

## Chapitre III : aspects moléculaires de l'activation des cellules immunocompétentes et signalisation intracellulaire

### 1. Principes généraux de la transduction du signal

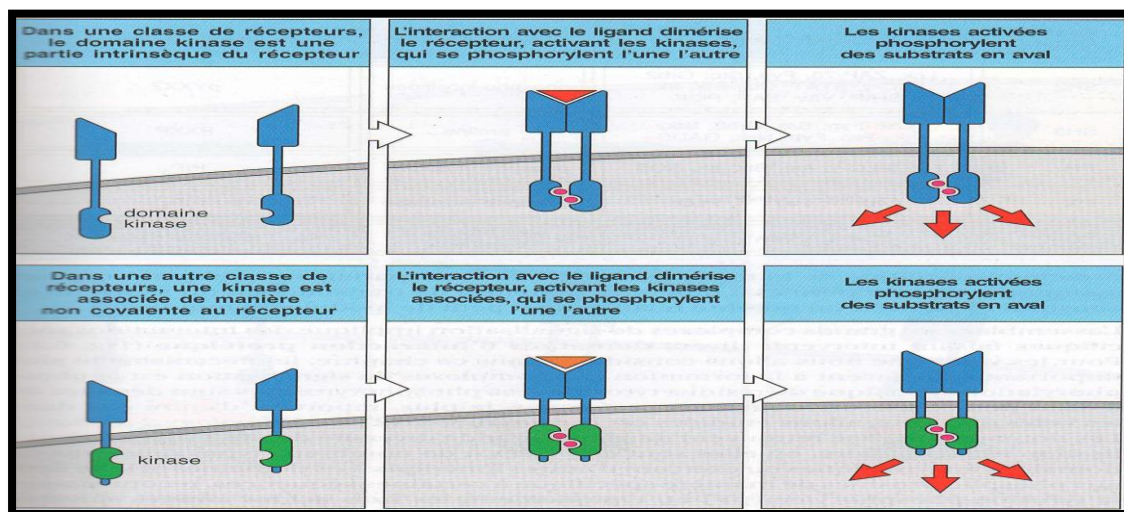
#### 1.1. Récepteurs membranaires

Tous les récepteurs de surface cellulaire exerçant des fonctions de signalisation sont des protéines transmembranaires ou bien font partie de complexes protéiques reliant l'intérieur et l'extérieur de la cellule.

Dans un grand groupe de récepteurs, l'activité kinase est exercée directement par la partie cytoplasmique du récepteur. De nombreux facteurs de croissance ont des récepteurs tyrosine kinase de ce type ; par exemple Kit et FLT3, qui sont exprimés sur les lymphocytes en développement appartiennent à cette catégorie.

Le récepteur du facteur de croissance transformant  $\beta$  (TGF- $\beta$ , Transforming Growth Factor- $\beta$ ), une cytokine produite entre autres par les cellules Th2 activées, est un récepteur sérine/thréonine kinase.

Une classe de récepteurs n'exercent pas eux-mêmes d'activité enzymatique, mais la queue cytoplasmique est associée de manière non covalente à une tyrosine kinase cytoplasmique. L'interaction du ligand avec le domaine extracellulaire de ces récepteurs déclenche l'activation de l'enzyme associée, qui assure la fonction de transduction de signal. Les récepteurs d'antigène et de nombreuses cytokines font partie de cette catégorie (**Figure 1**).



**Figure 1**

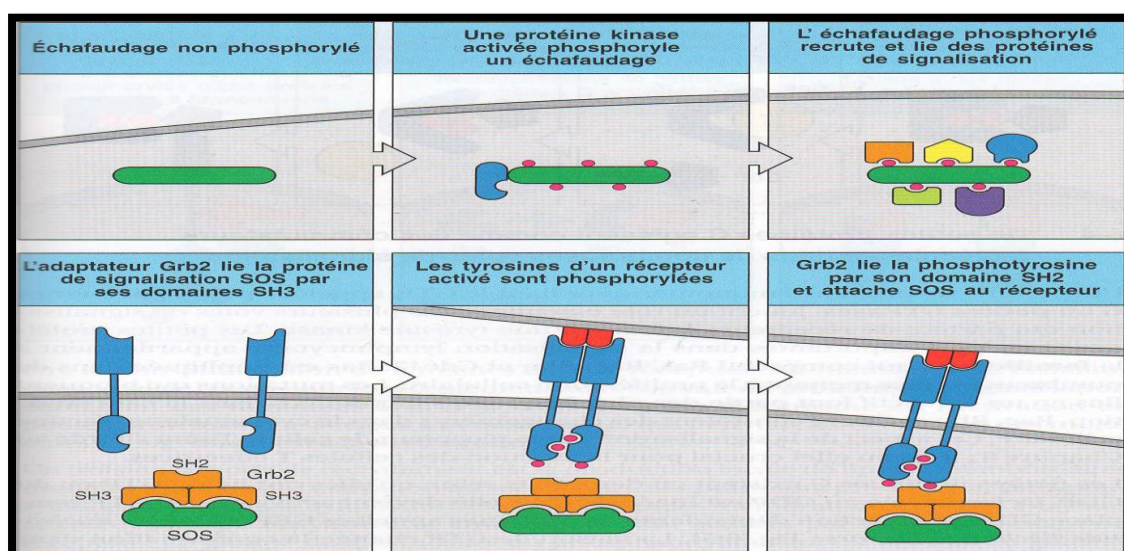
## 1.2. Complexes multiprotéiques

L'assemblage de grands complexes de signalisation implique des interactions spécifiques faisant intervenir divers domaines d'interaction protéique. Le mécanisme le plus important sous-jacent à la formation des complexes de signalisation est la phosphorylation spécifique de résidus tyrosines. Les phosphotyrosines sont des sites de liaison pour plusieurs domaines protéiques, le plus important d'entre eux dans les voies est le domaine SH2 (Src Homology 2 domain).

Les domaines SH2 se retrouvent dans une grande diversité de protéines de signalisation intracellulaire, ou elles sont associées à de nombreux types différents de domaines enzymatiques ou exerçant d'autres fonctions.

Dans les voies partant des récepteurs associés à une tyrosine, des protéines échafaudages et des protéines adaptatrices servent à assembler les complexes multiprotéiques de signalisation. Les échafaudages et les adaptateurs n'exercent pas d'activité enzymatique ; leur fonction est de recruter d'autres protéines dans un complexe de signalisation afin qu'elles puissent interagir les unes avec les autres. Les protéines échafaudages sont de grande taille et comme leurs résidus tyrosine peuvent être phosphorylés en de multiples sites, elles peuvent recruter de nombreuses protéines différentes (**Figure 2**).

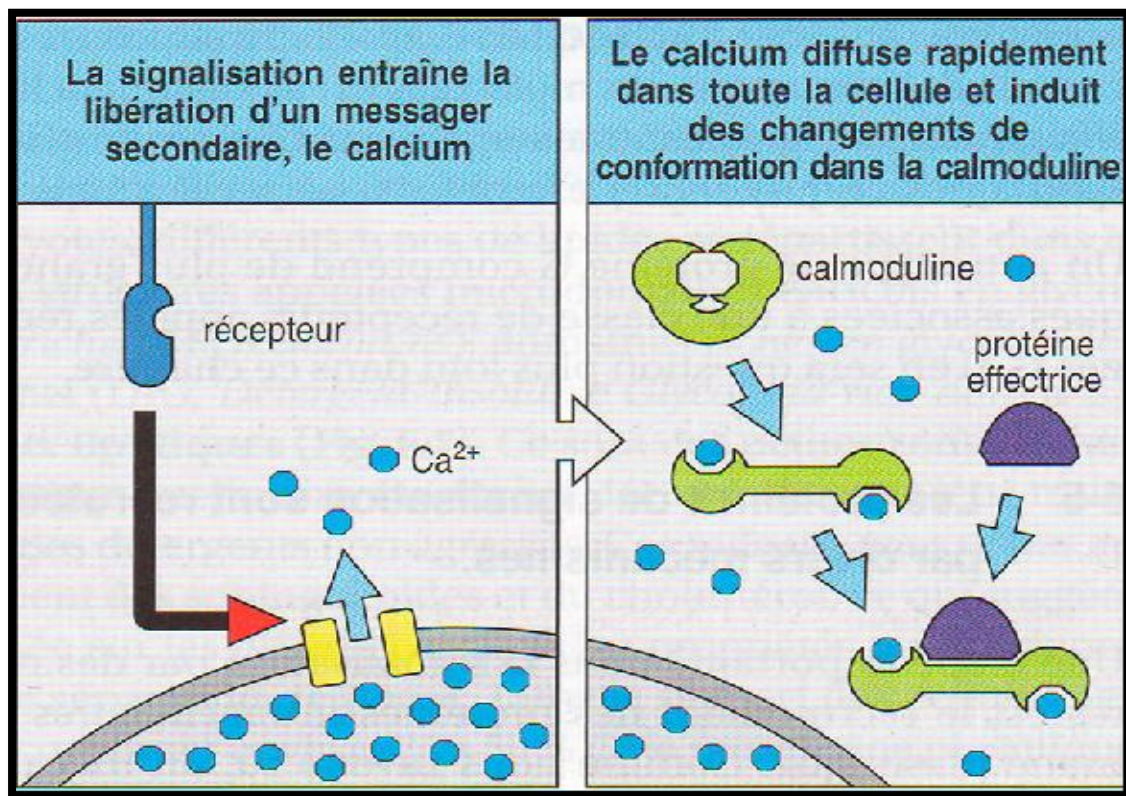
Les protéines adaptatrices sont de petite taille ne contenant habituellement que deux à trois domaines dont la fonction est de relier deux protéines.



