

Chapitre I.

Les cellules de l'immunité

1- Les cellules souches hématopoïétiques

Les cellules souches sont des cellules de petite taille environ 5 μm présentant un rapport nucléocytoplasmique élevé. Ce sont des cellules pluripotentes, peu différenciées, localisées dans le foie pendant la vie fœtale et elle colonisent ensuite, la moelle osseuse où elles se divisent activement et se renouvellent continuellement.

La différenciation des lignées cellulaires à partir de la cellule souche est déterminée par le microenvironnement cellulaire et nécessite de ce fait, un contact avec les cellules stromales et l'action des facteurs de croissance ou des cytokines (fig.1).

Les cellules stromales y compris les cellules épithéliales, les fibroblastes et les adipocytes, créent différents foyers où les cellules se développent. Cependant, les cytokines sont essentielles pour ce processus et les molécules d'adhésion semblent jouer également un rôle important.

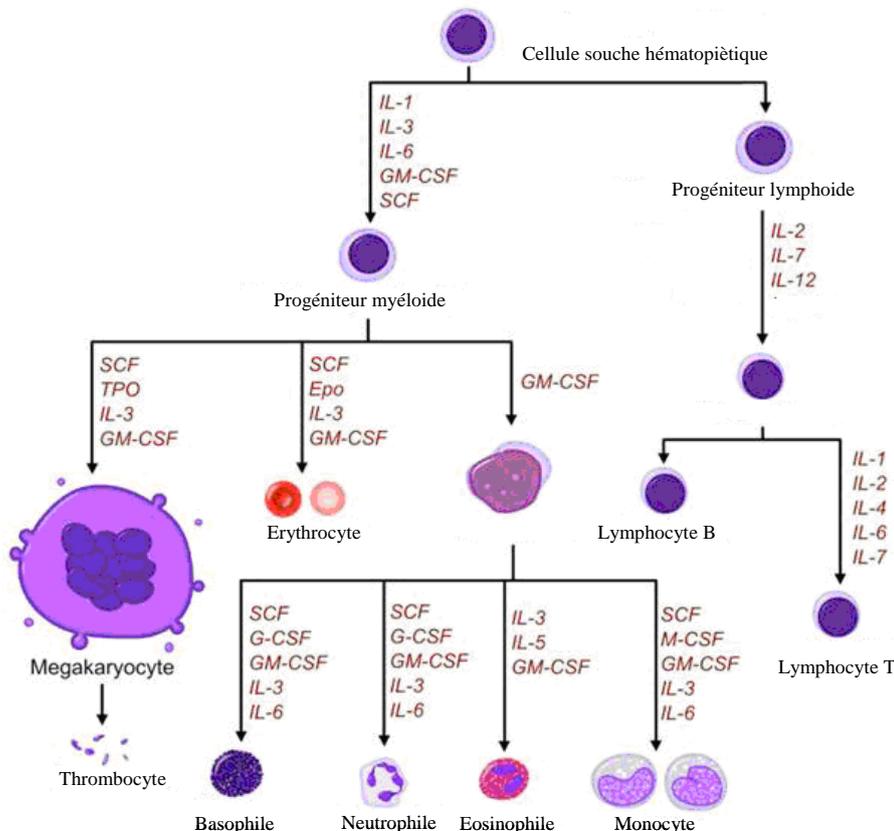


Figure 1: Schéma représentant le processus de l'hématopoïèse. La cellule souche hématopoïétique se différencie sous l'effet des cytokines en deux lignées cellulaires. Lignée myéloïde sous l'effet de l'IL-3 et la lignée lymphoïdes sous l'effet de l'IL-3. La progénitrice myéloïde se différencie pour donner les érythrocytes, les mégacaryocytes, les basophiles, les éosinophiles, les neutrophiles et les monocytes qui se différencient à leurs tours en macrophages. Les cellules dendritiques de la lignée myéloïde peuvent se

2 – Les cellules immunitaires

2-1- Les lymphocytes

Selon l'hypothèse dominante, la différenciation vers la lignée lymphoïde passe tout d'abord par le progéniteur lymphoïde commun (PLC), capable à son tour de dériver vers les lignées T, B et NK.

