

Chapitre II : Développement lymphocytaire des cellules T et B

1. Développement des lymphocytes T

1.1. Maturation des cellules T

Dans le thymus, les cellules T en cours de développement connues sous le nom de thymocytes, prolifèrent et se différencient selon plusieurs voies différentes de développement qui créent des sous-populations fonctionnellement distinctes de cellules T. Le développement des cellules T commence par l'arrivée d'un petit nombre de précurseurs lymphoïdes migrant du sang dans le thymus, où ils prolifèrent, se différencient et subissent les processus de sélection qui aboutissent au développement de cellules T matures.

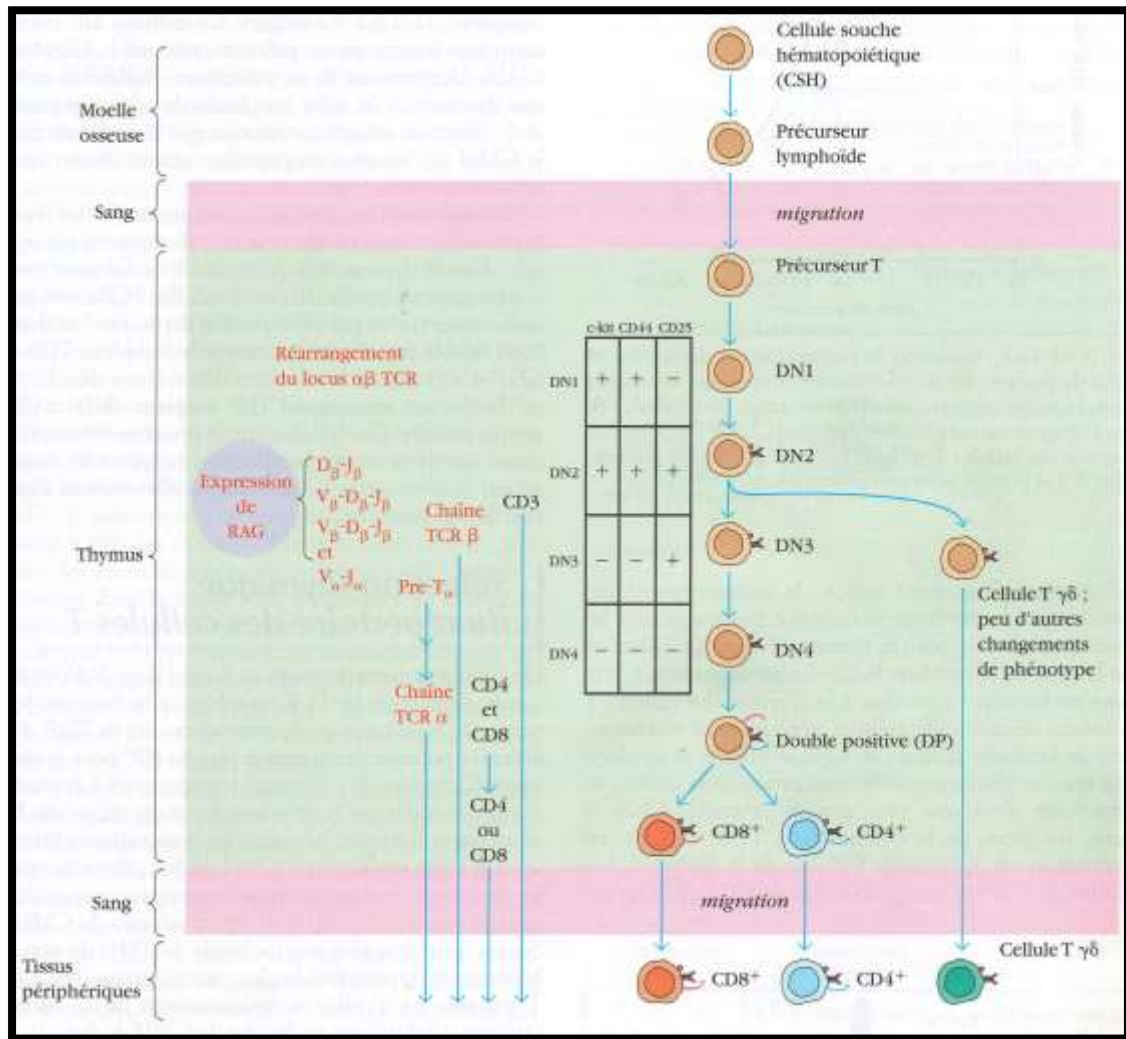


Figure 1

Comme indiqué à la figure 1, lorsqu'elles parviennent au thymus, les cellules T progénitrices n'expriment pas les molécules de surface caractéristiques des cellules T, telles que le complexe TCR/CD3, le CD4 ou le CD8.

En fait, ces cellules progénitrices n'ont pas encore réarrangé leurs gènes des TCR et n'expriment pas les protéines, telles que RAG-1 et RAG-2, nécessaires pour le réarrangement. Après leur arrivée dans le thymus ces précurseurs des cellules T pénètrent dans le cortex superficiel et commencent à proliférer lentement. Au cours des trois semaines, approximativement, de développement dans le thymus, les cellules T en cours de différenciation passent par toute une série de stades marqués par des changements caractéristiques du phénotype de leur surface cellulaire. Par exemple, les thymocytes au début de leur développement n'ont pas de CD4 ou de CD8 détectable ; ces cellules CD4⁻CD8⁻ sont appelées cellules double négatives (DN).

Les cellules T (DN) peuvent en fait être subdivisées en quatre sous-populations (DN1 à DN4) caractérisées par la présence ou l'absence de molécules de surface cellulaire, autres que CD4 et CD8, comme c-Kit : le récepteur pour le facteur de croissance des cellules souches, CD44 : une molécule d'adhésion et CD25 : une chaîne α du récepteur de l'IL-2. Les cellules qui entrent dans le thymus, les cellules DN1, sont capables de produire toutes les sous-populations de cellules T et ont le phénotype d'expression de surface c-kit⁺, CD44^{high} et CD25⁻ (**Figure 1**).

Après que les cellules DN1 ont rencontré l'environnement thymique, elles commencent à proliférer et à exprimer CD25⁺, c-kit⁺, et CD44^{low}. Ces cellules sont appelées cellules DN2. Au stade critique de développement DN2, commence le réarrangement des gènes codant les chaînes TCR γ , TCR δ et TCR β ; en revanche, le locus TCR α ne réarrange pas à ce stade, vraisemblablement parce que la région d'ADN comprenant ce locus est fortement compactée et ainsi rendue non accessible à la machinerie de recombinaison.

Alors que les cellules progressent vers le stade DN3, l'expression de c-kit et CD44 est stoppée, et les réarrangements TCR γ , TCR δ et TCR β progressent. Les cellules destinées à devenir des cellules T $\gamma\delta$ (< 5 % des thymocytes matures) divergent à la transition entre les stades DN2 et DN3 et mûrissent en cellules T $\gamma\delta$ sans grand changement de leur phénotype de surface.

La plupart des cellules DN2 sont destinées à donner des cellules T $\alpha\beta$. En acquérant le phénotype DN3 (c-kit-, CD44, CD25⁺), ces cellules arrêtent de proliférer et les protéines produites des réarrangements TCR β sont détectées dans le cytoplasme de ces cellules. Les chaînes β nouvellement synthétisées s'associent avec une glycoprotéine de 33 kDa, la chaîne pré-T α et avec les molécules CD3 pour former un complexe appelé **pré-TCR (Figure 2)**.

La formation du pré-TCR active une cascade de transduction de signal qui a plusieurs conséquences :

- Elle supprime le réarrangement ultérieur des gènes de la chaîne β du TCR.
- Elle active le réarrangement de la chaîne α du TCR.
- Elle induit la progression développementale vers l'état double positif CD4⁺8⁺.
- Elle stimule l'expansion et la maturation ultérieures.