**Figure 2**

### 1.3. Messagers secondaires

Dans de nombreux cas, la voie de signalisation implique l'activation d'enzymes qui produisent de petites molécules servant de médiateurs biochimiques appelés messagers secondaires. Ces médiateurs peuvent diffuser dans toute la cellule, permettant ainsi au signal d'activer diverses protéines cibles. Elles sont aussi un moyen d'amplifier le signal initial, puisqu'une molécule d'enzyme activée peut produire des centaines de molécules de messagers secondaires. Ceux qui sont générés par des récepteurs qui transmettent les signaux par des tyrosines kinases comprennent les ions calciques ( $\text{Ca}^{2+}$ ) qui se lie à sa protéine cible induit typiquement un changement de conformation qui permet à la protéine d'être activée (**Figure 3**).



**Figure 3**

### 1.4. Protéine G

Une famille de protéines monomériques liant le GTP appelées petites protéines G ou petites GTPases, jouent un rôle essentiel dans plusieurs voies de signalisation qui partent de récepteurs associés à une tyrosine kinase. Les petites protéines G les plus importantes dans la signalisation lymphocytaire appartiennent à la famille Ras, qui comprend Ras, Rac, Rho et Cdc42. Au repos Ras est lié au GDP ; le signal venant du

récepteur active les facteurs d'échange du nucléotide guanine (GEF), qui peuvent se lier à des petites protéines G et déplacer le GDP, permettant son remplacement par le GTP. La forme liée au GTP de Ras peut alors se lier à un grand nombre d'effecteurs en les recrutant à la membrane. Avec le temps, l'activité GTPasique intrinsèque de Ras aboutira à l'hydrolyse du GTP en GDP.

### 1.5. Production locale de lipides membranaires

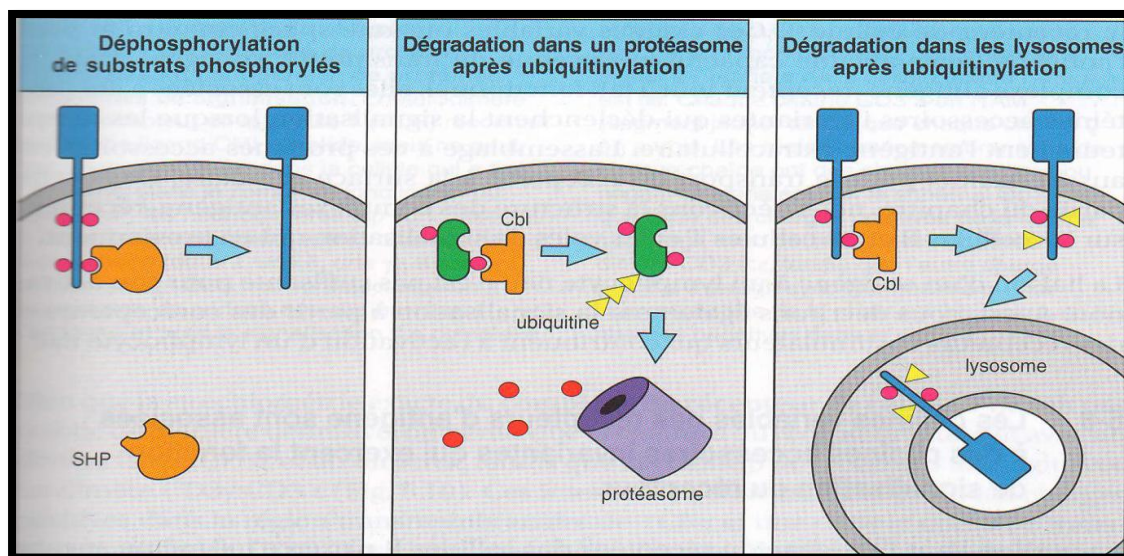
Des lipides membranaires sont modifiés à la suite de l'activation du récepteur. Ces lipides sont produits par phosphorylation du phosphatidylinositol des phospholipides membranaires par des enzymes appelées phosphatidylinositol kinases, qui sont activées par un signal venant du récepteur. Le groupe de tête inositol du phosphatidylinositol est un anneau glucidique qui peut être phosphorylé en une seule ou en plusieurs positions pour donner une grande variété de dérivés. ceux qui nous intéressent le plus sont le phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) et le phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate (PIP<sub>3</sub>), qui est produit à partir de PIP<sub>2</sub> par l'enzyme phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase). La PI3-kinase est recrutée à la membrane par l'interaction de son domaine SH2 avec la queue d'un récepteur dont les tyrosines sont phosphorylées. Les phosphoinositides membranaires sont produits rapidement après activation du récepteur et sont de courte vie, ce qui fait d'eux des molécules de signalisation idéales. PIP<sub>3</sub> est reconnu spécifiquement par des protéines contenant un domaine d'homologie de la pleckstrine (PH, pleckstrin Homology).

### 1.6. Inhibition des réactions de signalisation

L'incapacité d'arrêter une voie de signalisation peut entraîner des maladies graves comme l'auto-immunité ou le cancer. Comme une proportion significative des événements de signalisation dépend de la phosphorylation de protéines, des protéines phosphatases, comme SHP, jouent un rôle important dans l'interruption des voies de signalisation (**panneau de gauche figure 5**).

Des protéines phosphorylées recrutent des ubiquitine ligases, comme Cbl qui sélectionnent des cibles par le domaine SH2 et ajoutent la petite protéine ubiquitine aux protéines, les destinant ainsi à la dégradation. Des protéines cytoplasmiques sont dirigées par leur ubiquitinylation dans les protéasomes qui les dégradent (**panneau du milieu figure 5**).

Les récepteurs de membrane qui sont ubiquitinylés sont internalisés et transportés dans les lysosomes en vue de leur destruction (**panneau de droite figure 5**).



**Figure 5**

## 2. Activation des lymphocytes T et transduction du signal

### 2.1. Signaux d'activation des cellules T

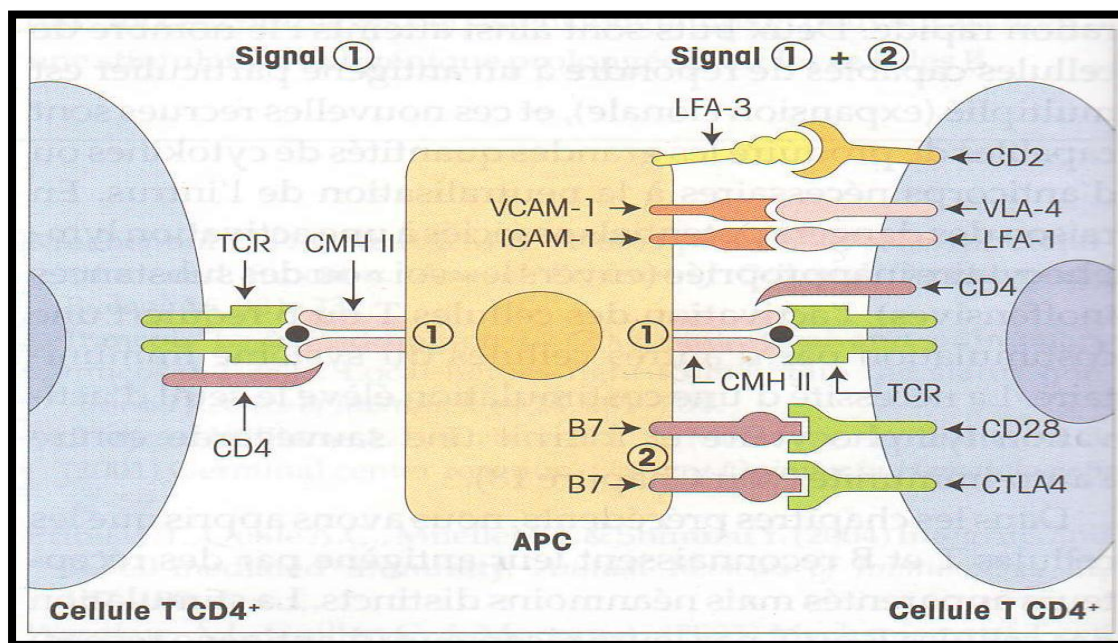
L'affinité d'un TCR donné pour son complexe CMH-peptide antigénique spécifique est relativement faible. Aussi, une association suffisamment stable avec une cellule présentatrice d'antigène (CPA) ne peut être atteinte que par l'intervention de plusieurs paires de molécules accessoires complémentaires comme LFA-1/ICAM-1, CD2/LFA-3 , ...etc (**Figure 6**).