2-1-1- Les lymphocytes T : représentent 15 à 30 % des leucocytes et 70% des lymphocytes. C'est une population de cellules âgées, non renouvelées. Au repos, ce sont des petites cellules de 7 à 8 µm de diamètre, possédant une mince couche cytoplasmique au tour d'un noyau volumineux.

2-1-1-1 Le thymus

Le thymus, lieu majeur de la production des lymphocytes T, est continuellement colonisé par les précurseurs des lymphocytes T et ce dès la période embryonnaire. Le développement des lymphocytes T est assuré grâce à un micro- environnement cellulaire spécialisé fournissant aux thymocytes les facteurs nécessaires et les conditions adéquates.

Le rôle du thymus dans la lymphopoïèse a été démontré par des expériences de thymectomie néonatale chez la souris (Miller, 1961). Dans ces expériences, Miller a pu observer que la thymectomie induit une diminution du nombre de lymphocytes, une susceptibilité accrue des souris aux infections et l'absence de rejet immédiat d'une greffe allogénique.

2-1-1-2 Maturation des lymphocytes T

La maturation des lymphocytes T passe par différents stades :

* **Stade double négatif**

Les progéniteurs T provenant de la moelle osseuse rentrent dans le thymus, ils sont d'abord appelés «**thymocytes double négatif** ». Ce stade est caractérisé par une **absence** de **CD4**, de **CD8**, de **CD3** et de **TCR**. Ces cellules constituent environ 5% de la population totale du thymus et la durée du développement est d'environ 2 semaines.

Ce stade est divisé en 4 étapes de maturation :

- Double négatif 1 (DN 1) : à ce stade les cellules expriment à leur surface les molécules C-kit ou CD117, une tyrosine phosphatase ligand du SCF (Stem Cell Factor) et le CD44 qui joue un rôle

important dans la migration des progéniteurs vers le thymus. A ce niveau les cellules ont la capacité de générer encore des lymphocytes B, des cellules NK et même des cellules dendritiques.

- **Double négatif 2 (DN2)**: ce stade est caractérisé par l'apparition de la molécule CD25. Les thymocytes deviennent donc **CD4⁻ CD8⁻ CD117⁺ CD44⁺ CD25⁺**. Ces cellules ne peuvent plus se différencier en cellules B ou NK mais elles gardent le potentiel de différenciation en cellules dendritiques si les conditions environnementales requises sont présentes.

Le passage du double négatif 1 à double négatif 2 s'accompagne d'une prolifération intense.

- **Double négatif 3 (DN3)**: les cellules perdent l'expression des récepteurs C-kit et, en partie, CD44 (c-kit^{-/low} CD44^{low} CD25⁺) et acquièrent une expression forte du marqueur CD2, ceci est un signe que l'engagement dans la lignée T est désormais définitif.

Les gènes codant pour les chaînes β , γ et δ du TCR se réarrangent pour être exprimés. Si un réarrangement productif donne une chaîne β , un pré TCR est exprimé dans les cellules DN3. Ce pré TCR est formé de l'association de la chaîne β avec une chaîne α de substitution appelée pT α , commune à toutes les cellules DN3. Si aucun des deux allèles du locus β ne donne un réarrangement productif et si le thymocyte ne peut s'engager dans la voie TCR $\gamma\delta$, il meurt par apoptose. Ce processus constitue un point de contrôle important pour les thymocytes, il est appelé « sélection β ».

Au contraire, si le thymocyte traverse avec succès l'étape de sélection β et exprime à sa surface le pré-TCR, il passe au stade suivant.

- **Double négatif 4 (DN4)** : les cellules sont de phénotype **C-kit⁻ CD44^{-/low} CD25⁻** mais expriment à leurs surfaces le pré TCR. Durant la transition entre double négatif et double positif, les gènes codant pour la chaîne α du TCR se réarrangent.