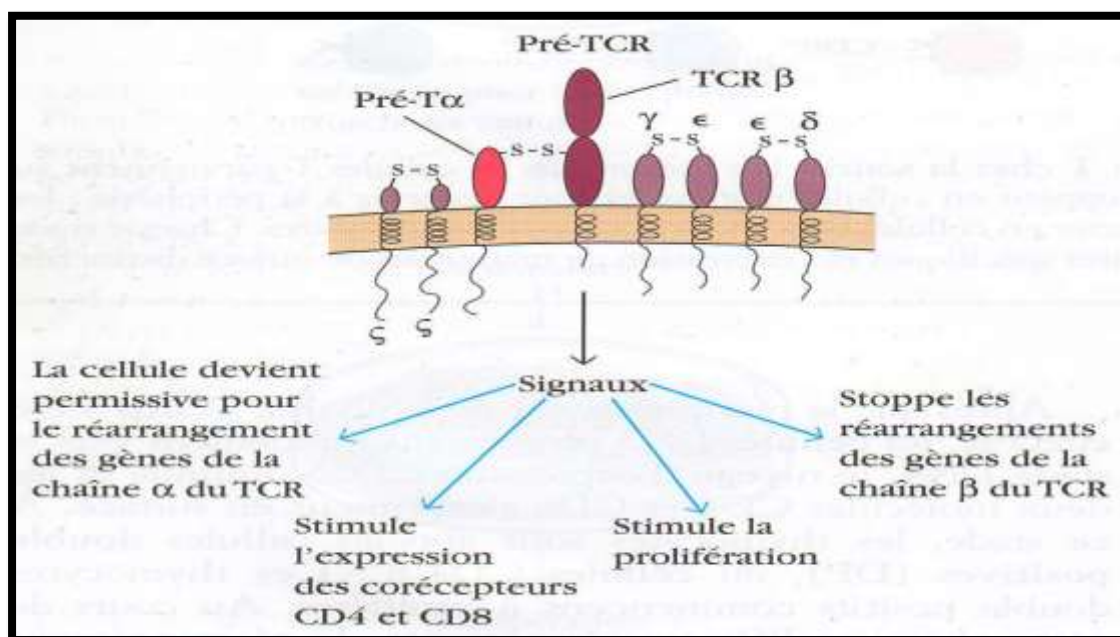


Figure 2

Après que le réarrangement de la chaîne TCR β a été effectué, les cellules DN3 progressent rapidement vers le stade DN4, le niveau d'expression CD25 diminue et les deux molécules CD4 et CD8 s'expriment en surface. À ce stade, les thymocytes sont appelés cellules double positives (DP), ou cellules CD4⁺8⁺. Ces thymocytes double positifs commencent à proliférer.

A partir du moment de la différenciation où une cellule T a réarrangé la chaîne α du TCR et commence à exprimer un complexe TCR/CD3 complet, les cellules DP n'expriment plus les marqueurs précoces, tels que le CD44 et le CD25. L'expression de ce complexe TCR/CD3 permet aux thymocytes de subir les phases de sélection positive et de sélection négative orientées par le CMH du Soi et le CMH du Soi plus un peptide.

1.2. Sélection thymique du répertoire des cellules T

Les thymocytes subissent deux processus de sélection dans le thymus :

- **La sélection positive** : elle assure la restriction au CMH, elle s'effectue dans la région corticale du thymus et implique l'interaction des thymocytes immatures et des cellules épithéliales corticales (Figure 3). Certains chercheurs ont suggéré que l'interaction des thymocytes immatures CD4⁺8⁺ avec les cellules épithéliales thymiques, médiée par les récepteurs des cellules T restreintes au CMH, permet aux cellules de recevoir un signal protecteur qui les empêche de subir une mort cellulaire ; les cellules dont les récepteurs ne sont pas restreints au CMH et qui, par conséquent, ne sont pas capables de se lier aux molécules du CMH, n'entreraient pas en interaction avec les cellules épithéliales thymiques et, par conséquent, ne recevraient pas le signal protecteur, ce qui conduit à leur mort par apoptose.

- **La sélection négative** : elle assure la tolérance au Soi. La population de thymocytes restreints au CMH qui survivent à la sélection positive comprend certaines cellules possédant des récepteurs de faible affinité pour un auto-antigène présenté par des molécules du CMH du Soi ainsi que d'autres cellules dotées de récepteurs de haute affinité. Les thymocytes exprimant un TCR de haute affinité sont éliminés par sélection négative.

Au cours de cette sélection, les cellules dendritiques et les macrophages qui portent des molécules de classe I ou de classe II du CMH entrent en interaction avec les thymocytes possédant des récepteurs de haute affinité d'un auto-antigène associé à des molécules du CMH du Soi ou de molécules du CMH du Soi seules (**Figure 3**). L'interaction implique le TCR du thymocyte qui subit la sélection et les molécules du CMH des cellules médiatrices de la sélection négative, mais les détails précis de ce processus ne sont pas encore connus.

Les deux processus sont nécessaires pour créer des cellules T matures qui soient restreintes au CMH du Soi et auto-tolérantes ; quelque 98%, ou plus, des thymocytes totaux meurent par apoptose dans le thymus.

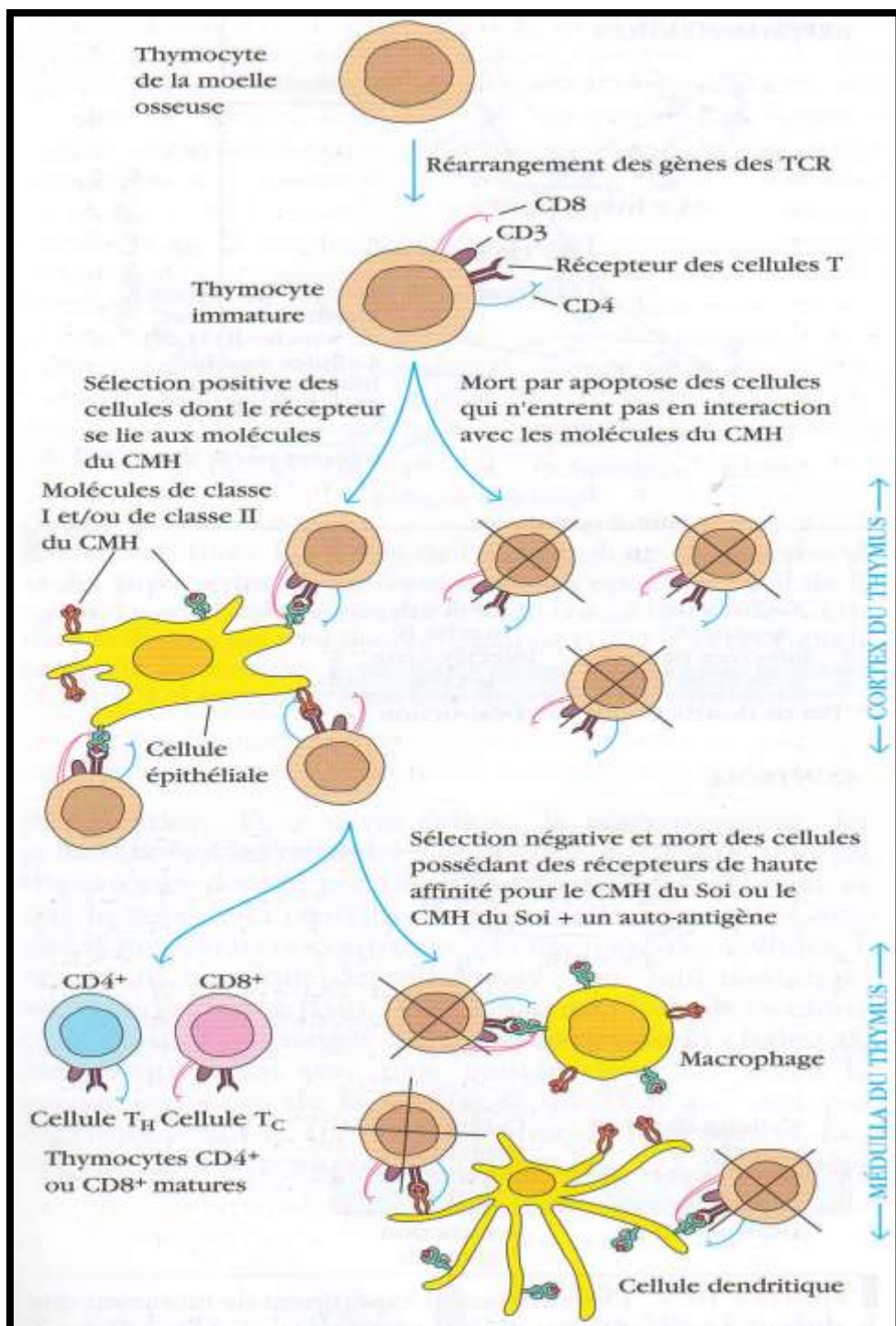


Figure 3

1.3. Activation et prolifération des cellules T

Les cellules T CD4⁺ et les cellules T CD8⁺ quittent le thymus puis entrent dans la circulation en tant que cellules au repos en phase G0 du cycle cellulaire. Les cellules T qui n'ont pas encore rencontré d'antigène (cellules T naïves) sont caractérisées par une chromatine condensée, très peu de cytoplasme, et peu d'activité transcriptionnelle. Les cellules naïves recirculent pour augmenter les chances de rencontrer l'antigène parce que seulement environ 1 cellule T naïve sur 105 est spécifique d'un antigène donné et cette recirculation à grande échelle augmente les chances qu'une cellule T naïve rencontre l'antigène approprié.

