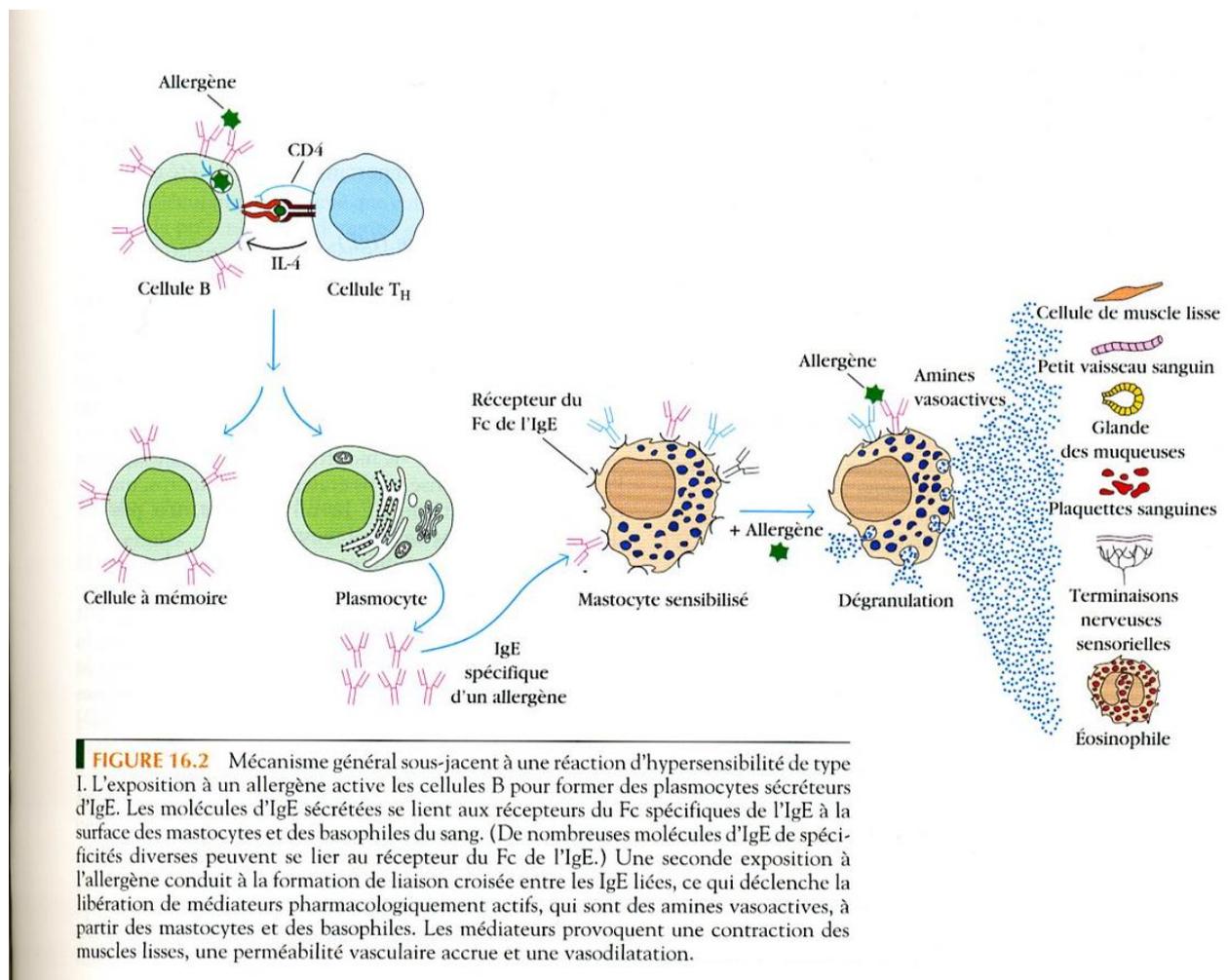
Ces médiateurs pharmacologiquement actifs sont responsables directement

et/ou par l'intermédiaire des cellules qu'ils recrutent et activent des manifestations liées à la réaction d'hypersensibilité immédiate.

### 3) *L'hypersensibilité type 1 en pathologie humaine*

Les manifestations cliniques de l'HSI peuvent prendre une forme généralisée : l'anaphylaxie, ou une forme localisée : l'atopie.

Le choc anaphylactique, expression systémique de l'HSI est heureusement rare chez l'homme. Il survient après injection de sérums xénogéniques (sérothérapie...), de certains médicaments (pénicilline et dérivés, anesthésiques, produits de contraste radiologique...) ou de venins d'insectes hyménoptères (piqûre d'abeille ou de guêpe).



Les maladies atopiques, par contre, sont très fréquentes chez l'homme. Elles surviennent après exposition naturelle à l'Ag par inhalation, par ingestion ou par contact avec la peau et présentent généralement un caractère familial

héréditaire qu'on rattache en grande partie à des particularités de la réponse IgE.

Les maladies atopiques regroupent :

- Les rhinites saisonnières ou périodiques,
- L'asthme extrinsèque,
- L'eczéma atopique ou constitutionnel encore appelé dermatite atopique, à distinguer de la dermatite de contact qui répond à un mécanisme d'HSR,
- Certains urticaires,
- L'œdème de Quincke...

Le point commun de toutes ces formes d'allergie est l'induction de la production d'Ac de classe IgE par un Ag particulier appelé allergène. Le début rapide et brutal des accidents (10 à 15 mn) est typique des réactions d'HSI quoique, dans certains cas, il peut être décalé par rapport au contact antigénique en raison d'un délai nécessaire pour l'absorption ou pour la transformation métabolique de l'allergène.

#### **4) Les allergènes**

Les Ag responsables des manifestations allergiques liées à l'HSI sont appelés allergènes. Ce sont des Ag non parasitaires qui, chez certains sujets donnent une réponse Ac de type IgE, tandis que chez la grande majorité des individus, s'ils induisent une réponse Ac spécifique, celle-ci est de classe IgM, IgG ou IgA.

Les allergènes sont en règle générale des Ag banaux de l'environnement, habituellement inoffensifs. La plupart des allergènes sont des molécules de petite taille, très solubles, portées par des particules desséchées et présentées au système immunitaire à de très faibles concentrations.

En pratique, on distingue les pneumallergènes pour lesquels le contact est respiratoire : pollens, acariens de la poussière de maison, poils de chats et de chiens, plumes, moisissures etc. ; et les trophallergènes qui sont absorbés par voie digestive : œufs, poissons, lait, crustacés, céleri, arachides, fraises, chocolat etc. Un cas particulier, celui des médicaments (pénicilline, produits anesthésiques et de contraste radiologique...) et du venin d'hyménoptères (guêpe, abeille) pour

lesquels le contact se fait par injection ou piqure.

### 5) *Les IgE*

#### a) Particularités des IgE

Comme les autres immunoglobulines (Ig), les IgE sont constituées de 2 chaînes lourdes  $\epsilon$  et de 2 chaînes légères  $\kappa$  ou  $\lambda$  reliées par des ponts disulfures et des liaisons de faible énergie. Les chaînes lourdes  $\epsilon$  comportent 5 domaines : 1 domaine VH et 4 domaines CH (un domaine CH supplémentaire par rapport aux IgG). Les IgE se distinguent des autres classes d'Ig par :

- Leur très faible concentration dans le sérum normal (100 à 200 ng/ml soit environ 100.000 fois moins que les IgG)

- Leur faible durée de vie (demi vie moyenne : 3 jours)

- Leur thermolabilité : perte de la cytophilie avec conservation de la fonction Ac après chauffage à 56°C pendant 30 mn, et surtout

- Leur capacité de se lier, par la portion terminale du fragment Fc, à des récepteurs membranaires des mastocytes et des basophiles avec une très haute affinité ( $1 \text{ à } 2 \times 10^{-9}$ ). La durée de vie des IgE ainsi adsorbés à la surface de ces cellules peut aller jusqu'à 12 semaines.

#### b) Variation du taux d'IgE sériques

Extrêmement faible chez le sujet sain, le taux sérique des IgE est nettement augmenté chez les sujets allergiques. D'ailleurs, plus le taux d'IgE sériques totales est élevé et plus on a de risque de développer une maladie allergique. Mais cela n'a rien d'absolu puisque, d'une part, le taux d'IgE sériques totales peut être parfaitement normal chez certains sujets allergiques surtout s'ils sont mono-sensibilisés ; d'autre part, on peut avoir un taux d'IgE sériques totales très élevé sans pour autant être allergique (infections parasitaires, syndrome de Buckley...). La quantité d'IgE sériques totales n'a donc qu'une valeur de présomption dans le diagnostic des maladies allergiques.

#### c) Régulation de la réponse IgE

Le niveau de production des IgE totales semble être un caractère

héréditaire. L'étude des familles atopiques a permis d'identifier une région sur le chromosome 11-q et une autre sur le chromosome 5-q qui semblent fortement impliquées dans la prédisposition à l'atopie. La première région comprend le gène qui code pour la sous-unité  $\beta$  du récepteur de forte affinité pour les IgE, tandis que la 2<sup>ème</sup> sur le chromosome 5 comprend les gènes qui codent pour l'IL3, l'IL4, l'IL5, l'IL9, l'IL 12, l'IL 13 et le GM-CSF. Ces cytokines sont importantes pour la prolifération/différenciation des lymphocytes B et la commutation isotypique vers les IgE d'une part, et pour la production des mastocytes, des polynucléaires éosinophiles (PNE) et basophiles et leur activation, d'autre part.

A côté de ce contrôle génétique de la production d'IgE, il existe une régulation de la réponse IgE par des lymphokines sécrétées par les lymphocytes T helper et agissant sur les lymphocytes B : l'IL4 et l'IL13 qui stimulent la réponse IgE est l'INF  $\gamma$  responsable de l'effet inverse.

#### **d) Rôle physiologique des IgE**

Les IgE jouent un rôle important dans l'immunité anti-parasitaire et plus particulièrement contre les helminthes en faisant intervenir les PNE, les macrophages et les plaquettes. Ces cellules cytotoxiques agissent comme des cellules K ou "killer" par cytotoxicité cellulaire Ac-dépendante (ADCC) grâce à leur récepteur membranaire de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (Fc $\epsilon$ -RII ou CD23) qui, contrairement au Fc $\epsilon$ -RI, a une large distribution cellulaire : monocytes-M $\phi$  et cellules apparentées, PNE, plaquettes, lymphocytes B activés.

#### **6) *Les mastocytes et les polynucléaires basophiles***

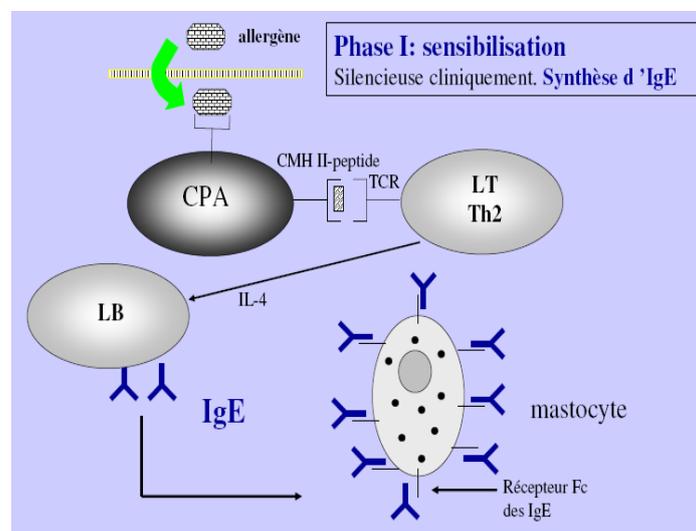
PNB et mastocytes dérivent d'un précurseur hématopoïétique commun. Comme les autres granulocytes, les PNB quittent la moelle hématopoïétique à l'état mature et gagnent le sang circulant où ils représentent 0,5 % du total des leucocytes. Tandis que les mastocytes quittent la moelle à un stade encore immature ; ils poursuivent leur différenciation (formation des granules intracytoplasmiques...) dans les tissus périphériques. Les mastocytes sont largement répandus dans le tissu conjonctif, les muqueuses intestinales et bronchiques et les

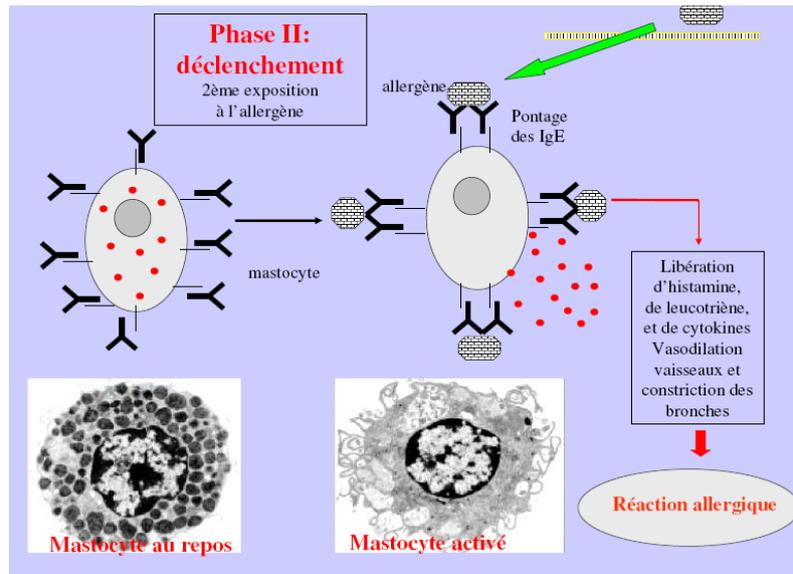
séreuses.

Les mastocytes et les PNB sont les principales cellules effectrices de l'HSI. Ces cellules portent à leur surface des récepteurs membranaires de forte affinité pour le fragment Fc des IgE et présentent dans leur cytoplasme de nombreux granules où sont stockés des médiateurs préformés notamment l'histamine qui joue le rôle principal dans les manifestations de l'HSI par son action rapide sur les vaisseaux et les fibres musculaires lisses.

La fixation de l'allergène à ses Ac IgE spécifiques adsorbés à la surface du mastocyte ou du PNB entraîne le pontage des IgE et donc celui des Fcε-RI. C'est ce pontage des récepteurs membranaires de haute affinité pour le fragment Fc des IgE qui constitue le signal d'activation du mastocyte et du PNB. Il déclenche l'activation séquentielle de plusieurs enzymes membranaires et/ou cytoplasmiques, ce qui se traduit par une cascade de réactions de phosphorylation et de méthylation avec accumulation de Ca<sup>++</sup> responsable (avec la protéine kinase C : PKC) : 1- de la fusion des granules avec la membrane plasmique (dégranulation) et 2- de l'activation de la phospholipase A<sub>2</sub> provoquant le clivage de la phosphatidylcholine (PC) en lyso-PC (précurseur du PAF) et acide arachidonique (précurseur des leucotriènes et des prostaglandines).

L'activation des PNB et des mastocytes peut être déclenchée par d'autres stimuli immunologiques ou non : C3a, C5a, IL1, Ac anti-IgE, morphine, codéine, composé 48/80 etc....





## 7) *Les médiateurs de l'HSI*

### a) Les médiateurs préformés (ou primaires)

Ce sont des agents pharmacologiquement actifs stockés dans les granules intracytoplasmiques des mastocytes et des PNB qui agissent sur les tissus locaux et sur les cellules effectrices. Il s'agit principalement de l'histamine, l'héparine et d'autres protéoglycanes liés à des protéases. Les enzymes (tryptase, chymase, cathepsine G, carboxypeptidase...) sont les composants les plus abondants des granules des mastocytes et des basophiles. Les granules des mastocytes contiennent, en plus, de la sérotonine, du TNF $\alpha$  et des facteurs chimiotactiques des polynucléaires éosinophiles (ECF-A : "*eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis*") et neutrophiles (NCF-A).

