

# **FACULTÉ DE MÉDECINE DE SFAX**



## **DCEM3**

# **IMMUNOPATHOLOGIE**

Sous la direction de  
**Pr Hatem MASMOUTI**

**Année universitaire : 2024 – 2025**

# Liste des cours

- 1- Rappels : Présentation générale du système immunitaire (page 1)
- 2- Immunité anti-infectieuse (page 13)
- 3- Pathologie et exploration du complément (page 27)
- 4- Les complexes immuns en pathologie humaine (page 38)
- 5- Mécanismes de l'auto-immunité : étiopathogénie des maladies auto-immunes (page 47)
- 6- Auto-anticorps en pathologie humaine (page 60)
- 7- HLA et maladies (page 70)
- 8- Immunologie des greffes (page 76)
- 9- Les maladies allergiques et leur exploration (page 88)
- 10- La vaccination (page 107)
- 11- Immunothérapie et Immunomodulation : application au traitement des maladies auto-immunes et auto-inflammatoires (page 122)
- 12- Immunité antitumorale et marqueurs tumoraux (page 136)
- 13- Immunothérapie anticancer (page 151)
- 14- Les déficits immunitaires (page 158)
- 15- Références (page 181)

# PRESENTATION GENERALE DU SYSTEME IMMUNITAIRE

*Dr Samy Haddouk  
Pr Hatem Masmoudi*

Le système immunitaire est chargé de la défense contre les agents pathogènes et de l'élimination des substances étrangères à l'organisme. L'introduction dans l'organisme d'un agent pathogène ou d'une substance étrangère déclenche une réponse immunitaire. La caractéristique essentielle de la réponse immunitaire est la spécificité : la réponse est dirigée de façon très sélective contre l'agent pathogène ou la substance étrangère en cause.

## **I- LES CELLULES ET ORGANES IMMUNITAIRES :**

Au plan anatomique, le système immunitaire a deux caractéristiques essentielles :

- Il est dispersé au sein des organes lymphoïdes ;
- Les cellules immunitaires circulent en permanence entre les organes lymphoïdes.

Cette disposition présente un double intérêt : permettre les interactions cellulaires nécessaires à la maturation des cellules lymphoïdes, puis à la réponse immunitaire ; permettre aux lymphocytes spécifiques de l'antigène d'entrer en contact avec lui, quel que soit son site de pénétration dans l'organisme.

Chaque lymphocyte passe successivement par deux stades distincts. La première étape est une étape de maturation qui a lieu à l'abri de tout contact avec les antigènes exogènes, dans les organes lymphoïdes centraux. Ensuite les lymphocytes matures quittent les organes lymphoïdes centraux, pour les organes lymphoïdes périphériques ou secondaires. Ils sont devenus capables de réagir vis-à-vis des antigènes. Durant cette deuxième phase de leur existence, ces lymphocytes naïfs sont au repos, en attente de contact avec l'antigène. En absence de contact avec l'antigène, ils sont éliminés après un délai variable. Si l'antigène qu'ils reconnaissent est introduit dans l'organisme, ils vont être activés, pour développer une réponse immunitaire. Celle-ci a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires.

## 1) Les cellules de l'immunité :

Les cellules de l'immunité sont dérivées des cellules souches de la moelle osseuse, et appartiennent à deux grandes lignées : la lignée lymphoïde et la lignée myélomonocytaire. Elles sont en renouvellement permanent. Trois principaux types cellulaires sont impliqués :

- les lymphocytes,
- les cellules dendritiques,
- les polynucléaires et les phagocytes mononucléés (monocytes/macrophages)

### *a) Les lymphocytes :*

Les lymphocytes B et T ne sont pas distinguables morphologiquement.

La caractéristique essentielle par laquelle ils diffèrent est l'expression à la membrane de récepteurs clonotypiques distincts : Ig membranaires (mIg) pour les B et TCR pour les T. On peut donc les reconnaître à l'aide d'anticorps dirigés contre ces molécules. On peut également caractériser les lymphocytes (mais également les autres cellules de l'immunité) grâce à d'autres molécules membranaires, importantes pour leurs fonctions, et utilisées comme "marqueurs de membrane". La nomenclature de ces molécules est basée sur une dénomination en CD ("cluster of differentiation") avec une numérotation, enrichie à mesure des découvertes.

#### Principaux marqueurs des lymphocytes B :

- mIg (immunoglobuline membranaire ou de surface) = récepteur spécifique de l'antigène
- CD79 = molécules associées à mIg et permettant la transmission du signal d'activation
- CD19, CD20
- Molécules de classe II du CMH
- Récepteur de type II pour le Fc des IgG (CD32)
- Récepteurs pour certains fragments de dégradation du composant C3 du complément, qui jouent un rôle d'amplification de la réponse anticorps : ex le CD21, qui est utilisé par le virus d'Epstein-Barr (EBV), agent de la mononucléose infectieuse, pour pénétrer dans le lymphocyte B.

### Principaux marqueurs des lymphocytes T :

- TCR ("T Cell Receptor") qui peut être de deux types : TCR  $\alpha/\beta$  ou TCR  $\gamma/\delta$ . La très grande majorité (>90 %) des lymphocytes T circulant expriment le TCR  $\alpha/\beta$ .
- CD3 = molécules associées au TCR et permettant la transmission du signal d'activation
- CD2, CD5
- Dans le cas des lymphocytes T  $\alpha/\beta$ , la molécule CD4 ou la molécule CD8 selon la sous-population. La majorité des lymphocytes T du sang sont CD4<sup>+</sup> (le rapport T4/T8 est d'environ 1,5).

Les molécules CD4 et CD8 interagissent respectivement avec les molécules de classe II et de classe I du CMH. Cette interaction confère aux lymphocytes T une sélectivité pour les classes II ou les classes I.

Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> interagissent avec les cellules qui présentent des peptides antigéniques sur les molécules de classe II du CMH.

Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> interagissent avec les cellules qui présentent des peptides antigéniques sur les molécules de classe I du CMH.

Les lymphocytes T  $\gamma/\delta$  n'expriment en général ni CD4 ni CD8.

Les structures de reconnaissance et les molécules qui leur sont associées sur les lymphocytes B et les lymphocytes T $\alpha/\beta$  sont représentées sur la **figure 7**.

Les cellules NK (natural Killer) constituent une troisième catégorie de lymphocytes dits "nuls" (ou non-T/ non-B) qui n'expriment ni mIg ni TCR à leur membrane. Les cellules NK sont des cellules circulantes qui se développent dans la moelle osseuse à partir des cellules souches de la lignée lymphoïde. Ces lymphocytes dépourvus de récepteur spécifique pour l'antigène (Ag) appartiennent à l'immunité innée, ils exercent une cytotoxicité cellulaire naturelle (avant toute réponse immunitaire) vis-à-vis de cellules tumorales ou de cellules infectées par un virus. Il n'existe pas de marqueur totalement spécifique et universel pour ces cellules, que l'on caractérise par les molécules et les propriétés suivantes :

- CD56, CD57, CD2
- Absence de CD3
- Récepteur de type III pour le Fc des IgG (CD16), utilisé pour la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (Ac) ou ADCC ("antibody dependent cell cytotoxicity").
- Leur morphologie : grandes cellules contenant de nombreux granules de cytotoxicité (d'où l'appellation de LGL pour "large granular lymphocytes").

Les taux et proportions des différentes sous-populations de lymphocytes du sang circulant sont résumés dans le tableau ci-dessous :

	nombre absolu/mm <sup>3</sup>	pourcentage	marqueurs usuels
Lymphocytes totaux	1 500 – 4 000	20 à 40 % des GB	
Lymphocytes B		10 % à 20 %	CD19, CD20, CD79
Lymphocytes T		70 % à 80 %	CD3
Lymphocytes T4		60 % à 65 % des T totaux	CD4, CD3
Lymphocytes T8		30 % à 35 % des T totaux	CD8, CD3
Lymphocytes nuls : NK		5 - 15 %	CD56, CD16

***b) Les cellules dendritiques :***

Elles dérivent de précurseurs hématopoïétiques et constituent une population hétérogène pouvant être d'origine lymphoïde ou myéloïde. Les cellules dendritiques sont les seules cellules présentatrices capables de présenter efficacement les antigènes aux lymphocytes T naïfs. Leur principale fonction est de prendre en charge les antigènes aux interfaces entre l'organisme et le milieu extérieur, et de les transporter vers les organes lymphoïdes secondaires, pour le présenter aux lymphocytes T. Elles ont la capacité d'internaliser ceux-ci, de les modifier (apprêtement des antigènes ou "processing") pour les présenter aux lymphocytes T. Elles expriment des molécules du CMH de classe I et de classe II, des molécules de co-stimulation (CD80/CD86) ou d'interaction avec les lymphocytes T (CD40) et peuvent produire des cytokines au contact de ceux-ci.

***c) les phagocytes mononucléés (monocytes/macrophages) et les polynucléaires neutrophiles (PNN) et éosinophiles (PNE) :***

\* Les **monocytes/macrophages** possèdent les caractéristiques suivantes :

- Une capacité d'absorption (phagocytose de particules et pinocytose de molécules)
- Un équipement enzymatique permettant la dégradation des particules ou le clivage des molécules ingérées, la libération de substances toxiques dans le microenvironnement ;
- La capacité de produire certaines cytokines ;
- La présence à la membrane de molécules du CMH de classe II (permettant la présentation d'antigène aux T CD4<sup>+</sup> mémoires et effecteurs, mais pas aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup> naïfs) ;

- La présence à la membrane de récepteurs pour le fragment Fc des IgG de type I et II (CD64 = Fcγ-RI et CD32 = Fcγ-RII) et pour certains fragments de clivage de C3 (pour l'opsonisation et l'ADCC).

\* **Les PNN** : représentent 50 à 70% des leucocytes, ont une durée de vie courte, une meilleure mobilité et sont plus armés en systèmes bactéricides que les monocytes (mais beaucoup moins que les macrophages. Ils interviennent surtout dans les infections aiguës contre les germes à multiplication extracellulaire.

\* **Les PNE** : représentent 1 à 4 % leucocytes circulants. Comme les macrophages, la grande majorité des PNE est dispersée dans les différents tissus et organes et les PNE sanguins ne représentent que moins de 1 % du pool total des PNE dans l'organisme. Les PNE sont des cellules phagocytaires beaucoup moins efficaces que les PNN. Ce sont surtout 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 telles que les helminthes. Ils interviennent dans l'immunité antiparasitaire par un mécanisme de cytotoxicité directe ou de cytotoxicité cellulaire dépendante des Ac de classe IgG ou IgE.

## **2) Organes lymphoïdes centraux et maturation des lymphocytes :**

Les lymphocytes B et T mûrissent dans des organes lymphoïdes centraux différents.

Les lymphocytes B mûrissent : chez les mammifères dans la moelle osseuse ; chez les oiseaux dans un organe spécialisé appelé bourse de Fabricius.

Les lymphocytes T migrent vers le thymus pour y mûrir. Les lymphocytes thymiques (ou thymocytes) subissent une intense prolifération et plus de 90 % d'entre eux sont éliminés sur place. Les survivants acquièrent la capacité à réagir à l'antigène et quittent le thymus pour les organes lymphoïdes secondaires.

## **3) Organes et structures lymphoïdes secondaires :**

C'est le lieu où les lymphocytes matures et différenciés (B ou T) rencontrent l'antigène, et où s'élabore la réponse immunitaire. Les organes lymphoïdes secondaires sont colonisés par des cellules lymphoïdes provenant des organes lymphoïdes centraux. Les principaux organes (ou structures) lymphoïdes secondaires sont les suivants :

- Les ganglions lymphatiques : les réponses B et T se développent dans des zones distinctes: follicules lymphoïdes pour les cellules B (dans le cortex périphérique) ; zone paracorticale pour les cellules T (dans le cortex profond).
- La rate : elle capte les Ag véhiculés par le sang.
- Les amygdales sont des organes lymphoïdes annexés au pharynx.
- Le système lymphoïde respiratoire est fait d'infiltrats lymphoïdes siégeant dans la lamina propria de l'arbre trachéobronchique.
- Le tissu lymphoïde digestif comporte trois éléments : les plaques de Peyer (follicules B + lymphocytes T), des ganglions lymphatiques, des lymphocytes T (en majorité à TCR  $\gamma/\delta$ ) et des plasmocytes (essentiellement à Ig A) infiltrant la lamina propria.

## **II - IMMUNITE NON SPECIFIQUE ET IMMUNITE SPECIFIQUE :**

On distingue classiquement 2 types d'immunité :

- L'immunité non spécifique encore appelée immunité naturelle ou innée
- L'immunité spécifique encore appelée immunité acquise ou adaptative.

L'immunité non spécifique constitue une première ligne de défense capable d'arrêter la plupart des agents pathogènes. En cas d'échec, l'immunité spécifique est mise en jeu.

Les effecteurs moléculaires et cellulaires de l'immunité non spécifique interviennent contre les différents agents pathogènes toujours de la même façon et avec la même rapidité et la même efficacité. Il n'y a pas de reconnaissance spécifique de l'Ag et à "fortiori" pas de restriction MHC. Il n'y a pas non plus de mémoire immunitaire. De plus, les effecteurs de l'immunité non spécifique sont prêts à intervenir immédiatement à tout moment.

Par contre, les effecteurs moléculaires et cellulaires de l'immunité spécifique reconnaissent spécifiquement chacun l'Ag qui lui correspond et cette reconnaissance est soumise à une restriction allogénique pour les lymphocytes T. La mémoire immunitaire de l'Ag est gardée, la réponse secondaire est plus rapide et plus intense que la réponse primaire. Enfin l'immunité spécifique est une immunité acquise qui met un certain délai à se mettre en marche.

### III - IMMUNITE NON SPECIFIQUE OU NATURELLE :

#### 1) Barrières anatomiques :

*a) Protection mécanique* : Les épithéliums des muqueuses et de la peau constituent une barrière anatomique à l'entrée des agents infectieux. Mais cette barrière peut être occasionnellement rompue, par exemple à l'occasion de plaies ou de piqûres.

*b) Protection chimique* : des phénomènes chimiques empêchent la pénétration de l'organisme par des agents infectieux. Par exemple : la forte acidité au niveau de l'estomac.

*c) Protection biologique* : Au niveau des muqueuses, il existe une flore bactérienne commensale qui constitue une protection biologique contre la colonisation par des souches pathogènes en raison d'une compétition pour les nutriments et les sites à envahir.

#### 2) Facteurs plasmatiques et tissulaires :

- Le complément (C5b-9, C3b, C4b, C3a, C5a ...)
- Le lysozyme et la  $\beta$ -lysine : activité antibactérienne
- Les interférons (INF)  $\alpha$  et  $\beta$  : activité antivirale
- Les protéines de l'inflammation aiguë : "*C-Reactive Protein*" ou CRP,  $\alpha$ 1 anti-trypsine ....

#### 3) Facteurs cellulaires :

##### *a) Cellules NK ("Natural Killer") :*

Ces cellules ont la capacité de distinguer les cellules infectées par des virus (et les cellules cancéreuses) des cellules saines. Elles possèdent deux types de récepteurs, activateurs ou inhibiteurs. Les récepteurs de type activateur ou KAR ("Killer Activating Receptors") reconnaissent la présence de glycoprotéines d'origine bactérienne ou virale (ou tumorale) à la surface des cellules. A l'inverse, les récepteurs de type inhibiteur ou KIR ("Killer Inhibitory Receptors") bloquent la lyse des cellules saines en fixant les molécules de CMH-I (ou d'autres molécules ubiquitaires du soi) présentes à leur surface. La conséquence est que les cellules NK ne s'attaquent qu'aux cellules n'exprimant pas les molécules de CMH-I et qui expriment des néo-antigènes d'origine virale ou tumorale.

##### *b) Polynucléaires neutrophiles (PNN) et éosinophiles (PNE) et macrophages ou phagocytes mononucléés (PMN) :*

Ce sont des cellules phagocytaires et cytotoxiques (c-à-d capables de tuer certains micro-organismes sans avoir nécessairement à les internaliser).

#### **4) Les récepteurs de l'immunité inné :**

##### ***a) Motifs moléculaires reconnus : les PAMPs***

Les mécanismes de défense innée sont déclenchés par des récepteurs capables de reconnaître des motifs conservés présents uniquement chez les pathogènes. Ces motifs sont appelés PAMPs pour “ *Pathogen Associated Molecular Patterns* ”. Parmi les PAMPs, nous pouvons citer :

- Les lipopolysaccharides (LPS) des bactéries Gram négatif
- Les peptidoglycanes des bactéries Gram négatif
- L'ARN double brin (signature de la présence de virus)
- Les répétitions CpG non méthylées de l'ADN bactérien.

##### ***b) Les récepteurs de l'immunité innée : les PRRs***

Les récepteurs capables de reconnaître les PAMPs ont été appelés “ *Pattern Recognition Receptor* ” (PRR) car ils sont capables de reconnaître la présence d'agents infectieux via ces déterminants.

Les récepteurs de l'immunité innée (PRR) sont des protéines sécrétées ou présentes à la surface des cellules de l'immunité innée. Leurs caractéristiques diffèrent des récepteurs spécifiques de l'antigène mis en jeu au cours de l'immunité adaptative. Ainsi, ils ne sont pas distribués de façon clonale et ne sont pas générés par réarrangement somatique. Chaque récepteur reconnaît (interagit avec) un ou plusieurs composants partagés par un grand nombre de pathogènes (PAMPs).

Parmi ces récepteurs, on peut citer :

- la Mannan-Binding Lectin (MBL) qui initie la voie des lectines de l'activation du complément,
- le C1q qui se lie à la surface des pathogènes et initie la voie classique d'activation du complément,
- les récepteurs Toll-like : Ces récepteurs connus sous le nom de Toll-Like-Receptors (TLR) ont été décrits pour la première fois chez la drosophile où le récepteur Toll induit la production de petits peptides à activité antifongiques en réponse à des infections par des champignons. Chez les mammifères, il existe une large famille de TLRs dont 10 membres chez l'homme, la plupart sont exprimés sur la membrane et certains en intracellulaire.

Les voies de signalisation des TLR convergent vers l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B qui contrôle de nombreux gènes codant des effecteurs et médiateurs de l'immunité innée. Elles sont requises pour la maturation des cellules présentatrices d'antigènes et l'induction de l'expression de molécules co-stimulatrices : B7.1 (CD80) et B7.2 (CD86). C'est la présence de ces molécules à la surface des cellules présentatrices d'antigènes dans un contexte cytokinique donné qui permet l'activation des cellules T CD4 et CD8 liées à un complexe CMH-peptide antigénique (Figure 9).

## **5- Certaines sous-populations lymphocytaires font le lien entre l'immunité**

### **innée et l'immunité acquise :**

Les cellules T  $\gamma$ - $\delta$  représentent une sous-population intra-épithéliale des cellules T exprimant un récepteur T (d'une diversité très limitée) distinct des récepteurs T  $\alpha$ - $\beta$  classiques. Elles reconnaissent leurs Ag (composants du pathogène ou molécules du soi tels que des protéines issues des cellules lysées...) sans avoir besoin que l'Ag soit présenté par des molécules du CMH. Elles auraient donc un rôle de signalisation du danger (présence d'un pathogène ou de lésions des tissus) lors des étapes précoces de l'infection ou de régulateur des réponses immunitaires épithéliales lors de l'établissement des réponses adaptatives.

Les cellules B CD5<sup>+</sup> (ou B1) sont analogues aux cellules T  $\gamma$ / $\delta$ . En effet, elles utilisent un ensemble restreint et spécifique de segments géniques réarrangés pour générer leurs récepteurs membranaires. Elles sont présentes de façon prédominante dans la cavité péritonéale. Elles produisent spontanément (en absence de cellules T CD4) des Ac spécifiques de nombreux polysaccharides microbiens. Elles participeraient aux réponses précoces lors d'infection des cavités pleurales et péritonéales.

## **IV - IMMUNITE SPECIFIQUE OU ACQUISE :**

### **1) Reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes B et les lymphocytes T :**

Les principales caractéristiques distinctives des modes de reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T et B sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Caractéristiques	Lymphocyte B	Lymphocyte T
molécule utilisée comme récepteur spécifique de l'Ag	Immunoglobuline membranaire (mIg) ou de surface (sIg)	TCR ("T cell receptor")
cellule présentatrice	non indispensable	indispensable
nature des Ag reconnus	tout type de molécule	protéines
état des Ag reconnus	non modifié (natif)	peptide (apprêté)
structure reconnue	épitope seul	peptide + CMH

## 2) Humorale :

Elle est due aux Ac sécrétés par les lymphocytes B et les plasmocytes qui en dérivent. Les Ac interviennent de diverses façons dans l'immunité anti-infectieuse :

- **neutralisation des exotoxines bactériennes** : exotoxines tétanique, diphtérique, botulinique ...

- **neutralisation des virus** : l'Ac fixé sur le virus empêche la fixation cellulaire et la pénétration du virus. Ce mécanisme est très important pour les virus à dissémination extracellulaire. Cette neutralisation peut être facilitée et augmentée par certains fragments du complément (C1q, C3b, C4b...)

- **prévention de la fixation des micro-organismes pathogènes sur les cellules épithéliales des muqueuses** : due aux IgA sécrétoires.

- **bactériolyse dépendante du complément** : IgG et IgM. Intervient surtout pour les bactéries Gram-négatif (*Nisseriae gonorrhoeae* et *méningétidès*, *salmonella*, *schigella*, *E-coli*, *vibrion Cholerae* ...)

- **opsonisation** : (*opsonen* en grec : préparer la nourriture) :

Les micro-organismes qui sont recouverts d'Ac (IgG surtout) et/ou de C3b sont beaucoup plus facilement phagocytés par les PNN et les macrophages. L'opsonisation fait intervenir des récepteurs membranaires qui se trouvent à la surface de ces cellules (Fcγ-R et C3b-R).

- **cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC)** : IgG et IgE.

Les Ac fixés sur les micro-organismes (en particulier les virus et les parasites) permettent aux cellules dites "killer" ou cellules K de tuer ces micro-organismes. Les cellules K peuvent être des PNN, des PNE, des monocytes-macrophages, des cellules NK ou même des plaquettes. Toutes ces cellules ont un ou plusieurs récepteurs pour le fragment Fc des

IgG (Fc $\gamma$ -R) et/ou des IgE (Fc $\epsilon$ -RII ou CD 23) et sont douées d'un pouvoir cytotoxique. L'Ac assure la reconnaissance de la cible et ainsi la spécificité de l'action lytique, qui elle est exercée par la cellule Killer.

### 3) Cellulaire :

Deux types de cellules T interviennent dans l'immunité à médiation cellulaire : les cellules T cytotoxiques (Tc ou CTL pour "cytotoxic T lymphocytes") et les cellules T médiatrices des réactions d'hypersensibilité retardée (HSR).

- Les lymphocytes T cytotoxiques sont en règle générale de phénotype CD4<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup>.
- Les lymphocytes T médiateurs des réactions d'HSR sont des lymphocytes T de phénotype CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> dits auxiliaires ou "helper" et de type Th1.

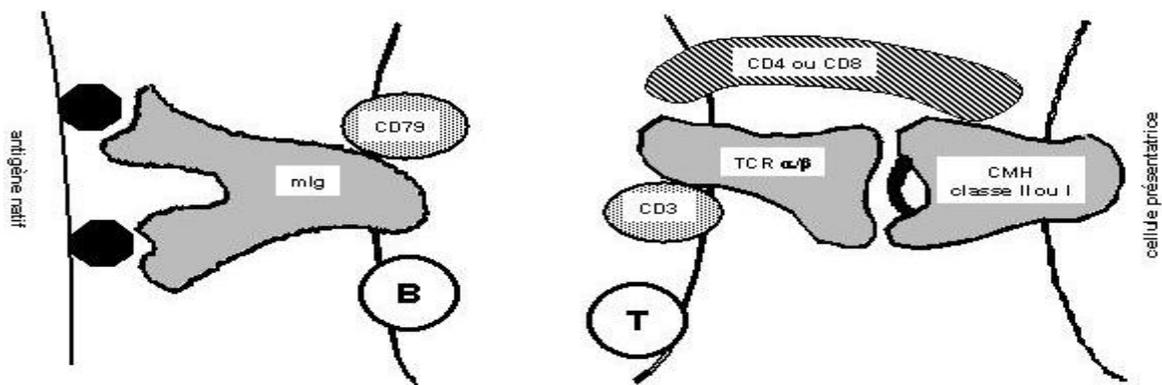
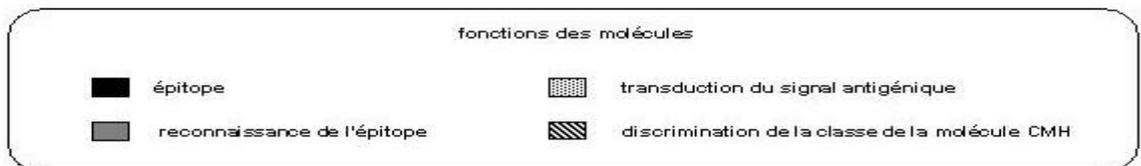
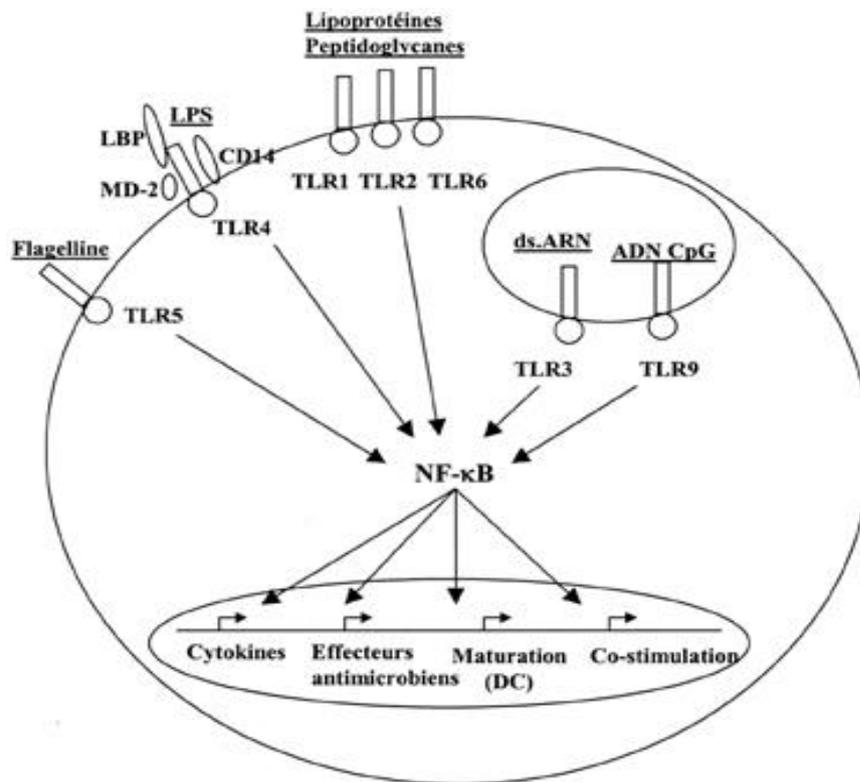
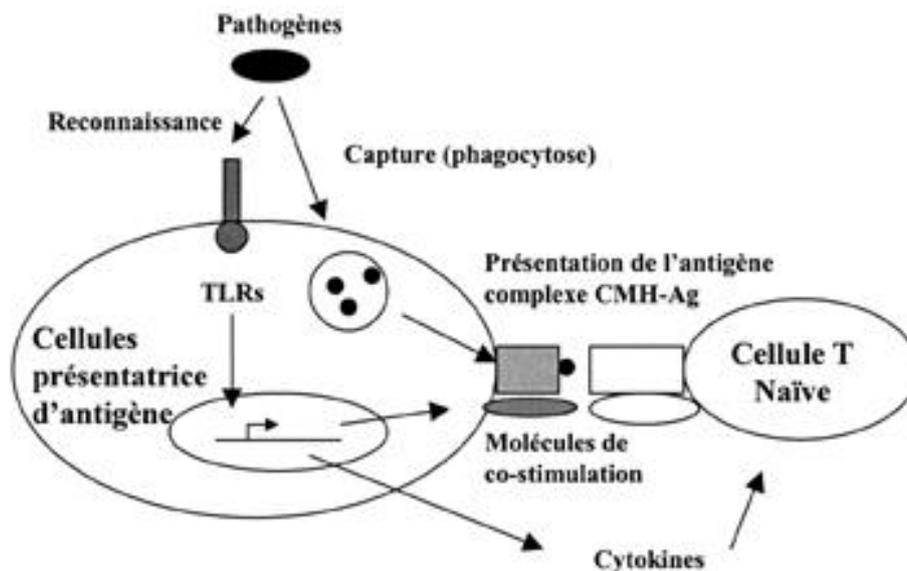


Figure 7 : structures de reconnaissance et molécules associées des lymphocytes B et T





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



**Figure 9:** Régulation de l'activation des cellules par les TLRs des cellules présentatrices d'antigènes

# IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE

Pr Arwa Kamoun

## Objectifs éducationnels

1. Décrire le schéma général de la réponse immune anti-infectieuse
  2. Citer les structures antigéniques des micro-organismes responsables de l'activation des effecteurs de l'immunité non spécifique
  3. Expliquer les mécanismes effecteurs de l'immunité naturelle et spécifique adaptés à chaque type de micro-organisme pathogène.
- 

## I- Introduction

Une infection est une invasion d'un organisme vivant par des micro-organismes pathogènes.

Quatre grandes catégories de pathogènes : Bactéries, Virus, Parasites, Champignons.

L'immunité anti-infectieuse, pour être efficace, doit utiliser des stratégies assurant l'activation rapide de puissantes réponses adaptées à des pathogènes d'une très grande diversité.

Elle met en jeu un ensemble de mécanismes complexes et coordonnés visant à la destruction du germe par le biais de la réponse immunitaire naturelle et acquise, tandis que se développe en parallèle la réaction inflammatoire tendant à limiter la dissémination du micro-organisme.

Le système immunitaire inné joue un rôle essentiel dans l'induction d'une réponse contre les micro-organismes, puis secondairement dans l'orientation de la réponse immunitaire spécifique.

## II- Effecteurs immunitaires impliqués dans la défense anti-infectieuse

L'immunité innée, immédiate, est la première ligne de protection contre les agents pathogènes. Elle inclut :

- Les barrières anatomiques (ou naturelles) : les revêtements cutanéomuqueux,
- Les effecteurs cellulaires,
- Les effecteurs humoraux,

- La réaction inflammatoire aigue.

Les effecteurs de l'immunité adaptative correspondent aux :

- Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> qui se différencient en T helper (Th) sécréteurs de cytokines
- Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> qui se différencient en Lymphocytes T cytotoxiques ou CTL
- Les lymphocytes B qui se différencient en plasmocytes sécréteurs d'Ac.

Les réponses immunitaires innées et adaptatives agissent en interaction étroite dans la protection contre les agents pathogènes.

### **III- Les composants de la réponse immunitaire innée**

#### **1- Première ligne de défense anti-infectieuse**

Les barrières anatomiques assurent une protection mécanique, chimique et biologique.

Rôle: empêcher l'entrée de micro-organismes pathogènes.

#### **Barrières mécaniques**

- Le péristaltisme intestinal.
- La turbulence de flux d'air dans les cornets du nez.
- L'escalator mucociliaire des bronches.
- La toux.
- L'écoulement des liquides biologiques du tractus urinaire ou biliaire, les larmes, la sueur entraînent un drainage permanent des germes.
- La desquamation permanente des couches superficielles de tous les épithéliums de revêtements.

#### **Barrières chimiques**

Certaines substances chimiques naturelles présentes dans les liquides biologiques ont des effets bactériostatiques ou bactéricides vis-à-vis de plusieurs micro-organismes:

- Le pH acide de la sueur et les acides gras du sébum inhibent la croissance bactérienne au niveau de la peau.
- L'acide gastrique et les sels biliaires protègent le tractus gastroduodéal.

- Le mucus contient certaines substances comme le lysosyme, la lactoferrine, la lactoperoxydase et les défensines qui ont des effets antibactériens ainsi que des antifongiques.
- Production par la cellule épithéliale de substances inhibitrices comme le lysozyme et la phospholipase A déversés dans les larmes et la salive.
- Les enzymes digestives.
- Les peptides antimicrobiens (défensines) produits par certaines cellules épithéliales.

### **Barrières biologiques**

La flore commensale tapissant les épithéliums cutanés et muqueux évite une prolifération indésirable de micro-organismes pathogènes par deux mécanismes :

- Compétition avec les agents pathogènes pour les substances nutritives et pour les sites d'adhésion à l'épithélium.
- Production de produits chimiques antimicrobiens comme l'acide lactique.

Une antibiothérapie à large spectre peut entraîner un déséquilibre de la flore bactérienne.

### **2- Deuxième ligne de défense**

Rôle: empêcher la propagation de micro-organismes pathogènes

Elle est représentée par:

Des cellules de l'immunité innée, la réaction inflammatoire et les protéines antimicrobiennes

#### **a. Cellules de l'immunité innée**

- Les PNN, les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques phagocytent et détruisent les éléments étrangers. Ils reconnaissent des molécules représentatives des grandes familles d'agents microbiens : les PAMPs ("Pathogen Associated Molecular Patterns"), ceci grâce à leurs immunorécepteurs PRRs ("Pathogen Recognition Receptors", ex TLR).

Les PAMPs sont des constituants de pathogènes exprimés exclusivement par eux et jamais par les cellules de l'hôte. Ils définissent des groupes car ils sont communs à de nombreuses espèces de pathogènes et sont hautement conservés.

ex : le LPS (Lipopolysaccharide) des bactéries Gram négatif, le peptidoglycane des bactéries Gram positif, les lipoarabinomannanes des Mycobactéries, la flagelline des pathogènes flagellés, l'ADN bactérien riche en motif CpG, l'ARN double brin des virus...

- Les cellules NK reconnaissent et détruisent les cellules infectées. Elles secrètent également des cytokines (IFN $\gamma$  +++)

#### b. **La réaction inflammatoire**

Impliquée dans l'immunité naturelle en réponse à un signal de danger (traumatisme, infection).

Peut être locale (vasodilatation locale, exsudation plasmatique, et afflux local de cellules de l'immunité innée)

Ou générale : associée à des signes généraux comme la fièvre.

La fièvre : induite par des médiateurs lipidiques (PGE<sub>2</sub>) et surtout les cytokines pro-inflammatoires qui agissent sur l'hypothalamus. Rôle de la fièvre :

→ inhibe la croissance microbienne

→ fonctions immunitaires plus efficaces (PNN, macrophages, lymphocytes)

#### c. **Les protéines antimicrobiennes**

Système du complément et Interférons

### **IV- Immunité adaptative**

L'immunité adaptative reconnaît des structures antigéniques spécifiques.

#### **1- Immunité humorale**

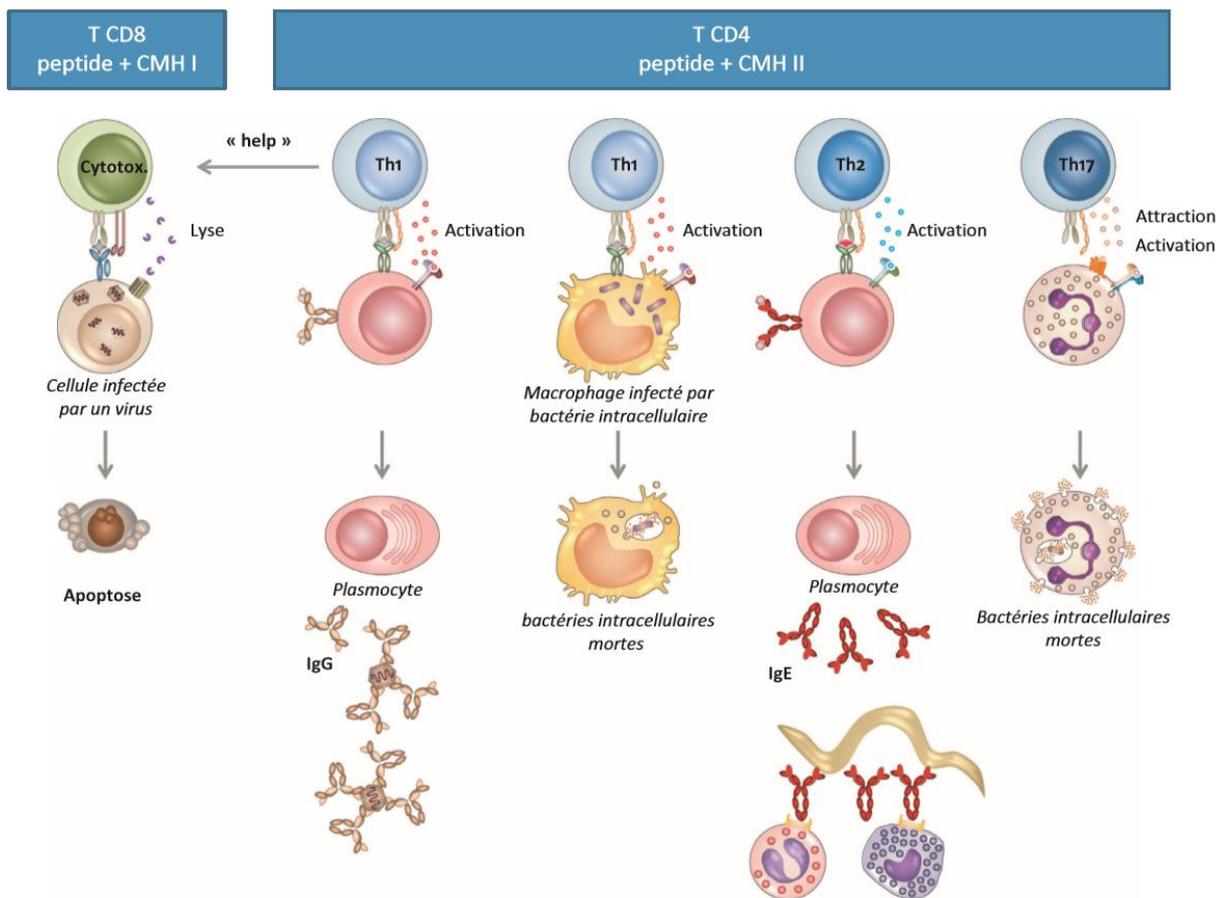
Le premier contact avec un agent pathogène donné, aboutit à la production essentiellement d'anticorps IgM spécifique mais de faible affinité. Ces anticorps sont capables d'assurer une bonne protection.

En cas de réinfection par le même pathogène, la réponse humorale est plus rapide (réactivation des lymphocytes B mémoires) et plus efficace avec la production d'anticorps spécifiques d'isotypes variés et de forte affinité.

#### **2- L'immunité cellulaire spécifique**

Rôle des lymphocytes T (Figure 1) :

- Rôle direct dans l'élimination des pathogènes en tuant les cellules infectées.
- Induction de l'acquisition de fonctions par d'autres cellules du système immunitaire soit par interaction directe avec ces cellules ou par le biais de la sécrétion de cytokines.
- Les lymphocytes T régulateurs interviennent pour limiter les dommages tissulaires secondaires aux réactions inflammatoires consécutives à l'infection.



**Figure 1** : Rôle des réponses T dans les différents types de réponses immunes contre les micro-organismes.

## V- Primo-infection et réponse secondaire

### 1- La première pénétration d'un agent infectieux (primo-infection)

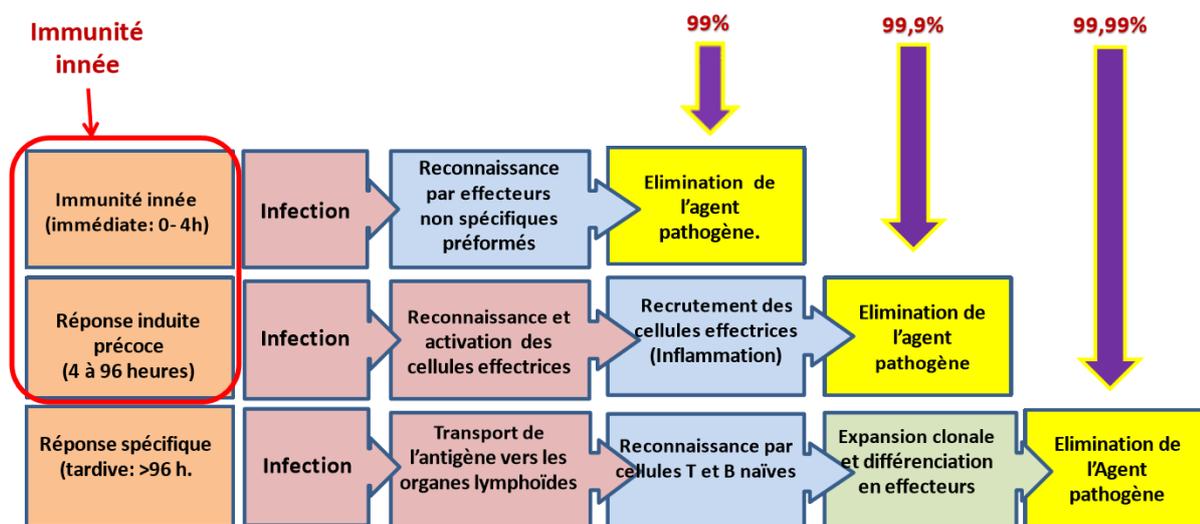
Dans ce cas, le système immunitaire ne connaît pas encore l'agent infectieux

→ pas de mémoire spécifique.

Cette primo-infection se déroule en 2 étapes :

- Dès les premières heures, la réponse immunitaire repose sur l'immunité innée. L'Immunité Innée contrôle la quasi-totalité des infections (figure 2)
- Ce premier contrôle de la multiplication de l'agent infectieux va laisser le temps à l'immunité adaptative (= acquise), spécifique de l'antigène, de se développer. Cette immunité spécifique est très efficace.

Une fraction seulement d'individus infectés par divers pathogènes développe des signes cliniques d'infection, sous l'influence de facteurs génétiques de susceptibilité ou de résistance (figure 2).



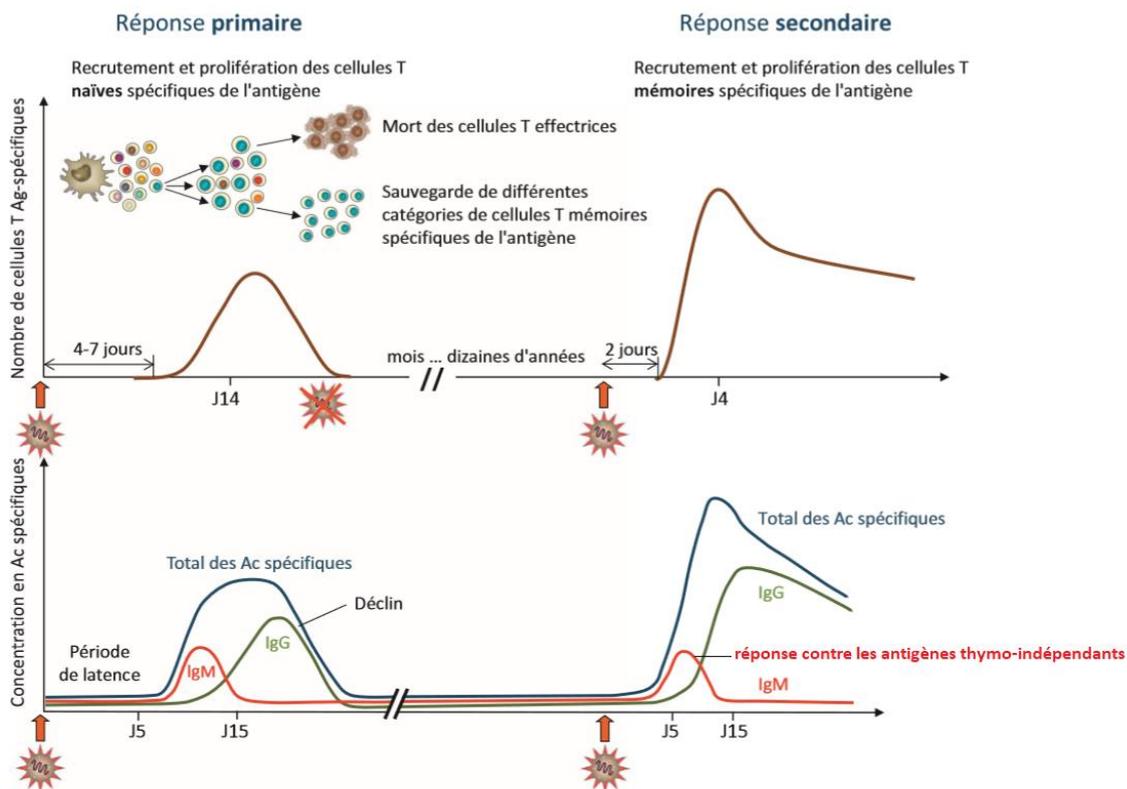
**Figure 2 :** L'immunité innée contrôle la quasi-totalité des infections

## 2- La réponse secondaire

Lors d'une réinfection, le système immunitaire sera le plus souvent capable d'éliminer l'agent pathogène avant qu'il ne puisse induire des symptômes

➔ Protection acquise après la primo-infection: due à la mémoire immunitaire T et B. Les cellules « mémoires » seront capables de mieux réagir lors d'un nouveau contact antigénique (figure 3).

En outre, il persiste souvent au décours de la primo-infection des anticorps circulants spécifiques de l'agent infectieux. Ces anticorps sont immédiatement efficaces.



**Figure 3 :** Réponses primaire et secondaire

Ce schéma illustre la dynamique des cellules T spécifiques de l'antigène (schéma supérieur) et des anticorps spécifiques IgM et IgG (schéma inférieur) au cours du premier contact avec un antigène (réponse primaire) et d'un contact ultérieur (réponse secondaire). L'intensité et la rapidité de mise en œuvre de la réponse secondaire traduisent l'activation des cellules mémoires générées au décours de la réponse primaire.

## VI- Réponses immunes dirigées contre les bactéries à multiplication extra-cellulaire

Les mécanismes de défenses appropriés contre une infection bactérienne dépendent de :

- La capacité d'invasion : bactérie intra ou extra cellulaire.
- La structure de la bactérie :
  - Structure de la paroi : Gram<sup>+</sup> ou Gram<sup>-</sup>, mycobactéries...
  - Présence ou non d'une capsule (perturbe les fonctions des phagocytes et du complément).
- La nature des facteurs de virulences de la bactérie : Production de toxines et/ou d'enzymes

## 1- Effecteurs de l'immunité innée : système du complément, PNN et Macrophages

### a. Complément

L'activation de la voie alterne et celle des lectines du complément sont déclenchées par le contact avec une surface bactérienne.

Le peptidoglycane de la paroi des bactéries gram positif et le LPS de la paroi des bactéries gram négatif activent la voie alterne du complément.

Les bactéries qui expriment le mannose à leur surface peuvent se lier à la "mannane binding lectine" (MBL) qui est homologue au C1q → activation du complément par la voie des lectines.

Parmi les résultats de l'activation du complément:

- Lyse des bactéries Gram<sup>-</sup> par le complexe d'attaque membranaire (MAC)
- Opsonisation et activation de la phagocytose de la bactérie (C3b, C3bi)
- Participation des anaphylatoxines (C3a et surtout C5a) à la réponse inflammatoire par le recrutement et l'activation des PNN et des monocytes/macrophages.

### b. Les PNN et les Macrophages

#### Les polynucléaires neutrophiles

- Sont les premières cellules à migrer du sang circulant vers le site infecté : en réponse aux différents **chimioattractants** induits par l'agression bactérienne, de façon **orientée** vers leur cible.
- Reconnaittent leur cible par l'intermédiaire des PRR → La reconnaissance des bactéries → phagocytose.

#### Les monocytes/macrophages

- Interviennent dans un deuxième temps
- Rôle : élimination des polynucléaires apoptotiques, et des débris cellulaires ou bactériens.

## 2- Effecteurs de l'immunité spécifique :

**La réponse immunitaire humorale** est la principale réponse immunitaire adaptative protectrice contre les bactéries à multiplication extracellulaire.

Les anticorps agissent de différentes manières.

- Lyse médiée par le complément : essentiellement bactéries Gram<sup>-</sup>
- Neutralisation des toxines bactériennes : ex toxine diphtérique, toxine tétanique
- Inhibition de la liaison des bactéries à l'épithélium des muqueuses
- Opsonisation et stimulation de la phagocytose : l'opsonisation est essentielle pour la phagocytose des bactéries qui possèdent des capsules polysaccharidiques (pneumocoque, hemophilus influenzae, méningocoque).

**La réponse des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> de type Th17:** Dans un environnement où il y a de fortes concentrations de TGF- $\beta$  et d'IL-6, un lymphocyte T CD4<sup>+</sup> naïf va se différencier en lymphocyte Th17 → l'IL-17 → recrutement activation des PNN.

### VII- Les réponses immunes dirigées contre les bactéries à développement intra-cellulaire

Les bactéries à multiplication intracellulaire sont phagocytées par les macrophages où ils peuvent survivre. Elles peuvent même s'y multiplier en inhibant les mécanismes tueurs du macrophage.

Exemple: Mycobacterium tuberculosis, Lysteria, Salmonella, Brucella, Yersinia, Rickettsia...

Le principal mécanisme de défense repose sur l'immunité spécifique à médiation cellulaire et notamment la réaction d'hypersensibilité retardée (HSR).

**La réaction d'HSR** dépend de l'activation de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> de type Th1 et de la production de cytokines (IFN $\gamma$  et TNF  $\alpha$  et  $\beta$ ).

IL-12 produite par les cellules présentatrices d'antigènes → la différenciation des Th naïfs en Th1 qui sécrètent de l'IL-2, de l'IFN $\gamma$  et du TNF  $\alpha$  et  $\beta$ .

