LES LYMPHOCYTES B & T : CELLULES DE L'IMMUNITE SPECIFIQUE

Dr Hatem MASMOUDI

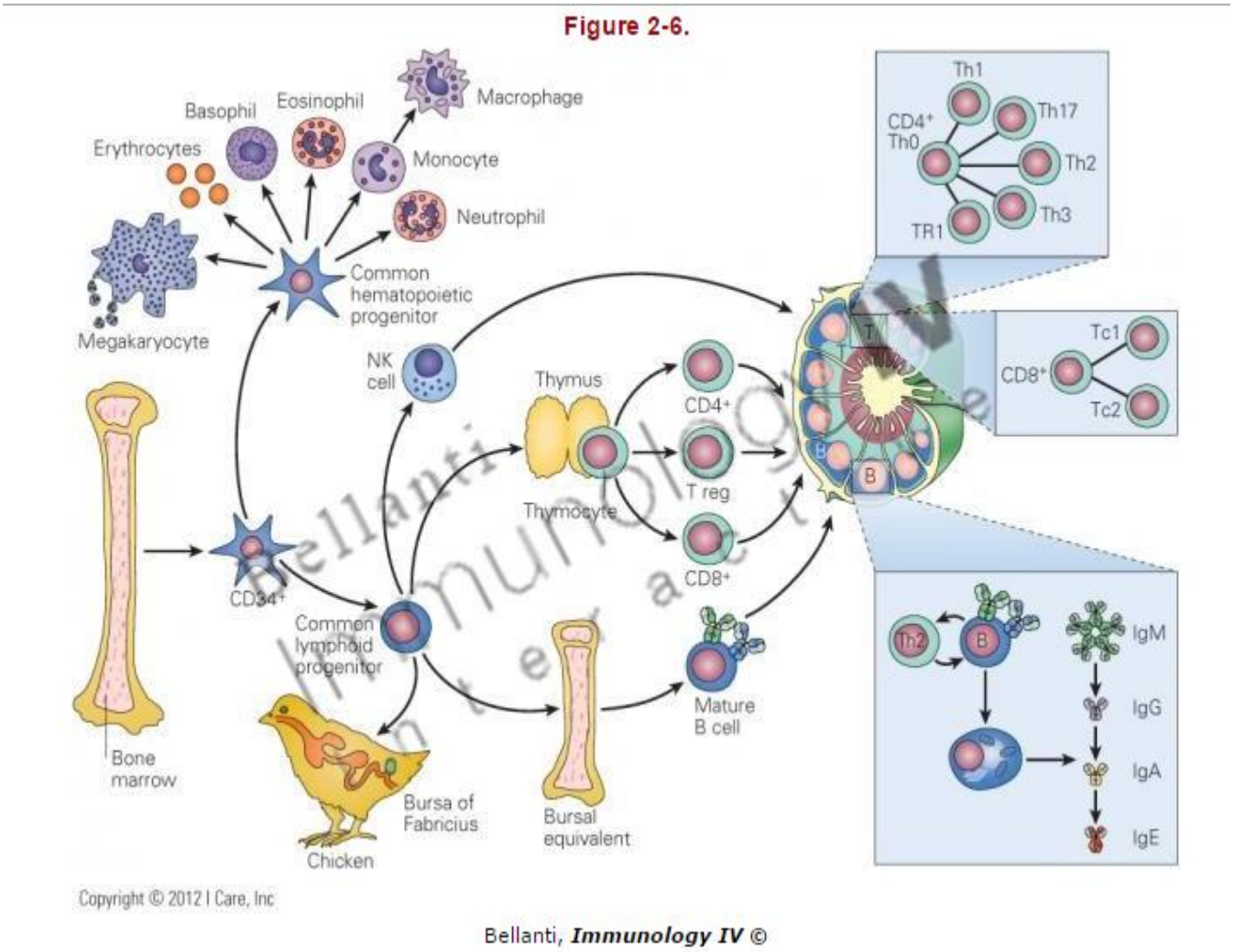
I- INTRODUCTION

Le système immunitaire a évolué de façon à reconnaître spécifiquement les micro-organismes et les éliminer. Les animaux inférieurs ont des mécanismes de défense peu élaborés. Ils produisent des protéines peu spécifiques permettant d'agglutiner un certain nombre de microbes et possèdent des cellules phagocytaires capables de capter et de dégrader les microbes (immunité non spécifique). Les vertébrés ont en plus des cellules pouvant chacune reconnaître un antigène (Ag) différent grâce à un récepteur membranaire spécifique. Ces cellules circulantes au repos, sont capables, après activation par la reconnaissance spécifique de l'Ag, de proliférer par divisions cellulaires successives tout en poursuivant leur différenciation (maturation terminale) pour donner naissance à de très nombreuses cellules effectrices, toutes dirigées contre le même Ag de départ. La réponse immunitaire devient ainsi ciblée et adaptée à l'Ag ou au micro-organisme agresseur. Les cellules qui assurent cette immunité spécifique ou adaptive sont les cellules lymphoïdes ou lymphocytes.

II- Caractères communs aux lymphocytes

Les lymphocytes B et T sont produits dans les organes lymphoïdes primaires à partir de cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse ou progéniteurs lymphoïdes communs (CLP : "Commun Lymphoïd Progenitors"). Issus des cellules souches multipotentes ou hématopoïétiques (HSC : "Hematopoïetic Stem Cells"), les CLP donnent naissance aux lymphocytes T et B mais aussi aux cellules NK.

Les cellules souches hématopoïétiques sont à l'origine de toutes les cellules sanguines via les 2 principales voies : myéloïde et lymphoïde. Elles sont caractérisées par leur grande capacité d'auto-renouvèlement, leur potentiel de différenciation en de multiples lignées, et la présence à leur surface du marqueur CD34.



Les HSC CD34^{+} circulent en tout petit nombre dans le sang circulant et peuvent être collectées, à l'aide d'un "Cell Sorter" (cytomètre en flux avec trieur de cellules), pour être utilisées chez les patients atteints d'hémopathie maligne comme source de progéniteurs cellulaires pour reconstituer la moelle osseuse après chimio/radiothérapie. Par ailleurs et lorsqu'elles se retrouvent dans des microenvironnements tissulaires adéquats, les HSC pluripotentes

$CD34^+$ peuvent se différencier en différents types cellulaires tissu-spécifiques : hépatocytes, neurones, cellules musculaires, endothéliales…
Au cours de la vie fœtale, les HSC proviennent successivement du sac vitellin, du foie fœtal puis de la moelle osseuse qui dès le $7^{ème}$ mois de la grossesse devient le site exclusif de l'hématopoïèse.

Les lymphocytes sont des cellules ubiquitaires. L'organisme humain compte environ 10^{12} lymphocytes représentant 1 à 2 % du poids corporel et répartis entre le sang, les organes lymphoïdes et les différents tissus. Les lymphocytes représentent 20 à 40 % des globules blancs ou leucocytes circulants chez l'adulte (valeur normale des globules blancs chez l'adulte : 5 à 8 milles/mm^3 ; chez l'enfant : 6 à 12 milles en fonction de l'âge).
10 à 15 % des lymphocytes comptabilisés avec la NFS correspondent en fait aux lymphocytes granuleux larges (LGL) ou non B-non T responsables de l'activité NK ("Natural Killer") et qui font partie des cellules de l'immunité non spécifique.

Le petit lymphocyte circulant est une cellule arrondie de 6 à 8 µm de diamètre avec un noyau à chromatine dense et un cytoplasme réduit à une mince couronne périphérique et pauvre en organelles.

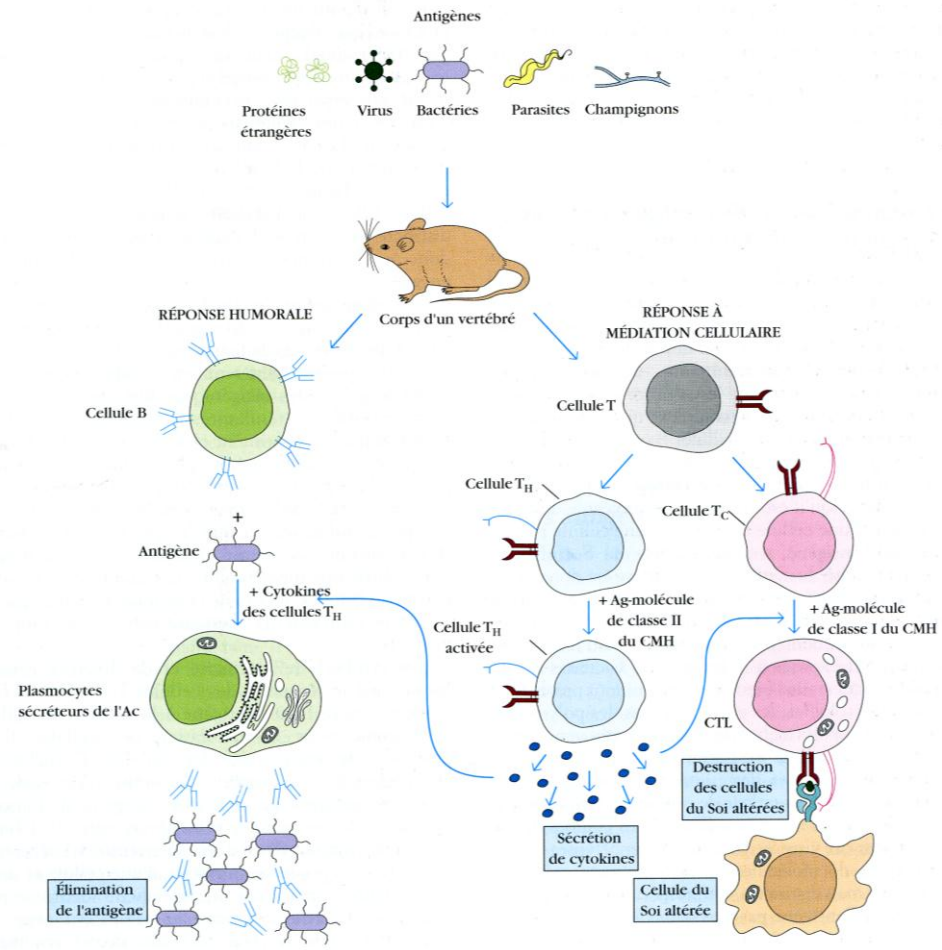
Les lymphocytes circulants se ressemblent tous sur le plan morphologique. Mais cette homogénéité apparente cache une grande hétérogénéité. On distingue ainsi deux grandes populations de lymphocytes différents par leur site de différenciation, la nature de leur récepteur membranaire pour l'Ag et le mode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

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

- les lymphocytes T (T pour thymus), support de l'immunité à médiation cellulaire (cytotoxicité et hypersensibilité retardée) transmissible

par transfert de cellules et non de sérum et qui représentent 70 à 85 % des lymphocytes circulants.