L'histamine dérive directement de l'histidine par action de l'histidine-décarboxylase en présence de vitamine B6 (phosphate pyridoxal). Son petit poids moléculaire lui permet, une fois libérée, de diffuser très rapidement dans les tissus où elle induit une contraction des fibres musculaires lisses (vaisseaux, bronches et intestin). Son action brutale et brève se traduit au niveau des vaisseaux par une constriction au niveau des veinules postcapillaires avec vasodilatation en amont et augmentation de la perméabilité capillaire (œdème) et, au niveau des bronches, par

une bronchoconstriction avec hypersécrétion de mucus par les cellules caliciformes.

Ces effets de l'histamine résultent essentiellement de son interaction avec ses récepteurs membranaires de type H1. La liaison avec les récepteurs de type H2 se traduit par une vasodilatation et la stimulation des glandes exocrines ; tandis qu'au niveau des mastocytes et des PNB, elle inhibe la dégranulation et donc l'histamino-libération (rétrocontrôle négatif).

Les protéases libérées lors de la dégranulation endommagent les tissus en détruisant les protéines de la matrice.

Les facteurs chimiotactiques ECFA-A et NCF-A attirent et recrutent un grand nombre de polynucléaires éosinophiles et neutrophiles.

**b) Les médiateurs néoformés (ou secondaires)**

Ce sont des médiateurs synthétisés “de novo” au sein de la membrane plasmique à partir de la phosphatidylcholine (PC) qui est convertie en acide arachidonique par la phospholipase A<sub>2</sub>. L'acide arachidonique est métabolisé selon deux voies :

- La voie de la cyclo-oxygénase qui donne naissance aux prostaglandines (PG)
- La voie de la lipo-oxygénase qui donne naissance aux leucotriènes (LT).

La conversion de la PC en acide arachidonique par la phospholipase A<sub>2</sub> s'accompagne de la libération de lyso-PC qui, après action d'une acétyl-transférase, donne naissance au PAF (“*Platelet Agregating Factor*”). La synthèse de ces médiateurs néoformés débute avec l'activation du mastocyte ou du basophile, mais leur libération se fait avec un certain retard par rapport à l'histamine.

Comme l'histamine, les PG D2 et E2, les LT C4 et D4 induisent une vasodilatation avec augmentation de la perméabilité capillaire et une bronchoconstriction avec hypersécrétion de mucus. Ces médiateurs lipidiques viennent prendre le relai de l'histamine ; leur action prolongée est bien plus intense que celle de l'histamine, qui elle est plus rapide mais beaucoup plus brève aussi.

Le PAF est un médiateur rapide à demi-vie très courte et doué de nombreux

effets en plus de l'agrégation et de l'activation plaquettaire (libération des médiateurs et des enzymes lysosomiaux stockés respectivement dans les corps denses et les granules  $\alpha$  de ces cellules) :

- Vasoconstriction avec augmentation de la perméabilité capillaire
- Bronchoconstriction avec hyper-réactivité bronchique
- Chimiotactisme et activation des PNN et surtout des PNE avec libération d'enzymes protéolytiques, de protéines toxiques, de cytokines et de médiateurs lipidiques.

### c) Les cytokines

Les mastocytes activés sécrètent une grande variété de cytokines qui contribuent à la modification du microenvironnement local et à l'amplification et l'entretien des réponses inflammatoires.

Ainsi, le TNF $\alpha$  (dont une partie provient de la dégranulation des mastocytes) induit une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales ce qui se traduit par un afflux massif de leucocytes. Des concentrations élevées de TNF $\alpha$  libéré par les mastocytes pourraient contribuer au choc anaphylactique comme dans le choc septique.

La chimiokine CCL3 recrute plus particulièrement les PNN et les monocytes.

L'IL4 et l'IL13 stimulent la réponse Th2 caractéristique des réactions d'HSI.

L'IL3 et le GM-CSF stimulent la myélopoïèse ; l'IL3 accroît la production de mastocytes, l'IL4 celle des basophiles, tandis que l'IL5 favorise la lignée éosinophile.

### 8) *Autres cellules intervenant dans l'HSI*

Il est maintenant évident que si les mastocytes sont avec les PNB les principales cellules effectrices des réactions d'HSI, elles ne sont certainement pas les seules. D'autres cellules interviennent, en particulier les PNE, les macrophages (M $\phi$ ) et les plaquettes.

En effet, ces cellules qui portent à leur surface un récepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (Fc $\epsilon$ -RII ou CD23) sont capables, une fois activées, de

libérer leurs enzymes lysosomiales, des cytokines (IL1, IL6, IL8, GM-CSF, TNF $\alpha$ , des médiateurs néosynthétisés (LT, PG et PAF) et, dans le cas des plaquettes, des médiateurs préformés (histamine, sérotonine et héparine).

Les PNE activés expriment aussi le récepteur de forte affinité Fc $\epsilon$ -RI. Leur présence continue et en grand nombre au site de la réaction inflammatoire allergique, la grande variété d'enzymes (collagénase, métalloprotéase...), de protéines toxiques (protéine basique majeure, protéine cationique des éosinophiles..) et de cytokines (IL3, IL5, IL8, TGF $\beta$ ) qu'ils libèrent et leurs puissants effets sur l'infiltrat cellulaire et les tissus environnants, font des PNE un acteur cellulaire essentiel des réactions d'HSI.

Les 3 types de cellules (PNE, PNN et M $\phi$ ) produisent en plus du PAF, la PGE2 responsable d'une vasodilatation avec augmentation de la perméabilité capillaire.

Le thromboxane A2 (TXA2), une prostaglandine produite par les M $\phi$  et les plaquettes, induit une bronchoconstriction et une agrégation plaquettaire.

Le macrophage produit aussi du LTC4 et surtout du LTB4 qui est un puissant facteur chimiotactique des PNN.

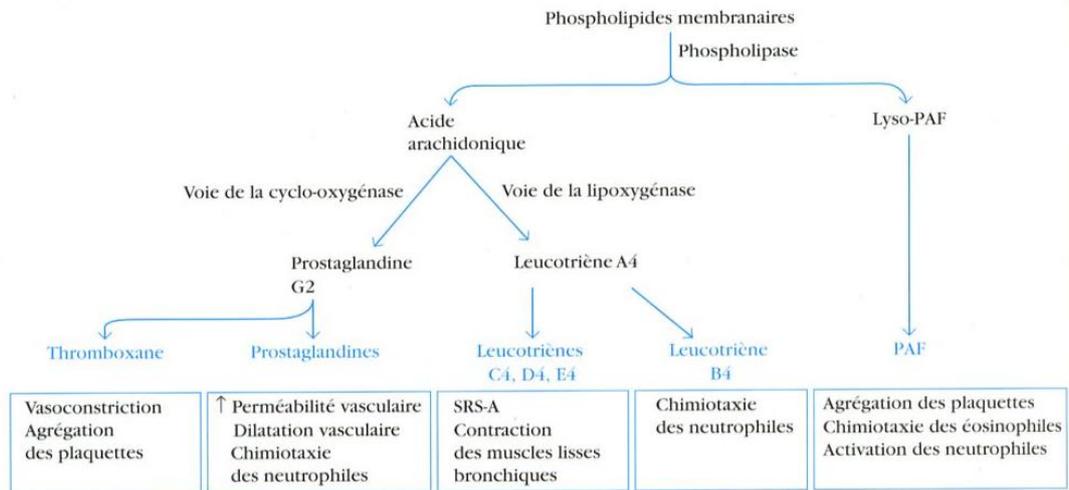
Il est intéressant de noter que les cellules épithéliales bronchiques peuvent produire du LTB4 et les cellules endothéliales de la prostacycline (PGX). En fait, le rôle de tous ces médiateurs préformés et néoformés dépasse largement le champ des réactions d'HSI. Ils constituent, avec les quinines (bradykinine, kallidine...), les anaphylatoxines (C5a et C3a) et certaines cytokines (TNF $\alpha$ , IL1 et IL6), les principaux médiateurs de l'inflammation aiguë.

### ***9) Déroulement des manifestations cliniques au cours des réactions d'HSI***

Les médiateurs préformés et néoformés sont, avec les cytokines et chimiokines, directement et/ou par l'intermédiaire des cellules qu'ils ont recrutées, responsables des manifestations cliniques de l'HSI. Celles-ci évoluent en 2 phases : une phase immédiate et une phase tardive.

La phase immédiate, classique, débute très rapidement et culmine 15 à 20 minutes après le contact avec l'allergène. Cette phase immédiate, vite réversible,

résulte de l'association de phénomènes de vasodilatation, d'œdème et de contraction des fibres musculaires lisses dus principalement à l'histamine relayée par le PAF, la PGD<sub>2</sub> et le LTC<sub>4</sub>.



**FIGURE 15.11** Le clivage des phospholipides membranaires génère d'importants médiateurs de l'inflammation, y compris le thromboxane, les prostaglandines, les leucotriènes et le facteur d'activation des plaquettes (PAF, de *platelet-activating factor*).

La phase tardive commence 6 à 12 heures après le contact antigénique et dure plusieurs heures. C'est une phase inflammatoire caractérisée par la présence de différents types de cellules : PNE, PNN, M $\phi$ , lymphocytes T ...

Ainsi, dans le cas de l'asthme, la phase immédiate marquée par une crise aiguë de dyspnée par broncho-constriction réversible au salbutamol est, dans la moitié des cas, suivie 6 à 12 heures après par une rechute de la dyspnée due pas tellement à la bronchoconstriction mais plutôt à un encombrement bronchique inflammatoire (salbutamol inefficace). Avec la répétition des crises, l'œdème, l'hyper-sécrétion de mucus et le remodelage tissulaire (hypertrophie et hyperplasie des fibres musculaires lisses des bronches) s'accroissent de plus en plus, la réaction s'oriente progressivement vers celle d'une hypersensibilité retardée (à médiation cellulaire) et l'épaississement et le rétrécissement des voies aériennes deviennent permanents.

### III-Hypersensibilité type II ou hypersensibilité cytotoxique dépendante d'anticorps

## 1) Mécanisme

Dans cette forme d'hypersensibilité, les Ac dirigés contre des Ag de membrane cellulaire interagissent par l'intermédiaire de leur fragment Fc avec le complément, avec des cellules "killer" ou avec des cellules phagocytaires pour tuer les cellules cibles et détruire les tissus environnants.

En liant le C1q, les Ac de classe IgG et IgM fixés sur la cellule cible activent le facteur C1 du complément (C1q-C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub>) ce qui enclenche la voie classique d'activation du système complémentaire. L'activation du complément aboutit, d'une part, à la formation du complexe lytique C5b-9 ou MAC capable de tuer la cellule cible en s'attaquant à sa membrane plasmique, d'autre part, au dépôt de molécules C3b, provenant du clivage de C3, sur la membrane de la cellule cible. Ces molécules C3b jouent le rôle d'opsonines pour les cellules phagocytaires (polynucléaires neutrophiles et monocytes-macrophages) qui, grâce à leur récepteur membranaire pour le C3b (C3b-R = CR1 = CD35) vont phagocyter et tuer les cellules cibles.

Les Ac fixés à la cellule cible peuvent entraîner sa destruction sans faire appel au complément et ce, soit par phagocytose : les Ac fixés à la surface des cellules cibles jouent le rôle d'opsonines pour les cellules phagocytaires qui, grâce à leurs récepteurs pour le fragment Fc des Ig (Fc-R), peuvent phagocyter et tuer les cellules cibles, soit par un mécanisme de cytotoxicité cellulaire Ac-dépendante ou "ADCC" faisant intervenir une cellule "Killer". Les cellules K sont définies fonctionnellement comme des cellules cytotoxiques possédant un Fc-R de type Fcγ-R (I, II ou III) ou Fcε-RII. L'activité "Killer" peut être exercée par différents types de cellules : monocytes, macrophages, PNN, PNE, lymphocytes T cytotoxiques, cellules NK ("*Natural Killer*") et plaquettes. La cellule K se fixe grâce à son Fc-R aux Ac déjà fixés à la cellule cible et tue celle-ci sans la phagocyter.

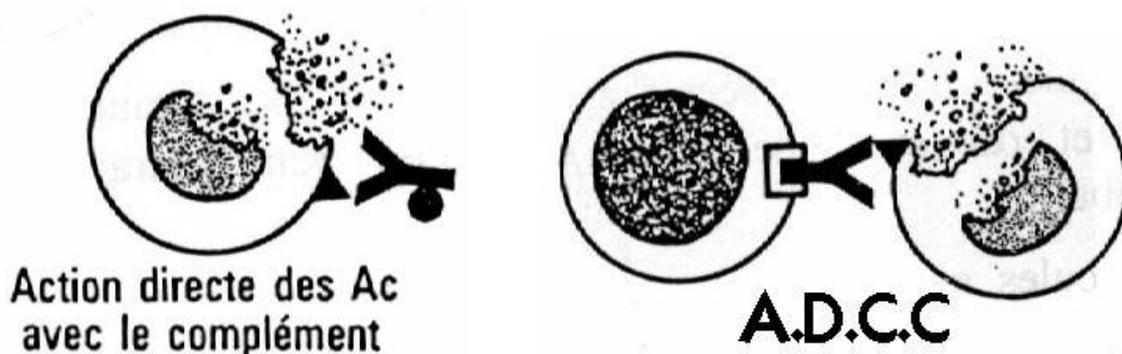
**La cytotoxicité cellulaire** peut se faire par l'un ou l'autre de deux mécanismes non mutuellement exclusifs :

- Exocytose granulaire : la cellule cytotoxique envoie en direction de la

cellule cible le contenu lytique de ses granulations intracytoplasmiques (perforine, granzymes, lysosyme, radicaux oxygénés toxiques...).

De nombreux canaux transmembranaires se creusent au niveau de la membrane plasmique de la cellule cible ; ce qui aboutit rapidement à la lyse osmotique de celle-ci. Ce mécanisme de lyse directe se traduit par une mort cellulaire par nécrose.

- Apoptose : à la faveur du contact entre les 2 cellules, un médiateur libéré par la cellule cytotoxique (TNF $\alpha$ , Fas-Ligand...) se lie à son récepteur spécifique à la surface de la cellule cible (TNF $\alpha$ -R, Fas...). Cette interaction s'accompagne de la transduction d'un message de mort cellulaire à la cellule cible qui se trouve ainsi engagée dans une cascade d'évènements et de réactions biochimiques conduisant à sa propre mort. Il s'agit donc d'une lyse indirecte où la cellule cytotoxique ne fait que donner le signal de mort qui est exécuté par la cellule cible elle-même. Contrairement à la mort par nécrose caractérisée par une augmentation de volume de la cellule cible, la mort par apoptose est caractérisée par une condensation de la cellule cible et une fragmentation de son ADN.



## 2) *Hypersensibilité de type II en pathologie humaine*

En pathologie humaine, les réactions d'HS de type II sont mises en jeu notamment dans les réactions transfusionnelles (allo-immunisation post-transfusionnelle), la maladie hémolytique du nouveau-né (allo-immunisation foëto-maternelle), les anémies hémolytiques auto-immunes et le rejet suraigu de greffe.

## IV- **Hypersensibilité type III ou à complexes immuns (ou semi-retardée)**

### 1) *Le phénomène d'Arthus*

En 1903, Arthus décrit, chez le lapin, les effets observés à la suite d'injections de sérum de cheval au même point, tous les 6 jours. Il rapporte qu'à partir de la 4<sup>ème</sup> injection apparaissent au bout d'environ 8 heures (d'où le nom ancien d'hypersensibilité semi-retardée) des signes inflammatoires, d'abord résolutifs, puis d'intensité croissante lors des injections ultérieures aboutissant finalement à une nécrose localisée.