Les Th1 spécifiques quittent l'organe lymphoïde dans lequel ils se sont différenciés et seront guidés vers le site de l'infection grâce aux chimiokines produites in-situ. Une fois arrivés sur place, ils continuent à produire ces cytokines et chimiokines qui vont :

- Activer les macrophages et augmenter leur pouvoir bactéricide.
- Recruter des monocytes qui se transforment en macrophages, des lymphocytes NK et des lymphocytes Th1 → boucle de réponse Th1 → apparition d'un granulome caractérisé par l'accumulation de macrophages et de lymphocytes T CD4<sup>+</sup>.

Ce système auto-amplificateur est contrôlé négativement, par les cytokines de type Th2 (IL-4 et l'IL-10).

**Les lymphocytes T cytotoxiques (CD8<sup>+</sup>)** jouent un rôle important dans l'éradication de certains pathogènes à multiplication intracellulaire tels que *Listeria monocytogenes*.

**Les lymphocytes T $\gamma$ / $\delta$**  jouent un rôle important dans l'éradication de certaines bactéries à multiplication intracellulaire telles que les mycobactéries.

#### **Parfois réponse Th2 (< Th1)**

- Elle diminue les manifestations inflammatoires potentiellement délétères liées aux sécrétions des Th1.
- Elle diminue en contrepartie la protection conférée par les Th1.

**L'immunité humorale** : rôle modeste dans l'élimination des bactéries à développement intracellulaire.

Ex : Dans les infections à salmonelles, les anticorps pourraient prévenir la transmission de cette bactérie de cellule à cellule après l'apoptose des macrophages infectés.

NB : Les Ac sériques spécifiques de bactéries à multiplication intracellulaire constituent un marqueur facile du contact avec ces agents pathogènes.

**L'immunité innée est peu efficace.** Les cellules **NK** jouent néanmoins un rôle important

## VIII- Réponses immunitaires antivirales

Les virus se développent dans les cellules de l'hôte qu'ils infectent et dont ils détournent le métabolisme à leur profit.

Les virus se caractérisent par une vitesse de multiplication souvent exceptionnelle.

⇒ Le rôle de l'immunité innée est donc fondamental lors de la primo-infection.

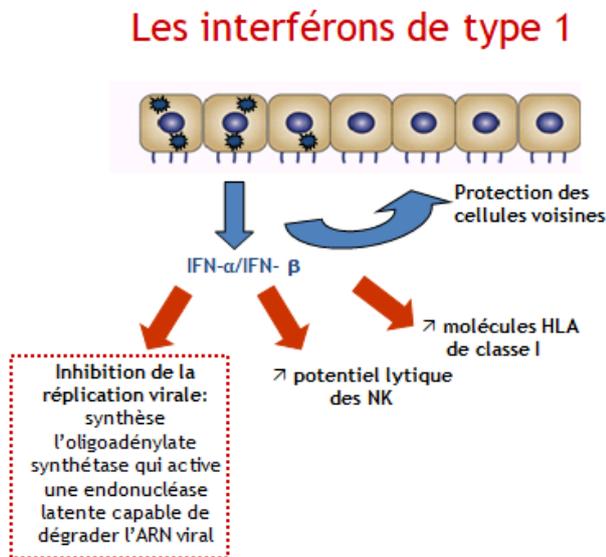
### L'immunité innée

Elle repose principalement sur les interférons type I ( $\alpha$  et  $\beta$ ) et les cellules NK.

Les interférons type I sont produits par les cellules infectées par des virus.

Ils induisent une résistance à la réplication virale des cellules avoisinantes en se liant à leurs récepteurs spécifiques (figure 4).

Les IFN type I stimulent la réponse immune anti-virale en activant les cellules NK.



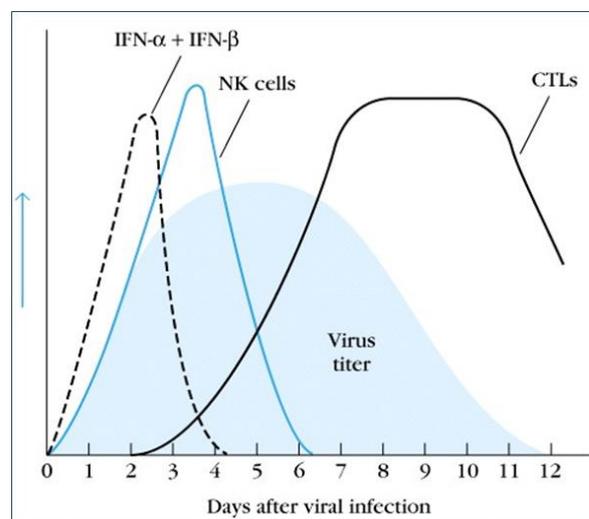
**Figure 4 :** Rôle des interférons de type I dans l'immunité antivirale

Les cellules NK sont capables de reconnaître des cellules infectées par un virus, parce que cette infection s'accompagne souvent d'une perte d'expression des molécules d'histocompatibilité de classe I. Cette reconnaissance permet donc la destruction des cellules entrain de répliquer le virus.

## L'immunité spécifique

Elle repose essentiellement sur les CTL (lyse des cellules infectées). (Figure 5)

Parallèlement au développement de cette réponse lymphocytaire T CD8<sup>+</sup>, se développe une réponse lymphocytaire B spécifique d'antigène, qui aboutit avec un certain retard à la production d'IgM, puis d'IgG/IgA spécifiques du virus. Ces anticorps jouent un rôle minime dans la résolution de la primo-infection. Les Ac exercent un rôle protecteur essentiellement au cours des réponses secondaires.



**Figure 5 :** Cinétique de la réponse immunitaire au cours de la primo-infection virale

### IX- Immunité antiparasitaire :

Les parasitoses sont un problème mondial de santé publique.

Les réponses immunitaires dirigées contre les parasites sont extrêmement diverses.

Elles dépendent :

- du type de parasite: protozoaire (ex: *Plasmodium Falciparum* responsable du paludisme ou *toxoplasma gondii* responsable de la toxoplasmose) ou helminthes (oxyures, anguillules, bilharzies); et
- de son stade de développement.

#### 1- La réponse immunitaire dirigée contre les helminthes

Il s'agit d'une réponse locale dans la muqueuse intestinale.

Les acteurs de l'immunité innée entrent rapidement en action.

Dans un second temps, dans les plaques de Peyer, la cellule dendritique présente des antigènes du parasite et, par son orientation de la réponse T vers une réponse Th2 (production d'IL-4 et d'IL-13), elle induit une sécrétion d'IgE par les lymphocytes B. Les IgE reconnaissent par leurs fragments Fab le parasite tandis que leur fragment Fc se fixe sur les récepteurs Fcε-R1 des mastocytes et des éosinophiles → **dégranulation** et libération par les éosinophiles de facteurs toxiques pour le parasite et par les mastocytes d'histamine et de facteurs chimiotactiques des éosinophiles.

## **2- La réponse immune dirigée contre les protozoaires**

Inhibition de la pénétration des parasites dans leur cellule cible : Ac neutralisant

Cytotoxicité vis-à-vis des cellules infectées :

- Cytotoxicité restreinte par le CMH
- Cytotoxicité cellulaire dépendante des Ac (ADCC): cellules Killer.

## **X- L'immunité antifongique**

La paroi des cellules fongiques contient de nombreux glycolipides et protéines qui ne sont pas exprimés dans les cellules de l'hôte : PAMPs.

Ces PAMPs sont reconnus par les PRRs à la surface des cellules phagocytaires (PNN et macrophages) → phagocytose.

Les lymphocytes Th1 produisent l'IFN $\gamma$  → qui augmente l'activité antifongique des macrophages.

L'activation des PNN par l'IL-17 produite joue un rôle majeur pour amplifier la réponse des PNN dans l'immunité antifongique.

NB: susceptibilité aux infections fongiques en cas de :

- Neutropénie
- Déficit Th17

## **XI- Conclusion**

Les réponses immunes mises en place sont adaptées à la nature du pathogène, et en particulier à son développement intracellulaire ou extracellulaire, à son nombre et à sa virulence.

Les défenses contre les bactéries extracellulaires sont caractérisées par la mise en place de nombreuses réponses innées et d'une réponse humorale si nécessaire.

Les réponses antivirales majeures sont les lymphocytes cytotoxiques, NK et T CD8<sup>+</sup>.

La réaction d'hypersensibilité retardée est typiquement mise en place lors d'une réponse contre les bactéries intracellulaires.

Les réponses T CD4 Th17 sont importantes dans les défenses antibactériennes et antifongiques.

# **PATHOLOGIE ET EXPLORATION DU COMPLEMENT**

*Dr Hatem MASMOUDI*

## **Objectifs**

1. Définir le complément
2. Énumérer les 3 voies d'activation du complément et en citer les composants
3. Identifier les activateurs des voies du complément
4. Préciser les fonctions biologiques du complément
5. Préciser les différentes méthodes et techniques d'exploration du complément
6. Préciser les caractéristiques des principaux déficits congénitaux du complément
7. Expliquer les différentes situations pouvant amener à une hypo-complémentémie
8. Élaborer la démarche diagnostique devant une baisse ou une augmentation de CH50.

## **I- INTRODUCTION :**

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

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.

## **II- RAPPELS SUR LES VOIES D'ACTIVATION DU COMPLEMENT :**

La voie classique est activée principalement par les complexes antigène- anticorps (Ag - Ac) impliquant des Ac de type IgM ou des IgG.

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 lipo-polysaccharides, 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.

La C3 convertase classique est constituée par le complexe  $\overline{C4b2a}$  obtenu par action de C1s sur les fragments C4 et C2. Tandis que la C3 convertase alterne amplificatrice est constituée par le complexe  $\overline{C3bBb}$  obtenu par action du facteur D sur le fragment B associé au C3b obtenu par la phase initiale et déposé sur une surface activatrice. Les C5 convertases classique et alterne sont obtenues par le dépôt de plusieurs fragments C3b à côté du complexe C3 convertase. Le complexe d'attaque de la membrane ou MAC est constitué par le complexe  $\overline{C5b-9}$  formé par l'association d'un fragment C5b avec C6, C7, C8 et plusieurs molécules C9 qui polymérisent et creusent le canal transmembranaire (voir schéma).

### **III- 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 de bactéries, de virus ou de cellules infectées par des virus conduit au complexe d'attaque membranaire  $\overline{C5b-9}$  qui, avec l'aide du lysozyme et en présence ou non d'Ac spécifiques, est capable de lyser celles-ci.

*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/macrophages) qui portent des récepteurs membranaires spécifiques de ces fragments du complément (CR1 : C3b/C4b-R, CR3 et CR4 : C3bi-R) 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 PNB et les cellules phagocytaires.

### Les principaux effets pro-inflammatoires des anaphylatoxines sont :

\* Contraction du muscle lisse qui se traduit par une vasoconstriction (au niveau des veinules post-capillaires) avec augmentation de la perméabilité capillaire (œdème) et une bronchoconstriction.

\* Libération d'histamine par les PNB et les mastocytes, l'histamine qui vient induire et/ou 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 C1q, C3b et 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 précipitation.

### *b) Epuration :*

Les complexes immuns opsonisés par C3b ou C4b se lient au CR1 des érythrocytes 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, le nombre de récepteurs CR1 à la surface des GR est souvent fortement abaissé.

## **IV- POLYMORPHISME DES COMPOSANTS DU COMPLEMENT :**

Plusieurs composants du complément présentent un polymorphisme génétique, en particulier C2, C4 et le facteur B (Bf). Les gènes codant pour ces 3 composants font partie des gènes de classe III du système HLA. Ils sont situés sur le chromosome 6 entre les gènes de classe I (HLA- A, B et C) et les gènes de classe II (HLA- DP, DQ et DR).

C4 est codé chez l'homme par un système à 2 loci étroitement liés : C4A et C4B. Le fragment C4 produit par le locus C4B a une activité hémolytique 4 fois supérieure à celle du C4 produit par le locus C4A qui de son côté est beaucoup plus efficace dans la solubilisation des complexes immuns.

Les allèles Bf-C2-C4A-C4B permettent de définir des haplotypes du complément ou complotypes qui sont en déséquilibre de liaison avec les haplotypes HLA.

Le polymorphisme de ces gènes de classe III ainsi que celui de C3 et C6 peut être utilisé en médecine légale et en génétique des populations. Les gènes du complément sont en règle générale autosomiques co-dominants.

## **V- EXPLORATION DU SYSTEME DU COMPLEMENT :**

### **1) Dosage du CH50 ou complément hémolytique total :**

Consiste à mesurer l'activité hémolytique du sérum vis à vis d'hématies de mouton sensibilisées par un Ac de lapin anti-GR de mouton.

Le résultat est exprimé en nombre d'unités CH50 par ml de sérum. La moyenne normale chez l'homme est de 40 unités CH50 par ml.

Le titrage de CH50 apprécie l'activité fonctionnelle globale de la voie classique d'activation du complément. Un dosage comparable existe pour la voie alterne (VAH50) mais il n'est pas très fiable et peu utilisé.

### **2) Dosages hémolytiques des composants du complément :**

Ces dosages utilisent des techniques analogues à celle du CH50 en se plaçant dans des conditions expérimentales où seul le facteur à doser se trouve en concentration limitante. Ils apprécient l'activité fonctionnelle du composant à doser.

### **3) Dosages immunochimiques des protéines du complément :**

Le dosage pondéral des différents composants du système du complément dans le sérum est réalisable par immuno-diffusion radiale (Mancini), immuno-turbidimétrie ou immuno-néphélométrie.

Il est effectué en routine pour C3 et C4. La moyenne normale chez l'homme est de 1 mg/ ml pour C3 et 0,3 mg/ ml pour C4.

## **VI - LE COMPLEMENT EN PATHOLOGIE :**

En pathologie humaine, une augmentation de la concentration plasmatique des protéines du complément et de l'activité fonctionnelle est observée dans les syndromes inflammatoires et corrélée à une augmentation des protéines inflammatoires hépatiques.

L'abaissement du complément témoigne soit d'une activation in vivo du complément par la voie classique et /ou la voie alterne et d'une consommation des composants intéressés (respectivement C1q, C4, C3 et/ou B, C3), soit d'un déficit congénital ou acquis en l'un des composants.

### **1) Déficits congénitaux du complément :**

On a décrit des déficits congénitaux complets pour la quasi-totalité des composants du complément. La plupart de ces déficits sont des déficits quantitatifs ou de synthèse (absence de synthèse d'un composant), mais il existe des déficits qualitatifs ou fonctionnels (synthèse d'un composant anormal et dépourvu d'activité biologique).

Mis à part le déficit en C1-Inh responsable de l'œdème angioneurotique et transmis selon le mode autosomique dominant (les hétérozygotes expriment le déficit et la maladie), tous les autres déficits sont transmis selon le mode autosomique co-dominant c'est à dire que les 2 gènes allèles s'expriment et par conséquent que seuls les homozygotes QO/QO ont le déficit complet (QO est la désignation des allèles nuls responsables des déficits de synthèse).

Exception faite des déficits homozygotes en C4 (les sujets homozygotes C4AQO compensent plus ou moins bien leur déficit par le C4 produit par les allèles au locus C4B et vice versa) et en C9 (le complexe C5b-8 est doué d'une certaine activité hémolytique), tous les déficits homozygotes des composants de la voie classique se traduisent par un taux de CH50 nul ou très abaissé. Les dosages immunochimiques permettent d'identifier le composant déficitaire.

Le déficit homozygote en C2 est le plus fréquent des déficits congénitaux complets du complément (1 sujet sur 10 000). La fréquence de l'allèle nul C2QO est d'environ 1% dans la population générale. La fréquence de chacun des allèles nuls C4AQO et C4BQO dans la population générale est de 15% au moins.

L'œdème angioneurotique héréditaire dû au déficit hétérozygote en C1-Inh est une maladie rare mais grave qui se manifeste dans l'adolescence par la survenue d'œdèmes récidivants (type œdème de Quincke) des extrémités, de la face, des voies respiratoires

supérieures et de crises de douleurs abdominales. Elle peut être traitée efficacement par les anti-plasmines et/ou certains androgènes.

Les déficits homozygotes en composants terminaux C5 à C8 de même que les déficits en C3 et en facteur I sont accompagnés d'une susceptibilité accrue aux infections.

Les déficits en composants de la voie classique C1, C4 et C2 s'accompagnent dans environ deux tiers des cas d'un syndrome lupique. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer cette association :

- Le déficit en complément pourrait favoriser la persistance d'un agent infectieux dans l'organisme.
- Le déficit en complément favoriserait la précipitation et le dépôt des complexes immuns.
- Le déficit en complément ne jouerait pas de rôle direct mais serait un simple marqueur de la maladie dont le gène responsable serait présent au niveau du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Cette hypothèse est peu vraisemblable dans la mesure où elle n'explique pas les déficits en C1 dont le gène n'est pas associé au CMH.

## **2) Hypocomplémentémies acquises par défaut de synthèse :**

Se rencontrent au cours des insuffisances hépatocellulaires sévères ; le foie étant avec les intestins et les poumons le site privilégié de la biosynthèse des composants du complément.

## **3) Hypocomplémentémies acquises par consommation :**

- Une diminution du CH50 et des composants de la voie classique C1 à C4 est souvent observée au cours du lupus érythémateux disséminé, des cryoglobulinémies mixtes, de la glomérulonéphrite aiguë post streptococcique et de nombreuses autres maladies à complexes immuns.

Dans le lupus érythémateux disséminé, la baisse du C4 est la plus fréquente et la plus nette. L'interprétation des résultats doit tenir compte de la variabilité physiologique de la concentration sérique de C4 (4 gènes allèles) et de l'existence de syndromes lupiques associés aux déficits en C1, C4 et C2. La diminution de C3, plus inconstante, témoigne généralement d'une forme avec atteinte viscérale, en particulier rénale.

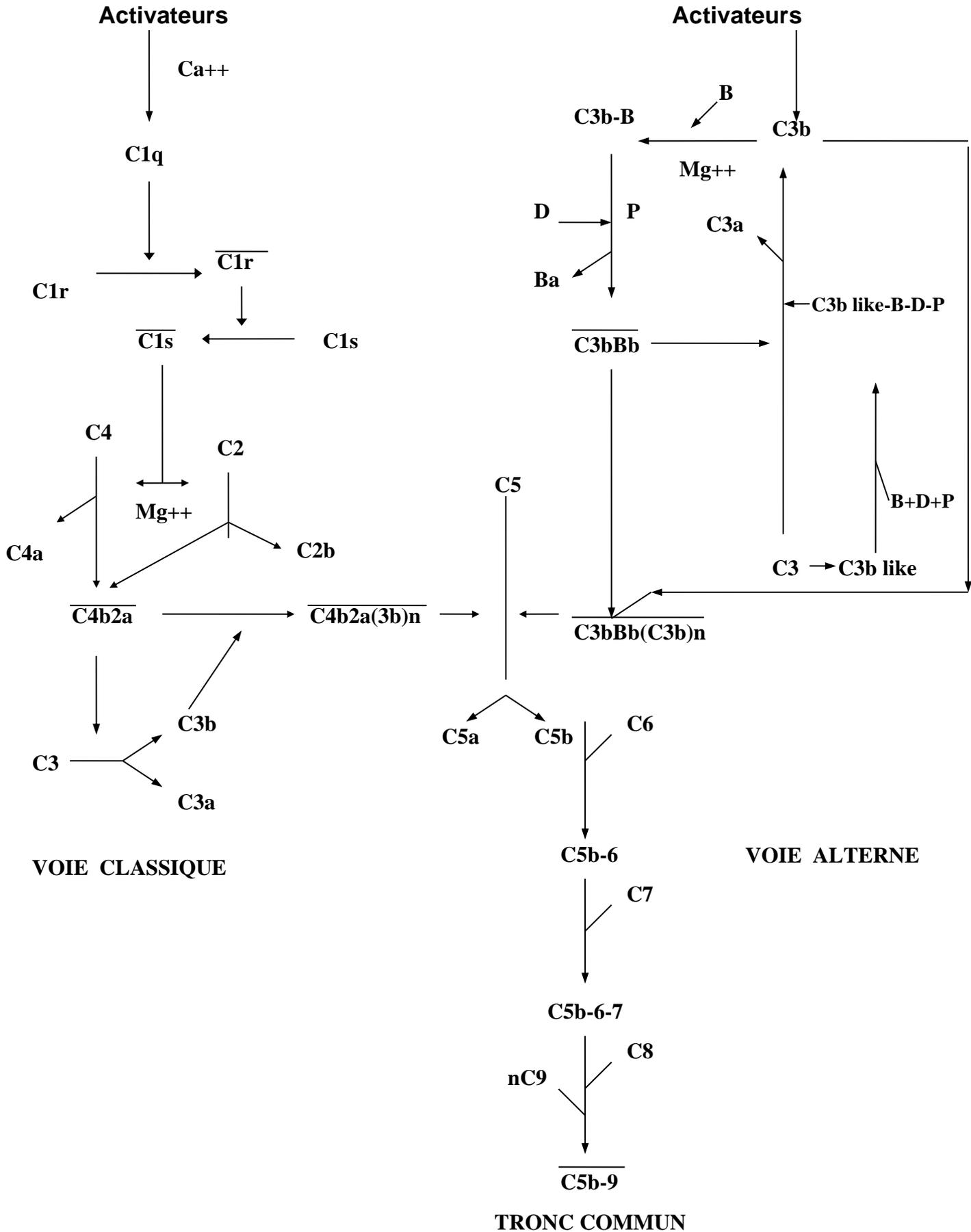
- Une baisse du C3 et du facteur B sans diminution conjointe du taux de C1, C2 et C4, se rencontre au cours des glomérulonéphrites membrano-prolifératives (GNMP), notamment avec facteur néphrétique circulant (C3-nef) et des septicémies à gram négatif.

C3-nef est un auto-Ac dirigé contre la C3-convertase alterne (C3bBb) qu'il stabilise ce qui entraîne un clivage permanent de C3.

#### **4) Hypercomplémentémies :**

L'hyper-complémentémie traduit généralement une augmentation de la synthèse des différents composants lors d'une réaction inflammatoire aiguë ou par des processus tumoraux.

# ACTIVATION DU COMPLEMENT (Schéma de synthèse)



## RECEPTEURS MEMBRANAIRES POUR LE COMPLEMENT

Récepteur	Distribution cellulaire
CR1 = CD35 = C3b/C4b-R	PNN, M $\phi$ , PNE GR, LB, FDC
CR2 = CD21 = C3d-R = EBV-R	LB, FDC Cellules épithéliales du nasopharynx
CR3 = CD11b/CD18 = iC3b-R	PNN, M $\phi$ NK
CR4 = CD11c/CD18 = iC3b-R	PNN, M $\phi$ NK
C3a/C4a-R	PNB, Mastocytes PNN, M $\phi$
C5a-R	

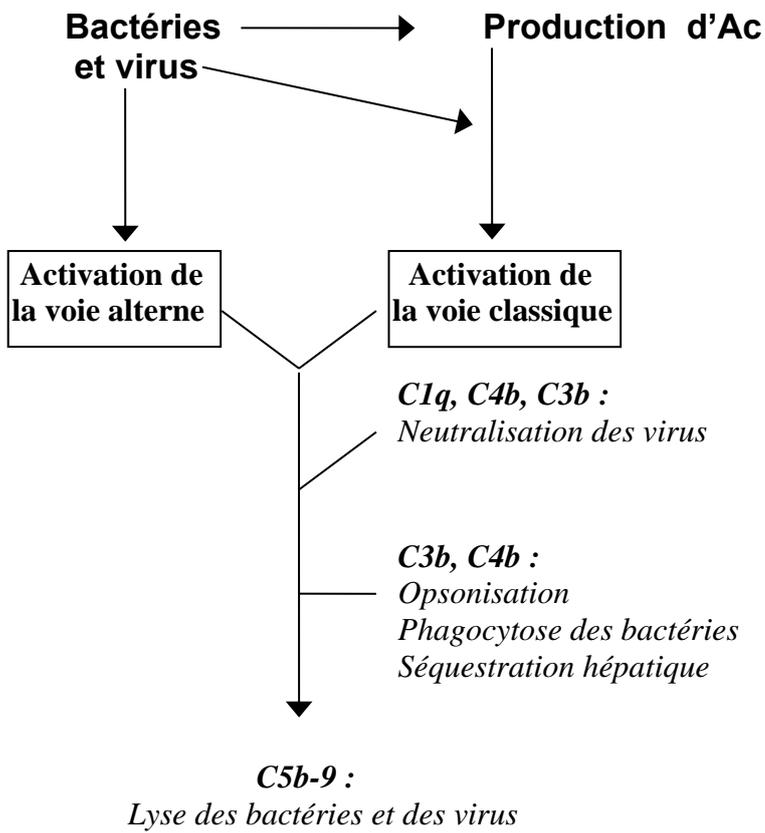
FDC : cellules folliculaires dendritiques

LB : lymphocytes B

M $\phi$  : monocytes - macrophages

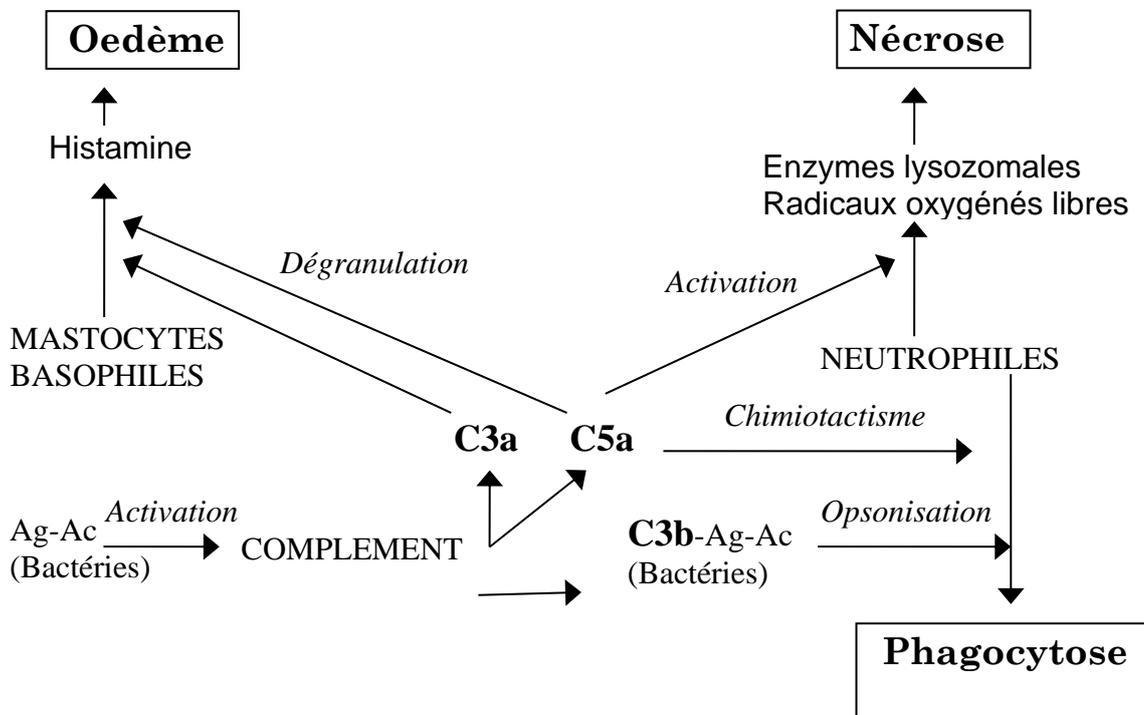
## REGULATION EXOGENE DE L'ACTIVATION DU COMPLEMENT

	FACTEURS PLASMATIQUES	PROTEINES OU RECEPTEURS MEMBRANAIRES
VOIE CLASSIQUE	- C1 Inh - C4bp - I	- DAF (++) - MCP (++) - CR1(+)
VOIE ALTERNE	- H - I	- CR1 (++) - DAF (+) - MCP (+)
TRONC COMMUN	- S (vitronectine)	- HRF (C8bp + CD59)



← **Fig 2a**

**Fig 2b**  
↙



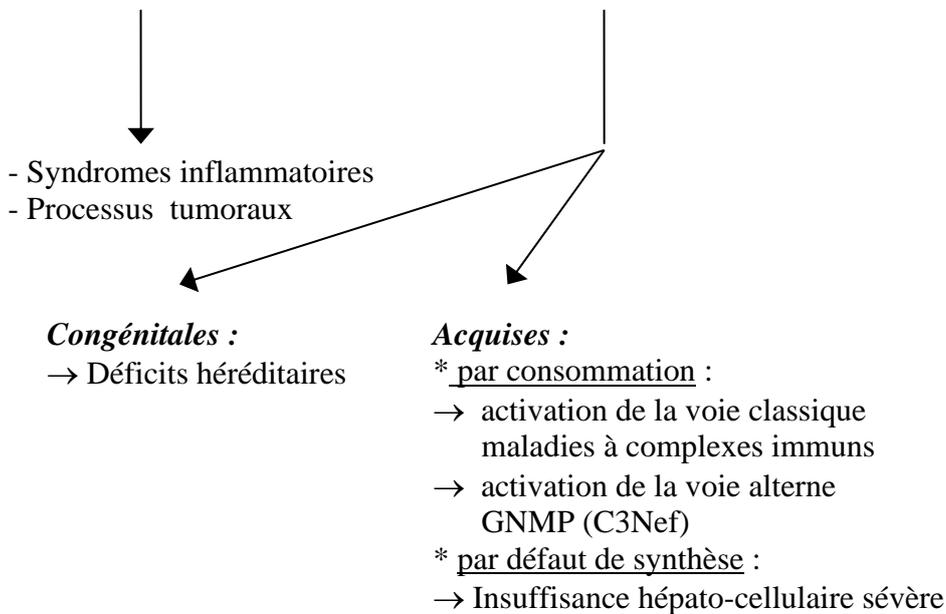
**Fig 2a, 2b : Effets biologiques du complément**

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

*Tableau 3 : Effets biologiques du complément*

### Hypercomplémentémies

### Hypocomplémentémies



**Fig 3 : Variations du complément en pathologie humaine**

# LES COMPLEXES IMMUNS EN PATHOLOGIE HUMAINE

*Dr Arwa Kamoun*

## Objectifs

- 1) Décrire le phénomène d'Arthus
- 2) Citer des exemples pathologiques du phénomène d'Arthus
- 3) Poser le diagnostic des alvéolites allergiques extrinsèques
- 4) Expliquer le rôle du complément dans les lésions dues aux complexes immuns circulants (CIC)
- 5) Citer les facteurs favorisant le dépôt de CIC
- 6) Citer des maladies à CIC

## I- INTRODUCTION :

L'hypersensibilité de type III correspond à un groupe de réactions d'hypersensibilité ou de maladies liées à la formation ou au dépôt de complexes immuns dans des organes comme le rein, des tissus comme la peau ou dans les vaisseaux sanguins.

Les complexes immuns (CI) sont formés par la combinaison de molécules d'anticorps (Ac) et d'antigènes (Ag). Ils peuvent provoquer des réactions inflammatoires sévères qui sont à l'origine de nombreuses maladies.

Les CI peuvent être formés localement autour d'un antigène introduit dans un tissu et donner lieu à une réaction d'Arthus. Ils peuvent aussi se former dans le sang circulant et se déposer secondairement dans divers organes.

## II- PATHOLOGIE DES COMPLEXES IMMUNS FORMES IN SITU :

### 1) Modèle expérimental - Phénomène d'Arthus :

Il s'agit d'un modèle expérimental de lésion tissulaire liée à la formation de CI in situ après injection locale de l'antigène, décrit par Arthus en 1903.

Lorsqu'on injecte un antigène par voie intradermique à un animal préalablement immunisé par voie générale, une réaction œdémateuse et érythémateuse se développe en quelques heures ; elle atteint son maximum en 6 à 8 heures, et peut évoluer vers la nécrose.

Histologiquement, on observe une thrombose des petits vaisseaux avec agrégation intra-

vasculaire des plaquettes et des hémorragies locales, un infiltrat de PN et une nécrose.

Le mécanisme de ces lésions implique la formation de complexes antigène-anticorps précipitant au contact et dans la paroi des vaisseaux sanguins voisins, l'activation du complément, l'activation locale de la coagulation et l'attraction de PNN. Le rôle central est joué initialement par le complément qui est capable lors de son activation de libérer des facteurs chémo-attractants et d'activer la coagulation.

## **2) Alvéolites allergiques extrinsèques :**

Ces affections sont dues à des lésions consécutives à la formation in situ, dans les alvéoles pulmonaires de CI, elles représentent des exemples pathologiques du phénomène d'Arthus. L'inhalation répétée de certains antigènes d'origine animale, végétale ou d'actinomyète peut donner lieu à une immunisation spécifique accompagnée de l'apparition d'Ac précipitants de classe IgG. Ceci est observé principalement dans deux maladies :

– La maladie du poumon de fermier : due à l'inhalation répétée et à l'immunisation contre les spores de *micropolyspora faeni* (actinomyète thermophile qui se développe dans le foin humide).

– La maladie des éleveurs d'oiseaux : due à l'inhalation d'antigènes aviaires.

Les manifestations cliniques surviennent chez des sujets préalablement immunisés et se caractérisent par l'apparition, une dizaine d'heures après le contact avec l'antigène, d'une toux avec dyspnée, râles crépitant à l'auscultation accompagnée de signes généraux.

Dans les deux cas, on observe le dépôt d'Ig et de C3 dans les parois des alvéoles pulmonaires.

Le diagnostic peut être conforté par :

– Des tests cutanés qui produisent dans un délai de 6 à 8 heures des lésions érythémateuses et indurées ressemblant à celles décrites dans la réaction d'Arthus.

– Des tests de provocation par inhalation de l'antigène peuvent être utilisés.

– L'aspect histologique et l'évolution possible vers la fibrose dans les formes chroniques.

– La mise en évidence dans le sérum de ces malades d'Ac précipitant l'antigène correspondant.

### III- PATHOLOGIE DES COMPLEXES IMMUNS CIRCULANTS :

#### 1) Physiopathologie :

##### *a) Maladie sérique expérimentale (DIXON et GERMUTH) :*

La maladie provoquée par l'injection intraveineuse à un lapin de grandes quantités (une bonne dose) d'un sérum xénogénique (ex : sérum de cheval) ou d'une protéine hétérologue comme l'albumine bovine chez un lapin constitue un modèle expérimental de maladie à complexes immuns circulants (CIC).

Contrairement au phénomène d'Arthus (réaction localisée, CI en excès d'Ac), la maladie sérique est une réaction généralisée en rapport avec des CI en excès d'antigène.

Dans un premier temps, la concentration dans le sérum de l'antigène injecté s'équilibre puis commence à décroître lentement selon une cinétique qui correspond à la dégradation naturelle des protéines. Cette phase de décroissance lente est suivie à partir du 7<sup>e</sup>-8<sup>e</sup> jour d'une accélération de la clairance de l'antigène. Cette seconde phase correspond au développement de la réponse immune humorale aboutissant à la production d'Ac et à la formation de CI. Les CI qui se forment sont détectables avant que n'apparaissent des Ac libres. Ce stade correspond à la phase d'excès d'antigène.

C'est pendant la période où circulent des CI que surviennent les manifestations de glomérulonéphrite aiguë associées à des lésions artérielles, des manifestations articulaires, et à une baisse du taux du complément sérique.

L'examen en immunofluorescence de coupes histologiques du rein et des vaisseaux met en évidence des dépôts constitués d'antigène, d'Ac et de complément.

A la dernière phase de cette maladie, les phagocytes du système réticulo-endothélial épurent le sérum des CIC ; des Ac libres apparaissent et deviennent détectables dans le sérum.

Une maladie chronique peut être provoquée par l'injection répétée de l'antigène, dans ce cas, la production prolongée de CI est responsable de l'apparition de lésions rénales permanentes.

##### *b) Facteurs intervenant dans l'apparition de maladies à CI :*

\* **Taille des complexes** : La taille des CI dépend de certains paramètres :

- le rapport moléculaire entre l'antigène et l'Ac :

\* En excès d'antigène, les sites de combinaison des Ac sont saturés, et les CI formés sont de petite taille.

\* En excès d'Ac, les sites de combinaison de l'antigène sont saturés, et on observe

des CI solubles de petite taille.

\* Autour de la zone d'équivalence, la formation d'un réseau peut aboutir à l'apparition de complexes de taille plus importante, peu solubles et susceptibles d'activer le complément.

Les CI formés en excès d'antigène et ceux de taille moyenne sont les plus pathogènes parce qu'ils ont tendance à se déposer dans le rein.

- la nature de l'antigène : les antigènes multivalents favorisent la formation de réseau et donc de CI de grande taille.

\* **Complément** : L'activation du complément favorise la dissociation des CI insolubles de grande taille en CI plus petits, solubles ; elle permet leur fixation sur le récepteur CR1 (ou CD35) des GR et leur transport vers le foie ou la rate réduisant ainsi le risque de dépôt dans les parois vasculaires. Les malades ayant un déficit génétique en C2 solubilisent mal les CI qui peuvent alors se déposer dans les tissus. Ces déficits sont souvent associés à des manifestations auto-immunes évocatrices de LED.

\* **Caractéristiques physiques des CI et des membranes** : Les CI chargés positivement ont tendance à se déposer, notamment le long de la membrane basale glomérulaire (MBG) qui est chargée négativement.

De même, la charge d'antigènes libérés dans la circulation au cours d'une agression cellulaire ou tissulaire oriente leur fixation sur des membranes basales de charge électrique opposée. Ces antigènes "plantés" peuvent être reconnus par l'Ac correspondant provoquant ainsi des lésions locales dues à la formation de CI directement sur la MBG.

\* **Epuration des CI par le système phagocytaire hépatosplénique** : Le rôle des récepteurs CR1 des GR et des récepteurs Fc $\gamma$ -RIIA (CD32) des plaquettes est très important : ils contribuent à fixer les complexes circulants et à les transporter vers les macrophages du foie et de la rate.

\* **Rôle des conditions circulatoires** : Les turbulences qui se produisent dans le flux sanguin au niveau des bifurcations artérielles jouent un rôle important dans le dépôt de CI. De même, l'hypertension artérielle est un facteur favorisant du dépôt de CI.

\* **Rôle de la perméabilité vasculaire** : Les amines vasoactives comme l'histamine ou la sérotonine augmentent la perméabilité vasculaire et favorisent ainsi le dépôt de CI.

**c) Pouvoir pathogène des CI :**

Le pouvoir pathogène des CI dépend de leur constitution, de l'isotype de l'Ac qui conditionne leur capacité à activer le complément et à être captés par les cellules phagocytaires, à activer les plaquettes et les cellules endothéliales.

Les CI contenant des IgG et des IgM activent la voie directe du complément alors que les CI comportant des IgA peuvent activer la voie alterne.

L'activation locale du complément peut aboutir à :

\* **La mise en jeu du MAC** (*membrane attack complex*). L'action lytique du complexe C5b-9 sur les cellules autologues est inhibée par le HRF ("homologous restriction factor"). Le complexe C5b-9 active la phospholipase A2 membranaire responsable de la conversion des phospholipides membranaires en acide arachidonique, précurseurs des médiateurs néo-synthétisés (prostaglandines et leucotriènes) de l'inflammation aiguë.

\* Au clivage de C3 en C3b qui se dépose localement, et en C3a qui est libéré. C3b se comporte comme un facteur d'opsonisation fixant et activant les cellules qui expriment le récepteur correspondant (CR1 ou CD35).

Les anaphylatoxines C3a et surtout C5a constituent des médiateurs solubles puissants de l'inflammation dont la libération a :

- des conséquences directes :

\* Attraction et activation des PNN, aboutissant à leur dégranulation et à la libération d'enzymes lysosomiales et d'anions superoxyde. L'afflux des PNN est un élément déterminant dans la production de lésions locales : altération des membranes, nécrose, fibrose.

\* Attraction et activation des macrophages. Les macrophages activés sécrètent des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) qui contribuent à amplifier l'inflammation locale, et l'IL-8 qui est chimiotactique vis à vis des leucocytes.

\* Attraction et activation des basophiles qui libèrent des médiateurs vasoactifs (histamine, sérotonine...) et le PAF (facteur d'activation des plaquettes)

- et des conséquences indirectes :

\* Augmentation de la perméabilité vasculaire qui favorise le dépôt de CIC, et contraction des muscles lisses.

\* L'activation des cellules endothéliales (par l'IL-1 et le TNF- $\alpha$ ) provoque l'expression à leur surface de molécules d'adhérence qui interagissent avec les leucocytes, entraînent leur margination au niveau du site inflammatoire, et jouent ainsi un rôle très important dans l'amplification des lésions.

Les CI stimulent également les cellules phagocytaires (macrophages et polynucléaires) par l'intermédiaire de leur récepteur CR1 ou de leurs récepteurs Fc $\gamma$ .

Les plaquettes activées par le PAF et par liaison de leur récepteur Fc $\gamma$ RII (CD32) aux CI, contribuent à la libération d'amines vasoactives. Au contact des fibres de collagène, elles adhèrent à la membrane basale, s'agrègent et provoquent la formation locale de microthrombi. Les plaquettes activées libèrent des facteurs de croissance (PDGF : "*platelet derived growth factor*") qui interviennent dans la prolifération cellulaire observée localement au niveau de certaines lésions dues au dépôt de CI.

## **2) Exemples de maladies humaines à CIC :**

Les lésions dues au dépôt CIC peuvent être observées au cours de maladies auto-immunes, de maladies infectieuses ou au décours d'un contact avec un antigène hétérologue.

### ***a) Maladie sérique (ou maladie du sérum) :***

C'est Von Pirquet et Chick qui, les premiers, suspectèrent le rôle des CI dans une maladie humaine : la première maladie humaine attribuée à des CI fut la maladie du sérum liée à l'injection de sérum hétérologue antidiphtérique chez l'enfant :

8 à 13 jours après l'injection sous-cutanée de sérum de cheval, certains patients développaient une fièvre, une sensation de malaise, des éruptions cutanées, des arthralgies, une leucopénie, une lymphadénopathie et une protéinurie.

Cette maladie décrite essentiellement lorsque des sérums hétérologues étaient utilisés pour prévenir le tétanos ou la diphtérie, s'observe aujourd'hui le plus fréquemment avec des médicaments qui se lient à des protéines sériques et forment un complexe « molécule porteuse-haptène » contre lequel réagissent des Ac sériques.

Les signes observés dans cette maladie comportent de la fièvre, une éruption cutanée, des arthralgies, des adénopathies, une protéinurie et une hypo-complémentémie, plus rarement des arthrites, une glomérulonéphrite, une neuropathie ou une vascularite.

Ces manifestations surviennent 12 à 36 heures après de la réintroduction du médicament. La dose initiale est sensibilisante.

Cette maladie guérit en quelques jours après l'arrêt du traitement en cause. Les médicaments le plus souvent en cause sont la phénylbutazone, la streptomycine, l'acide para-aminosalicylique, l'hydantoïne, les thio-uraciles, les sulfonamides et la pénicilline.

***b) Lupus érythémateux disséminé :***

Le lupus érythémateux disséminé est considéré comme le prototype de la maladie chronique à CI.

Cette maladie inclut des désordres immunitaires variés et complexes. Les anticorps antinucléaires sont les plus caractéristiques de l'affection, ils ont une cible intracellulaire non accessible directement. Leur pouvoir pathogène s'exerce essentiellement par le biais de CI formés lors de la libération dans la circulation d'antigènes nucléaires par des cellules lysées. Des antigènes comme les acides nucléiques peuvent se lier à la MBG où les Ac correspondant se fixeront.

***c) Complexes immuns dans les infections chroniques :***

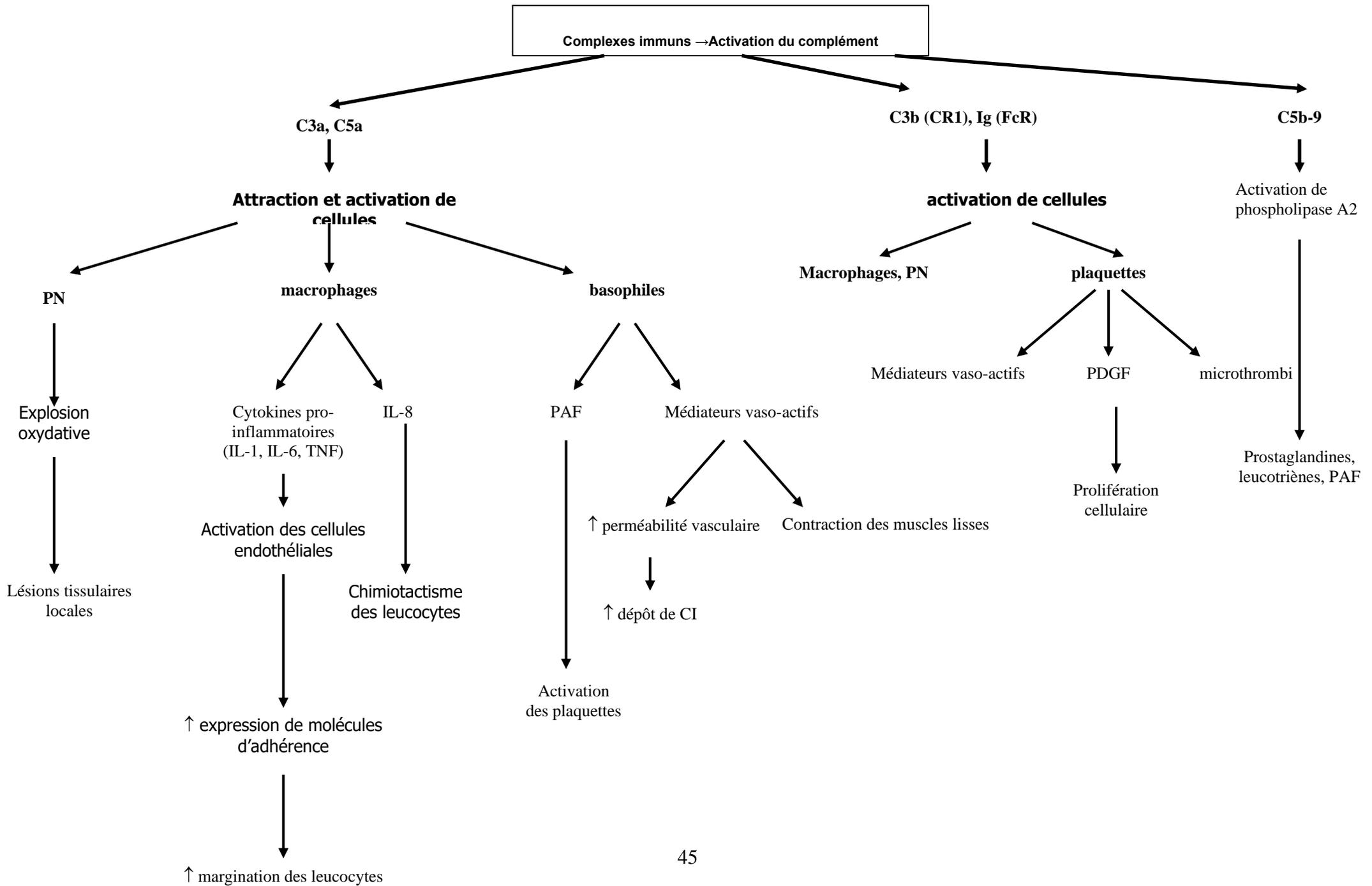
Parmi ces infections : le paludisme, la lèpre, la dengue, l'endocardite infectieuse à Staphylocoque, les hépatites virales.

Les formes chroniques ou prolongées survenant chez des sujets produisant de faibles quantités d'Ac sont susceptibles d'aboutir à la formation durable de CI susceptibles de se déposer dans les tissus.

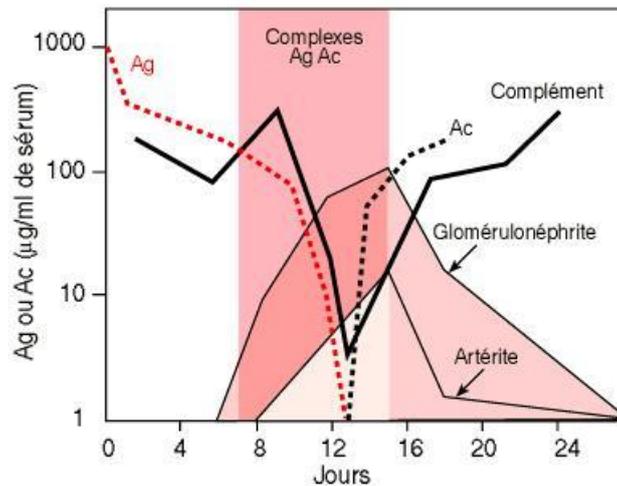
**IV- CONCLUSION :**

Les étiologies des maladies à complexes immuns sont variées. Leur physiopathologie a de nombreux points communs impliquant la mise en œuvre du système du complément et les cellules ayant des récepteurs pour les fractions activées du complément, ou le fragment Fc des immunoglobulines.

Les CI se forment ou se déposent dans certaines conditions dans les tissus et provoquent une réaction inflammatoire pathogène impliquant des médiateurs solubles parmi lesquels le système du complément joue un rôle fondamental. Le complément lui-même attire et active des cellules effectrices. Ces cellules sécrètent des cytokines ou des produits toxiques capables de provoquer des lésions tissulaires.



**Maladie sérique aiguë chez le lapin.** L'antigène persiste dans la circulation pendant 12 jours, d'abord sous forme libre, puis lié à l'anticorps. L'anticorps libre est détectable après le 12<sup>e</sup> jour. Des complexes antigène-anticorps sont retrouvés entre le 7<sup>e</sup> et le 15<sup>e</sup> jour. Ces complexes entraînent l'apparition d'une glomérulonéphrite et d'une artérite. Leur présence coïncide avec une chute transitoire du taux du complément sérique.