1.3.1. Signaux d'activation des cellules T

L'événement central de la création des réponses immunitaires humorale ou à médiation cellulaire est l'activation et l'expansion clonale des cellules T par le peptide antigénique apprêté lié à une molécule de CMH de classe I (cellules CD8) ou de classe II (cellules CD4) à la surface. L'activation des cellules T est initiée par l'interaction du complexe TCR-CD3 et d'un peptide antigénique apprêté lié à une molécule de classe II du CMH à la surface d'une cellule présentatrice de l'antigène. Cette interaction et les signaux activateurs qui en résultent impliquent aussi diverses molécules membranaires accessoires présentes sur la cellule T et sur la cellule présentatrice de l'antigène. Il existe deux signaux distincts pour l'activation et la prolifération subséquente des cellules T naïves en cellules effectrices :

- Le signal initial (signal 1) est créé par interaction d'un peptide antigénique et du complexe TCR-CD3.
- Un signal ultérieur de costimulation non spécifique de l'antigène (signal 2) est fourni essentiellement par les interactions entre le CD28 de la surface de la cellule T et les membres de la famille B7 de la surface de l'APC (**Figure 4**).

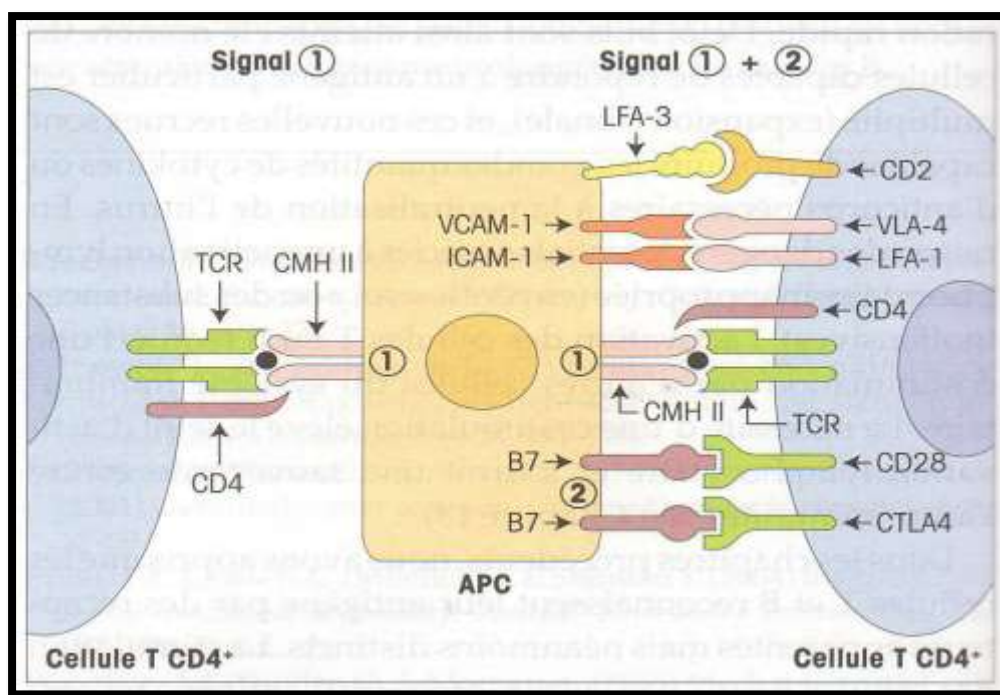


Figure 4

L'interaction d'une cellule T_H et d'un antigène initie une cascade d'événements biochimiques qui induit la cellule T au repos à entrer dans le cycle cellulaire, à proliférer et à se différencier en cellules mémoires ou en cellules effectrices. La cellule T activée progresse dans le cycle cellulaire, en proliférant et en se différenciant en cellules à mémoire ou en cellules effectrices (**Figure 5**). Après que les cellules T sont entrées en interaction avec l'antigène, de nombreux gènes sont activés. Les produits des gènes qui apparaissent peuvent être groupés en trois catégories en fonction du moment où ils peuvent être détectés après la reconnaissance de l'antigène :

Les gènes immédiats : exprimés dans la demi-heure qui suit la reconnaissance de l'antigène ; ils codent de nombreux facteurs de transcription, y compris c-Fos, c-Myc, c-Jun, NF-AT et NF-κB.

Les gènes précoces : exprimés dans les 1-2 h qui suivent la reconnaissance de l'antigène ; ils codent l'IL-1, l'IL-2R (le récepteur de l'IL-2), l'IL-3, l'IL-6, l'IFN-γ et de nombreuses autres protéines.

Les gènes tardifs : exprimés plus de 2 jours après la reconnaissance de l'antigène ; ils codent diverses molécules d'adhésion.

1.3.2. Création des cellules T effectrices et des cellules T à mémoire

Comme il a été décrit précédemment, l'activation dépend d'un signal induit par l'engagement du complexe TCR et d'un signal de costimulation induit par l'interaction CD28-B7. Ces signaux déclenchent l'entrée de la cellule T dans la phase G1 du cycle cellulaire et simultanément, induisent la transcription des gènes de l'IL-2 et de la chaîne α du récepteur de haute affinité de l'IL-2 (CD25). De plus, le signal de costimulation augmente la demi-vie de l'ARNm de l'IL-2. L'augmentation de la transcription de l'IL-2, de concert avec la stabilisation de l'ARNm de l'IL-2, augmente la production de l'IL-2 d'un facteur 100 dans les cellules T activées. La sécrétion de l'IL-2 et sa liaison subséquente au récepteur de haute affinité de l'IL-2 amènent la cellule T naïve activée à proliférer et à se différencier (Figure 4). Les cellules T activées engagées dans cette voie se divisent 2 à 3 fois par jour pendant 4 à 5 jours, créant un large clone de cellules progénitrices qui se différencient en populations de cellules T à mémoire ou de cellules T effectrices.

Les diverses cellules T effectrices assurent des fonctions spécialisées, telles que la sécrétion de cytokines et l'aide aux cellules B (cellules T_H CD4⁺ activées) ainsi qu'une activité cytotoxique (CTL CD8⁺). Les cellules effectrices sont dérivées des cellules naïves ou des cellules à mémoire après activation par l'antigène. Les cellules effectrices sont des cellules dont la durée de vie est courte, allant de quelques jours à quelques semaines.

Les cellules T effectrices CD4⁺ forment deux sous-populations caractérisées par des profils différents des cytokines qu'elles sécrètent :

- Une population, appelée sous-population T_H1, sécrète de l'IL-2, de l'IFN- γ et du TNF- β . La sous-population T_H1 est responsable des fonctions à médiation cellulaire classiques, telles que l'hypersensibilité retardée et l'activation des lymphocytes T cytotoxiques.
- L'autre sous-population, appelée sous-population T_H2, sécrète de l'IL-4, de l'IL-5, de l'IL-6 et de l'IL-10. Cette sous-population intervient essentiellement dans l'activation des cellules B.

Les cellules T à mémoire, induites par l'antigène, ont généralement une grande longévité et sont des cellules au repos qui répondent avec une réactivité accrue à une

épreuve antigénique suivante avec le même antigène, produisant une réponse secondaire. En général les cellules T à mémoire expriment plusieurs marqueurs de surface communs avec les cellules T effectrices ; aucun marqueur de surface ne caractérise clairement les cellules T à mémoire.