L'analyse histologique permet de reconnaître des altérations bien différentes de l'œdème et de la vasodilatation caractéristique de l'HSI. Les lésions consistent en thromboses, dégénérescence des parois vasculaires et infiltration cellulaire au voisinage des capillaires, infiltration où prédominent les polynucléaires.

### ***2) Mécanisme de l'hypersensibilité type III***

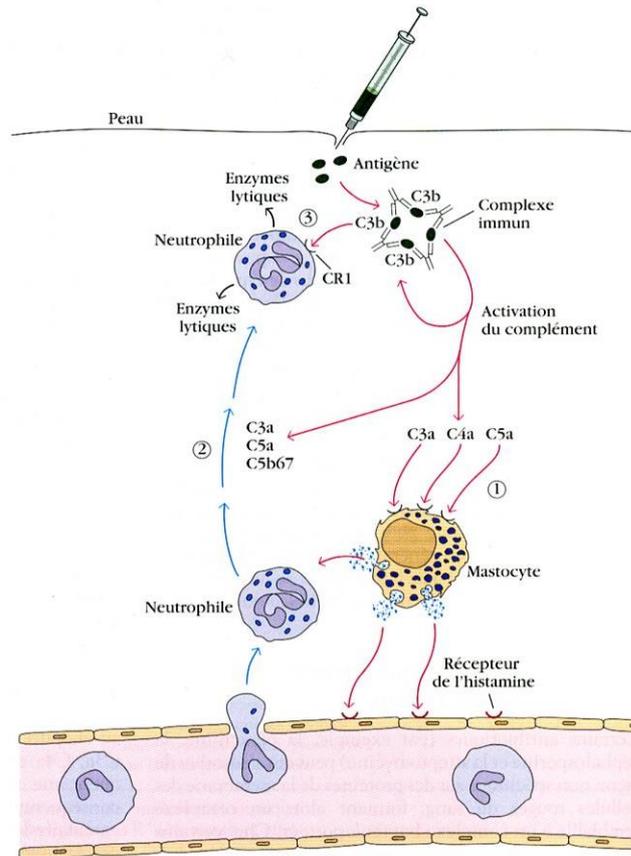
Le déroulement des faits est maintenant bien établi. Les injections préalables induisent la formation de grandes quantités d'Ac précipitants de classe IgG et IgM.

L'injection de l'Ag au voisinage des vaisseaux provoque une pénétration intravasculaire de ce dernier. Dans ces conditions qui réalisent un excès d'Ac, il se forme de gros complexes peu solubles qui vont rester sur place et fixer le C1q ce qui enclenche l'activation du complément par la voie classique.

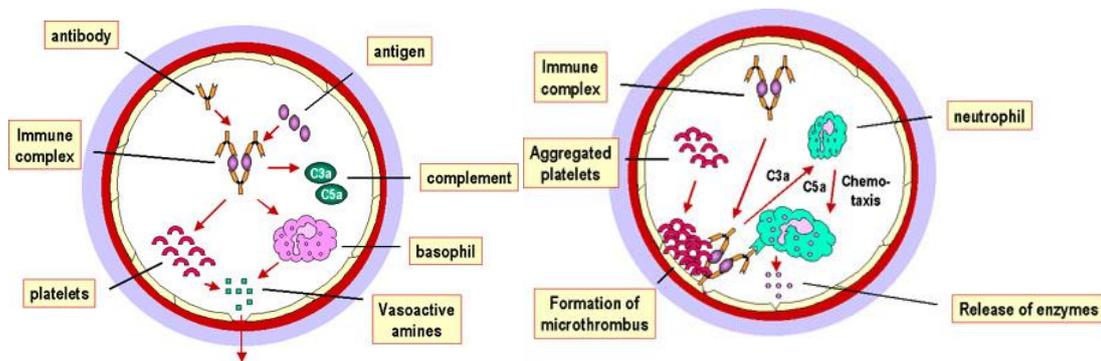
L'activation du complément aboutit à la libération des anaphylatoxines C3a et C5a qui d'une part, induisent la dégranulation des PNB et des mastocytes avec pour principale conséquence une augmentation de la perméabilité capillaire, d'autre part, entraînent la margination et la diapédèse des polynucléaires (effet chimiotactique) et leur activation. Cet afflux des polynucléaires s'accompagne de la libération par ces cellules de leurs enzymes lysosomiales au niveau des tissus qui se trouvent ainsi fortement endommagés. Il faut noter que, lorsqu'elles sont libérées au niveau du liquide interstitiel, ces enzymes lysosomiales sont rapidement neutralisées par leurs inhibiteurs sériques ( $\alpha$ 1 anti-trypsine,  $\alpha$ 2 macroglobuline...).

Les complexes immuns peuvent aussi se fixer sur les Fc $\gamma$ -R des plaquettes et des mastocytes provoquant l'agrégation des plaquettes avec formation de micro-

caillots et la libération d'histamine qui contribue encore à l'augmentation de la perméabilité capillaire.



**FIGURE 16.15** Développement d'une réaction d'Arthus localisée (réaction d'hypersensibilité de type III). L'activation du complément initiée par les complexes immuns (voie classique) produit des intermédiaires du complément qui (1) médient la dégranulation des mastocytes, (2) attirent par chimiotaxie les neutrophiles et (3) stimulent la libération d'enzymes lytiques des neutrophiles, qui tentent de phagocyter les complexes immuns recouverts de C3b.

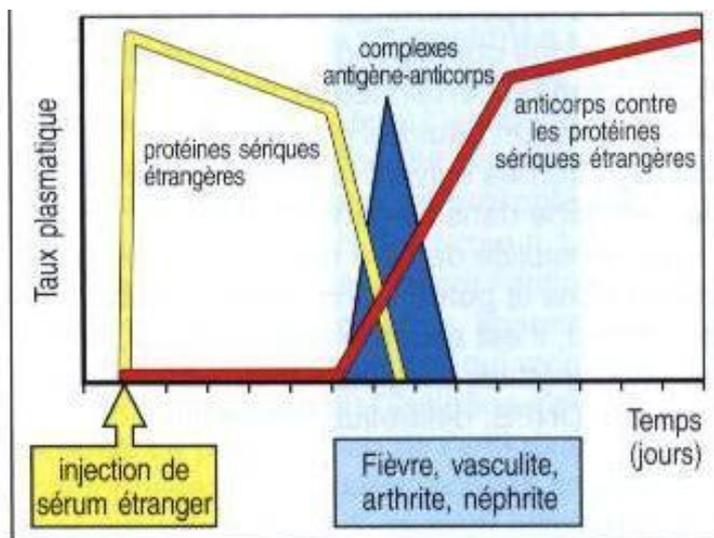


### 3) La maladie sérique expérimentale

Après injection à un lapin d'une forte dose de sérum ou de protéines xénogéniques, les Ag étrangers sont retrouvés sous forme libre dans le sérum du lapin pendant 5 jours. Ensuite, les Ac dirigés contre ces xénoAg apparaissent et forment avec eux des complexes immuns qui vont avoir tendance à se déposer au niveau de la paroi des vaisseaux de certains organes en particulier les reins, les

articulations, le cœur et la peau. La formation et le dépôt de ces complexes immuns coïncide avec l'apparition entre le 7<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour des manifestations cliniques caractéristiques de la maladie sérique aiguë (ou maladie du 9<sup>ème</sup> jour) : fièvre, éruption érythémato-papuleuse ou urticaire, arthralgies, glomérulonéphrite avec albuminurie, coronarite. Lorsque le taux d'Ac augmente, les complexes immuns sont éliminés et la maladie évolue vers la guérison complète en 2 à 3 semaines. La maladie peut devenir chronique si l'Ag est administré quotidiennement à faible dose.

Contrairement au phénomène d'Arthus (réaction localisée, complexes immuns en excès d'Ac), la maladie sérique est une réaction généralisée en rapport avec des complexes immuns en excès d'Ag.



**Fig. 13.27** La maladie sérique est un exemple classique de syndrome transitoire lié aux complexes immuns. L'injection d'une ou plusieurs protéines étrangères entraîne la production d'anticorps, qui forment des complexes immuns avec ces protéines circulantes. Les complexes se déposent dans de petits vaisseaux et activent le complément et des phagocytes, ce qui induit de la fièvre et des symptômes de vasculite et d'arthrite. Tous ces effets sont transitoires et disparaissent avec l'élimination de la protéine étrangère.

#### **4) Hypersensibilité type III en pathologie humaine**

La maladie sérique due chez l'homme à l'utilisation en thérapeutique de sérums d'origine animale est de plus en plus rare depuis la généralisation de la vaccination, l'introduction de l'antibiothérapie et l'utilisation de sérums d'origine humaine quand la sérothérapie est nécessaire (ex : sérum antitétanique).

Le phénomène d'Arthus a son équivalent en pathologie humaine respiratoire. Il s'agit des pneumopathies à précipitines ou alvéolites allergiques extrinsèques :

- Maladie du poumon de fermier due à l'inhalation des spores d'un actino-mycète (*Thermopolyspora*) présent dans le foin humide et moisi,

- Maladie des éleveurs d'oiseaux (pigeons, perruche...).

La maladie d'Hinson Pepys est une aspergillose broncho-pulmonaire s'accompagnant de dyspnée asthmatiforme et d'infiltrats éosinophiles pulmonaires et où coexistent des Ac précipitants de type IgG et IgM et des Ac de type IgE. Elle se situe aux frontières de l'HSI et l'HS à complexes immuns.

## **V- Hypersensibilité type IV ou Hypersensibilité retardée (HSR)**

### **Hypersensibilité ou à médiation cellulaire**

#### ***1) Définition***

Les réactions d'hypersensibilité type IV sont des réactions d'HS retardée (nécessitant plus de 12 heures pour se développer) et à médiation cellulaire (transférables par les lymphocytes, T en l'occurrence, et non par le sérum).

Trois principaux types ont été décrits :

- L'HS de contact
- L'HS tuberculique
- L'HS granulomateuse

Cette classification est compliquée par le fait que ces différents types de réactions peuvent se superposer en partie, ou se succéder à la suite d'une seule stimulation antigénique.

Seule l'HS de contact ou dermite de contact (à distinguer de la dermatite atopique ou eczéma constitutionnel) est retenue dans le cadre général des maladies allergiques.

#### ***2) Hypersensibilité de contact ou dermite de contact***

Cette forme d'HS est caractérisée par un eczéma qui apparaît au site de contact avec l'Ag et atteint son maximum 48 heures après ce contact.

Les Ag responsables sont des pro-Ag (abusivement appelés haptènes par certains auteurs) c-à-d de petites molécules (PM < 1000 daltons) non immunogènes par elles même mais capables d'induire une réponse immunitaire spécifique après fixation à des protéines ou des cellules de la peau.

La sensibilisation peut résulter du contact de la peau avec une plante, un

produit cosmétique ou un produit chimique (nickel, acrylique, chrome...).

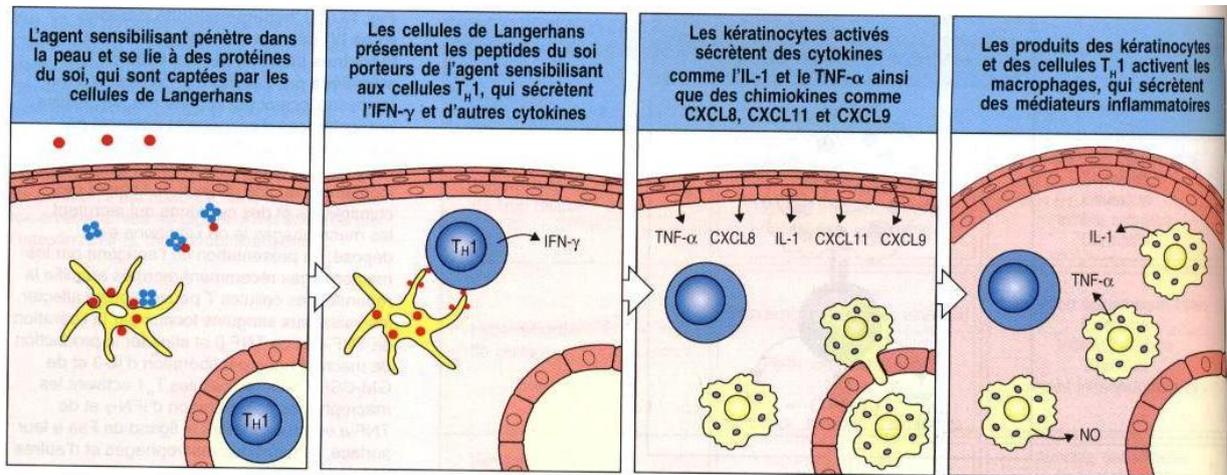
Après que le passage ait été facilité par des blessures superficielles et/ou la nature chimique de la molécule, la cellule de Langerhans de l'épiderme (cellule dendritique d'origine médullaire caractérisée par les granules de Birbeck) va capter cet Ag, l'apprêter et le présenter en association avec une molécule HLA classe II aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup> au niveau de la peau et/ou du ganglion lymphatique. De façon concomitante à cette présentation de l'Ag, la cellule de Langerhans et le kératinocyte vont sécréter l'IL1. Il s'en suit une activation (production d'IL2 et augmentation du nombre de récepteurs membranaires à l'IL2 = IL2-R) avec induction de la prolifération et de l'expansion clonale des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> spécifiques du pro-Ag couplé à la protéine porteuse. Ces lymphocytes sensibilisés gagnent la circulation sanguine et lymphatique. L'induction de cette sensibilité prend 4 à 6 jours et peut durer plusieurs mois voire plusieurs années.

Lors d'un deuxième contact avec le même pro-Ag, ces lymphocytes sensibilisés sont rapidement activés par la reconnaissance au niveau de l'épiderme, du proAg couplé à la protéine porteuse. Ainsi activées ces cellules T CD4<sup>+</sup> vont sécréter un certain nombre de lymphokines responsables, d'une part, de leur prolifération ainsi que de celle des lymphocytes T cytotoxiques CD8<sup>+</sup> spécifiques du pro-Ag (IL2), d'autre part, du recrutement (MIF ou "Migratory Inhibiting Factor", IL8) et de l'activation (INF $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF) des macrophages. L'INF $\gamma$  et le TNF $\alpha$  activent aussi les cellules endothéliales et les kératinocytes, stimulent l'expression des molécules d'adhésion et augmentent la perméabilité capillaire ce qui permet au plasma et aux leucocytes de pénétrer dans le site de la réaction contribuant ainsi au gonflement cutané et à l'induration.

Contrairement à l'hypersensibilité de type III où l'infiltrat cellulaire est essentiellement composé de polynucléaires, ici l'infiltrat est fait surtout de cellules mononucléées (lymphocytes T et monocytes) où prédominent les macrophages provenant des monocytes du sang circulant.

Ce sont ces macrophages activés qui sont en grande partie responsables

des lésions observées. Les lymphocytes T cytotoxiques contribuent à ces lésions inflammatoires marquées par une éruption érythémateuse avec formation de bulles ou de vésicules.