Les intégrines comme LFA-1 et VLA-4 paraissent particulièrement importantes pour l'adhérence lymphocytaire ; ils passent d'un état fermé de faible affinité à un état plus ouvert de forte affinité.

On pense généralement maintenant que les cellules T naïves nécessitent deux signaux distincts pour l'activation et la prolifération subséquente en cellules effectrices :

- Le signal initial (**signal 1**) est créé par interaction d'un peptide antigénique et du complexe TCR-CD3.

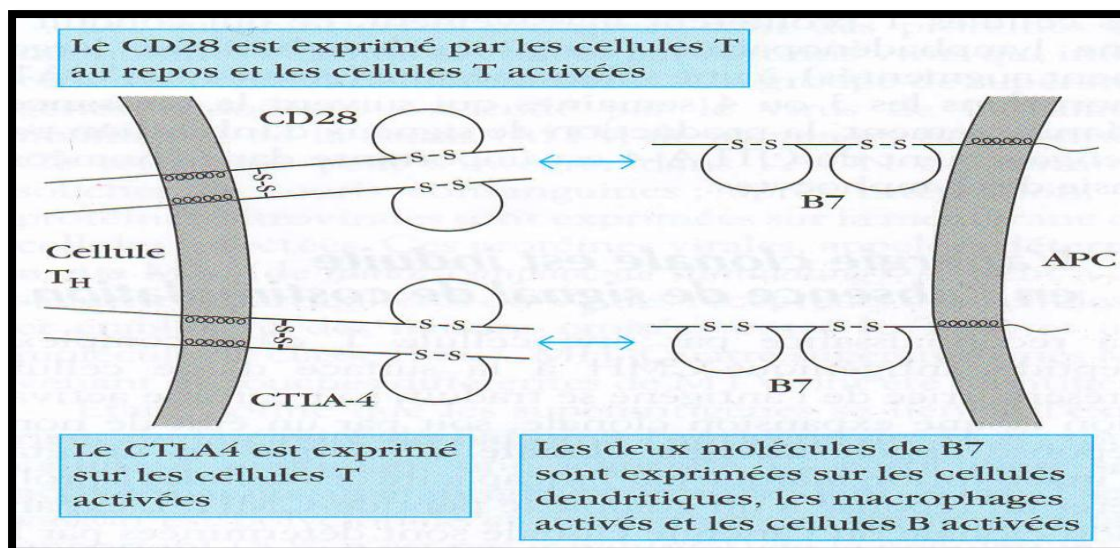
- Un signal ultérieur de costimulation non spécifique de l'antigène (**signal 2**) est fourni essentiellement par les interactions entre le CD28 de la surface de la cellule T et les membres de la famille B7 de la surface de l'APC (**Figure 6**).



**Figure 7**

Les molécules B7 sont des membres de la superfamille des immunoglobulines ; elles ont un domaine semblable au domaine V et un domaine semblable au domaine C. Il y a deux formes apparentées de B7, le B7-1 et le B7-2. Les deux molécules ont une organisation semblable de leurs domaines extracellulaires, mais des domaines cytosoliques considérablement différents (**Figure 8**).

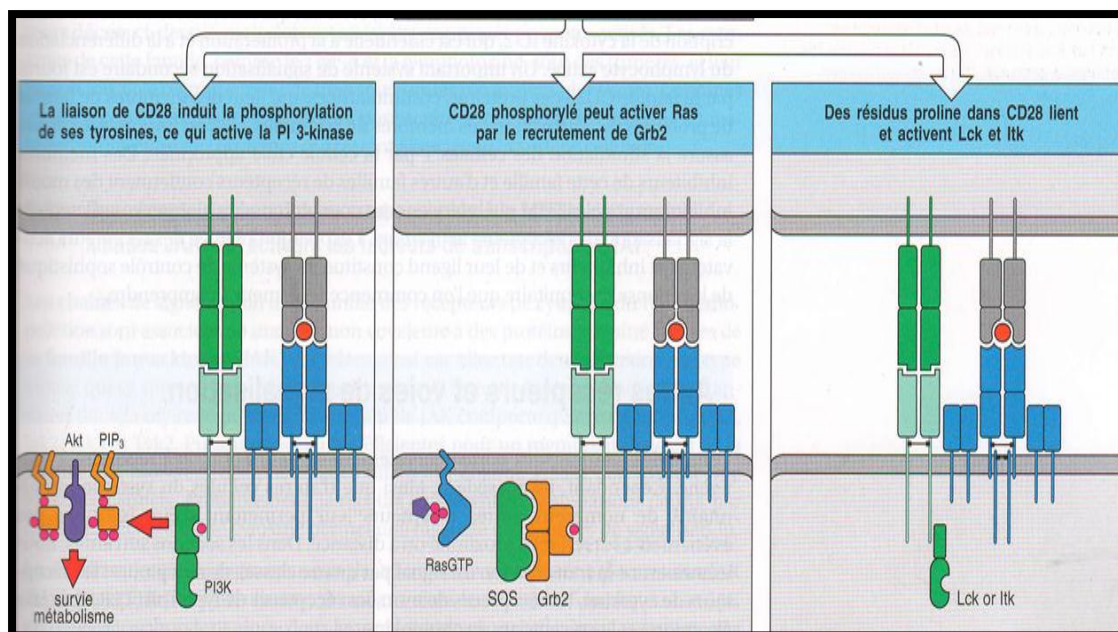
Les ligands des B7 sont le CD28 et le CTLA-4 (connu aussi sous le nom de CD152), exprimés tous deux sur la membrane des cellules T sous forme d'homodimères unis par liaison disulfure ; comme le B7, ce sont des membres de la superfamille des immunoglobulines. Bien qu'étant tous deux des glycoprotéines de structure semblable, le CD28 et le CTLA-4 agissent de façon antagoniste. Le signal passant par le CD28 délivre un signal de co-stimulation positif à la cellule T, mais le signal passant par le CTLA-4 est inhibiteur et régule négativement l'activation de la cellule T.



**Figure 8**

Après son interaction avec les molécules B7, les tyrosines de CD28 sont phosphorylées, ce qui lui permet de recruter et d'activer la PI 3-kinase (**Figure 9, panneau de gauche**). Ce qui induit la production de PIP3, qui recrute la sérine/thréonine kinase Akt (appelée aussi protéine kinase B) à la membrane par le domaine PH de Akt. Cette dernière est activée et peut alors phosphoryler diverses protéines en aval. Un de ces effets est de favoriser la survie cellulaire par inhibition de la voie de mort cellulaire ; un autre effet est la stimulation du métabolisme cellulaire par augmentation de l'utilisation du glucose.

CD28 activé amplifie aussi directement le signal du récepteur de cellule T et recrute la protéine adaptatrice Grb2 (**Figure 9, panneau de milieu**). Cela signifie que CD28 peut potentiellement activer la voie de signalisation Ras-MAP kinase par le recrutement du facteur d'échange du GTP SOS, conduisant à l'activation de la MAP kinase, Erk. La queue cytoplasmique de CD28 contient aussi un motif riche en proline qui lie les domaines SH3 de la kinase Lck (**Figure 9, panneau de droite**). CD28 peut dès lors amplifier la signalisation du récepteur de cellule T en favorisant l'activité enzymatique de Lck et d'Itk, et ainsi de stimuler la production de l'IL-2.