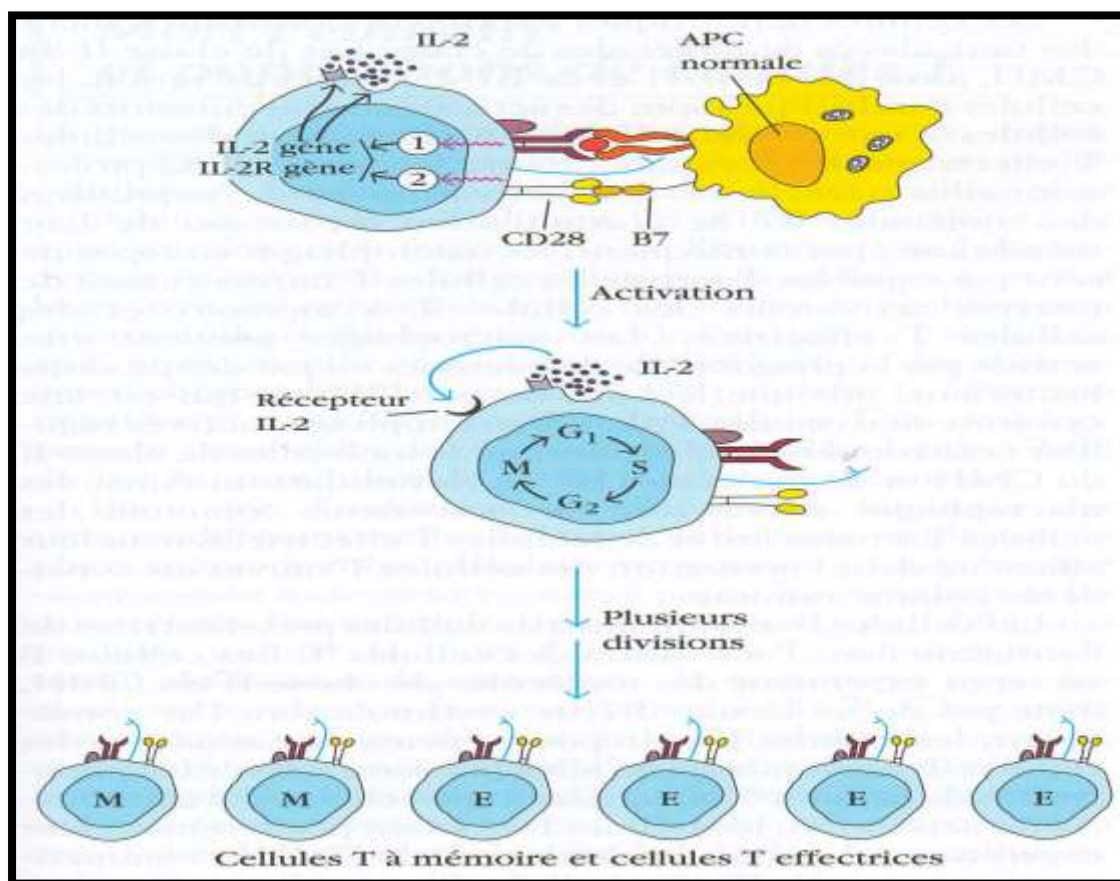


Figure 5

2. Développement des lymphocytes B

2.1. Maturation des cellules B

Le développement des cellules B commence lorsque les précurseurs lymphoïdes se différencient en la première cellule possédant les caractéristiques de la lignée B, la cellule progénitrice B (cellule pro-B), qui exprime une tyrosine phosphatase transmembranaire appelée CD45R (appelée parfois 8220 chez la souris).

Au premier stade du développement, les cellules pro-B ont besoin d'un contact direct avec les cellules stromales de la moelle osseuse. Cette interaction est médiée par diverses molécules d'adhésion cellulaire, y compris le VLA-4, à la surface de la cellule pro-B, et son ligand, le VCAM-1, à la surface de la cellule stromale (**Figure 6**).

Après qu'un contact initial ait été établi, un récepteur de la surface de la cellule pro-B, appelé c-Kit, entre en interaction avec une molécule de la surface de la cellule stromale connue sous le nom de facteur de croissance des cellules souches (SCF de stem-cell factor). Cette interaction active le c-Kit, qui est une tyrosine kinase qui stimule dans la cellule pro-B l'expression des récepteurs de l'IL 7 et la cellule commence à se diviser et à se différencier en une cellule pré-B. En interagissant avec ce récepteur, l'IL-7 sécrétée par les cellules stromales active le processus de maturation, ce qui conduit finalement à une régulation négative de l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules pré-B, de telle façon que les cellules proliférantes puissent se détacher des cellules stromales. À ce stade, les cellules pré-B n'ont plus besoin d'un contact direct avec les cellules stromales, mais elles ont toujours besoin de l'IL-7 pour leur croissance et leur maturation.

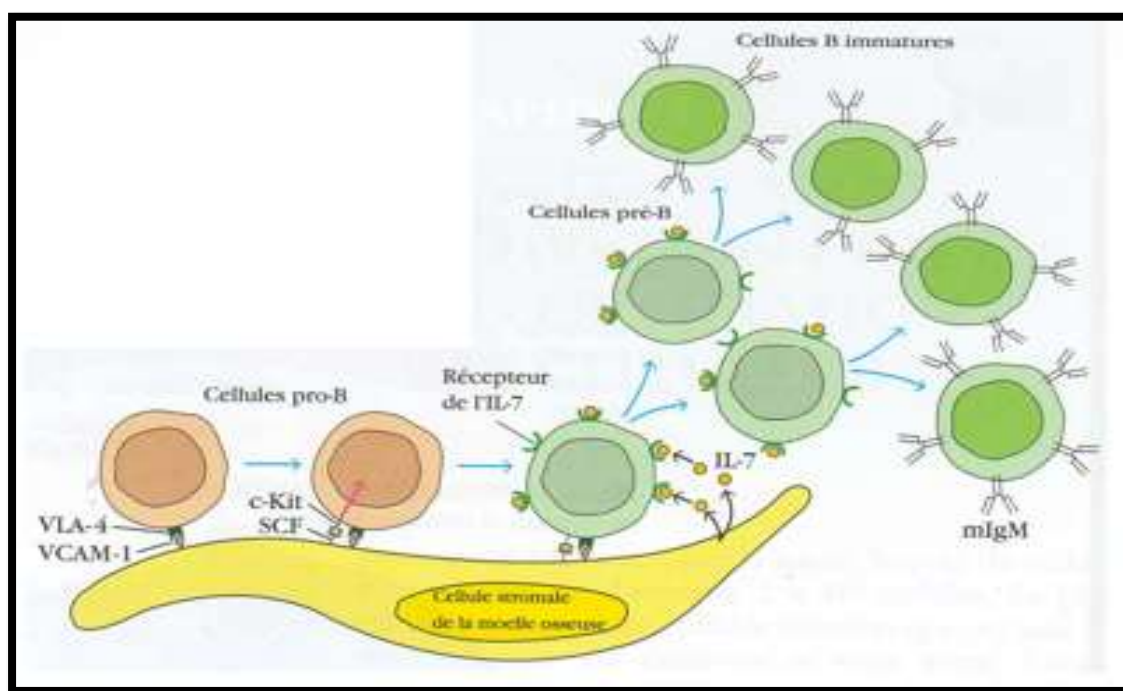


Figure 6

La maturation des cellules B dépend du réarrangement de l'ADN des immunoglobulines dans les cellules souches hématopoïétiques. Le premier à se produire au stade de la cellule pro-B est le réarrangement d'un gène de chaîne lourde D_H et d'un gène J_H ; ce réarrangement est suivi d'un réarrangement d'un gène V_H et d'un gène D_HJ_H . A la fin du réarrangement de la chaîne lourde, la cellule est classée comme cellule pré-B. La continuation du développement d'une cellule pré-B en une cellule B immature nécessite un réarrangement du gène de la chaîne légère.

Comme on pouvait l'attendre, les recombinaisons RAG-1 et RAG-2, qui sont nécessaires au réarrangement des gènes de la chaîne lourde et de la chaîne légère, sont exprimées au cours des stades cellulaires pro-B et pré-B (**Figure 7**). La désoxyribonucléotidyltransférase terminale (TdT), qui catalyse l'insertion des nucléotides N au niveau des jonctions codantes D_H-J_H et V_H-D_H-J_H, est active lors du stade cellulaire pro-B, mais cesse de l'être très tôt dans le stade cellulaire pré-B. Étant donné que l'expression de la TdT est arrêtée lorsque se produit le réarrangement de la chaîne légère dans les cellules pré-B, les nucléotides N ne sont pas présents dans les jonctions codantes V_L-J_L.

La phase de développement des lymphocytes B qui se passe dans la moelle osseuse conduit à la génération de cellules B immatures exprimant une mIgM à ce stade du développement, les cellules B ne sont pas totalement fonctionnelles et l'engagement du BCR par un antigène induit une mort ou une non-réponse (anergie) des cellules plutôt qu'une division et une différenciation. La maturation complète des cellules implique la co-expression d'une IgM et d'une IgD membranaires. Bien que l'IgD soit un marqueur de surface caractéristique des cellules B matures naïves, sa fonction n'est pas claire dans ces cellules.