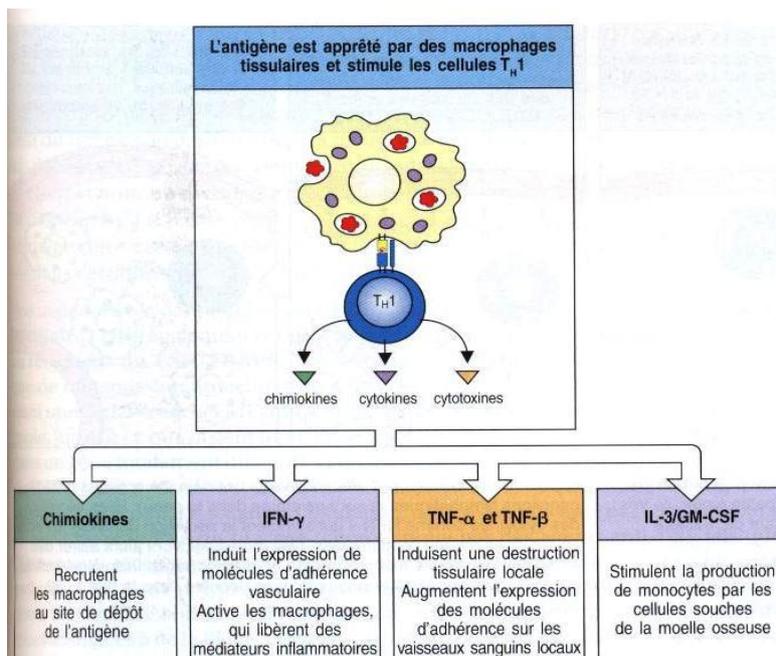


**Fig. 13.31 Induction d'une réaction d'hypersensibilité de contact par un agent sensibilisant.** L'agent sensibilisant est une petite molécule très réactive qui pénètre facilement dans la peau. En se fixant de manière covalente à de nombreuses protéines endogènes, elle se comporte comme un haptène. Les conjugués sont captés et apprêtés par les cellules de Langerhans, qui sont les principales cellules présentatrices d'antigène dans la peau. Ces cellules présentent les peptides portant les

haptènes aux cellules  $T_H1$  effectrices (qui ont déjà été activées dans les ganglions lymphatiques et sont revenues dans la peau). Elles sécrètent des cytokines comme l'IFN- $\gamma$  qui stimulent la sécrétion de cytokines et de chimiokines par les kératinocytes. Ces molécules vont alors attirer des monocytes et induire leur maturation en macrophages tissulaires activés, responsables des lésions inflammatoires décrites dans la Fig. 13.32. NO, oxyde nitrique.

### 3) Hypersensibilité tuberculique

L'HS tuberculique peut être induite par l'infection tuberculeuse ou la vaccination par le BCG (bacille de Calmette et Guérin). La réaction cutanée peut être provoquée par le BCG (BCG-test) ou par la tuberculine (IDR à la tuberculine).



**Fig. 13.30 L'hypersensibilité retardée (type IV) dépend des chimiokines et cytokines libérées par les cellules  $T_H1$  stimulées par l'antigène.** L'antigène dans les tissus locaux est apprêté par les cellules présentatrices d'antigène et présenté par les molécules du CMH de classe II. Les cellules  $T_H1$ , qui reconnaissent l'antigène localement au site d'injection, libèrent des chimiokines et des cytokines qui recrutent les macrophages là où l'antigène s'est déposé. La présentation de l'antigène par les macrophages récemment recrutés amplifie la réponse. Les cellules T peuvent aussi affecter les vaisseaux sanguins locaux par la libération de TNF- $\alpha$  et de TNF- $\beta$  et stimuler la production de macrophages par libération d'IL-3 et de GM-CSF. Enfin, les cellules  $T_H1$  activent les macrophages par libération d'IFN- $\gamma$  et de TNF- $\alpha$  et, en exprimant le ligand de Fas à leur surface, ils tuent des macrophages et d'autres cellules sensibles.

De nombreuses bactéries autres que *mycobacterium tuberculosis* induisent

une HSR de type tuberculinique en particulier le bacille de Hansen ou *Mycobacterium lepreae*, *Salmonella typhi*, *Brucella abortus*. Il en est de même pour la plupart des infections virales (variole, rougeole, oreillons, herpès...) et mycosiques (candidoses, aspergilloses, cryptococcoses) ainsi que pour certaines infections à protozoaires notamment la toxoplasmose et la leishmaniose. A la différence de l'HS de contact, ici l'Ag est immunogène par lui-même, la réaction a lieu au niveau du derme, elle est maximale au bout de 48 à 72 heures marquée par une éruption érythémateuse avec induration de la peau et disparaît habituellement en quelques jours.

#### **4) Hypersensibilité granulomateuse**

Lorsque l'Ag introduit dans la peau ou dans un autre tissu ne peut pas être éliminé et persiste à l'intérieur des macrophages, la réaction d'HS de type tuberculinique évolue en quelques semaines en une réaction d'HS granulomateuse avec formation d'un granulome inflammatoire composé, en plus des macrophages, de cellules épithéloïdes et de cellules géantes accompagnées de lymphocytes et de polynucléaires et entourées d'une fibrose importante due à la prolifération de fibroblastes avec synthèse accrue de collagène. Les cellules épithéloïdes et les cellules géantes correspondraient à une étape terminale de la différenciation des cellules de la lignée monocytaire.

L'HS granulomateuse peut se rencontrer au cours de la tuberculose, de la lèpre (test de Mitsuda), de la sarcoïdose et de la maladie de Crohn. Elle peut aussi être induite par des substances non antigéniques comme le talc, l'amiante ou la silice (le macrophage ne pouvant pas digérer ces substances inorganiques).

# LA TOLERANCE IMMUNITAIRE

*Pr Hatem MASMOUDI*

## **Objectifs éducationnels**

---

1. Définir la tolérance immunitaire
  2. Décrire les mécanismes de la tolérance centrale T et B
  3. Expliquer les mécanismes de la tolérance périphérique T et B
  4. Citer les conséquences de la rupture de la tolérance immunitaire
- 

## **I) Introduction, définition et historique :**

L'une des caractéristiques les plus remarquables du système immunitaire normal est sa capacité de répondre et de s'attaquer à une variété considérable d'antigènes (Ag) étrangers (microbiens, tumoraux, greffes) tout en préservant les propres Ag de l'individu. Cette absence de réponse aux Ag du soi est désignée tolérance immunitaire.

La tolérance immunitaire est définie comme un état de non-réponse, spécifique et durable du système immunitaire à un Ag, induit par un premier contact avec cet Ag.

La tolérance est bien un phénomène acquis et non inné, un apprentissage continu tout au long de la vie.

La tolérance centrale est l'ensemble des mécanismes qui interviennent dans la sélection du répertoire des lymphocytes B et T au niveau des organes lymphoïdes centraux (moelle osseuse et thymus)

La distinction entre le soi et le non soi et les mécanismes de mise en place de la tolérance au soi représentent une question fondamentale en Immunologie avec des applications directes en Immunopathologie notamment dans les stratégies de greffes d'organes et le traitement des maladies auto-immunes et allergiques.

## **II) Mécanismes de la tolérance immunitaire**

La redondance est une caractéristique constante et essentielle du fonctionnement du système immunitaire, plusieurs mécanismes concourent ainsi à

la mise en place de la tolérance au soi. La tolérance immunitaire à différents Ag du soi peut être induite lorsque les lymphocytes immatures rencontrent ces Ag au cours de leur développement dans les organes lymphoïdes primaires (tolérance centrale) ou lorsque les lymphocytes matures rencontrent les Ag du soi dans les tissus périphériques (tolérance périphérique).

### ***1) Tolérance centrale des lymphocytes T***

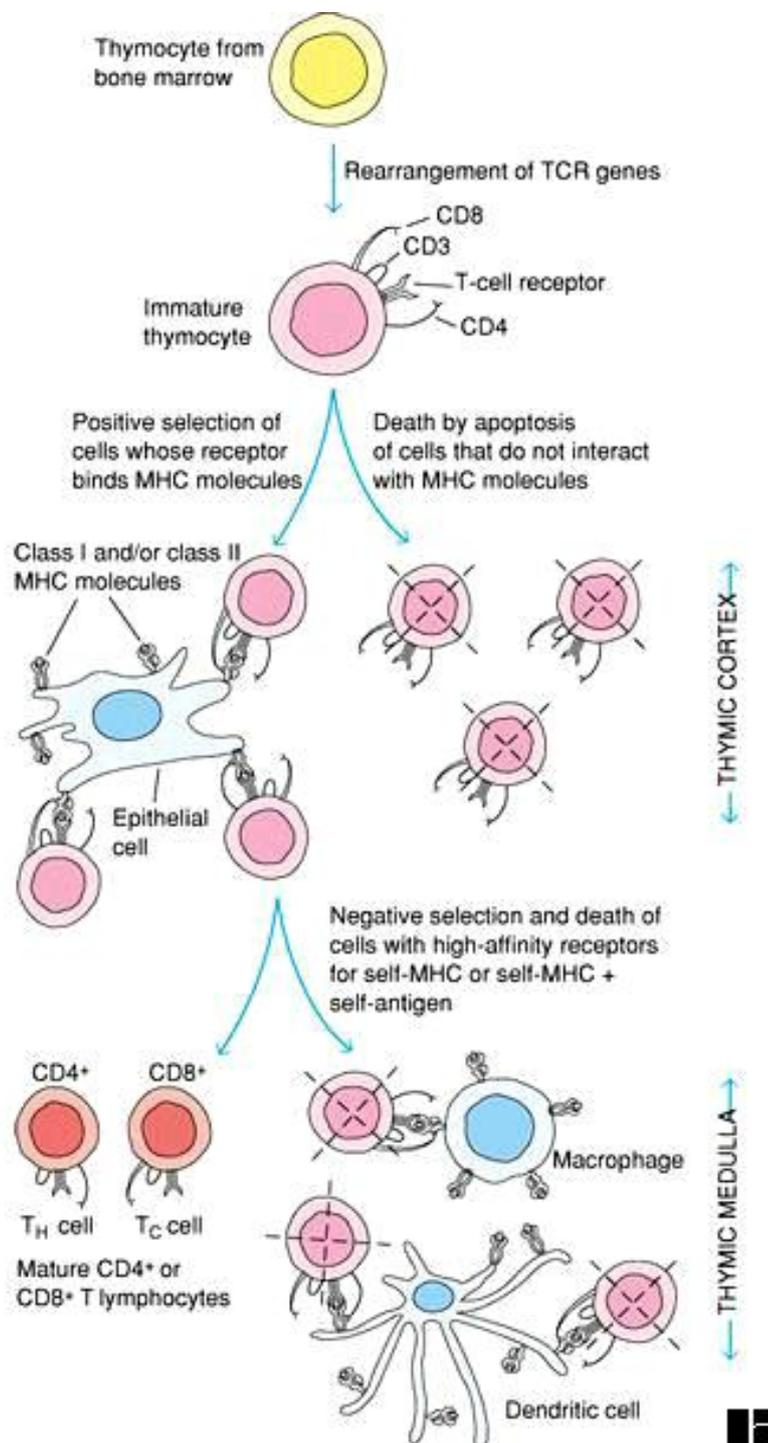
Les lymphocytes T (LT) sont produits dans le thymus à partir de cellules souches lymphoïdes provenant de la moelle osseuse. Les thymocytes ayant réussi le réarrangement des gènes du TCR et qui parviennent ainsi à exprimer à leur surface un TCR fonctionnel, subissent dans le thymus 2 mécanismes successifs de sélection du répertoire T :

- la sélection positive qui, parmi tous les thymocytes produits, ne va retenir que ceux dont le TCR interagit d'une façon ou d'une autre avec l'une ou l'autre des diverses molécules HLA classe I et/ou classe II exprimées à la surface des cellules épithéliales thymiques permettant ainsi d'adapter le répertoire de TCR de chaque individu à son propre haplotype HLA et la mise en place de la restriction allogénique ;
- la sélection négative qui, parmi les thymocytes ou lymphocytes T immatures retenus par la sélection positive, va éliminer tous ceux dont le TCR interagit avec une forte affinité avec les Ag du soi et/ou les molécules HLA (classe I ou classe II) qui les présentent à la surface des macrophages et cellules interdigitées du stroma thymique, ainsi lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et T CD8<sup>+</sup> auto-réactifs (vis-à-vis d'auto-Ag exprimés dans le thymus) meurent par apoptose, c'est la délétion clonale qui constitue le principal mécanisme de tolérance centrale des LT (*Figure1*).

Les Ag qui induisent une sélection négative tendent à être présents dans le thymus à des concentrations plus élevées que ceux qui induisent une sélection positive.

Ces Ag correspondent à des protéines abondantes dans l'organisme (par exemple des protéines plasmatiques et des protéines cellulaires courantes).

Un grand nombre de protéines du soi qui semblaient être exprimées principalement, voire exclusivement, dans les tissus périphériques sont en fait exprimées aussi dans le thymus. Les lymphocytes T en cours de développement



*Figure 1 – La sélection des lymphocytes T dans le thymus*

qui rencontrent ces protéines dans le thymus y sont éliminés, empêchant ainsi les réactions contre ces Ag du soi en périphérie. Le facteur de transcription AIRE ("auto-immune regulator") est responsable de l'expression thymique de ce type de

protéines, le gène AIRE permet ainsi d'élargir l'éventail d'auto-Ag rencontrés par les lymphocytes T immatures dans le thymus. Des mutations du gène AIRE sont à l'origine d'un syndrome auto-immun rare portant le nom de polyendocrinopathie auto-immune de type 1 ou syndrome APECED ("Autoimmune polyendocrinopathy with candidiasis and ectodermal dysplasia").

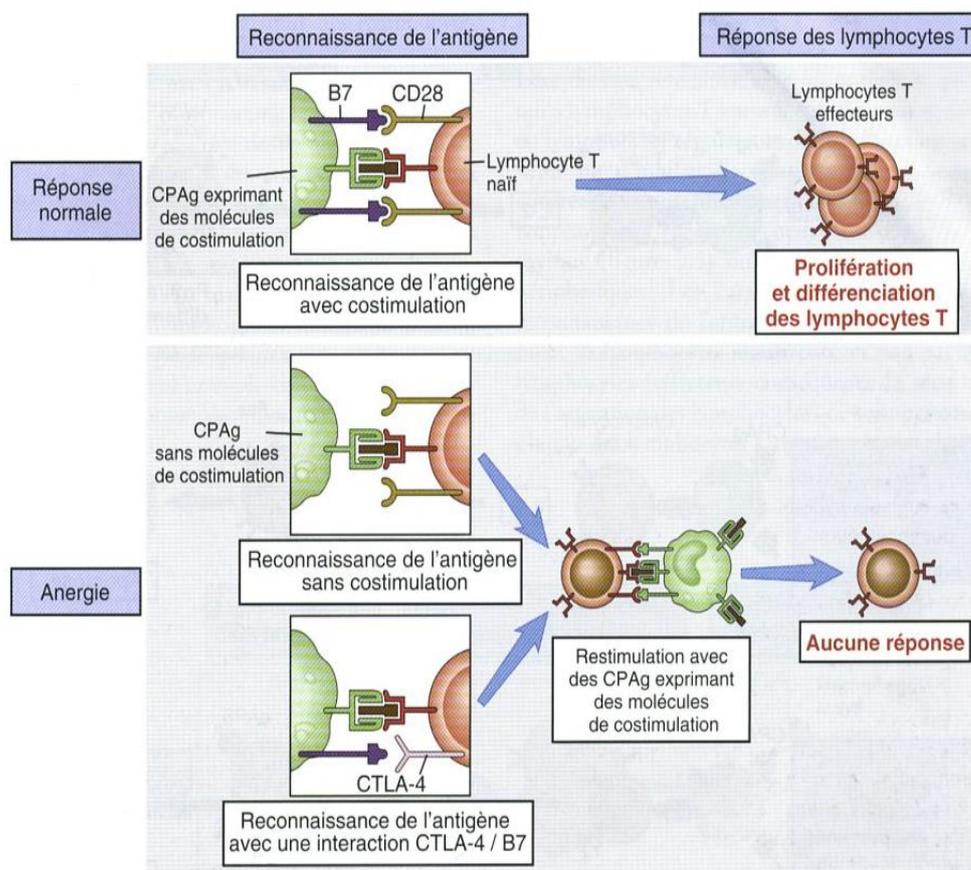
## **2) Tolérance périphérique des lymphocytes T**

La tolérance périphérique est induite lorsque des lymphocytes matures reconnaissent des Ag du soi dans les tissus périphériques entraînant leur inactivation fonctionnelle (anergie) ou leur mort, ou lorsque les lymphocytes auto-réactifs sont contrôlés par des lymphocytes T régulateurs (suppresseurs).