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



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

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

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

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

L'activation du lymphocyte suite à la reconnaissance spécifique de l'Ag se traduit habituellement par une décondensation de la chromatine et une augmentation importante de la taille et des activités métaboliques de la cellule : le petit lymphocyte au repos, en phase G_0, devient un lymphoblaste en phase G_1 du cycle cellulaire ; c'est la transformation lymphoblastique. Elle est immédiatement suivie d'une phase de prolifération par divisions cellulaires (passage de G_1 à S, G_2 puis M) successives accompagnées d'une différenciation terminale aboutissant à la production de très nombreuses cellules effectrices (plasmocytes, lymphocytes T cytotoxiques, lymphocytes T helper ou auxiliaires, lymphocytes T régulateurs) et d'un certain nombre de cellules mémoire.

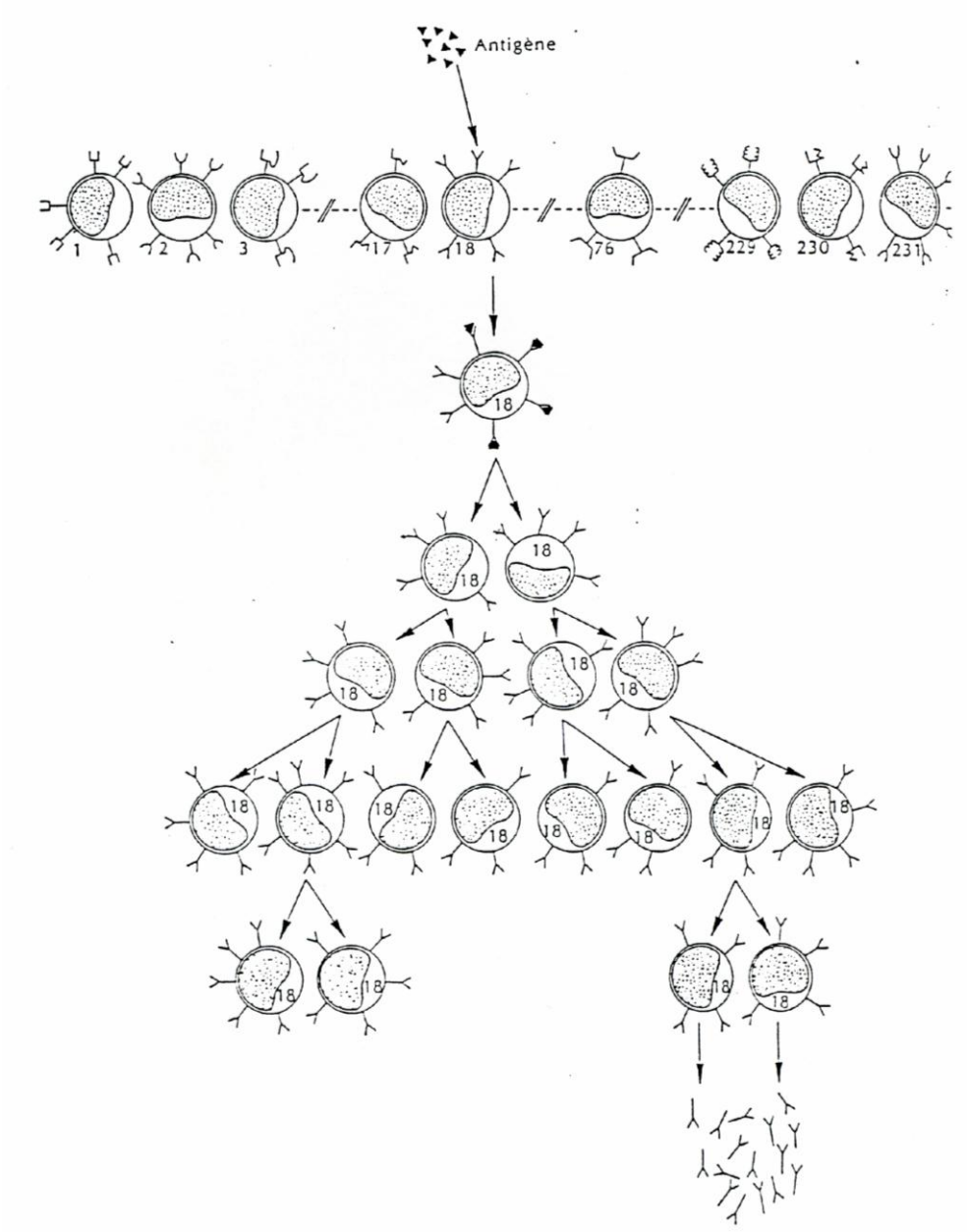


Figure 5.19
Théorie de la sélection clonale.
Chaque lymphocyte B possède à sa surface un récepteur spécifique. Lorsqu'un antigène pénètre dans l'organisme, il se lie au lymphocyte dont le récepteur lui est complémentaire (ici le lymphocyte 18). L'interaction antigène-anticorps entraine l'activation et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

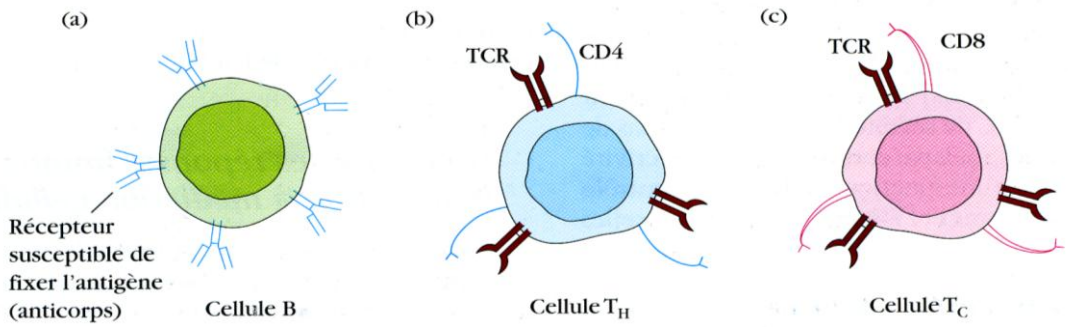


FIGURE 1.5 Molécules membranaires caractéristiques des lymphocytes. (a) Les cellules B ont environ 10^5 molécules d'anticorps membranaire par cellule. Toutes les molécules d'anticorps d'une cellule B donnée ont la même spécificité antigénique et peuvent entrer directement en interaction avec l'antigène.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

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

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

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

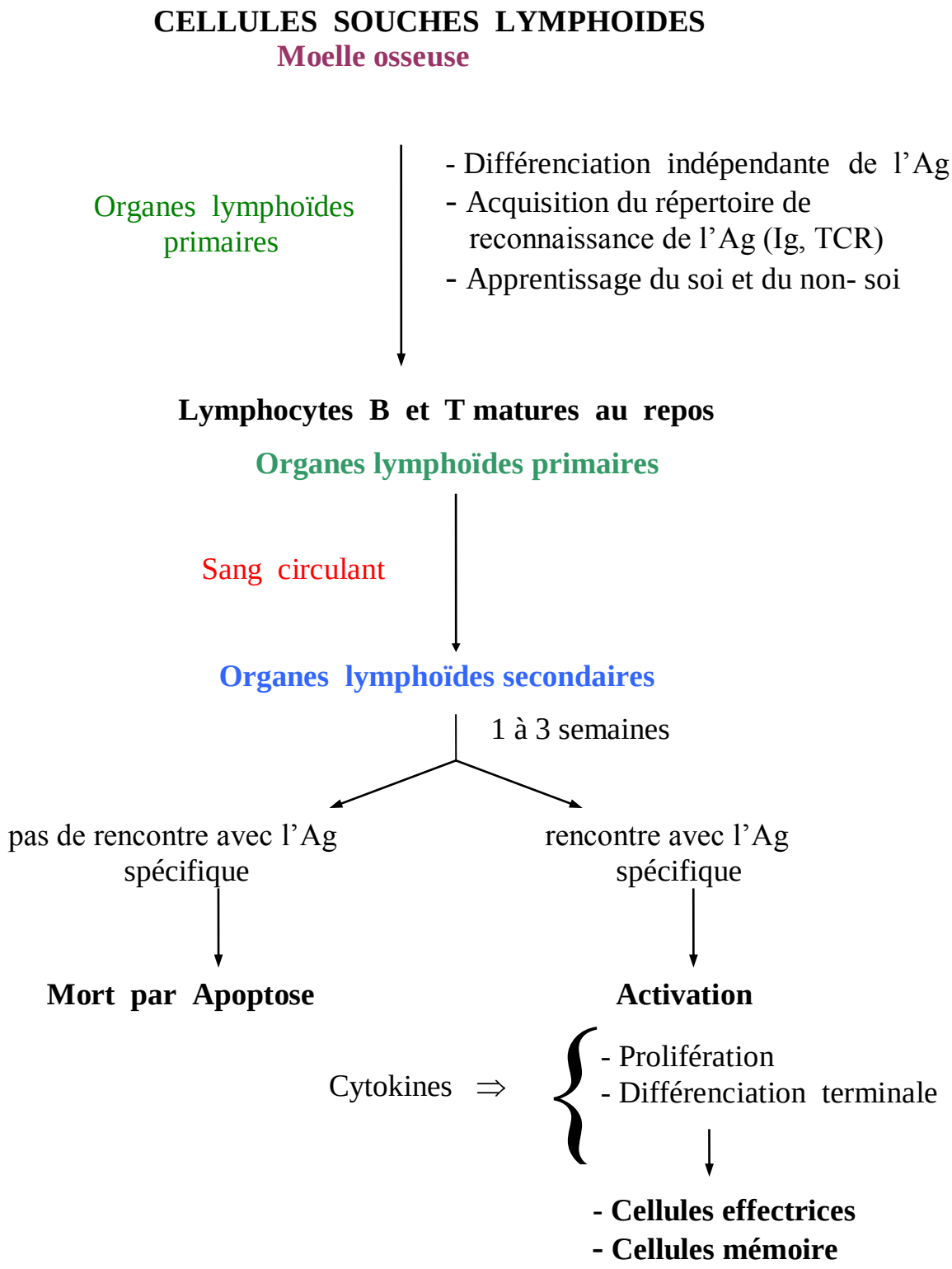
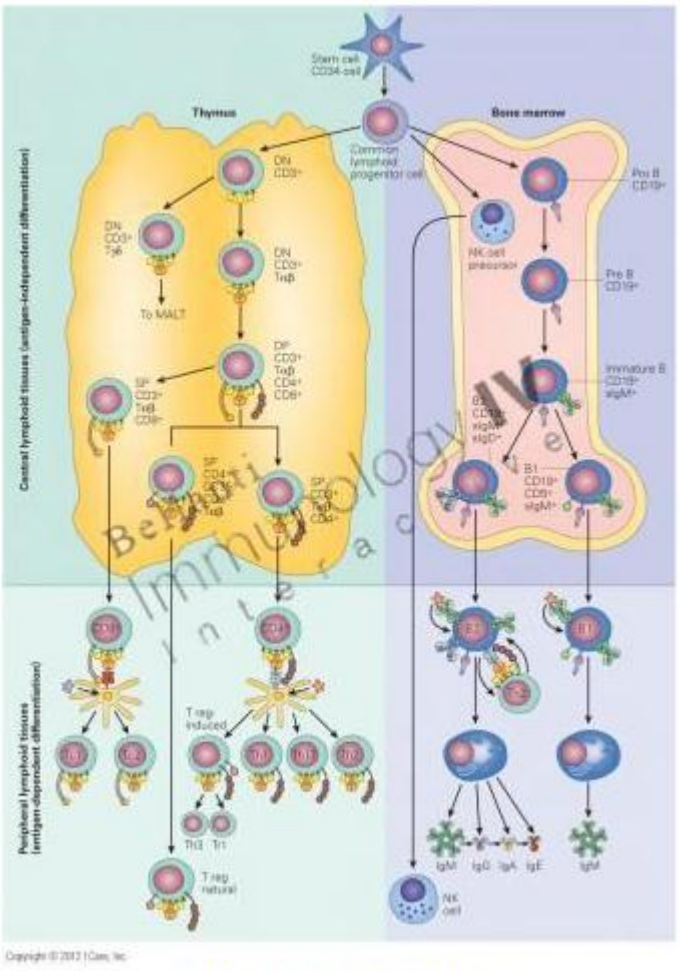


Figure 1 : Schéma de la différenciation des lymphocytes B et T

Figure 2-8.