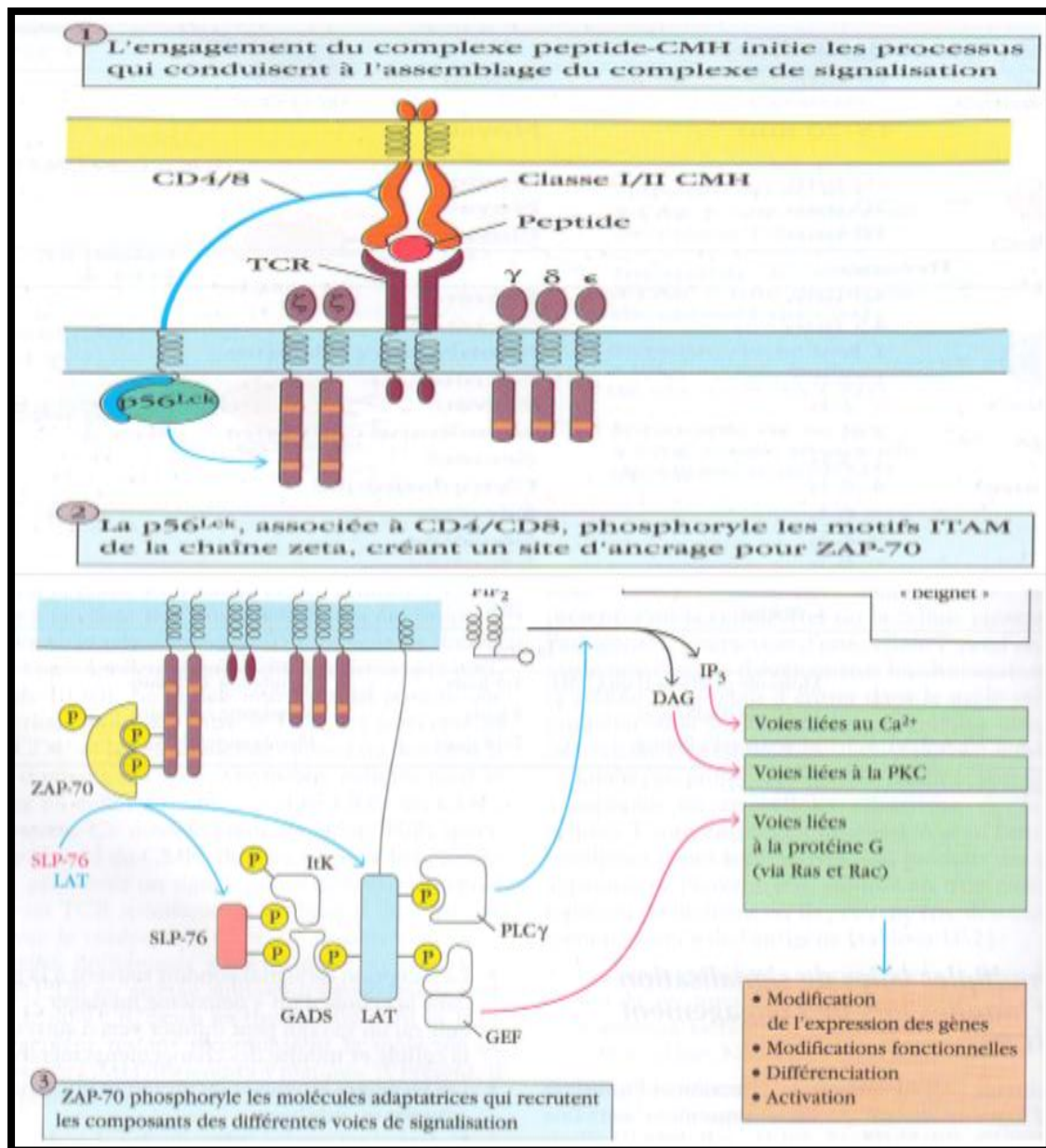


**Figure 9**

## 2.2. Phase d'initiation de la transduction du signal

Lors de l'engagement du complexe peptide-CMH avec le TCR, le complexe TCR s'associe aux radeaux lipidiques, suivi de la liaison de corécepteurs CD4 ou CD8 aux régions invariables des molécules du CMH (**Figure 10**). La tyrosine kinase p56<sup>Lck</sup>, qui est associée aux queues cytoplasmiques des molécules de corécepteur lorsque la cellule est au repos, est alors apportée à proximité des queues cytoplasmiques du complexe TCR, où elle phosphoryle les motifs ITAM, des composants polypeptidiques CD3. Les tyrosines ainsi phosphorylées dans les motifs ITAM de la chaîne zêta fournissent des sites d'ancrage auxquels la protéine ZAP-70, une autre protéine tyrosine kinase s'attache (**étape n° 2 sur la figure 10**) et s'active. ZAP-70 catalyse alors la phosphorylation d'un certain nombre de molécules adaptatrices associées à la membrane notamment LAT et SLP-76 (**étape 3**), qui permettent le recrutement de molécules médiatrices associées aux différentes voies de transduction de signal intracellulaire. L'une d'entre elles une isoforme de l'enzyme phospholipase C (PLC $\gamma$ ), qui clive un phospholipide membranaire pour produire des messagers secondaires. Cette voie aboutit également à l'activation d'un facteur de transcription, le facteur nucléaire Kappa B, ou NF-kB.





**Figure 10**

### 2.3. Evénements en aval de la signalisation par TCR

Plusieurs voies de signalisation sont activées à la suite des étapes de la phase d'initiation comme décrit ci-dessous :

#### 2.3.1. Voie de la phospholipase C $\gamma$ (PLC $\gamma$ )

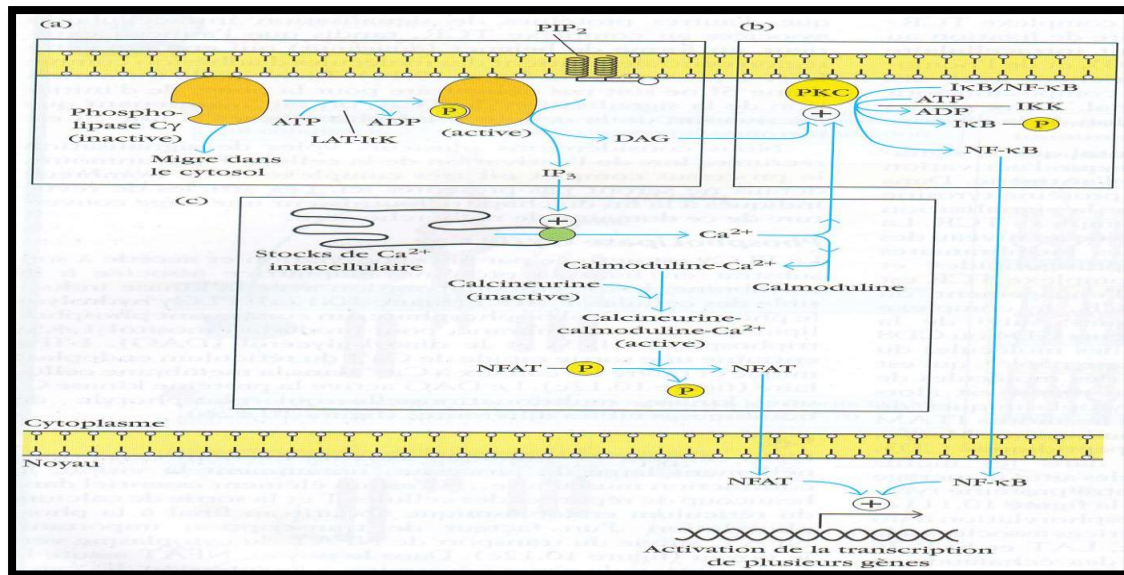
La PLC $\gamma$  est activée par phosphorylation et accède à son substrat en liant la protéine adaptatrice associée à la membrane LAT, en collaboration avec la kinase inductible des

cellules T (ItK) (**Figure 11**). PLC $\gamma$  hydrolyse un composant phospholipidique de la membrane cellulaire pour produire un messager secondaire DAG et l'IP3.

L'IP3 entraîne une sortie rapide de Ca<sup>2+</sup> du réticulum endoplasmique et ouvre les canaux à Ca<sup>2+</sup> dans la membrane cellulaire. Le DAG et le Ca<sup>2+</sup> activent la protéine kinase C, une kinase multifonctionnelle qui phosphoryle de nombreuses cibles différentes (**Figure 11**).