**a- L'anergie** : est définie comme un état d'inactivation fonctionnelle permanente des lymphocytes T auto-réactifs qui survient lorsque ces cellules reconnaissent des Ag du soi en l'absence des molécules de costimulation (seconds signaux) nécessaires à une activation complète des lymphocytes T.

Normalement, les cellules du soi et les cellules présentatrices d'Ag (CPA) présentes dans les tissus ou les ganglions lymphatiques sont dans un état quiescent et expriment très peu ou pas de molécules de costimulation telles que les protéines B7.1 et B7.2 (CD80C et CD86). L'interaction des lymphocytes T auto-réactifs avec les auto-Ag spécifiques exprimés à la surface de ces cellules en l'absence de molécules de costimulation entraîne l'anergie ou la mort de ces lymphocytes T auto-réactifs (*Figure2*).

Dans certains cas, l'anergie survient suite à l'interaction de CPA professionnelles avec des lymphocytes T auto-réactifs exprimant des molécules inhibitrices telles que CTLA-4 ("Cytotoxic T lymphocyte Associated protein 4") : l'interaction de la molécule B7 sur la CPA avec son ligand inhibiteur CTLA-4 sur le lymphocyte T, entraîne l'anergie du lymphocyte T spécifique de l'Ag du soi. Un lymphocyte T anergique ne va plus répondre à son Ag spécifique même si ultérieurement l'Ag est présenté par des CPA exprimant des molécules de costimulation.



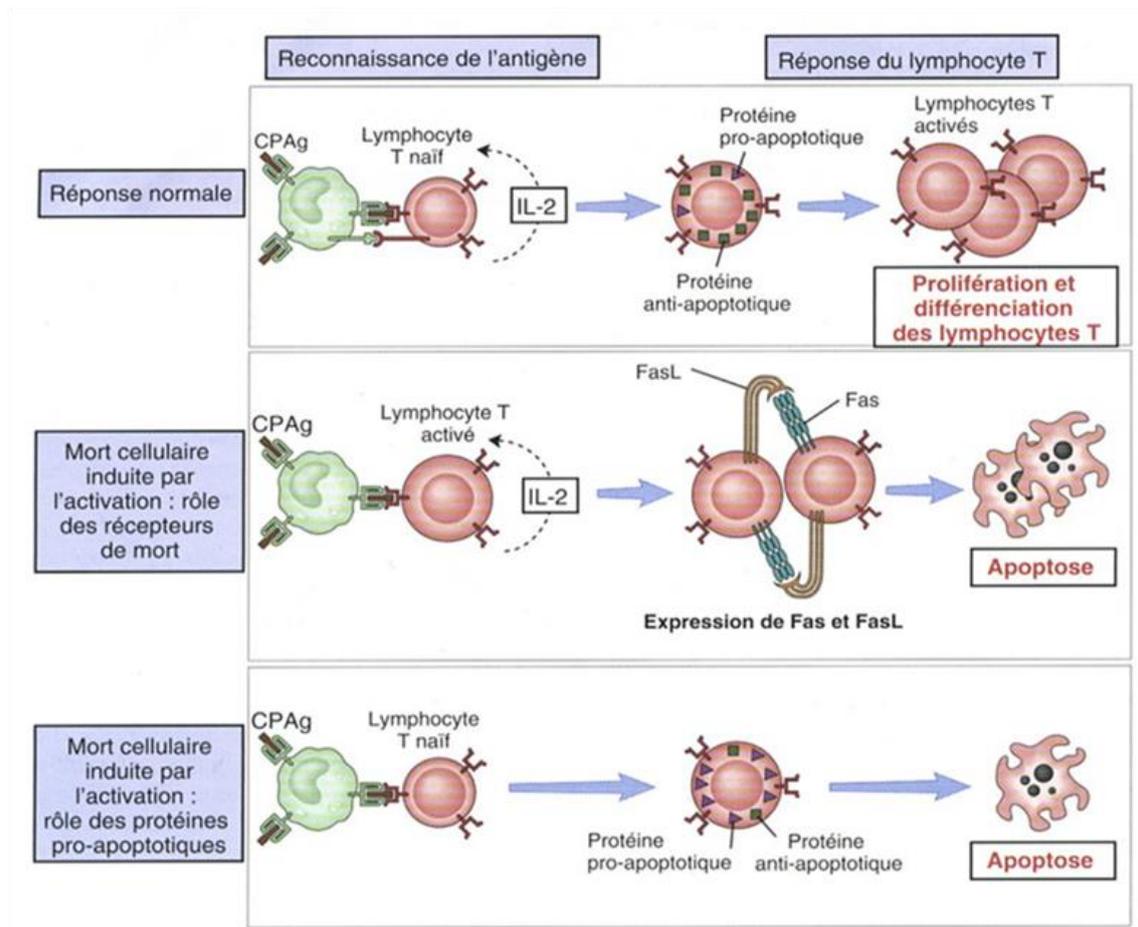
**Figure 2 – Activation versus Tolérance (anergie)**

**b- L'élimination ou mort cellulaire induite par l'activation :**

L'activation répétée des lymphocytes T matures par des Ag du soi, ou la reconnaissance des Ag du soi sans costimulation, déclenche des voies d'apoptose (mort cellulaire programmée) ayant pour conséquence l'élimination des lymphocytes auto-réactifs. Ce processus est appelé mort cellulaire induite par l'activation (AICD : "activation-induced cell death") et met en jeu 2 types de mécanisme (*Figure 3*) :

**1- la coexpression de récepteurs à domaine de mort** tels que Fas (CD95) et son ligand (Fas-L). Fas-L se lie au récepteur Fas sur la même cellule ou sur une cellule voisine et déclenche des signaux qui culminent avec l'activation des caspases, enzymes cytosoliques induisant l'apoptose. Les souris présentant des mutations des gènes *fas* ou *fas-l* ainsi que les enfants présentant des mutations du gène *fas*

développent des maladies auto-immunes avec accumulation de lymphocytes et regroupées sous le terme de syndrome lymphoprolifératif auto-immun ou ALPS ("auto-immune lympho-proliférative syndrome").



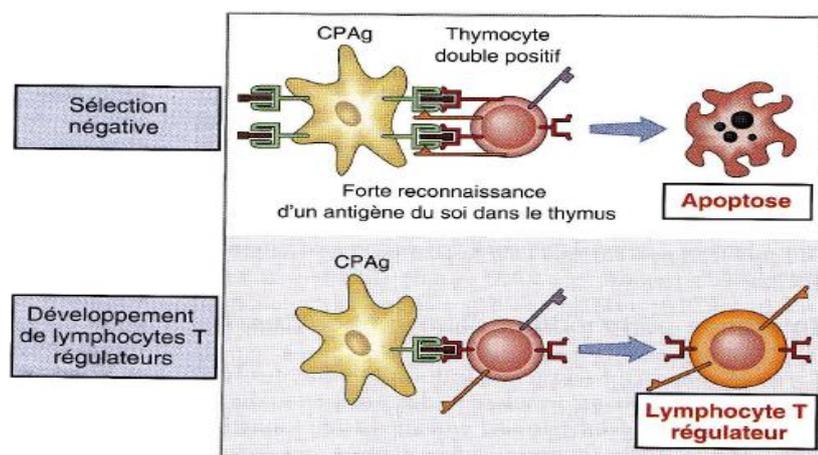
*Figure 3 - La mort cellulaire induite par l'activation (AICD : activation-induced cell death)*

2-l'expression des protéines pro-apoptotiques conduisant à la mort cellulaire suite à l'activation des lymphocytes T en l'absence de molécules de costimulation ou en l'absence de signaux délivrés par l'immunité innée. Dans la réponse immune contre les microbes, l'action de ces protéines pro-apoptotiques est contrecarrée par celle des protéines anti-apoptotiques induites par la costimulation et par d'autres seconds signaux élaborés au cours des réponses immunitaires innées.

L'AICD constitue en fait un des mécanismes physiologiques de régulation des réponses immunitaires : lorsque la réponse immunitaire (activation et prolifération clonales de lymphocytes T et B) se prolonge beaucoup trop inutilement (sans parvenir pas à éliminer l'Ag), la mort cellulaire des cellules activées est

enclenchée et le système revient à son état de repos (stand-by). Or, telle est exactement la situation pour les auto-Ag dont la présence est permanente et que les lymphocytes T auto-réactifs ne peuvent éliminer.

**c- La suppression immunitaire :** Les lymphocytes T suppresseurs qui inhibent et empêchent l'activation, la prolifération et les fonctions effectrices des lymphocytes T et B auto-réactifs sont produits dans le thymus (Treg naturels) ou induits en périphérie (Treg induits); ce sont généralement des lymphocytes T  $CD4^+CD25^+/FOXP3^+$  qui peuvent exercer leur effets directement par contact cellulaire, ou indirectement par l'intermédiaire de cytokines suppressives telles que le  $TGF\beta$  ("Transforming Growth Factor  $\beta$ ") et l'IL10 (cf : cours régulation des réponses immunitaires) (figure 4). Les hommes et les souris déficients en *Foxp3*, n'ont pas cette population de lymphocytes Treg et développent un syndrome lymphoprolifératif avec poly-endocrinopathie nommé IPEX pour "*Immune dysregulation polyendocrinopathy, enteropathy X linked syndrome*". Avec l'anergie et l'élimination (AICD), la suppression constitue un verrou supplémentaire en périphérie permettant de contrôler l'action des lymphocytes T auto-réactifs ayant échappé à la délétion clonale dans le thymus.



**Figure 4** – Mécanismes de la tolérance centrale des lymphocytes T (apoptose et/ou conversion en lymphocytes T régulateurs des lymphocytes T auto-réactifs)

### 3) Tolérance des lymphocytes B

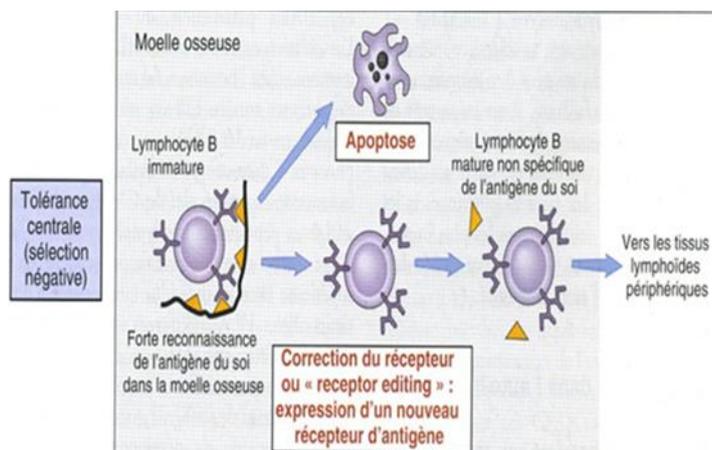
Au cours du développement des cellules B dans la moelle osseuse, le répertoire constitué de manière aléatoire comporte des récepteurs dirigés contre les

molécules du soi. Si une molécule du soi s'exprime sous une forme appropriée dans la moelle osseuse, les cellules B auto-réactives spécifiques seront éliminées par délétion clonale ou révision de récepteur : c'est la tolérance centrale des lymphocytes B. Cependant, de nombreuses molécules du soi ne sont présentes qu'en périphérie et exprimées que dans certains organes ; des mécanismes supplémentaires interviennent alors pour contrôler ces lymphocytes B auto-réactifs : c'est la tolérance périphérique des lymphocytes B.

### a- Tolérance centrale des lymphocytes B :

Deux mécanismes sont impliqués dans l'acquisition de la tolérance centrale des lymphocytes B : la réédition des récepteurs pour l'antigène, et la délétion clonale. Le processus d'élimination est très similaire à la sélection négative (délétion clonale) subie par les lymphocytes T immatures dans le thymus. Les lymphocytes B qui présentent des récepteurs (IgM membranaires) de haute affinité pour les molécules du soi (membranaires ou solubles) abondantes et largement exprimées dans la moelle osseuse, seront éliminés par apoptose.

Le 2<sup>ème</sup> mécanisme de tolérance centrale (particulier aux lymphocytes B) est la correction du récepteur ou "receptor editing" (*Figure 5*) : les lymphocytes B auto-réactifs peuvent échapper à la délétion clonale en réactivant leur machinerie de recombinaison des gènes codant pour les Ig : le lymphocyte B refait un nouveau réarrangement V-J sur les gènes  $\kappa$  ou  $\lambda$  et exprime une nouvelle chaîne légère d'Ig ( $\kappa$  ou  $\lambda$ ) qui s'associe à la chaîne lourde existante produisant ainsi un nouveau récepteur d'Ag qui ne reconnaît plus l'Ag du soi (le site Ac étant un site partagé, la spécificité dépend de la combinaison des 2 régions variables VH et VL) .



*Figure 5 – Mécanismes de la tolérance centrale des LB (délétion clonale et "receptor-editing")*

### **b- Tolérance périphérique des lymphocytes B :**

Il existe 4 mécanismes de tolérance périphérique pour les lymphocytes B.

**1-** Dans les tissus lymphoïdes périphériques, les lymphocytes B auto-réactifs échouent dans la compétition pour l'entrée dans les follicules lymphoïdes primaires et restent piégés dans la zone T. En l'absence d'interaction avec les cellules T CD4<sup>+</sup> auxiliaires (qui n'existent normalement pas dans le cas des Ag du soi), les lymphocytes B auto-réactifs ne migrent pas vers le follicule et entrent en apoptose.

**2-** Le second mécanisme de tolérance périphérique des lymphocytes B est l'induction de l'anergie qui se caractérise par la diminution de l'expression des IgM de surface et l'inhibition partielle des voies de signalisation correspondantes. L'anergie des lymphocytes B peut être déclenchée lors de leur exposition à l'Ag soluble circulant.

**3-** Le 3<sup>ème</sup> mécanisme dépend de la présence de cellules T spécifiques de l'auto-Ag et qui expriment le ligand de Fas (Fas-L). En l'absence des voies normales de costimulation (CD40 – CD40-Ligand...), les lymphocytes B anergisés qui ont été exposés de façon chronique aux auto-Ag sont plus sensibles à l'apoptose induite par l'interaction de Fas avec son ligand sur les lymphocytes T.

**4-** Enfin, les cellules B activées par l'Ag et devenues auto-réactives suite à l'hyper-mutation somatique qui a lieu dans les centres germinatifs seront éliminées. Le pontage des récepteurs du lymphocyte B par un auto-Ag soluble déclenche l'apoptose de la cellule B auto-réactive suite à un signal transmis par le récepteur en l'absence de cellules T auxiliaires.

### **III) Conséquences de la rupture de tolérance**

La rupture de tolérance aboutit à 3 grands phénomènes pathologiques en fonction de la nature des Ag devenus immunogènes. La réponse immune contre les Ag du soi aboutit à des maladies auto-immunes. La rupture de tolérance vis-à-vis des antigènes normalement non immunogènes rencontrés dans les aliments, l'air respiré ou les produits en contact avec la peau entraîne des maladies immuno-

allergiques tels que l'urticaire, l'asthme et l'eczéma. La rupture de tolérance envers les germes saprophytes entraîne des maladies inflammatoires chroniques telles que la maladie de Crohn.

#### **IV) Conclusion**

La tolérance immunitaire est un phénomène actif. Les mécanismes de tolérance périphérique sont multiples et redondants. Ils permettent de rattraper et de contrôler les lymphocytes auto-réactifs ayant échappé à la sélection négative dans les organes lymphoïdes centraux.