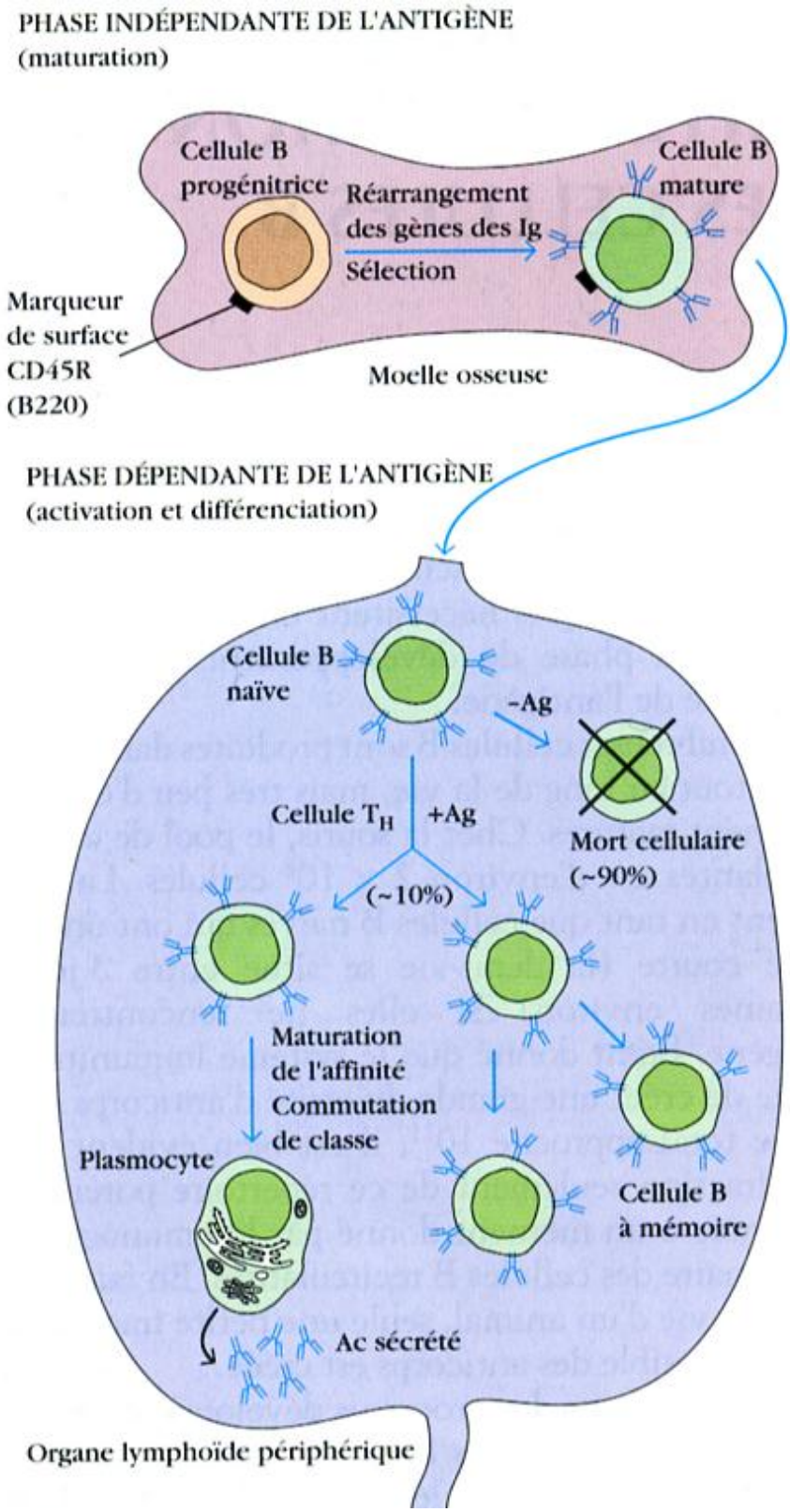
Bellanti, ***Immunology IV*** ©

III- Les lymphocytes B

1- Ontogénie

Chez les oiseaux, la lymphopoïèse B a lieu au niveau d'un organe lympho-épithélial accolé au cloaque et assurant exclusivement cette fonction (différenciation des lymphocytes B à partir des cellules souches lymphoïdes) : la **B**ourse de Fabricius. La bursectomie néonatale entraîne chez le poulet une agammaglobulinémie permanente (absence de lymphocytes B matures et donc d'Ac). Chez le mouton et d'autres ruminants, l'ontogénèse des

lymphocytes B a lieu au niveau du tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) et plus particulièrement au niveau des plaques de Peyer iléales.



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

Le principal événement au cours de l'ontogénèse des lymphocytes B est le **réarrangement des gènes des Ig** (les cellules souches lymphoïdes ont leurs gènes des Ig et du TCR en configuration germinale non réarrangée). Chez les animaux utilisant les organes et tissus lymphoïdes associés à l'intestin pour produire les lymphocytes B (poulet, mouton, lapin...), le réarrangement est utilisé au cours la vie embryonnaire et pendant un temps très court après la naissance : l'organe primaire perd sa potentialité lymphopoïétique et/ou involue au bout de 6 mois à 1 an. La diversité est complétée par des mécanismes agissant après réarrangement (conversion génique ou mutations somatiques) et les cellules B périphériques se maintiennent grâce à leur capacité d'auto-renouvellement.

Chez l'homme comme chez la souris, il y a réarrangement continuel des gènes des Ig et production permanente de lymphocytes B pendant toute la vie au niveau de la moelle osseuse. Les cellules stromales de la moelle osseuse jouent un rôle essentiel dans le développement et la différenciation des cellules de la lignée B par les interactions membranaires (ex : SCF ou " Stem Cell Factor " à la surface de la cellule stromale qui interagit avec son récepteur c-kit à la surface de la cellule pro-B activant ainsi la division cellulaire et induisant l'expression du récepteur de l'IL7) et la production de cytokines notamment l'interleukine 7 (IL7).

La différenciation des cellules de la lignée B est associée à une prolifération cellulaire active. Cependant, la majorité des cellules B qui se développent dans la moelle osseuse (plus de 75 %) subissent un processus de mort cellulaire programmée ou apoptose aboutissant à leur phagocytose par les macrophages médullaires. Seules les cellules ayant réussi un réarrangement productif de leurs gènes d'Ig sont autorisées à gagner la circulation sanguine.

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

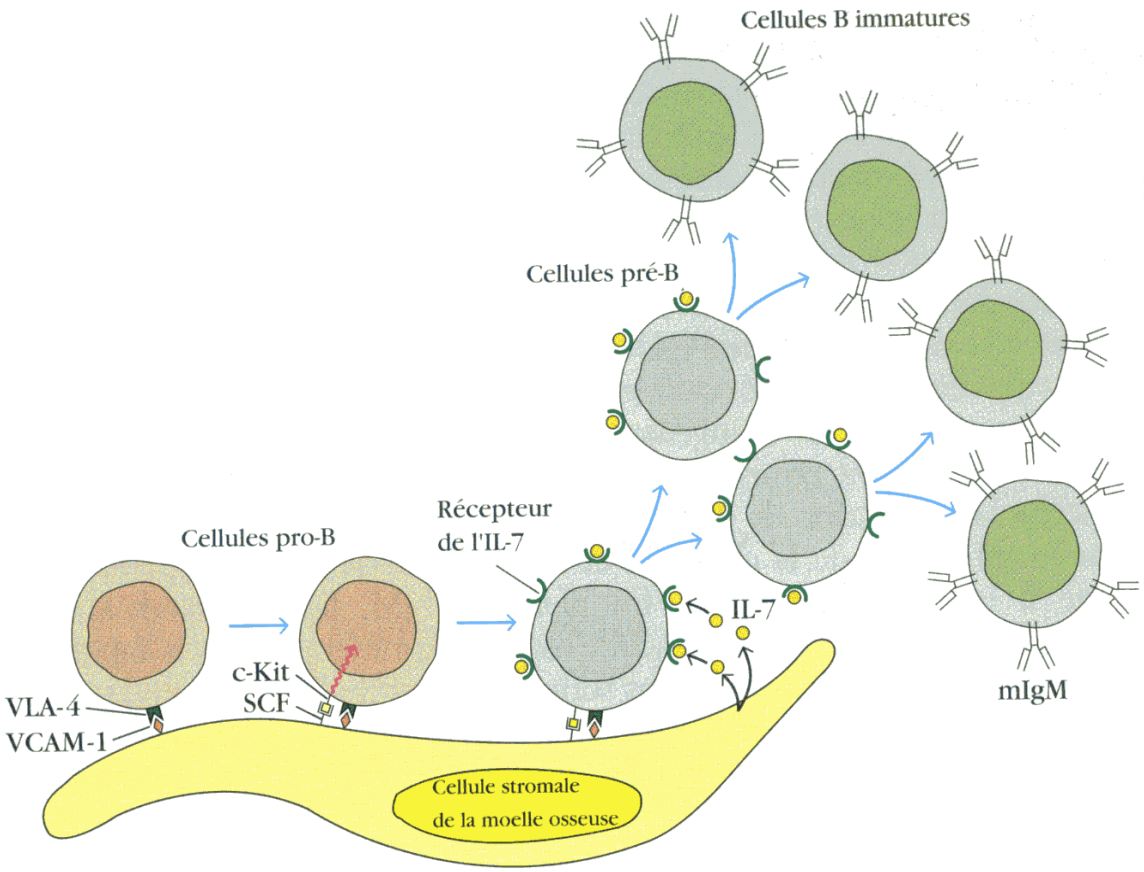


FIGURE 11.2 Les cellules stromales de la moelle osseuse sont nécessaires à la maturation des progéniteurs des cellules B en précurseurs des cellules B. Les cellules pro-B se lient aux cellules stromales par l'intermédiaire d'une interaction entre le VCAM-1 de la cellule stromale et le VLA-4 de la cellule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

- ***la cellule pro-B (pro génitrice B)*** : elle dérive directement de la cellule souche lymphoïde ou CLP avec les gènes des Ig en configuration

germinale. Le réarrangement des gènes des chaînes lourdes est entamé dès le stade pro-B, d'abord par la jonction D-JH suivie à la fin du stade pro-B par la jonction VH-DJH permettant la production d'une chaîne μ intra-cytoplasmique, caractéristique essentielle du stade suivant dit pré-B. Les protéines activant la recombinaison RAG1 et RAG2 de même que la TdT (l'enzyme qui permet l'addition de N-nucléotides) sont produites tout au long du stade pro-B.