**Ca<sup>2+</sup>**: L'ion calcium est impliqué dans un éventail exceptionnellement large de processus, notamment la vision, la contraction musculaire... C'est un élément essentiel dans beaucoup de réponses des cellules T, il se lie à la protéine calmoduline, qui s'associe alors avec la calcineurine, une phosphatase dépendante du Ca<sup>2+</sup>/calmoduline, qu'elle active. La calcineurine activée retire un groupe phosphate à NFAT, ce qui permet à ce facteur de transcription de se transférer dans le noyau. Au niveau du noyau, NFAT assure la transcription de gènes nécessaires à l'expression de cytokines de la prolifération des LT (IL2, IL4,...).

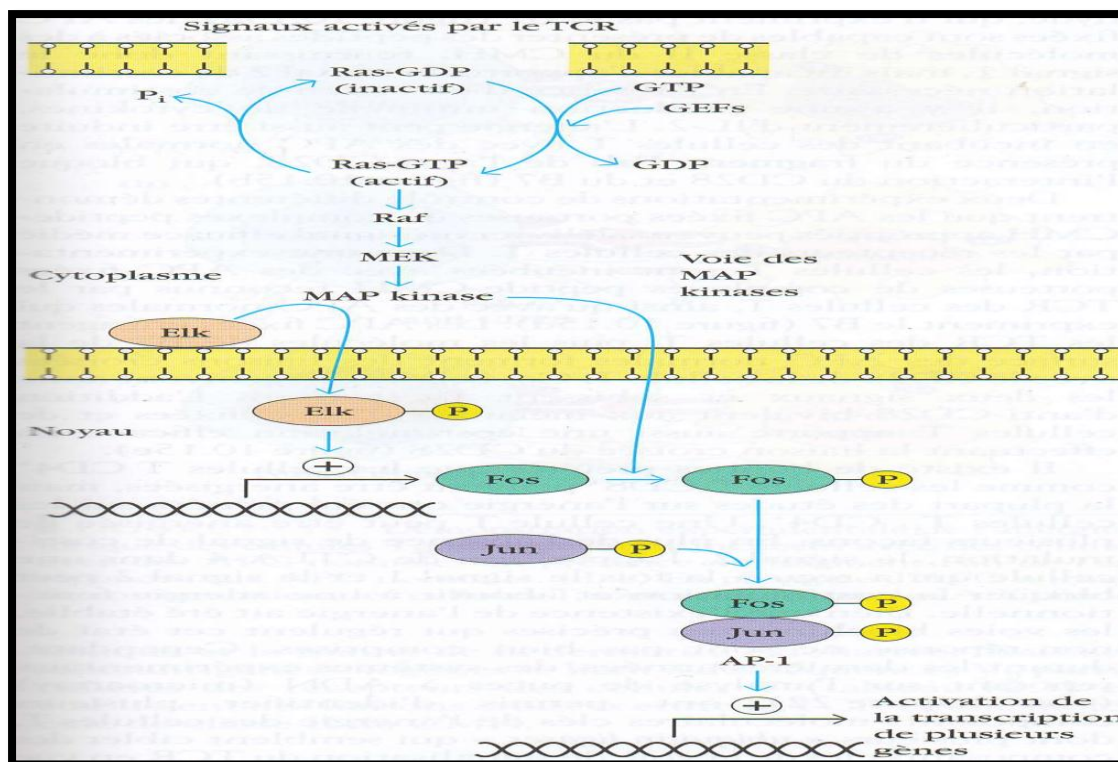
**Protéine kinase C (PKC)** : La production de DAG par PLC $\gamma$  aboutit à l'activation de la protéine kinase C (PKC). L'activation de PKC par PLC $\gamma$  conduit à l'assemblage d'un complexe protéique lié à la membrane qui est une fois assemblé, il entraîne l'activation de IKK, une enzyme multiprotéique (inhibiteur de la kinase de kB). IKK, à son tour, phosphoryle l'inhibiteur de kB (IkB). Normalement, IkB se lie à NF-kB et le maintient dans le cytosol; lorsque IkB est phosphorylé par IKK, NF-kB est libérée et migre dans le noyau où il active la transcription de gènes. Le gène codant l'IL-2 est une cible critique de NF-kB (**Figure 11**).



**Figure 11**

### 2.3.2. Voie Ras/MAP kinase

Ras est une petite protéine G dont l'activation par GTP amorce une cascade de protéine kinases, appelée voie des protéines kinase activée par les mitogènes (MAP kinase). La phosphorylation du produit final de cette cascade, MAP kinase (aussi appelée ERK), permet alors d'activer Elk, un facteur de transcription nécessaire pour l'expression de Fos (**Figure 12**). La phosphorylation de Fos par la MAP kinase lui permet de s'associer avec Jun pour former AP-1, un facteur de transcription essentiel pour l'activation des cellules T. AP-1 régule également la transcription d'IL-2.

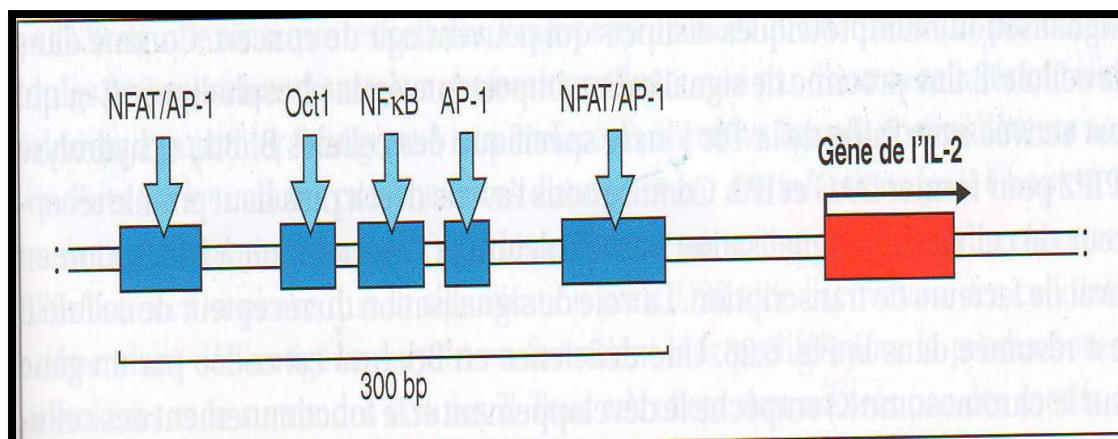


**Figure 12**

## 2.4. Contrôle de la transcription du gène de l'IL2

Dans les cellules T, une des fonctions principales du trio, AP-1, NFAT et NFkB est d'agir ensemble afin de stimuler l'expression de la cytokine IL-2, essentielle au lancement de la prolifération et de la différenciation des cellules T en cellules effectrices. Le promoteur du gène IL-2 contient de multiples éléments régulateurs auxquels des facteurs de transcription doivent se lier pour induire la transcription d'IL2. Certains sont déjà liés à des facteurs de transcription, comme Oct1, qui sont produits de manière constitutive dans les lymphocytes, mais ceci n'est pas suffisant pour activer le gène. Ce n'est que lorsque AP-1, NFkB et NFAT sont liés à leur tour que le gène est exprimé. Ainsi, le promoteur d'IL-2 intègre des signaux venant de différentes voies de signalisation afin d'assurer que l'IL-2 ne soit produite que dans les circonstances appropriées (**Figure 13**).

Seule la transcription de l'IL-2 en tant que conséquence précoce et centrale de la stimulation des cellules T a été prise en considération, mais plus de 70gènes sont exprimés en plus dans les 4h de l'activation menant à la prolifération et à la synthèse de plusieurs cytokines et de leurs récepteurs.



**Figure 13**

## 2.5. Déphosphorylation et inhibition du signal

Alors que CD28 est exprimé de manière constitutive sur les cellules T, CTLA-4 est indécélable dans une cellule au repos, mais est produit rapidement à la suite d'une activation. Il a une affinité 10 à 20 fois plus forte pour B7-1 et B7-2 et, au contraire des signaux costimulateurs générés par l'interaction CD28-B7, la liaison de CTLA-4 atténue l'activation de la cellule T. Le mécanisme par lequel CTLA-4 supprime l'activation de la cellule T reste énigmatique.

Il a été proposé que CTLA-4 puisse s'opposer à la jonction du complexe du TCR aux radeaux lipidiques, dans lesquels se trouvent de nombreuses protéines de signalisation qui propagent les signaux venant du TCR.