#### Maladies associées à la présence de complexes immuns circulants

##### Maladie sérique

###### Infections

Endocardites bactériennes  
subaiguës  
Lèpre lépromateuse  
Hépatites virales  
Dengue  
Paludisme  
Bilharzioses

###### Maladies auto-immunes

Lupus érythémateux disséminé  
Syndrome de Sjögren  
Polyarthrite rhumatoïde  
Périartérite noueuse  
Thyroïdites  
Cirrhoses biliaires

##### Glomérulonéphrites

###### Divers

Maladie de Crohn  
Certains cancers

# MECANISMES DE L'AUTOIMMUNITE ETIOPATHOGENIE DES MALADIES AUTOIMMUNES

*Pr Hatem MASMOUDI*

## **Objectifs**

1. Connaitre les mécanismes de tolérance immunitaire centrale et périphérique
2. Comprendre les étiologies possibles à l'origine du développement des maladies auto-immunes
3. Citer les facteurs génétiques et exogènes favorisant l'auto-immunité
4. Décrire les mécanismes pathogéniques des auto-anticorps et de l'immunité à médiation cellulaire dans les maladies auto-immunes

## **I- INTRODUCTION :**

En conditions normales, le système immunitaire assure l'élimination des substances étrangères notamment les agents infectieux, les cellules tumorales et les greffes, tout en épargnant les propres constituants de l'individu. La tolérance au soi peut s'établir par un mécanisme de délétion clonale, lors de leur ontogenèse, des cellules B et/ou T auto-réactives ou par un mécanisme d'inactivation fonctionnelle ou anergie des lymphocytes B et/ou T auto-réactifs qui auront échappé à la délétion clonale ou enfin par un mécanisme de suppression active des fonctions de ces cellules par des cellules T suppressives ou régulatrices. La délétion clonale des lymphocytes T lors de leur différenciation intra-thymique est probablement le mécanisme fondamental de l'établissement de la tolérance au soi, même si en périphérie, l'anergie et la suppression sont des verrous successifs renforçant la tolérance du soi et la prévention des maladies auto-immunes (fig1).

Dans les maladies auto-immunes (MAI), cette tolérance au soi est rompue et selon les cas s'installe une réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire contre un ou plusieurs antigènes (Ag) du soi ou auto-Ag. Cette réponse immunitaire est directement responsable des lésions tissulaires observées et des manifestations cliniques associées à la maladie.

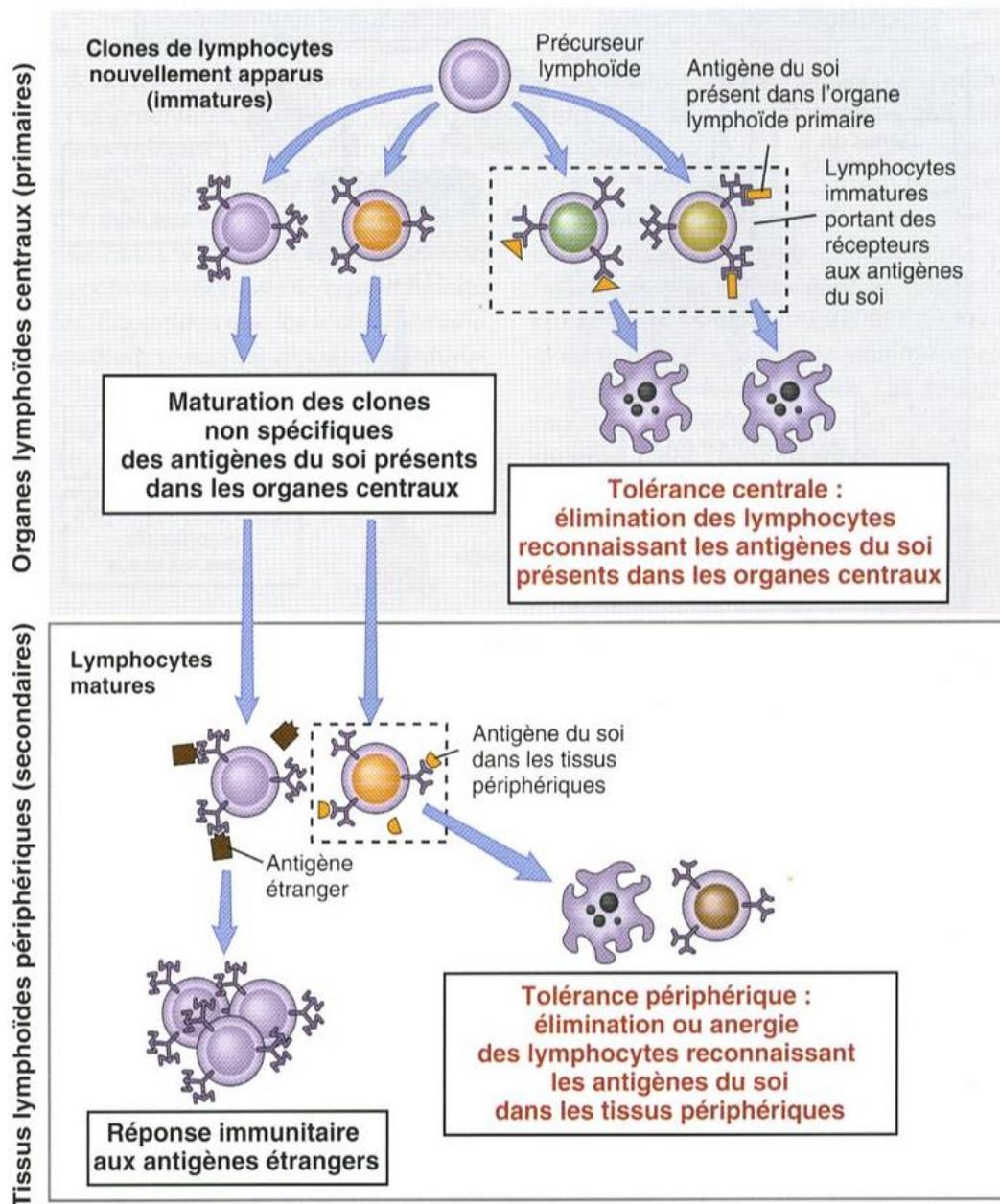


Figure : Mécanismes de la tolérance immunitaire

## II- ETIOLOGIE DES MALADIES AUTOIMMUNES :

L'étiologie des MAI n'est pas encore bien élucidée mais plusieurs hypothèses restent possibles.

### 1) Anomalie de l'auto-antigène :

La reconnaissance de l'auto-Ag dans les MAI se fait dans les mêmes conditions et selon les mêmes contraintes que pour l'Ag exogène dans les réponses

immunes conventionnelles. La présence de l'auto-Ag est paradoxalement nécessaire aussi bien pour l'établissement de la tolérance au soi (pas de tolérance aux Ag séquestrés, l'hypophyse autologue prélevée à l'état larvaire est rejetée quand réinjectée à l'état adulte), que pour l'apparition de MAI (les poulets obèses thyroïdectomisés à la naissance ne font pas d'anticorps (Ac) antithyroïdiens à l'âge adulte comme le font spontanément les animaux non thyroïdectomisés).

**a) Modification de la structure de l'auto-Ag par des agents extérieurs** chimiques (médicaments...) ou microbiens (virus...) faisant apparaître de nouveaux déterminants antigéniques.

**b) Introduction d'un Ag étranger ayant une réactivité croisée avec un auto-Ag**, donc portant à la fois des déterminants antigéniques communs avec l'auto-Ag et des déterminants antigéniques étrangers qui peuvent servir de déterminants porteurs. Chacune de ces 2 situations (a, b) peut aboutir à une activation des clones B auto-réactifs par substitution aux cellules T auxiliaires auto-réactives donc tolérantes, de cellules T reconnaissant les nouveaux déterminants porteurs considérés comme étrangers ("*T cell by-pass*") qui pourront alors fournir l'aide nécessaire aux lymphocytes B auto-réactifs pour produire des auto-Ac.

**c) Libération d'auto-Ag séquestrés dans la circulation générale :**

Certains auto-Ag sont inaccessibles aux lymphocytes circulants qui par conséquent ne leur sont pas tolérants. Un traumatisme de l'organe contenant ces antigènes séquestrés peut alors entraîner une véritable réponse auto-immune dirigée contre ces auto-Ag authentiques suite à leur libération dans la circulation générale. C'est le cas des spermatozoïdes séquestrés dans les tubes séminifères et du cristallin (le traumatisme d'un œil peut entraîner une uvéo-rétinite auto-immune des deux yeux appelée ophtalmie sympathique).

**d) Expression aberrante des Ag HLA classe II lors d'une infection virale :**

Un grand nombre de MAI sont accompagnées par une expression de molécules HLA II sur les cellules des organes et tissus atteints qui normalement en sont dépourvues. De plus, il a été démontré dans certains modèles expérimentaux que l'expression ectopique des Ag HLA classe II au niveau d'un organe, provoquée par une infection virale et plus particulièrement par la production importante d'INF $\gamma$  qui

l'accompagne, entraîne l'apparition d'une MAI au niveau de cet organe chez les animaux prédisposés. L'INF $\gamma$  est en effet connu pour induire et stimuler l'expression des molécules HLA.

## 2) **Anomalie des populations lymphocytaires** :

### *a) Hyperactivité intrinsèque, non spécifique de l'Ag des cellules B :*

Ce mécanisme est évoqué surtout dans les MAI non spécifiques d'organe notamment le lupus érythémateux disséminé (LED) ou systémique (LES) où l'on observe la production d'une multitude d'auto-Ac dans le contexte d'une augmentation globale de la production de toutes les immunoglobulines (Ig). Il est à noter que certains agents viraux (EBV) ou bactériens (SAC) sont des activateurs polyclonaux des cellules B chez l'homme.

### *b) Emergence de clones B auto-réactifs par mutation somatique :*

La prolifération cellulaire très intense des lymphocytes ( $10^9$  lymphocytes sont renouvelés quotidiennement soit 1/1000<sup>ème</sup> du pool total de lymphocytes) couplée au mécanisme d'hyper-mutation actif sur les gènes VH et VL des Ig (1000 fois plus que les autres gènes), peut faire apparaître des clones de lymphocytes B auto-réactifs produisant des auto-Ac mutants. Il s'agit dans ce cas d'une anomalie touchant uniquement quelques cellules somatiques et non transmise génétiquement.

### *c) Hyperactivité intrinsèque des cellules T auxiliaires :*

Dans cette hypothèse, les cellules T auxiliaires ou "T helper" (Th) spécifiques d'un ou de plusieurs auto-Ag s'emballent et deviennent insensibles aux signaux de suppression.

### *d) Déficit des cellules T suppressives :*

Dans cette hypothèse, l'hyperactivité des cellules B et/ou T auto-réactives est secondaire à une défaillance des cellules T suppressives ou régulatrices (Treg).

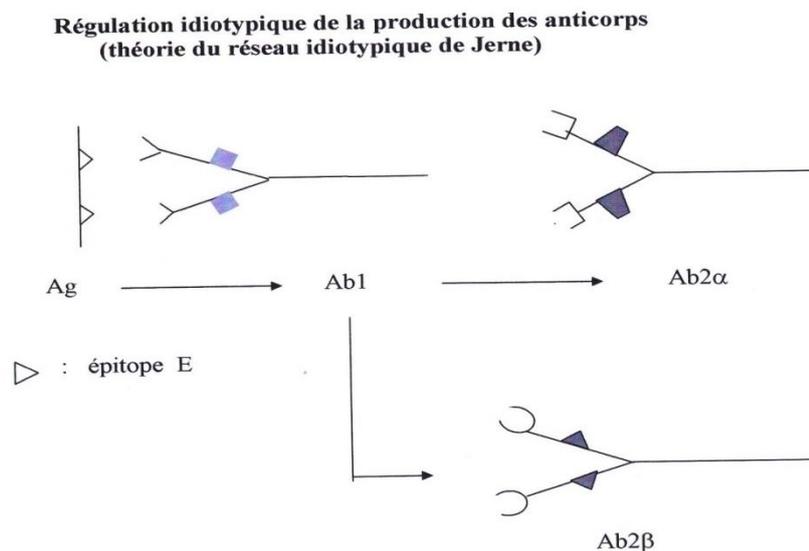
Ces hypothèses faisant intervenir une dysrégulation de l'activité des cellules B ou T à l'origine de l'auto-immunité s'appuient, entre autres, sur les modèles murins de LES : souris des lignées NZB/NZW ou B/W (diminution importante de l'activité des cellules T suppressives, la thymectomie néonatale entraîne l'aggravation de la MAI), MRL/lpr (augmentation importante de l'activité des lymphocytes Th, la thymectomie néonatale prévient l'apparition de la maladie) et BXSB (augmentation

importante de l'activité des cellules B avec hyper-gammaglobulinémie).

Le dysfonctionnement des lymphocytes B ou T peut être dû à une anomalie au niveau des cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse ou à une anomalie au niveau de leur différenciation en rapport par exemple avec une défaillance du thymus.

### 3) Perturbation du réseau idiotypique :

Certains auteurs (Plotz...) ont avancé l'hypothèse que les auto-Ac pourraient être des Ac anti-idiotypiques de type  $Ab_{2\alpha}$  ou  $Ab_{2\beta}$  d'Ac anti-virus. On peut par exemple imaginer que des Ac antiviraux portent un idiotope (déterminant idiotypique) similaire à l'épitope (déterminant antigénique) d'un auto-Ag, les Ac anti-idiotypiques de type  $Ab_{2\alpha}$  auront alors en même temps une activité auto-Ac.



La régulation de la production des Ac est ainsi 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

On peut aussi imaginer que les Ac anti-idiotypiques de type  $Ab_{2\beta}$ , image interne d'un épitope viral, ont une activité Ac dirigée contre un auto-Ag. Diverses autres situations de perturbation des interconnexions idiotypiques par des Ag exogènes peuvent être imaginées.

### 4) Autres défaillances des mécanismes régulateurs :

La perturbation du réseau des cytokines en faveur des cytokines

pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , IL1, IL6), l'incapacité de l'organisme à éliminer les complexes immuns (déficit en récepteurs de fragments Fc des Ig ou de fragments C3b/C4b du complément) ou la défaillance de signaux inhibiteurs (CTLA4, Fas...) nécessaires à la contraction lymphocytaire peuvent causer l'emballage incontrôlé de la réponse immune qui peut être dirigée contre le soi.

Ainsi, les enfants porteurs d'une mutation du gène Fas développent une MAI avec accumulation de lymphocytes appelée "*auto-immune lympho-proliferative syndrome*" (ALPS), ce qui témoigne de l'importance de l'apoptose dans la régulation immunitaire et le maintien de la tolérance.

Le gène AIRE ("*auto-immune regulator*") code pour un facteur activateur de transcription qui fait exprimer dans le thymus certains auto-Ag endocriniens et autres permettant ainsi la délétion clonale des lymphocytes T auto-réactifs spécifiques correspondants. Les mutations du gène AIRE sont à l'origine d'un syndrome auto-immun rare appelé APECED ("*auto-immune poly-endocrinopathy with candidiasis and ectodermal dysplasia*").

### **III- FACTEURS FAVORISANT L'AUTOIMMUNITE :**

Il s'agit d'un ensemble de facteurs endogènes (génétiques) et exogènes (environnement extérieur) qui sont très souvent associés aux maladies auto-immunes sans pouvoir à eux seuls en expliquer le déclenchement.

#### **1) Facteurs génétiques :**

##### **a) *Le sexe :***

La plupart des MAI sont plus fréquentes chez les femmes en période d'activité génitale. Les manipulations hormonales chez les souris lupiques B/W ont montré le rôle néfaste des œstrogènes et le rôle protecteur des androgènes. Le mécanisme d'action des hormones sexuelles reste incertain mais semble s'effectuer en premier lieu au niveau de l'épithélium thymique et des macrophages. Certaines études récentes suggèrent l'existence d'anomalies du métabolisme des hormones sexuelles chez les malades femmes et hommes atteints de LED (conversion accélérée de l'œstradiol en dérivés 16 hydroxylés plus œstrogéniques, baisse de la testostérone par augmentation de son hydroxylation...).

##### **b) *L'haplotype HLA :***

On considère qu'une maladie est associée à un allèle HLA lorsque ce dernier est retrouvé chez les personnes atteintes de la maladie avec une fréquence plus élevée que dans la population générale (augmentation du risque relatif). Ce qui sous-entend qu'on peut très bien être malade et ne pas porter l'allèle en question, et inversement qu'on peut porter cet allèle sans être malade.

La plupart des MAI sont associées au système HLA. Ainsi, la spondylarthrite ankylosante (SpA) est associée à l'allèle HLA-B27, le LES et la maladie d'Addison à l'allèle HLA-DR3, le diabète insulino-dépendant (DID) à l'allèle HLA-DR4 et surtout à la combinaison DR3/DR4...

Certains auteurs ont soutenu l'hypothèse que l'association d'une MAI à un allèle HLA témoigne de l'existence chez les sujets malades d'une **forme anormale de l'Ag (la molécule) HLA en question**. Cependant les analyses de la séquence du gène HLA-B27 chez les sujets atteints de SpA n'ont révélé aucune différence par rapport au gène HLA-B27 retrouvé chez les sujets sains.

Il est intéressant de rappeler à ce propos que, parmi toutes les associations HLA-MAI, celle de l'Ag HLA-B27 avec la SpA représente de très loin la corrélation la plus significative avec une fréquence de 90 % chez les malades et de 9 % chez les sujets sains de l'Ag HLA-B27 et un risque relatif de 87.

Une deuxième hypothèse explique les associations HLA-MAI par l'existence d'une **réactivité croisée entre l'Ag HLA en question et un Ag viral ou bactérien** ; ce qui peut conduire à une certaine tolérance immunitaire vis à vis de cet Ag microbien et donc à sa persistance prolongée dans certains sites de l'organisme et/ou à une rupture de la tolérance vis à vis de l'Ag HLA en question et donc au déclenchement d'une réponse auto-immune contre lui.

Une troisième hypothèse découle directement du rôle des molécules codées par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) dans la présentation de l'Ag aux lymphocytes T. L'association d'une MAI à un allèle HLA témoigne de la **capacité de la molécule HLA correspondante à bien présenter l'auto-Ag en cause aux lymphocytes T spécifiques**. Les sujets qui n'ont pas cette molécule HLA n'arrivent pas à présenter l'auto-Ag aux lymphocytes T auto-réactifs et donc ne développent pas la maladie.

En fin pour la quatrième et dernière hypothèse, les gènes HLA n'interviennent pas directement dans le déclenchement des MAI. L'association d'une MAI avec un allèle HLA témoigne plutôt d'un **déséquilibre de liaison entre un gène directement impliqué dans l'étiopathogénie de la maladie (non encore identifié) et l'allèle HLA (classe I ou II) en cause.**

*c) Autres gènes :*

- les gènes des régions variables des Ig et du TCR
- les gènes du complément et notamment les gènes des fragments C1q, C2 C4 et le gène du CR1 (récepteur du C3b)
- les gènes de certaines cytokines (IL1, IL6, TNF, IL4...), de certaines molécules d'adhésion (CTLA4, B7...) ou de certains facteurs pro-apoptotiques (Fas, Fas-Ligand...).

**2) Facteurs exogènes :**

*a) Infections virales, bactériennes et parasitaires :*

La présence de certains virus ou bactéries dans les sites lésionnels et le titre élevé de leurs Ac spécifiques dans le sérum des malades font suspecter à ces agents infectieux un rôle de facteur favorisant de certaines MAI :

- Virus de type C avec sa gp70 dans le LED
- Virus lent dans la SEP (sclérose en plaque)
- Streptocoque dans le RAA (rhumatisme articulaire aigu)
- Yersinia dans la SpA ...

*b) Médicaments et autres substances chimiques :*

Certains médicaments sont connus pour être susceptibles d'induire un LED (hydralazine, procaïnamide...), une anémie hémolytique auto-immune (aldomet...), une hépatite...

Le mécanisme d'action de ces agents infectieux et chimiques a déjà été discuté.

**IV- CONCLUSION :**

L'étiologie des MAI reste encore une des énigmes de l'immunologie. Il semble néanmoins que les MAI soient en règle générale des maladies multifactorielles (ou complexes) souvent favorisées par des facteurs exogènes et survenant sur un terrain génétique particulier suite à certaines dysrégulations du système immunitaire.

Il est bien admis actuellement que l'auto-immunité ne signifie pas nécessairement maladie et qu'il faut donc distinguer l'auto-immunité pathologique définissant les MAI qui sont directement responsable de lésions et l'auto-immunité physiologique qui, elle, n'entraîne pas de lésions. En effet, il existe dans le sérum de tout individu un grand nombre d'auto-Ac dirigés contre des auto-Ag très divers notamment des molécules très conservées (albumine, actine, tubuline, myosine). Ces "auto-Ac naturels" se distinguent des Ac immuns, habituellement obtenus après immunisation avec un Ag exogène, par leur faible affinité et leur polyréactivité. Ils sont surtout de classe IgM tandis que les auto-Ac pathogènes sont en majorité de classe IgG.

#### **V- PATHOGENIE DES MALADIES AUTOIMMUNES :**

On distingue classiquement les MAI spécifiques d'organes où la réponse immunitaire est dirigée contre un organe particulier (ex : thyroïdite de Hashimoto, maladie de Basedow, myasthénie, diabète insulino-dépendant, anémie de Biermer, anémies hémolytiques auto-immunes) et les MAI non spécifiques d'organe où la réponse immunitaire est dirigée contre plusieurs organes et tissus à la fois (ex : LES, polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjögren...). La réponse immunitaire dans les MAI est nécessairement dirigée contre un auto-Ag ; ce qui exclut de ce cadre les lésions tissulaires provoquées par une réaction immunologique dirigée contre un Ag exogène (ex : hépatite virale B..). Elle doit être directement responsable des lésions tissulaires observées et des manifestations cliniques associées à la maladie, ce qui exclut de ce cadre les réponses auto-immunes secondaires associées à certains états pathologiques (ex : Ac anti-mitochondries, anti-muscle lisse et/ou anti-réticulum endoplasmique dans certaines hépatites virales ou médicamenteuses).

### MAI non spécifiques d'organes

Polyarthrite rhumatoïde (PR)  
Lupus erythémateux disséminé (LED, lupus)  
Syndrome sec de Gougerot Sjögren  
Sclérodermie  
Dermatomyosite  
Syndrome des antiphospholipides  
Polymyosites

### MAI spécifiques d'organes

<p>Glandes endocrines Thyroïdites hashimoto Basedow Maladies d'Addisson Diabète insulino-dépendant (type I, DID) Polyendocrinopathies Tube digestif Maladie de Biermer Maladies Coeliaque</p>	<p>Rein Goodpasture Muscles et nerfs Myasthénie Polyneuropathies : Guillain et Barré Peau Pemphigus Pemphigoïde bulleuse Vitiligo Foie Hépatite auto-immune (HAI) Cirrhose biliaire primitive (CBP)</p>
---	---

58

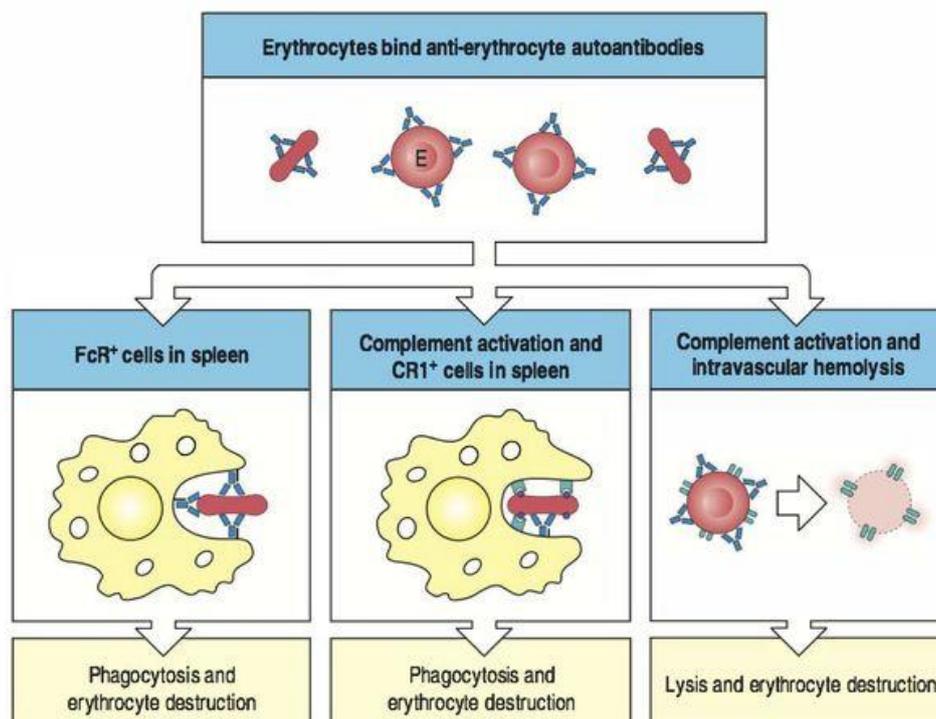
## 1) Pathogénie des auto Ac :

Les auto-Ac peuvent avoir divers mécanismes d'action dans les MAI.

**a) Cytolyse faisant intervenir le complément, les cellules K et/ou les cellules phagocytaires :**

Dans les anémies hémolytiques auto-immunes par exemple, les globules rouges (GR) recouverts d'auto-Ac et de complément (C3b) sont phagocytés par les macrophages spléniques et les cellules de Kuppfer du foie grâce à leurs récepteurs membranaires pour le fragment Fc des IgG (Fcγ-R) et pour le C3b (C3b-R ou CR1) (fig1).

La cytolyse par cytotoxicité cellulaire dépendante d'Ac (ADCC) due aux cellules K ou "killer" pourrait intervenir dans certaines situations en particulier les endocrinopathies auto-immunes par destruction des cellules productrices de l'hormone (ex: thyroïdite d'Hashimoto, diabète insulino-dépendant, maladie d'Addison...).



**fig1:** Mécanisme des anémies hémolytiques auto-immunes

***b) Dépôts dans les organes sous forme de complexes immuns :***

Les complexes immuns (ex : complexes ADN-auto-Ac anti-ADN dans le lupus, IgG-facteurs rhumatoïdes dans la polyarthrite rhumatoïde...) activent le complément (par la voie classique) ce qui aboutit à la formation du complexe C5b-9 capable d'activer la phospholipase A2 membranaire et donc de faire libérer par les cellules cibles divers médiateurs de l'inflammation aiguë. L'activation du complément s'accompagne aussi et surtout de la libération des anaphylatoxines C3a et C5a aux propriétés pro-inflammatoires bien connues.

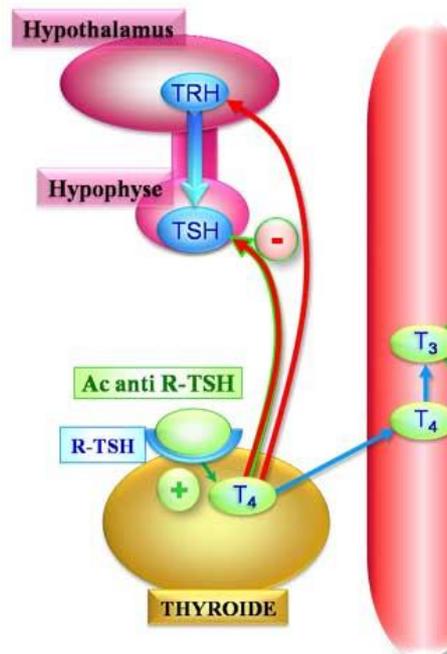
***c) Neutralisation d'une hormone ou d'un facteur :***

Ex : neutralisation de l'insuline par des auto-Ac anti-insuline dans le pré-diabète, neutralisation de la thyroxine par des auto-Ac anti-thyroglobuline dans la thyroïdite de Hashimoto, neutralisation du facteur intrinsèque gastrique dans l'anémie de Biermer, neutralisation de certains facteurs de la coagulation dans le LED (Ac anti-phospholipides, notamment anti-cardiolipine).

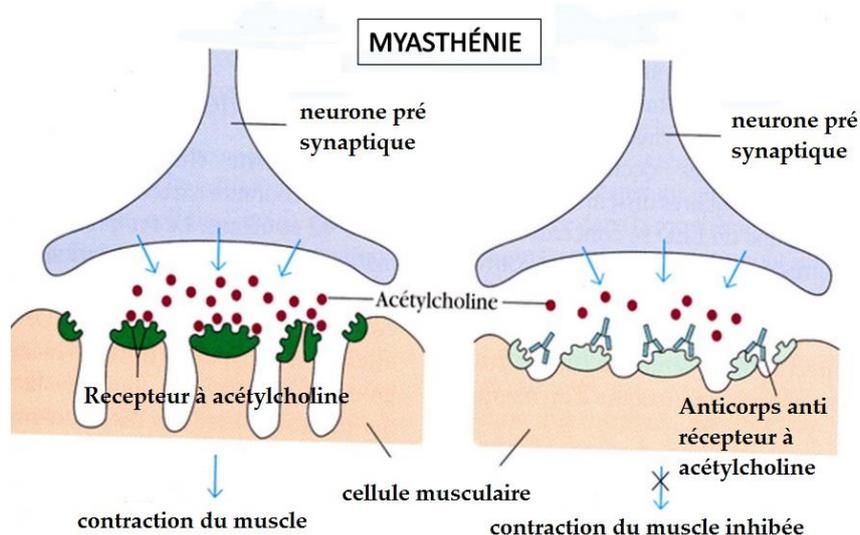
***a) Blocage ou stimulation du récepteur pour une hormone ou un médiateur :***

Ex : blocage du récepteur de l'insuline dans certains diabètes insulino-résistants,

stimulation du récepteur de l'insuline dans certains syndromes hypoglycémiques, stimulation du récepteur de la TSH dans la maladie de Basedow (fig2), blocage du récepteur de l'acétylcholine dans la myasthénie (fig3) etc...



**fig 2:** Stimulation du récepteur de la TSH dans la maladie de Basedow



**fig 3:** Blocage du récepteur de l'acétylcholine dans la myasthénie

## 2) Rôle de l'immunité à médiation cellulaire :

Les maladies auto-immunes sont souvent associées à l'existence d'une infiltration de l'organe cible par des cellules mononuclées et d'une hypersensibilité

retardée vis à vis des auto-Ag de cet organe. Le modèle de la glomérulonéphrite auto-immune (par injection de membrane basale glomérulaire) du poulet burssectomisé (la bourse de Fabricius étant, chez les oiseaux, le site de différenciation et de maturation des lymphocytes B) est une démonstration éloquente du rôle important, souvent masqué par celui plus apparent des auto-Ac, de l'immunité à médiation cellulaire dans les MAI.

L'immunité à médiation cellulaire fait intervenir les lymphocytes T cytotoxiques (ex : endocrinopathies auto-immunes par destruction des cellules hormono-sécrétrices) et/ou les lymphocytes T auxiliaires de type Th1 sécréteurs de lymphokines et médiateurs des réactions d'hypersensibilité retardée (HSR) (ex : encéphalomyélite allergique expérimentale, modèle présumé de la sclérose en plaque chez l'homme). Les lymphocytes Th1 et grâce aux cytokines qu'ils produisent, induisent d'une part (IL2), leur prolifération et celle des lymphocytes T cytotoxiques, d'autre part le recrutement (MCP1, MIF et IL8) et l'activation (INF $\gamma$ , GM-CSF et TNF $\beta$ ) des macrophages qui sont avec les lymphocytes T cytotoxiques responsables de l'essentiel des lésions dues à l'immunité à médiation cellulaire.

# AUTOIMMUNITE EN PATHOLOGIE HUMAINE VALEUR DIAGNOSTIQUE DES AUTOANTICORPS

*Dr Hend HACHICHA*

*Dr Hatem MASMOUDI*

## **Objectifs**

1. Connaitre les auto-anticorps à rechercher dans les pathologies auto-immunes
2. Connaitre la valeur diagnostique et pronostique des différents auto-anticorps
3. Savoir prescrire un bilan immunologique en cas de suspicion d'une maladie auto-immune
4. Connaitre les avantages et les inconvénients des différentes techniques immunologiques utilisées dans l'exploration des maladies auto-immunes
5. Savoir interpréter un bilan immunologique

## **I- INTRODUCTION:**

Diverses affections sont dues ou sont associées à des auto-anticorps (Ac) dont la valeur diagnostique n'est plus à démontrer.

Les auto-Ac peuvent être directement responsables des lésions observées (ex : auto-Ac anti-globules rouges dans les anémies hémolytiques auto-immunes) ou être simplement associés à la maladie sans jouer un rôle évident dans sa pathogénie; les lésions tissulaires observées dans ce cas seraient la conséquence d'autres mécanismes faisant intervenir l'immunité à médiation cellulaire (ex : auto-Ac anti-thyroglobuline dans la thyroïdite de Hashimoto).

## **II- AUTO-ANTICORPS AU COURS DES CONNECTIVITES :**

### **1) Anticorps antinucléaires (AAN) :**

#### ***a) AAN globaux :***

- Détection des AAN (technique d'immunofluorescence indirecte (IFI))

La technique de référence pour la mise en évidence des AAN est l'IFI sur coupe de foie de rat ou mieux sur frottis de cellules d'une lignée tumorales humaines provenant d'un carcinome laryngé appelées cellules HEp-2 qui constitue désormais le substrat de

choix pour la recherche des AAN. Ces frottis sont composés de cellules à grand noyau à différentes phases du développement cellulaire offrant ainsi une meilleure détection des AAN. La positivité du test indique la présence d'Ac dirigés contre un ou plusieurs antigènes (Ag) nucléaires que l'on pourra ensuite caractériser par d'autres techniques.

- Un résultat positif comporte le titre (qui est l'inverse de la dernière dilution positive) et l'aspect (homogène, moucheté, nucléolaire...)

- Le seuil de positivité est de 1/80 chez l'adulte et à 1/40 chez l'enfant.

#### -Avantages de l'IFI :

- Technique très sensible (sauf pour l'Ac anti-SSA ; mais il existe actuellement des cellules HEp-2000 transfectées par le gène codant la protéine SSA)
- Permet la détection de très nombreux auto-Ac en même temps
- Le substrat contient l'Ag dans sa conformation naturelle (meilleure spécificité pour l'auto-Ac)

#### -Inconvénients

- Peu spécifique (pour le diagnostic)
- Résultat opérateur dépendant et subjectif
- Un aspect peut en masquer un autre

#### -valeur diagnostique des AAN :

- **Bonne sensibilité** : positifs et à titre élevé dans la quasi-totalité des connectivites avec une fréquence variable (presque 100 % dans le lupus érythémateux systémique ou LES).

L'aspect est évocateur mais non caractéristique du type de connectivite ; par ex : les aspects homogène et à renforcement périphérique se voient surtout dans le LES, l'aspect moucheté dans la connectivite mixte, le syndrome de Gougerot-Sjogren (SGS) ou syndrome des sécheresses, la sclérodermie et le LES, l'aspect nucléolaire dans la sclérodermie, la dermatomyosite et le LES. Dans la polyarthrite rhumatoïde (PR), les AAN sont positifs dans 25 à 75 % des cas, l'aspect est généralement homogène ou moucheté

- **Mauvaise spécificité** : 10 à 15 % des sujets adultes apparemment sains ont des AAN à la dilution 1/80 et 5 % à 1/160, et cette fréquence augmente avec l'âge, principalement chez les femmes après 60 ans.

Les AAN sont aussi positifs, avec une fréquence non négligeable et souvent à des titres élevés, dans de nombreuses autres affections (fibroses pulmonaires, leucémies lymphoïdes et lymphosarcomes, hépatites chroniques...), positifs à titre faible chez un certain pourcentage de sujets normaux surtout âgés

- Les AAN sont positifs dans 60 % des cas d'hépatite auto-immune de type I ou hépatite lupoïde, l'aspect étant habituellement homogène

- La cirrhose biliaire primitive (CBP) s'accompagne dans 25 à 50 % des cas d'Ac anti-membrane nucléaire qui donnent un aspect cerclé autour du noyau

- Attention : un aspect homogène peut masquer un aspect moucheté ou nucléolé

- Le principal intérêt diagnostique des AAN est de pouvoir éliminer un LES devant un test négatif (surtout sur cellules HEp-2) et de poursuivre les examens devant un test positif par la recherche d'Ac anti-ADN natif (double brin) et anti-Ag nucléaires solubles extractibles en milieu salin (anti-ENA pour "extractible nuclear antigens").

#### ***b- Identification :***

Plusieurs techniques sont disponibles (immunoprécipitation, immunofluorescence, ELISA, immunodot...). Le type de fluorescence permet au médecin biologiste d'anticiper les techniques à utiliser pour déterminer les cibles antigéniques des AAN détectés par IFI.

Les techniques les plus utilisées sont l'ELISA et l'immunodot pour lesquels les Ag sont fixés sur un support en plastique ou en nitrocellulose. La fixation de l'auto-Ac sera révélée par la suite par une réaction enzymatique.

Les résultats sont dépendants de la qualité de l'Ag fixé (pureté, configuration moléculaire, structure, stabilité) et de l'adsorption sur le support. Ces techniques permettent de déterminer la spécificité des AAN.

#### ***Ac anti-ADN natif :***

- Recherchés par IFI sur "*Chrithidia Lucialae*", par des techniques immunoenzymatiques de type ELISA ou immunodot, ou par une méthode radio-immunologique en tube avec précipitation au sulfate d'ammonium (test de Far)

- Positifs dans 60 à 70 % des cas de LES dont ils constituent un bon marqueur diagnostique surtout quand leur titre est élevé

- Permettent de suivre l'évolutivité de la maladie lupique mieux que les AAN globaux. La technique Elisa qui donne des résultats quantitatifs permet le suivi des patients lupiques.

***Ac anti-histones :***

- Décelés par immuno-enzymologie ou par immunodot

- Retrouvés avec une fréquence élevée dans le LES, la PR, la CBP et l'hépatite lupoïde, mais leur intérêt majeur est qu'ils sont présents dans la quasi-totalité des cas de lupus induit où ils sont généralement associés à des Ac anti-ADN dénaturé (simple brin).

***Ac anti-nucléosomes :***

- Sont détectés par immunodot ou immuno-enzymologie dès les phases précoces du LES : c'est un Ac très sensible et très spécifique du LES.

***Ac anti-antigènes nucléaires solubles ou extractibles (anti ENA) :***

- Ce sont des Ac dirigés contre des ribonucléo-protéines présentes dans le noyau et, pour certaines, dans le cytoplasme aussi

- Leur recherche se faisait par double immuno-diffusion d'Ouchterlony entre le sérum du malade et un extrait de cellules thymiques de lapin (d'où le nom d'anti-ECT)

- En IFI, ils donnent généralement un aspect moucheté

- Leur typage se fait essentiellement en immunodot, technique qui permet d'améliorer la sensibilité et de révéler les bandes caractéristiques de chacun des quatre principaux Ag : Sm, RNP, Ro/SSA et La/SSB, ou aussi avec des techniques immuno-enzymatiques qui permettent un dosage quantitatif.

L'anti-Sm est spécifique du LES mais n'est retrouvé que dans 30 % des cas seulement

L'anti-RNP présent seul et à titre élevé est le marqueur diagnostique caractéristique de la connectivite mixte (ou syndrome de Sharp), cependant il n'est pas spécifique de cette affection puisqu'il est retrouvé dans 20 à 40 % des cas de LES (où il est souvent associé à d'autres spécificités) et exceptionnellement dans

le syndrome de Gougerot-Sjogren (SGS) et la sclérodémie systémique

L'anti-SSA est présent dans 60 à 70 % des cas de SGS mais aussi dans 30 à 40 % des cas de LES et dans certains cas de PR. Il est directement associé au bloc auriculo-ventriculaire congénital dans le lupus néonatal. L'anti-SSA est fortement associé aux formes cutanées du lupus. En outre, il rend compte des rares cas de LES avec AAN négatifs (la concentration de l'Ag SSA dans le noyau étant très faible)

L'anti-SSB est présent dans 40 à 60 % des cas de SGS et 15 % des cas de LES.

#### ***Autres Ac anti-nucléaires :***

L'anti-centromère donne en IFI sur cellules HEp-2 un aspect moucheté avec 46 points égaux qui se placent sur la plaque équatoriale dans les cellules en division. Il est retrouvé dans 70 à 90 % des cas de sclérodémie limitée ou distale encore appelée CREST-syndrome (calcinose, syndrome de Raynaud, œsophagite, sclérodactylie, télangiectasie). L'anti-centromère est spécifique du CREST-syndrome

L'anti-Sc170 donne une fluorescence d'aspect moucheté ou nucléolaire. Il est mis en évidence par immunoblot où il donne une bande de 70 kDa ou par immunoenzymologie. Dirigé contre un fragment de dégradation de la topoisomérase 1, l'anti-Sc170 est retrouvé dans 70 % des cas de sclérodémie diffuse ou systémique.

L'anti-PM-Scl est retrouvé dans 3 % des cas de sclérodémie et 8% des cas de dermato-polymyosite. Il donne un aspect nucléolaire en IFI.

Les anti-synthétases (anti-J01, anti-PL12, anti-PL7, anti-SRP, anti-MAD5...) sont caractéristiques des dermato-polymyosites avec atteinte pulmonaire. La présence de l'Ac anti TIF1- $\gamma$  (Transcriptional intermediary factor 1- $\gamma$ ) est prédictive de survenue de cancer chez ces patients.

Les anti GP210 et anti Sp100 : sont 2 Ac détectés par IFI donnant un aspect cerclé du noyau sans fluorescence nucléaire pour le premier et de grains nucléaires ("nuclear dot") pour le second, la confirmation de leur présence se fait par ELISA ou immunodot. Leur présence est évocatrice de cirrhose biliaire primitive (CBP) et constitue un marqueur de mauvais pronostic.

## **2) Facteurs rhumatoïdes (FR) :**

- Ce sont des auto-Ac anti-IgG qui se lient avec une affinité généralement faible au fragment Fc des IgG humaines et celles des autres mammifères.

- En règle générale, ce sont des Ac de classe IgM, quoique des FR de classe IgG et IgA existent.

- Leur mise en évidence se fait par les deux techniques classiques du latex et de Waaler-Rose ou mieux par néphélobimétrie qui est actuellement la technique recommandée permettant de donner un résultat quantitatif. Les techniques ELISA sont aussi utilisées pour la mise en évidence et le dosage des FR, elles permettent d'identifier et de quantifier séparément les FR de chaque isotype (IgM, IgG ou IgA).

- Le FR est présent dans 85 % des cas de PR, mais il n'est pas spécifique de cette affection puisque, d'une part, 15 % au moins des PR n'ont pas de FR et de ce fait sont dites séronégatives, d'autre part, le FR est présent dans la quasi-totalité (90 à 100 %) des cas de SGS et avec une fréquence non négligeable dans d'autres connectivites (LES, sclérodermie, PAN...) et diverses affections inflammatoires chroniques (hépatites chroniques, lymphosarcomes, tuberculose, maladie d'Osler).

### **3) Les anticorps anti-CCP ("cyclic citrullinated peptide") :**

Les anti-CCP sont très spécifiques de la PR, on les détecte dans les phases précoces de la PR où les FR sont souvent négatifs. Leur taux est associé à la sévérité de la maladie. Ils sont recherchés et dosés par des techniques ELISA.

## **III-AUTOANTICORPS AU COURS DES AFFECTIONS HEPATIQUES**

### **ANTICORPS ANTICYTOPLASMIQUES**

Ce sont des Ac non spécifiques d'organe dirigés contre des organites intracytoplasmiques et rencontrés surtout au cours des affections hépatiques.

#### **1) Ac anti-mitochondries :**

- Recherchés par IFI sur coupe de rein – foie – estomac de rat.

- L'immunoblot permet de reconnaître différents types d'Ac anti-mitochondries : anti-M1, anti M2.....anti M9

- L'anti-M2 est le meilleur marqueur de la cirrhose biliaire primitive (CBP) (positif dans 96 % des cas et avec une bonne spécificité), l'Ag cible correspond au complexe de la pyruvate déshydrogénase (PDH), les auto-Ac spécifiques peuvent actuellement être recherchés par des techniques immuno-enzymatiques.

- Au cours de la CBP, ils peuvent être présents seuls ou associés aux anti-GP210 et/ou anti-Sp100.

- En plus de la CBP, les anti-mitochondries sont rencontrés au cours de la syphilis, de la myocardite primitive et de certaines hépatites médicamenteuses.

## 2) Ac anti-muscle lisse :

- Décelés par IFI sur coupe de rein – foie – estomac de rat (triple substrat)
- L'IFI sur frottis de cellules HEp-2 ou mieux de fibroblastes mis en culture en présence de colchicine permet de les typer en anti-actine et anti-vimentine
- Les Ac anti-actine sont retrouvés à des titres élevés (supérieurs au 1/100) surtout au cours de l'hépatite auto-immune de type I ou hépatite lupoïde mais aussi au cours de certaines hépatites médicamenteuses imitant l'hépatite lupoïde (clométacine = dupéran, fénofibrate = lipanthyl,  $\alpha$  méthyl dopa = aldomet)
- Les Ac anti-vimentine se rencontrent au cours de l'hépatite virale B.

## 3) Ac anti-réticulum endoplasmique = Ac anti-microsome de foie et de rein (anti-LKM) :

• Les anti-LKM1 ("*liver-kidney microsome*") sont caractéristiques de l'hépatite auto-immune de type II, leur détection se fait par IFI ; en cas de positivité par IFI une confirmation par immunodot est nécessaire.

• Les anti-LC1 ("*liver cytosol*") sont eux aussi caractéristiques de l'hépatite auto-immune de type II, leur présence peut être camouflée par les anti-LKM en IFI; c'est pourquoi une IFI positive doit être suivie par une identification par immunodot, et ce, quel que soit l'aspect de la fluorescence.

• Les anti-SLA ("*specific liver antibodies*") sont parfois les seuls Ac présents chez les patients atteints d'hépatites auto-immunes de type I ou II ; ils sont de mauvais pronostic. Leur détection est impossible par IFI. La recherche des anti-SLA par immunodot est indiquée en cas de forte suspicion d'hépatite auto-immune, même lorsque l'IFI est négative.

## IV- AUTO-ANTICORPS SPECIFIQUES D'ORGANES :

### 1) Ac anti-microsome thyroïdien :

- Décelés par IFI sur coupe de thyroïde humaine, par hémagglutination passive ou par immuno-enzymologie (Ac anti-TPO), l'Ag cible correspond, en effet, à la "*thyroïd-peroxydase*" ou TPO.

- Retrouvés à des titres colossaux dans la quasi-totalité des cas de thyroïdite de

Hashimoto et à des titres élevés dans la grande majorité des cas de myxœdème primitif

- Observés avec une fréquence assez élevée au cours de la maladie de Basedow et plus rarement au cours de certains goîtres.

## **2) Ac anti-thyroglobuline :**

- Recherchés avec les mêmes techniques que les anti-microsomes.

- La valeur diagnostique et l'intérêt évolutif sont comparables à ceux des Ac anti-microsome thyroïdien avec une fréquence plus faible dans le myxœdème et la maladie de Basedow

- Le cancer thyroïdien et les thyroïdites, autres que la thyroïdite de Hashimoto, donnent exceptionnellement les deux Ac à la fois chez le même patient.

## **3) Les Ac stimulant la fonction thyroïdienne :**

- Encore appelés "*long acting thyroid stimulator*" (LATS) ou Ac anti-récepteur de la TSH (anti TSH-R)

- Leur dosage est maintenant possible par des techniques ELISA

- Ces Ac sont spécifiques de la maladie de Basedow où ils sont retrouvés dans 75 % des cas au moins.

## **4) Ac anti-cellules $\beta$ des ilots de Langerhans du pancréas (ICA) :**

- Recherchés par IFI sur coupe de pancréas endocrine humain ou de singe

- Observés au cours du diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète type 1 où, de 85% des cas au cours de la 1ère année, ils ne sont plus présents que dans 15 % des cas après 5 ans d'évolution

- Représentent un bon marqueur sérologique du DID permettant dans une enquête familiale d'identifier les sujets susceptibles de développer la maladie (ont des Ac de titre élevé et fixant le complément).

En plus des ICA, d'autres auto-Ac sont présents au cours du DID. Les plus importants sont les anti-GAD ("glutamic acide decarboxylase") et les anti-IA2 détectés par des techniques ELISA et les Ac anti-insuline dont le dosage n'est possible que par RIA.

## **5) Ac anti-récepteur de l'acétylcholine (Ach-R) :**

- Mis en évidence par des techniques de dosage radio-immunologique (RIA) dans des laboratoires spécialisés et maintenant aussi par ELISA.

- Sont spécifiques de la myasthénie : présents dans 70 % des cas de myasthénie grave de l'adulte mais absents dans les formes congénitales et strictement oculaires de la maladie

- Le titre d'Ac ne reflète pas nécessairement la gravité de la maladie

#### **6) Ac anti-érythrocytes :**

- Le test de Coombs direct reste l'examen essentiel pour le diagnostic des anémies hémolytiques auto-immunes (AHA)

- Le test de Coombs direct avec anti-globulines anti-IgG et anti-C3 est positif dans 99 % des AHA mais aussi dans les anémies hémolytiques immuno-allergiques ( $\alpha$ -méthyldopa, pénicilline, phénacétine ...)

#### **7) Les Ac anti-cytoplasme des PNN (anti-CPN ou ANCA)**

Ces Ac sont caractéristiques de certaines vascularites telles que la granulomatose de Wegner (c-ANCA  $\Leftrightarrow$  anti-protéinase3 = anti-PR3) et la micro-angiopathie (p-ANCA  $\Leftrightarrow$  anti-myéloperoxydase = anti-MPO). D'autres types d'ANCA (appelés NANA) sont présents dans les maladies inflammatoires chroniques des intestins (MICI) et surtout dans la rectocolite hémorragique (RCH). Le dépistage des ANCA se fait par IFI et le typage (anti PR3/MPO ...) par ELISA ou immunodot.