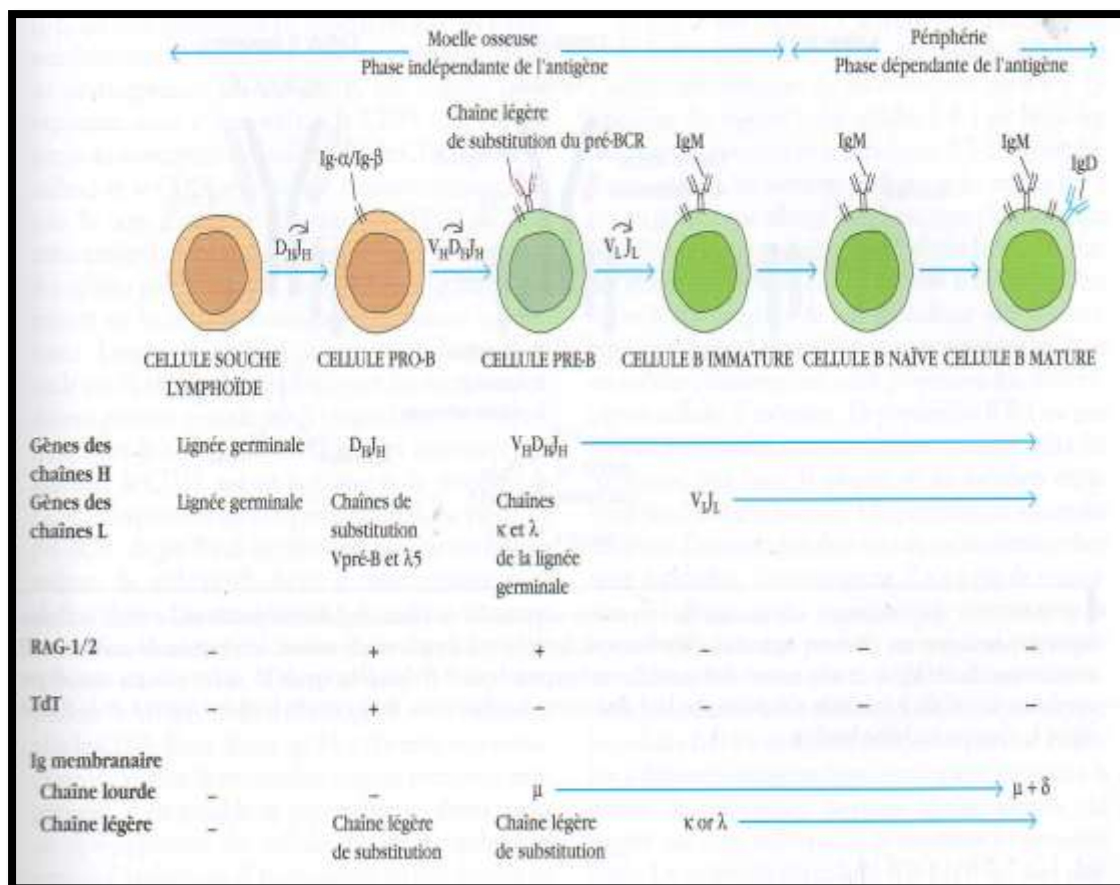


Figure 7

Au cours d'un stade du développement des cellules T, la chaîne β du récepteur des cellules T s'associe à la chaîne pré-Tα pour former le récepteur des cellules pré-T. Une situation semblable se produit lors du développement des cellules B. Dans la cellule pré-B, la chaîne membranaire est associée à un complexe inhabituel de chaîne légère appelé chaîne légère de substitution. Ce complexe est constitué de deux protéines : une séquence de type V, appelée V_{pré-B}, et une séquence de type C, appelée λ5, qui s'associent de façon non covalente pour former une structure de type chaîne légère.

La chaîne légère de remplacement apparaît sur les cellules pré-B sous la forme d'un complexe constitué de la chaîne lourde membranaire de la chaîne légère de substitution associées à l'hétérodimère Igα/Igβ pour former le récepteur des cellules pré-B (**Figure 8**). Le récepteur des cellules pré-B transmet ainsi un signal à la cellule pré-B qui arrête le réarrangement de V_H à D_H-J_H de l'autre allèle de chaîne lourde.

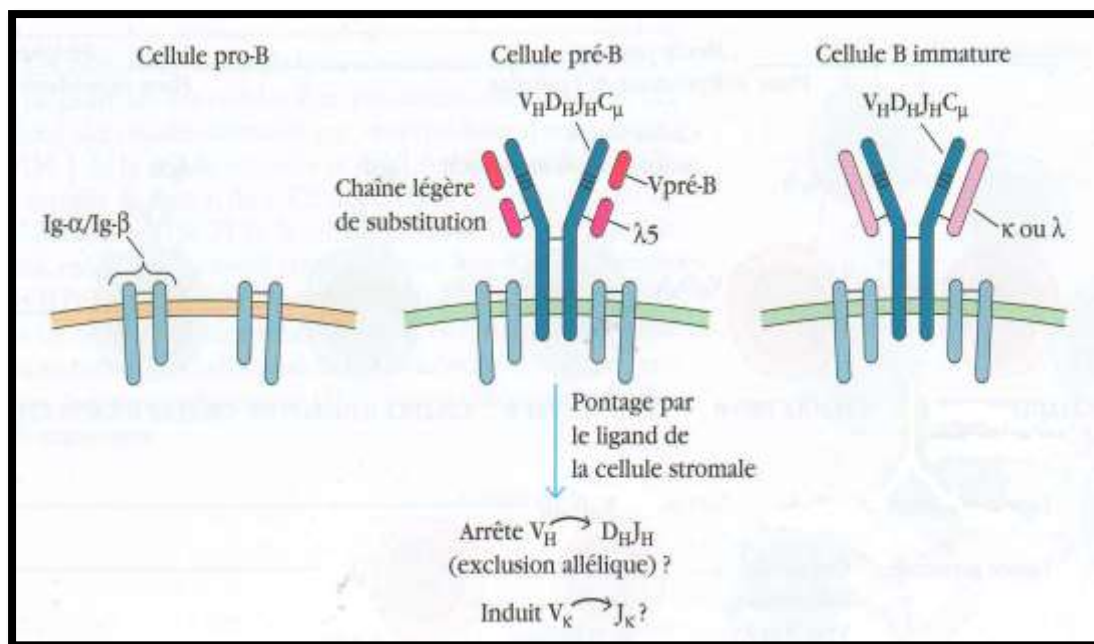


Figure 8

2.2. Sélection négative des cellules B

On estime que la moelle osseuse produit environ 5×10^7 cellules B/jour, mais que seulement 5×10^6 (soit environ 10%) sont réellement recrutées dans le pool des cellules B recirculantes. Ceci signifie que 90% des cellules B produites chaque jour meurent sans même quitter la moelle osseuse. Une partie de cette perte est attribuable à une sélection négative, suivie d'une élimination (délétion clonale) des cellules B immatures qui expriment des auto-anticorps contre les antigènes du Soi dans la moelle osseuse. Des chercheurs ont montré que la sélection négative des cellules B immatures ne conduit pas toujours à leur délétion immédiate. Au lieu de cela, la maturation de la cellule autoréactive est arrêtée pendant que la cellule B "édite" (corrige) le gène des chaînes légères de son récepteur.

Lorsque certaines cellules B immatures se lient à un auto-antigène, leur maturation est arrêtée ; les cellules régulent positivement l'expression de RAG-I et de RAG-2 et commencent le réarrangement ultérieur de l'ADN de leurs chaînes légères endogènes. Certaines de ces cellules réussissent à remplacer la chaîne légère de l'anticorps réactif vis-à-vis de l'auto-antigène par une chaîne légère différente codée par des segments géniques endogènes. Il en résulte que ces cellules commenceront à exprimer une mIgM "éditée" (corrigée) avec une chaîne légère différente. Si l'utilisation d'une chaîne légère différente aboutit à un BCR non auto-réactif, ces cellules échapperont à la sélection négative et quitteront la moelle osseuse. Des études récentes suggèrent que l'editing du

récepteur est l'un des mécanismes majeurs permettant la tolérance à un antigène exprimé dans la moelle osseuse.

2.3. Activation et prolifération des cellules B

Les étapes suivantes du développement des cellules B, l'activation, la prolifération et la différenciation se produisent à la périphérie et nécessitent la présence de l'antigène. L'activation déclenchée par l'antigène et la sélection clonale des cellules B naïves conduisent à la génération de plasmocytes et de cellules B à mémoire. En l'absence d'activation induite par l'antigène, les cellules B naïves de la périphérie ont une durée de vie courte, et meurent en quelques semaines par apoptose.

2.3.1. Les types d'antigènes des cellules B

Selon la nature de l'antigène, l'activation des lymphocytes B qui aboutit à la production d'anticorps se fait selon deux voies différentes.

En effet, des chercheurs ont montré que, bien que la plupart des antigènes requièrent une implication directe des lymphocytes T (**antigènes thymodépendants TD**), quelques antigènes peuvent induire une réponse anticorps même en l'absence d'un thymus (**antigènes thymo-indépendants TI**) ; ces derniers sont de deux types : les antigènes thymo-indépendants de type I (TI-I) et les antigènes thymo-indépendants de type II (TI-II).