La compréhension et la maîtrise des mécanismes de la tolérance et de l'immuno-modulation devraient permettre le traitement et la prévention de la majorité des maladies auto-immunes et immuno-allergiques ainsi qu'une meilleure prise des greffes d'organes.

# LA REGULATION DES REponses IMMUNITAIRES

*Pr Nadia MAHFOUDH*

*Pr Hatem MASMOUDI*

## **Objectifs éducationnels**

1. Citer les différents mécanismes de la régulation de la réponse immunitaire
  2. Expliquer le rôle des anticorps dans la régulation immunitaire
  3. Décrire le rôle des lymphocytes T dans la régulation immunitaire
  4. Définir les Treg
  5. Décrire la régulation par les Cytokines
  6. Expliquer la modulation neuroendocrine de la réponse immune
- 

## **I) Introduction**

Le système immunitaire est un système finement régulé, la réponse immunitaire doit être contrôlée et bien adaptée :

- En amplitude : pour augmenter les réponses peu intenses et diminuer les réponses inappropriées.
- En durée : afin de limiter l'emballement excessif des effecteurs de l'immunité.
- En nature : en orientant la réponse immune vers la réponse appropriée, cellulaire ou humorale...

Caractéristique constante et essentielle du fonctionnement normal du système immunitaire, la redondance est retrouvée aussi au niveau de sa régulation. En effet, les mécanismes qui permettent de contrôler et d'adapter l'activité du système immunitaire sont divers et complexes et non encore parfaitement élucidés. Pourtant leur connaissance est fondamentale pour une nouvelle et meilleure approche thérapeutique des divers états pathologiques en rapport avec un emballement incontrôlé du système immunitaire notamment les maladies allergiques (15 à 20% de la population générale) et les maladies auto-immunes (3<sup>ème</sup> grand processus pathologique après les cancers et les maladies cardio-vasculaires).

L'objectif de ce cours est d'expliquer les principaux mécanismes actuellement connus pour la régulation de l'activité du système immunitaire et, plus particulièrement, ceux concernant la production des anticorps (Ac).

## **II) Régulation par l'antigène**

La nature de l'antigène (Ag), sa dose ainsi que sa voie d'administration sont autant de paramètres qui peuvent influencer la réponse immunitaire. Une réponse immunitaire efficace aboutit à l'élimination de l'Ag, les lymphocytes T et B reviennent alors à un état de repos puisque leur maintien en phase d'expansion clonale nécessite la présence de l'Ag. Certains Ag ne sont pas éliminés de façon aussi efficace et peuvent induire une réponse immunitaire prolongée ayant parfois des conséquences pathologiques.

## **III) Contrôle génétique de la production des anticorps**

On peut schématiquement reconnaître 3 niveaux de régulation génétique de la réponse Ac.

### ***1) Gènes de structure des régions variables et constantes des chaînes légères et des chaînes lourdes des immunoglobulines (Ig)***

L'ensemble de toutes les combinaisons VL-JL/VH-D-JH qu'il est théoriquement possible d'obtenir chez un individu à partir des segments génétiques V, D et J inscrits dans son génome constitue son répertoire potentiel.

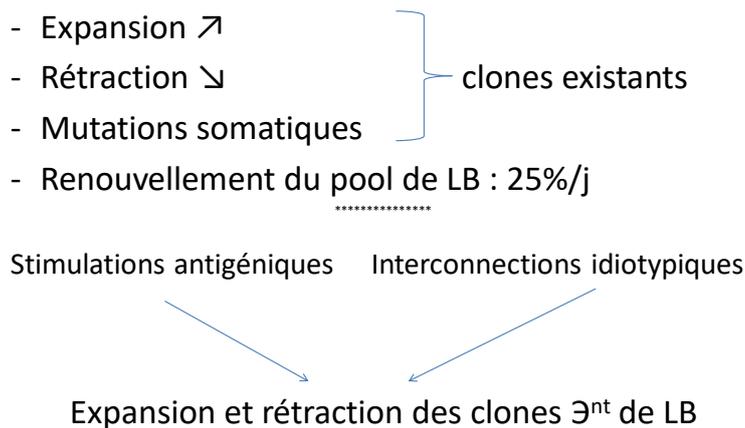
L'ensemble des combinaisons VL-JL/VH-D-JH exprimées au niveau des lymphocytes B matures d'un individu à un moment donné constitue son répertoire disponible ("*available repertoire*") à ce moment-là. Le répertoire disponible représente moins de 1 % du répertoire potentiel. Il est sujet à une évolution qualitative continue tout au long de la vie.

Cette évolution est déterminée, d'une part par l'expansion ou la rétraction des clones existants et les mutations somatiques qui les affectent, d'autre part, par l'arrivée à partir de la moelle osseuse de lymphocytes B matures nouvellement formés (25 % du pool total de lymphocytes B sont quotidiennement renouvelés).

L'expansion et la rétraction des clones existants sont conditionnées par les

stimulations antigéniques extérieures mais aussi par les interconnexions idiotypiques des clones B entre eux et avec les lymphocytes T. Un sujet qui n'a pas dans son répertoire potentiel la ou les bonnes combinaisons VJ et VDJ correspondant à un Ag donné ne pourra pas produire d'Ac contre cet Ag.

### Évolution du répertoire disponible de lymphocytes B



D'un autre côté, les gènes codant pour la région constante des chaînes lourdes et légères des Ig sont associés dans certains cas au niveau des réponses Ac qui varient ainsi en fonction de l'allotype.

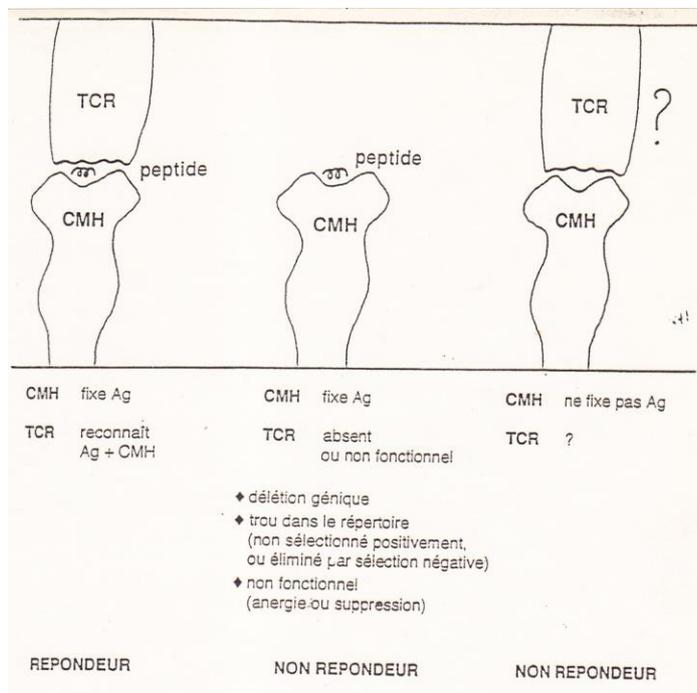
### 2) Gènes de structure des régions variables du TCR

Exception faite des rares Ag dits thymo-indépendants, la production d'Ac par les lymphocytes B est en règle générale sous la dépendance de l'aide fournie par les lymphocytes T helper. Or, les lymphocytes T ne peuvent coopérer avec les lymphocytes B que s'ils ont été eux aussi activés par le même Ag. Pour cela, les lymphocytes T doivent exprimer le(s) TCR correspondant(s) à l'Ag immunisant ce qui suppose que l'individu dispose, dans son répertoire de TCR, de(s) bonne(s) combinaisons V-J et V-D-J lui permettant de reconnaître cet Ag.

### 3) Gènes du système HLA

Les gènes Ir ("Immune response") correspondent en fait aux gènes classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) qui décident de la réponse ou de la non réponse à un déterminant antigénique donné (loi du tout ou rien).

Les gènes Ir exercent ainsi un contrôle spécifique de l'Ag. Leur action se situe au niveau de la coopération entre macrophage, lymphocyte T et lymphocyte B et plus particulièrement au niveau de la présentation de l'Ag au lymphocyte T par le macrophage et le lymphocyte B.



#### 4) Contrôle multigénique non spécifique (BIOZZI)

Contrairement au contrôle par les gènes des régions variables des Ig et du TCR et surtout par les gènes classe II du système HLA qui est un contrôle qualitatif répondant à la loi du tout ou rien, ici c'est un contrôle quantitatif de l'amplitude de la réponse immunitaire (bon ou un mauvais répondeur).

Ce contrôle est non spécifique de l'Ag. Il est lié au pouvoir de catabolisme plus ou moins élevé de l'Ag par les macrophages et donc à la persistance plus ou moins prolongée de la stimulation antigénique.

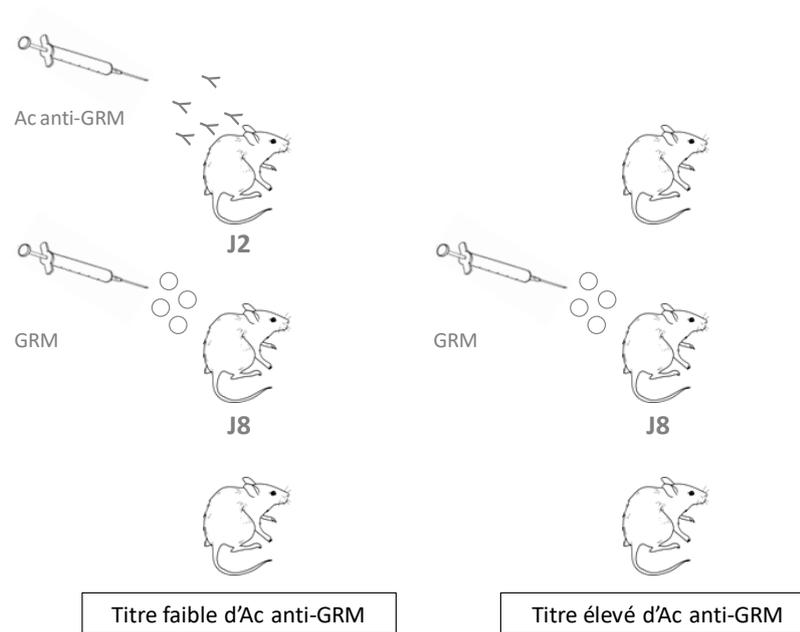
Ce contrôle mis en évidence par BIOZZI chez la souris est sous la dépendance d'une dizaine de gènes qui pour la plupart ne sont pas liés aux gènes du CMH.

#### IV) Régulation par les anticorps

Les anticorps interviennent dans la régulation de leur propre production.

##### 1) Régulation isotypique

Les Ac peuvent inhiber leur propre production. L'administration d'Ac spécifiques juste avant l'immunisation diminue drastiquement l'amplitude de la réponse Ac obtenue (Figure1)



**Figure1** : Exemple de régulation isotypique

Cet effet rétroactif des Ac peut être expliqué par le rôle des complexes immuns Ag/Ac formés qui vont piéger l'Ag et entrer en compétition avec le BCR ("B Cell Receptor") empêchant ainsi l'activation des lymphocytes B (LB). Par ailleurs, la co-ligation du BCR et du récepteur du fragment Fc des Ig (Fc-R) exprimés à la surface du lymphocyte B va délivrer un signal négatif à ce dernier limitant son activation et par conséquent la production d'Ac.

Les Fc-R solubles ou IBF ("Ig Binding Factors") interviennent eux aussi dans la régulation de la production d'Ac du même isotype. Ainsi, les IgG-BF inhibent la production d'IgG. La majorité des IgG-BF du sérum humain proviennent du clivage du Fc $\gamma$ -RIII ou CD16 des PNN. Tandis que, les IgE-BF stimulent la production d'IgE (rétrocontrôle positif), les IgE-BF proviennent du clivage du CD23 (Fc $\epsilon$ -RII) des lymphocytes et des monocytes.

Plusieurs applications cliniques découlent de l'effet rétroactif des Ac :

- L'administration de certains vaccins (rougeole, rubéole) ne se fait pas avant l'âge de 1 an puisque les IgG d'origine maternelle peuvent induire un effet rétroactif sur

la production des Ac vaccinaux chez le nourrisson diminuant ainsi l'intensité de la réponse immune.

- Dans le cas des incompatibilités rhésus, l'administration d'Ac anti-Rh à la mère Rh<sup>-</sup> prévient la réponse immune contre les cellules sanguines fœtales Rh<sup>+</sup>.

## 2) *Régulation idiotypique*

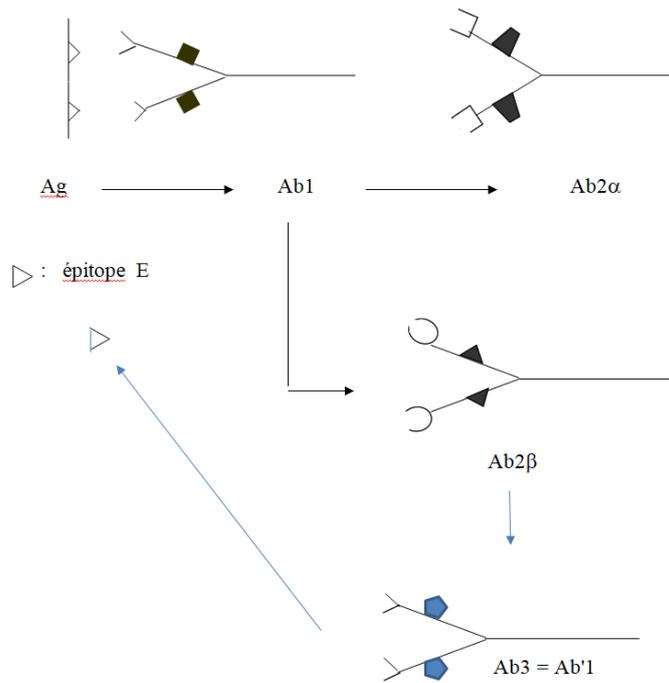
Niels JERNE a proposé en 1974 une théorie, qui sans contredire fondamentalement la théorie de la sélection clonale, permet une nouvelle approche théorique et conceptuelle de l'organisation et de la dynamique fonctionnelle du système immunitaire.

L'idée centrale de cette théorie du réseau idiotypique est qu'à chaque déterminant antigénique ou épitope correspond un déterminant idiotypique ou idiotope qui représente son image interne. En d'autres termes, l'univers des idiotypes constitue, du point de vue conformationnel, la réflexion de l'univers des antigènes.

Pour JERNE, le système immunitaire, même en l'absence de toute stimulation antigénique extérieure, doit entretenir une activité interne résultant essentiellement des interactions paratope-idiotope à l'intérieur du système.

L'introduction d'un Ag étranger portant un épitope E induit la production de différents types d'Ac appelés Ab1 ("antibody"1) et dont le paratope (site Ac) reconnaît spécifiquement l'épitope E. Les anticorps Ab1 portent à leur surface différents idiotopes qui induisent la production de différents Ac anti-idiotypiques appelés Ab2 $\alpha$  qui à leur tour induisent la production d'Ac anti-anti-idiotypiques Ab3, etc.