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

Les molécules de transduction du signal Igα et Igβ (CD79 α et β) et le CD19 (associé avec le CD21 au récepteur de la cellule B mature) sont exprimés tout au long de la maturation des cellules de la lignée B dès le stade pro-B.

- la cellule pré-B (précurseur B) : la cellule pré-B est d'abord une cellule de grande taille caractérisée par la présence de la chaîne μ intra-cytoplasmique. La chaîne μ s'associe à 2 protéines V pré-B et λ5 qui se lient de façon non covalente pour constituer une pseudo-chaîne légère ou chaîne légère de substitution ("Surrogate Light Chain" ou SLC). L'ensemble μ-VpréB-λ5 exprimé à la surface de la cellule pré-B en association avec les chaînes Igα-Igβ constitue le récepteur pré-B ou pré-BCR.

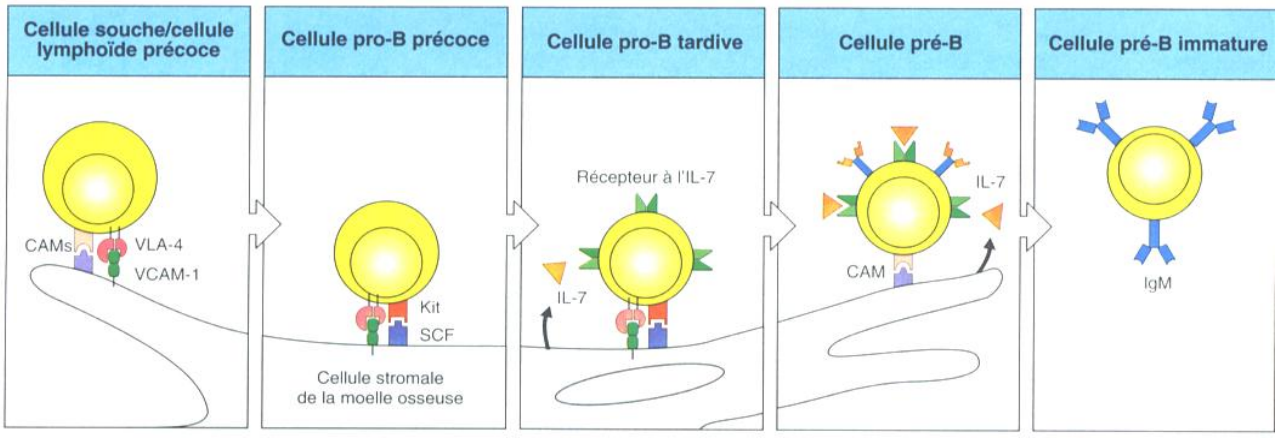
La grande cellule pré-B se met à se diviser plusieurs fois (4 à 6) de suite en diminuant de volume pour donner plusieurs petites cellules pré-B (amplification importante de la diversité associative) où le réarrangement est poursuivi sur les gènes des chaînes légères kappa puis lambda (en cas d'échec des réarrangements kappa). Lorsqu'un assemblage VK-JK ou Vλ-Jλ en phase de lecture est obtenu, une chaîne légère κ ou λ est produite. La chaîne légère κ ou λ ainsi produite s'associe avec la chaîne lourde μ pour constituer l'IgM membranaire qui sera exprimée en surface en association avec l'hétérodimère

Igα/Igβ. L'expression de l'IgM sur la membrane annonce le passage au stade suivant, celui de cellule B immature avec arrêt de production des protéines RAG1 et RAG2. La TdT est beaucoup moins active au niveau des jonctions VJ des chaînes légères et sa production cesse bien avant celle des protéines RAG.

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

- ***la cellule B immature :*** définie par l'expression de l'IgM membranaire en association avec les chaînes Igα–Igβ, la cellule B immature subit le processus de sélection négative aboutissant à la délétion clonale des lymphocytes B dont l'IgM membranaire interagit avec une forte affinité avec un antigène du soi exprimé dans la moelle osseuse (ou au niveau des organes lymphoïdes périphériques). Dans la moelle osseuse, la cellule B exprimant une IgM auto-réactive peut être sauvée de la délétion clonale en " éditant " une nouvelle copie de jonction V-J lui permettant d'exprimer une autre chaîne légère. La cellule B immature n'exprime plus VpréB-λ5, CD25 ni l'IL7-R

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



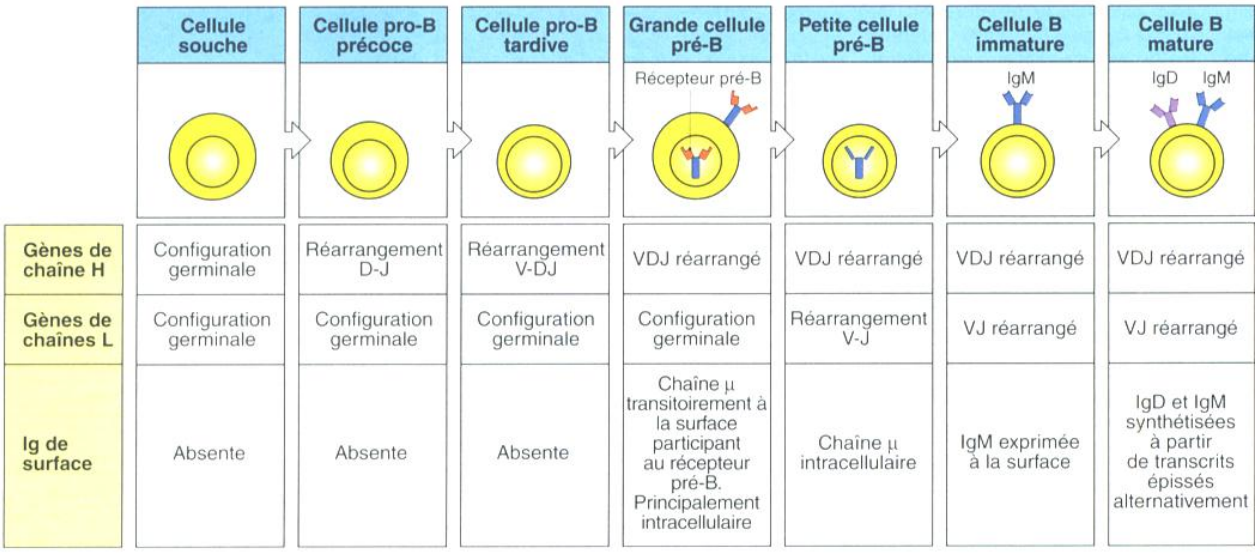
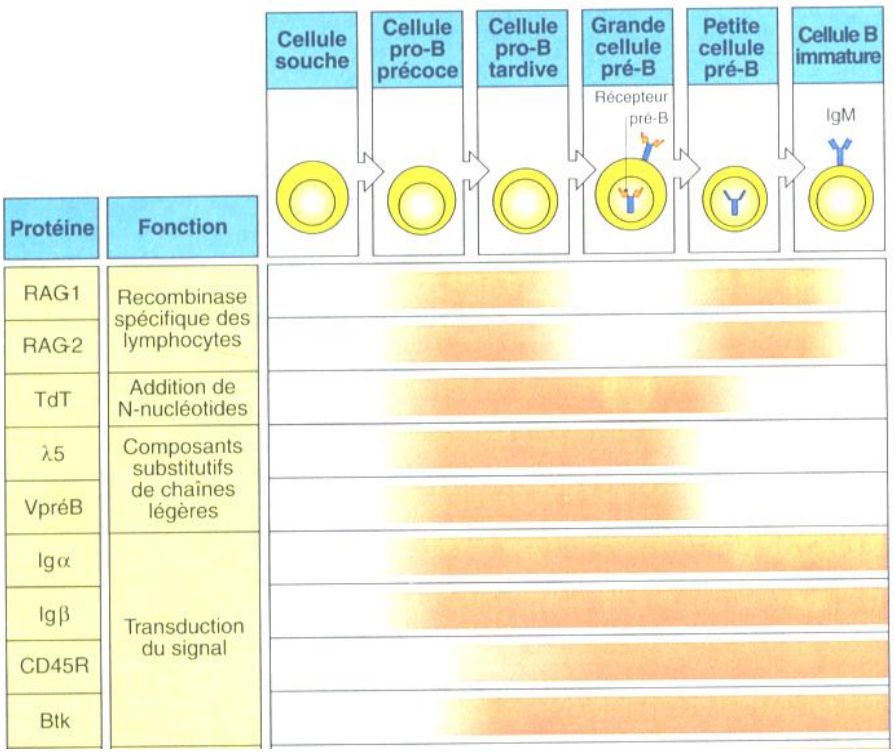
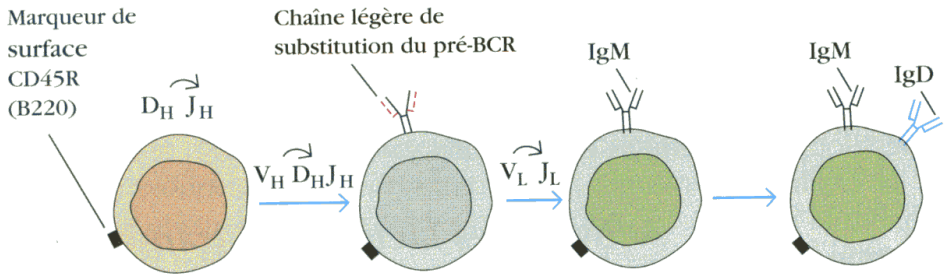