#### **8) Autres Ac :**

- Ac anti-facteur intrinsèque gastrique dans l'anémie de Biermer

- Ac anti-surrénale dans certains cas de maladie d'Addison

- Ac anti-parathyroïde dans certaines hypo-parathyroïdies primitives

- Ac anti-substance intercellulaire des épithéliums stratifiés kératinisés dans le pemphigus

- Ac anti-membrane basale des épithéliums stratifiés (malpighiens et paramalpighiens) dans la pemphigoïde bulleuse

- Ac anti-membrane basale glomérulaire dans le syndrome de Goodpasture

- Ac anti-transglutaminase de type IgA et anti-endomysium de type IgA dans la maladie cœliaque et la dermatite herpétiforme. Les Ac anti-gliadine déamidée de type IgG sont préconisés en cas de forte suspicion de la maladie avec un déficit en IgA ou un âge <2 ans où ces IgG anti gliadine déamidée sont plus sensibles.

- Ac anti-coagulants circulants, Ac anti-cardiolipine, Ac anti- $\beta_2$ GP1 et autres Ac anti-phospholipides pour le diagnostic du syndrome des anti-phospholipides (SAPL)
- Ac anti-plaquettes dans les purpuras thrombopéniques idiopathiques...
- Ac anti-Hu et anti-Yo dans les syndromes paranéoplasiques
- Ac anti-myéline et anti-sphingolipides dans les syndromes neurogènes périphériques.

# HLA ET MALADIES

*Pr Hafedh MAKNI*

## **Objectifs**

1. Définir la liaison et l'association du système HLA avec les pathologies humaines.
2. Citer des exemples de maladies liées au système HLA
3. Citer des exemples de maladies associées au système HLA
4. Définir et rappeler la formule du risque relatif
5. Expliquer les mécanismes immunopathologiques impliqués dans les pathologies associées au système HLA

## **I- INTRODUCTION :**

La région HLA correspond à 3,6 millions de paires de bases.

- \* Dans cette région, plus de 80 gènes sont définies
- \* Dans la classe III, il existe 1 gène tous les 20Kb d'ADN
- \* La classe I correspond à la région la moins explorée.
- \* Pour la classe III ainsi que Classe II, la plupart des gènes ont été identifiés.

Le système HLA est un excellent modèle pour l'analyse de la base génétique de la susceptibilité à des maladies ; il constitue un thème majeur de recherche biomédicale dans cette décennie.

## **II- ASSOCIATION ET LIAISON AU SYSTEME HLA :**

L'association et la liaison au système HLA doivent être distinguées.

### **1) La liaison :**

La liaison est étudiée dans des familles comportant au moins deux cas pathologiques par fratrie (familles multiplexes) ; elle peut être ou non indépendante des marqueurs allotypiques.

La liaison concerne des maladies monogéniques dont le gène responsable est hébergé dans le complexe HLA, alors qu'il n'appartient pas fonctionnellement au CMH.

## **2) L'association :**

L'association concerne généralement des maladies complexes (effets cumulés de plusieurs et très nombreux gènes en plus de certains facteurs d'environnement). Elle est étudiée dans une population de sujets non apparentés comportant des individus présentant la pathologie étudiée et des individus témoins. Elle est observée entre un marqueur HLA est une pathologie déterminée.

On parle d'association lorsqu'un allèle/Ag HLA est observé avec une fréquence bien plus élevée chez les malades que chez les sujets sains. Le risque relatif (RR) encouru par le porteur du marqueur est calculé, plus il est élevé, plus les sujets qui portent ce marqueur courent le risque de développer la maladie.

Les associations relèvent de mécanismes immunopathologiques le plus souvent auto-immuns en rapport avec la fonction de présentation des molécules HLA.

## **III- PATHOLOGIES LIEES AU SYSTEME HLA :**

Des gènes localisés dans le CMH sont responsables de pathologies liées au système HLA

### **1) Déficit de l'enzyme 21 hydroxylase : L'insuffisance surrénalienne congénitale :**

L'insuffisance surrénalienne congénitale constitue l'exemple typique de la liaison génétique ; L'anomalie du gène peut être une délétion ou une mutation (gène CYP 21B). Le diagnostic in utero est fait par comparaison des typages HLA du cas index et du fœtus.

L'insuffisance surrénalienne congénitale est associée préférentiellement aux spécificités HLA- B47 et B14.

Ces associations pourraient résulter de la transmission au cours des générations de l'anomalie du gène CYP21B responsable et du gène B voisin.

### **2) Hémochromatose idiopathique :**

Le gène responsable (HFE) est localisé sur le chromosome 6p23 proche du locus HLA-A.

C'est une maladie caractérisée par :

- \* une surcharge en fer des parenchymes (foie+++ ) due à un défaut d'expression de ferritine dans la muqueuse intestinale

- \* absorption entérale de fer augmentée

\* Elévation importante du taux de fer sérique.

Le typage HLA permet de dépister des sujets à risque avant toute manifestation clinique ou biologique.

La liaison au système HLA s'accompagne d'une association à l'antigène HLA – A3 et aux haplotypes HLA- A3, B7, DR2 et A3, B14, DR6.

Le produit du gène HFE et son mécanisme d'action sont inconnus.

La maladie est fortement associée avec HLA –A3 dans toutes les populations caucasiennes étudiées.

### **3) Déficits des facteurs du complément C2 et C4 :**

Les gènes de structure de ces deux facteurs du complément sont localisés dans le CMH. Ainsi, les états de déficits congénitaux des facteurs du complément C2 et C4 sont considérés des états pathologiques liés au système HLA.

## **IV- LES PATHOLOGIES ASSOCIEES AU SYSTEME HLA :**

Du fait de la fonction immunitaire des molécules CMH, les associations HLA et maladies relèvent de mécanismes immunologiques comportant : les déficits immunitaires, les phénomènes d'hypersensibilité et les phénomènes d'auto-immunité.

➤ Le CMH est impliqué dans les cas rares de déficit immunitaires combinés sévères avec non expression des molécules CMH classe II et éventuellement classe I.

➤ En raison de la fonction de présentation des peptides aux T.C.R lors de la réponse immunitaire et lors de la constitution du répertoire T, le CMH peut être responsable d'auto-immunité T vis à vis du complexe CMH du soi + peptide du soi.

Les principales associations entre le système HLA et les maladies auto-immunes sont résumées dans le tableau I

### **1) Spondylarthrite ankylosante (SPA)/ HLA B27 :**

C'est l'exemple type d'une pathologie humaine associée au système HLA. Le modèle le plus probable comporte la reconnaissance par des clones T auto-réactifs du complexe formé par la molécule B27 et un peptide arthritogène.

Une infection bactérienne à *Klebsiella*, *Yersinia* ou *Shigella* permettrait l'émergence des clones T à un niveau pathogène.

Le (RR) varie de 40-300 selon les populations étudiées :

- plus de 90% des patients atteints de spondylarthrite ankylosante sont B27 positifs
- 10% dans la population générale (témoins) sont B27 positifs.

## **2) Diabète insulino-dépendant / HLA – DQ $\beta$ (57) :**

L'un des gènes de susceptibilité au diabète insulino-dépendant (DID) est identifié au locus HLA –D Q $\beta$  ; la présence d'un résidu serine, alanine ou valine en position 57 de la chaîne DQ $\beta$  permet la présentation d'un peptide auto-antigénique responsable de la destruction par les lymphocytes T cytotoxiques des cellules  $\beta$  de Langerhans (et du diabète). La présence d'acide aspartique dans cette même position protège contre le diabète.

## **3) Maladies non immunitaires :**

Il existe plusieurs maladies qui sont fortement associées avec la région HLA sans étiologie immune évidente.

Elles incluent : la narcolepsie et la rétinopathie Birdshot.

### ***La narcolepsie :***

C'est une maladie du sommeil de cause inconnue.

Cette maladie montre la plus forte association connue au système HLA ( $\approx$  100%) dans plusieurs populations étudiées.

On sait que 98 % des patients sont DRB1\*15:01, DQB1\*06:02.

Cependant, les séquences DQ et DR des gènes des sujets malades ne relèvent pas de différences significatives par rapport aux sujets normaux.

Deux hypothèses permettent d'expliquer l'association Narcolepsie/HLA classe II :

- 1- la maladie possède un caractère auto-immun et l'un des produits classe II est nécessaire (mais insuffisant) pour son développement.
- 2- Il pourrait exister un gène non HLA-DR, qui coderait pour un produit affectant le sommeil et qui serait très étroitement lié à la région HLA-DR, qui serait altéré dans l'haplotype DRB1\*15:01.

#### 4) Le risque relatif :

Le risque relatif (RR) mesure l'intensité de l'association de la maladie au marqueur HLA. Il représente le risque pour qu'un sujet porteur du marqueur puissent développer la maladie par rapport à un sujet non porteur.

Soit le tableau suivant :

	Ag HLA présent	Ag HLA absent
Malades	a	b
Normaux	c	d

Le risque relatif est calculé selon la formule suivante :  $RR = ad/bc$

L'interprétation des résultats du calcul du RR s'effectue selon la valeur RR :

- Si  $RR > 1$  le risque de développer la pathologie est accru par la présence du marqueur.
- Si  $RR < 1$  le marqueur a une action protectrice vis à vis de la pathologie concernée.

#### 5) Les mécanismes physiopathologiques :

Les mécanismes physiopathologiques permettant d'expliquer des associations HLA et maladies sont :

1. Hypersensibilité en rapport avec une réponse immunitaire contrôlée par le CMH

Ex : Hypersensibilité type retardée/ lèpre tuberculoïde

Hypersensibilité type III/ lèpre lépromateuse.

2. Auto-immunité des cellules T (TCR) vis à vis du complexe (CMH du soi + peptide soi).

Ex : SPA, DID

3. Des gènes hébergés dans le CMH pourraient jouer un rôle dans un processus immuno-pathologique.

Ex : Gène TNF, HSP, TAP, LMP

4. Certaines pathologies ne peuvent être rapportées à l'un des mécanismes précédents.

Ex : Narcolepsie, Rétinopathie de Birdshot

## V- CONCLUSION :

Faute d'études suffisantes certaines associations restent inexplicées. L'association HLA/ maladie aide au diagnostic de certaines pathologies /SPA ; Narcolepsie. Elle aide à l'identification des sujets exposés au risque d'hémochromatose, de déficit en 21 hydroxylase, de diabète insulino-dépendant etc...

Enfin, cette étude aide à mieux connaître l'étiologie et la physiopathologie des maladies concernées.

**Tableau I. Principales associations HLA et maladies**

Maladie	Marqueur HLA associé	Risque relatif (RR)	Gène candidat de susceptibilité
Polyarthrite rhumatoïde	DR4	6,1	DRB1*04:01
	DR4	4,6	DRB1*04:04
Diabète de type I	DQ8	8,0	DQB1*03:02
	DR3/DR4	3,3	?
Pemphigus	DR4	14,4	DRB1*04:02
Sclérose en plaques	DR2(15)	2,7	DRB1*15:01
Narcolepsie	DR2(15)		DQB1*06:02
Lupus érythémateux disséminé	DR3	3	DRB1*03:01
Syndrome de Sjogren	DR3	6	DRB1*03:01
Myasthénie	DR3	3,3	?
Maladie de Basedow	DR3	3,7	?
Spondylarthrite ankylosante	B27	87	HLA-B*27:05
Maladie de Behçet	B51	6	

# IMMUNOLOGIE DES GREFFES

*Dr Arwa KAMOUN  
Pr Hafedh MAKNI*

## **Objectifs**

1. Déterminer le rôle des antigènes HLA dans la transplantation d'organes et la greffe de cellules souches hématopoïétiques
2. Définir les différents types de rejets des transplantations allogéniques
3. Décrire les mécanismes immunologiques des rejets
4. Expliquer les voies d'allo-reconnaissances
5. Citer les conditions immunologiques pour accepter un couple donneur/receveur candidat pour une greffe de moelle osseuse ou une transplantation d'organes

## **I) INTRODUCTION - DEFINITIONS**

L'acte de greffe ou de transplantation consiste à prélever un organe, un tissu ou des cellules chez un individu et à réimplanter le greffon chez un autre individu. L'individu procurant le greffon est appelé « donneur », celui qui en bénéficie « receveur ».

La greffe correspond à l'implantation de tissus sans anastomose vasculaire (moelle osseuse, cornée, peau). La transplantation correspond au prélèvement d'un organe (rein, cœur, poumons, foie, pancréas, intestins) sur un donneur et à son implantation chez le receveur avec rétablissement de la continuité vasculaire.

Dans certains cas, le donneur et le receveur peuvent être confondus : Il s'agit d'autogreffe.

Le plus souvent, l'organe prélevé est transplanté chez un receveur génétiquement différent mais provenant de la même espèce : allogreffe.

Si le receveur et le donneur sont 2 individus différents mais génétiquement identiques (jumeaux monozygotes), il s'agira d'une greffe syngénique.

La xéno greffe est une greffe réalisée entre 2 individus d'espèces différentes.

Lorsqu'il s'agit d'une greffe syngénique, la greffe est acceptée sans problème. Cependant, cette situation est exceptionnelle, et dans la majorité des cas le donneur et le receveur n'ont aucun lien de parenté ou sont apparentés sans être de vrais jumeaux. Le destin de la greffe dépend des degrés de similitude et de différence entre les antigènes (Ag) d'histocompatibilité du donneur et ceux du receveur, et en particulier les Ag du complexe majeur d'Histocompatibilité (CMH) appelé système HLA (« Human Leucocyte Antigen ») chez l'Homme.

Le rejet de greffe est lié essentiellement à la réponse immunitaire du receveur vis-à-vis des Ag d'histocompatibilité étrangers présents sur l'organe greffé. Cette réponse immunitaire fait intervenir à la fois l'immunité humorale et l'immunité à médiation cellulaire.

Pour éviter ce rejet, on fait généralement recours à des traitements immunosuppresseurs dont les complications peuvent conduire à la mort du malade greffé.

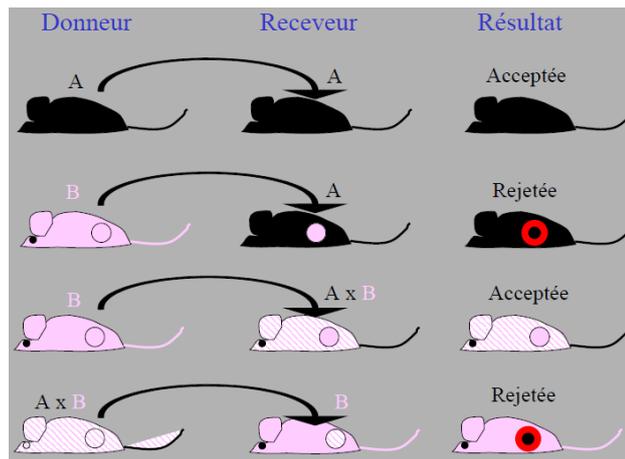
La greffe de moelle osseuse comporte un risque supplémentaire par rapport aux transplantations d'organes solides. En effet, les cellules immunocompétentes de la moelle osseuse greffée peuvent développer une réaction immunitaire contre le receveur lui-même, ou maladie du greffon contre l'hôte (GVH) aboutissant souvent au décès de ce dernier.

## **II) DEVENIR DE LA GREFFE**

### **1) Lois de la transplantation**

Sont connus à partir d'expériences de greffes réalisées entre des souris :

- Une greffe de peau d'une lignée de souris A vers une autre souris de la même lignée n'est pas rejetée (patrimoine génétique identique)
- Une greffe de souris A vers un hybride AXB n'est pas rejetée car AXB possède le patrimoine génétique de A.
- Lorsque la greffe est réalisée de A vers B ou de B vers A, la différence génétique en situation allogénique provoquera un rejet de greffe. Le même rejet sera observé si AXB est greffé à A ou à B.



**Figure 2 : Les lois de la transplantation**

## 2) Histoire naturelle d'une greffe

L'histoire naturelle d'une greffe dans un modèle animal suit une évolution relativement constante.

S'il s'agit d'une greffe syngénique, l'acceptation du greffon se traduit dès le 3<sup>e</sup> jour par une revascularisation de la peau, sans infiltrat cellulaire avec une évolution vers une prise définitive.

En cas de greffe allogénique, un rejet intervient inéluctablement entre le 10<sup>e</sup> jour et le 14<sup>e</sup> jour

Si une 2<sup>ème</sup> greffe est réalisée à partir du même donneur, celle-ci sera rejetée plus rapidement (en 2 ou 3 jours).

Cette accélération du rejet témoigne de la nature immunologique du rejet et de l'existence d'une mémoire immunitaire.

## 3) Différents types de rejet

Chez l'Homme, à la fois les lymphocytes T et les Ac participent aux mécanismes immunologiques du rejet. Il faut distinguer :

- Le rejet suraigu qui survient dans les premières heures de la greffe et qui intervient essentiellement s'il existe des Ac préformés, dirigés contre les Ag du greffon.

Une telle éventualité doit être écartée par la pratique systématique d'une épreuve de compatibilité lymphocytaire (« cross match ») avant la greffe.

- Le rejet aigu précoce qui intervient dans les 10 premiers jours et dont les mécanismes sont essentiellement cellulaires

- Le rejet aigu tardif (après 10 jours) et le rejet chronique (après 2-3 ans) dont les mécanismes sont à la fois cellulaires et humoraux.

### III) MECANISMES IMMUNOLOGIQUES DU REJET DE GREFFE

#### 1) Les allo-antigènes :

De nombreuses molécules, exprimées par les cellules du greffon, sont susceptibles de conduire à l'activation du système immunitaire du receveur : les allo-antigènes. Trois types d'allo-antigènes sont particulièrement impliqués

- Les Ag HLA
- Les Ag mineurs d'histocompatibilité
- Les antigènes des groupes sanguins ABO

a. Les Ag HLA : les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité

constituent la principale cible du système immunitaire lors du rejet de greffe.

Elles sont codées par un ensemble de gènes situés sur le chromosome 6 chez l'Homme. Les molécules HLA classe I sont exprimées de manière constitutive à la surface de la quasi-totalité des cellules nucléées. Elles sont composées d'une chaîne  $\alpha$  polymorphe associée de façon non covalente à la  $\beta_2$  microglobuline.

Les molécules HLA classe II sont formées par l'assemblage de deux chaînes polymorphes  $\alpha$  et  $\beta$ . Leur expression est limitée aux cellules présentatrices d'Ag professionnelles (cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes B) et aux cellules épithéliales thymiques. Toutefois, sous l'influence de cytokines comme l' $\text{IFN}\gamma$  et le  $\text{TNF}\alpha$ , elles peuvent être exprimées à la surface des cellules endothéliales vasculaires. En règle générale, les molécules HLA classe I présentent des peptides antigéniques endogènes (ex peptides d'origine virale), alors que les molécules HLA classe II présentent des peptides antigéniques exogènes (ex peptides d'origine bactérienne). Les molécules HLA classe I présentent l'Ag aux lymphocytes T  $\text{CD8}^+$  tandis que les molécules HLA classe II présentent l'Ag aux lymphocytes T  $\text{CD4}^+$ . Il existe 3 principaux types d'Ag HLA classe I : A, B C ; et 3 principaux types d'Ag HLA classe II : DR, DP et DQ.

Les molécules HLA classe I et classe II partagent une origine polygénique complexe, sont hautement polymorphes et répondent à une expression co-dominante de leurs gènes. Ceci permet d'augmenter les chances de survie de chaque individu face aux

agressions extérieures, mais pose un problème majeur en transplantation puisqu'il réduit fortement les probabilités d'histocompatibilité entre donneur et receveur.

b. Le système ABO : Les Ag des groupes sanguins ABO sont de puissants Ag de transplantation. Ils sont exprimés à la surface des GR et de l'endothélium vasculaire, interface importante entre le greffon et l'hôte. Du fait de l'existence d'Ac IgM naturels anti-A chez les sujets de groupe B et anti-B les sujets de groupe A, une transplantation incompatible dans le système ABO, est vigoureusement rejetée par un mécanisme d'immunité humorale.

c. Les Ag mineurs d'Histocompatibilité regroupent l'ensemble des molécules, différentes des Ag HLA classe I et classe II, susceptibles d'induire l'activation des lymphocytes T allo-spécifiques CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> et ainsi, d'amener au rejet d'une greffe. Ils ne déclenchent pas de réponse humorale détectable. Ils sont le plus souvent de nature peptidique. Ils peuvent être codés par des autosomes (ex myosine, β2-microglobuline), par le chromosome Y (ex Ag mâle HY) ou par l'ADN mitochondrial.

## **2) Les effecteurs**

Les effecteurs sont : les lymphocytes T CD4, T CD8, et les Ac :

- Les lymphocytes T CD4 allo-réactifs sécrètent des cytokines, activent les macrophages et provoquent des lésions initiales de rejet par un mécanisme d'hypersensibilité retardée (HSR)

- Les lymphocytes T CD8 allo-réactifs agissent directement sur le greffon en détruisant les cellules de l'endothélium et du parenchyme

- Les allo Ac interviennent en activant le système du complément et en provoquant des lésions au niveau des vaisseaux sanguins du greffon. Ces Ac interviennent également par un mécanisme d'ADCC impliquant divers types de cellules K.

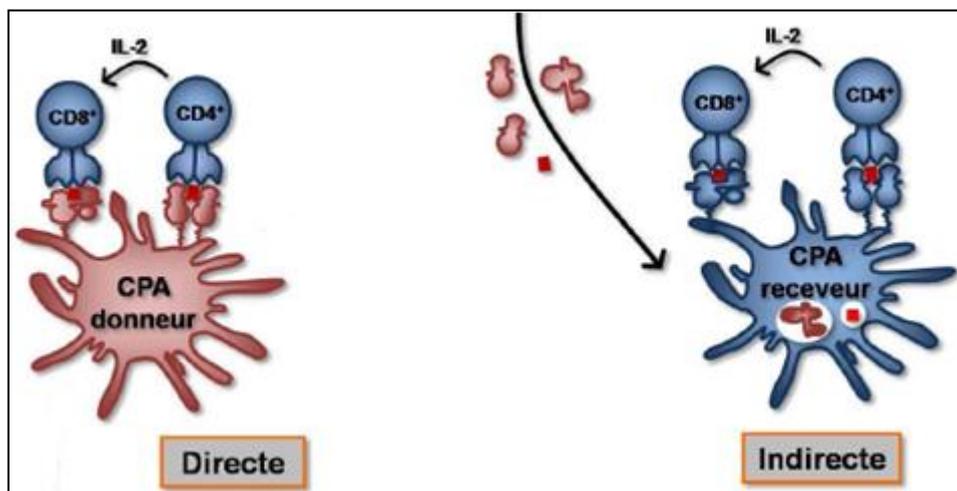
## **3) Les voies d'allo-reconnaissance :**

L'activation du système immunitaire du receveur a lieu au niveau des ganglions lymphatiques drainant la greffe. Là, les lymphocytes T allo-réactifs naïfs du receveur peuvent être activés selon deux voies principales d'activation : directe et indirecte.

Lors d'une transplantation d'organes, les cellules dendritiques du donneur migrent à partir du greffon vers les organes lymphoïdes du receveur et y activent

les lymphocytes T au niveau des zones T-dépendantes des organes lymphoïdes secondaires. Il s'agit d'une présentation directe des allo-antigènes du donneur par les cellules dendritiques du donneur. Cette présentation directe représente 90-95% de l'intensité de la réaction allogénique. Elle explique la fréquence des épisodes de rejet aigu cellulaire durant les premières semaines de la greffe.

Progressivement, les cellules dendritiques du donneur disparaissent et sont remplacées par les cellules dendritiques du receveur. Celles-ci captent au niveau du greffon les protéines du donneur et en particulier les molécules HLA synthétisées par le greffon. Les cellules dendritiques du receveur vont présenter les protéines allogéniques du donneur aux lymphocytes T du receveur. C'est la présentation indirecte qui progressivement remplace la présentation directe et qui peut être responsable de rejets aigus mais semble surtout impliquée dans le rejet chronique.



**Figure 3 : Les voies de l'allo-reconnaissance**

#### **4) Les trois types de rejets**

##### **a) Rejet suraigu**

Il est caractérisé par une thrombose des vaisseaux irriguant le greffon.

Il survient dans les minutes ou les heures qui suivent le rétablissement de la continuité vasculaire.

Cette thrombose aboutit à un infarctus du transplant avec des lésions ischémiques irréversibles pour l'organe.

Le mécanisme essentiel est la fixation d'Ac préexistant chez le receveur sur l'endothélium vasculaire.

Ces Ac vont activer le système du complément et provoquer une stimulation des cellules endothéliales qui vont sécréter des facteurs de coagulation favorisant l'adhérence et l'agrégation des plaquettes. Ce phénomène aboutit à la thrombose vasculaire.

Ces Ac préformés sont le plus souvent des allo-Ac dirigés contre les Ag du CMH.

La présence des allo-Ac s'explique par une sensibilisation préalable à des allo-Ag à la suite d'une transfusion, d'une greffe ou d'une grossesse antérieure. Ces Ac sont le plus souvent de type IgG, et doivent systématiquement être recherchés par un « cross match » avant la greffe.

Des Ac naturels de type IgM et dirigés contre les Ag des groupes sanguins ABO (également portés par les cellules endothéliales) peuvent intervenir dans ce mécanisme, mais l'appariement dans le système ABO du couple donneur-receveur permet de prévenir ce type de rejet.

### **b) Rejet aigu**

Le rejet aigu survient dans les 4 à 5 jours après la greffe. Il peut être de type humoral ou cellulaire.

#### **(1) Rejet aigu vasculaire**

Il se caractérise par une nécrose des cellules de l'endothélium vasculaire à type de vascularite et différent de l'aspect thrombotique observé dans le rejet suraigu.

Les mécanismes effecteurs sont les Ac le plus souvent de type IgG, dirigés contre les allo-Ag portés par les cellules endothéliales, et qui vont activer le complément.

Les lymphocytes T participent également au rejet vasculaire en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires ou par action directe sur les cellules endothéliales.

#### **(2) Rejet aigu cellulaire**

Ce type de rejet se caractérise par une nécrose des cellules du parenchyme associée à une infiltration par des cellules mononuclées (monocytes et macrophages).

Plusieurs types de mécanismes sont impliqués dans ce type de rejet :

- cytolyse par les lymphocytes T CD8 cytotoxiques qui reconnaissent les allo-Ag HLA classe I
- activation des macrophages dont l'action est exercée via un mécanisme d'HSR
- atteinte des cellules du greffon par les cellules NK

La reconnaissance et la lyse des cellules du greffon par les lymphocytes T CD8 cytotoxiques allo-réactifs constituent le mécanisme le plus important dans ce type de rejet.

### **c) Rejet chronique**

Le rejet chronique se définit par la persistance d'une réaction immunitaire chez le receveur plusieurs mois voire plusieurs années après la greffe, et s'accompagne d'une détérioration progressive des capacités fonctionnelles du greffon malgré la poursuite du traitement immunosuppresseur.

Il se caractérise par des atteintes vasculaires touchant principalement les artères contrairement aux lésions de rejet aigu qui touchent surtout les capillaires.

Les cellules de l'endothélium vasculaire sont la cible principale du rejet.

Le rejet chronique évolue en 3 phases successives :

#### a) Phase de type humoral :

Cette phase est médiée par des anticorps cytotoxiques circulants qui agissent en activant le complément ou par ADCC.

#### b) Phase de type cellulaire :

Cette phase est caractérisée par une infiltration de cellules mononuclées constituées de monocytes, macrophages, lymphocytes T, cellules NK.

#### c) Phase entretenue par des cytokines :

Cette phase cause des atteintes répétées de l'endothélium conduisant à une oblitération progressive de la lumière vasculaire avec épaissement de la paroi.

### **d) Rôle des cellules endothéliales**

Quel que soit le type de rejet, les cellules endothéliales jouent un rôle majeur en intervenant à différents niveaux :

- Dans le recrutement des cellules immunocompétentes du receveur dans le greffon par sécrétion de cytokines, telles que l'IL-8, qui par leur action chimiotactique vont recruter les cellules effectrices du receveur
- par l'exposition de molécules d'adhésion qui vont permettre l'adhérence de cellules immunocompétentes à l'endothélium vasculaire et leur migration vers les tissus sous-jacents
- par la présentation des allo-Ag du greffon aux lymphocytes T en jouant le

rôle de CPA. En effet, sous l'action de cytokines (essentiellement l'INF $\gamma$  et le TNF $\alpha$ ) sécrétées par les lymphocytes T, les cellules endothéliales sont capables d'exprimer les molécules CMH II et de présenter les peptides antigéniques aux LT CD4.

#### **IV) PREVENTION DU REJET**

##### **1) Compatibilité ABO**

Pour toute greffe d'organes avec anastomoses vasculaires, la compatibilité ABO est indispensable. Elle ne l'est pas dans le cas de greffe de moelle.

##### **2) Compatibilité HLA**

###### **a) Le typage HLA :**

Il permettra en cas de disponibilité d'un greffon de sélectionner les receveurs potentiels présentant le phénotype HLA le plus proche de celui du donneur. L'appariement sera réalisé en tenant compte d'abord de la compatibilité HLA-DR, puis HLA-B puis HLA-A.

###### **b) La recherche régulière d'immunisation anti-HLA :**

Elle doit être réalisée à partir du sérum de tout patient en attente de transplantation d'organes. Dans le suivi post-greffe, une recherche d'anticorps anti-HLA sera réalisée de façon régulière et après tout évènement immunisant afin de mettre en évidence une éventuelle immunisation du patient greffé. Plusieurs techniques peuvent être utilisées :

- La microlymphocytotoxicité est la technique la moins sensible.
- Le test immunoenzymatique ELISA.
- Le luminex et le flow-PRA sont les techniques les plus sensibles.

###### **c) L'épreuve de compatibilité lymphocytaire (ou crossmatch) :**

Elle repose sur le test de microlymphocytotoxicité et consiste à faire réagir le sérum du receveur avec les lymphocytes T et les lymphocytes B du donneur en présence de complément et d'un colorant vital pour identifier les cellules mortes. Le sérum du jour et les sérums historiques positifs du receveur sont « Cross matchés » avec les lymphocytes T et les lymphocytes B du greffon (du donneur).

Elle peut être réalisée par cytométrie de flux (plus sensible).

##### **3) Traitements immunosuppresseurs**

L'immunosuppression permet la prévention et le traitement du rejet des greffes d'organes. Son objectif principal est d'inhiber l'activation et les fonctions effectrices des lymphocytes T. Le principal médicament immunosuppresseur utilisé en transplantation est la ciclosporine qui agit en bloquant la transcription des gènes codant pour les cytokines dans les lymphocytes T. De nombreux autres agents sont utilisés en complément ou en remplacement de la ciclosporine.

Avant que la ciclosporine ne soit utilisée en clinique, la détermination de la compatibilité des allèles HLA entre donneur et receveur par typage tissulaire a joué un rôle important dans la réduction des rejets de greffe. Cependant, l'immunosuppression est devenue suffisamment efficace pour que le typage HLA ne soit plus considéré comme nécessaire dans de nombreux types de transplantations d'organes, en particulier la transplantation de cœur, de poumons et de foie.

## **V) PARTICULARITES EN FONCTION DE L'ORGANE OU DU TISSU**

### **GREFFE**

#### **1) Transplantation rénale**

Devant un donneur en état de mort cérébrale, la priorité est donnée à l'absence de mis-match (HLA-DR, puis HLA-B puis HLA-A). En effet, les études ont montré qu'une meilleure compatibilité HLA entre donneurs et receveurs réduit les phénomènes d'allo-réactivité et s'associe à une meilleure survie du greffon. Cette compatibilité tissulaire est également un facteur pronostique dans les transplantations donneur vivant, l'absence totale de compatibilité (dans les donneurs apparentés ou de conjoint) sans être une contre-indication à la transplantation, donne une moins bonne survie du greffon.

Il est impératif d'exclure de la transplantation toute personne possédant dans le sérum du jour de la transplantation des Ac d'isotype IgG dirigés contre les Ag HLA classe I du donneur (cross match positif avec les lymphocytes T du donneur).

Il faut également respecter les règles de compatibilité ABO. En effet, les cellules endothéliales du greffon expriment les glycoprotéines membranaires du système ABO et une compatibilité stricte est requise pour ce système sous peine de voir des lésions vasculaires avec coagulation intravasculaire provoquée par les Ac anti-A et/ou anti-B de l'hôte. Les Ag du groupe Rhésus, quant à eux, sont absents du rein.

## **2) Transplantation de cœur et de foie**

L'extrême urgence habituelle des indications et la courte durée de l'ischémie froide tolérée ne permettent pas habituellement de prendre en compte le système HLA. De plus, le donneur est obligatoirement un sujet en état de mort cérébrale (coma dépassé) qui, dans la quasi-totalité des cas n'est pas apparenté au receveur (quoique des greffes partielles de foie d'un parent vivant à son enfant sont parfois réalisées, le foie étant un organe qui régénère bien).

Pour les transplantations cardiaques, la compatibilité ABO et un cross-match négatif sont tout de même exigés. Tandis que pour les greffes de foie, le cross match positif n'est pas une contre-indication absolue puisque des allogreffes de foie HLA incompatibles avec des Ac anti-HLA classe I ont été réalisées avec succès.

## **3) Greffe de cellules souches hématopoïétiques**

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), autologues ou allogéniques, a pour objectif de reconstituer de façon durable l'hématopoïèse d'un patient (receveur) par l'administration d'un greffon riche en CSH provenant d'un donneur.

La greffe de CSH est indiquée en cas de déficit congénital ou acquis affectant une ou plusieurs lignées de cellules d'origine hématopoïétique. Elle est également indiquée lorsque l'hématopoïèse a été détruite dans le cadre d'un traitement visant à éradiquer une hémopathie maligne ou un cancer non hématologique.

Une stricte identité HLA est habituellement exigée. Le donneur est souvent recherché dans la famille. Il s'agit souvent d'un frère ou d'une sœur qui a un typage HLA compatible avec le receveur (greffe géno-identique). Le pourcentage de réussite pour trouver un donneur compatible dans la famille est de 25%.

L'incompatibilité ABO n'est pas une contre-indication absolue, elle nécessite l'absorption temporaire des Ac anti-A et/ou anti-B du receveur de façon à éviter une réaction hémolytique post-transfusionnelle.

Hormis le cas de greffe autologue, l'existence de différences antigéniques entre le donneur et le receveur entraîne une situation immunologique complexe d'allo-réactivité bidirectionnelle (receveur anti-donneur et donneur anti-receveur) qui conditionne l'issue de la greffe.

Les nombreux cas observés de rechute de la leucémie après greffe syngénique entre 2 jumeaux homozygotes seraient en grande partie dus au non bénéfice du phénomène

dit de greffe contre leucémie ou GVL ("Graft-Versus-Leukemia") en raison de l'identité parfaite de tous les Ag d'Histocompatibilité.

Origine des CSH :

- Moelle osseuse : les CSH sont obtenues par aspiration au niveau des os plats
- Cellules souches périphériques : sont mobilisées chez un donneur par l'administration de G-CSF ou GM-CSF puis collectées par cytophérèse.
- Le Sang placentaire est physiologiquement riche en CSH. Il peut être recueilli dans le cordon ombilical à la naissance et utilisé comme greffon. Les avantages du sang du cordon sont les suivants : disponibilité immédiate, moindre risque de transmission virale, tolérance même en cas d'incompatibilité HLA grâce à l'immaturité immunologique des cellules greffées, et faible risque de GVH même en présence de mis-match HLA.

# LES MALADIES ALLERGIQUES ET LEUR EXPLORATION

*Dr Samy Haddouk  
Dr Sawsan Feki  
Dr Hatem Masmoudi*

## **Objectifs**

- 1- Connaître la classification de Gell et Coombs des hypersensibilités.
- 2- Définir la notion d'atopie.
- 3- Expliquer l'épidémiologie, les facteurs favorisants et l'évolution des principales allergies de l'enfant et de l'adulte.
- 4- Connaître les différentes catégories d'allergènes.
- 5- Savoir décrire les mécanismes essentiels de l'hypersensibilité immédiate ou de type I.
- 6- Savoir décrire les mécanismes essentiels de l'hypersensibilité médiée par les complexes immuns ou de type III.
- 7- Savoir décrire les mécanismes essentiels de l'hypersensibilité retardée ou de type IV.
- 8- Discuter la place des examens complémentaires au cours d'une enquête allergologique.
- 9- Comprendre la place des thérapeutiques immunologiques dans la prise en charge du patient allergique.

## **I- DEFINITIONS :**

### **1) Les hypersensibilités :**

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 selon 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.

Le terme allergie a été introduit par Von Pirquet en 1906 pour désigner les réactions d'hypersensibilité 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 (HSI) IgE dépendante ou type I (Figure 1). Néanmoins, d'authentiques maladies allergiques peuvent être la conséquence d'autres mécanismes. Ainsi, les alvéolites allergiques extrinsèques et les eczémas de contact relèvent respectivement de mécanismes d'hypersensibilité à complexes immuns (ou type III) et d'hypersensibilité retardée (ou type IV).

## **2) Notion d'atopie :**

Il s'agit d'une prédisposition personnelle ou familiale (génétique) à développer au cours de la vie des manifestations cliniques de l'allergie en réponse à un ou plusieurs antigènes. Cette définition d'abord clinique s'est enrichie d'une composante biologique lorsque l'isotype IgE des immunoglobulines (Ig) a été découvert : présence d'Ac IgE vis-à-vis d'un ou de plusieurs allergènes alimentaires ou de l'environnement.

## **II- EPIDEMIOLOGIE :**

### **1) Fréquence et expression des maladies allergiques :**

La place des maladies allergiques en pathologie humaine est de plus en plus importante et leur prévalence a plus que doublé au cours des 15 dernières années. Pour l'OMS, les maladies allergiques sont au 4<sup>ème</sup> rang des maladies chroniques.

En ce qui concerne la gravité, 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.

Les manifestations cliniques en relation avec une allergie peuvent être systemiques

(choc anaphylactique, œdème facial dit œdème de Quincke..) ou localisées dans des organes cibles : nez (rhinite et/ou sinusite allergique), œil (conjonctivite allergique), larynx (spasme laryngé), bronche (asthme), poumon, tube digestif (spasmes, œdème muqueux...), et peau (angio-œdème, urticaire...).

## **2) Influence de l'environnement :**

Pour expliquer l'augmentation considérable de l'incidence des maladies allergiques au cours des 30 dernières années, des modifications du mode de vie sont incriminées. Un mode de vie de type " occidental ", propre aux pays dits "développés", semble avoir favorisé cette recrudescence. Ce mode de vie comporte l'exposition aux polluants et autres agents chimiques domestiques et atmosphériques mais surtout une diminution de la pression infectieuse et des modifications nutritionnelles susceptibles de modifier la flore intestinale dès les premières semaines de vie.

Les modifications environnementales seraient responsables de l'induction d'une dysrégulation de la réponse immune, privilégiant une réponse de type Th2, au détriment de la réponse Th1. Elles interviendraient en interférant avec la mise en place et la modulation " normale " d'un système immunitaire mature, pour lesquelles l'exposition aux agents microbiens, infectieux ou non (comme ceux de la microflore intestinale) est un élément majeur. Ainsi l'amélioration de l'hygiène pourrait avoir un effet positif sur la prévention des infections mais négatif sur le bon développement du système immunitaire et l'incidence des maladies allergiques.

## **3) Influence de l'âge :**

La fréquence des manifestations allergiques et la nature des organes cibles varient avec l'âge.

- les allergies alimentaires sont plus fréquentes chez le nouveau-né (allergie aux protéines du lait de vache..) et les nourrissons (albumine de l'œuf, soja..) ;
- les allergies respiratoires surviennent en général chez l'enfant plus âgé ou l'adulte.
- les allergies cutanées (eczéma) sont fréquentes chez les nourrissons et les jeunes enfants.

## **4) Influence de la prédisposition génétique :**

Les facteurs génétiques de susceptibilité pour l'atopie ont été mis en évidence par des études familiales démontrant un taux de concordance supérieur chez les jumeaux monozygotes que chez les jumeaux dizygotes (77% contre 15% pour l'eczéma par exemple).

Les gènes polymorphiques candidats sont les gènes dont certains allèles sont associés à des manifestations atopiques et/ou des taux d'IgE sériques élevés : HLA, l'IL-4, IL13... .

### **III- LES ALLERGENES :**

Les allergènes sont des antigènes banaux de l'environnement, non parasitaires et habituellement inoffensifs qui entraînent la production d'Ac spécifiques de classe IgE chez les individus génétiquement prédisposés. Les allergènes sont classés en 5 grandes catégories :

- les pneumallergènes (inhalés),
- les trophallergènes (ingérés),
- les allergènes professionnels,
- les allergènes médicamenteux,
- les venins.

#### **1) Les Pneumallergènes :**

Ils sont responsables de manifestations allergiques ORL (rhinite), pulmonaires (asthme, alvéolite) et de conjonctivites. Les pneumallergènes de grandes tailles (>10 $\mu$ ) provoquent rhinites et conjonctivites. Les pneumallergènes de taille inférieure à 10 $\mu$  peuvent être responsables d'asthme. Seuls les pneumallergènes de taille inférieure à 4 $\mu$  peuvent atteindre les alvéoles (alvéolites allergiques).

Les pneumallergènes sont soit saisonniers soit péri-annuels (présents tout au long de l'année).

Les pneumallergènes saisonniers les plus fréquents sont les pollens :

- de graminées (ivraie, phléole, dactyle) : de l'été à l'automne
- d'arbres (bouleau, aulne, chêne) : de l'hiver au printemps

- d'herbacés (ambrosies) : au printemps.

Les calendriers polliniques varient d'une région à l'autre et d'une saison à l'autre. Les pneumallergènes péri-annuels les plus fréquents sont :

- les acariens (*dermatophagoïdes pteronissinus..*)

- les pneumallergènes d'animaux domestiques (chats, chiens..)

- les pneumallergènes commensaux (bactéries, aspergillus et autres champignons opportunistes).

## **2) Les trophallergènes:**

Les allergies alimentaires de mécanisme IgE-dépendant sont rares chez l'adulte (moins de 2% de la population générale) mais fréquentes chez l'enfant (10% voire davantage).

Il ne faut pas les confondre avec les intolérances alimentaires beaucoup plus répandues et les réactions dues à des aliments riches en histamine ou histamino-libérateurs (chocolat, fraise...).

Chez l'adulte, les allergènes alimentaires les plus fréquents sont d'origine animale (poissons et fruits de mer) et végétale (farines, cacahuètes, noix, amandes). Ils sont responsables de manifestations digestives (5% des cas) mais surtout systémiques : cutanéomuqueuses (80% des cas), respiratoires, oculaires voire des états de choc anaphylactique (5% des cas).

Chez l'enfant, les allergènes alimentaires les plus fréquents sont essentiellement les protéines du lait et de l'œuf, les farines et l'arachide (cacahuètes : 1/4 des allergies alimentaires aux USA et en Europe). Les manifestations digestives et cutanées prédominent.

## **3) Les allergènes professionnels :**

Les eczémas de contact sont parmi les maladies professionnelles les plus fréquentes. Les hommes sont les plus touchés. Les lésions débutent et prédominent aux mains et s'améliorent pendant les vacances.

Les professions les plus souvent à l'origine d'eczémas professionnels sont :

- Métiers du bâtiment : sels de chrome (ciment), cobalt (peinture, émail), résines époxy (colle, vernis, peinture), formaldéhyde (colle, textile)..
- Coiffeurs : paraphénylène diamine et paratoluène diamine (teintures), conservateurs (shampoings)...
- Métiers de l'industrie : huiles de coupe, détergents, résines acryliques, bois exotiques, nickel...
- Professions de santé : antiseptiques, pénicillines, aminosides, anti-inflammatoires non stéroïdiens, phénothiazines, anesthésiques locaux, latex (gants et matériels divers), acrylates des résines composites (prothésistes)...
- Horticulteurs : pesticides, gants...

#### **4) Les allergènes médicamenteux :**

La liste des médicaments et substances biologiques susceptibles d'induire un choc anaphylactique est très longue. Parmi les plus fréquemment en cause, on peut citer : la pénicilline, les myorelaxants et autres produits d'anesthésie générale, le latex, les produits sanguins (plasma, immunoglobulines) ...

#### **5) Les venins d'hyménoptères :**

Les venins d'hyménoptères (guêpes, abeilles...) sont très allergisants. Les manifestations cliniques sont dominées par le risque de choc anaphylactique surtout chez l'adulte.

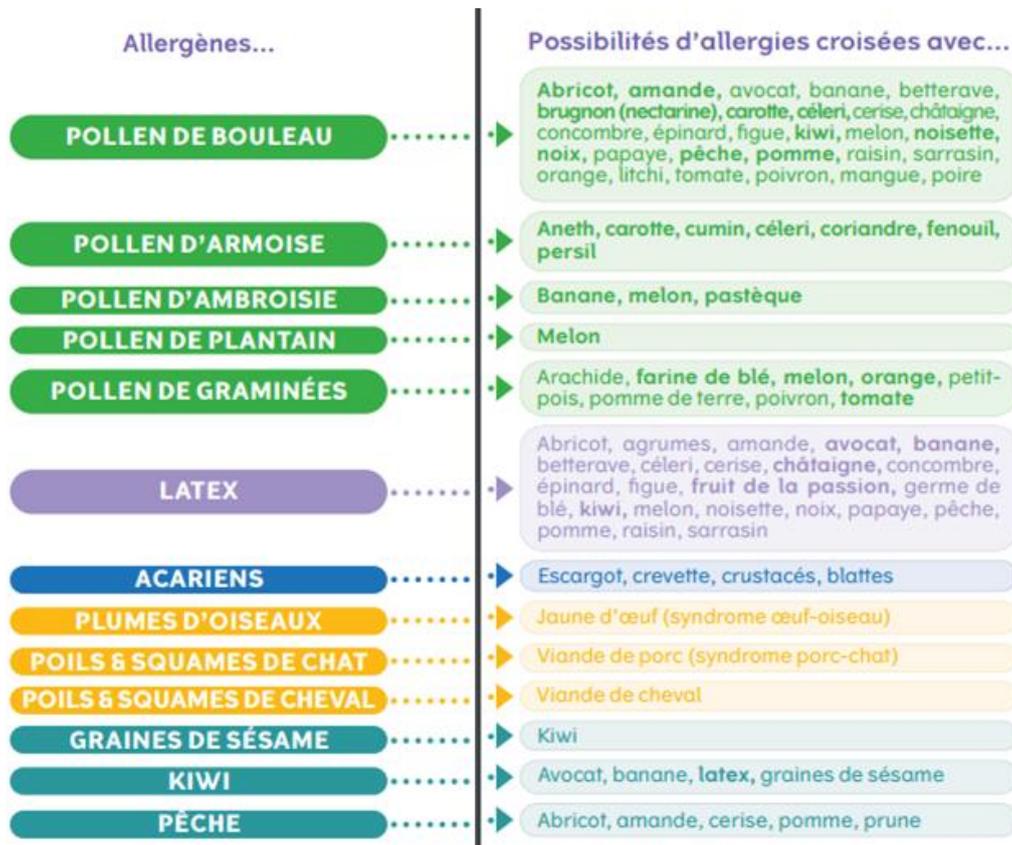
Réactions allergiques à IgE			
Syndrome	Allergènes communs	Voie d'entrée	Réponse
Anaphylaxie systémique	Médicaments Sérum Venins Aliments, par ex. cacahuètes	Intraveineuse (soit directement soit après absorption orale et passage dans le sang)	Œdème Augmentation de la perméabilité vasculaire Œdème laryngé Collapsus circulatoire Mort
Urticaire aiguë (papule et rougeur)	Poils d'animaux Piqûres d'insecte Test d'allergie	Transcutanée Systémique	Augmentation locale du flux sanguin et de la perméabilité vasculaire
Rhinite allergique saisonnière (rhume des foins)	Pollens (ambroisie, arbres, graminées) Fèces d'acariens	Inhalation	Œdème de la muqueuse nasale Éternuement
Asthme	Allergie alimentaire Poils de chat Pollens Fèces d'acariens	Inhalation	Constriction bronchique Production accrue de mucus Inflammation des voies respiratoires
Allergie alimentaire	Noix Mollusques et crustacés Cacahuètes Lait Œufs Poissons Soya Blé	Orale	Vomissement Diarrhée Prurit (démangeaisons) Urticaire Anaphylaxie (rarement)

**Figure 1 :** Les principales maladies allergiques IgE dépendantes, les allergènes en cause, les voies d'entrée et les manifestations cliniques observées

### 6) Notion d'allergie croisée:

Il s'agit d'une réaction à une substance donnée alors que le sujet est sensibilisé à une autre substance apparentée. Elle est due à la présence de structures moléculaires semblables ou très voisines dans des substances aussi différentes que des pollens, des aliments, des poils d'animaux, etc. Les plus fréquentes se voient entre pollens, entre aliments ou entre pollens-aliments (Figure 2).

**Figure 2 :** Les situations d'allergie croisée les plus courantes



#### IV- PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ALLERGIE :

Le développement de l'allergie en rapport avec une hypersensibilité immédiate se fait en plusieurs étapes (Figure 3). On distingue 2 phases successives :

##### 1) La phase de sensibilisation :

La première étape est une étape de sensibilisation vis-à-vis d'un allergène. La présentation de l'allergène par les cellules dendritiques aux lymphocytes T helper CD4<sup>+</sup> active ces derniers qui se différencient en lymphocytes Th2 producteurs d'IL4 et d'IL5. L'IL4 contribue à la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes et induit la synthèse d'IgE par ces plasmocytes. Les Ac de classe IgE se fixent par leur fragment Fc (les fragments Fab restant libres) au récepteur membranaire de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-RI) présent en grand nombre sur les polynucléaires basophiles (PNB) du sang circulant et sur les mastocytes tissulaires.