* Stade double positif (DP)

Le pré- TCR est accompagné de l'expression du CD3. L'assemblage pré TCR/ CD3 engendre l'expression des molécules CD4 et CD8. Les thymocytes deviennent « double positifs » et entrent en prolifération.

Un TCR complet formé de deux chaînes α et β est ensuite exprimé en fin du stade à la surface cellulaire.

La population des thymocytes DP (CD4⁺ CD8⁺) représente environ 80% des cellules du thymus d'une souris adulte. On estime que les thymocytes restent environ 3 à 4 jours au stade DP.

* La sélection positive

Cette sélection permet de différencier les thymocytes en CD4+ et CD8+. Cette discrimination dépendra du type de CMH avec lequel le thymocyte aura le plus d'affinité. Une meilleure affinité pour le CMHI produira des TCD8, tandis qu'une meilleure affinité pour le CMHII donnera des TCD4.

* La sélection négative

Elle permet l'élimination des thymocytes qui réagissent fortement aux interactions avec le CMH présentant un peptide du soi. Les mécanismes précis de la sélection négative ne sont pas encore connus.

Une fois ces deux sélections terminées, les lymphocytes sont de petite taille et en état de repos et vont migrer vers les organes secondaires où ils pourront effectuer leurs fonctions.

2-1-1-3 Le récepteur TCR (T cell receptor) : le récepteur des lymphocytes T est un hétérodimère formé d'une chaîne α (50 KDa) et une chaîne β (35 KDa) reliées par un pont disulfure. Chaque chaîne est constituée d'un domaine variable à l'extrémité N-terminale et un domaine constant à l'extrémité C-terminale (fig.2).

Les régions variables des chaînes α et β forment ensemble le site de liaison avec l'antigène.

Les régions constantes sont formées de 3 domaines, un domaine extra membranaire, un domaine trans-membranaire composé de 20 à 24 acides aminés et un domaine intra cytoplasmique formé de 5 à 12 acides aminés. Ce dernier est très court pour transmettre les signaux intrinsèques. D'autres molécules sont associées physiquement au TCR et sont requises pour assurer cette fonction.

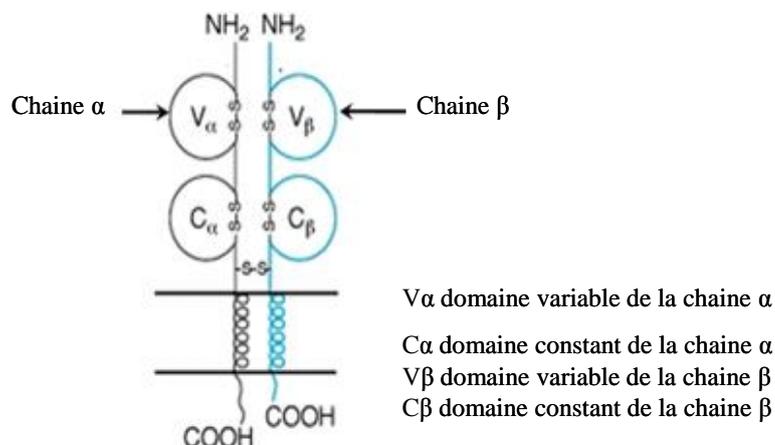


Figure 2: Schéma représentant la structure du TCR $\alpha\beta$

2-1-1-4 Molécules associées au TCR

* **Le complexe CD3** : c'est un complexe protéique formé de 5 chaînes différentes γ , δ , ϵ , ξ et η , qui s'associent pour former pour former 3 dimères $\gamma\epsilon$, $\delta\epsilon$, $\xi\xi$ (il existe une combinaison $\xi\eta$ mais elle est peu exprimée). Le complexe CD3 est responsable de la signalisation moléculaire du TCR (fig.3).