La voie de signalisation inhibitrice induite par CTLA-4 est assurée par une séquence d'acides aminés particulière appelée ITIM (Immunoreceptor Tyrosine based Inhibitory Motif ou motif inhibiteur basé sur les tyrosines des immunorécepteurs) présente dans la queue cytoplasmique de la protéine. Lorsque la tyrosine est phosphorylée, un ITIM peut recruter l'une des deux phosphatases inhibitrices, appelées SHP (SH2-containing Phosphatase) et SHIP (SH2 containing Inositol Phosphatase), par leurs domaines SH2. SHP est une protéine tyrosine phosphatase qui enlève les groupes phosphate ajoutés par les tyrosines kinases. SHIP est une inositol phosphatase qui enlève le phosphate de PIP3 pour donner PIP2.

Plusieurs molécules adaptatrices ont été identifiées qui peuvent être impliquées dans le contrôle de l'activation des cellules T. Parmi eux des membres de la famille Cbl. Cbl-b paraît influencer la production d'IL-2 dépendant de CD28 lors de l'activation des

cellules T peut-être en agissant sur le facteur d'échange du nucléotide guanine. Un autre membre de la famille Cbl, Cbl-c, est un régulateur négatif de ZAP-70, et peut ainsi changer le seuil de déclenchement des récepteurs d'antigène des cellules T.

### 3. Activation des lymphocytes B

#### 3.1. Types d'antigènes des cellules B

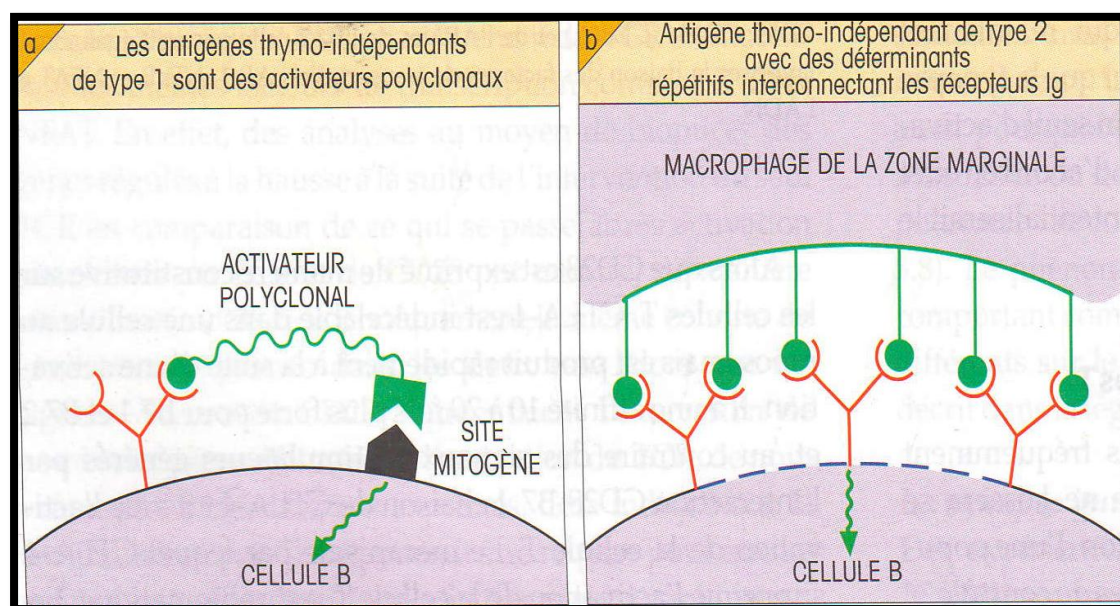
Selon la nature de l'antigène, l'activation des lymphocytes B qui aboutit à la production d'anticorps se fait selon deux voies différentes.

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 14**). 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 14**).



**Figure 14**

La réponse humorale aux antigènes thymo-indépendants est différente de la réponse aux antigènes thymodépendants (**Tableau 1**). 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 1**

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

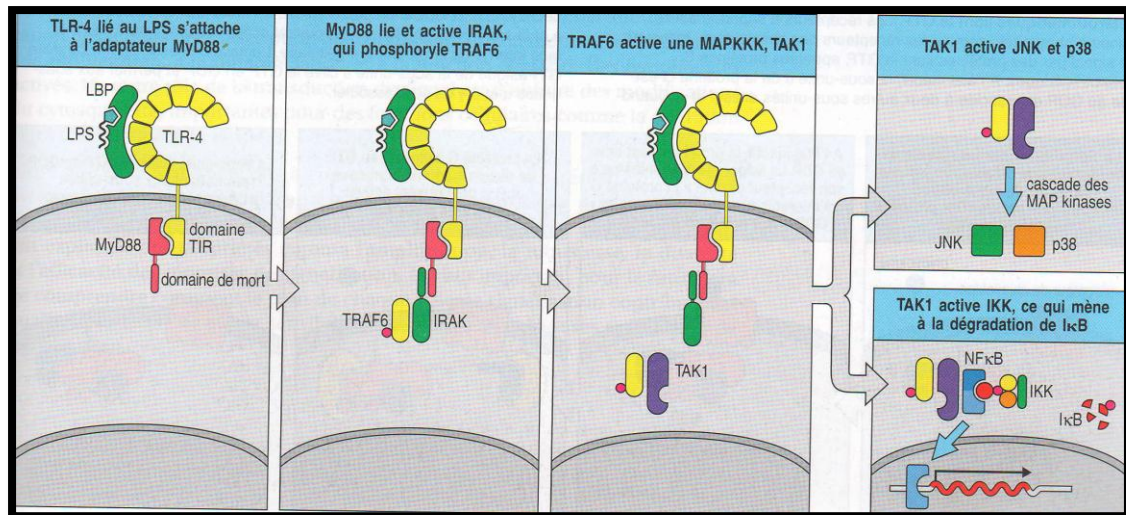
### 3.2. Transduction du signal de la cellule B pour un antigène thymo-indépendant

#### 3.2.1. Voies de signalisation du TLR4

Lors de la fixation du TLR4 des cellules au lipopolysaccharide (LPS) bactérien, deux voies de signalisation sont activées :

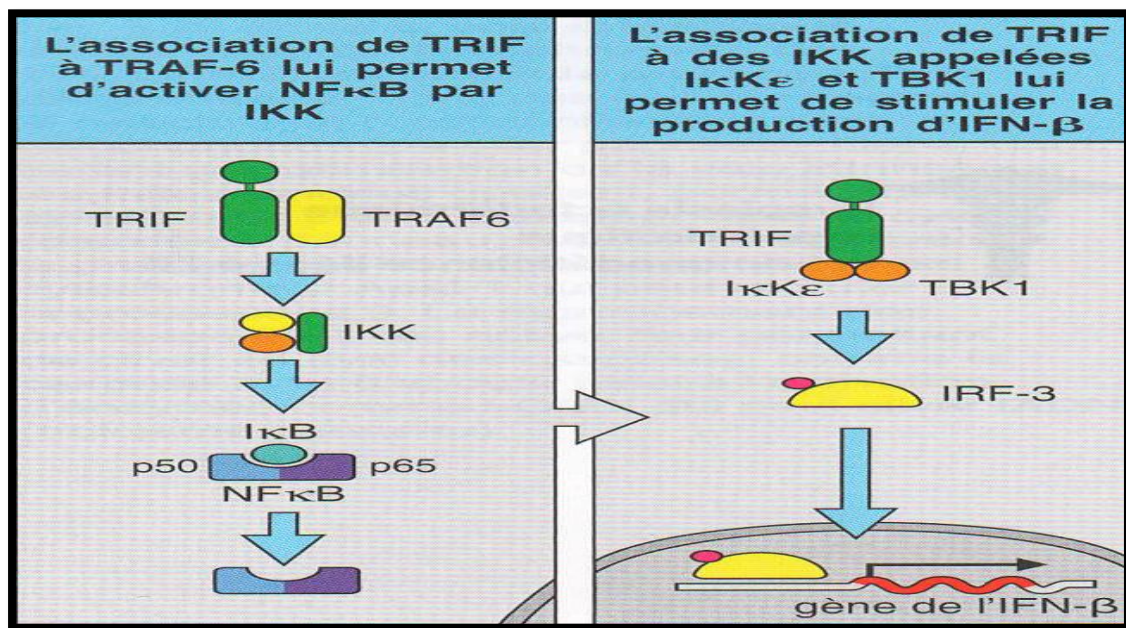
Dans la voie dépendante de MyD88, l'adaptateur est recruté directement à la queue cytoplasmique de TLR4. MyD88 a un domaine TIR à une extrémité par laquelle il s'attache au récepteur. Après sa liaison au récepteur, MyD88 recrute et active une sérine/thréonine protéine kinase appelée IRAK (kinase associé au récepteur de l'IL1). IRAK activée lie l'adaptateur TRAF-6 qui active une MAPKKK appelée TAK1 qui à son tour phosphoryle et active le complexe IKK. NFκB libérée de son inhibiteur IκB par IKK peut alors entrer dans le noyau (**Figure 15**).