La plupart **des antigènes TI- 1** sont des activateurs polyclonaux des cellules B (des mitogènes), c'est-à-dire qu'ils sont capables d'activer les cellules B indépendamment de leur spécificité antigénique. Le lipopolysaccharide (LPS) est un composant majeur des parois cellulaires des bactéries gram-négatives. Le LPS interagit avec deux récepteurs différents à la surface des cellules B ; l'un de ces récepteurs est le TLR4 (Toll-Like Receptor 4), l'autre récepteur est le BCR (**Figure 9**). Seuls quelques membres de la population totale de cellules B expriment un BCR spécifique du LPS, mais tous expriment le TLR4. Les cellules dont le BCR reconnaît le LPS sont stimulées par deux voies indépendantes, initiées par le BCR pour l'une et par le TLR4 pour l'autre. Cette stimulation conduit à une division des cellules B et à une sécrétion d'anticorps anti-LPS par ces cellules. L'interaction du LPS avec les TLR4 exprimés à la surface des autres cellules B (dont le BCR ne reconnaît pas le LPS) induit une division et une différenciation en cellules sécrétrices d'anticorps. L'activation d'un grand nombre de clones B différents par le LPS permet la production d'une grande diversité d'anticorps,

dont certains peuvent interagir avec les bactéries gram-négatives et permettre leur neutralisation.

Certains antigènes linéaires qui ne sont pas facilement dégradés dans le corps et qui ont un déterminant hautement répété et à intervalle approprié, comme un polysaccharide de *Pneumococcus*, des polymères d'acides aminés, sont aussi thymo-indépendants puisque capables de stimuler les cellules B directement sans intervention de cellules T. Ils persistent durant de longues périodes à la surface de macrophages spécialisés et peuvent se lier à des cellules B spécifiques de ces antigènes avec une forte avidité en raison de leurs liaisons multivalentes aux récepteurs Ig qu'ils interconnectent (**Figure 9**).

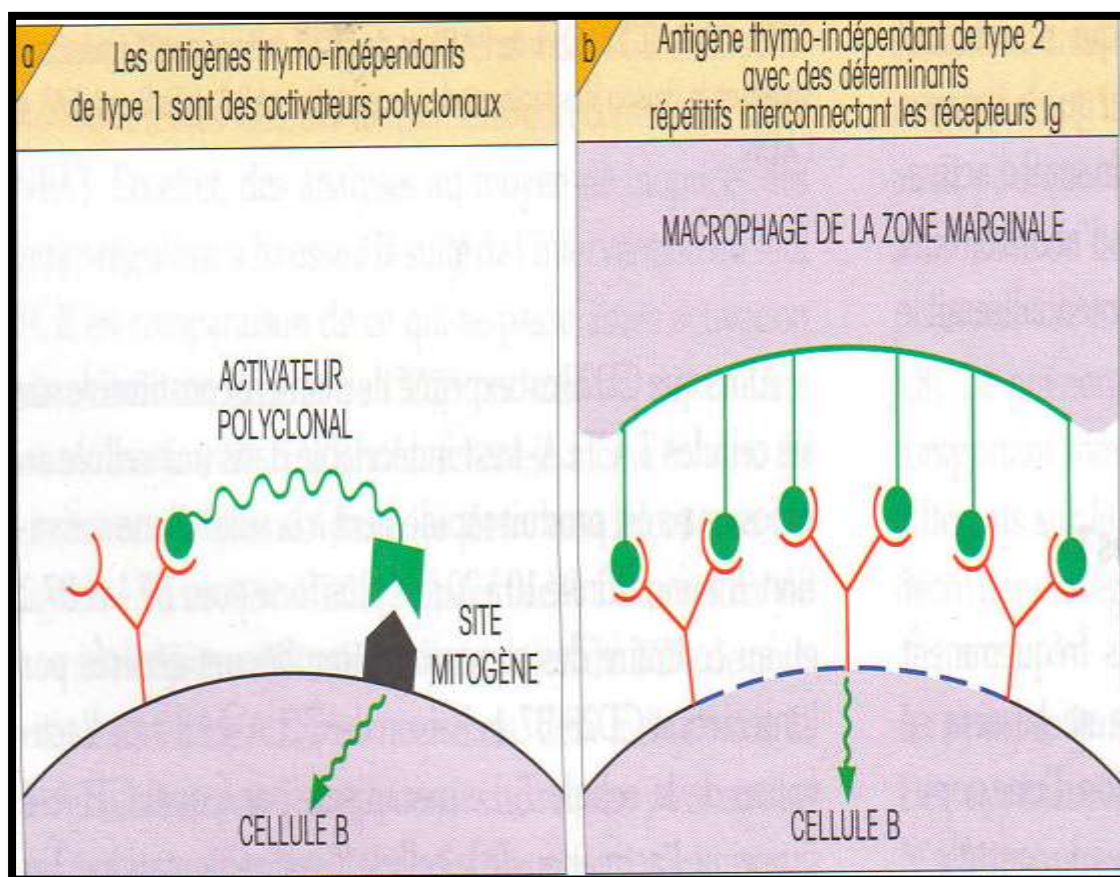


Figure 9

La réponse humorale aux antigènes thymo-indépendants est différente de la réponse aux antigènes thymodépendants (**Tableau**). La réponse aux antigènes TI est généralement faible, les cellules à mémoire ne sont pas formées et l'IgM est l'anticorps sécrété prédominant, ce qui reflète un faible niveau de commutation de classe. Ces

différences mettent en lumière le rôle important joué par les cellules Th dans la création des cellules B à mémoire, la maturation de l'affinité et la commutation de classe vers d'autres isotypes.

Tableau

Propriétés	ATD	ATI type 1	ATI type 2
Nature chimique	Protéine soluble	Composant de la paroi cellulaire bactérienne (LPS)	Protéines polymériques : polysaccharides capsulaires
<u>Réponse humorale</u>			
- Commutation de l'isotype	Oui	Non	Non
- Maturation de l'affinité	Oui	Non	Non
- Mémoire immunitaire	Oui	Non	Non
- Activation polyclonale	Non	Oui (à fortes doses)	Non

2.3.2. Activation des cellules B par un antigène thymodépendant

L'activation des cellules B par des antigènes protéiques solubles nécessite l'implication de cellules Th. Dans ce cas, la liaison d'un antigène à la mlg n'induit pas un signal de compétence efficace, et une interaction supplémentaire avec des molécules membranaires de la cellule Th est nécessaire pour induire l'activation de la cellule B. De plus, une progression médiée par des cytokines est nécessaire à la prolifération des cellules B. ce processus est considérablement plus complexe que l'activation induite par les antigènes TI.

Après la liaison de l'antigène par la mlg des cellules B l'antigène est internalisé par endocytose médiée par un récepteur, puis apprêtée en peptides dans la voie endocytaire. La liaison de l'antigène initie aussi un signal venant du BCR qui induit la cellule B à réguler positivement l'expression de nombreuses molécules membranaires, y compris les molécules de classe II du CMH et le ligand B7 de costimulation (**Figure 10**). L'augmentation de l'expression de ces deux protéines membranaires augmente la capacité de la cellule B à se comporter en cellule présentatrice de l'antigène dans l'activation des cellules T.

Une fois qu'une cellule Th a reconnu un peptide antigénique apprêté présenté par une molécule de classe II du CMH sur la membrane d'une cellule B, les deux cellules

entrent en interaction pour former un conjugué T-B conduisant à une réorganisation structurale qui peut faciliter la libération de cytokines en direction de la cellule B spécifique de l'antigène.

La formation d'un conjugué T-B ne conduit pas uniquement à la libération directionnelle de cytokines de la cellule Th, mais aussi à la régulation positive de l'expression du CD40L (CD154), qui est une protéine membranaire des cellules Th qui entre alors en interaction avec le CD40 des cellules B pour fournir un signal qui s'ajoute au signal créé par les liaisons croisées entre les mlg (signal 1), pour amener la cellule B en G₁. Les signaux du CD40 sont transmis par de nombreuses voies de signalisation intracellulaires, ce dont il résulte finalement des changements dans l'expression des gènes. Ainsi ; la cellule B commence à exprimer des récepteurs membranaires de plusieurs cytokines, telles que l'IL-2, l'IL-4, l'IL-5, ou encore d'autres cytokines. Ces récepteurs se lient ensuite aux cytokines produites par la cellule Th qui entre en interaction. Les signaux produits par ces interactions cytokine-récepteur favorisent la prolifération des cellules B et peuvent induire la différenciation.

Parmi ces événements de différenciation figurent la formation de plasmocytes et de cellules B à mémoire, la commutation de classe et la maturation de l'affinité.