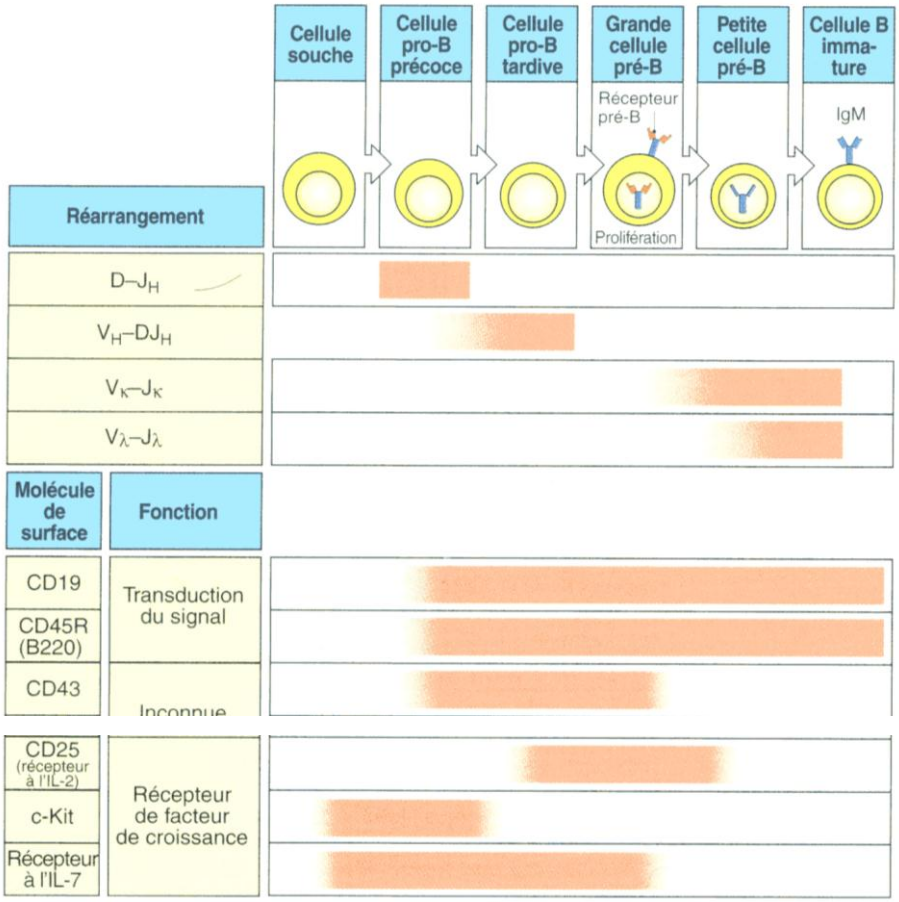
Fig. 7.5 Le développement des cellules de la lignée B passe par différents stades marqués par le réarrangement et l'expression des gènes d'immunoglobulines. La cellule souche n'a pas encore commencé à réarranger ses segments de gènes d'immunoglobulines (Ig) ; ils sont dans la configuration germinale comme ils le sont dans toutes les cellules non lymphoïdes. Le locus de chaîne lourde (chaîne H) se réarrange d'abord. Le réarrangement d'un segment de gène D avec un segment de gène J_H se produit tôt dans les cellules pro-B, aboutissant aux cellules pro-B tardives, dans lesquelles le réarrangement V_H avec DJ_H se produit. Un réarrangement correct VDJ_H conduit à l'expression d'une chaîne lourde complète d'immunoglobuline faisant partie du récepteur pré-B, qui se trouve principalement dans le cytoplasme et dans une moindre mesure à la surface de la cellule. Une fois produite, la cellule est stimulée pour devenir une grande cellule pré-B qui se divise activement. Les grandes cellules pré-B cessent alors de se diviser et deviennent de petites cellules pré-B quiescentes, à partir desquelles cesse l'expression des chaînes légères substitutives et apparaît la chaîne lourde μ seule dans le cytoplasme. Quand les cellules redeviennent petites, elles réexpriment les protéines RAG et commencent à réarranger les gènes de chaînes légères (chaîne L). Quand elles ont assemblé correctement un gène de chaîne légère, elles deviennent des cellules B immatures qui expriment une IgM complète à la membrane. Les cellules B matures produisent une chaîne lourde δ en même temps qu'une chaîne lourde μ, par un mécanisme d'épissage alternatif, et expriment en plus une IgD à la surface de la cellule.





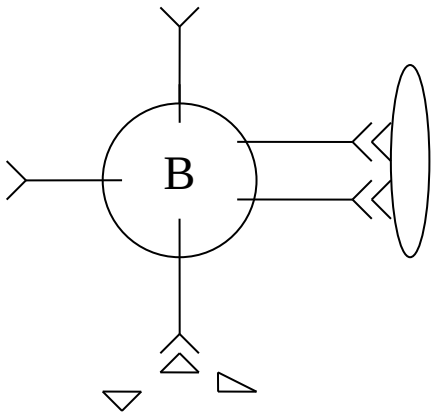
	CELLULE PRO-B	CELLULE PRÉ-B	CELLULE B IMMATURE	CELLULE B MATURE
Gènes des chaînes H	D_HJ_H	$V_HD_HJ_H$	$V_HD_HJ_H$	$V_HD_HJ_H$
Gènes des chaînes L	Chaînes de substitution Vpré-B et λ5 Chaînes κ et λ de la lignée germinale	Chaînes de substitution Vpré-B et λ5 Chaînes κ et λ de la lignée germinale	V_LJ_L	V_LJ_L
RAG-1/2	+	+	−	−
TdT	+	−	−	−

Fig. 7.6 Corrélation des stades du développement de la cellule B avec le réarrangement d'un segment de gène d'immunoglobuline et l'expression de protéines à la surface cellulaire. Les stades de développement de la cellule B sont définis par les segments de gènes qui se réarrangent et aussi par les protéines exprimées à la surface de la cellule. Les marqueurs de surface les plus précoces de la lignée B sont CD19 et CD45R (B220 chez la souris). Leur expression continue tout au long du développement de la cellule B. Une cellule pro-B se distingue aussi par l'expression de CD43, c-Kit, et le récepteur à l'IL-7. Une cellule pro-B précoce réarrange D avec J_H et une cellule pro-B V_H avec DJ_H. Une cellule pro-B tardive commence à exprimer CD24 et CD25. Quand une cellule pro-B tardive réalise une jonction correcte VDJ, elle peut alors exprimer une chaîne lourde d'immunoglobuline, qui la définit comme une cellule pré-B. Une cellule pré-B se distingue phénotypiquement par l'expression de BP-1, tandis que c-Kit et le récepteur à l'IL-7 ne sont plus exprimés. Avant de commencer à réarranger un locus de chaîne légère, une cellule pré-B grossit et subit plusieurs cycles de division. Elle devient alors une petite cellule pré-B, qui peut réarranger ses segments de gène de chaînes légères, d'abord au locus κ, et ensuite s'il n'est pas productif, au locus λ. Une cellule qui a fabriqué une chaîne légère productive devient une cellule B immature exprimant des IgM de surface, ayant terminé ses phases de développement de cellule B de manière indépendante de l'antigène.



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

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



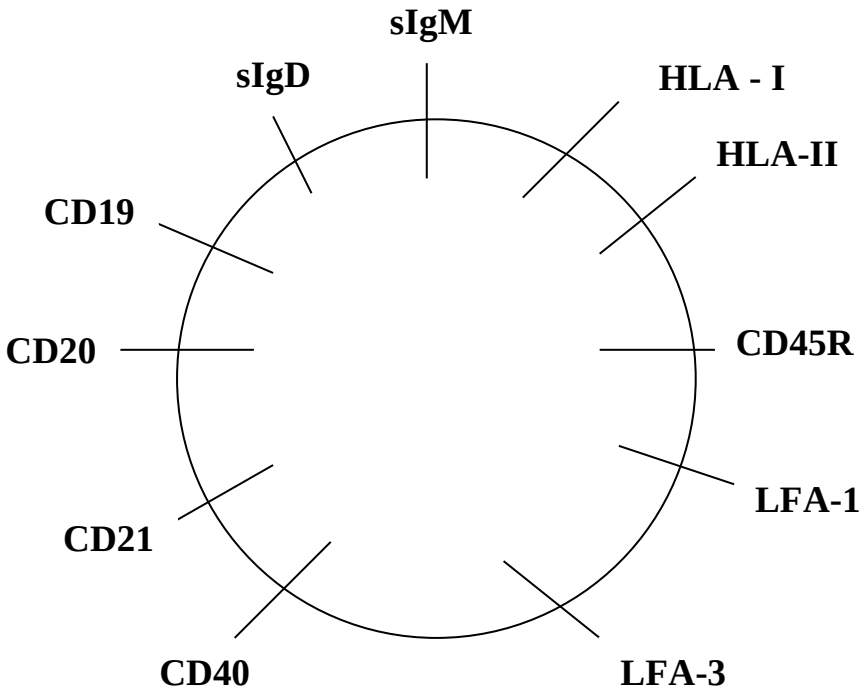
- Ag natif
- En suspension ou à la surface d'une cellule ou d'un micro-organisme

3/ Marqueurs membranaires

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

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

Fig 4 : Marqueurs membranaires du lymphocyte B mature au repos



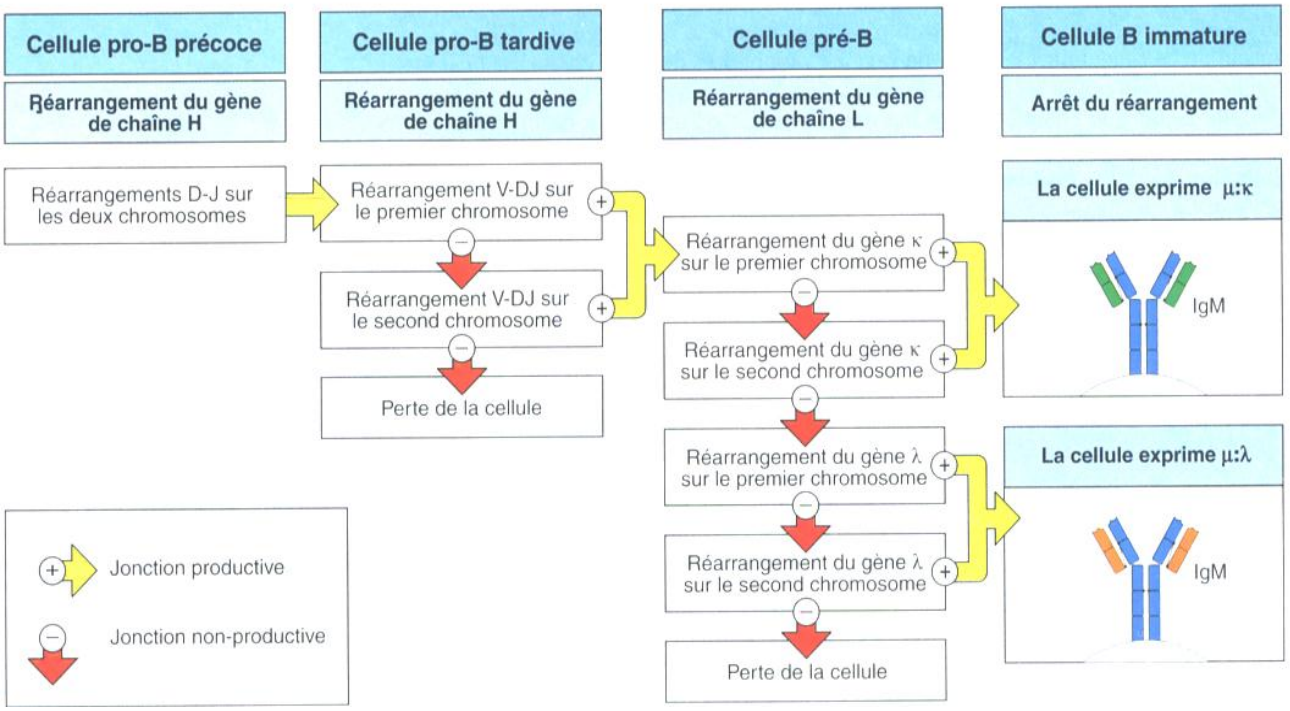


Fig. 7.14 Étapes du réarrangement des gènes des immunoglobulines au cours desquelles les cellules peuvent être perdues. Le programme de développement réarrange habituellement le locus de chaîne lourde (chaîne H) et puis les locus de chaînes légères (chaînes L). Les cellules sont autorisées à progresser vers le stade suivant quand un réarrangement productif a été réussi. Chaque réarrangement a environ une chance sur trois d'être correct, mais si la première tentative n'est pas productive, le développement est suspendu et il y a possibilité d'une tentative supplémentaire ou plus. Les possibilités de réarrangements répétés sont plus grandes pour les locus de chaînes légères (voir Fig. 7.16), de façon à ce que peu de cellules soient perdues entre les stades de cellules pré-B et B immatures par rapport au passage du stade pro-B au stade pré-B.