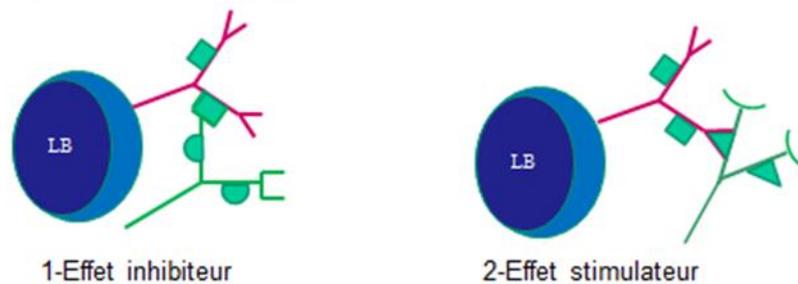
D'un autre côté, ces anticorps Ab1 dirigés contre l'épitope E induisent la production d'un autre type d'Ac anti-idiotypiques appelés Ab2 $\beta$  et caractérisés par un idiotope image interne de l'épitope E. Ces anticorps Ab2 $\beta$  induisent à leur tour la production d'un type particulier d'Ac anti-anti-idiotypiques Ab3 exprimant une combinaison VH-VL et un idiotype différents de ceux portés par les Ac spécifiques Ab1 mais capables tout comme eux de reconnaître l'épitope E; d'où leur appellation d'Ab'1. (Figure2)



**Figure 2 : Régulation idiotypique de la production des anticorps**  
(Théorie du réseau idiotypique de Jerne)

Dans ce réseau, du reste valable aussi bien pour les Ac circulants que pour les Ig membranaires à la surface des lymphocytes B (LB), les paratopes jouent un rôle inhibiteur sur la production des Ac dont ils reconnaissent les idiotopes à la surface des LB, tandis que les idiotopes exercent un effet stimulateur.

### Régulation Idiotypique de la production d'Ac



1: lorsque l'Ac circulant interagit par son paratope avec l'idiotope de l'Ig mb, la production d'Ac par le LB exprimant ces Ig mb est inhibée

2: lorsque l'Ac circulant interagit par son idiotope avec le paratope de l'Ig mb, la production d'Ac par le LB exprimant ces Ig mb est stimulée

— Ac anti-idiotypique  
— Ig membranaire

25

La régulation de la réponse Ac, assurée par les interactions paratope-idiotope (effet inhibiteur) et idiotope-paratope (effet stimulateur) entre les Ac circulants et

les Ig membranaires à la surface des LB, est ainsi le résultat de la balance entre ces 2 effets opposés.

## V) Régulation par les lymphocytes T suppresseurs ou T régulateurs (suppression Ag-spécifique) :

### 1-Rôle des lymphocytes T régulateurs (Treg)

L'existence de cellules T suppressives de la production d'Ac a été démontrée en 1970 avec des expériences de transfert de tolérance à haute dose d'Ag (GERSHON et HONDO). Par la suite, l'implication de lymphocytes T suppresseurs Ag-spécifiques a été confirmée non seulement dans les phénomènes d'induction de tolérance à hautes doses, mais aussi dans l'induction de la tolérance à basses doses d'Ag et dans la non-réponse aux polypeptides synthétiques (TADA, BAKER, BENACERAF).

**LYMPHOCYTES T SUPPRESSEURS**

- GERSHON et HONDO (1970) :
- Expériences de transfert de tolérance à fortes doses d'Ag :
  - GRM →  → Ac à-GRM
  - Fortes doses GRM  → pas de réponse (tolérance)
  - Lymphocytes de souris tolérisées
    - souris normales syngéniques 
  - Immunisation de ces souris avec des doses habituelles de GRM → pas de réponse (tolérance) :  
cellules suppressives  
effet dominant sur les cellules effectrices

Cependant et durant plus de 25 ans, toutes les tentatives cherchant à identifier un marqueur membranaire caractéristique des lymphocytes T suppresseurs, isoler ou cloner une sous-population de lymphocytes T spécialisée dans la suppression ont été vaines, et tout laissait à penser que plusieurs sous-populations de lymphocytes T peuvent exercer une fonction suppressive au même titre que d'autres activités.

Une avancée majeure dans l'identification des cellules T suppressives a été l'observation rapportée par Sakagushi et al. en 1995 : la déplétion chez la souris

d'une sous-population minoritaire de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> exprimant le CD25 (IL2R- $\alpha$ ) de façon constitutive favorise le développement de maladies auto-immunes tandis que le co-transfert de ces cellules en prévient le développement. Ces cellules T suppressives ont pu être isolées et sont maintenant bien caractérisées ; pour éviter toute polémique, Sakagushi les a appelées lymphocytes T régulateurs ou Treg.

Pour ce qui est de leur mode d'action, les lymphocytes T régulateurs inhibent *in vivo* l'activation et l'expansion des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> effecteurs. Les Treg sont également capables d'inhiber les lymphocytes B à plusieurs niveaux : prolifération, production d'Ac, commutation isotypique.

L'action suppressive des Treg peut se faire sur des cellules T naïves, effectrices ou mémoires par contact cellulaire (impliquant CTLA-4 ou même Fas-L) ou par la sécrétion de cytokines inhibitrices telles que l'IL10 et le TGF $\beta$ .

On distingue actuellement 2 principaux types de lymphocytes T régulateurs :

#### Les lymphocytes T régulateurs "naturels" ou nTreg

Il s'agit des lymphocytes T régulateurs produits dans le thymus. En effet, un faible contingent de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> auto-réactifs, exprimant un TCR qui reconnaît avec une forte affinité un des Ag du soi exprimés dans le thymus, échappent au filtre thymique et à la délétion clonale en se convertissant en lymphocytes T suppresseurs.

Ces lymphocytes T ont la particularité de freiner la réponse immune après avoir reconnu par leurs TCR divers auto-antigènes lors de leur migration dans les ganglions et les tissus périphériques. En induisant la prolifération des Treg dès l'initiation de la réponse immunitaire, l'IL2 favorise la mise en place d'une réponse suppressive effective dans les plus brefs délais (avec pour but de contrôler la réponse effectrice et éviter l'apparition de lésions immunopathologiques).

Ces lymphocytes T régulateurs expriment en grandes quantités la molécule CD25 (TCD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>) et le facteur de transcription FOXP3.

#### Les lymphocytes T régulateurs inductibles

Il s'agit de sous-populations de lymphocytes Treg éduqués en périphérie (Th3, Tr1) et souvent inductibles par des antigènes exogènes (alimentaires...). Ces cellules agissent surtout par sécrétion de cytokines (TGF $\beta$  et IL-10).

## **2- Régulation par la mort cellulaire programmée induite par l'activation**

La mort cellulaire programmée encore appelée apoptose est très importante dans la régulation de la réponse immunitaire et l'homéostasie lymphocytaire. En effet, la prolifération lymphocytaire induite par un pathogène lors de la réponse immunitaire adaptative constitue un risque sérieux pour l'organisme hôte à cause d'une part, des mécanismes effecteurs non spécifiques mis en jeu lors de la réponse immune qui pourraient endommager des cellules saines, d'autre part de la cross-réactivité entre les peptides antigéniques des pathogènes et ceux des antigènes du soi et enfin à cause du risque de transformation maligne des lymphocytes activés de façon chronique avec un taux de prolifération très élevé.

Pour toutes ces raisons, les lymphocytes activés ont "une fenêtre étroite de survie" et la réponse immune est, à cet effet, finement contrôlée et ce de deux manières :

- par apoptose passive suite à la clairance de l'antigène et à la diminution des cytokines. Ce mécanisme intervient surtout lors d'une infection aigüe.

- par apoptose active lors du phénomène de contraction clonale ou **AICD**

("Activation-Induced Cell Death"). En effet et lorsque la réponse immunitaire (activation et prolifération clonales de lymphocytes T et B) se prolonge beaucoup trop et inutilement (ne parvient pas à éliminer l'Ag), la mort cellulaire (impliquant la voie Fas-Fas Ligand) des cellules activées est enclenchée et le système revient à son état de repos (stand-by).

## **3- Régulation par les cytokines**

En 1986, Mosmann et Coffman ont pu identifier deux sous-populations distinctes de lymphocytes T helper (Th) caractérisée chacune par la production d'un profil (une combinaison) particulier(e) de cytokines et qui correspondent à deux lignages différents obtenus à partir de lymphocytes T helper CD4<sup>+</sup> naïfs ou Th0 :

- Les lymphocytes Th1 qui produisent l'INF $\gamma$ , l'IL2 et le TNF $\beta$ , et

- Les lymphocytes Th2 qui produisent l'IL4, l'IL5, l'IL6, l'IL10 et l'IL13.

Certaines cytokines sont secrétées par les 2 types de cellules, Th1 et Th2, notamment l'IL3 et le GM-CSF qui interviennent dans la régulation de l'hématopoïèse dont elles stimulent les premières étapes et le TNF $\alpha$  doté de nombreux effets pro-inflammatoires et qui amorce la cascade cytokinique de la réaction inflammatoire.

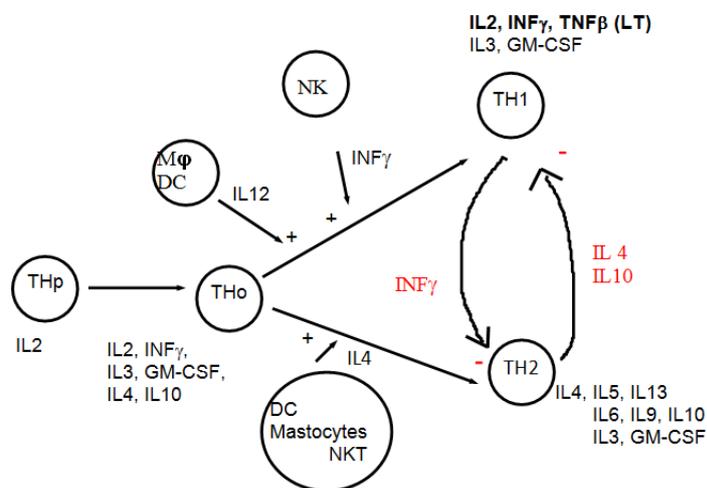
En fonction de la nature et de la dose de l'Ag, de la nature de la cellule présentatrice de l'Ag et surtout des cytokines présentes dans leur microenvironnement, les cellules THo se différencient en TH1 ou en TH2.

Dans cette différenciation terminale et spécialisation en TH1 ou TH2, 4 cytokines semblent jouer un rôle primordial : l'INF $\gamma$  et l'IL12 d'une part et l'IL4 et l'IL10 d'autre part.

L'IL12 produite par les macrophages et l'INF $\gamma$  produit par les cellules NK induisent la différenciation des THo en TH1, tandis que l'IL4 produite par les mastocytes et les cellules NKT induit la différenciation des TH0 en TH2.

De plus, l'IL4 et l'IL10 produites par les cellules TH2 inhibent la différenciation des TH0 en TH1, alors que l'INF $\gamma$  produit par les cellules TH1 inhibe la différenciation des TH0 en TH2. (Figure 3)

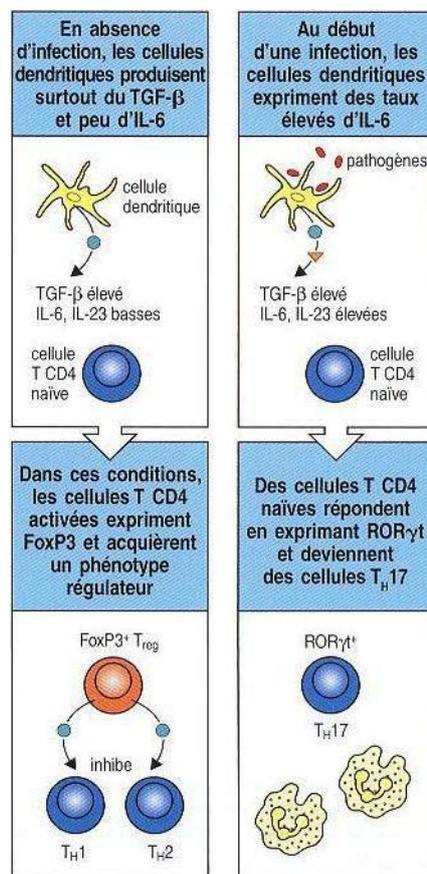
Les caractères TH1 et TH2 sont stables et ne peuvent être modifiés par les cytokines.



**Figure3 : Régulation par les Cytokines, balance Th1/Th2**

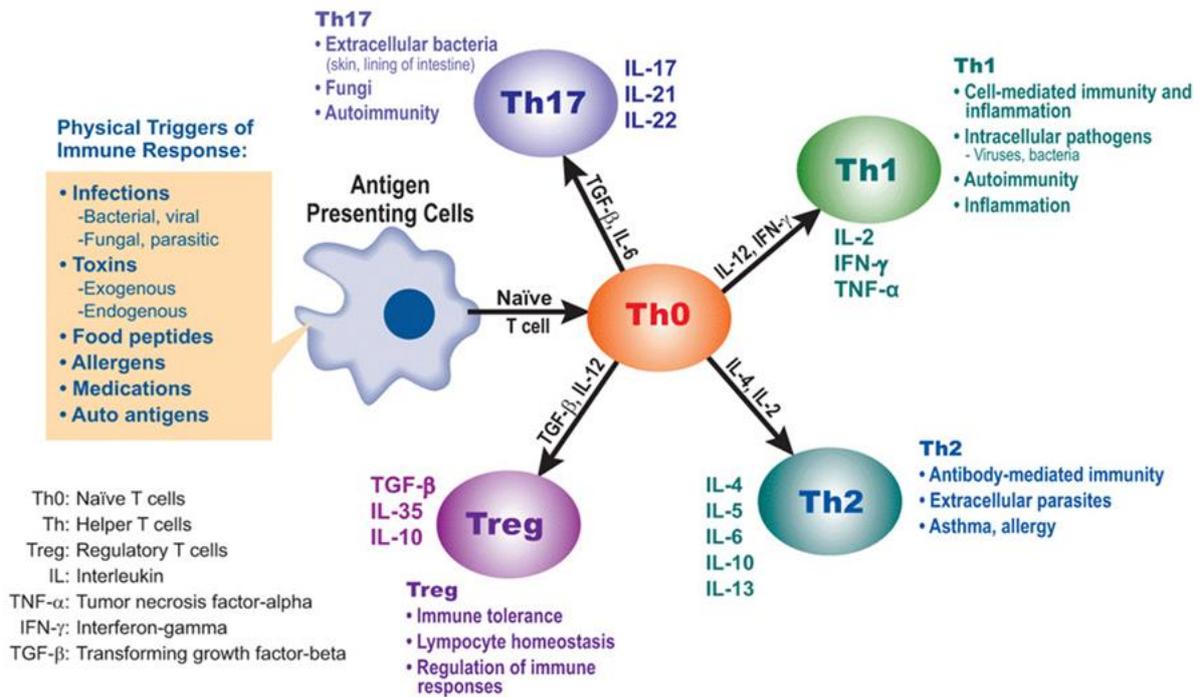
Une troisième sous-population de lymphocytes T helper récemment identifiée est représentée par les cellules dites Th17 induites en présence de TGFβ, d'IL6 et d'IL23 et caractérisées par la production de l'IL17 et de l'IL22 : deux cytokines éminemment pro-inflammatoires (l'IL17 induit la production par les fibroblastes et les cellules épithéliales et endothéliales de chimiokines et de cytokines qui attirent et activent les PNN, tandis que l'IL22 induit la production de protéines de la phase aiguë de l'inflammation par le foie). Les TH17 sont généralement les premières cellules T effectrices générées au cours d'une infection avant même les TH1 et les TH2 ; les cellules dendritiques produisant des taux élevés de TGFβ, d'IL6 et d'IL23 au début de l'infection.

Il est à noter qu'en absence d'infection, les cellules dendritiques produisent surtout du TGFβ, ce qui induit l'expression de Foxp3 par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> activés et leur transformation en lymphocytes T régulateurs (Figure 4).