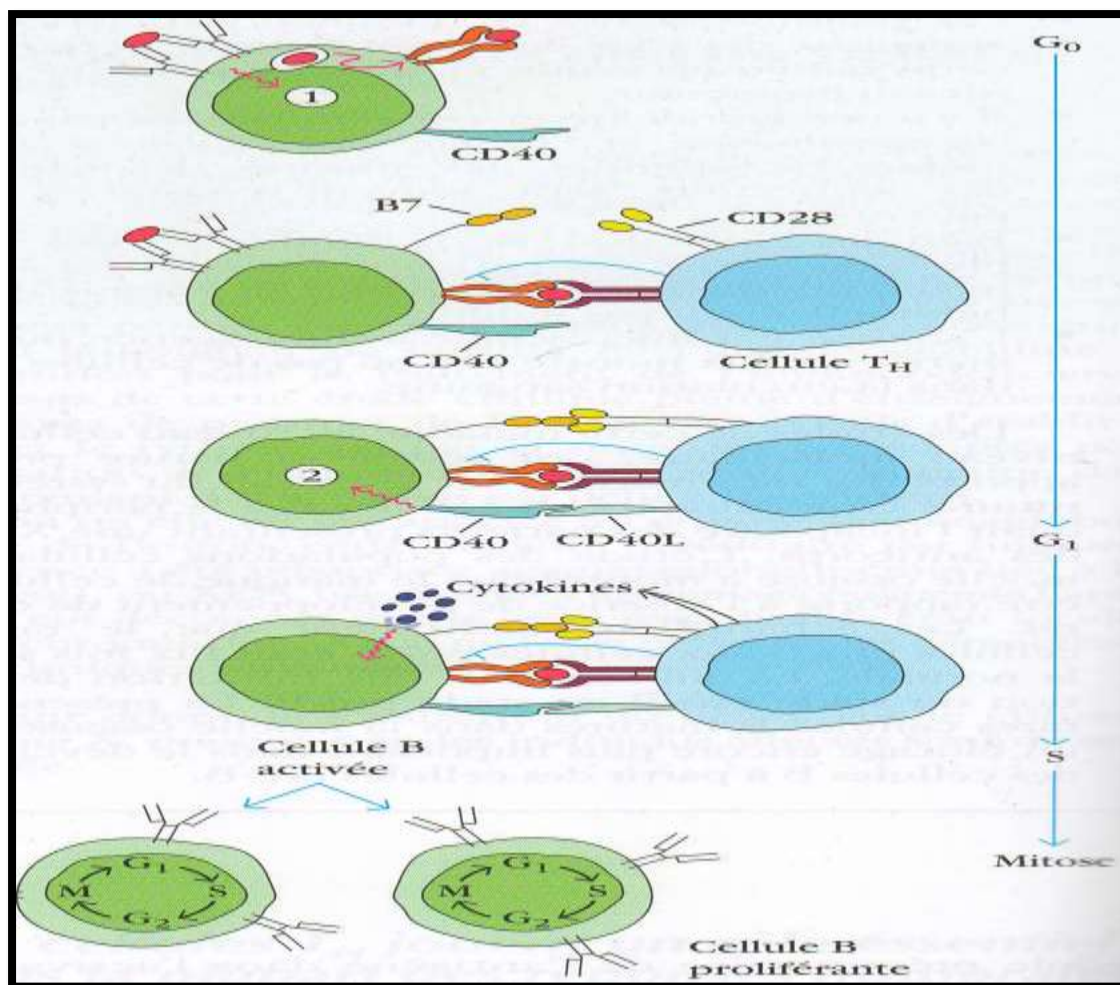


Figure 10

2.3.3. Différenciation des cellules B au niveau des centres germinatifs

Les centres germinatifs apparaissent dans les 7 à 10 jours qui font suite à une exposition initiale à un antigène thymo-dépendant. Trois événements importants de la différenciation des cellules B se passent dans les centres germinatifs : la maturation d'affinité, la commutation de classe et la formation de plasmocytes et de cellules B à mémoire. La maturation d'affinité et la formation de cellules B à mémoire nécessitent des centres germinatifs. Cependant, une commutation de classe et une formation significative de plasmocytes peuvent avoir lieu en dehors des centres germinatifs. Durant les premières étapes de la formation des centres germinatifs, les cellules B activées subissent une intense prolifération. Chez l'homme, ces cellules B activées en cours de prolifération, connues sous le nom de centroblastes, apparaissent dans les centres germinatifs dans une zone sombre bien définie (**Figure 11**). Les centroblastes se distinguent par leur grande taille, leur cytoplasme étendu, leur chromatine diffuse et

l'absence d'Ig membranaire. Les centroblastes peuvent éventuellement donner naissance aux centrocytes, qui sont de petites cellules B qui ne se divisent pas et qui expriment alors une Ig membranaire. Les centrocytes passent de la zone sombre à une région, appelée zone claire, contenant de nombreuses cellules dendritiques folliculaires. Dans cette zone, certains centrocytes établissent des contacts avec l'antigène présenté sous la forme de complexes antigène-anticorps à la surface des cellules dendritiques folliculaires.

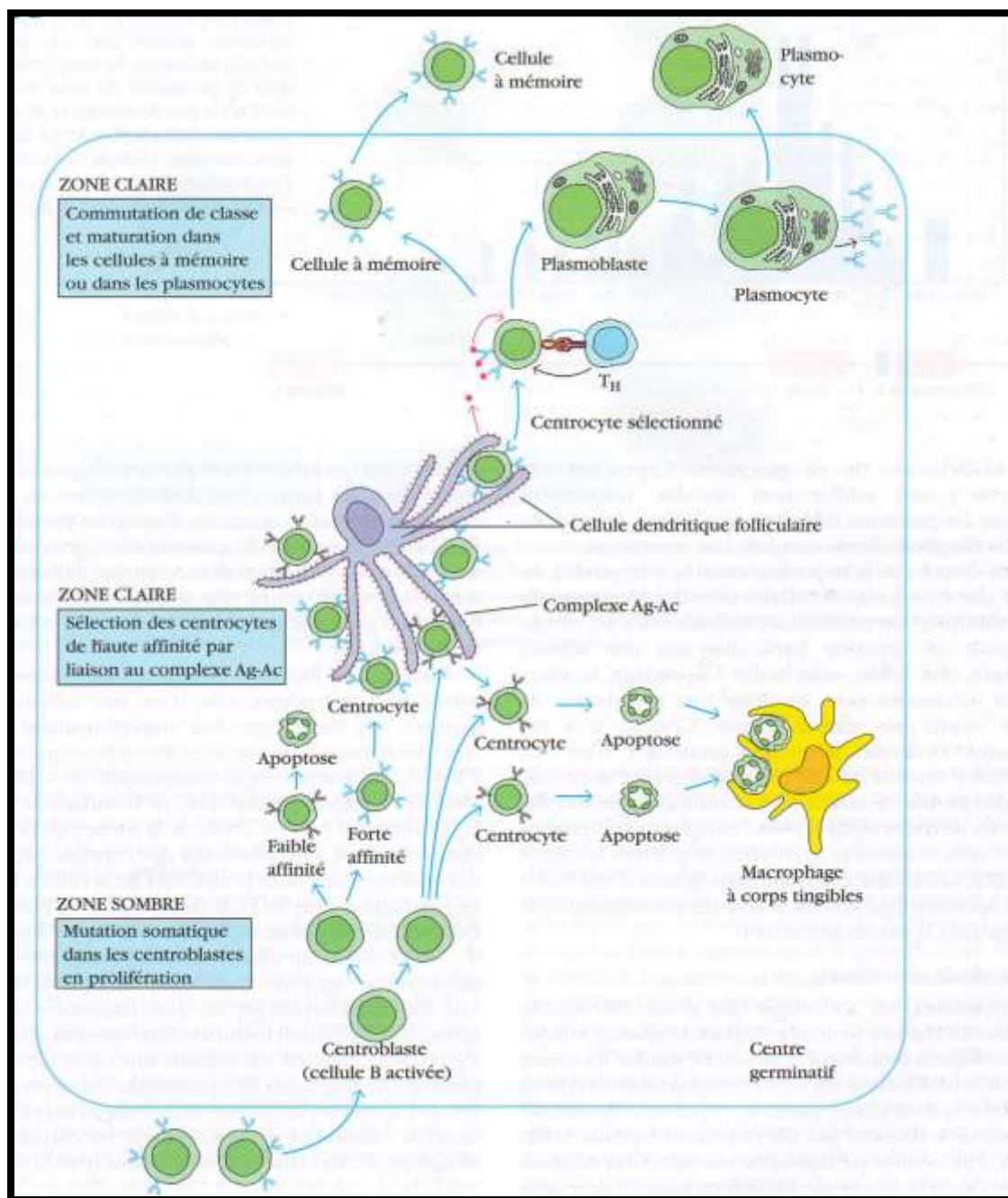


Figure 11

- **Hypermutation somatique et son rôle dans la maturation d'affinité**

L'étude des gènes des anticorps au cours d'une réponse immunitaire montre qu'une mutation intensive des gènes des Ig qui répondent à une infection a lieu dans les cellules B des centres germinatifs

La majorité de ces mutations se produit dans une région qui s'étend d'environ 0,5 kb en 5' à environ 1,5 kb en 3' des segments V(D)J des gènes d'immunoglobuline réarrangés. Bien que le processus d'hypermutation amène des mutations dans toute la région V,

On a estimé que la vitesse de mutation au cours d'une mutation somatique est approximativement de 10^{-3} /paires de bases/division, ce qui est un million de fois supérieur à la vitesse de mutation normale des cellules chez l'homme et la souris.