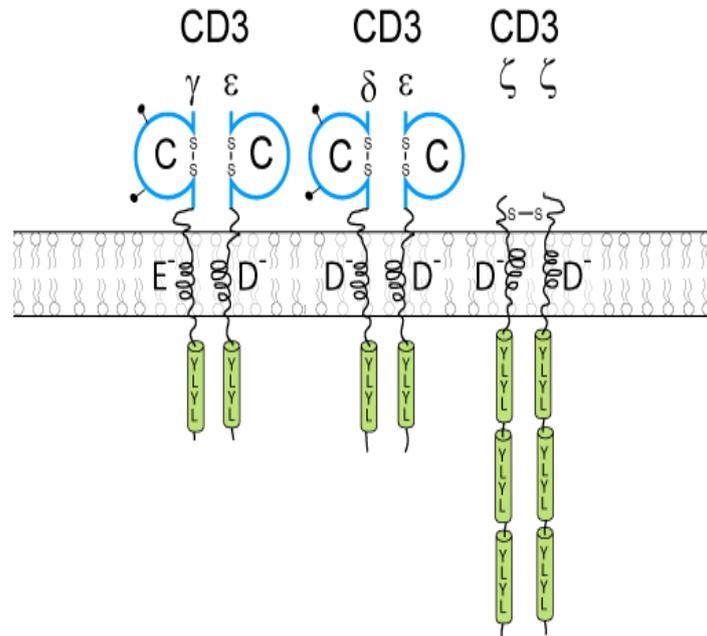


Figure 3: Schéma représentant la structure du complexe CD3.

* **Le CD4**, faisant partie de la superfamille des immunoglobulines, est constitué d'une région extramembranaire formée de 4 domaines globulaires, une région transmembranaire et une région cytoplasmique formant un complexe avec des protéines kinases spécifiques permettant de connecter les molécules CD4 avec les voies de transduction du signal.

* **Le CD8** est un hétérodimère composé de deux chaînes α et β associés par un pont disulfure ; chaque chaîne comporte un domaine en boucle. La partie cytoplasmique est liée à des protéines kinases et participe également à la transduction du signal.

2-1-1-5 Les différentes populations des lymphocytes T

➤ Les T helpers (T4 ou Th)

Les lymphocytes T4 expriment à leur surface le CD4 qui limite la fonction de ces cellules sur les cellules de l'organisme exprimant le CMHII. En fonction du profil cytokinique, les Th sont divisés en deux sous populations principales :

- les Th inflammatoires ou Th1 impliqués dans la réponse inflammatoire à travers l'activation des macrophages. Les Th1 produisent principalement $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ et IL-2 et accessoirement le $TNF\beta$ et IL-3.

- les Th2 sont des cellules impliquées dans l'activation des lymphocytes B. Ils produisent principalement IL-4 et IL-10 et accessoirement IL-3, IL-5, IL-6, IL-13, IL-2.

Ces deux types de cellules sont issues d'un précurseur appelé Th0 produisant de l'IL-2 et se différencie en Th1 ou Th2 selon l'environnement cellulaire (fig. 4). Il devient Th1 dans le cas où l'environnement est riche en IL-12 (produit par les monocytes et les macrophages) ou en $IFN\gamma$ (produit par les cellules NK sous l'influence de l'IL-12 et le $TNF\alpha$). La différenciation en Th2 se manifeste en cas de concentration optimale en IL-4 produit par les mastocytes et les lymphocytes B. La présence de l' $IFN\gamma$ inhibe la génération de Th2 tandis que celle d'IL-4 inhibe la formation de Th1.

Remarque : il est important de signaler qu'il existe d'autres types de lymphocytes TCD4 de découverte récente, comme les T régulateurs, les Th17 et les Th9.

Les TH17 : sont des cellules caractérisées par la production préférentielle de l'IL17, IL-21 et IL-22 jouant un rôle dans la lutte contre les bactéries extra cellulaires et interviennent dans la pathogénie auto-immune.