**Fig. 10.4** Au début d'une infection, la différenciation des cellules T CD4 naïves passe d'un programme de régulateur à celui de T<sub>H17</sub>. L'équilibre entre la production du TGF-β et de l'IL-6 intervient pour induire soit le facteur de transcription FoxP3, qui est caractéristique des cellules T régulatrices, ou RORγt (un membre « orphelin » de la famille des récepteurs nucléaires), qui est caractéristique des cellules T<sub>H17</sub>. En absence d'infection, la production de TGF-β par les cellules dendritiques domine, alors que la production d'IL-6 est basse. Dans ces conditions, les cellules T qui rencontrent leur antigène se mettent à exprimer FoxP3 et acquièrent un phénotype essentiellement régulateur, tandis que celles qui ne rencontrent pas d'antigène restent naïves. Au début de l'infection, les cellules dendritiques produisent rapidement de l'IL-6, avant la production d'autres cytokines comme l'IL-12 ; dans ces conditions, les cellules T naïves commencent à exprimer RORγt et deviennent des cellules T<sub>H17</sub>. Les cytokines produites par cette sous-population de cellules T, l'IL-17 et l'IL-17F, agissent sur des cellules, par exemple un épithélium, et leur font sécréter des chimiokines qui attirent des cellules inflammatoires comme les neutrophiles.

**Figure 4 :** Régulation par la balance Treg-Th17



**Figure 5 :** Principales sous-populations de lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, cytokines inductrices de leur différenciation, cytokines produites et effets dans la réponse immune et sa régulation

Ainsi et lorsqu'ils sont activés, les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> naïfs ou Th0 peuvent se différencier en lymphocytes T helper de type Th1, Th2 ou Th17, ou bien encore en cellules Treg. L'orientation de cette différenciation terminale vers l'une ou l'autre de ces voies est dictée, d'une part, par la nature de l'Ag et de la cellule présentatrice, de l'autre, par le micro-environnement cytokinique local.

## V) Modulation neuroendocrine de la réponse immune

Il est de plus en plus évident que le système neuroendocrine et le système immunitaire sont étroitement intriqués.

Le système nerveux central intervient via 2 voies de modulation de la réponse immune :

- \* Innervation sympathique des tissus lymphatiques
- \* Contrôle de la sécrétion d'hormones corticostéroïdes

Le système immunitaire est interconnecté avec les systèmes nerveux et endocrinien. En effet, les lymphocytes possèdent des récepteurs neuro-peptidiques

et des récepteurs d'hormones / corticostéroïdes qui jouent un rôle majeur de rétrocontrôle négatif sur la réponse immune.

Les relations interactives entre les trois systèmes sont multiples :

- L'immunité est modulée par des liaisons hypothalamiques
- Des modifications bioélectriques ont été enregistrées lors de la synthèse d'anticorps par les lymphocytes
- Une injection d'adrénaline augmente le taux de cellules NK
- L'anxiété et la dépression affaiblissent les défenses immunitaires suite à la diminution des cellules T, alors que le soutien psycho-comportemental les stimule
- Les substances pyrogènes endogènes (interleukines) induisent l'état fébrile en stimulant l'hypothalamus et ainsi, favorisent le fonctionnement des cellules actives de la réponse immunitaire
- Le stress émotionnel et certaines interleukines stimulent l'axe hypothalamo-hypophyso-cortico surrénalien ; il s'en suit une sécrétion inappropriée de cortisol conduisant à un état dépressif chez certains sujets
- La réduction du stress par un soutien psychologique améliore bel et bien la réponse immunitaire des malades atteints du cancer du sein

## **VI) Conclusion**

Le système immunitaire est un système redondant et finement régulé. Les capacités intégratives et de régulation du système immunitaire peuvent être expliquées par la théorie du réseau idiotypique mais aussi et de plus en plus par l'effet paracrine.

# LA REACTION ANTIGENE-ANTICORPS

*Pr Hatem MASMOUDI*

## Objectifs éducationnels

1. Citer les caractères généraux de la réaction antigène – anticorps
  2. Définir l'affinité et l'avidité de l'anticorps pour l'antigène
  3. Citer les forces qui interviennent dans la liaison de l'anticorps à l'antigène correspondant
  4. Décrire les paramètres dont dépend la réaction antigène - anticorps
- 

## I) Introduction

La réaction antigène-anticorps (Ag-Ac) correspond à la combinaison spécifique et réversible des Ac aux Ag qui leur correspondent.

L'étude qualitative et quantitative de la réaction Ag-Ac constitue le fondement de l'immunochimie, discipline d'une grande précision analytique et d'une importance capitale en Immunologie.

L'étude de la réaction Ag-Ac est compliquée par le fait que la plupart des Ag sont des macromolécules et même quand leur structure est connue, il est toujours difficile de déterminer la nature, le nombre et la localisation des différents groupes fonctionnels présents sur chaque molécule. Cette complexité justifie l'utilisation d'haptènes qui présentent des déterminants antigéniques en nombre limité par l'étude de la réaction Ag-Ac. L'extrapolation à des molécules plus compliquées peut ensuite être tentée.

## II) Caractères généraux de la réaction Ag-Ac

### 1) Exothermie

La réaction Ag-Ac est une réaction exothermique qui libère une énergie de 2 à 40 kcal/mol.

### 2) Spécificité

La réaction Ag-Ac est une réaction spécifique. Chaque Ac est dirigé contre un déterminant Ag donné ou épitope.

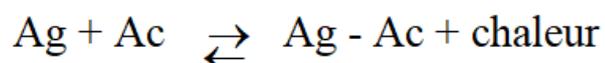
Cette spécificité n'est tout de même pas absolue et doit être nuancée compte tenu de l'existence de réactions croisées.

\* *Spécificité d'un Ac* : capacité à discriminer entre des déterminants antigéniques de structures semblables mais différentes.

\* *Réaction croisée* : réaction d'un Ac avec un Ag différent de celui ayant servi pour l'immunisation (cf : cours les antigènes).

### 3) Réversibilité

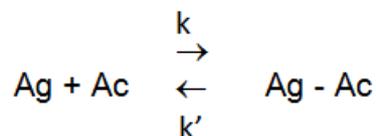
La réaction Ag-Ac est une réaction réversible :



Le complexe Ag-Ac peut être dissocié par la chaleur, la baisse du pH ou l'augmentation de la force ionique du milieu.

## III) Affinité et avidité

1) Affinité : stabilité du complexe Ag-Ac déterminée par l'intensité des forces de liaison.



$k$  : constante de vitesse d'association

$k'$  : constante de vitesse de dissociation

Compte tenu de l'identité et de l'indépendance fonctionnelle des sites et d'après la loi d'action des masses, on aura à l'équilibre :

$$\begin{aligned} (\text{Ag}) \cdot (\text{Ac}) \cdot k &= (\text{Ag} - \text{Ac}) \cdot k' \\ \Leftrightarrow \frac{(\text{Ag} - \text{Ac})}{(\text{Ag}) \cdot (\text{Ac})} &= \frac{k}{k'} = K \end{aligned}$$

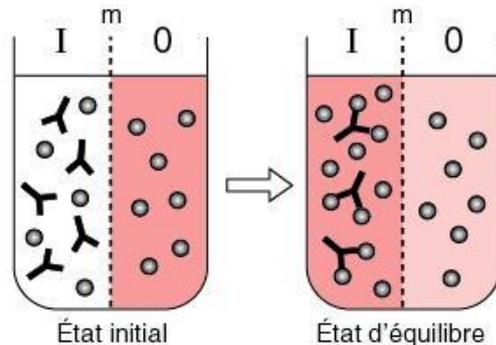
$K$  : constante d'association intrinsèque de la réaction ou constante d'affinité de l'Ac

Mesure de la constante d'affinité :

Plusieurs techniques peuvent être utilisées notamment la dialyse à l'équilibre qui

utilise une membrane de dialyse ne laissant passer que les petites molécules telles que les haptènes.

La détermination de l'affinité d'un Ac est réalisée par dialyse à l'équilibre. La chambre de dialyse contient 2 compartiments (I et O) séparés par une membrane semi-perméable. L'Ac est ajouté à un compartiment et un ligand radiomarqué à l'autre. A l'équilibre, la concentration de la radioactivité dans les 2 compartiments est mesurée. La différence de concentration du ligand dans les 2 compartiments représente la concentration du complexe Ag-Ac



**Figure 1 :** Principe de la méthode de dialyse à l'équilibre pour mesurer la constante d'affinité d'une réaction Ag-Ac

Les quantités totales d'Ac (compartiment I) et d'haptène (compartiment II) étant connues (état initial), il suffit de mesurer la quantité d'haptène libre (H) dans compartiment II à l'équilibre pour en déduire la quantité d'haptène lié (A-H) et par la même la quantité d'Ac libre (A) puisqu'on connaît la quantité totale d'Ac. Ce qui permet de déterminer la constante d'affinité K :

$$K = \frac{(A-H)}{(A) \cdot (H)}$$

## 2) Avidité

L'avidité d'un Ac pour un Ag correspond à la rapidité d'apparition d'une précipitation, d'une agglutination ou d'une autre réaction Ag-Ac observable.

Elle dépend de la constante d'association, de la valence de l'Ac et de l'Ag, de la température, du pH et de la force ionique du milieu. C'est une notion expérimentale.

## IV) Bases physico-chimiques de la réaction Ag-Ac

Les forces qui unissent les Ac aux Ag ne sont pas fondamentalement différentes des forces régissant les diverses interactions entre protéines (enzymes

substrat, hormone-récepteur...). Il s'agit uniquement de forces non covalentes donc relativement faibles et très dépendantes de la complémentarité stérique entre les sites Ac ou paratopes et les déterminants antigéniques ou épitopes.

Les études en cristallographie de complexes Ag-Ac ont remis en cause le modèle de la clé et de la serrure qui était généralement accepté. La combinaison de l'Ac avec l'Ag se fait par le contact intime en plusieurs points de 2 surfaces plus ou moins planes. 4 types de forces intermoléculaires de faible énergie interviennent dans la liaison de l'Ac à l'Ag :

\* forces de Van Der Waals : liées au mouvement des électrons dans les molécules qui entraînent la formation de champs électriques instantanés.

\* forces électrostatiques ou ioniques : liées à l'attraction qui s'exerce entre 2 groupements ioniques de charges opposées (ex :  $\text{NH}_3^+$  et  $\text{COO}^-$ )

\* liaisons hydrogène : entre atomes électropositifs (ex : H) et atomes électronégatifs (ex : O, N) ;  $\uparrow$  quand  $\theta^\circ\text{C} \downarrow$

\* liaisons hydrophobes : interactions stabilisantes entre groupements non polaires dans l'eau ;  $\uparrow$  quand  $\theta^\circ\text{C} \uparrow$

### **Paramètres de la réaction Ag-Ac**

La réaction Ag-Ac dépend de ces paramètres :

#### ***1) Valence et structure physique et chimique de l'Ag***

La plupart des Ag sont multivalents c-à-d qu'une molécule d'Ag peut fixer plusieurs molécules d'Ac ; 1 molécule d'Ag comprend plusieurs épitopes.

La structure physique de l'Ag détermine les caractéristiques de la réaction Ag-Ac :

- Ag libre en solution :  $\text{Ag} + \text{Ac} \rightarrow$  complexes immuns solubles et/ou insolubles selon la valence de l'Ag, des Ac, les concentrations respectives des Ag et des Ac si complexes insolubles  $\rightarrow$  précipitation

- Ag insoluble : fixé sur des hématies  $\rightarrow$  hémagglutination

fixé sur des particules de latex ou autres  $\rightarrow$  agglutination

- Ag constitutif de cils, de flagelles ou de pili à la surface de cellules ou de microorganismes  $\rightarrow$  immobilisation de ces  $\mu$ organismes et leur rassemblement en

amas visibles à l'œil nu.

## **2) Multiplicité et hétérogénéité structurale et fonctionnelle des Ac**

La réponse immunitaire humorale à l'Ag donne naissance, sauf rares exceptions, à une multiplicité d'Ac différents → intérêt de l'utilisation d'Ac monoclonaux.

**3) Etat physique du système réactionnel :** la réaction Ag-Ac peut se dérouler :

- en phase homogène : milieu liquide ou gélifié ; le contenant (tube, micro-puits...) n'intervient pas dans la réaction Ag-Ac ;
- en phase hétérogène : milieu liquide et solide ; l'Ag ou l'Ac est adsorbé sur une phase solide (tube, micro-puits, billes...), nécessité de lavages répétés après chaque étape pour éliminer les molécules d'Ag et d'Ac non fixées sur la surface de plastique...

## Références

- 1- Immunology IV: Clinical Applications in Health and Diseases. *Joseph A. Bellanti*. I Care Press, 2012.
- 2- Immunobiologie. Charles A. *Janeway*, *Kenneth Murphy*, *Paul Travers*, *Marc Walport*, 3<sup>ème</sup> édition française, traduction de la 7<sup>ème</sup> édition anglaise par *Pierre L. Masson*. De Boeck, 2009.
- 3- Fondements de l'Immunologie. Peter J. *Delves*, *Seamus J. Martin*, *Dennis R. Burton*, *Ivan M. Roitt*, traduction de la 7<sup>ème</sup> édition anglaise par *Pierre Masson*. De Boeck, 2008.
- 4- Atlas de Poche d'Immunologie. *G. Burmester*, *A. Pezzutto*. Traduction française par *P. V. Endert*, 2<sup>ème</sup> édition. Médecine-Sciences Flammarion, 2005.
- 5- Immunologie. Collection de la biologie à la clinique. *Jean François Bach* et *L. Chatenoud*, 4<sup>ème</sup> édition. Flammarion Médecine Sciences, 2005.
- 6- Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. *Abul K. Abbas*, *Andrew H. Lichtman*. Traduction de la 2<sup>ème</sup> édition anglaise. Elsevier, 2005.
- 7- Immunologie. Aide-mémoire illustré. *David Male*. Traduction de la 4<sup>ème</sup> édition anglaise par *Paul Fonteneau*. De Boeck, 2002.
- 8- Immunologie. *Jean Pierre Revillard* avec la collaboration de l'Association des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue Française (ASSIM). De Boeck, 2001.
- 9- Immunologie. Le cours de *Janis Kuby*. Avec questions de révision. *Richard A. Goldsby*, *Thomas J. Kindt*, *Barbara A. Osborne*. Traduction de la 4<sup>ème</sup> édition anglaise par *Serge Weinman*. Dunod, 2001.
- 10- Immunologie Fondamentale. *Hatem Masmoudi* et *Amel Ben Ammar El-Gaaied*. Centre de Publication Universitaire, Tunis. 2000.
- 11- Immunologie. *I.M Roitt*, *J. Brostoff*, *D.K Male*. De Boek Université, 1994.
- 10- Immunologie clinique. *J. Brostoff*, *G.K Scadding*, *D. Male*, *I.M Roitt*. De Boek Université, 1993.
- 11- Les cytokines. *Jean Marc Cavaillon*. Masson, 1996.
- 12- HLA, Fonctions immunitaires et applications médicales. *Jacques Colombani*. John Libbey Eurotext, 1993.
- 13- Traité d'Immunologie. *Jean François Bach*. Flammarion Médecine Sciences, 1993.
- 14- Cours annuel de la Société Française d'Immunologie (SFI) 1991-1996, 2003.
- 15- Immunologie clinique ASSIM. *Medsa/Mc Graw-Hill*, 1990.

- 16- Immunologie générale ASSIM. *Medsic/Mc Graw-Hill*, 1990.
- 17- Méthodes en Immunologie. ASSIM. *Medsic/Mc Graw-Hill*, 1990
- 18- Cours d'Immunologie générale de l'Institut Pasteur de Paris. 1989, 1993.
- 19- Cours d'Immunopathologie de l'Institut Pasteur de Paris. 1988, 1992.
- 20- Immunologie fondamentale et immunopathologie. Collège des Enseignants d'Immunologie, ASSIM, 2<sup>ème</sup> édition. Elsevier Masson, 2018. |