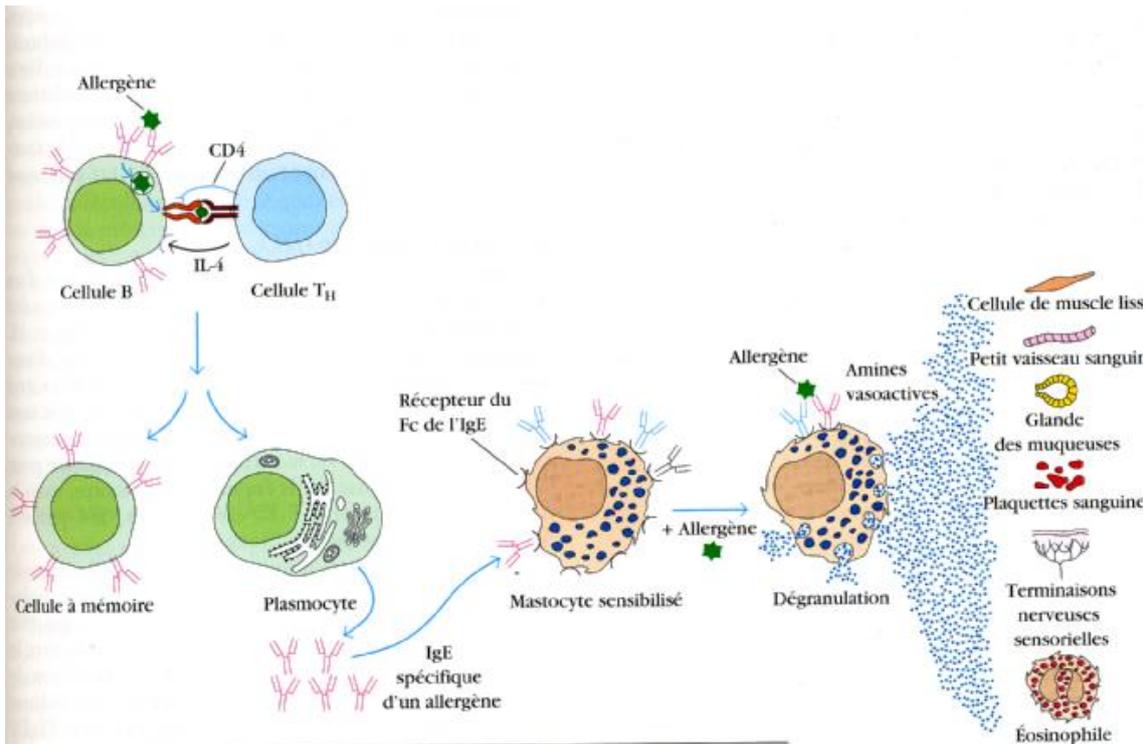
##### 2) La phase effectrice :

La deuxième étape est une étape effectrice responsable des manifestations allergiques. Elle survient à l'occasion d'une nouvelle rencontre de l'allergène. Elle se décompose elle-même en deux phases : la phase aiguë et la phase inflammatoire.

-La phase aiguë résulte d'une réaction d'hypersensibilité immédiate : l'allergène interagit avec les anticorps IgE spécifiques préformés fixés sur les récepteurs de haute affinité pour le fragment Fc des IgE (FcεRI) des PNB et des mastocytes. Ainsi activés, les PNB et les mastocytes libèrent des médiateurs préformés et stockés dans des granules cytoplasmiques (histamine, sérotonine, NCF-A, ECF-A...) et se mettent à en produire d'autres, néoformés ou néo-synthétisés (prostaglandines, leucotriènes, PAF...). Ces médiateurs pharmacologiquement actifs sont responsables directement et/ou par l'intermédiaire des cellules qu'ils recrutent et activent des manifestations cliniques liées à la réaction d'hypersensibilité immédiate.

Les mastocytes libèrent également des chimiokines et des cytokines qui contribuent au recrutement d'effecteurs secondaires dont les éosinophiles.

- La phase inflammatoire est due au recrutement local d'éosinophiles mais également de macrophages, secondaire à la libération de cytokines et de chimiokines par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, les mastocytes et les basophiles. Cette deuxième phase survient quelques heures après la première. Son expression clinique est inconstante.



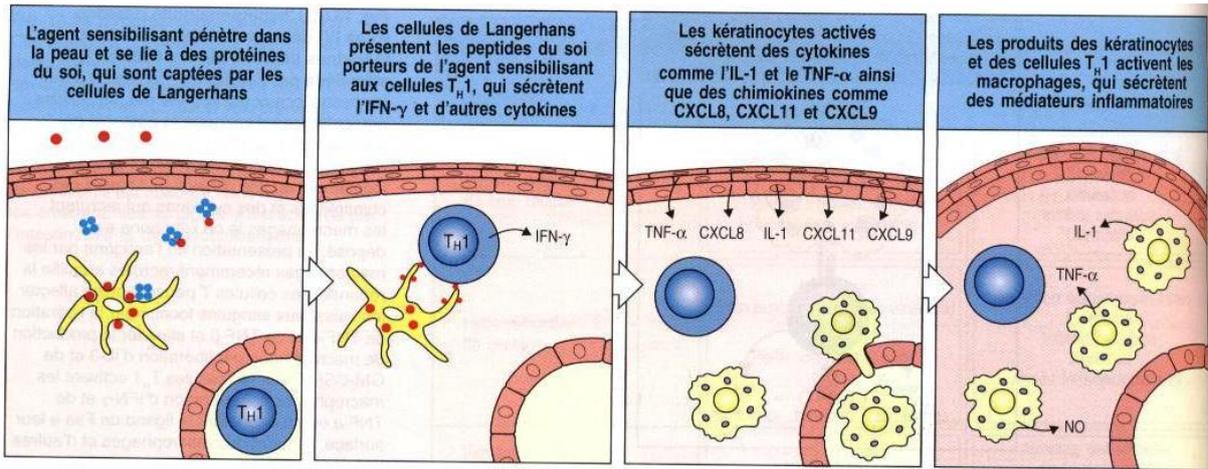
**Figure 3** : Mécanisme de l'hypersensibilité immédiate

### 3) Autres Mécanismes :

#### a) *Hypersensibilité retardée ou de type IV* :

La dermatite de contact est en relation avec une hypersensibilité retardée, vis-à-vis d'une petite molécule de type pro-antigène, qui met en jeu une phase effectrice où interviennent principalement les lymphocytes Th 1 et les macrophages.

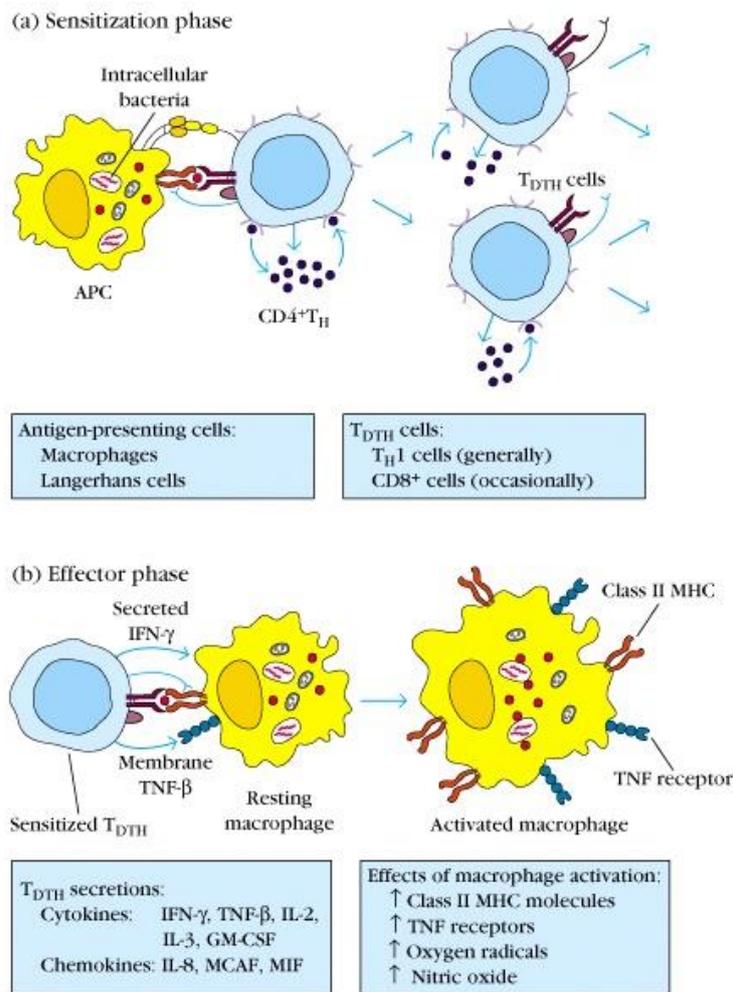
La sensibilisation contre ces molécules est médiée à travers la liaison aux protéines cutanées et à travers les propriétés puissantes de la présentation des antigènes des cellules dendritiques cutanées, les cellules Langerhans, qui présentent l'antigène sur les molécules du CMH de classe II aux cellules Th1 CD4<sup>+</sup> (Figure 4). La réaction de sensibilité de contact suivante implique la présentation des antigènes aux cellules T CD4<sup>+</sup> à mémoire qui libèrent les cytokines causant la vasodilatation, le transport vers le site des cellules T CD4<sup>+</sup> non spécifiques et des macrophages activés et la formation d'un granulome inflammatoire (Figure 5).



**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.

**Figure 4 : Mécanisme de l'hypersensibilité de contact**



**Figure 5 : Vue générale de l'hypersensibilité retardée**

**b) Hypersensibilité médiée par les complexes immuns ou de type III :**

Normalement, les complexes immuns sont détruits par les cellules phagocytaires et l'altération tissulaire ne survient pas. Cependant, lorsqu'il y a une grande quantité de complexes immuns qui persistent dans les tissus, ils peuvent causer l'altération qui peut être localisée dans les tissus (réaction d'Arthus) ou systémique.

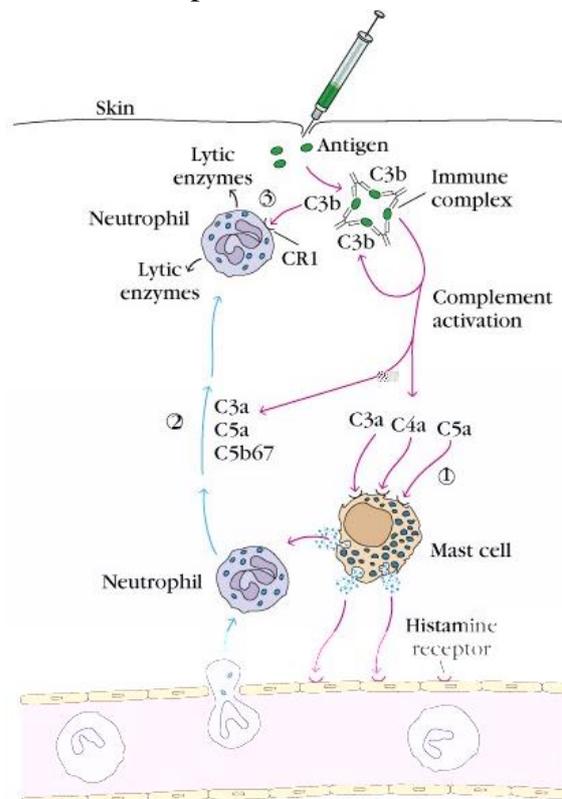
Les antigènes conduisant à ce type d'hypersensibilité peuvent être des antigènes microbiens, des auto-antigènes ou des corps étrangers dans le sérum. La plus grande partie de l'altération du tissu résulte de l'activation du complément conduisant à la chimio-attraction des neutrophiles et à la libération des enzymes lytiques stockés dans leurs granules intracytoplasmiques (Figure 6).

Les complexes immuns (habituellement petits) peuvent aussi être responsables de plusieurs effets systémiques (fièvre, asthénie, vascularite, glomérulonéphrite).

Le phénomène d'Arthus a son équivalent en pathologie humaine respiratoire.

Il s'agit des pneumopathies à précipitines ou alvéolites allergiques extrinsèques :

Elles résultent de l'inhalation des spores bactériennes (maladie des poumons de fermiers), du sérum aviaire ou protéines fécales (maladies des éleveurs d'oiseaux) ...



**Figure 6 :** Mécanisme de l'hypersensibilité médiée par les complexe immuns (HS type III)

## **V- EXPLORATION DES MALADIES ALLERGIQUES :**

L'objectif de cette exploration est double :

- Confirmer l'origine allergique de la maladie (problème des rhinites, asthmes et eczémas non allergiques)
- Identifier le(s) allergène(s) en cause en vue de leur(s) éviction, essentielle pour la prévention, et afin de guider une éventuelle cure de désensibilisation.

### **1) L'interrogatoire :**

Un interrogatoire minutieux doit permettre d'identifier le(s) allergène(s) présumé(s) et d'orienter ainsi les tests cutanés. L'interrogatoire recherchera en plus des antécédents personnels de rhinites et/ou de bronchites à répétition, de toux spasmodique, d'eczémas..., les antécédents familiaux et les particularités de la pathologie observée. En effet, le risque pour un sujet d'être allergique est de 50 % si les 2 parents sont allergiques, de 30 % si un seul des 2 parents est allergique et de 10 % si aucun des parents n'est allergique. D'autre part, les maladies allergiques se traduisent habituellement par des manifestations stéréotypées avec une triade caractéristique :

- Unité de temps : même moment de l'année (ex : le printemps), de la semaine (ex : lundi, jour de reprise du travail) ou de la journée (ex : le matin)
- Unité de lieu : là où la concentration de l'allergène est très élevée (ex : chambre à coucher pour les acariens, cave pour les moisissures)
- Unité d'action : association des mêmes symptômes à chaque fois (ex : rhinite et conjonctivite, crise d'asthme, diarrhée...)

La tenue d'un cahier (alimentaire, environnemental, comportemental) par le patient lui-même, qui met en relation les symptômes avec des causes potentiellement allergéniques ou favorisantes peut aider au diagnostic, en particulier dans le cadre de l'allergie alimentaire.

L'imputation d'un allergène est facile lorsqu'on a la séquence : exposition = manifestation ; éviction = amélioration voire guérison ; réexposition = rechute (unité d'action, de temps, de lieu...). Elle peut être plus difficile en cas d'allergies croisées (acariens / escargots ; latex / kiwi ; bouleau / pomme ; moisissure des aliments périmés / roquefort).

## **2) Examens complémentaires :**

### **2.1. Exploration de l'hypersensibilité immédiate ou IgE-médiée :**

Des examens complémentaires non spécifiques tels que la NFS qui peut objectiver une hyperéosinophilie sanguine, ou la recherche d'éosinophiles dans le mucus nasal peuvent être utiles.

Cependant, l'exploration immunologique des maladies allergiques IgE-médiées est basée sur des examens complémentaires spécifiques pratiquées in vivo (tests cutanés et tests de provocation) et in vitro (dosages des IgE totales et spécifiques, tests fonctionnels).

#### ***a) Tests cutanés : Intradermo-réaction et prick-test***

Ils recherchent la réaction cutanée érythémato-œdémateuse caractéristique de l'HSI par introduction d'une petite quantité d'Ag (ou allergène) dans la peau. L'introduction de l'Ag peut se faire par intradermoréaction (donne assez souvent des réactions non spécifiques et anaphylactiques) ou mieux par prick-test (une goutte de l'extrait allergénique est déposée sur la peau qui est ensuite piquée par une aiguille stérile). Les prick-tests, sans danger et mieux acceptés par les malades, sont les plus utilisés. Dans tous les cas, la lecture se fait au bout de 15 à 20 mn ; une lecture après 6 heures recherche la réponse tardive.

L'interprétation se fait impérativement par rapport à un témoin négatif (solvant) et à un témoin positif (histamine ou phosphate de codéine).

Une positivité (papule >3 mm de diamètre) unique ou multiple peut être interprétée comme le témoin d'un terrain atopique mais ne signifie pas toujours que le ou les

allergènes sont responsables des manifestations cliniques (positivité chez 10 à 20% des sujets sans manifestations allergiques) : la pertinence du test, c'est-à-dire la relation de la positivité du test avec les manifestations cliniques doit toujours être soigneusement analysée.

Les tests cutanés donnent des résultats très utiles dans la pratique sauf dans les allergies alimentaires où les résultats sont souvent décevants (en rapport avec la qualité et la pureté des allergènes alimentaires).

Les tests cutanés sont contre-indiqués dans les situations suivantes :

- Grossesse
- Nourrissons
- Dermatite atopique en poussée
- Infection cutanée
- Antécédents de manifestations systémiques graves
- Prise médicamenteuse risquant d'altérer le résultat ou de rendre le test dangereux : antihistaminique ; corticoïdes ; immunosuppresseurs ; certains médicaments psychotropes qui diminuent la réaction cutanée, pénicilline...

#### ***b) Tests de provocation :***

Moins utilisés, ils reproduisent à minima les symptômes en introduisant l'allergène par la voie naturellement sensibilisante (respiratoire, digestive).

Le consentement éclairé du patient est nécessaire. Les tests doivent être pratiqués en milieu hospitalier par des équipes médicales spécialisées ; une surveillance stricte s'impose.

Il peut s'agir de test de provocation nasale (avec rhino-manométrie), bronchique, alvéolaire (rarement), conjonctivale ou digestive. Les tests de provocation respiratoire " réalistes " peuvent se révéler indispensables quand il s'agit par exemple de prouver la responsabilité d'un allergène professionnel.

#### ***c) Le dosage des IgE sériques totales :***

La technique de dosage originale est la méthode RIST (Radio-Immuno-Sorbent Test) qui utilise la radioactivité. Actuellement, ce test est réalisé par des techniques immuno-enzymatiques en phase solide (ELISA).

Ce test doit être interprété avec précaution car les causes d'élévation des IgE sont multiples : à part les maladies allergiques, une élévation des IgE totales sériques peut s'observer au cours des affections parasitaires (surtout les helminthiases) ou autres (syndrome de Buckley, myélome à IgE, sarcoïdose, lymphomes...). En plus, de nombreux patients allergiques peuvent avoir des taux sériques d'IgE totales normaux.

Ce test permet éventuellement de repérer les patients atopiques qui ont généralement des taux excédant la limite supérieure de la normale dont la valeur est donnée par le laboratoire, (les valeurs moyennes normales sont de 100-150 UI/ml chez l'adulte, ces valeurs sont plus basses chez l'enfant). Une élévation des IgE totales sériques doit être interprétée avec la plus grande prudence car 20% des individus sans manifestation allergique ont un taux d'IgE > 150 UI/ml et 20% des individus allergiques ont un taux < 150 UI/ml.

#### ***d) Recherche et dosage des IgE spécifiques :***

Le dosage des IgE spécifiques permet la confirmation du diagnostic d'atopie et l'identification de l'allergène. Les techniques utilisées dérivent toutes de la méthode RAST ("Radio-Allergo-Sorbent-Test") originale et diffèrent par la méthode de marquage de l'Ac anti-IgE (radio-isotopique ou enzymatique) et l'allergène utilisé. Le dosage des IgE spécifiques commence généralement par un test de dépistage permettant de renseigner sur une éventuelle sensibilisation respiratoire (ou digestive) à l'un ou l'autre des pneumallergènes (ou trophallergènes) les plus fréquemment responsables d'allergie, couplés sur un seul support (multiscreen). En cas de dépistage positif, le bilan doit être complété par le dosage des IgE spécifiques d'un ou de quelques allergènes pris individuellement (monoscreen). Le dosage quantitatif des IgE spécifiques est possible mais la quantité des IgE spécifiques n'est pas nécessairement corrélée avec la sévérité de la maladie allergique. Ces tests se sont montrés fiables surtout avec les allergies alimentaires et les allergies aux venins d'hyménoptères. Ces

dernières années, l'intérêt de la recherche des IgE spécifiques dirigés contre les sous-composants moléculaires d'allergènes (œuf, lait, venins d'hyménoptères...) a été démontré pour la précision et la confirmation diagnostique, la prédiction pronostique et la conduite thérapeutique au cours des maladies allergiques IgE-médiées.

La recherche ou le dosage des IgE spécifiques ne doit pas être systématique, ces tests très coûteux sont indiqués en cas de :

- contre-indication des tests cutanés (lésions eczémateuses de l'avant-bras, antécédent ou risque de choc anaphylactique, de déclenchement d'un asthme...)
- difficulté d'interprétation des tests cutanés (traitement par des corticoïdes ou antihistaminiques)
- pour affirmer un diagnostic précis avant une désensibilisation ou une éviction.

***e) Les tests allergologiques fonctionnels in vitro:***

Dans certains cas de difficulté diagnostique (résultats des tests discordants ou ininterprétables, contre-indication aux tests in vivo....) de l'allergie IgE-médiée, l'exploration fonctionnelle in vitro, bien que sophistiquée et coûteuse, peut être très utile. Les principaux tests qui ont été décrits sont le test de libération de l'histamine et de leucotriène, et le test d'activation des basophiles sanguins. Ces tests sont de plus en plus validés en pratique clinique mais manquent encore de standardisation.

## **2.2. Exploration de l'hypersensibilité retardée:**

***Les patchs tests :***

Ils n'explorent pas le même type de réaction immunologique que les prick-tests et les intradermo-réactions. Les patch-test explorent et reproduisent les lésions de l'hypersensibilité retardée ; ils sont lus au minimum deux jours après leur réalisation. Dans l'eczéma de contact, on utilise une batterie d'allergènes chimiques standardisés, dilués dans la vaseline, appliqués sur la peau, sous occlusion, qui permettent d'identifier le(s) allergène(s) responsables de la dermite. Des allergènes spécifiques au patient (produits utilisés dans la vie domestique ou professionnelle) peuvent être ajoutés à cette batterie si l'interrogatoire le suggère.

La lecture après 48 heures, à renouveler éventuellement à 72 et 96 heures, est à interpréter en fonction du contexte clinique (faux positifs et faux négatifs possibles). Là encore, l'analyse de la pertinence du test est essentielle. Ces tests peuvent être pratiqués à tout âge, y compris chez des nourrissons et des jeunes enfants; dans ce cas, la batterie standard est adaptée à cette situation particulière.

## **VI- PRINCIPES DU TRAITEMENT :**

### **1) L'éviction :**

Le traitement de ces affections repose sur l'éviction de l'allergène en cause et la prophylaxie des expositions aux autres allergènes :

- conseiller l'éviction du ou des allergènes en cause après les avoir identifiés et prodiguer des conseils pour rendre l'environnement moins sensibilisant,

- contrôler l'environnement : les acariens (entretien de la literie, prohiber les oreillers et coussins avec des plumes, limiter les fauteuils style confortables, les tapis, les moquettes, favoriser une hydrométrie normale) ; les animaux domestiques (éviter la présence d'animaux dans les chambres d'enfant, favoriser les zones réservées aux enfants et d'autres réservées aux animaux ) ; les pollens (tenir compte des calendriers polliniques,

- limiter les accès à des espaces verts non entretenus...) ; les allergènes professionnels (se référer au tableau des maladies professionnelles, collaborer avec le médecin du travail pour un éventuel changement de poste)

### **2) La pharmacothérapie :**

Les médicaments utilisés pour neutraliser l'hypersensibilité immédiate agissent à l'un des deux niveaux :

- En inhibiteurs de la production ou de la libération des médiateurs inflammatoires : les corticoïdes sont efficaces sur la majorité des manifestations atopiques incluant asthme, rhinite allergique, conjonctivites allergiques et dermatite atopique. Cependant, leur utilisation est limitée par les effets secondaires indésirables. Leur principale utilisation

est sous forme d'application locale, cutanée, en crèmes et pommades, principalement dans la dermatite atopique ; nasale, en gouttes et nébuliseurs, pour la prise en charge de la rhinite allergique ; bronchique, sous forme de spray ou d'aérosols, dans l'asthme. En urgence, ils sont utilisés par voie sous-cutanée, intramusculaire ou intraveineuse, pour traiter les manifestations œdémateuses (œdème facial, œdème de la glotte), urticariennes généralisées, et pour prévenir la phase secondaire de l'anaphylaxie. Ce ne sont pas des médicaments du choc anaphylactique, où l'adrénaline est formellement indiquée.

- En inhibiteurs de l'action du médiateur tels que les antagonistes du récepteur de l'histamine. Les antihistaminiques sont efficaces principalement, administrés per os, sur les rhinites et conjonctivites, l'urticaire, et les phénomènes œdémateux. Seuls les anti-récepteurs H1 de l'histamine sont actifs dans les pathologies allergiques. Les antihistaminiques ont un effet vasoconstricteurs et antiprurigineux.

### **3) L'immunothérapie ou vaccination spécifique d'allergène (anciennement appelée désensibilisation) :**

La désensibilisation est utilisée pour détourner la réponse immunitaire de la réponse anticorps IgE conduite principalement par Th2 et favoriser la réponse IgG conduite par Th1. Elle consiste en l'injection sous-cutanée, de façon répétée, de faibles doses d'allergènes purifiés. Ces injections répétées de l'allergène ont pour but de provoquer une réponse Ac spécifique de classe IgG en stimulant les cellules B spécifiques de l'allergène et qui n'ont pas encore entrepris de commutation de classe. En particulier, les cellules Th1 spécifiques de l'allergène devraient fournir une aide à ces cellules B pour permettre la commutation de classe en IgG.

Ses indications effectives sont actuellement limitées :

- au venin d'hyménoptère (guêpes surtout) : dans ce cas, son efficacité est remarquable (plus de 95% de bons résultats), et l'induction de l'immunothérapie peut être réalisée, sous contrôle médical strict, en quelques heures, ne nécessitant pas d'hospitalisation (technique " rush ").

- aux acariens, aux pollens, chez des patients mono- ou pauci-sensibilisés. Les poils d'animaux (chats) et certaines moisissures peuvent aussi être utilisés, mais les résultats aussi bien que la tolérance au traitement sont plus médiocres. Les techniques d'immunothérapie sublinguale/orale commencent à être validées.

# LA VACCINATION

*Dr Sabrina MEJDOUB  
Dr Hend HACHICHA  
Dr Hatem MASMOUDI*

## **Objectifs**

1. Définir la vaccination
2. Distinguer immunisation active et immunisation passive
3. Préciser les objectifs généraux de la vaccination
4. Enumérer les caractéristiques d'un bon vaccin
5. Préciser les facteurs influençant l'immunogénicité d'un vaccin
6. Connaitre les avantages et les limites des différentes plateformes vaccinales
7. Expliquer le principe de chaque type de vaccin
8. Comparer les différents types de vaccins en précisant les avantages et les inconvénients de chaque type
9. Citer les complications post-vaccinales

## **HISTORIQUE :**

L'histoire de la vaccination commence dès l'antiquité avec la variolisation qui consiste à l'inoculation intra-nasale d'une faible quantité de matière séchée provenant d'une pustule variolique. Basée sur l'observation d'une relative résistance à la variole des sujets ayant préalablement survécu à une épidémie de cette maladie, la variolisation importée de Chine en Europe au XVIII<sup>ème</sup> siècle fut l'objet de vives controverses. Elle provoque une infection modérée suivie d'une protection durable contre toute réinfection. Cependant, une variole fatale peut se développer dans environ 3% des cas. À la fin du XVIII<sup>ème</sup> siècle, le médecin anglais Edward Jenner avait remarqué que les femmes chargées de la traite des vaches étaient résistantes à la variole. Il eut l'idée en 1796 d'inoculer du pus d'une fermière atteinte de la vaccine (Cow-pox virus) à un jeune enfant qui survécut à une injection délibérée de pustule varioleuse 3 semaines après. Il a ainsi montré, sans pouvoir l'expliquer, qu'il était possible de fournir à un individu une protection préventive contre la variole, maladie épidémique souvent

mortelle, en lui inoculant du pus prélevé sur une personne ou une vache atteinte de la vaccine (équivalent de la variole humaine), une maladie bovine bénigne. On sait maintenant que le virus de la vaccine ressemble au virus de la variole avec lequel il partage les composants antigéniques immunodominants (l'immunité contre le virus de la vaccine protège ainsi aussi contre celui de la variole) mais n'a pas son pouvoir pathogène (la vaccine est une maladie bénigne aussi bien chez la vache que chez l'homme). La vaccination contre la rage a ainsi commencé progressivement au 19<sup>ème</sup> siècle mais son principe, fruit du hasard de l'existence d'un germe similaire à l'agent pathogène mais bénin, ne pouvait être appliqué aux autres maladies infectieuses graves.

Ce n'est qu'en 1878 que Louis Pasteur établit le principe général de la vaccination en remarquant que des cultures de bacilles du choléra de poule desséchées (Pasteur parti en congé pour quelques semaines, son assistant avait oublié de rajouter régulièrement du milieu de culture dans les boîtes de Pétri contenant les bacilles) remises en solution et injectées à des poules, non seulement ne provoquaient plus de choléra, mais permettaient aussi et surtout de protéger ces poules contre les injections ultérieures de bacilles du choléra de la poule vivants : c'est le principe de l'atténuation que Pasteur appliqua en 1885 au traitement d'un jeune enfant mordu par un chien atteint par la rage. Il lui administra un extrait spinal d'animaux rabiques atténué par dessiccation pendant plusieurs jours à température ambiante ; un processus qui a permis d'atténuer le pouvoir pathogène du virus de la rage sans que celui-ci perde son pouvoir immunisant. Il est à noter que contrairement à la plupart des vaccinations, celle du jeune Joseph Meister fut effectuée après l'exposition au risque et non avant ; elle a pu être efficace du fait que le virus de la rage progresse lentement dans le système nerveux.

Si Jenner et Pasteur sont reconnus comme les immunologistes qui ont introduit la vaccination (induction d'une immunité active), Emil Von Behring et Hidésaburo Kitasato sont les pionniers de la sérothérapie (immunisation passive). Ces chercheurs ont été les premiers à montrer que l'immunité suscitée chez un animal peut être transférée chez un autre en lui injectant le sérum du premier.

## **I- INTRODUCTION :**

La vaccination est un procédé qui consiste à administrer à l'individu un principe actif (agent pathogène tué, atténué ou composant du micro-organisme...) afin d'induire une réponse immunitaire spécifique protectrice et durable. La vaccination a pour effet de réaliser « artificiellement » et sans les risques que comportent les maladies infectieuses, l'état d'immunité et de mémoire immunitaire que celles-ci entraînent.

La généralisation de la vaccination a permis de diminuer considérablement la fréquence et la gravité de plusieurs maladies infectieuses telles que la diphtérie, la rougeole, les oreillons, la coqueluche, la rubéole, la poliomyélite et le tétanos.

L'exemple le plus démonstratif de la puissance de la vaccination est l'éradication de la variole, maladie autrefois responsable de 10% des décès dans le monde.

Toutefois, malgré l'existence de nombreux vaccins efficaces, les infections représentent encore une cause majeure de décès (deuxième cause de décès dans le monde après les maladies cardiovasculaires). En effet, de nombreuses maladies infectieuses ne disposent toujours pas de vaccins (VIH) ou de vaccins suffisamment efficaces (grippe, virus respiratoire syncytial (VRS) aux âges extrêmes de la vie). De plus, le XXI<sup>ème</sup> siècle est témoin de l'émergence de nombreuses maladies infectieuses nouvelles dont la Covid-19, Ebola... La vaccination est donc toujours un sujet d'actualité surtout avec le développement de nouvelles technologies vaccinales.

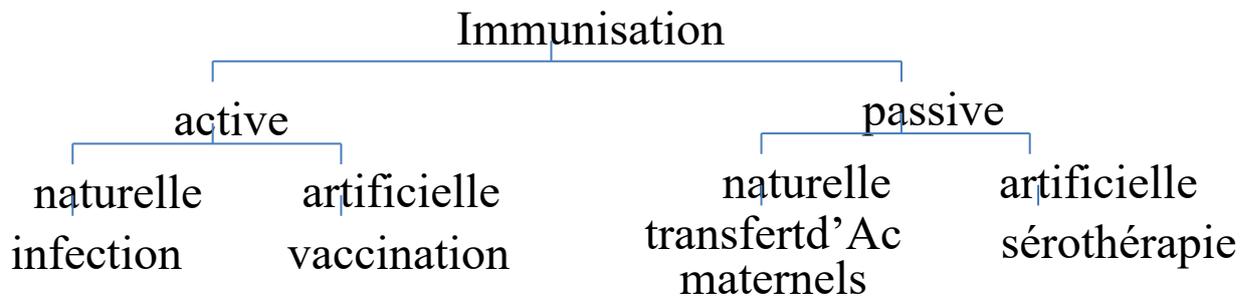
## **II- IMMUNISATION ACTIVE ET IMMUNISATION PASSIVE :**

L'immunisation est dite active lorsqu'il y a production d'un état de résistance à un antigène par l'action directe d'anticorps ou de cellules spécifiques à cet antigène. Ces effecteurs de la réponse immunitaire sont produits par l'individu lui-même suite à l'exposition à l'antigène. Cette exposition peut être naturelle suite à une infection ou artificielle au cours de **la vaccination**.

L'immunisation est dite passive lorsqu'il y a transmission d'un état de résistance, à un antigène (Ag) donné, par le transfert d'anticorps (Ac) préformés à un receveur. L'immunisation passive peut se produire naturellement par transfert des Ac maternels au fœtus à travers le placenta. Les Ac maternels présents dans le colostrum et dans le lait fournissent ainsi une immunité passive à l'enfant. L'immunisation peut

aussi être réalisée d'une manière artificielle en injectant à un receveur des Ac préformés chez un donneur : c'est la **sérothérapie**.

Actuellement, l'immunisation passive est administrée en routine aux individus exposés au botulisme, au tétanos, à la diphtérie, à l'hépatite, à la rougeole et à la rage, ainsi qu'aux sujets mordus par des serpents ou piqués par des scorpions.



Alors que le but de l'immunisation passive est une protection transitoire ou une amélioration d'un état existant, le but de l'immunisation active est la mise en place d'une immunité protectrice et d'une mémoire immunitaire.

### **III- OBJECTIFS GENERAUX ET EVALUATION DES STRATEGIES VACCINALES :**

Le principal objectif de la vaccination est la prévention des maladies infectieuses qui sont actuellement responsables d'environ un tiers de la mortalité globale dans le monde. Les maladies les plus fréquentes et les plus graves sont les diarrhées, les infections respiratoires, le SIDA, la tuberculose, la rougeole et le paludisme. L'émergence de plus en plus rapide des bactéries résistantes aux antibiotiques incite au développement de la prévention vaccinale pour substituer l'antibiothérapie. En plus de la protection individuelle des personnes exposées à un micro-organisme, la vaccination peut permettre l'éradication du pathogène surtout lorsque le micro-organisme ne peut pas se développer en dehors de l'hôte humain (variola, poliomyélite, hépatite...).

Le choix de la stratégie vaccinale est un compromis entre de multiples contraintes : les caractéristiques épidémiologiques de la maladie infectieuse, son mode de transmission et surtout le type de la réponse immunitaire protectrice que l'on souhaite induire. Certains vaccins ont pour objectif d'induire une immunité stérilisante, empêchant le développement du pathogène, d'autres ne confèrent qu'une immunité protectrice évitant les formes graves de la maladie tel que le vaccin contre la

tuberculose. Enfin, certains vaccins peuvent être conçus en vue d'une utilisation thérapeutique et non prophylactique. C'est le cas des vaccins à l'étude pour le traitement du cancer, de l'hépatite virale, de l'infection par le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) ou par le papilloma virus humain (HPV).

L'évaluation de l'efficacité d'un vaccin est toujours difficile. Le vaccin doit être immunogène et induire la production d'Ac chez l'animal et chez l'homme. Cela doit être prouvé chez des volontaires sains, mais la preuve définitive de l'efficacité du vaccin ne peut être apportée que par des campagnes de vaccination en zones endémiques.

La stratégie vaccinale doit enfin tenir compte des problèmes éthiques soulevés par le risque vaccinal, des problèmes économiques et logistiques qui peuvent entraver la production ou l'utilisation d'un vaccin (coût, conservation...).

Un vaccin efficace doit être sûr et protecteur. Il doit fournir une protection de longue durée, induire la production d'Ac neutralisants et de cellules T protectrices mais aussi celle de lymphocytes B et T mémoire spécifiques. Il doit aussi être biologiquement stable, facile d'administration, sans effets secondaires et de coût faible.

#### **IV- FACTEURS INFLUENÇANT L'IMMUNOGENICITE D'UN VACCIN :**

##### **1- Facteurs propres à l'antigène :**

\* nature moléculaire : De façon générale, les protéines sont les substances immunogènes les plus puissantes. En outre, plus la masse moléculaire est élevée, plus l'antigène est immunogène. Les polysaccharides de petit poids moléculaire sont ainsi conjugués à une protéine afin d'être plus immunogènes. Les principales protéines utilisées pour la conjugaison dans la fabrication des vaccins actuels sont: l'anatoxine diphtérique, l'anatoxine tétanique et la protéine OMP provenant de la capsule de *Neisseria meningitidis*.

##### \* l'adjuvant ou l'immunostimulant associé :

Les adjuvants sont utilisés pour renforcer le pouvoir immunisant du vaccin tout en diminuant la dose de l'antigène utilisé. Ils permettent ainsi une réponse immunitaire plus forte par :

1. Un effet dépôt : ralentissement du relargage de l'Ag au point d'injection

2. L'induction d'une réponse inflammatoire et innée avec recrutement des cellules présentatrices d'Ag (CPA) et stimulation de l'expression des molécules de co-stimulation sur ces cellules

3. L'orientation de la polarisation de la réponse immunitaire en stimulant la production cytokinique, ex : - Alumine, toxines bactériennes → (TH2)  
- Monophosphoryl lipid A (PML) → (TH1)

L'adjuvant le plus souvent utilisé est le sel d'aluminium (en général, phosphate ou hydroxyde d'aluminium). Lorsqu'un vaccin en contient, il doit être administré par voie intramusculaire, car son écoulement dans les tissus sous-cutanés peut causer une réaction inflammatoire importante, des nodules sous-cutanés et même parfois des abcès stériles.

D'autres adjuvants peuvent être utilisés, comme l'émulsion huile-eau MF59 ou les adjuvants AS03 (composé de polysorbate 80, de tocophérol et de squalène) et AS04 (composé d'hydroxyde d'aluminium et de monophosphoryl-lipid A).

\* la voie d'administration : elle dépend de la nature de la réponse immune recherchée. Si on cherche le développement d'une immunité muqueuse protectrice, contre le virus de la grippe par exemple, l'administration du vaccin par aérosol ou par instillation nasale serait plus efficace que l'injection sous-cutanée.

Pour les vaccins à virus vivants atténués, la voie d'administration (IM ou SC) ne semble jouer aucun rôle au niveau de leur immunogénicité.

## **2- Facteurs propres à l'hôte :**

\* l'âge de la vaccination : il dépend des caractéristiques épidémiologiques du pathogène et des caractéristiques immunologiques du sujet à vacciner. A noter que chez l'enfant, la réponse cytotoxique des lymphocytes T (LT) CD8<sup>+</sup> est diminuée, ainsi que l'activité des cellules NK (Natural Killer). En plus, la réponse humorale est plus faible et la mémoire immunologique est moins bonne que chez l'adulte. La présence chez le nourrisson de taux élevés d'Ac maternels inhibe la réponse immunitaire T et B.

D'autre part, la capacité d'obtenir une réponse immunitaire efficace est plus faible chez le sujet âgé (involution du thymus, diminution du nombre de LT et surtout de la diversité de leur répertoire de TCR).

### \* Facteurs génétiques

Certaines personnes répondent mieux que d'autres au vaccin. Cela est lié à des déterminants génétiques tels que les Ag du système HLA. En fait les molécules HLA, de par leur rôle dans la présentation de l'Ag, influencent le statut post vaccinal de l'individu pour plusieurs vaccins dont ceux contre l'hépatite B et le ROR. Ainsi, la majorité des 10% d'individus qui ne répondent pas au vaccin contre l'hépatite B et restent donc Ac anti-HBs négatifs, le font parce qu'ils n'expriment aucune des molécules HLA classe II capables de présenter les peptides de l'Ag HBs aux LT spécifiques.

### \* Immunodéficiences

Acquise ou congénitale, l'immunodéficiences diminue la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire. Elle constitue une contre-indication absolue à l'administration des vaccins atténués.

### \* Malnutrition

Elle entraîne une diminution de la réponse immunitaire surtout cellulaire

## **V- PRINCIPAUX TYPES DE VACCINS UTILISES ACTUELLEMENT, LES DIFFERENTES PLATEFORMES VACCINALES :**

1) Vaccins utilisant des organismes pathogènes entiers : La plupart des vaccins couramment utilisés sont constitués de micro-organismes **inactivés** (tués), ou de virus vivants mais **atténués** (non virulents). Les vaccins atténués, en raison de leur capacité de croissance transitoire chez l'hôte, apportent une exposition prolongée du système immunitaire à des épitopes individuels du pathogène, ce qui se traduit par une immunogénicité accrue et la formation de cellules à mémoire permettant d'éviter les rappels répétés.

Contrairement aux vaccins atténués, l'immunisation par des vaccins inactivés est moins efficace dans l'induction d'une immunité à médiation cellulaire et la production d'Ac de type IgA sécrétoires. De plus, elle nécessite plusieurs rappels pour maintenir l'état immun de l'hôte.

Les caractéristiques essentielles de ces **2 types de vaccins** sont comparées dans le tableau suivant :

Caractéristiques	Vaccin atténué	Vaccin inactivé
Production	Sélection d'organisme pathogène non virulent par : - culture dans des conditions défavorables - passage dans divers hôtes	Le pathogène est tué par des produits chimiques ou par des rayons gamma
Nécessité de rappels*	Généralement 1 seul rappel	Plusieurs rappels
Stabilité relative	Moins stable	Plus stable (avantage dans les pays sous-développés)
Type d'immunité induite	Immunité humorale + immunité à médiation cellulaire	Immunité humorale
Tendance à l'inversion	Oui	Non
exemple	Tuberculose (BCG), rougeole, rubéole, oreillons	Rage, hépatite A

## 2) Vaccins utilisant des macromolécules purifiées ou vaccins sous-unitaires :

Ce type de vaccin permet d'éviter les risques de l'utilisation des micro-organismes entiers. Ces vaccins sous-unitaires présentent une capacité de stimulation immunitaire plus précise par le ou les Ag immunodominants de l'agent pathogène, moins d'effets secondaires mais une immunogénicité parfois moins importante.

**a) Anatoxines bactériennes :** les exotoxines de certaines bactéries sont responsables de la plupart des symptômes de la maladie (exemple : tétanos, diphtérie). On peut fabriquer des vaccins contre ces maladies en inactivant les exotoxines tout en préservant leur capacité antigénique. Ceci est possible par l'action de certains produits chimiques sur la toxine native ou en produisant une toxine inactivée par génie génétique.

**b) Vaccins polysaccharidiques :** la virulence de certaines bactéries dépend essentiellement des propriétés anti-phagocytaires de polysaccharides hydrophiles de leurs capsules. Le recouvrement de la capsule par des Ac et/ou des composants du complément augmente considérablement la capacité phagocytaire des polynucléaires et des macrophages. Le vaccin actuel contre *Streptococcus pneumoniae* est constitué de 23 polysaccharides antigéniquement différents. Le vaccin induit la formation d'Ac

opsonisants. Il est administré aux sujets à haut risque. Le vaccin contre *Nisseria meningitidis* fonctionne de la même manière. Une des limites des vaccins polysaccharidiques est leur incapacité à activer les LT helper et donc à induire une maturation d'affinité des Ac et une mémoire immunitaire. Une solution à ce problème consiste à conjuguer l'Ag polysaccharidique à une protéine porteuse servant à impliquer directement les LT helper : par exemple le vaccin contre l'*Haemophilus influenzae* de type b (Hib) est constitué d'un polysaccharide capsulaire de type B uni par covalence à une protéine porteuse, l'anatoxine tétanique.

**c) Vaccins protéiques** : C'est le cas des vaccins coquelucheux acellulaires qui contiennent les Ag purifiés de *Bordetella pertussis* (toxine pertussique, pertactine, hémagglutinine filamenteuse...).

C'est le cas aussi des protéines recombinantes ; le premier vaccin utilisant un Ag recombinant approuvé pour une utilisation chez l'homme est le vaccin contre l'hépatite B. Il a été développé en clonant le gène du principal Ag de surface du virus de l'hépatite B (l'Ag HBs) dans des cellules de levures.

Un troisième type de vaccin protéique est représenté par les vaccins VLP ou « virus-like particles ». Ces vaccins à pseudo particules virales ressemblent étroitement aux virus, mais ne sont pas infectieux car ils ne contiennent aucun matériel génétique viral. Étant donné que les VLP ne peuvent pas se répliquer, ils offrent une alternative plus sûre aux virus atténués. Les exemples incluent le vaccin contre l'HPV.

### **3) Vaccins utilisant des vecteurs recombinants :**

Ces vaccins utilisent des vecteurs non pathogènes pour l'homme pour induire une réponse immunitaire contre le pathogène d'intérêt grâce à l'insertion du ou des gènes d'intérêt dans le génome du vecteur. En effet, il est possible d'introduire les gènes qui codent les principaux Ag de pathogènes particulièrement virulents dans des virus atténués ou des bactéries qui servent de vecteur : exemple le virus de la vaccine, le canarypox virus, le poliovirus atténué, les adénovirus, les souches atténuées de *salmonella* ou de *shigella*. L'immunogénicité nécessite le maintien des capacités de colonisation du vecteur, sa multiplication et sa persistance pendant un délai suffisant pour l'immunisation. Le vecteur lui-même ne doit pas être vigoureusement immunogène de façon à permettre des injections de rappel. En plus des Ag

immunogènes, on peut introduire dans ces vecteurs de l'ADN de cytokines telles que l'interleukine 12 (IL12) qui joue le rôle d'un puissant adjuvant.

#### **4) Vaccins constitués d'acides nucléiques :**

Il s'agit d'une innovation en matière de stratégie vaccinale. De tels vaccins non viraux à base d'acides nucléiques sont sur certains aspects plus sûrs que les vaccins conventionnels. En effet, comme le processus de fabrication ne nécessite pas de produits chimiques toxiques ni de cultures cellulaires susceptibles d'être contaminées accidentellement par des virus, ces vaccins évitent les risques courants associés à d'autres plateformes vaccinales, notamment les vaccins à virus vivants, à vecteurs viraux, à virus inactivés ou de sous unités protéiques. Un autre avantage majeur de ce type de vaccins est la rapidité de leur processus de fabrication par rapport aux vaccins conventionnels permettant l'obtention d'un stock de vaccins important en peu de temps notamment pour des maladies infectieuses dévastatrices émergentes et ré-émergentes. Les acides nucléiques délivrés sont soit de l'ADN ou de l'ARN.

**\* Vaccins utilisant l'ADN :** il s'agit d'introduire directement par injection intramusculaire ou intradermique le gène codant l'Ag vaccinal cloné dans un plasmide d'ADN bactérien. Il y aura donc expression *in situ* de l'Ag vaccinal induisant le développement d'une réponse immune humorale et cellulaire.

L'un des atouts de cette stratégie est que la protéine antigénique est exprimée dans sa forme native, sans dénaturation et stimule à la fois les 2 branches de la réponse immune (humorale et cellulaire) comme s'il s'agissait d'un virus atténué tout en évitant les risques de ce dernier.

Les avantages majeurs de cette stratégie sont d'ordre pratique :

- la réfrigération n'est pas nécessaire pour la manipulation et le stockage de l'ADN plasmidique,
- le même vecteur plasmidique peut être manipulé à la demande pour faire toute une série de protéines correspondant à des pathogènes différents,
- les gènes de certaines cytokines ou chimiokines peuvent être inclus dans l'ADN plasmidique pour diriger la réponse immune vers une voie optimale.

Bien que ce type de stratégie soit séduisant en présentant une bonne tolérance et aussi une bonne immunogénicité, les vaccins à ADN n'ont pas remporté le succès attendu lors des premiers essais cliniques. Les technologies d'administration ont été optimisées pour augmenter l'efficacité de ces vaccins à ADN chez l'homme. Cependant, le risque potentiel d'intégration de cet ADN exogène dans le génome de l'hôte reste toujours possible ou tout au moins, il est encore sujet de débat et de controverse !

\* **Vaccins utilisant l'ARN :** l'ARNm (ou messenger) codant pour l'Ag immunodominant de l'agent pathogène (ex : protéine de l'enveloppe virale que le virus utilise pour se fixer sur la membrane plasmique de la cellule cible à infecter, Gp 120 pour le HIV, protéine S ou Spike pour le SARS-COV 2) obtenu par transcription in vitro et intégré dans une nanoparticule lipidique (ou autre support qui sert à protéger l'ARN de la dégradation par les nucléases cellulaires et à le transporter et guider jusqu'au cytosol où il est libéré). Après l'injection du vaccin par voie intramusculaire, l'ARNm est traduit dans le réticulum endoplasmique et la protéine antigénique correspondante ainsi produite est libérée (stimulation des lymphocytes B) et ses peptides antigéniques exprimés à la surface de la cellule avec les molécules HLA classe I et classe II (stimulation des LT cytotoxiques CD8<sup>+</sup> et helper CD4<sup>+</sup>). Comparativement, les vaccins à ARNm confèrent plusieurs avantages par rapport aux vaccins traditionnels et aux vaccins à ADN, dans la mesure où ils sont non infectieux et non intégratifs et dotés d'une forte immunogénicité. Les vaccins de MODERNA (Moderna covi-19) et PFIZER/BIONTECH (BioNTech BNT162 covid-19) sont les premiers vaccins à base d'ARNm utilisés chez l'homme.