**Figure 15**

TLR-4 peut aussi transmettre des signaux par une voie indépendante de MyD88 pour stimuler la production de la protéine antivirale, l'interféron (IFN)-β. TLR4 peut recruter un autre adaptateur contenant un domaine TIR, appelé TRIF. Comme MyD88, TRIF activé peut se lier à TRAF-6 pour activer NFκB. Au contraire de MyD88, TRIF peut aussi se lier à des kinases inhabituelles appelées IκKε et TBK1. ces kinases activent des facteurs de transcription appelés IRF(Interferon Regulatory Factors) qui stimulent la transcription de l'interféron (IFN)-β. Ainsi, l'adaptateur TRIF permet la signalisation de TLR4 menant à la production de l'IFN-β en plus de l'activation de NFκB (**Figure16**).

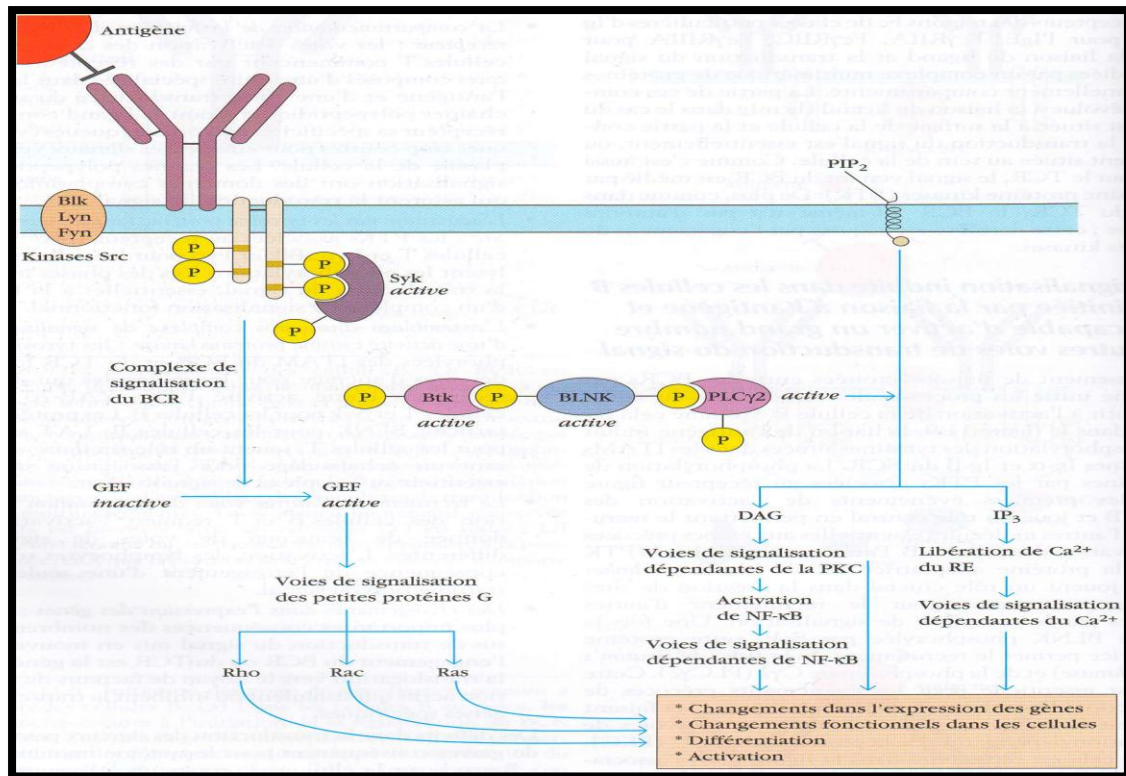


**Figure 16**

### 3.2.2. Voies de signalisation du BCR

La liaison de l'antigène induit une phosphorylation des tyrosines situées dans les ITAMs des chaînes Ig- $\alpha$  et Ig- $\beta$  du BCR. La phosphorylation de ces chaînes par les protéines tyrosine kinases associées au récepteur (Blk/Lyn/Fyn) figure parmi les premiers événements de l'activation des cellules B et joue un rôle central en permettant le recrutement d'autres molécules essentielles aux étapes précoces de l'activation des cellules B. Parmi ces molécules, la protéine adaptatrice BLNK (B cell linker protein) qui joue un rôle crucial dans la création de sites d'ancrage nécessaires pour le recrutement d'autres protéines par le complexe de signalisation. Une fois la protéine BLNK phosphorylée par Syk, cette protéine adaptatrice permet le recrutement de la Btk (de Bruton's tyrosine kinase) et de la phospholipase C $\gamma$ 2 (PLC $\gamma$ 2). Cette étape est essentielle pour les événements précoces de transduction dépendants de la phospholipase C et faisant intervenir le calcium, et pour l'initiation des voies de signalisation dépendantes de la protéine kinase C. L'association de la Btk et de la PLC $\gamma$ 2 à la protéine adaptatrice BLNK permet à la Btk de phosphoryler la PLC $\gamma$ 2, ce qui induit une activation de cette dernière. Cependant, la Btk doit être phosphorylée par Syk avant de pouvoir elle-même activer la PLC $\gamma$ 2. L'association de la Btk avec la protéine BLNK permet un rapprochement de la Btk avec la kinase Syk, ce qui permet à cette dernière de phosphoryler et d'activer la Btk.

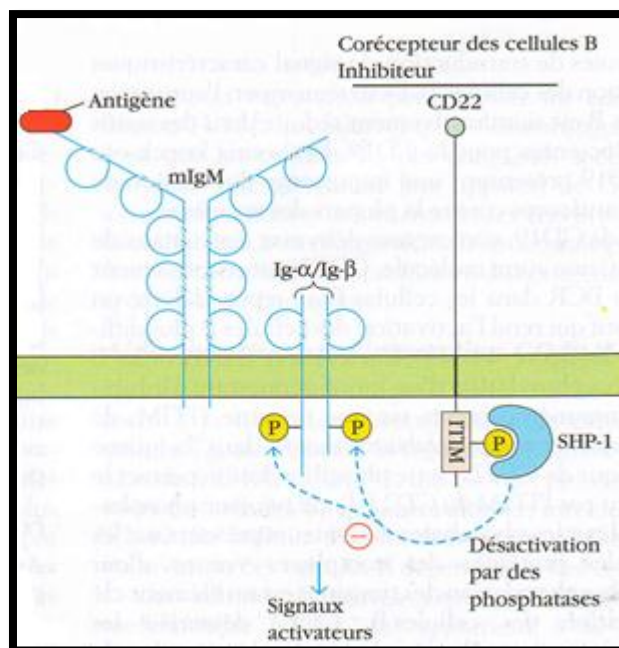
Ces étapes initiales mettent en mouvement une série d'événements qui induisent les différentes cascades de signalisation nécessaires à l'activation des cellules B (**Figure 17**), ces cascades de signalisation incluent des voies dépendantes des petites G, de la libération de calcium, et de la protéine kinase C, certaines de ces voies conduisant à la production du facteur de transcription NF $\kappa$ B. Toutes ces voies de signalisation sont aussi engagées au cours d'une activation des cellules T.



**Figure 17**

### 3.2.3. Inhibition du signal des BCR

L'inhibition du signal activateur de l'IgM est favorisée la molécule CD22, qui est constitutivement associée au BCR dans les cellules B au repos. CD22 délivre un signal négatif qui rend l'activation des cellules B plus difficile. L'activation des cellules B induit la phosphorylation d'un motif permettant l'inhibition des immunorécepteurs via une tyrosine (ITIM, immunoreceptor tyrosine inhibitory motif) dans la queue cytoplasmique de CD22. Cette phosphorylation permet le recrutement par l'ITIM du CD22 d'une tyrosine phosphatase qui enlève les phosphates activateurs présents sur les tyrosines des protéines des complexes voisins. CD22 désactive les cellules B et joue un rôle dans la régulation négative des cellules B (**Figure 18**).