4/ Fonctions

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

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

5/ Sous-populations

Il existe chez l'homme comme chez la souris une sous-population minoritaire de lymphocytes B dits B1 ou B $CD5^+$ et caractérisés, en plus de l'expression de CD5 (Ly1b chez la souris), par leur capacité d'auto-

renouvellement en périphérie notamment dans le péritoine où elles sont majoritaires et la production d'anticorps de classe IgM qui sont généralement poly-spécifiques et de faible affinité. Les lymphocytes B1 expriment peu ou pas d'IgD membranaire et répondent faiblement aux Ag protéiques et beaucoup mieux aux Ag glucidiques.

IV- Les lymphocytes T

1- Ontogénie

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

Le principal évènement au cours de la différenciation initiale (intra-thymique) ou maturation des cellules de la lignée T est le **réarrangement des gènes du TCR** permettant l'obtention d'un lymphocyte T mature à TCR de type α/β ou de type γ/δ. Les lymphocytes T γ/δ semblent dériver directement des précurseurs T précoces doubles négatifs $CD4^-CD8^-$. Il en est de même pour une sous-population de lymphocytes T dite TNK exprimant un récepteur α/β

de diversité très limité et portant le marqueur NK1.1 communément trouvé sur les cellules NK. Ces 2 sous-populations minoritaires de lymphocytes T (T γ/δ et TNK α/β) quittent le thymus à l'état de lymphocytes T matures double négatifs $CD4^-CD8^-$; tandis que la grande majorité des lymphocytes T produits dans le thymus sont des cellules T α/β simples positives $CD4^+$ ou $CD8^+$ exprimant un TCR hautement diversifié et dont la filiation intra-thymique peut schématiquement être subdivisée en 3 grandes étapes articulées autour de l'expression ou non des marqueurs CD4 et CD8 :

- **Cellules double négatives (ou pro-T)** : elles dérivent directement des cellules souches lymphoïdes avec les gènes du TCR en configuration germinale. La cellule pro-T double négative $CD4^-CD8^-$ commence par exprimer ckit, la TdT et le complexe de transduction de signal spécifique des lymphocytes T, le CD3. Par la suite, elle exprime CD25 et les protéines RAG1 et RAG2 ce qui permet d'amorcer le réarrangement des gènes β (en même temps que celui des gènes γ et δ). La jonction d'un segment D avec un segment J est suivie par la jonction d'un segment V. Lorsqu'un assemblage VDJ-β en phase de lecture est obtenu (la cellule peut faire jusqu'à 4 tentatives pour obtenir un réarrangement productif), une chaîne β est produite dans le cytoplasme où elle s'associe avec la chaîne α de substitution pré-Tα (ou pTα) et les chaînes du CD3. L'ensemble β-pTα-CD3 exprimé à la surface du thymocyte constitue le récepteur pré-T ou pré-TCR.

L'expression de ckit, CD25 et des protéines RAG1 et RAG2 est arrêtée. La cellule double négative exprime CD2 et se met à proliférer ce qui permet pour chaque réarrangement VDJβ productif d'avoir plusieurs cellules (avec la même chaîne β) qui au stade suivant pourront chacune faire son propre réarrangement VJα et exprimer ainsi des chaînes α différentes ; la diversité associative se trouve ainsi fortement amplifiée.

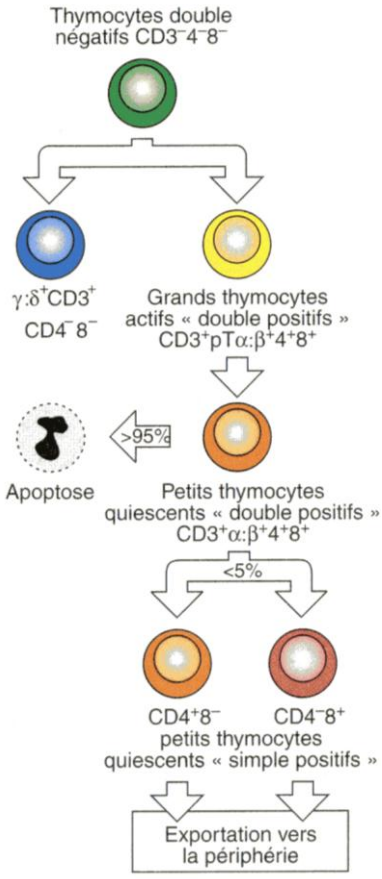


Fig. 7.11 Les changements des molécules à la surface de la cellule permettent de distinguer les populations de thymocytes à différentes étapes de maturation. Les molécules de surface les plus importantes pour l'identification des sous-populations de thymocytes sont CD4, CD8, et les molécules du complexe du récepteur (CD3 et les chaînes α et β du récepteur de la cellule T). Les populations cellulaires les plus précoces du thymus n'expriment aucun de ces marqueurs. Elles sont appelées thymocytes double négatifs, car ils n'expriment ni CD8, ni CD4. Ces précurseurs donnent naissance aux deux lignées de cellules T, la population minoritaire des cellules T γ:δ (sans CD4, ni CD8, même matures), et la lignée majoritaire des cellules T α:β. Le développement prospectif des cellules T α:β passe par des stades où CD4 et CD8 sont exprimés tous les deux par la même cellule ; elles sont appelées thymocytes double positifs. Les cellules T double positives expriment d'abord le récepteur pré-T (pTα:β). Ces cellules grossissent et se divisent. Plus tard, elles deviennent de petites cellules quiescentes double positives sur lesquelles s'exprime en faible densité le récepteur de cellule T (α:β). La plupart des thymocytes (97 %) meurent dans le thymus après être devenues des petites cellules double positives. Les cellules dont les récepteurs avec les molécules du CMH du soi perdent l'expression de CD4 ou de CD8 et augmentent le niveau d'expression du récepteur de la cellule T. Elles deviennent des thymocytes simple positifs, qui, après maturation, sont exportés du thymus comme des lymphocytes T CD8 ou des lymphocytes T CD4.

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

$CD4^-$ $CD8^-$; tandis que les lymphocytes qui arrivent à faire un réarrangement β productif leur permettant d'exprimer le pré-TCR bloquent les réarrangements sur les gènes δ et γ et poursuivent dans la voie α/β.

- Cellules double positives : elles dérivent directement des cellules doubles négatives en prolifération. En plus du pré-TCR (comprenant le CD3) et de CD2, ces cellules expriment simultanément les 2 corécepteurs des cellules T : CD4 et CD8. Lorsque les grands thymocytes doubles positifs cessent de proliférer et deviennent de petits thymocytes doubles positifs, la transcription des gènes RAG1 et RAG2 est relancée de façon transitoire, ce qui permet de poursuivre le réarrangement sur les gènes α. La production de la TdT se poursuit de façon continue jusqu'à l'obtention d'un réarrangement VJα productif permettant l'expression d'un TCR α/β en faible densité, à la surface du petit thymocyte double positif $CD4^+$ $CD8^+$ qui est maintenant prêt pour subir l'épreuve de la sélection positive. Les gènes de la chaîne α subissent des réarrangements successifs jusqu'à ce qu'une sélection positive ou la mort cellulaire intervienne.

Seuls les thymocytes dont le TCR est capable de reconnaître l'une ou l'autre des molécules HLA du soi exprimé par les cellules stromales thymiques (en l'occurrence, les cellules épithéliales du cortex) recevront les signaux nécessaires pour poursuivre leur différenciation et échapper à la mort cellulaire programmée (ou apoptose) : c'est la sélection positive qui permet d'adapter le répertoire de TCR de chaque individu à son haplotype (sa combinaison de molécules) HLA et ainsi de mettre en place la restriction allogénique, . Les thymocytes dont le TCR interagit avec une molécule HLA classe I perdent la molécule CD4 tandis que ceux dont le TCR interagit avec une molécule HLA classe II perdent CD8.

- Cellules simple positives : encore appelées thymocytes immatures, ces cellules qui expriment soit CD4 soit CD8 en plus de CD2 et du complexe



CD3/TCRαβ (exprimé à faible densité) sont retrouvées au niveau de la médullaire thymique. La <u>sélection négative</u> entamée au stade précédent se poursuit : les lymphocytes dont le TCR interagit avec une forte affinité avec une molécule HLA, seule ou avec un peptide antigénique du soi, exprimée par les cellules stromales thymiques (macrophages et cellules inter-digitées)