## **VI- COMPLICATIONS POST VACCINALES**

### **1) Réactions locales**

Réaction inflammatoire : se présente habituellement comme une induration ou un nodule sous cutané accompagné de douleur, rougeur (érythème) et chaleur au point d'injection.

### **2) Réactions systémiques**

Elles comprennent, entre autres, fièvre, malaise ou irritabilité, céphalée, éruptions, arthralgie ou myalgie, nausées, vomissements ou diarrhée. Des convulsions fébriles

surviennent rarement. D'autres symptômes touchant le système nerveux central peuvent survenir exceptionnellement, par exemple une méningite ou une encéphalite à la suite d'un vaccin vivant atténué comme celui contre les oreillons et la rougeole.

### **3) Réactions d'hypersensibilité**

#### ***a/ Hypersensibilité de type I (ou allergie immédiate médiée par les IgE)***

L'hypersensibilité de type I est la plus grave sur le plan clinique, car elle peut causer une anaphylaxie, qui constitue une urgence en vaccination. Cependant, il est très rare, voire exceptionnel, qu'une anaphylaxie survienne après une vaccination. Le risque peut varier de 1 sur 100 000 à 1 sur 1 million de doses distribuées, selon le vaccin étudié.

#### ***b/ Hypersensibilité de type II (ou réaction par anticorps cytotoxiques)***

Elles surviennent rarement après l'administration d'un vaccin.

#### ***c/ Hypersensibilité de type III (ou réaction par complexes immuns)***

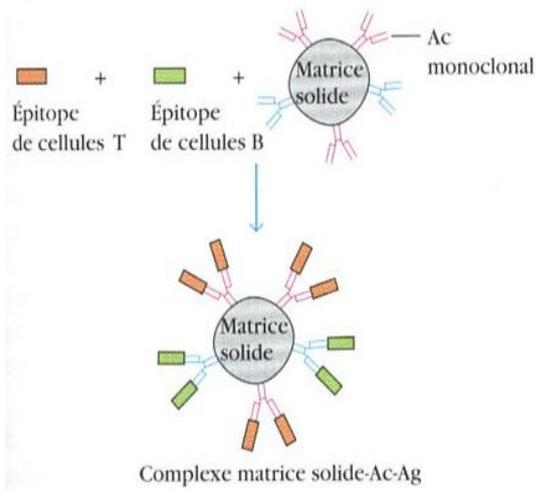
En vaccination, ces réactions étaient fréquemment décrites lors d'immunisation passive avec des sérums hyper-immuns (ex. : sérum de cheval pour traiter le tétanos). Elles suivent l'administration répétée des anatoxines diphtérique et tétanique. Ce sont des réactions par complexes immuns qui n'empêchent généralement pas la poursuite de la vaccination. Cependant il est recommandé d'éviter la revaccination contre la diphtérie et le tétanos plus souvent que tous les 10 ans chez les personnes ayant présenté une telle réaction.

#### ***d/Hypersensibilité de type IV (ou hypersensibilité retardée médiée par les lymphocytes T)***

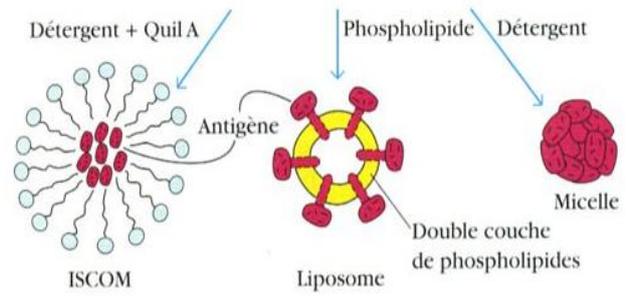
Les principaux médicaments qui sont en cause dans la production de dermatite de contact et qui peuvent se trouver dans les produits immunisants sont la néomycine, la streptomycine et les agents de conservation, dont le thimerosal. Les manifestations de dermatite seraient alors liées à une sensibilisation cutanée due à l'utilisation topique du produit. Ce type d'hypersensibilité n'est pas une contre-indication de la vaccination.

NB : La première version de cours a été préparée par Dr Youssef Ben Haj Hmida

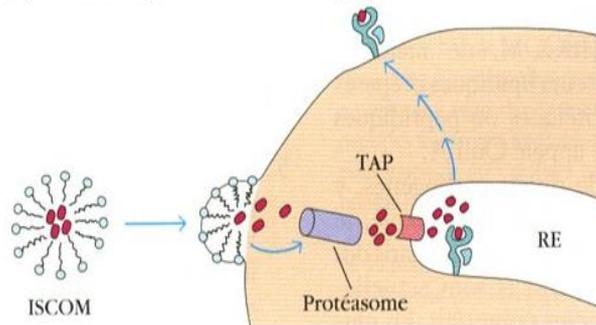
(a)



(b) Antigènes membranaires extraits par un détergent ou peptides antigéniques



(c) Délivrance par l'ISCOM de l'antigène dans la cellule



## CLASSIFICATION DES VACCINS

COMPOSITION DES VACCINS	MALADIES ÉVITÉES	
	Bactérienne	Virale
<b>Vivants atténués</b>	Tuberculose (BCG) Typhoïde (vaccin oral)	Fièvre jaune Oreillons Rotavirus (vaccin oral) Rougeole Rubéole Varicelle Zona
<b>Inactivés entiers</b>	Diarrhée à ETEC et choléra (vaccin oral)	Encéphalite européenne à tiques Encéphalite japonaise Hépatite A Poliomyélite (vaccin injectable) Rage
<b>Inactivés à protéines purifiées</b>	Coqueluche Diphtérie <sup>(1)</sup> Tétanos <sup>(1)</sup>	Hépatite B Influenza Infection au virus du papillome humain (VPH)
<b>Inactivés polysaccharidiques</b>	Infection invasive à pneumocoque Typhoïde (vaccin injectable)	—
<b>Inactivés conjugués (polysaccharides + protéines)</b>	Infection invasive à <i>Haemophilus influenzae</i> de type b Infection invasive à méningocoque de sérogroupe C Infection invasive à méningocoque (A, C, Y, W135) Infection invasive à pneumocoque	—

1) Pour la diphtérie et le tétanos, la protéine est une anatoxine, c'est-à-dire une toxine d'origine bactérienne qui, par une action physique (chaleur) ou chimique (formol), a perdu ses propriétés toxiques, mais a conservé ses propriétés immunogènes.

### Origine et propriétés des principaux adjuvants

ADJUVANT	ORIGINE OU COMPOSITION CHIMIQUE	EFFETS SUR LA RÉPONSE IMMUNE
alum	minérale	stimulation de la réponse en anticorps (Th2)
adjuvant incomplet de Freund et adjuvants huileux	émulsions eau dans huile (huiles minérales ou végétales + agents de surface)	importante production d'anticorps ; fortement inflammatoires
adjuvant complet de Freund	émulsion eau dans huile + mycobactéries entières inactivées	réponse mixte humorale et cellulaire
<i>Syntex Adjuvant Formulation</i> et formulations apparentées	émulsions huile dans eau à base de squalène et de copolymères synthétiques	stimulation de la réponse en anticorps
monophosphoryl lipide A	composant bactérien dérivé du lipopolysaccharide	stimulation préférentielle de la réponse de type Th1
muramyl dipeptide et dérivés	composants de paroi des mycobactéries	stimulation préférentielle de la réponse en anticorps
oligonucléotides CpG	motifs moléculaires propres aux génomes procaryotes	induction de réponses de type Th1
cytokines	protéines généralement utilisées sous forme recombinante	action directe et spécifique, mais dépendant de la dose et de l'espèce cible
saponines et <i>Immuno Stimulating COMplexes</i>	agents amphipathiques d'origine végétale, permettant la formation de structures vésiculaires	production d'anticorps et stimulation des lymphocytes T cytotoxiques
imidazoquinolones	composés synthétiques de faible masse moléculaire	induction de réponses de type Th1 ; stimulation des lymphocytes T cytotoxiques
amines lipophiles	agents de surface amphipatiques	induction de réponses de type hypersensibilité retardée
toxines bactériennes	sous formes entière, inactivée, sous-unitaire ou mutée	favorisation des réponses de type Th2 ; production d'IgA sécrétoires
polysaccharides	diverses	stimulation de l'immunité au niveau des muqueuses

# **IMMUNOTHERAPIE ET IMMUNOMODULATION**

## **Application au traitement des maladies auto-immunes et inflammatoires**

*Dr Sawsen FEKI*

*Dr Hatem MASMOUDI*

### **Objectifs**

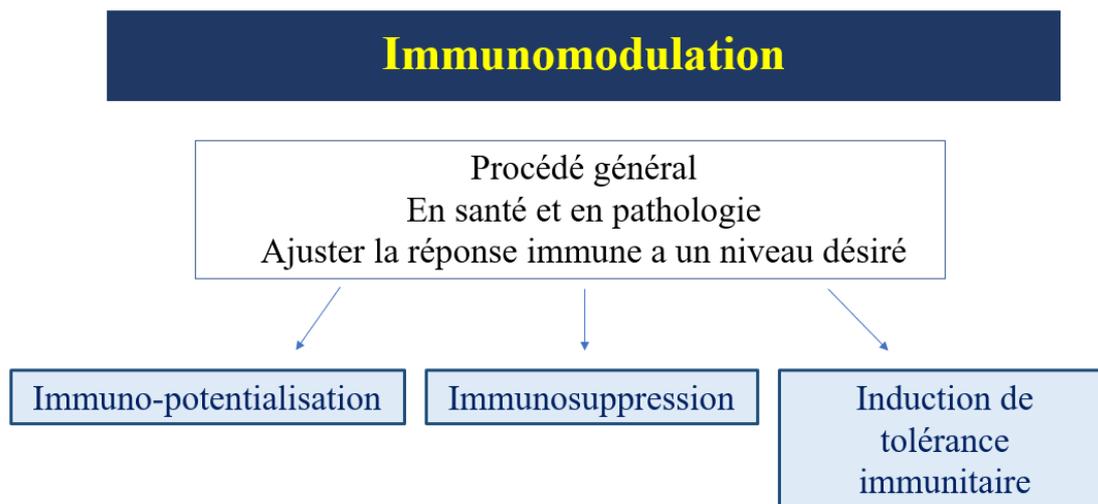
1. Définir la terminologie en rapport avec les nouvelles thérapeutiques
2. Déterminer les objectifs de l'utilisation des nouvelles thérapeutiques
3. Connaître les anticorps à utilisation thérapeutiques
4. Connaître les caractéristiques des protéines de fusion
5. Citer un exemple de l'utilisation des nouvelles thérapeutiques en pathologie humaine

### **I / INTRODUCTION ET DEFINITIONS**

Savoir précisément dénommer le progrès médical relève de la rigueur scientifique, mais c'est aussi une exigence pour faire communiquer le monde médical et scientifique et le grand public.

De nos jours, une des contributions majeures de l'immunologie dans le domaine médical est la translation des connaissances fondamentales sur le système immunitaire en nouvelles procédures et produits qui permettent, non seulement d'améliorer la santé et le bien-être des sujets sains, mais aussi d'apporter de nouvelles thérapeutiques aux patients atteints de pathologies auxquelles aucune modalité de traitement efficace n'a été disponible auparavant. Cette avancée récente est rendue possible grâce d'une part, aux travaux collaboratifs d'éminents immunologistes et cliniciens au cours des deux dernières décennies (travaux sur le traitement des maladies infectieuses avec de l'immun sérum et des gammaglobulines), et d'autre part, grâce au développement très récent de la biotechnologie et de la biologie moléculaire. De nouvelles modalités pour favoriser/stimuler la réponse immunitaire en cas de fonctionnement suboptimal (ex : déficits immunitaires), ou au contraire pour diminuer cette réponse en cas de fonctionnement excessif ou inapproprié (ex : maladies auto-immunes et allergiques) ont ainsi été développées.

L'ensemble de ces interventions qui permettent de changer l'intensité des réactions immunitaires naturelles sont regroupées sous le nom d'**immunomodulation** et les procédures, substances et produits correspondants sont nommés immunomodulateurs. L'immunomodulation est donc le procédé général par lequel, en santé et en pathologie, la réponse immune peut être ajustée ou changée à un niveau désiré via différentes stratégies : immuno-potentialisation (ou immuno-stimulation), immunosuppression, et induction de tolérance immunitaire (réf : Immunology IV, J. Bellanti).



**L'immunothérapie** correspond à l'utilisation de produits qui augmentent et/ou rétablissent la capacité du système immunitaire à prévenir et combattre la maladie. Par exemple, en cancérologie, l'immunothérapie a pour objectif d'activer le système immunitaire et l'équilibrer pour éliminer les cellules cancéreuses tout en évitant de produire des réponses inflammatoires et/ou auto-immunes incontrôlées.

**Les thérapies ciblées** sont des thérapeutiques dirigées contre des cibles moléculaires présentes et supposées jouer un rôle dans la physiopathologie des maladies (cancéreuses, auto-immunes, inflammatoires...) et qui épargnent au maximum les cellules saines.

En essayant de repérer sélectivement une cible précise (récepteur, gène ou protéine...), les thérapies ciblées épargnent au maximum les cellules saines et tentent de corriger ou de modifier les messages ou signaux erronés dans les cellules de différentes façons possibles :

- ↳ Bloquer une molécule ou une cellule
- ↳ Bloquer le dialogue intercellulaire
- ↳ Bloquer une voie de signalisation intracellulaire

**Biothérapie, Biomédicaments ou « biodrugs »** : sont obtenus par biosynthèse à partir d'organismes vivants (vaccins, anticorps monoclonaux, protéines recombinantes, ADN..) et non par synthèse chimique. Les biomédicaments sont ceux dont la production est obtenue grâce à la biotechnologie, le plus souvent par génie génétique ou biologique, à partir d'organismes vivants ou de leurs composés cellulaires (exemple : insuline humaine, hormones de croissance, anticorps monoclonaux).

Les biomédicaments sont des traitements "ciblés" mais tous les traitements "ciblés" ne sont pas des biomédicaments (les inhibiteurs de kinases ont des actions biologiques ciblées mais ne sont pas des biomédicaments, ils sont produits par la chimie de synthèse).

Les biothérapies regroupent différentes approches :

- ↳ La thérapie cellulaire
- ↳ La thérapie génique
- ↳ Les thérapies immunologiques (immunothérapie)

Les biothérapies occupent actuellement une place de plus en plus large dans l'arsenal des thérapeutiques disponibles. Elles ont révolutionné la prise en charge de nombreuses pathologies : cancers, pathologies rhumatismales, maladies inflammatoires...

Elles vont sans doute aider à améliorer la prise en charge des maladies systémiques que ce soit dans les formes résistantes aux traitements conventionnels ou dans les situations de cortico-dépendance.

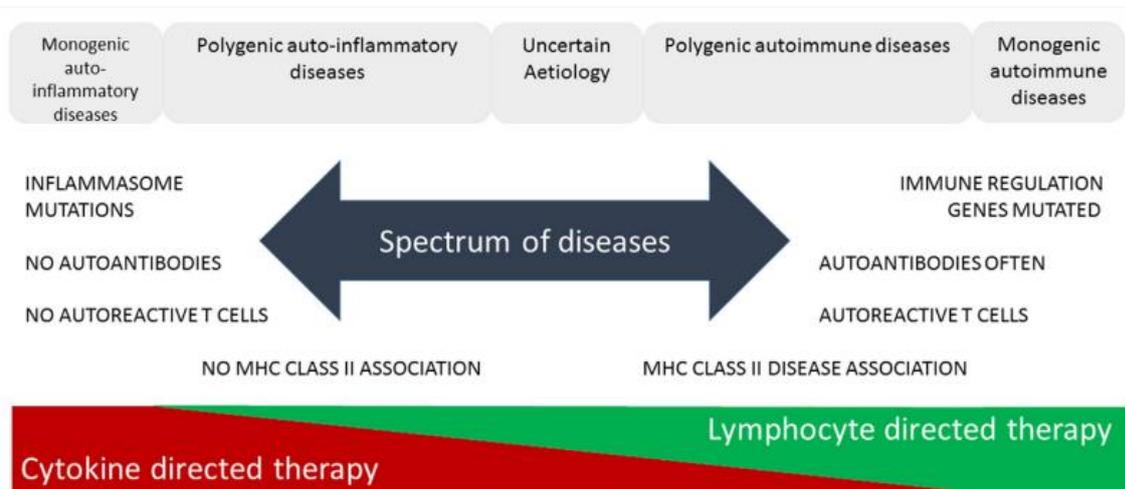
Sur le plan structural, les principales biothérapies immunomodulatrices sont soit des **anticorps monoclonaux**, soit des **protéines de fusion**.

## **II/ NOUVELLES APPROCHES THERAPEUTIQUES DANS LES MALADIES DE SYSTEME**

### **1. Classification étiologique des maladies auto-immunes (MAI) :**

La figure ci-dessous (fig1) classe et distingue les maladies auto-inflammatoires et auto-immunes sur la base de leur mécanisme immunopathologique et de leur caractère

monogénique ou polygénique. Le spectre ainsi proposé va des maladies monogéniques auto-inflammatoires qui touchent l'immunité innée aux maladies monogéniques auto-immunes en passant par les MAI polygéniques qui affectent l'immunité adaptative. Cette classification nous aide non seulement à comprendre les bases génétiques et immunologiques de la maladie mais aussi à prédire les moyens d'immunothérapie les plus efficaces.



**Figure1** : Classification étiologique des maladies auto-immunes et auto-inflammatoires

## 2. Objectifs des nouvelles thérapeutiques :

Le traitement conventionnel des maladies auto-immunes et maladies de système est classiquement fondé sur l'utilisation d'immunosuppresseurs et d'anti-inflammatoires dont l'absence de sélectivité d'action explique les limites et les effets indésirables observés.

De façon générale, les biothérapies dans les maladies auto-immunes systémiques ciblent :

- Les lymphocytes B (CD20, ...)
- Les lymphocytes T (Molécules de costimulation, ...)
- Différentes cytokines ou leurs récepteurs (TNF, IL6-R...)
- Autres : Système du complément...

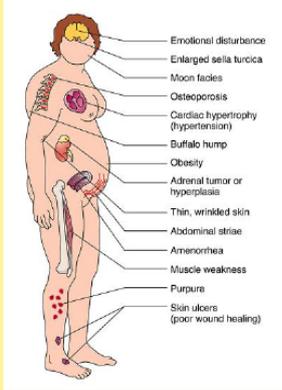
# La corticothérapie

Les effets secondaires sont doses et temps dépendants

**Risques maximums** d'effets secondaires:  
Durée > 15j  
Posologie > 20 mg/j

**Risque minimales:** dose < 8 mg/j

Toujours rechercher la plus petite dose efficace  
(0,1 mg/kg/j)



## Problèmes des anciens immunosuppresseurs en dehors des risques infectieux

- **Cyclophosphamide:** toxicité hématologique  
Alopécie, stérilité, risque de cancers de vessie, induction d'hémopathie (leucémie aigüe...), cardiomyopathie, fibrose pulmonaire....
- **Azathioprine:** toxicité hématologique, hépatite
- **Methotrexate:** toxicité hématologique, hépatique, risque de fibrose pulmonaire
- **Ciclosporine:** risque d'insuffisance rénale, HTA

L'objectif de l'utilisation des nouvelles thérapeutiques est par conséquent :

- L'épargne cortisonique
- Avoir moins d'effets indésirables que les immunosuppresseurs

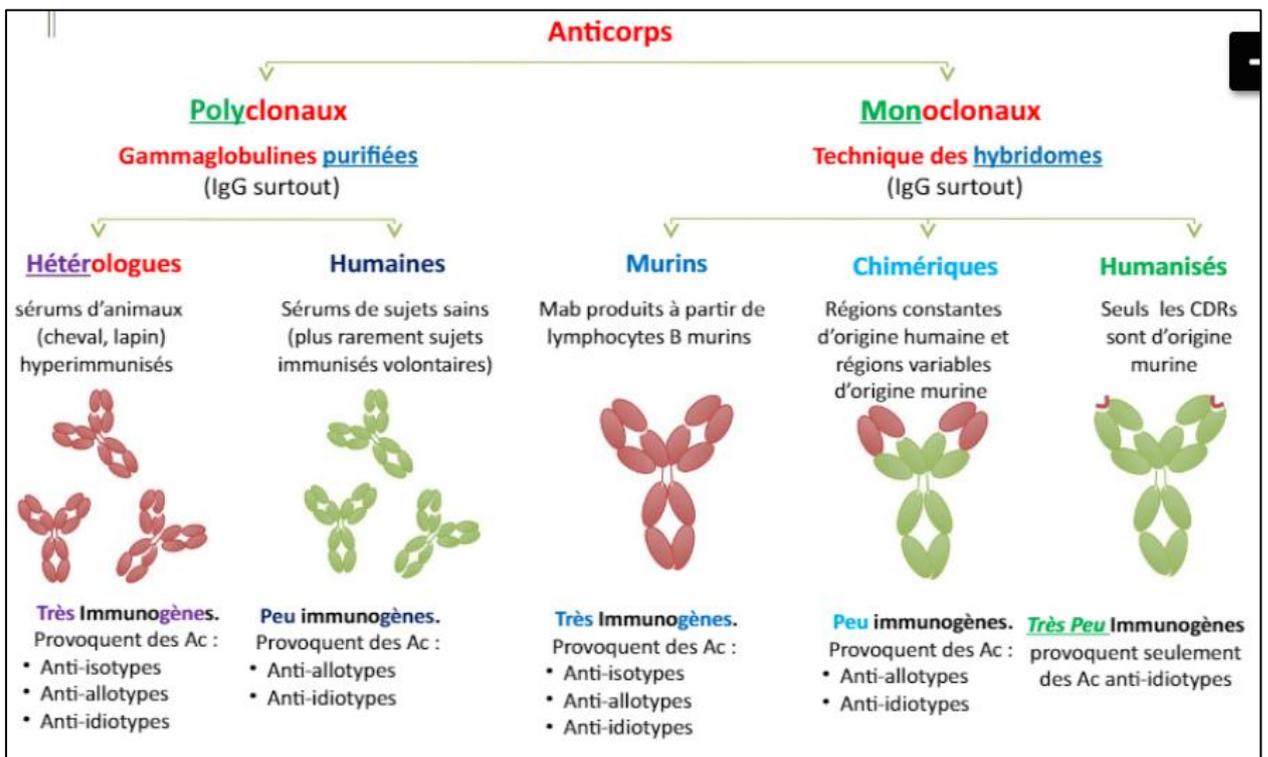
### 3. Anticorps (Ac) à utilisation thérapeutique :

Les Ig commercialisées peuvent être :

- **d'origine plasmatisque humaine:** risques **infectieux!**
- **d'origine plasmatisque animale:** (équine par ex) stimulation de leur production par administration d'un antigène.

Ces Ig sont plus **immunogènes** que les Ig d'origine humaine.

- **d'origine cellulaire monoclonale:** obtenues par manipulations complexes: des **cultures cellulaires** et souvent des transferts de gènes (**génie génétique**).



**Figure 2:** Différents types d'anticorps à utilisation thérapeutique

**a. Les Immunoglobulines (Ig) polyvalentes**

Elles sont administrées par voie intraveineuse (IV) d'où leur appellation courante d'Ig IV. Il s'agit d'un traitement immunomodulateur.

**Tableau 1 :** Différences entre sérum polyclonal et anticorps monoclonaux

	<b>Ac polyclonaux</b>	<b>Ac monoclonaux</b>
<b>Temps et coût de fabrication</b>	Rapide et moins cher	Lent et plus cher
<b>Compétences techniques requises</b>	Moindre	Supérieure
<b>Standardisation</b>	Variable	Standard
<b>Reproductibilité</b>	Variable	Constante
<b>Spécificité</b>	A plusieurs épitopes	A un seul épitope
<b>Affinité</b>	Variable	Constante
<b>Concentration et degré de pureté</b>	Faible	Elevé
<b>Stabilité vs pH</b>	Plus stable	Moins stable
<b>Nombre d'animaux utilisés</b>	Supérieur	Inférieur
<b>Disponibilité</b>	Limitée	Illimitée

Les Ig polyvalentes les plus utilisées actuellement sont d'origine humaine, et sont composées à 97% d'IgG correspondant à la présence d'une grande diversité d'anticorps contre divers agents infectieux notamment. Elles sont préparées à partir de pools de plasma provenant d'un grand nombre de donneurs.

Indications : Elles sont utilisées de façon générale pour corriger une déficience ou pour modifier l'état immunitaire au cours de maladies à composante immunitaire.

Elles ont très peu d'effets secondaires, ces derniers sont dans la majorité des cas réversibles.

Indications reconnues : Dermatomyosites, Polyradiculonévrites chroniques.

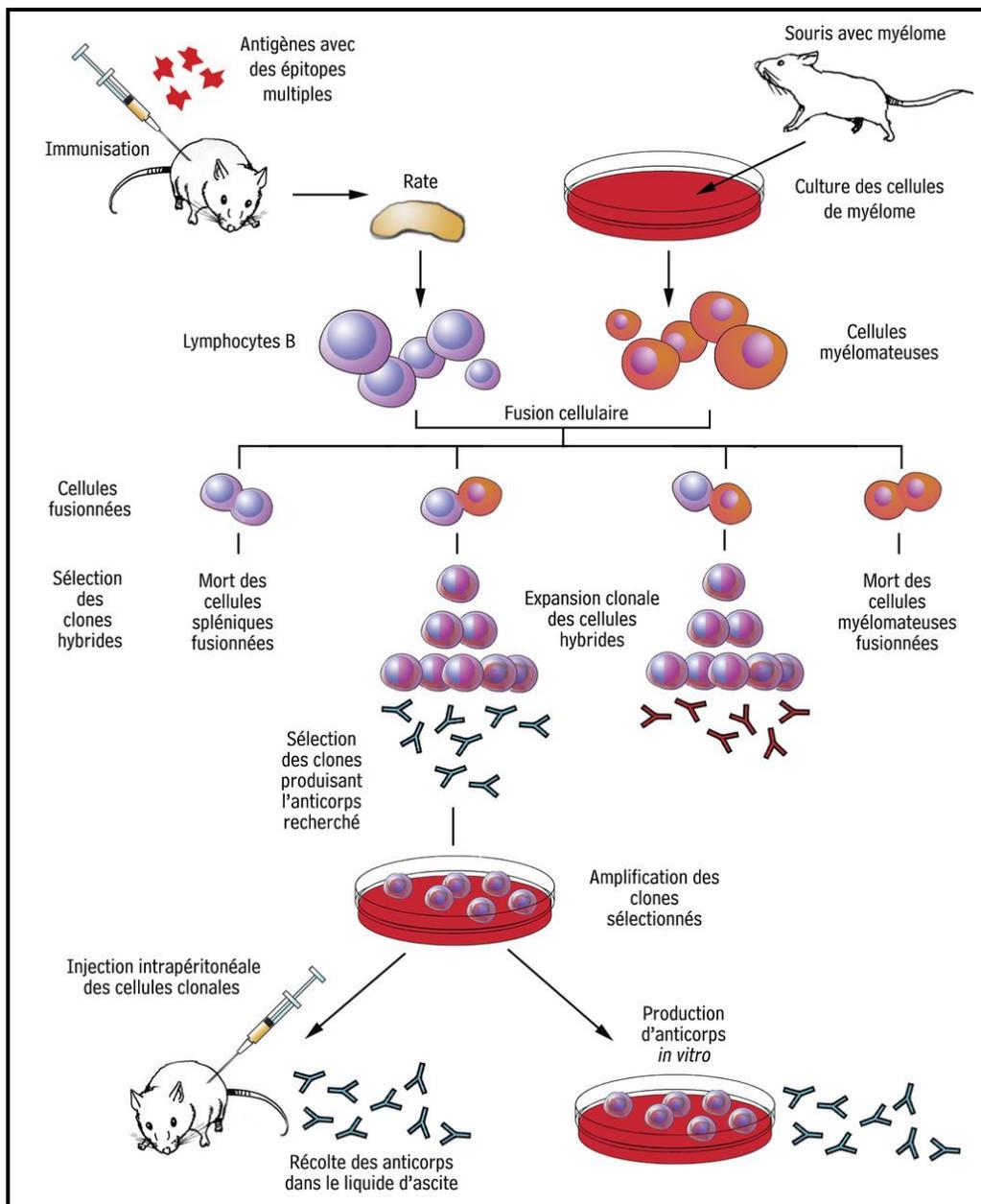
Indications à venir : Vascularites à ANCA, Maladie de Still, Syndrome des anti-phospholipides ou SAPL...

Les Ig polyvalentes contiennent diverses molécules si bien que leur mécanisme d'action est complexe : en intervenant à plusieurs niveaux, elles modifient l'équilibre

immunitaire du malade et peuvent ainsi avoir un effet bénéfique (interaction idiotypiques).

### b. Les anticorps monoclonaux

Les Ac monoclonaux (ou mab pour "monoclonal antibodies") sont des Ac issus d'un même clone de lymphocytes B (LB) spécifique d'un épitope (déterminant antigénique) donné. Ils sont caractérisés par une extrême spécificité antigénique, leur paratope (site Ac) est unique et ne reconnaît qu'un seul épitope d'un antigène bien déterminé.

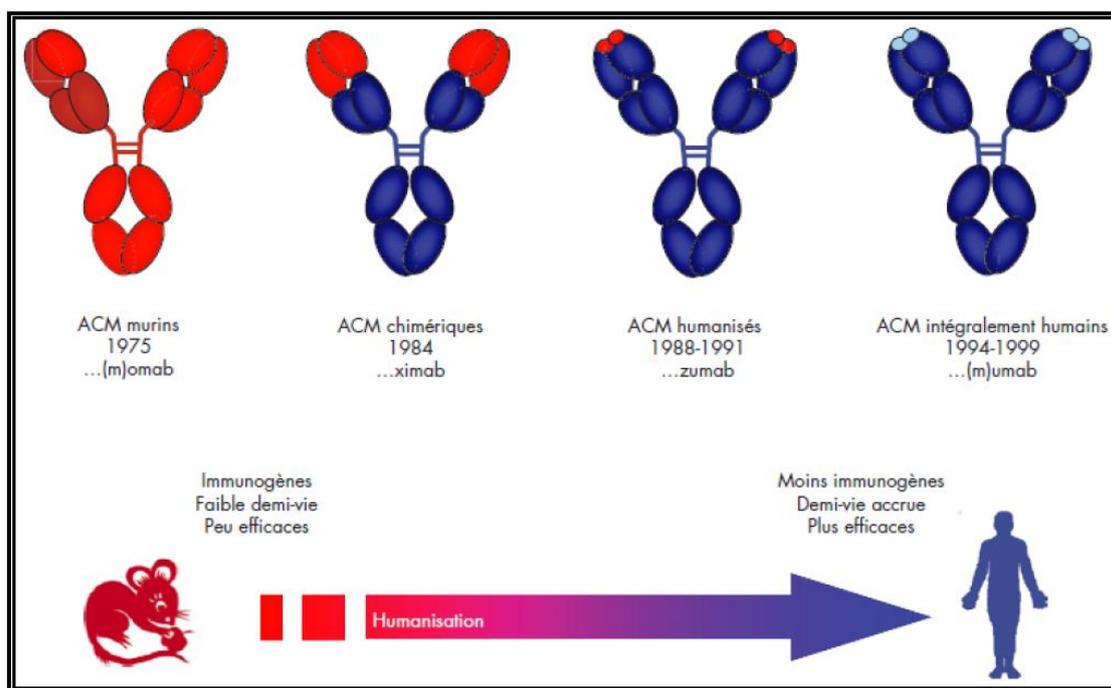


**Figure 3:** Technique des hybridomes pour la production d'anticorps Monoclonaux

Les Ac monoclonaux sont obtenus par la technologie des hybridomes : hybridation d'une cellule myéломateuse immortalisée (traitée pour ne plus produire d'Ig) et d'un lymphocyte B produisant l'anticorps spécifique. En effet, les premiers Ac monoclonaux développés étaient entièrement murins (momab, mo pour "mouse"). Ils ont été produits par la technique des hybridomes, en immortalisant un lymphocyte B par fusion avec une cellule de myélorne murin.

Cette capacité de pouvoir produire des Ac monoclonaux a été rendue possible par la mise au point de la technique des hybridomes par Köhler et Milstein en 1975, qui ont obtenu plus tard le prix Nobel de Médecine en 1984 (figure 3).

Cette découverte a constitué un tournant évolutif dans le domaine de la production *in vitro* de molécules thérapeutiques. Cependant, l'administration d'Ac monoclonaux murins chez l'homme était souvent pourvoyeuse de réactions immunitaires diverses contre les protéines étrangères avec possibilité de synthèse d'Ac humains anti-souris (Human anti-Mouse Antibodies HAMAs).



**Un anticorps chimérique (ximab) (humain à 80%)** : correspond à la greffe des parties constantes des chaînes lourdes et légères (CH et CL) d'un anticorps humain sur les parties variables respectives (VH et VL) d'un anticorps murin.

**Un anticorps humanisé (zumab) (humain à 95%)** : correspond à la greffe des parties hypervariables (ou complementary determining region (CDR) d'un anticorps murin sur une immunoglobuline humaine.

**Un anticorps humain (umab) (humain à 100%)** correspond à un anticorps totalement comparable à celui d'un être humain mais il est produit par un système biologique humain ou « non humain » .

**Figure 4** : Humanisation des anticorps monoclonaux murins

Le développement des techniques de biologie moléculaire et les récentes avancées en biotechnologie ont permis de surmonter ces difficultés avec la production d'Ac monoclonaux chimériques et humanisés (figure 4).

■ La nomenclature des anticorps monoclonaux repose sur:

- ↳ un préfixe
- ↳ un radical A
- ↳ un radical B
- ↳ un suffixe (mab : monoclonal antibodies)

Le radical A : définit la cible de l'anticorps monoclonal

Le radical B : définit l'origine de l'anticorps monoclonal

- ↳ Momab: murins
- ↳ Ximab : chimériques
- ↳ Zumab : humanisés
- ↳ Umab: totalement humains

Radical A	Cible	Exemples de spécialités commercialisées en France
-anib-	Angiogénèse	ranibizumab : Lucentis®
-b(a)-	Bactéries	
-c(i)-	Système cardio-vasculaire	abiximab : Reopro®
-f(u)-	Champignons	
-k(i)-	Interleukines	canakinumab : Ilaris®
-le-	Lésions inflammatoires	
-l(i)-	Système immunitaire	infiximab : Remicade® ; certolizumab : Cimzia®
-n(e)-	Neurone	
-s(o)-	Os	denosumab : Prolia®
-tox(a)-	Toxines	
-t(u)-	Tumeurs	rituximab : Mabthera® ; cetuximab : Erbitux®
-v(i)-	Virus	palivizumab : Synagis®

Exemple : l'infiximab (anti-TNF) se décompose en :

- inf : préfixe
- li : radical A (médicament agissant sur le système immunitaire)
- xi : radical B (médicament chimérique)
- mab : suffixe (médicament appartenant à la classe des anticorps monoclonaux).

Nom	Type	Ex. d'anticorps
xxmOmab	Mouse (Souris)	muromonab britumomab
xxXIImab	Chimeric (Chimérique)	rituximab cetuximab
XXZUmab	Humanized (Humanisé)	trastuzumab alemtuzumab
XxmUmab	Fully Human (Humain)	panitumumab adalimumab

Actuellement, les Ac monoclonaux utilisés en thérapeutique sont le plus souvent des **IgG** et habituellement de sous classe **IgG1**, plus rarement des IgG2 (denosumab) ou IgG4 (natalizumab).

On distingue **4 mécanismes élémentaires d'action** des Ac thérapeutiques :

- Le blocage d'un médiateur soluble (cytokines, chémokines, facteurs de croissance, complément)
- Le blocage ou la modulation d'un récepteur (si l'antigène est un récepteur)
- La déplétion cellulaire par différents mécanismes de cytotoxicité (ADCC, CDC) essentiellement par leur fragment Fc ou par l'induction d'une apoptose.
- La modulation de la signalisation cellulaire en se fixant sur une cible antigénique membranaire.

### **Exemples d'Ac thérapeutiques :**

**a-** les anti-TNF : 2 molécules disponibles : Infliximab, Adalimumab

Indications : PR, SPA, Psoriasis, Maladie de Crohn, RCH.....

**b-** anti-CD20 : Rituximab, Indications : PR+++ , SGS +/-

**c-** Autres :

- anti-IL6-R : Tocilizumab → PR+++
- anti-CD3 murin (anti-LT) : OKT3 (Muromomab) → greffe
- anti-CD25 (anti-chaîne  $\alpha$  du récepteur de l'IL-2) Basiliximab → greffe

### **3. Autres protéines à utilisation thérapeutique : Protéines de fusion**

Les protéines de fusion sont des constructions hybrides dans lesquelles la partie Fc des IgG est fusionnée génétiquement à des parties extracellulaires de récepteur et dont le but est de « piéger » un ligand tel que le TNF (etanercept), ou l'IL-1 (rinolacept-IL-1-R-Fc).

Ces constructions hybrides présentent différents avantages :

- ◆ Ils peuvent mimer des récepteurs dimériques
- ◆ L'immunogénicité des biomédicaments étant portée essentiellement par la partie variable Fab des anticorps monoclonaux, ces immuno-adhésines pourraient être moins immunogènes que les anticorps monoclonaux.

Concernant la nomenclature, le suffixe "**-cept**" est utilisé pour les protéines de fusion.

Le radical permet de désigner la cible de ces molécules.

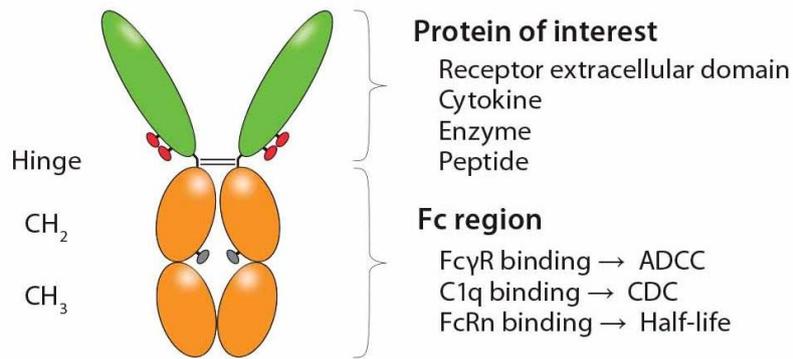
Exemple : Abatacept (Orencia®) : protéine de fusion CTLA-4 et Fc-IgG :  
 bloque la voie de co-stimulation entre les LT et les CPA (PR++ , Lupus ?)

### Perspectives d'avenir

- nanomédicaments
- missiles « intelligents »

**Tableau 2** : Exemples de cibles des biothérapies immunomodulatrices  
 (anti-récepteurs des LT, anti-récepteurs des LB et anti-cytokines)

Cell type or Cell interaction	Therapeutic	Proposed mechanism												
<p>Dendritic cell                      CD80 and 86                      CD28                      T cell</p>	CTLA-4Ig (Abatacept)	Binds CD80 and 86 and inhibits CD80 and 86 - CD28 interaction												
<p>CD20                      B cell</p>	Anti-CD20 (Rituximab)	Depletes B cells												
<p>Monocyte or macrophage                      TNF                      IL-1                      IL-6                      S-IL-6R</p>	TNF inhibitors (Adalimumab, Etanercept, Infliximab) IL-1Ra (Anakinra) Anti-IL6R (Tocilizumab)	Binds TNF and blocks binding to TNFR Engages IL-1R and blocks IL-1 binding to IL-1R Binds IL-6R and s-IL-6R and prevents IL-6 binding to IL-6R												
<p>Osteoclast                      Fibroblast                      Chondrocyte</p>														
<table border="0"> <tr> <td> CD80 or CD86</td> <td> TNF</td> </tr> <tr> <td> CD28</td> <td> IL-1</td> </tr> <tr> <td> CD20</td> <td> IL-6</td> </tr> <tr> <td> (Auto)antibody</td> <td> Soluble or membrane-bound IL-6 receptor</td> </tr> <tr> <td> MHC+antigen</td> <td> TNF receptor</td> </tr> <tr> <td> T cell receptor</td> <td> IL-1 receptor</td> </tr> </table>			CD80 or CD86	TNF	CD28	IL-1	CD20	IL-6	(Auto)antibody	Soluble or membrane-bound IL-6 receptor	MHC+antigen	TNF receptor	T cell receptor	IL-1 receptor
CD80 or CD86	TNF													
CD28	IL-1													
CD20	IL-6													
(Auto)antibody	Soluble or membrane-bound IL-6 receptor													
MHC+antigen	TNF receptor													
T cell receptor	IL-1 receptor													



### Conclusion :

Les nouvelles thérapeutiques immunomodulatrices sont en cours de développement et validation. Leur application médicale touche le domaine de l'auto-immunité, l'oncologie et l'allergologie. Leur fabrication demeure un processus assez coûteux, ce qui constitue un facteur limitant leur accessibilité. D'autre part, ces thérapeutiques ne sont pas dépourvues de risques (infection, malignité...) et une surveillance particulière s'impose lors de leur utilisation.

# IMMUNITE ANTI-TUMORALE ET MARQUEURS TUMORAUX

*Dr Sawsen Feki*

*Dr Hatem Masmoudi*

## **Objectifs**

- 1- Connaître les phases de la relation entre la tumeur et le système immunitaire.
- 2- Expliquer les mécanismes effecteurs de l'immunité innée anti-tumorale
- 3- Expliquer les mécanismes effecteurs de l'immunité adaptative anti-tumorale
- 4- Comprendre les mécanismes possibles par lesquels les cellules tumorales échappent à la réponse immunitaire
- 5- Définir les marqueurs tumoraux
- 6- Discuter l'intérêt clinique du dosage des marqueurs tumoraux

## **I. INTRODUCTION**

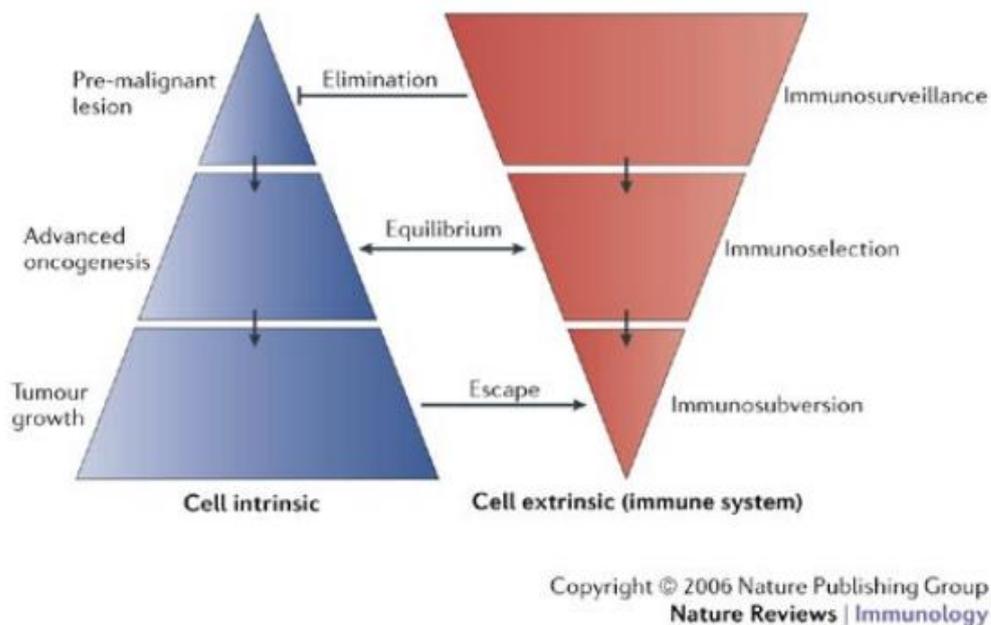
**Le concept de la surveillance immunologique** fut introduit dès les années 1970 par Macfarlane Burnet et Lewis Thomas. Il reposait sur l'idée que le système immunitaire, grâce à sa capacité à reconnaître les cellules tumorales, interviendrait en permanence pour prévenir l'apparition des tumeurs et limiter leur croissance.

Ainsi le caractère immunogène d'une tumeur fut démontré à l'aide de modèles expérimentaux dans lesquels la capacité à rejeter une tumeur pouvait être transmise à un receveur syngénique naïf par les lymphocytes T (LT) d'un animal qui a rejeté la même tumeur. Depuis, de nombreuses évidences expérimentales se sont accumulées pour soutenir ce concept. Chez l'homme, aussi bien des LT CD4<sup>+</sup> que CD8<sup>+</sup> spécifiques d'antigènes (Ag) tumoraux ont été retrouvés dans le sang circulant et les ganglions, ou infiltrant les tumeurs. De la même manière, les lymphocytes cytotoxiques tueurs naturels (NK, NKT), de par leur spécificité pour les protéines de stress exprimées par les cellules tumorales, sont recrutés pour les détruire.

## **II. Oncogenèse et système immunitaire**

La relation entre la tumeur et le système immunitaire passe par 3 phases, **E**limination/**E**quilibre/**E**chappement, c'est la règle des "3E" de ce qui est couramment désigné "immuno-editing" (fig1):

- d'abord la phase d'élimination (immuno-surveillance): où la réponse immunitaire arrive à éliminer le faible nombre de cellules tumorales (stade de lésion précancéreuse).
- ensuite une phase d'équilibre (immuno-sélection): où la tumeur met en jeu des mécanismes de résistance contre la réponse immunitaire pour persister (clones résistants) mais sans pouvoir proliférer (stade d'oncogénèse).
- enfin, une phase d'échappement (immuno-subversion): où la tumeur devient tolérée par le système immunitaire, d'où développement tumoral et propagation de la maladie (stade de croissance tumorale).



Zitvogel et al. *Nature Reviews Immunology* 6, 715–727 (October 2006) | doi:10.1038/nri1936

**Fig. 1:** Les 3 phases de "l'immuno-editing"

## II. LES MECANISMES EFFECTEURS DE L'IMMUNITE ANTI-TUMORALE

### 1- Immunité naturelle

La réponse immunitaire anti-tumorale qui se développe durant la phase d'élimination va tout d'abord faire intervenir, en l'absence d'immunisation préalable, les acteurs

de la réponse non spécifique (principalement les cellules NK, mais aussi les macrophages, les cellules NKT et les LT $\gamma/\delta$ ).

#### a/ Les cellules NK

Les cellules NK ("Natural Killer") sont les médiateurs de l'immunité anti-tumorale naturelle. Elles sont capables de lyser in vitro des lignées tumorales à faibles expression de molécules HLA classe I. Elles réalisent une **immunité non spécifique** (elles n'expriment pas de TCR à leur surface) **et non HLA restreinte** (elles n'ont pas besoin qu'on leur présente le peptide antigénique par une molécule du CMH).

Leur activation est régulée par une balance entre les signaux reçus de récepteurs inhibiteurs et activateurs. Différents mécanismes sont mis en jeu par les cellules NK pour éliminer les cellules tumorales :

1. L'activation des récepteurs activateurs (KAR : "Killing Activating Receptors") sans les récepteurs inhibiteurs (KIR) des cellules NK par les cellules tumorales qui, en général, n'expriment pas les molécules CMH classe I, va entraîner l'exocytose de granules contenant des enzymes de type perforine/granzyme, provoquant la mort par nécrose et/ou apoptose des cellules tumorales : c'est le modèle de fonctionnement dit du «Missing self » des cellules NK (fig2).

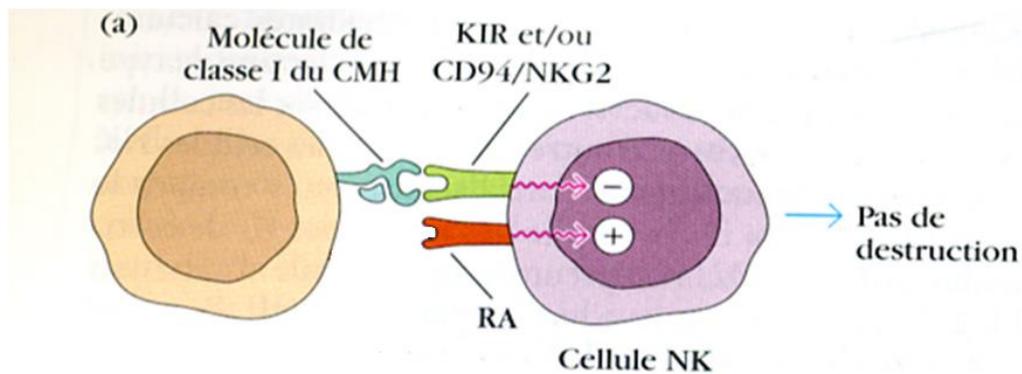
2. L'interaction des molécules comme le ligand des récepteurs Fas (Fas-L) ou TRAIL ("Tumor Necrosis Factor-related apoptosis inducing ligand"), présents à la surface des cellules NK, avec leurs récepteurs spécifiques, exprimés par la tumeur entraîne également l'apoptose des cellules tumorales.

3. Les cellules NK sécrètent des facteurs solubles et de nombreuses cytokines, parmi lesquelles l'interféron gamma (INF- $\gamma$ ) qui réduit la néo-angiogenèse et recrute les acteurs de la réponse immunitaire spécifique comme les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques.