Etant donné que les segments V(D)J des chaînes lourdes ou des chaînes légères représentent environ 700 paires de bases, cette vitesse de mutation signifie qu'après deux divisions cellulaires, presque chaque centroblaste aura acquis une mutation, soit dans la région variable des chaînes lourdes, soit dans la région variable des chaînes légères.

L'enzyme AID (de activation-induced cytidine deaminase) a un rôle important dans les bases moléculaires de ce processus. Cependant, de nombreux points restent non élucidés notamment comment ce processus cible principalement les régions variables des gènes d'immunoglobuline réarrangés. Étant donné que la mutation somatique se produit au hasard, elle crée quelques cellules avec des récepteurs de haute affinité et de nombreuses cellules dont les récepteurs pour un antigène particulier ont une affinité inchangée, plus faible, voire nulle. Cependant, la sélection est nécessaire pour produire une population de cellules ayant une affinité accrue. Comme il a été mentionné ci-dessus, le centre germinatif n'est pas uniquement un lieu où une énorme diversité est créée, mais aussi un site de sélection. Les cellules B qui ont des récepteurs de haute affinité pour l'antigène sont sélectionnées positivement et quittent le centre germinatif, tandis que celles qui sont douées d'une faible affinité subissent probablement une sélection négative et meurent dans le centre germinatif.

- **Rôle de la sélection**

Une hypermutation somatique des gènes des régions variables des chaînes lourdes et légères se produit lorsque les centroblastes prolifèrent dans la zone sombre du centre germinatif. La sélection dans les centres germinatifs prend place dans la zone claire,

parmi la population de centrocytes qui ne se divisent pas. De nombreux facteurs déterminent si un centrocyte doit subir une sélection négative et mourir dans le centre germinatif, ou bien s'il doit subir une sélection positive et sortir du centre germinatif. Le facteur le plus important dans la détermination de la sélection est la capacité des molécules d'Ig membranaires du centrocyte à reconnaître et à fixer l'antigène présenté par les cellules dendritiques folliculaires (IDC de follicular dendritic cells). Étant donné que la surface des FDC est richement dotée de récepteurs du Fc et de récepteurs du complément, l'antigène complexé à un anticorps ou l'antigène lié au fragment C3 créé lors de l'activation du complément peuvent tous deux se lier aux FDC grâce à des ponts anticorps ou C3. Un centrocyte dont l'Ig membranaire se fixe à l'antigène lié à une FDC et subit des réactions croisées par l'intermédiaire de cet antigène, reçoit un signal qui est essentiel à sa survie. Ceux qui ne reçoivent pas de tels signaux meurent.

Cependant, les centrocytes doivent entrer en compétition pour les petites quantités d'antigènes présents sur les FDC. Étant donné que la quantité d'antigène est limitée, les centrocytes possédant des récepteurs de haute affinité sont vraisemblablement plus aptes à se lier avec succès à l'antigène que ceux qui n'ont qu'une faible affinité (**Figure11**).

Bien que la liaison à l'antigène soit nécessaire à la survie des centrocytes elle n'est pas suffisante. Pour survivre, un centrocyte doit impérativement recevoir aussi des signaux créés par interaction avec une cellule T_H CD4⁺. Une caractéristique indispensable de cette interaction est l'engagement du CD40 de la surface de la cellule B (centrocyte) par le CD40L de la surface de la cellule T auxiliaire. Il est aussi nécessaire que l'antigène apprêté sur des molécules de classe II du CMH de la cellule B entrent en interaction avec le TCR de la cellule T_H participante. Les centrocytes qui ne reçoivent ni le signal d'une cellule T_H, ni le signal du complexe antigène-Ig membranaire subissent une apoptose dans le centre germinatif. En fait, une des caractéristiques les plus frappantes du centre germinatif est la mort cellulaire intensive par apoptose qui s'y produit.

- **Commutation de classe**

Les anticorps effectuent deux importantes activités: la liaison spécifique à un antigène, qui est déterminée par les domaines V_H et V_L, et la participation à diverses fonctions biologiques effectrices qui sont déterminées par l'isotype du domaine constant de la chaîne lourde. La commutation de classe permet à un domaine V_H donné de

s'associer à la région constante de n'importe quel isotype. Ceci permet à la spécificité de l'anticorps de rester constante alors que les activités effectrices biologiques de la molécule varient. Nombre de cytokines interviennent dans le choix de la classe de l'Ig lorsqu'une cellule porteuse d'une IgM subit une commutation de classe (**Figure 12**).

La réponse humorale aux antigènes thymodépendants est marquée par une intense commutation de classe vers des isotypes autres que l'IgM, tandis que la réponse anticorps à des antigènes thymo-indépendants est dominée par l'IgM. Dans le cas des antigènes thymodépendants, l'interaction membranaire entre le CD40 de la cellule B et le CD40L de la cellule T_H est essentielle pour l'induction de la commutation de classe.

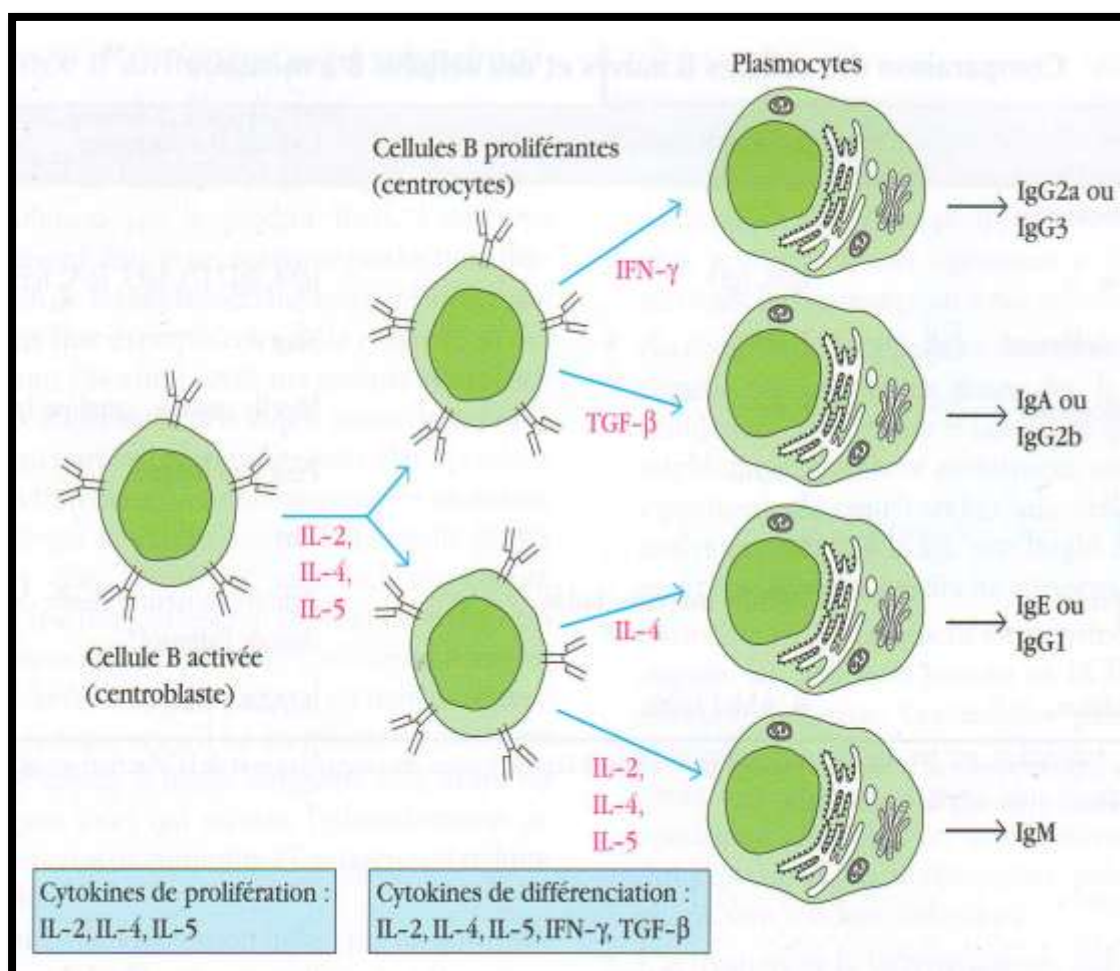


Figure 12