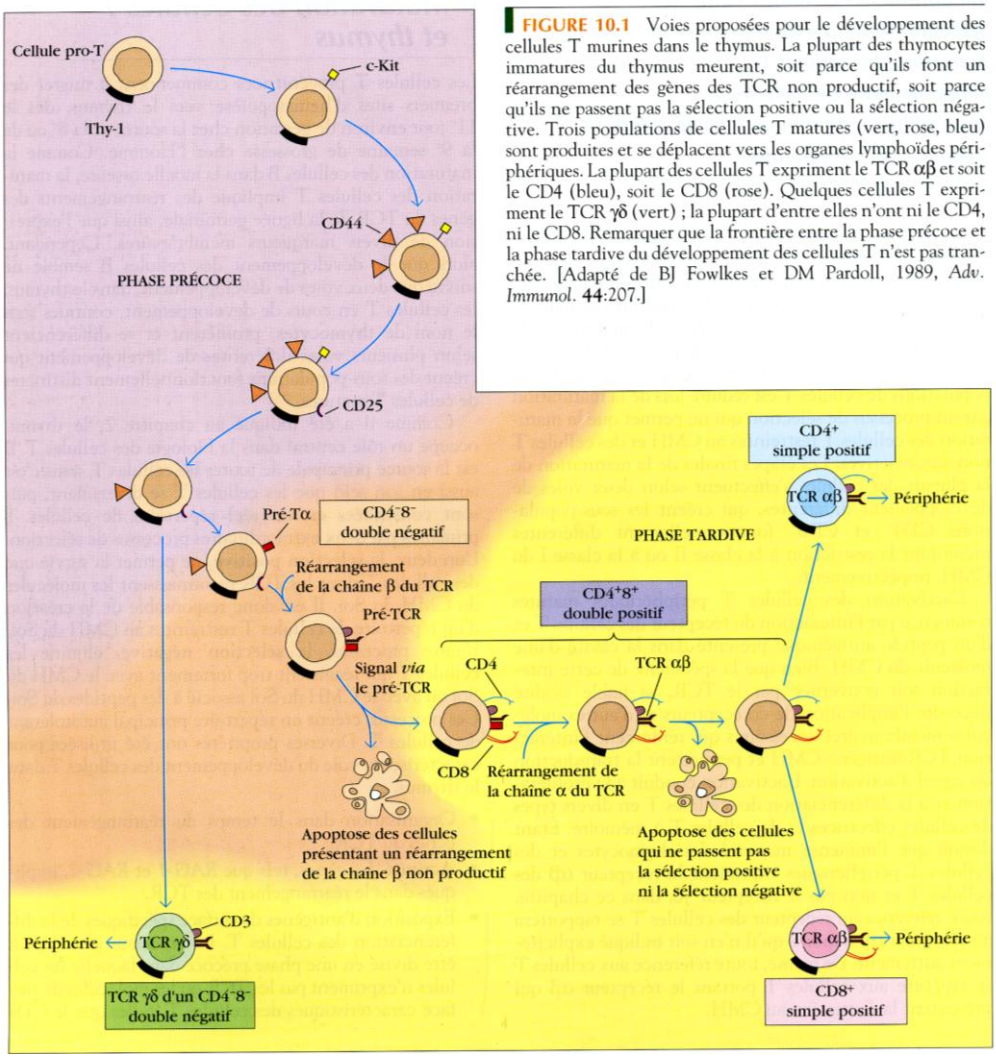
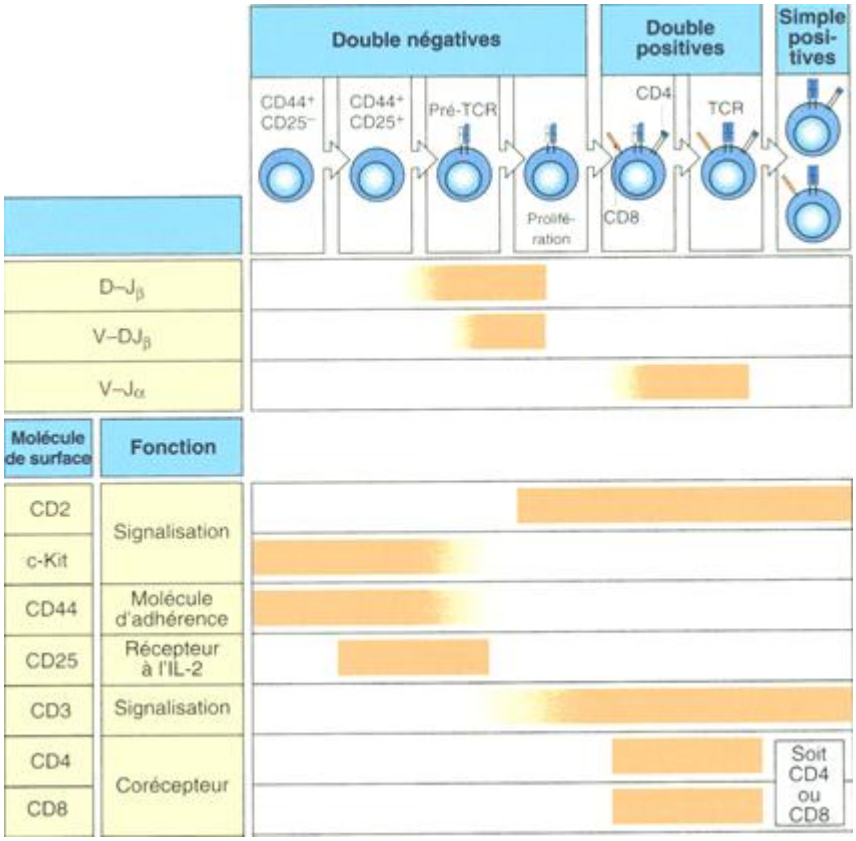


FIGURE 10.1 Voies proposées pour le développement des cellules T murines dans le thymus. La plupart des thymocytes immatures du thymus meurent, soit parce qu'ils font un réarrangement des gènes des TCR non productif, soit parce qu'ils ne passent pas la sélection positive ou la sélection négative. Trois populations de cellules T matures (vert, rose, bleu) sont produites et se déplacent vers les organes lymphoïdes périphériques. La plupart des cellules T expriment le TCR αβ et soit le CD4 (bleu), soit le CD8 (rose). Quelques cellules T expriment le TCR γδ (vert) ; la plupart d'entre elles n'ont ni le CD4, ni le CD8. Remarquer que la frontière entre la phase précoce et la phase tardive du développement des cellules T n'est pas tranchée. [Adapté de BJ Fowlkes et DM Pardoll, 1989, *Adv. Immunol.* **44**:207.]

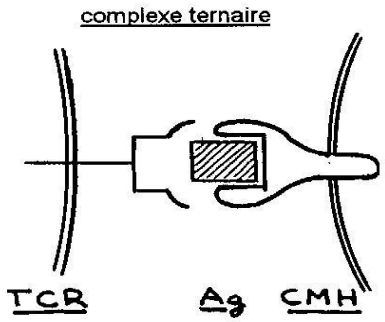
sont tués ; c'est la <u>délétion clonale</u> qui permet d'éliminer une bonne partie des lymphocytes T auto-réactifs et qui représente le premier mécanisme de <u>tolérance au soi</u>. Les thymocytes ayant passé avec succès les épreuves de la sélection positive et de la sélection négative expriment à forte densité le complexe CD3-TCRα/β et quittent le thymus sous forme de lymphocytes T matures simple positifs $CD4^+$ ou $CD8^+$. On estime que plus de 90% des thymocytes n'arrivent pas à maturation et meurent par apoptose soit parce qu'ils ne sont pas arrivés à effectuer un réarrangement productif des gènes du TCR soit parce qu'ils n'ont pas été sélectionnés positivement ou enfin parce qu'ils ont été éliminés par la sélection négative.

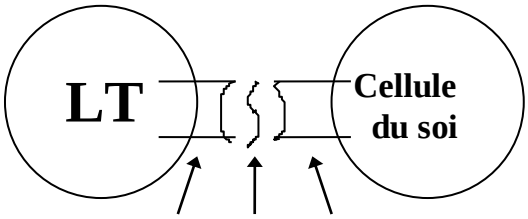


2- Récepteur pour l'Ag et mode de reconnaissance

Le récepteur spécifique pour l'Ag du lymphocyte T est le TCR, hétéro-dimère α/β ou γ/δ. Les deux types de TCR sont exprimés de façon mutuellement exclusive. Plus de 90 % des lymphocytes T circulants de l'adulte expriment

un TCR de type α/β qui reconnaît l'Ag présenté à la surface d'une cellule du soi en association avec une molécule HLA classe I ou classe II. Il s'agit en général, non pas de l'Ag natif mais d'un peptide d'une dizaine d'acides

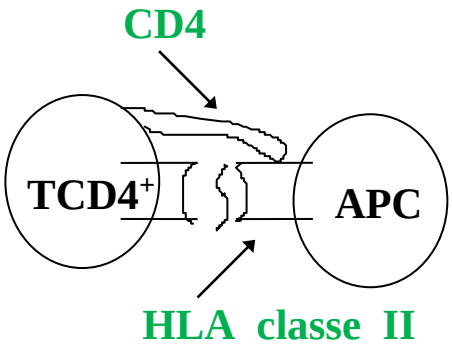




TCR Ag HLA

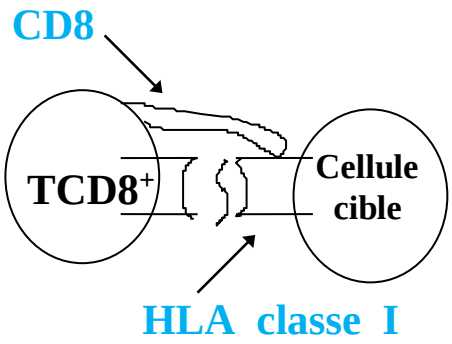
- Fragment de dégradation de l'Ag : Peptide d'une dizaine d'acides aminés
- Exprimé à la surface d'une autre cellule de l'organisme (du soi) en association avec une molécule HLA

⇒ ***restriction allogénique***



APC : cellules présentatrices de l'Ag

- Monocytes-macrophages
- Cellules dendritiques
- Lymphocytes B
- Cellules endothéliales
- Cellules épithéliales (thymiques ...)



Cellules cibles

- Cellules tumorales
- Cellules infectées par un virus

Figure 2 : Reconnaissance de l'Ag par les lymphocytes T

aminés provenant de la dégradation partielle de la molécule antigénique native.

Les lymphocytes T $CD4^+$ reconnaissent l'Ag en association avec une molécule HLA classe II tandis que les lymphocytes T $CD8^+$ reconnaissent l'Ag en association avec une molécule HLA classe I. Le CD3 assure la transmission du signal d'activation à l'intérieur du lymphocyte T.

3- ***Marqueurs membranaires***

Le lymphocyte T périphérique au repos exprime en plus du complexe TCR/CD3, les molécules HLA classe I, LFA-1, CD2, CD5, CD7, CD28 et CD45R. Plus de 90 % des lymphocytes T périphériques expriment soit CD4 soit CD8 et 5 à 10 % sont des cellules double négatives $CD4^-$ $CD8^-$. 30 à 35 % environ des lymphocytes T périphériques sont de phénotype $CD8^+$, tandis que 60 à 65 % sont de phénotype $CD4^+$.