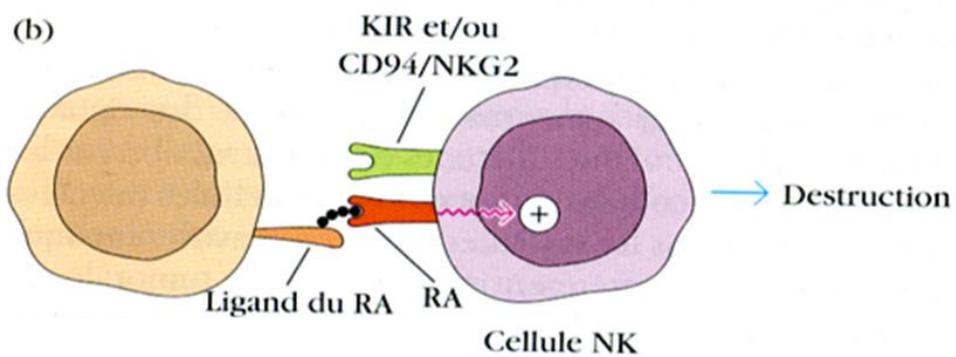
4. Elles peuvent détruire des cibles tumorales recouvertes d'anticorps (Ac) par ADCC (cytotoxicité cellulaire dépendante d'Ac) puisqu'elles expriment à leur surface un récepteur pour le fragment Fc des IgG (le CD16 ou Fc $\gamma$ -RIII).

L'action des cellules NK est potentialisée par certaines cytokines : TNF, IL-2 (libérée par les LT CD4<sup>+</sup>) et IL-12 (sécrétée par les macrophages). Cela nécessite l'activation concomitante des LT CD4<sup>+</sup> et des macrophages. Le rôle des cellules NK est surtout

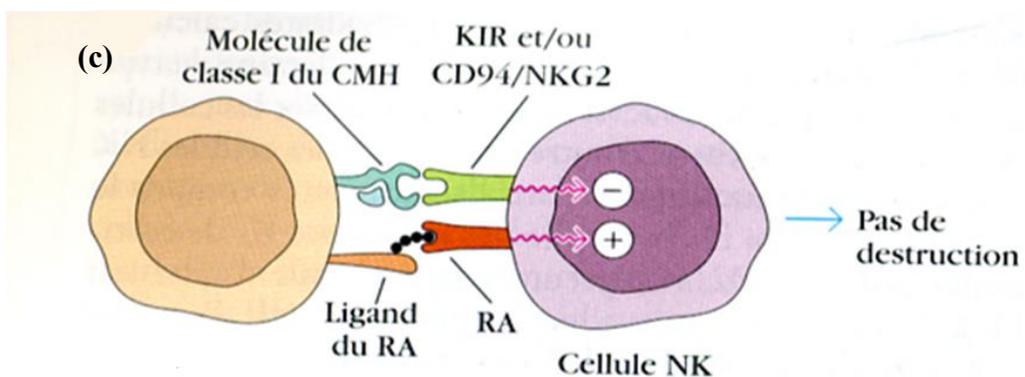
**potentialisé par l'IL-2** : lorsque les cellules NK sont en présence de l'IL-2, on les appelle cellules LAK (Lymphokine Activated Killer). Ces LAK peuvent être dérivées des TIL ("Tumor infiltrating lymphocytes") lorsque ceux-ci sont cultivés in vitro en présence de forte dose d'IL-2.



Signal inhibiteur seul sans signal activateur



Signal activateur seul sans signal inhibiteur



Signal activateur et signal inhibiteur

**fig 2:** Modèle de fonctionnement dit du «Missing self » des cellules NK

- (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)

### **b/ Les macrophages**

Les macrophages associés aux tumeurs (TAM) sont originaires de la lignée monocyttaire. Comme les cellules NK, les macrophages sont capables de détruire les cellules cancéreuses in-vitro sans immunisation préalable et cet effet n'est obtenu que si les macrophages sont préalablement activés par diverses lymphokines secrétées par le LT en particulier l'INF $\gamma$ , le TNF $\beta$  et le GM-CSF. Cependant et malgré leur activité anti-tumorale intense in vitro, le rôle des macrophages dans la défense contre les cancers humains in vivo reste discuté (présentation des Ag tumoraux sur place, rôle inhibiteur de la croissance tumorale, pouvoir destructeur puissant après activation in situ...). Parfois, ces cellules sont associées à un mauvais pronostic et leur rôle est détourné par les cellules tumorales qui envoient des signaux vers les TAM pour la synthèse de facteurs de croissance liés à l'inflammation, ce qui va aboutir à un microenvironnement tumoral d'inflammation mitogénique qui va permettre à la tumeur de se multiplier.

Les cellules T  $\gamma/\delta$  et T NK (ou NKT) sont des lymphocytes T cytotoxiques dont les fonctions sont à la frontière des réponses spécifiques et non spécifiques.

### **c/ Les cellules NKT**

La fonction anti-tumorale des lymphocytes NKT semble être liée à la production de cytokines comme l'IL-2 et l'INF- $\gamma$ , qui jouent un rôle essentiel dans l'induction et la régulation des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et des cellules NK. De plus, ces lymphocytes

peuvent être des effecteurs cytotoxiques tout comme les cellules NK puisque, comme ces dernières, ils expriment les récepteurs activateurs de la lyse. Toutefois, il est important de souligner la dualité fonctionnelle des cellules NKT dans l'immunité anti-tumorale dans la mesure où ces cellules sécrètent des cytokines comme l'IL-4, l'IL-10 et l'IL-13 qui peuvent inhiber le développement des effecteurs cytotoxiques de l'immunité spécifique.

#### **d/ Les Lymphocytes T $\gamma/\delta$**

Les lymphocytes T  $\gamma/\delta$  sont des cellules T qui présentent des caractéristiques particulières liées à leur phénotype (récepteur TCR  $\gamma/\delta$  différent du TCR  $\alpha/\beta$  des LT conventionnels) et à leur spécificité. Bien qu'étant mal définie, la spécificité des lymphocytes T  $\gamma/\delta$  semble être associée aux molécules du choc thermique et aux antigènes de stress. Il s'agit de lymphocytes effecteurs de la cytotoxicité capables de détruire spontanément des cellules tumorales via une reconnaissance impliquant soit le TCR, soit des récepteurs activateurs de la lyse.

### **2- Immunité spécifique**

Les cellules cancéreuses peuvent susciter, chez le malade porteur d'un cancer, une réponse immunitaire spécifique dirigée contre des Ag tumoraux et qui se traduit par l'apparition de LT et/ou d'Ac reconnaissant spécifiquement ces Ag. Cette réponse est acquise, elle n'apparaît qu'après un contact préalable entre les cellules immunocompétentes et les Ag tumoraux. Chez l'homme, la réactivité spécifique de lymphocytes de malades atteints d'un cancer vis-à-vis de cellules tumorales a été mise en évidence in vitro pour plusieurs types de cancers. Par ailleurs, des clones de LT cytotoxiques pour les cellules cancéreuses autologues ont été obtenus à partir du sang de malades cancéreux. De même que des Ac monoclonaux anti-tumoraux ont été obtenus à partir de lymphocytes B (LB) du sang circulant de malades immunisés contre leur propre tumeur.

La stimulation des LT nécessite la présence de plusieurs signaux d'activation. Dans un contexte tumoral, les Ag présentés en association avec les molécules du CMH sont d'origine et de nature diverses : produit anormal du gène muté p53, protéine d'origine virale (E6/E7) dans le cas des infections à papillomavirus, ou bien des Ag cellulaires spécifiquement exprimés à la surface des cellules malignes. Le second signal, dit de

co-stimulation (ou co-activation), est délivré par des molécules de surface des cellules présentatrices d'Ag ou APC (B7-1 = CD 80 et B7-2 = CD 86) qui interagissent avec leur récepteur spécifique sur les LT (CD28), ou par des facteurs solubles comme certaines cytokines (IL1, IL6...).

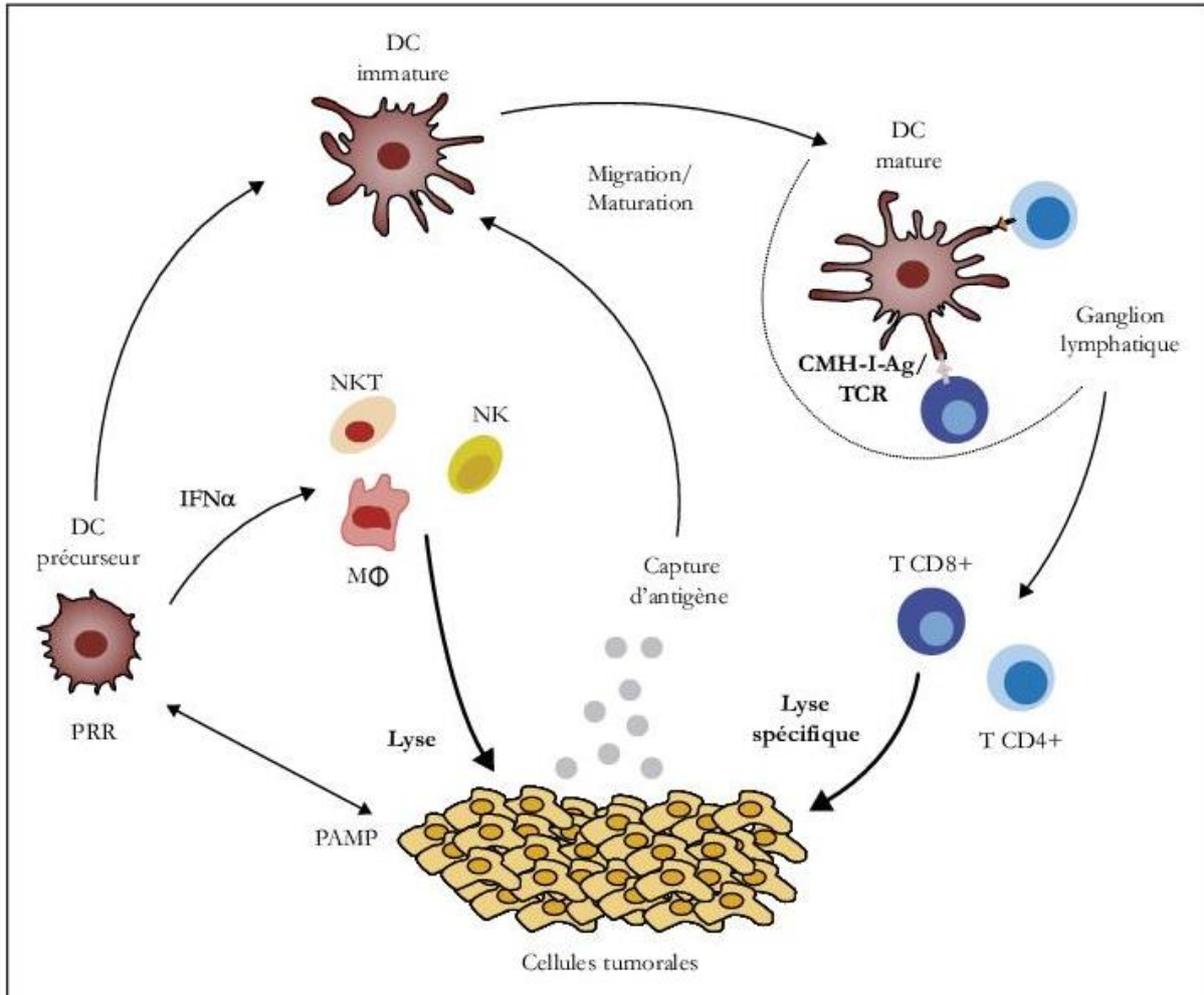
Les cellules tumorales, généralement dépourvues de molécules de co-stimulation, ne peuvent donc pas déclencher de réponse immunitaire spécifique efficace. Cependant, **les cellules dendritiques (DC)** ayant capturé des débris de cellules tumorales, vont migrer vers les organes lymphoïdes secondaires et présenter ces Ag aux LT spécifiques. Par ailleurs, ces DC matures expriment de façon constitutive les molécules de co-stimulation nécessaires à l'activation des LT. Les LT naïfs ainsi activés par les DC au niveau des organes lymphoïdes secondaires, vont proliférer et se différencier en cellules T effectrices de type «helper» (Th) pour les LT CD4<sup>+</sup> ou cytotoxiques (CTL : "Cytotoxic T Lymphocytes") pour les LT CD8<sup>+</sup>. **Les LT CD8<sup>+</sup>** acquièrent des fonctions cytotoxiques mettant en jeu plusieurs mécanismes. Ces cellules sécrètent de l'IFN- $\gamma$  ainsi que des molécules cytotoxiques comme les enzymes de type perforines/granzymes. Elles produisent de l'IL-2 et du TNF et vont proliférer en présence d'IL-2, d'IL-4, d'IL-7 et d'IL-15. Elles vont également exposer à leur surface de nombreuses protéines impliquées dans l'adhésion cellulaire et le chimiotactisme qui leur permettent de coloniser les tissus et les muqueuses.

**Les LT CD4<sup>+</sup>** activés peuvent dériver en deux sous-populations en fonction de leur profil de sécrétion de cytokines. La réponse de type Th1 est caractérisée principalement par la sécrétion d'IL-2 et d'IFN- $\gamma$  qui stimulent efficacement la prolifération et l'activité cytotoxique des LT CD8<sup>+</sup> et des cellules NK. La production de cytokines pro-inflammatoires et de médiateurs cytotoxiques va également stimuler les fonctions cytotoxiques des macrophages. Les cytokines de type Th2 définissent une population de LT produisant majoritairement de l'IL-4, l'IL-5, et de l'IL-10 qui orientent la réponse plutôt vers une immunité humorale. Le rôle des LTCD4<sup>+</sup> dans l'immunité anti-tumorale est donc complexe :

- Rôle anti-tumoral : \* direct via la production de cytokines, la libération de granules cytotoxiques ou l'interaction de molécules membranaires (Fas-FasL) ; et surtout

\* indirect via la production de cytokines de type Th1 (IL-2, IFN $\gamma$ ) qui ont un rôle essentiel dans l'induction et la persistance des LT CD8<sup>+</sup> anti-tumoraux.

- Rôle pro-tumoral : présence de LT CD4<sup>+</sup> de type T régulateurs (Treg) ou avec une polarisation cytokinique particulière (Th2, Th17...).



**fig3** : Immunité antitumorale spécifique et non spécifique

Il est donc théoriquement envisageable qu'un organisme au sein duquel se développe une tumeur puisse engendrer une réponse immunitaire spécifique et non spécifique (fig3). Cependant, la prolifération des cancers indique que cette réponse n'est pas suffisante pour empêcher la progression de la maladie.

En effet, au cours de leur croissance, les cellules tumorales vont acquérir la capacité de contourner les réponses immunitaires mises en place par l'organisme.

### III. LES MECANISMES D'ECHAPPEMENT A LA REPOSE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORALE

L'échappement tumoral est un phénomène progressivement croissant : au fur et à mesure du développement de la tumeur, les cellules acquièrent des mécanismes pour échapper à la réponse immunitaire; Ces mécanismes sont nombreux:

- Pour une même tumeur, ces mécanismes peuvent varier d'un individu à un autre.

- Pour un même individu, ces mécanismes peuvent varier d'une métastase à une autre.

Ceci conduit à l'hétérogénéité des populations tumorales, ce qui va causer des difficultés thérapeutiques.

### **1. Diminution de l'expression des molécules HLA de classe I :**

La diminution ou la perte d'expression des molécules HLA classe I par diverses tumeurs humaines est fréquente, elle leur permet d'échapper à la reconnaissance et la lyse par les LT CD8<sup>+</sup> cytotoxiques spécifiques.

### **2. Modulation de l'expression de l'antigène :**

Les cellules cancéreuses sont caractérisées par forte instabilité génétique, les mutations ponctuelles fréquentes conduisent ainsi à la perte de l'antigénicité initiale, qui associée à l'apparition de nouveaux Ag, rend la réponse immunitaire spécifique « durement » mise en place « obsolète ».

D'autre part, la fixation d'Ac spécifiques sur les Ag tumoraux, entraîne l'endocytose de ces Ag de surface et leur dégradation conduisant ainsi à la perte d'expression par les cellules cancéreuses des Ag reconnus par les CTL.

### **3. Sécrétion de cytokines immunosuppressives par la tumeur elle-même:**

Le TGFβ ("transforming growth factor"), une puissante cytokine immunosuppressive agissant notamment sur l'immunité à médiation cellulaire, est souvent présent dans le surnageant de culture de tumeurs.

### **4. Absence de molécules de co-stimulation :**

La plupart des cellules tumorales n'expriment pas ou très peu les molécules de co-stimulation de type B7 (B7-1 = CD 80 et B7-2 = CD86), ce qui leur permet d'éviter l'activation des LT spécifiques des Ag tumoraux qu'elles expriment. En effet, le second ou signal de co-stimulation, amené par l'interaction B7-CD28, est nécessaire à l'activation des LT spécifiques. Son absence entraîne l'anergie (inactivation fonctionnelle permanente) du LT.

### **5. Surexpression des gènes de résistance à l'apoptose :**

Augmentation de l'expression de molécules anti-apoptotiques (bcl-2, c-flip...)

**6. Expression de molécules favorisant l'apoptose des LT activés** telles que les ligands des récepteurs de mort cellulaire Fas (Fas-L) et PD1 (PD-L1 et PD-L2) (voir cours « Immunothérapie des cancers »).

**7-Création d'une barrière physique pour la tumeur « site de privilège immun »:**

Fibre de collagène, facteurs de coagulation....

#### **IV. MARQUEURS TUMORAUX**

**Les marqueurs tumoraux** sont des molécules antigéniques produites par les cellules tumorales et trouvées en quantité détectable dans le sang circulant. Chaque marqueur tumoral est ainsi associé à un ou plusieurs cancers. La plupart des marqueurs tumoraux sont utiles pour la détection de cancers chez des sujets symptomatiques (diagnostic) et surtout pour le suivi phénotypique des malades (surveillance).

Avec le développement des techniques de cytométrie de flux (analyse au FACS) et d'immunohistochimie permettant la détection de ces marqueurs à la surface des cellules tumorales sur un prélèvement de sang ou sur une coupe tissulaire, on préfère actuellement utiliser le terme de **marqueurs tumoraux circulants** ou **marqueurs biologiques de cancers** pour désigner les marqueurs solubles détectés dans le sang.

Les dosages immunoenzymatiques sont à l'heure actuelle les plus utilisés, mais la radio-immunologie et l'immunofluorimétrie quantitative gardent une place importante.

Un autre apport majeur de l'immunologie dans le domaine des marqueurs tumoraux est celui **des Ac monoclonaux**. Cet apport est double. D'une part, ces réactifs ont permis de reconnaître et de doser avec une haute spécificité et une très grande sensibilité des molécules déjà connues. D'autre part, la technologie des hybridomes a permis de définir un nombre croissant de nouveaux marqueurs tumoraux.

L'évolution des techniques immunologiques utilisées pour la mise en évidence et le dosage des marqueurs tumoraux rend compte de l'évolution du concept de marqueur tumoral. Si, à leur début, les marqueurs tumoraux ont été considérés comme des molécules spécifiques de cancer, on sait aujourd'hui que la plupart d'entre

elles sont présentes, en petites quantités, chez l'individu normal et que leur taux peut être faiblement augmenté dans certaines maladies inflammatoires ou bénignes (tableau 2).

**La nature de ces marqueurs tumoraux** est diverse. Le plus souvent, il s'agit de protéines ou de glycoprotéines. Beaucoup de ces marqueurs sont des molécules dites onco-fœtales c-à-d normalement présentes dans les tissus embryonnaires ou fœtaux et dont la synthèse est fortement diminuée après la naissance (ex : AFP, ACE...).

**Les fonctions biologiques** de la plupart de ces marqueurs onco-fœtaux sont mal connues. Par contre, d'autres marqueurs ont des activités biologiques bien caractérisées.

Il peut s'agir :

- D'enzymes comme les phosphatases acides prostatiques (PAP), l'énolase neurone-spécifique (NSE), l'aldolase A etc. Ces marqueurs peuvent être dosés par des méthodes biochimiques mais les techniques immunologiques sont, au moins, aussi performantes

- D'hormones comme la gonadotrophine chorionique humaine ou sa chaîne  $\beta$  (HCG,  $\beta$ -HCG), la calcitonine, les hormones hypophysaires (ACTH, LH, STH), les catécholamines et leurs métabolites

- De protéines de stockage ou de transport : thyroglobuline (Tg), ferritine, lactoferrine etc

- D'éléments du système immunitaire :  $\beta$ 2-microglobuline, pièce sécrétoire, immunoglobulines monoclonales

Enfin, pour de nombreux marqueurs, ni le caractère onco-fœtal, ni la fonction biologique ne sont clairement établis : Ag CA19-9, CA125, CA50 etc...

**L'intérêt clinique de ces marqueurs tumoraux** est multiple : diagnostique, pronostique et thérapeutique :

- Le dépistage : Il est malheureusement très rare que la concentration sanguine d'un marqueur tumoral s'élève avant que la tumeur ne soit symptomatique ou avant qu'elle puisse être mise en évidence par les autres moyens diagnostiques. Le dosage des marqueurs tumoraux ne permet donc généralement pas un dépistage de cancer

dans une population générale (exception faite de l'alpha-fœtoprotéine et de la calcitonine utile respectivement pour le dépistage des cancers du foie et des cancers médullaires de la thyroïde).

- Le diagnostic : Le dosage des marqueurs tumoraux peut souvent aider à étayer un diagnostic de tumeur lorsque son existence est suspectée sur des arguments cliniques ou paracliniques.

Le pronostic : la concentration sanguine du marqueur tumoral est souvent corrélée à la taille et au degré d'extension de la tumeur.

- Enfin, le dosage des marqueurs tumoraux circulants constitue généralement un outil précieux de surveillance au cours d'un traitement par chimiothérapie et/ou radiothérapie, ou après un traitement chirurgical.

Il faut signaler que l'élévation de la concentration d'un marqueur tumoral, surtout si elle n'est pas très importante ne permet pas à elle seule d'affirmer la présence d'une tumeur maligne, ni de déterminer avec certitude sa localisation et que, à l'inverse, une concentration normale ne permet pas d'éliminer un diagnostic de cancer.

Les marqueurs tumoraux couramment utilisés sont associés à des localisations cancéreuses bien connues :

- Alpha-fœtoprotéine (AFP) : foie (hépatocarcinomes), testicule et ovaire (tumeurs germinales non séminomateuses)

- Ag carcino-embryonnaire (ACE) : côlon-rectum, foie, pancréas et voies biliaires, poumon (adénocarcinome), sein, col de l'utérus, cancer médullaire de la thyroïde

- CA19-9 : pancréas et voies biliaires, côlon-rectum, estomac

- CA125 : ovaire (adénocarcinomes séreux surtout)

- CA15-3 : sein

- PSA : prostate

- βHCG : testicules et ovaires (tumeurs germinales non séminomateuses) et placenta (choriocarcinomes et môles hydatiformes)

- Calcitonine : thyroïde (cancers médullaires)

- Thyroglobuline : thyroïde (cancers différenciés)

Les marqueurs tumoraux peuvent être utilisés, non plus comme substrat que l'on dose

dans le sang, mais comme **cible tissulaire d'Ac monoclonaux** que l'on injecte dans l'organisme. Ces Ac monoclonaux hautement spécifiques servent comme vecteurs d'un isotope radioactif ou d'une drogue cytotoxique. La fixation de ces Ac radiomarqués sur le tissu tumoral peut permettre de localiser la tumeur à l'aide d'un détecteur externe, c'est le principe de l'immuno-scintigraphie ou radio-immunodétection. Si le rayonnement émis par l'isotope est suffisamment intense, on peut détruire le tissu tumoral sur lequel s'est fixé l'Ac. Le même résultat est obtenu avec l'Ac monoclonal couplé à une drogue cytotoxique. Toutes ces méthodes d'immunociblage présentent théoriquement l'énorme avantage de concentrer l'isotope ou la drogue cytotoxique sur le seul tissu tumoral. Cependant il s'agit, surtout pour l'immuno-scintigraphie, de méthodes lourdes, onéreuses, sujettes à de nombreuses difficultés pratiques et nécessitant une étroite collaboration entre biophysiciens, cancérologues et immunologistes.

**Tableau 1 : Valeurs habituelles des principaux marqueurs tumoraux circulants**

<b>Marqueur</b>	<b>Valeurs normales</b>	<b>Valeurs suspectes</b>	<b>Valeurs pathologiques</b>
<b>NSE</b>	< 12,5 ng/ml	12,5 - 25 ng/ml	> 25 ng/ml
<b>β-HCG</b>	< 5 mUI/ml	---	> 5 mUI/ml
<b>SCC</b>	< 1,5 ng/ml	1,5 - 2,5 ng/ml	> 2,5 ng/ml
<b>CA 72-4</b>	< 6 U/ml	6 - 10 U/ml	> 10 U/ml
<b>CA 125</b>	< 35 U/ml	35 - 65 U/ml	> 65 U/ml
<b>CA 19-9</b>	< 37 U/ml	37 - 120 U/ml	> 120 U/ml
<b>CA 15-3</b>	< 30 U/ml	30 - 50 U/ml	> 50 U/ml
<b>PAP</b>	< 3 ng/ml	3 - 5 ng/ml	> 5 ng/ml
<b>PSA</b>	< 3 ng/ml	3 -10 ng/ml	> 10 ng/ml
<b>AFP</b>	< 10 ng/ml	10 - 200 ng/ml	> 200 ng/ml
<b>ACE</b>	< 5 ng/ml	5 -10 ng/ml	> 10 ng/ml
<b>Calcitonine</b>	< 10 pg/ml	10 -100 pg/ml	> 100 pg/ml
<b>Tg</b>	< 2,5 ng/ml	---	> 2,5 ng/ml

**Tableau 2 : Augmentations non spécifiques des marqueurs tumoraux**

<b>Marqueur</b>	<b>PATHOLOGIES BENIGNES</b>
<b>ACE</b>	Certaines maladies inflammatoires digestives (cirrhose) et pulmonaires, insuffisance rénale chronique évoluée, tabagisme
<b>AFP</b>	Hépatites, cirrhoses, maladie de Crohn, Polypes, grossesses multiples,
<b>PSA</b>	Adénome prostatique, prostatite,
<b>PAP</b>	Adénome prostatique, infarctus. Maladies osseuses, hépatobiliaires et rénales
<b>CA 15-3</b>	Pathologies bénignes du sein, maladies hépatobiliaires, infections urinaires, pancréatite aiguë
<b>CA 19-9</b>	Pancréatite aiguë ou chronique, cholécystite, maladies hépatobiliaires et pulmonaires
<b>CA 125</b>	Endométriose, tumeurs bénignes de l'ovaire, cirrhose, ascite, pancréatite aiguë, 3 <sup>ème</sup> trimestre de la grossesse
<b>CA 72-4</b>	Rares
<b>SCC</b>	Broncho-pneumopathies obstructives, asthme
<b>βHCG</b>	Grossesses pathologiques (GEU, môle)
<b>NSE</b>	Pneumonie, état septique, traumatisme crânien
<b>Calcitonine</b>	Insuffisance rénale chronique, hyperparathyroïdie, maladie de Paget
<b>Thyroglobuline</b>	Basedow, goitres toxiques, thyroïdites aiguës ou subaiguës
<b>β2-Microglobuline</b>	Maladies inflammatoires chroniques, hépatite virale, mononucléose infectieuse

# IMMUNOTHERAPIE ANTI-CANCER

Dr Ameni Jerbi

Dr Sawsen Feki

Dr Hatem Masmoudi

## Objectifs

- 1- Citer les différents types d'immunothérapie anti-cancéreuse
- 2- Connaitre les caractéristiques des thérapeutiques agissant sur les signaux tumoraux spécifiques
- 3- Connaitre les thérapeutiques agissant par stimulation du système immunitaire

### I. Introduction

L'explosion des connaissances fondamentales sur l'immunité anti-tumorale a permis l'émergence de plusieurs approches d'immunothérapie anti-cancer. Ces différentes approches peuvent agir sur la tumeur par un mécanisme global ou spécifique de la tumeur. Elles peuvent aussi agir sur le système immunitaire par stimulation active en intervenant d'une façon spécifique de l'antigène tumoral (vaccination) ou non spécifique (BCG, administration de cytokines) ou de façon passive avec des molécules ou cellules de substitution du système immunitaire (anticorps monoclonaux, transfert adoptif de cellules).

### II. Thérapeutiques agissant par Stimulation du système immunitaire

Cette approche thérapeutique vise à renforcer la réponse immunitaire anti-tumorale chez les sujets cancéreux de façon active ou passive :

-Injection de produits toxiques d'origine bactérienne (BCG, muramyl dipeptide)

Ex: instillation locale de BCG dans les cancers de la vessie.

-Administration de certaines cytokines (IFN $\alpha$ , IL-2 à forte dose, IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$ ...)

-Immunsation active spécifique des antigènes tumoraux (ou vaccin anti tumoral) en utilisant :

- des extraits tumoraux ou de cellules tumorales irradiées pour activer le système immunitaire, ou
- des peptides spécifiques : Ex : Ag MAGE-1 chez des patients HLA-A1 porteur d'un mélanome.

-Vaccins thérapeutiques à base de cellules dendritiques activées en présence d'un Ag tumoral : utilisés dans les cancers de la prostate métastatiques résistants au traitement hormonal) (le sipuleucel-T).

### III. Thérapeutiques agissant sur les signaux tumoraux spécifiques

Ces thérapeutiques immunomodulatrices anti-tumorales sont les plus utilisées ces dernières années (certaines sont en cours de validation). Elles peuvent être sous forme d'anticorps (Ac) monoclonaux ou de transfert de cellules.

**1. Les anticorps monoclonaux** (voir cours immunothérapie-immunomodulation : application au traitement des maladies auto-immunes et inflammatoires) :

Les Ac monoclonaux ont une spécificité de reconnaissance de l'antigène (Ag) extrêmement élevée. En pratique oncologique, plusieurs types d'Ac monoclonaux peuvent être utilisés afin de bloquer des protéines spécifiques à la surface des cellules cancéreuses ou des cellules du microenvironnement tumoral:

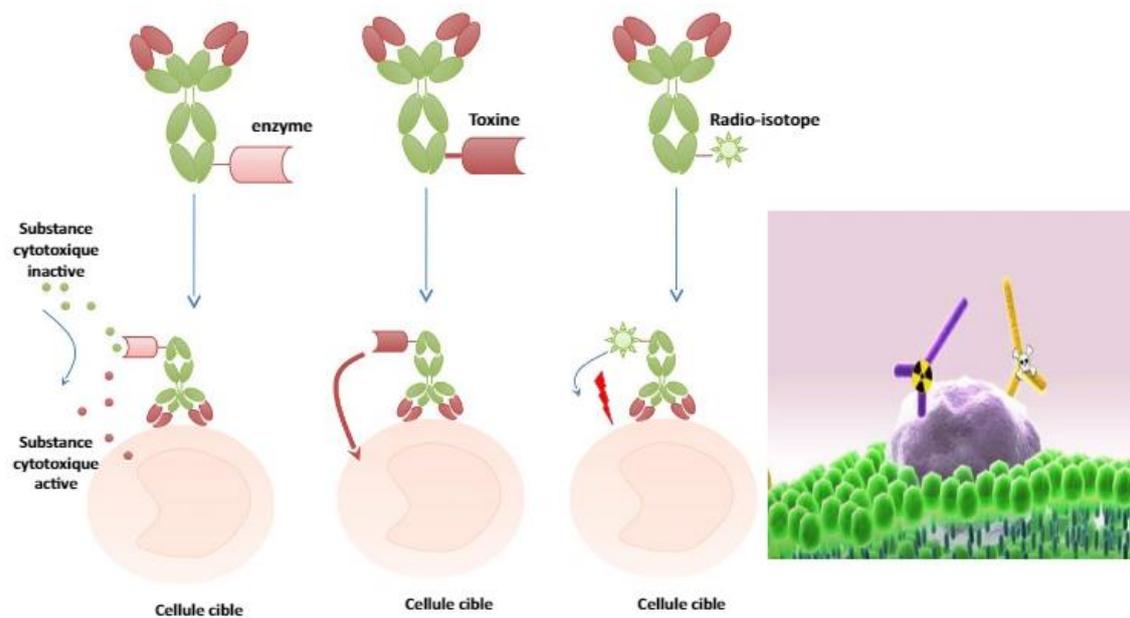
-Pour freiner les interactions cellulaires et limiter ainsi la croissance tumorale, sous réserve que le patient présente bien la protéine ciblée au sein de sa tumeur.

Ex : anti CD-20 dans les lymphomes B ; anti HER2 ("Human Epidermal Growth Factor Receptor-2") dans les cancers du sein...

-Pour détruire les cellules tumorales en particulier par le couplage d'un composé cytotoxique à un Ac monoclonal reconnaissant la tumeur (figure 1).

Cette stratégie permet d'installer un radioélément au cœur de la tumeur. Le rayonnement émis par le radioélément va détruire, non seulement les cellules tumorales portant l'Ag reconnu par l'Ac, mais aussi les cellules adjacentes, ce qui pose parfois des problèmes de toxicité.

-Pour le ciblage simultané d'un antigène tumoral et de la molécule CD3 pour permettre le recrutement et l'activation de lymphocytes T cytotoxiques (Ac bispécifiques), Ex : le Blinatumomab (anti-CD19-CD3) est indiqué chez les patients atteints de leucémie aiguë lymphoblastique de type B (figure 2).

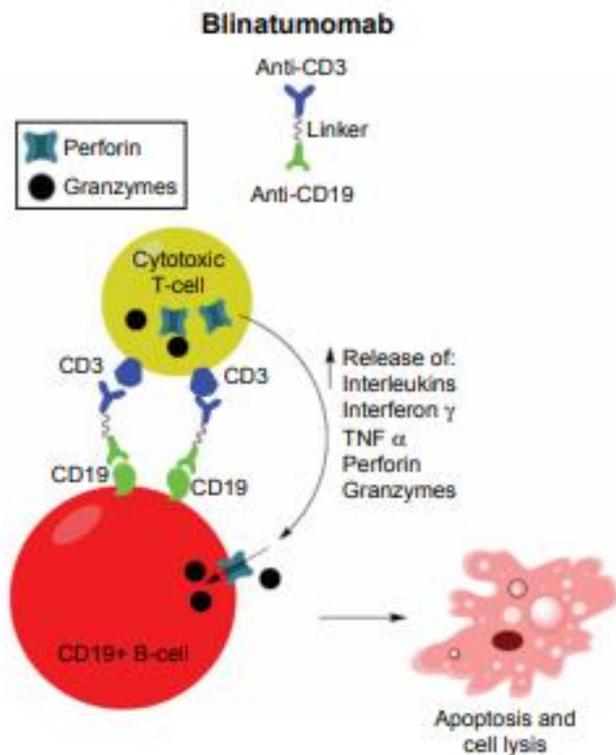


**Fig 1:** Conjugaison des Ac mono-clonaux avec des substances cytotoxiques.

-Pour agir sur des signaux d'inhibition immunitaire : il s'agit d'une nouvelle approche en pleine expansion ; la découverte des molécules de co-inhibition dites "immune check points" (Ex : CTLA4 pour "cytotoxic T lymphocyte associated protein 4" et PD1 pour "Programmed Cell Death 1") ayant ouvert cette nouvelle voie dans l'immunothérapie anti-cancer. En effet et pour être activé, le lymphocyte T a obligatoirement besoin de recevoir deux signaux (fig 3A) :

\*Un signal spécifique d'activation provenant de la reconnaissance par le TCR ("T cell receptor") spécifique du peptide antigénique couplé à la molécule HLA.

\*Un signal non spécifique dit de co-activation délivré par l'interaction de CD28 à la surface du lymphocyte T avec une molécule d'adhésion leucocytaire de la famille B7 (B7.1 = CD80 ou B7.2 = CD86) à la surface de la cellule qui présente l'Ag. Ce deuxième signal de co-activation est crucial pour enclencher la prolifération et la maturation du lymphocyte T activé et permettre le développement d'une réponse immunitaire spécifique efficace.



**Fig 2:** Mécanisme d'action d'un Ac bispécifiques (exemple: Anti-CD19-CD3)

Cet Ac bi-spécifique se lie sélectivement au CD19 exprimé à la surface des lymphocytes B (sains et malins) et au CD3 exprimé à la surface des lymphocytes T. Ceci aboutit à l'activation des lymphocytes T, la libération d'enzymes protéolytiques et la lyse des lymphocytes B ciblés.

Le système immunitaire étant un système finement régulé, lorsque la réponse immunitaire se trouve être inefficace, qu'elle se prolonge un peu trop sans parvenir à éliminer l'Ag "agresseur", les lymphocytes T activés vont faire baisser le niveau d'expression de molécules CD28 à leur surface et les remplacer par des molécules CTLA-4. Ces dernières ayant une bien plus forte affinité pour les molécules de costimulation B7 vont pouvoir fixer/interagir en priorité avec ces molécules exprimées à la surface des cellules présentatrices de l'Ag ; or et contrairement à CD28, cette interaction CTLA4-B7 délivre un signal inhibiteur au lymphocyte T avec arrêt de l'activation, de la prolifération voire même anergie.

De même, PD1 est un récepteur inhibiteur exprimé à la surface des lymphocytes T activés qui trouve son expression augmentée en cas de stimulation répétée avec une réponse immunitaire qui ne parvient pas à éliminer l'Ag, comme c'est le cas dans les cancers et les infections chroniques.

CTLA-4 et PD1 délivrent ainsi des signaux inhibiteurs qui, en freinant et contrôlant la réponse immunitaire, contribuent à la protection contre les maladies auto-immunes et les lésions et dommages tissulaires immuno-induits.

Cependant, CTLA-4 inhibe aussi la réponse anti-tumorale et maintient les lymphocytes T helper et cytotoxiques infiltrant la tumeur ("tumor infiltrating lymphocytes" ou TIL) dans un état "figé". D'autre part, les cellules tumorales expriment à leur surface les ligands de PD1, PD-L1 et PD-L2, dont l'interaction avec PD1 à la surface du lymphocyte T se traduit par l'inhibition de son activité voire sa destruction et mort par apoptose suite à l'activation du programme de mort cellulaire. Ceci explique l'état de léthargie du système immunitaire et son incapacité à éliminer la tumeur.

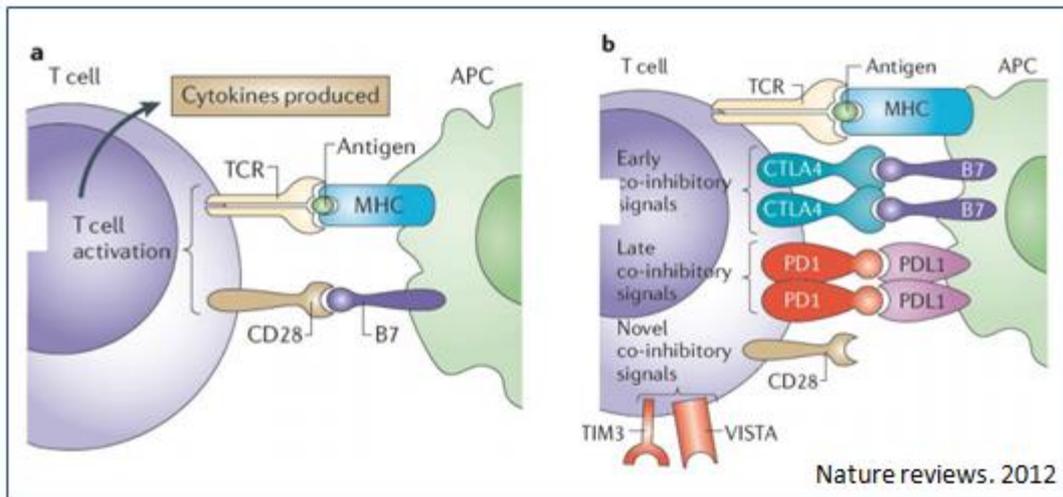
Allison et Honjo ont eu l'idée ingénieuse d'aller bloquer la molécule CTLA4 (Allison) exprimée à la surface des lymphocytes T infiltrant la tumeur ou bien la voie PD1/PD-L1 (Honjo) par des Ac monoclonaux (anti-CTLA4, anti-PD1 ou anti PD-L1-1) afin de lever l'inhibition des lymphocytes T induite par la tumeur. Le succès de leurs essais cliniques chez l'homme a ouvert une nouvelle voie prometteuse dans l'immunothérapie des cancers et fut récompensé par le prix Nobel de médecine en 2018.

## **2. Transfert adoptif de cellules:**

### **2.1. Transfert adoptif de lymphocytes T infiltrant les tumeurs ou TIL**

Le transfert adoptif ou immunothérapie adoptive a été initié par Rosenberg en 2002 et consistait à prélever des lymphocytes T infiltrant les tumeurs ou TIL ("Tumor Infiltrating Lymphocytes"), les stimuler in vitro pour les réinjecter au patient une fois bien revigorés. Ces lymphocytes ayant infiltré la tumeur doivent avoir été activés pour reconnaître d'une façon spécifique les cellules tumorales.

Certaines contraintes limitent l'utilisation des TILs autologues (du patient lui-même) (difficulté d'accessibilité aux tumeurs profondes, épuisement ("exhaustion") des TILs et durée de vie courte après réinjection au patient...).



**Fig 3:** Les interactions entre un lymphocyte T et une cellule présentatrice d'antigène aboutissant à l'activation (a) et à l'inhibition (b) des lymphocytes T

**(a) :** Pour être activé, le lymphocyte T a besoin de deux signaux:

- Le 1<sup>er</sup> signal spécifique d'activation: TCR-peptide antigénique couplé à la molécule HLA à la surface de la cellule qui présente l'antigène.
- Le 2<sup>ème</sup> signal non spécifique de co-activation: CD28 (lymphocyte T) - B7 (CD80/CD86) à la surface de la cellule qui présente l'antigène.

**(b):** Lorsque la réponse immunitaire se prolonge sans parvenir à éliminer l'antigène, les molécules CTLA4 à la surface des lymphocytes T se lient aux molécules de costimulation B7 à la surface des cellules présentatrices d'antigène avec une plus forte affinité que les molécules CD28. De même, l'expression des molécules PD1 à la surface des lymphocytes T augmente, ces molécules lient leurs ligands PD-L1.

Les interactions CTLA4-B7 et PD1-PD-L1 délivrent des signaux inhibiteurs au lymphocyte T avec arrêt de l'activation et de la prolifération.

## 2.2. Transfert adoptif de lymphocytes T reprogrammés

Le transfert adoptif de lymphocytes T reprogrammés est une stratégie qui consiste à modifier génétiquement des lymphocytes du patient afin d'optimiser la réponse thérapeutique contre la tumeur. Ceci combine thérapie génique et thérapie cellulaire.

### a. TCR transgénique

Contrairement aux TILs, le principe des TCR transgéniques consiste à utiliser des lymphocytes T du sang périphérique (donc faciles à prélever), et à intégrer dans ces lymphocytes un gène codant pour un TCR capable de reconnaître d'une façon spécifique un Ag tumoral. Une des limitations de cette méthode est que le TCR choisi

doit être compatible avec l'haplotype HLA du malade pour pouvoir reconnaître l'Ag tumoral présenté avec l'une ou l'autre de ses molécules HLA.

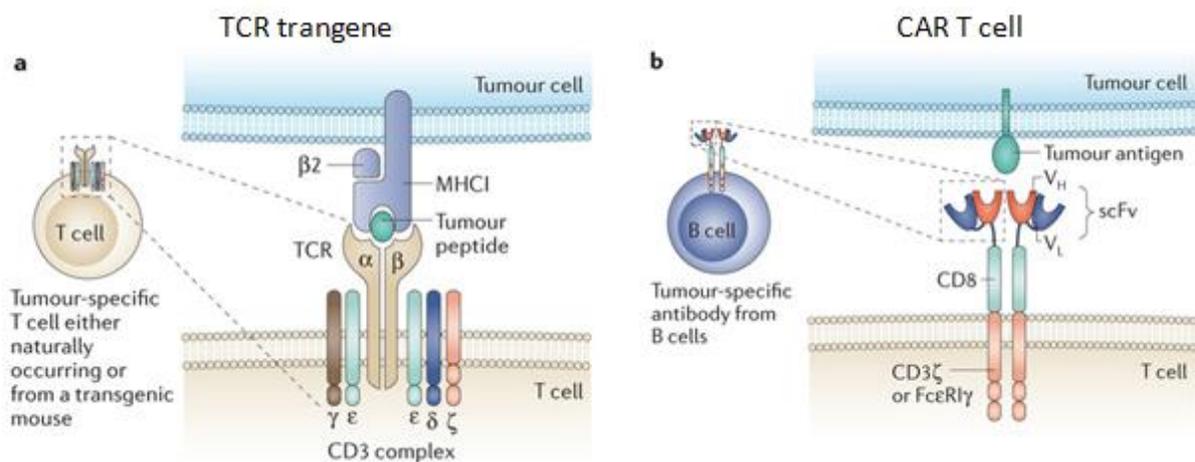
### b. Chimeric Antigen Receptor ou CAR-Tcell

Le principe consiste à transférer des lymphocytes T du sang périphérique modifiés pour exprimer un récepteur antigénique chimérique ("Chimeric Antigen Receptor" ou CAR) qui combine la spécificité d'un Ac dans sa partie extra-cellulaire et les voies de signalisation intracellulaire d'un complexe TCR-CD3 dans sa portion intracellulaire.

Ces cellules ont l'avantage de lier l'Ag tumoral avec une forte affinité (liaison Ag-Ac) et de ne pas être HLA restreintes. La méthode CAR-Tcells peut ainsi être appliquée à de larges populations de patients de groupes tissulaires différents.

Actuellement, les CAR-Tcells anti-CD-19 sont validées pour le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques B et des lymphomes diffus à grandes cellules B réfractaires ou en rechute.

Le principe du CAR est en cours d'essai pour les cellules NK (« CAR-NKcell »).



**Fig 4:** Lymphocytes T modifiés génétiquement :

- (a) TCR transgénique
- (b) cellule CAR-T

# LES DEFICITS IMMUNITAIRES

*Dr Hatem MASMOUDI*

## **I- INTRODUCTION :**

Les déficits immunitaires sont définis par une réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire insuffisante ou nulle. On y associe généralement les déficits de la phagocytose et les déficits du complément.

On distingue classiquement les déficits immunitaires congénitaux ou primaires et les déficits immunitaires acquis ou secondaires. Ces derniers sont actuellement dominés par le syndrome immunodéficitaire acquis ou SIDA dont l'agent causal est le virus HIV, mais comprennent aussi les déficits immunitaires secondaires aux néoplasies (surtout lymphoïdes), aux maladies auto-immunes, à certaines maladies infectieuses (lèpre lépromateuse, rougeole), à la malnutrition et aux déperditions protéiques...

Les déficits immunitaires héréditaires avec manifestations cliniques sont relativement rares et surviennent dans une naissance sur 5 000 environ.

Depuis l'agammaglobulinémie liée au sexe décrite par Bruton en 1952, plus de 150 déficits immunitaires primitifs (DIP) ou congénitaux ont été identifiés. L'étude des DIP et l'analyse de leurs mécanismes moléculaires ont été d'un grand apport dans la connaissance et la compréhension du fonctionnement du système immunitaire.

## **II- MANIFESTATIONS CLINIQUES DES DEFICITS IMMUNITAIRES :**

### **1) Les infections :**

Elles représentent le signe majeur et commun à tous les déficits immunitaires. Elles sont généralisées et graves et/ou chroniques à répétition avec atteinte successive de plusieurs viscères ou organes différents.

Le type d'infection fournit souvent un indice important sur la nature du déficit :

- Des infections ORL, pulmonaires ou digestives répétées et dues à des germes pathogènes encapsulés font penser à un déficit de l'immunité humorale.
- Des infections opportunistes répétées et graves dues à des virus tels

que cytomégalovirus (CMV) ou à un vaccin viral atténué (polio ou variole), à des bactéries intracellulaires telles que des mycobactéries atypiques ou le BCG, des champignons tels que *candida albicans*, ou d'autres parasites tels que *pneumocystis carinii*, font évoquer un déficit de l'immunité à médiation cellulaire.

- Des infections répétées dues à des pyogènes ou à des bactéries inhabituelles normalement peu virulentes font suspecter un déficit de la phagocytose.

## **2) Autres signes fréquemment rencontrés dans les déficits immunitaires :**

- Eruption cutanée
- Diarrhée chronique
- Hépto-splénomégalie
- Retard de croissance

## **3) Manifestations cliniques spécifiques de certains déficits immunitaires :**

- Ataxie
- Télangiectasie
- Thrombopénie
- Eczéma
- Endocrinopathie
- Nanisme à membres courts

## **III- EXPLORATION DES DEFICITS IMMUNITAIRES :**

### **1) Exploration de l'immunité humorale :**

*a) Dosage pondéral des Immunoglobulines G, A, M et E :*

*b) Dosage des anticorps (Ac) naturels de type IgM* tels que les isohémagglutinines anti-A et anti-B ; titre normal :  $> \frac{1}{4}$  (sauf pour les sujets de groupe AB)

*c) Numération des lymphocytes B circulants :*

Par immunofluorescence directe (IFD) ou par cytométrie de flux (FACS), normalement 10 à 25 % du total des lymphocytes qui eux-mêmes représentent 20 à 40 % des leucocytes circulants.

*d) Dosage des Ac anti-toxine tétanique et des Ac anti-PCP* (polysaccharide de la capsule du pneumocoque) : Ce test renseigne sur la réponse Ac spécifique après vaccination ou immunisation.

## 2) Exploration de l'immunité cellulaire :

### *a) Numération des lymphocytes :*

Par la NFS, normale  $> 1200 / \text{mm}^3$  à tout âge (les lymphocytes T représentent 70 à 85 % du total des lymphocytes).

### *b) Epreuves cutanées d'hypersensibilité retardée :*

- Intradermo-réactions (IDR) à la candidine et à la tuberculine, test au DNCB (dinitrochlorobenzène)...

- Apprécie la réponse cellulaire spécifique à un antigène ou à un groupe d'antigènes. Une IDR positive élimine tout déficit de l'immunité à médiation cellulaire.