**Figure 18**

### 3.3. 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.

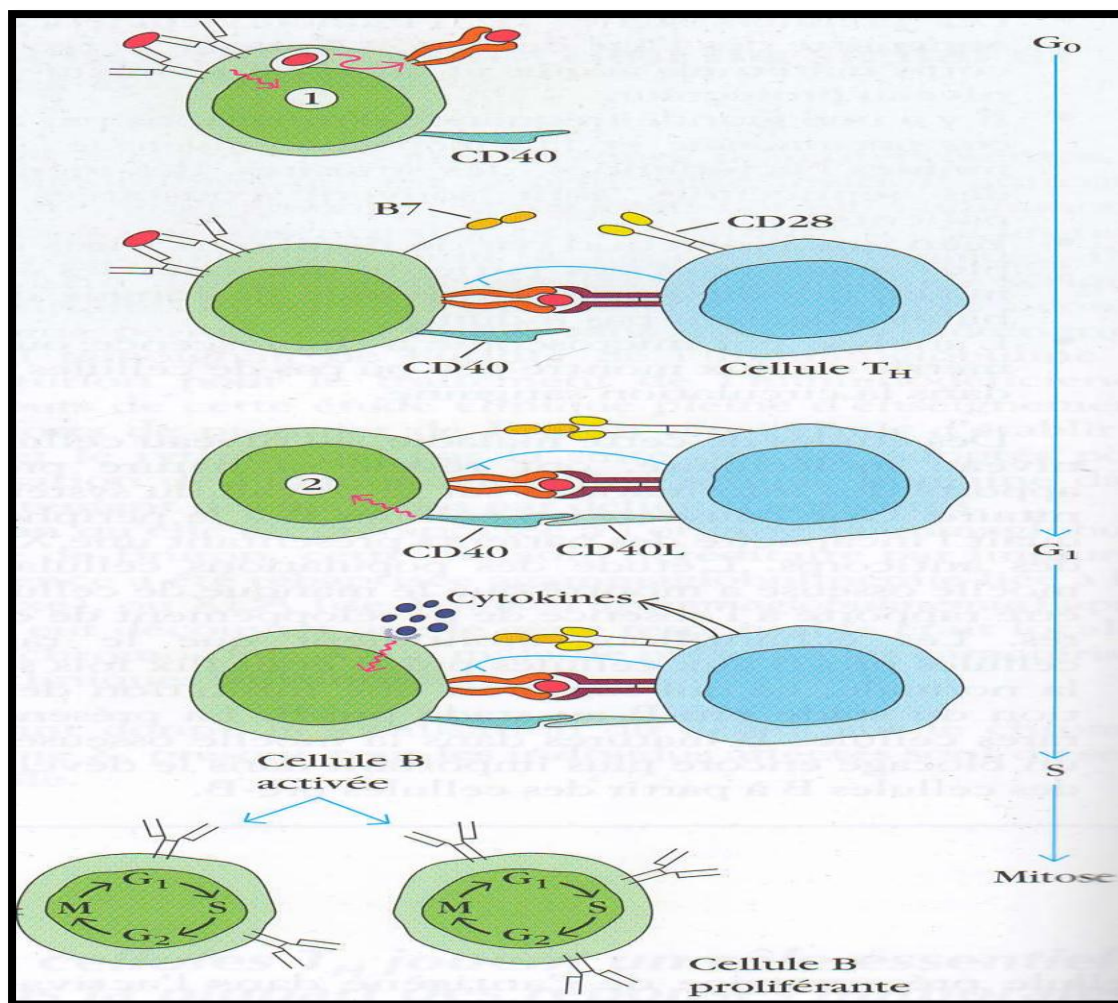
Après la liaison de l'antigène par la mlg des cellules B l'antigène est internalisé par endocytose médiée par un récepteur, puis apprêtée en peptides dans la voie endocytaire. La liaison de l'antigène initie aussi un signal venant du BCR qui induit la cellule B à réguler positivement l'expression de nombreuses molécules membranaires, y compris les molécules de classe II du CMH et le ligand B7 de costimulation (**Figure 19**). 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 (**Figure 16**). 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. Bien que le CD40 n'ait pas d'activité kinasique, sa liaison avec son ligand exprimé par les cellules T, CD40L, est suivie de l'activation de tyrosine protéine kinases, telles que Lyn et Syk. La liaison du CD40 conduit aussi à l'activation de la phospholipase C et à la création subséquente des seconds messagers IP<sub>3</sub> et DAG, ainsi qu'à l'activation de nombreux facteurs de transcription tels que NF- $\kappa$ B.

Une fois activée, 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 plusieurs événements parmi lesquels : la formation de plasmocytes et de cellules B à mémoire, la commutation de classe et la maturation de l'affinité.



**Figure 19**

### Voie de signalisation des cytokines

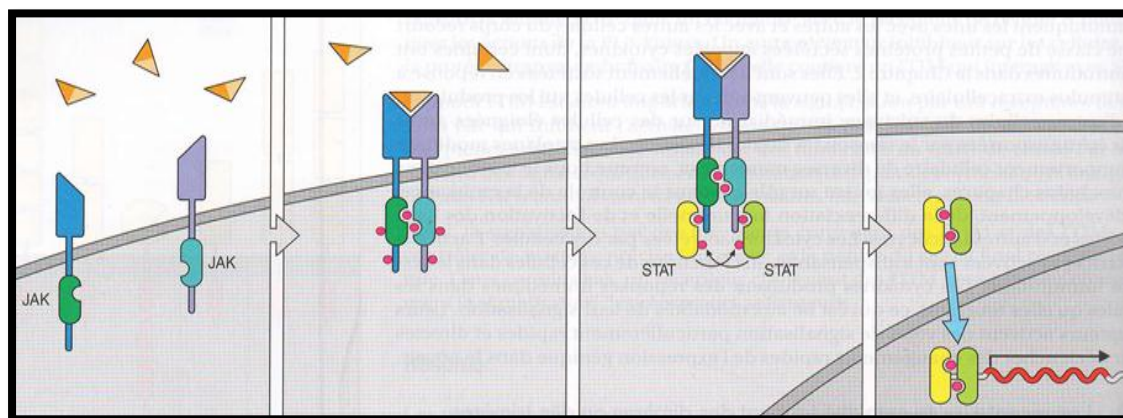
Les récepteurs des cytokines activent des voies de signalisation particulièrement rapides et directes pour déclencher des changements rapides de l'expression génique dans le noyau. Les récepteurs de cytokine de type hémopoiétine sont associées de manière covalente à des protéines tyrosine kinases de la famille Janus kinase (JAK). La dimérisation ou le regroupement des chaînes de signalisation permet aux JAK de se phosphoryler l'une l'autre, stimulant ainsi leur activité kinasique. Les JAK activées phosphorylent alors des résidus tyrosine spécifiques pour produire des sites de liaison pour les protéines pourvues de domaines SH2. Certains sites de tyrosine phosphorylés recrutent des facteurs de transcription contenant des SH2 appelés STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription). Le recrutement de STAT permet sa phosphorylation et ainsi le changement de sa conformation, ce qui permet à STAT de

se lier à un autre STAT et de former un dimère. Les STATs peuvent former des hétérodimères ou des homodimères, qui se détachent de leur récepteur et entrent dans le noyau ou ils stimulent l'expression de gènes sélectifs. Parmi les gènes régulés par le STAT, on trouve ceux qui contribuent à la croissance et à la différenciation des sous-populations particulières de lymphocytes.

La transcription assurée par STAT n'est pas la seule voie que des récepteurs de cytokine peuvent ouvrir. Des récepteurs de cytokine peuvent par exemple activer la voie de la Ras-MAP kinase et la voie du phosphatidylinositol ; mais le mode d'activation de ces voies est peu connu (**Figure 20**).

Divers mécanismes inhibiteurs spécifiques de cytokines assurent que les voies de signalisation des cytokines puissent être arrêtées efficacement. Comme la signalisation d'un récepteur de cytokine dépend de la phosphorylation de tyrosine, la déphosphorylation du complexe du récepteur par une tyrosine phosphatase est un moyen important de bloquer la transmission. Diverses tyrosine phosphatases ont été impliquées dans la déphosphorylation des récepteurs de cytokine, des JAK et des STAT; elles comprennent SHP, CD45 et la phosphatase des cellules T.

La signalisation par les cytokines peut aussi être arrêtée par une rétroaction négative qui implique des inhibiteurs spécifiques induits à la suite de l'activation par la cytokine. Une classe d'inhibiteurs comprend les protéines SOCS, qui bloquent la signalisation de diverses manières, entre autres en favorisant l'ubiquitinylation et la dégradation subséquente des récepteurs, des JAK et des STAT. Une autre classe de protéines inhibitrices comprend les protéines PIAS (Protein Inhibitors of Activated STAT ou inhibiteurs protéiques de STAT activé) ; celles-ci favoriseraient également la dégradation des récepteurs et d'autres composants de la voie d'activation.



**Figure 20**