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

Fig 3 : Marqueurs membranaires du lymphocyte T mature au repos

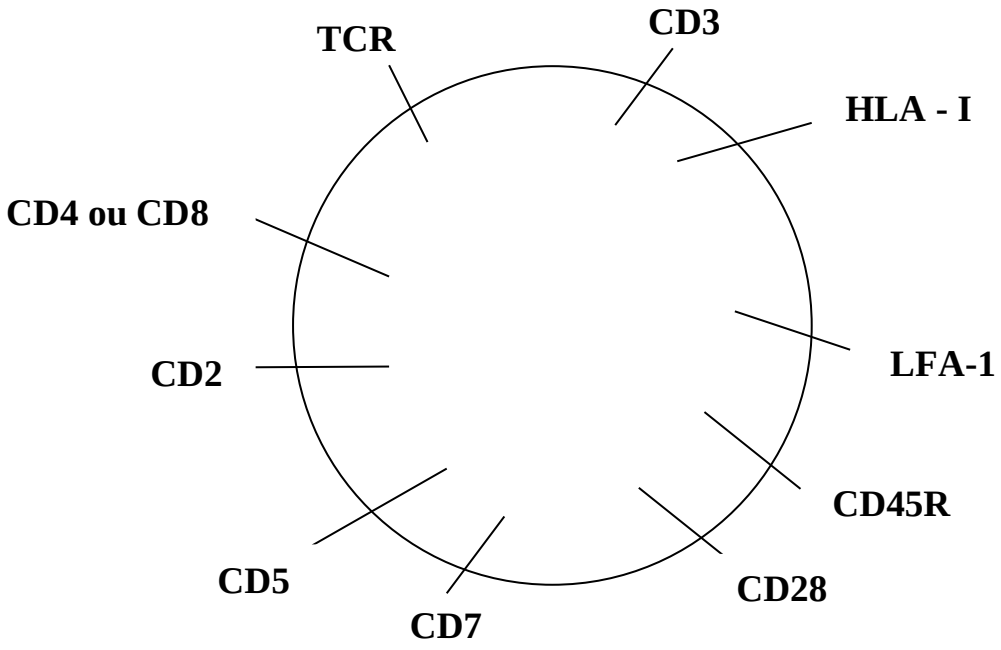


TABLEAU 9.3 Quelques molécules accessoires des cellules T

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

4-Fonctions

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

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

En plus de leur fonction de cellules effectrices de l'immunité à médiation cellulaire, les lymphocytes T jouent un rôle central dans la **régulation** et le contrôle des réponses immunitaires spécifiques et non spécifiques et de l'hématopoïèse. Ce rôle est essentiellement attribué aux lymphocytes T helper capables avec les multiples cytokines qu'ils produisent, non seulement de recruter sur place et d'activer les macrophages et diverses autres cellules (hypersensibilité retardée), mais aussi d'aider la prolifération et la différenciation terminale des lymphocytes B pour la production d'Ac ou des pré-CTL pour la cytotoxicité à médiation cellulaire, de stimuler la prolifération et l'activité cytotoxique des cellules NK, de réguler l'hématopoïèse...

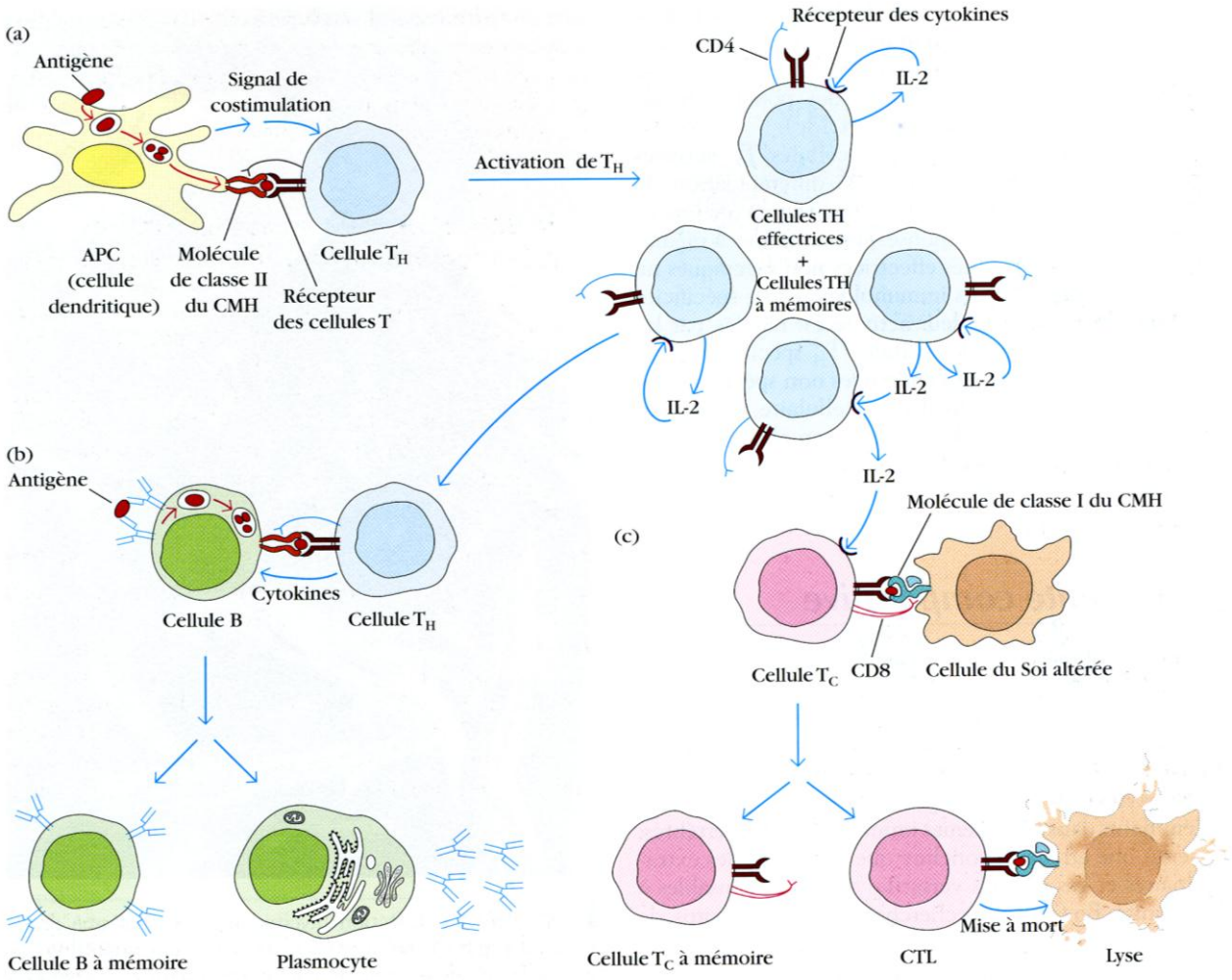


FIGURE 1.13 Interactions cellulaires impliquées dans l'induction des réponses immunitaires. L'activation (APC = cellule présentatrice de l'antigène) et la prolifération des cellules T_H (a) sont nécessaires au déclenchement d'une réponse humorale (b) et d'une réponse à médiation cellulaire contre des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

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

- les lymphocytes T helper de type **TH1** secrètent l'IL2, l'INFγ et le TNFβ et sont essentiellement impliqués dans la coopération avec les CTL (cytotoxicité à médiation cellulaire) et les macrophages (HSR). Les lymphocytes TH1 sont donc particulièrement impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire.

- les lymphocytes T helper de type **TH2** produisent l'IL4, l'IL5, l'IL6, l'IL10 et l'IL13 et sont donc préférentiellement concernés par la coopération avec les lymphocytes B (immunité humorale).

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

Notion de lymphocytes T suppresseurs ou T régulateurs

La réalité du phénomène de suppression et l'existence de lymphocytes T exerçant des fonctions suppressives ont été démontrées depuis les années 70 par des expériences d'induction et de transfert de tolérance à hautes et à basses doses d'Ag. On a pendant longtemps attribué abusivement cette fonction de suppression aux lymphocytes T cytotoxiques $CD8^+$ qui étaient ainsi désignés lymphocytes T cytotoxiques /suppresseurs (Tc/s). Cependant toutes les tentatives cherchant, depuis plus de 30 ans, à identifier une sous population de lymphocytes T spécialisés dans la suppression ont été vaines et tout laisse à penser que plusieurs sous-populations de lymphocytes T peuvent exercer une fonction suppressive au même titre que d'autres activités. L'identification des sous-populations TH1 et TH2 parallèlement à la caractérisation de cytokines à fonction suppressive (IL10, TGF-β...) a conforté cette vision et la plupart des auteurs utilisent maintenant le terme de lymphocytes **T régulateurs** (Treg) pour désigner ces lymphocytes T qui

contrôlent les fonctions des autres lymphocytes et qui sont habituellement des cellules T $CD4^+$ $CD25^+$.

5/ Sous-populations :

A côté des **lymphocytes T α/β conventionnels** qui représentent près de 90% des lymphocytes T périphériques et sont caractérisés par l'expression d'un TCR de type α/β avec l'une l'autre des 2 molécules corécepteurs CD4 ou CD8 et la reconnaissance de peptides antigéniques présentés en association à des molécules HLA classe I ou classe II, il existe 2 sous-populations minoritaires de lymphocytes T : les lymphocytes T γ/δ et les lymphocytes TNK.

Les **cellules T γ/δ** représentent moins de 5% des lymphocytes T périphériques mais constituent la population principale des cellules T de la peau et des muqueuses.

Les lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) sont habituellement des lymphocytes T γ/δ $CD8^+$, les autres cellules T γ/δ sont des cellules T double négatives $CD4^-$ $CD8^-$

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

Les **cellules TNK (ou NKT)** se présentent comme une petite population de lymphocytes T α/β $CD4^+$ ou double négatifs $CD4^-$ $CD8^-$ qui se distinguent des lymphocytes T α/β conventionnels par l'expression du marqueur NK1.1 (CD161) des cellules NK, un répertoire TCR de diversité très limité (avec une chaîne α quasi-invariante et une chaîne β de diversité restreinte), la reconnaissance de

l'antigène avec une molécule de CMH non classique, le CD1d et la réponse rapide aux sollicitations antigéniques par la production explosive d'un large éventail de cytokines. Les cellules NKT semblent avoir pour vocation de reconnaître des antigènes glycolipidiques.

V- Conclusion

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

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

Références

1- Immunology IV, Clinical Applications in Health and Disease. Joseph A. Bellanti. I Care Press 2012.

2- Immunobiologie. Charles A. *Janeway, Kenneth Murphy, Paul Travers, Marc Walport, 3ème édition française, traduction de la 7ème édition anglaise par Pierre L. Masson.* De Boeck, 2009.

3- Fondements de l'Immunologie. Peter J. *Delves, Seamus J. Martin, Dennis R. Burton, Ivan M. Roitt, traduction de la 7ème édition anglaise par Pierre Masson*. De Boeck, 2008.

4- Atlas de Poche d'Immunologie. *G. Burmester, A. Pezzutto*. Traduction

française par P. V. Endert, 2ème édition. Médecine-Sciences Flammarion, 2005.

5- Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. *Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman*. Traduction de la 2ème édition anglaise. Elsevier, 2005.

6- Immunologie. Aide-mémoire illustré. David Male. Traduction de la 4ème édition anglaise par *Paul Fonteneau*. De Boeck, 2002.

7- Immunologie. Jean Pierre *Revillard avec la collaboration de l'Association des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue Française (ASSIM).* De Boeck, 2001.

8- Immunologie. Le cours de Janis Kuby. Avec questions de révision. *Richard A. Goldsby, Thomas J. Kindt, Barbara A. Osborne. Traduction de la 4ème édition anglaise par Serge Weinman.* Dunod, 2001.

9- Immunologie Fondamentale. *Hatem Masmoudi et Amel Ben Ammar El-Gaaied.* Centre de Publication Universitaire, Tunis. 2000.

10- Immunologie. *I.M Roitt, J. Brostoff, D.K Male*. De Boek Université, 1994.

11- 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- Immunologie générale ASSIM. *Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990.

17- Méthodes en Immunologie. ASSIM. *Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990

18- Cours d'Immunologie générale de l'Institut Pasteur de Paris. 1989, 1993.

19- Cours d'Immunopathologie de l'Institut Pasteur de Paris. 1988, 1992.

20- Différenciation lymphocytaire B normale
Anne Plonquet
Revue Francophones des Laboratoires, Mai 2013, n° 452, 27-35.