- Sont sans intérêt chez les nouveaux nés ou les petits nourrissons vu qu'ils ont peu de chance d'avoir été sensibilisés

### *c) Numération des lymphocytes T circulants et des sous-populations*

#### *CD4 et CD8 des lymphocytes T circulants :*

Par IFD ou par FACS, moyenne normale : LT  $\approx 70$  à  $85$  %, CD4  $\approx 60$  à  $65$  %, CD8  $\approx 30$  à  $35$  %

### *d) Stimulation des lymphocytes T in-vitro (test de transformation lymphoblastique ou TTL)*

Par des mitogènes, des Ag ou des cellules allo géniques (culture mixte lymphocytaire), pour évaluer la réponse immunitaire à médiation cellulaire (activation et prolifération des cellules T).

## 3) Exploration de la phagocytose :

### *a) NFS :*

Apprécie le nombre de neutrophiles circulants (normale : 50 à 70 % des globules blancs).

### *b) Etude du chimiotactisme en présence de substances chimiotactiques telles que la FMLP (formyl-méthionyl-leucyl-phenyl-alanine) :*

La migration des polynucléaires (PN) peut être effectuée/évaluée en gel d'agarose avec les polynucléaires dans un puits central et le chimio-attractant et un tampon neutre dans 2 puits opposés ; ou en milieu liquide (chambre de Boyden) avec les PN et le chimio-attractant dans 2 compartiments séparés par un filtre millipore.

*c) Etude fonctionnelle des capacités oxydatives et d'ingestion par le test au NBT (nitrobleu de tetrazolium) :*

Une fois phagocyté par des polynucléaires normaux activés et oxydé par l'anion superoxyde produit par le complexe de la NADPH oxydase, le nitrobleu de tetrazolium, de couleur jaune à l'état basal, est transformé en un précipité de couleur noir (noir de Formazan), cette réaction est observable en microscopie optique.

*d) Test de l'explosion oxydative des polynucléaires neutrophiles par cytométrie en flux ou test à la DHR (dihydrorhodamine) :*

Une fois phagocytée par des polynucléaires normaux activés, la dihydrorhodamine est oxydée par l'eau oxygénée produite par le complexe de la NADPH oxydase en rhodamine 123, un composé fluorescent vert, qui peut être détecté en cytométrie en flux.

**4) Exploration du complément :**

*a) Dosage du CH50 :*

Renseigne sur l'activité fonctionnelle globale de la voie classique.

*b) Dosage hémolytique des fractions du complément :*

Permet de préciser le facteur déficitaire. Le dosage du CH50 est pratiqué dans plusieurs tubes. Dans chaque tube, on met, en plus du sérum du malade à tester et des GRM (globules rouges de mouton) sensibilisés par les Ac de lapin anti-GRM, tous les facteurs du complément (de C1q jusqu'à C9) sauf un (différent à chaque fois). Le taux de CH50 sera ainsi restauré dans tous les tubes sauf un. Le facteur manquant dans ce tube correspond au facteur déficitaire chez le malade testé.

**IV- LES DEFICITS IMMUNITAIRES PRIMITIFS OU CONGENITAUX :**

Les déficits immunitaires primitifs (DIP) ou congénitaux maintenant plus communément regroupés sous le terme d'**erreurs innées de l'immunité** sont des maladies généralement héréditaires résultant d'une ou plusieurs anomalies du système immunitaire et se traduisant par une susceptibilité accrue aux infections.

En plus des déficits prédominant sur l'immunité humorale, des déficits combinés touchant à la fois l'immunité à médiation cellulaire et l'immunité humorale, des déficits de la phagocytose et ceux du complément, on y regroupe maintenant les déficits de l'immunité intrinsèque et innée et les désordres de l'immuno-régulation.

The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies :

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742599/>

**TABEAU 19.1** Quelques maladies humaines dues à une immunodéficience primaire et défauts génétiques qui en sont à l'origine

Maladie par immunodéficience	Défaut spécifique	Fonction déficitaire	Mode de transmission héréditaire	Chromosome portant le défaut	
Immunodéficience combinée grave (SCID)	Déficit en RAG-1/RAG-2	Pas de réarrangement des gènes du TCR ni des Ig	AR	11p13	
	Déficit en ADA } Déficit en PNP }	Métabolite toxique dans les cellules T et les cellules B	{ AR AR	20q13 14q13	
	Déficit en JAK-3 } Déficit en IL-2R $\gamma$ }	Signaux défectueux venants de l'IL-2, -4, -7, -9 ou 15	{ AR XL	19p13 Xq13	
	Déficit en ZAP-70	Signal venant du TCR défectueux	AR	2q12	
Syndrome des lymphocytes nus	Défaut dans le promoteur des gènes des molécules de classe II du CMH	Absence des molécules de classe II du CMH	AR	16p13	
Syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)	Protéine du cytosquelette (CD43)	Cellules T et plaquettes défectueuses	XL	Xp11	
Récepteur de l'interféron gamma	Défaut du récepteur de l'INF- $\gamma$	Immunité contre les mycobactéries diminuée	AR	6q23	
Syndrome de DiGeorge	Aplasie thymique	Développement des cellules T et des cellules B	AD	22q11	
Ataxie télangiectasie	Kinase du cycle cellulaire défectueuse	IgA, IgE faibles	AR	11q22	
Gammaglobulinémies	Agammaglobulinémie liée à l'X	Tyrosine kinase de Bruton (Btk) ; pas de cellules B matures	XL	Xq21	
	Hyperglobulinémie de type M liée à l'X	Ligand du CD40 défectueux	XL	Xq26	
	Immunodéficience variable commune	IgG, IgA faibles ; IgM variable		Complexe	
	Déficit sélectif en IgA	IgA faible ou absente		Complexe	
Granulomatose chronique	Cyt p91 <sup>phox</sup> Cyt p67 <sup>phox</sup> Cyt p22 <sup>phox</sup>	Pas de poussée respiratoire pour tuer les bactéries	{ XL AR AR	Xp21 1q25 16q24	
	Syndrome de Chediak-Higashi	Protéine de transport intracellulaire (LYST) défectueuse	Incapacité à lyser les bactéries	AR	1q42
	Syndrome du déficit en adhésion leucocytaire	Intégrine $\beta$ 2 (CD18) défectueuse	Extravasation des leucocytes	AR	21q22

\*AR = Autosomique récessif ; AD = autosomique dominant ; XL = lié à l'X ; « complexe » indique des conditions pour lesquelles des données génétiques précises ne sont pas disponibles et qui pourraient impliquer plusieurs locus

# LES DEFICITS IMMUNITAIRES CONGENITAUX

*Dr Sana KHLIF*

*Dr Hatem MASMOUDI*

## I- DEFICITS DE L'IMMUNITE HUMORALE :

Caractérisés par une atteinte des cellules de la lignée B et une immunité cellulaire normale.

### 1) Agammaglobulinémie infantile liée au sexe ou maladie de Bruton (ALX ou "XLA") :

- C'est le premier déficit immunitaire à être identifié (Bruton en 1952), c'est aussi la principale immunodéficience affectant le développement des lymphocytes B.

- Diminution très importante voire absence complète de lymphocytes B et de plasmocytes dans le sang circulant ( $B < 0,1 \%$  des PBL : "*Peripheral Blood lymphocytes*" ; taux normal : 5 à 15%), les ganglions et autres organes lymphoïdes. La différenciation des cellules de la lignée B est bloquée au stade pré-B.

- Absence totale ou taux très faible des cinq classes d'Ig (Ig totales  $< 2,5 \text{ g/l}$  avec  $\text{IgG} < 2 \text{ g/l}$ ).

- Début des infections vers l'âge de 6 mois, coïncide avec la baisse spontanée des IgG passivement transmises par la mère.

- Pour poser le diagnostic, il est nécessaire, après le dosage pondéral des Ig (attention, les IgG maternelles peuvent fausser les résultats : persistent jusqu'à 6 mois) de prouver l'absence de réponse Ac après immunisation active.

- Transmission récessive liée au sexe : le gène responsable de la maladie a été localisé sur le bras long du chromosome X (Xq22). Il code pour une tyrosine kinase cytoplasmique (Btk ou Bruton tyrosine Kinase), une kinase essentielle à la signalisation par le pré-BCR et dont le déficit entraîne le blocage de la différenciation des cellules de la lignée B au stade pré-B (chaîne lourde intra-cytoplasmique mais pas de réarrangement des gènes des chaînes légères).

- Les individus atteints n'ont pas de lymphocytes B et donc pas d'Immunoglobulines. Ils souffrent d'infections microbiennes respiratoires et digestives

récurrentes. Le traitement consiste en une sérothérapie régulière par injection de gammaglobulines totales humaines.

## **2) Agammaglobulinémie autosomale récessive :**

- Diagnostic différentiel difficile avec la maladie de Bruton (XLA) surtout si le premier malade dans la famille est un garçon. Le diagnostic n'est remis en cause que si un 2<sup>ème</sup> malade dans la famille se trouve être une fille ou à la faveur de l'étude génétique (gène Btk normal).

- Début des infections plus précoce et complications plus graves que XLA.

- Blocage complet de la différenciation au stade pro-B, une dizaine de mutations ont été rapportées touchant les gènes  $\mu$  (chaîne lourde),  $\lambda 5$  (chaîne légère de substitution du récepteur pré-B) et  $Ig\alpha$  (transmission du signal).

## **3) Hypo-gammaglobulinémie commune à expression variable ou déficit immunitaire commun variable (DICV ou "CVID") :**

- Le déficit immunitaire commun variable ("Commun Variable Immune Deficiency" ou CVID) est défini par une hypogammaglobulinémie primitive avec des  $IgG < 5g/l.$ , un déficit complet en  $IgA$  est associé dans la moitié des cas, et un déficit profond en  $IgM$  dans 20% des cas. Ces patients ont généralement un nombre normal de lymphocytes B, mais un défaut de cellules B mémoires.

- Le DICV représente 6.9% des DIP en Tunisie, il constitue probablement un groupe hétérogène de maladies touchant les 2 sexes avec divers modes de transmission et ayant en commun l'association d'une hypo-gammaglobulinémie avec la présence de lymphocytes B en quantité normale dans le sang.

- Les lymphocytes B activés sont incapables d'achever leur maturation en plasmocytes et en cellules B mémoire : défaut d'expression de molécules impliquées dans la coopération T-B d'où un déficit de la différenciation terminale des lymphocytes B (maturation d'affinité des Ac et commutation isotypique), déficit intrinsèque des LB associé ou non à des anomalies des fonctions lymphocytaires T. Plusieurs mutations ont été rapportées : gènes CD19, ICOS, TNF-R, CD81...

- C'est le déficit immunitaire le plus fréquent après le déficit en  $IgA$  et le plus fréquent parmi les DIP symptomatiques.

- Début des troubles, en général entre 15 et 35 ans, mais peut être plus précoce

vers 2 à 4 ans, tableau clinique divers, très hétérogène d'un malade à l'autre : sinusites, broncho-pneumopathies, bronchiectasies, diarrhée, malabsorption, splénomégalie, hyperplasie nodulaire lymphoïde du tube digestif, arthrites, méningo-encéphalites...

- Association fréquente de maladies auto-immunes, parfois de lymphomes, souvent associée à l'haplotype HLA A1, B8, DR3...

- Des cas familiaux ont été décrits mais la plupart des cas sont sporadiques.

- Certaines formes semblent secondaires à une infection virale (rubéole, hépatite B, mononucléose infectieuse ...).

#### **4) Dysgammaglobulinémie de type 1 ou syndrome d'hyper IgM (HIM)**

##### **avec déficit en IgG et IgA :**

- Taux élevé des IgM (1,5 à 10 g/l) avec absence (ou baisse très importante) d'IgG et d'IgA. Certains malades peuvent avoir un taux d'IgM normal ou très peu augmenté, c'est l'absence ou l'effondrement des IgG et des IgA qui permet de faire le diagnostic.

- otites moyennes, pneumonies, méningites, diarrhée chronique...

- souvent associée une neutropénie centrale avec infections bactériennes à pyogènes et/ou germes opportunistes.

- Pronostic moins grave que la maladie de Bruton.

- Le syndrome d'hyper-IgM est dû à une anomalie de la commutation isotypique ("*switch*") IgM vers IgG et IgA en rapport, dans le cas de la forme liée au sexe ("*X-linked HIM*"), avec une mutation du gène (porté par le chromosome Xq26) de la gp39 ou CD40-L (CD40-ligand=CD154) normalement exprimée sur les lymphocytes T helper activés.

Dans près de 30 % des cas, le syndrome d'hyper-IgM est de transmission autosomique récessive et en rapport avec :

- \* une mutation du gène du CD40 normalement exprimé sur les lymphocytes B, certains macrophages et cellules dendritiques, ou

- \* une mutation du gène d'une enzyme impliquée dans la transmission du signal amené par le CD40 : AID ou "*activation induced cytidine desaminase*"...

#### **5) Déficit en IgA :**

- Le plus fréquent des déficits immunitaires (1/400 à 1/800).

- Déficit sélectif des IgA (taux sérique < 0,05 g/l), les autres classes d'Ig étant normales ou légèrement augmentées.

- Les lymphocytes B à IgA sont présents à un taux normal mais il n'y a pas de plasmocytes à IgA dans le sang ni les organes lymphoïdes.

- Le déficit isolé en IgA est souvent asymptomatique (rôle des IgM sécrétoires) ; parfois il se traduit par des infections respiratoires, diarrhée chronique surtout si associé à un déficit en sous-classes d'IgG.

- Association fréquente à l'haplo type HLA A1-B8-DR3.

- Prédisposition et/ou association fréquente avec un certain nombre d'affections : allergies, maladie cœliaque, maladie de Crohn, connectivites etc.

- Le plus souvent, l'absence des IgA dans le sérum est retrouvée dans les sécrétions malgré la présence d'une pièce sécrétoire normale.

- Représente une contre-indication au traitement substitutif par Ig IV : les malades produisent des Ac anti-IgA avec risque de réaction anaphylactique.

#### **6) Déficits isolés en sous-classe d'IgG :**

- On a décrit des déficits pouvant toucher chacune des 4 sous classes d'IgG avec parfois association de 2 sous-classes (surtout IgG2, ± IgG4...).

- Peuvent passer inaperçus jusqu'à l'adolescence ou à l'inverse être transitoires pendant l'enfance pour se corriger à l'adolescence.

- Le déficit en IgA, le déficit en sous-classes d'IgG et la CVID peuvent survenir successivement chez un même patient ou affecter séparément plusieurs membres différents d'une même famille.

#### **7) Hyper IgE ou Syndrome de Buckley ou Job syndrome :**

- Caractérisé par des taux sériques des IgE extrêmement élevés.

- Débute à la petite enfance avec des infections bactériennes récidivantes (peau, poumons, articulations, viscères...), des douleurs violentes et récidivantes avec une altération importante de l'état général (souvent cachectique...).

- Les patients présentent souvent des traits grossiers du visage, une pousse retardée des dents de lait, une ostéopénie et des fractures récidivantes. Tous présentent une hyper-éosinophilie tissulaire et sanguine et des taux très élevés d'IgE (> 2000 UI/ml).

- La forme autosomique dominante (70% des cas) est provoquée par des mutations du gène *STAT3* ("signal transducer and activator of transcription 3") qui joue un rôle clé dans la transduction du signal d'une vaste gamme de cytokines, tandis que la forme autosomique récessive semble causée par des mutations homozygotes des gènes *TYK2* (tyrosine kinase 2) ou *DOCK8* ("dedicator of cytokinesis 8").

## **II- DEFICITS DE L'IMMUNITE CELLULAIRE :**

Caractérisés par une atteinte des lymphocytes T, ils sont très rares : les déficits de l'immunité cellulaire, surtout quand ils sont assez profonds, s'accompagnent nécessairement d'un déficit de l'immunité humorale traduisant l'importance de la coopération T - B dans la réponse Ac.

### **1) Déficits immunitaires combinés sévères (DICS ou "SCID") :**

- Constituent un ensemble de maladies génétiques rares (touchent 1/50 000 à 1/100 000 naissances) mais extrêmement graves.
- Caractérisés par un déficit immunitaire sévère responsable d'infections incontrôlables dès les premiers 6 mois de la vie avec diarrhée chronique et retard de croissance.
  - Infections opportunistes : *pneumocystis carinii*, *candida albicans*, *aspergillus*, *Listeria*, BCG, EBV, CMV...
  - Peu ou pas de ganglions palpables malgré les infections.
  - Lymphopénie profonde souvent < 1000/ $\mu$ l (voire 500/ $\mu$ l) : critère diagnostique important surtout que les lymphocytes sont normalement 2 fois plus nombreux chez le nouveau-né par rapport à l'adulte.
    - Pas de prolifération des cellules T en réponse à l'activation par des mitogènes.
    - Les enfants atteints sont protégés dans des atmosphères stériles en attente d'une greffe de moelle osseuse.
    - Tous les vaccins vivants sont contre indiqués.
    - En dehors d'un traitement à temps par greffe de moelle histocompatible, les nourrissons atteints de DICS succombent généralement dès la première année de leur vie à leurs infections, ou à une réaction de GVH après transfusion de sang non irradié, ou encore à une poliomyélite ou une vaccine généralisée après vaccin viral atténué.

- La majorité de SCID sont autosomiques récessifs, un seul est récessif lié au sexe : « X linked SCID » ou «  $\gamma$  chain deficiency ».

a) *DICS T<sup>-</sup>, B<sup>-</sup>, NK<sup>-</sup>* :

\* Dysgénésie réticulaire ou aleuocytose congénitale :

- Très rare (2% des SCID) mais rapidement mortelle.  
- Blocage au niveau de la différenciation touchant la lymphopoïèse mais aussi la myélopoïèse. La dysgénésie réticulaire est caractérisée par une neutropénie et une lymphopénie profondes avec un taux d'hémoglobine normal et souvent une surdité de perception.

- Des mutations du gène de l'adénylate kinase 2 (AK2, 1p34) provoquant une augmentation de l'apoptose des précurseurs myéloïdes et lymphoïdes ont été décrites, mais des patients sans cette mutation ont été observés, laissant penser à d'autres causes possibles.

- Mode de transmission : autosomal récessif.

\* Déficit en ADA :

- L'adénosine désaminase (ADA) est une enzyme ubiquitaire qui intervient dans le métabolisme des purines. Elle catalyse la conversion de la désoxy-adénosine en désoxy-inosine.

- 85% des malades avec déficit en ADA se présentent dans un tableau de SCID T<sup>-</sup>B<sup>-</sup> avec infections graves et répétées très précoces. La moitié des malades présentent des anomalies du squelette, pseudo-chondrodysplasie.

- Le déficit en ADA entraîne une accumulation de désoxyadénosine triphosphate ou d.ATP (d.adénosine  $\longrightarrow$  d.AMP  $\longrightarrow$  d.ATP) qui inhibe la ribonucléotide réductase, ce qui bloque la réplication de l'ADN et donc la division cellulaire.

- Dans les lignées cellulaires autres que les lymphocytes, la transformation d.adénosine  $\xrightleftharpoons{\hspace{1cm}}$  dAMP est réversible, il n'y a donc pas d'accumulation de dATP.

- De plus, les lymphocytes sont des cellules à "turn-over" très rapide (durée de vie 1 à 3 semaines,  $10^9$  lymphocytes renouvelés quotidiennement) ce qui explique qu'elles soient les plus vulnérables face à un défaut des mécanismes de réplication de l'ADN.

- Le déficit en ADA représente 20 % des SCID. Il est de transmission autosomale récessive, le gène étant codé sur le chromosome 20 (20q13). Le diagnostic est fait avec le dosage de l'activité enzymatique de l'ADA.

- Le déficit en ADA constitue un modèle idéal pour la thérapie génique.

D'une part, la pression de sélection élimine les lymphocytes non transduits avec le gène de l'ADA qui sont non viables ; d'autre part, la surexpression de l'ADA est bien tolérée.

**b) DICS  $T^-$ ,  $B^-$ ,  $NK^+$  :**

- Représentent 20 % des DICS.

- Transmission autosomale récessive.

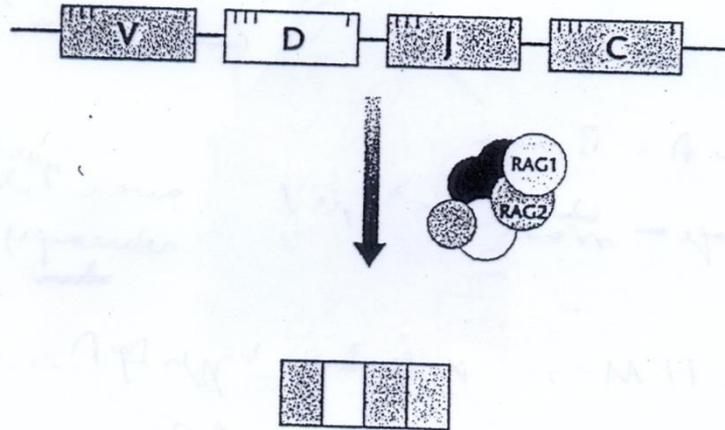
- Caractérisés par l'absence de lymphocytes T et B est un taux normal (voire légèrement augmenté) de cellules NK.

- Incapacité des précurseurs lymphoïde à effectuer les réarrangements V-J et V-D-J nécessaires pour avoir des gènes VH et VL fonctionnels permettant l'expression des récepteurs pour l'antigène des lymphocytes T et B (TCR et Ig membranaires). Sans récepteur, les lymphocytes meurent par apoptose dans le thymus (T) et la moelle osseuse (B).

- On distingue 2 types de DICS  $T^-$ ,  $B^-$ ,  $NK^+$  :

\* les déficits en RAG1 et en RAG2 : les produits des gènes RAG ("recombinase activating gene") sont, comme leur nom l'indique, indispensables au phénomène de recombinaison. Ces gènes ne sont d'ailleurs exprimés qu'au niveau des lignées B et T aux stades précoces de leur différenciation.

\* L'alymplocytose autosomale récessive ou agammaglobulinémie de type suisse : décrite dans les années 50 dans une famille suisse par Hitzig et Willi comme une agammaglobulinémie différente de celle de Bruton. La protéine défectueuse (différente des protéines RAG) interviendrait dans la réparation de l'ADN.



**Figure 2** The protein products of recombination activating gene (RAG) 1 and RAG2 are involved in the production of antibody and T-cell receptor genes in V(D)J recombination. RAGs are involved in the initiation of recombination by cutting the double-stranded deoxyribonucleic acid (DNA).

**c) DICS  $T^-$ ,  $B^+$ ,  $NK^-$ :**

- Représentent près de la moitié des DICS (40 à 60 %).
- Caractérisés par l'absence de lymphocytes T ( $CD3^+$ ) et de cellules NK ( $CD16^+$  et/ou  $CD56^+$ ) et l'existence de lymphocytes B ( $CD19^+$ ,  $CD20^+$ ) en nombre normal voire légèrement augmenté. Les lymphocytes B circulants sont souvent immatures et défectueux.

- Sont en rapport avec un défaut de la transmission intracellulaire du signal amené par la fixation de l'IL2 (et de nombreuses autres cytokines) à son récepteur.

- On distingue 2 types de DICS  $T^-$ ,  $B^+$ ,  $NK^-$ :

- \* Le DICS lié à l'X ou "X linked SCID" : encore appelé " $\gamma$  chain deficiency", ce déficit est dû à une mutation du gène (situé en Xq12.13) de la chaîne  $\gamma$  du récepteur à l'IL2 partagée avec les récepteurs de l'IL4, l'IL7, l'IL9, l'IL15, et l'IL21 et qui pour tous ces récepteurs assure la transmission intracellulaire du signal amené par la fixation de la cytokine.

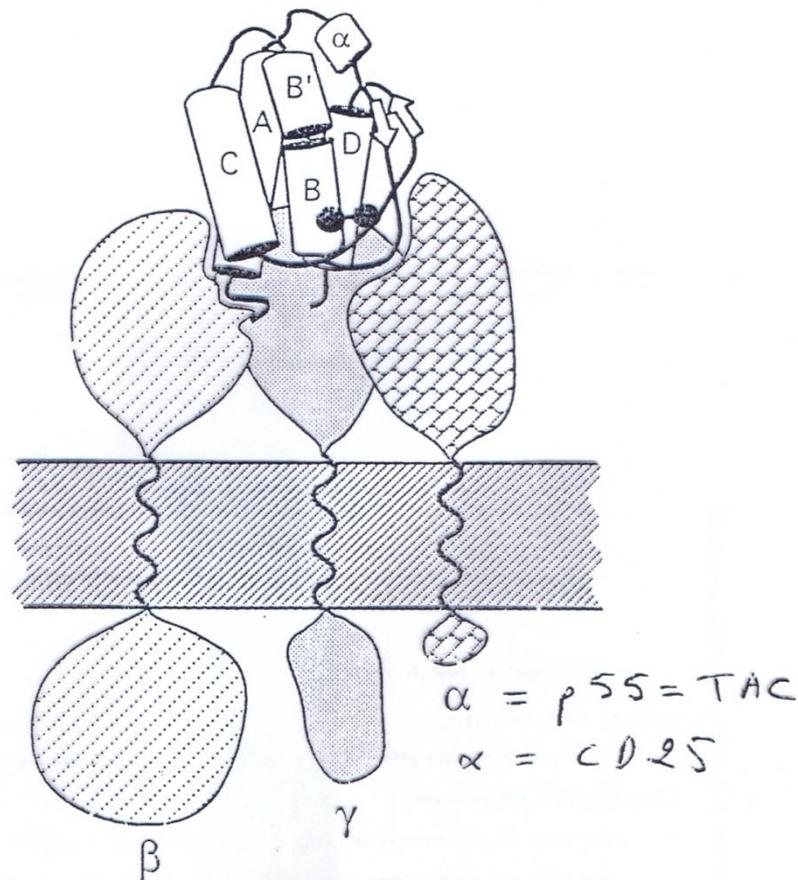
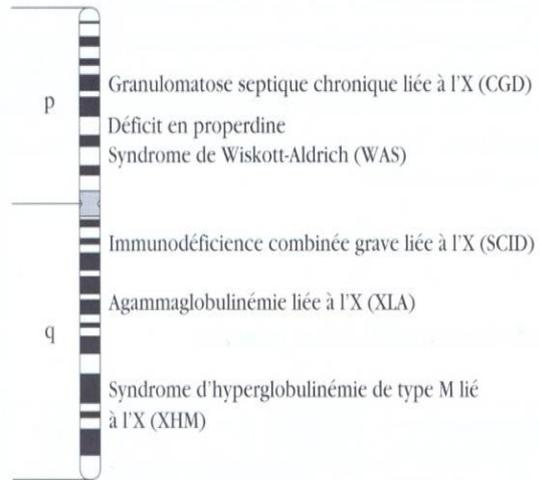
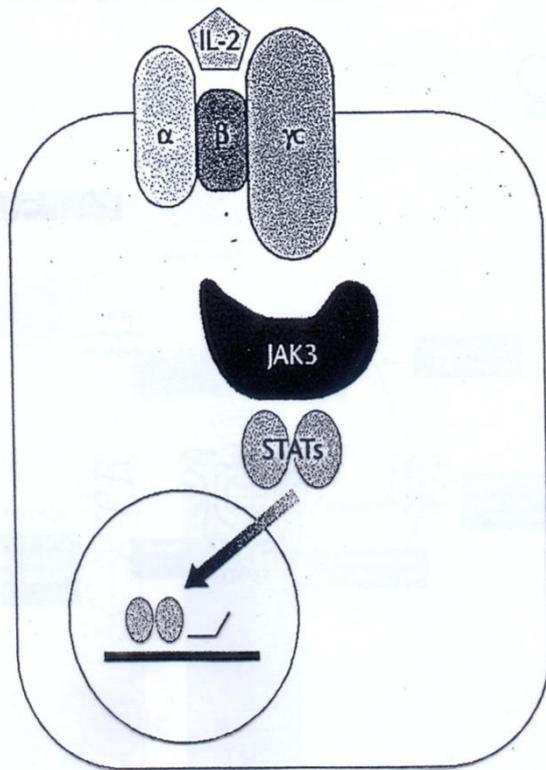


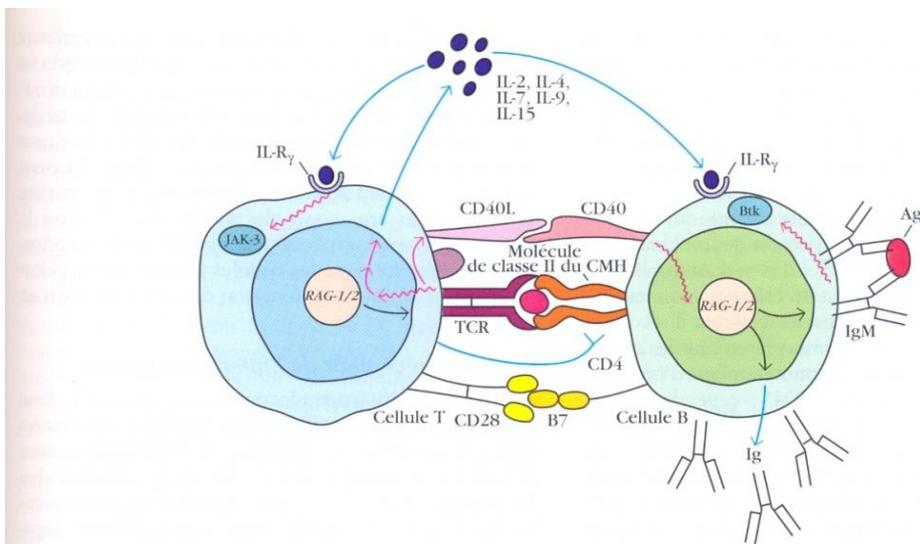
FIG. 19.2. Représentation schématique de l'IL-2R lié à son ligand. L'aire de chacun des domaines des chaînes est proportionnelle au nombre d'acides aminés le constituant.

\* Le déficit en Janus kinase 3 ou "JAK 3 deficiency" :

JAK 3 est une tyrosine kinase intracellulaire qui interagit avec la portion intracytoplasmique de la chaîne  $\gamma$  commune aux récepteurs de l'IL2, IL4 .... pour la transmission du signal jusqu'au noyau par les STAT (signaux transducteurs et activateurs de transcription).



**FIGURE 19.2** Plusieurs maladies par immunodéficience liées à l'X résultent de défauts situés dans des locus du chromosome X. [D'après JW Belmont, 1995, *Trends Genet.* 11:112.]



**FIGURE 19.3** Des défauts dans l'interaction cellulaire ou dans la signalisation peuvent conduire à une immunodéficience grave. L'interaction entre une cellule T et une cellule B est représentée ici avec de nombreux composants importants des voies de signalisation intracellulaire ou extracellulaire. De nombreuses immunodéficiences primaires trouvent leur origine dans des défauts de ces interactions. La SCID pourrait résulter de défauts dans (1) les gènes activateurs de la recombinaison (*RAG-1* et *-2*) nécessaires à la synthèse des immunoglobulines fonctionnelles et des récepteurs des cellules T qui caractérisent les cellules B et les cellules T matures, (2) la chaîne  $\gamma$  des récepteurs des IL-2, -4, -7, -9 ou -15 (*IL-R $\gamma$* ), (3) *JAK-3* qui assume la transduction des signaux de la chaîne  $\gamma$  du récepteur des cytokines, ou (4) l'expression d'une molécule de classe II du CMH (syndrome des lymphocytes nus). L'XLA résulte de la transduction défectueuse des signaux d'activation venant de l'IgM de la surface cellulaire par la tyrosine kinase de Bruton (*Btk*). L'XHM résulte de défauts dans le *CD40L* qui empêchent la maturation normale des cellules B. [Adapté de BA Smart et HD Ochs, 1997, *Curr. Opin. Pediatr.* 9:570.]

## 2) Déficits immunitaires combinés :

Il s'agit de déficits de l'immunité à médiation cellulaire associés à un déficit de l'immunité humorale ou assez importants pour l'induire, mais pas suffisamment graves pour s'exprimer sous forme de SCID. Les lymphocytes T sont en nombre normal ou diminué, mais avec des fonctions T anormales, les lymphocytes B sont en nombre normal ou diminué en fonction des déficits. Ces déficits se révèlent plus tardivement dans la vie par rapport aux DICS.

### a) *Syndrome des lymphocytes dénudés ou Bare lymphocyte syndrome type 2* :

- Il s'agit d'un déficit immunitaire par défaut d'expression des molécules HLA classe II et qui se traduit par un tableau clinique proche de celui des DICS mais avec une numération normale des lymphocytes.

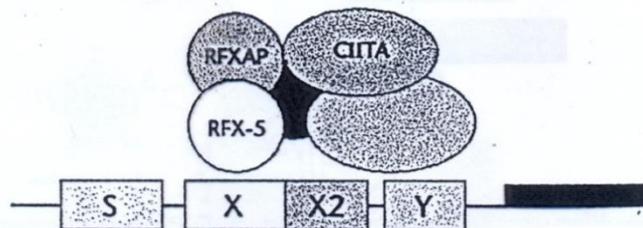
- De transmission autosomique récessive, il est dû à la mutation de l'un des 3 gènes codant les différents composants du complexe protéique dont la fixation sur les gènes régulateurs S, X, X2 et Y est nécessaire à l'activation de la transcription des gènes HLA classe II (voir schéma) :

\* CII TA : "classe II transcription activator"

\* RFX5 : "Regulatory Factor X5"

\* RFAP : "Regulatory Factor Associated Protein"

- Les gènes HLA classe II de structure sont normaux, la mutation concerne des gènes régulateurs.



**Figure 4** Scheme of major histocompatibility complex (MHC) class II gene expression. The MHC II genes are regulated by elements preceding the gene (red), called S, X, X2 and Y boxes. Binding of a protein complex to the regulatory elements activates gene expression. Regulatory factor (RF) X-5 has a deoxyribonucleic acid (DNA) binding domain; RFX-associated protein (RFXAP) binds to the RFX-5; and class II transcription factor (CIITA) is a transcription activator in the complex. Mutations in these proteins cause severe combined immune deficiency.

Le déficit immunitaire par défaut d'expression des molécules HLA classe I est désigné BLS type 1, il est dû à la mutation d'un des gènes transporteurs de peptides TAP1/2.

***b) Syndrome de Di-Georges ou aplasie thymique congénitale :***

- Est un des rares déficits immunitaires dont les signes apparaissent dès la naissance.

- Association complexe de malformations congénitales impliquant les 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> arcs branchiaux :

\* Hypo-parathyroïdie responsable d'une hypocalcémie rebelle dès les 24 premières heures de la vie.

\* Cardiopathie congénitale pouvant être responsable d'une insuffisance cardiaque aiguë : sténose de l'artère pulmonaire, communication inter-auriculaire, tétralogie de Fallot...

\* Aplasie ou hypoplasie thymique, le thymus se trouve souvent en position ectopique.

\* Faciès anormal caractéristique chez certains malades avec implantation basse des oreilles, hypertélorisme, rétrognatisme, palais fendu...

- Certains malades peuvent, du moins au début, présenter une immunité cellulaire normale, la plupart des malades présentent un déficit T isolé, d'autres malades peuvent présenter un déficit associé de l'immunité humorale pouvant dans de très rares cas aller jusqu'au tableau de déficit immunitaire combiné sévère (surtout en cas d'aplasie thymique totale).

- Evolution et pronostic variables selon l'existence et l'importance des malformations associées et selon l'intensité du déficit immunitaire.

- La greffe de thymus foetal de moins de 14 semaines pour éviter la GVH (réaction du greffon contre l'hôte) peut restaurer rapidement et définitivement l'immunité à médiation cellulaire.

- L'observation de cas familiaux suggère qu'il s'agit d'une maladie héréditaire de transmission autosomique récessive. L'étude génétique de ces cas a révélé une délétion partielle sur le bras long du chromosome 22 (22q11) qui devrait donc contenir un ou des gènes intervenant au cours de l'embryogenèse dans la migration des 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> arcs branchiaux.

***c) Ataxie télangiectasie :***

- Associe une ataxie cérébelleuse, des télangiectasies (ruptures capillaires)

cutanées et muqueuses, et un déficit immunitaire mixte T et B responsable d'infections O.R.L et pulmonaires à répétition. 40 % des malades ont un déficit en IgA.

- Début des troubles entre 1 et 10 ans.

- Maladie neuro-dégénérative progressive de l'enfant, touche 1/40 000 à 1/100 000 naissances.

- En rapport avec un défaut généralisé de la différenciation cellulaire et de la régulation du cycle cellulaire. Le thymus est franchement hypoplasique et d'aspect embryonnaire.

- Caractérisée par un taux élevé d'alpha-fœtoprotéine (AFP) et une fréquence accrue de cassures chromosomiques avec risque très élevé de cancer.

- Anomalies cytogénétiques sur les chromosomes 7 et 14 au niveau des loci des gènes du TCR et des chaînes lourdes des Ig.

- Pronostic grave : issue en général fatale dans l'adolescence marquée par un retard mental, une déchéance physique et des infections sévères.

- Transmission autosomique récessive. Les études familiales ont permis de localiser le gène responsable sur le chromosome 11. Il code pour une protéine kinase désignée ATM ("ataxia telangiectasia mutant") qui intervient dans la réparation de l'ADN et stimule la production du facteur suppresseur de tumeur p53.

**d) Syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS):**

- Il associe :

- \* Une thrombopénie microcytaire néonatale de type périphérique pouvant être responsable de manifestations hémorragiques graves surtout durant les épisodes infectieux, la tendance hémorragique diminue avec l'âge. Les mécanismes de survenue de cette thrombopénie microcytaire sont expliqués par le manque de stabilité de la membrane plaquettaire.

- \* Un déficit immunitaire mixte responsable d'infections à répétition dès l'âge de 6 mois à 1 an ; la sensibilité aux infections a tendance à s'aggraver en même temps que s'aggrave le déficit de l'immunité cellulaire.

- \* Un eczéma chronique qui apparaît vers l'âge de 1 an.

- La transmission est récessive liée à l'X, le gène responsable (WAS), situé en Xp11.22, code pour la protéine WASP ("Wiskott Aldrich Syndrome Protein") qui

intervient dans la polymérisation des filaments d'actine.

- Pronostic à long terme amélioré par un traitement actif avec toutefois un risque accru de leucémies myéloïdes et de lymphomes. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques a transformé le pronostic de cette maladie en corrigeant la thrombopénie et le dysfonctionnement immunitaire.

### **III- DEFICITS DE LA PHAGOCYTOSE :**

- Il peut s'agir d'un déficit quantitatif (neutropénies et agranulocytoses congénitales) ou d'un déficit qualitatif des polynucléaires. Ce dernier peut toucher le chimiotactisme, l'adhésion (aux cellules endothéliales ou aux micro-organismes), l'ingestion (internalisation) ou la digestion (lyse, bactéricidie).

- Se manifestent par des infections bactériennes O.R.L, pulmonaires et cutanées. Ces dernières sont inflammatoires, peu purulentes et souvent compliquées d'adénites satellites. On retrouve souvent une splénomégalie et une hyper-gammaglobulinémie.

- Le diagnostic est fait avec l'hémogramme et le myélogramme.

#### **1) Granulomatose septique chronique ("CGD") :**

- La granulomatose septique chronique est un DIP des phagocytes, et plus particulièrement des polynucléaires neutrophiles. Il s'agit d'un déficit de la bactéricidie dû à un défaut de production des formes réactives de l'oxygène par le complexe de la NADPH oxydase phagocytaire.

- La CGD représente 12.1% des DIP en Tunisie.

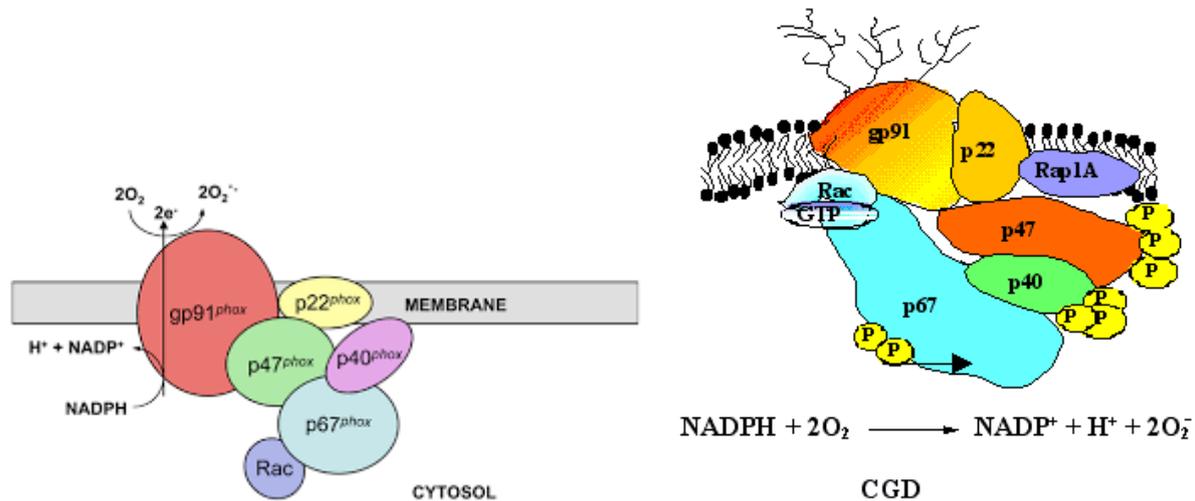
- Se manifeste vers l'âge de 2 ans avec des infections suppurées répétées associées à une hépto-splénomégalie et des adénopathies volumineuses témoins, comme l'hyper-gammaglobulinémie, de la stimulation du système lymphoïde par les infections répétées.

- L'hémogramme révèle constamment une polynucléose neutrophile parfois majeure (20 à 80.000/mm<sup>3</sup>), le diagnostic est fait par les tests au NBT, à la DHR ou au cytochrome C ; les tests de chimiotactisme, d'adhérence et d'ingestion sont normaux. Pour le diagnostic de CGD et vu l'impact important du résultat sur la prise en charge de l'enfant (traitement antibiotique à vie), il faut exiger deux tests NBT (DHR ou cytochrome C) positifs, pratiqués sur deux prélèvements différents.

- On a décrit deux formes de la maladie, une liée au sexe (X-linked CGD,

environ 2/3 des cas) et due à une mutation du gène CYBB, qui code pour la sous-unité catalytique de la NADPH oxydase, la gp91 phox ou NOX2, et l'autre autosomale récessive (environ 1/3 des cas) et due à l'absence de l'une de 3 autres composantes de la NADPH oxydase, la p22, la p47 ou la p67 phox.

Le complexe de la NADPH oxydase joue un rôle central dans le transport des électrons pour la formation des radicaux oxygénés libres toxiques (voir figures).



## 2) Syndrome de Chediak-Higashi :

- Maladie rare, associe un albinisme partiel, et un déficit de la phagocytose et de l'activité NK ("*Natural Killer*") responsable d'infections répétées avec hépato-splénomégalie.
- L'évolution de la maladie est marquée par des épisodes aigus graves dits de "phase accélérée" et caractérisés par une fièvre élevée, une prolifération et une infiltration diffuse dans les tissus d'histiocytes et de lymphocytes activés.
- L'étude de la phagocytose révèle un défaut du chimiotactisme et de la bactéricidie. Le diagnostic est fait au microscope optique sur un simple frottis de sang périphérique : granulations cytoplasmiques géantes caractéristiques de la maladie et résultant de la fusion de plusieurs organites intra-cytoplasmiques au niveau des polynucléaires, des monocytes et des cellules N.K.
- Transmission autosomique récessive, due à un défaut du gène *CHS* ("Chediak Higachi Syndrome"), localisé sur le bras long du chromosome 1 et qui code pour la protéine LYST qui joue un rôle important dans le trafic des granules lysosomiaux.

### **3- Déficit d'adhésion leucocytaire de type 1 ou LAD 1 ("leucocyte adhesion deficiency"1) :**

- Transmission autosomique récessive, chromosome 21.
- Se manifeste très tôt par un retard de la chute de cordon ombilical rapidement suivi par des infections bactériennes sévères non suppurées avec hépato-splénomégalie et hyperleucocytose avec polynucléose.

- Dû à un défaut (absence complète ou chaîne anormale) de la chaîne  $\beta$  de 95kd (CD18) commune aux trois molécules d'adhésion leucocytaire CD11a, CD11b et CD11c. L'absence de CD18 se traduit par un défaut de chimiotactisme et d'adhésion des polynucléaires en particulier aux cellules endothéliales (diapédèse); les polynucléaires de ces malades ne peuvent pas migrer vers les sites inflammatoires.

- Ces 3  $\beta$ 2 intégrines CD11a/CD18 (LFA1), CD11b/CD18 (CR3) et CD11c/CD18 (CR4), et surtout la première LFA1 ("leucocyte fonction associated antigen 1"), jouent un rôle essentiel dans les premières étapes de la diapédèse en se fixant à CD54 ou ICAM1 ("inter-cell adhesion molecule 1") exprimée à la surface des cellules endothéliales. CR3 et CR4 sont en plus des récepteurs pour le fragment C3bi du complément.

### **IV- DEFICITS DU COMPLEMENT :**

- On a décrit des cas de déficits héréditaires pour tous les facteurs du complément.

- Il s'agit le plus souvent de déficits quantitatifs.

- Transmission généralement autosomique co-dominante.

- Les déficits de la voie classique (C1r, C1s et surtout C1q, C4 et C2) s'accompagnent dans 2/3 des cas d'un syndrome lupique.

- Le déficit en C2 est le plus fréquent.

- Le déficit en C3 entraîne un déficit du chimiotactisme : l'anaphylatoxine C3a a une activité chimiotactique, et un déficit de la phagocytose : l'opsonisation des micro-organismes et des complexes Ag-Ac par le C3b facilite leur phagocytose par les polynucléaires et les macrophages grâce à leur récepteur membranaire pour le C3b ou CR1. Le déficit en C3 peut s'accompagner d'un syndrome lupique.

- Le déficit en C5 entraîne un déficit du chimiotactisme : l'anaphylatoxine C5a

a une puissante activité chimiotactique.

- Les déficits en C6, C7 et C8 entraînent un défaut de la bactéricidie.

- Les déficits génétiques du complément se manifestent en général par un taux de CH50 nul ou très abaissé sauf pour le déficit en C4 (le déficit homozygote en C4A est compensé par les produits du gène C4B et vice versa) et en C9 (le complexe C5b-8 a une certaine activité hémolytique). Le dosage hémolytique (fonctionnel) permet de préciser le composant déficitaire.

- Le déficit en C1-Inh, responsable de l'œdème angioneurotique, est transmis selon le mode autosomique dominant.

## **V- Déficits de la régulation du système immunitaire :**

- \* Le syndrome de Griscelli type II : c'est une maladie héréditaire autosomique récessive rare caractérisée par un albinisme partiel avec des cheveux aux reflets gris argentés, une sensibilité accrue aux infections et l'apparition au cours de l'évolution d'un syndrome d'activation macrophagique (SAM). Il en résulte d'une mutation du gène RAB27A qui code pour des effecteurs clés du transport vésiculaire intracellulaire ; en cas de mutation, le transport vésiculaire des mélanosomes est perturbé. La protéine Rab27a régule aussi la sécrétion des granules cytotoxiques, d'où le déclenchement du syndrome hémophagocytaire (SAM).

- \* Le syndrome lymphoprolifératif avec autoimmunité (ou ALPS pour "auto-immune lymphoproliférative syndrome") : dû à des mutations du gène FAS responsables d'un déficit de l'apoptose. Ils se traduisent par des syndromes lymphoprolifératifs et une auto-immunité, et s'associent souvent à une hypergammaglobulinémie. L'analyse des sous populations lymphocytaires permet de noter un excès de lymphocytes T doubles négatifs CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>.

- \* Le déficit en FOXP3 ou IPEX syndrome ("immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome") : c'est une maladie liée à l'X et due à des mutations dans le gène FOXP3. Ce gène code pour un facteur de transcription exprimé par les lymphocytes T régulateurs (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>).

- \* Le syndrome APECED ("Autoimmune Poly-Endocrinopathy with Candidiasis and Ectodermal Dystrophy") ou APS-1 ("auto-immune polyendocrine syndrome type 1") : c'est une maladie autosomique récessive due à des mutations du gène AIRE

("Auto Immune Regulator"). Ce gène code pour un facteur de transcription exprimé par les cellules épithéliales médullaires thymiques permettant l'expression thymique de divers antigènes du soi et donc l'induction de la tolérance (par délétion clonale) vis-à-vis de ces auto-antigènes.

## Références

- 1- Immunologie Clinique. J. Brostoff, G.K. Scadding, D. Male, I.M. Roitt. De Boeck Université, 1991. Traduit par Ernst Heinen et Pierre Galanaud.
- 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- Atlas de Poche d'Immunologie. G. Burmester, A. Pezzutto. Traduction française par P. V. Endert, 2<sup>ème</sup> édition. Médecine-Sciences Flammarion, 2005.
- 4- 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.
- 5- Immunologie. Aide-mémoire illustré. David Male. Traduction de la 4<sup>ème</sup> édition anglaise par Paul Fonteneau. De Boeck, 2002.
- 6- Immunologie. Jean Pierre Revillard avec la collaboration de l'Association des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue Française (ASSIM). De Boeck, 2001.
- 7- 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.
- 8- Immunologie Fondamentale. Hatem Masmoudi et Amel Ben Ammar El-Gaaied. Centre de Publication Universitaire, Tunis, 2000.
- 9- 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. Medsi/Mc Graw-Hill, 1990.
- 16- Cours d'Immunopathologie de l'Institut Pasteur de Paris. 1988, 1992.
- 17- Immunologie des cancers. Salem Chouaib, Armand Bensussan. Médecine-Sciences Flammarion, 2003.
- 18- Immunopathologie et réactions inflammatoires. Bernard Weill, Frédéric Batteux. De Boek, 2003
- 19- Immunology IV, Clinical Applications in Health and Disease. Joseph A. Bellanti. I Care Press, 2012.