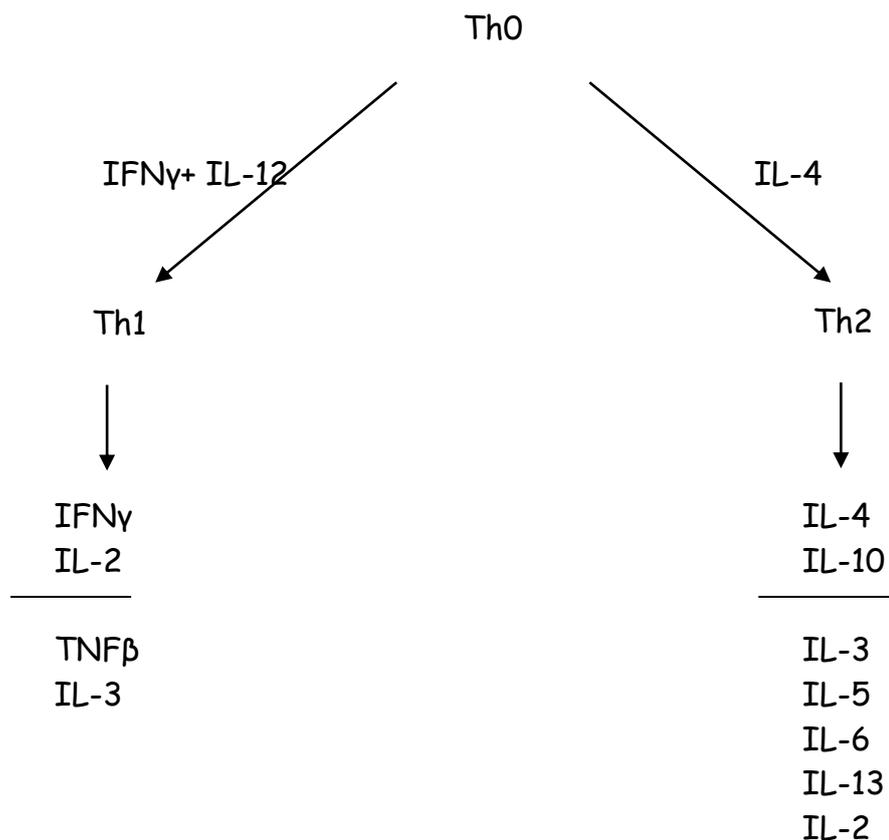


Figure 4 : balance TH1/TH2

Les TH9, cellules caractérisées par la production de l'IL-9. Elles interviennent dans l'immunité anti parasitaire surtout au niveau des intestins.

Les T régulateurs : sont des CD4⁺ CD25⁺. C'est une population de cellules capables de supprimer la réponse immunitaire à travers différents mécanismes, impliquant la production de cytokines anti-inflammatoires, le contact direct cellule-cellule ou la modulation de l'état d'activation des cellules présentatrices de l'antigène.

➤ **Les lymphocytes T cytotoxiques (Tc ou T8)**

Ce sont essentiellement des TCD8⁺ mais cette propriété a été aussi observée chez quelques TCD4. La différence est que les TCD8 peuvent lyser toutes les cellules de l'organisme tandis que les TCD4 n'agissent que sur les cellules exprimant le CMHII.

La cytolyse fait intervenir la perforine et les granzymes.

➤ **Les lymphocytes à TCR $\gamma\delta$**

Les lymphocytes à TCR $\gamma\delta$ se développent *in vitro* à partir d'un précurseur CD2⁺ CD3⁻ CD4⁻ CD8⁻ sous l'action de l'IL-4 et sous contact avec le microenvironnement thymique. Ces lymphocytes et contrairement aux lymphocytes à TCR $\alpha\beta$ ne semblent pas reconnaître des antigènes présentés sur des molécules CMH.

La majorité de ces cellules sont constituées de cellules doubles négatives en CD4 et CD8 et possèdent les molécules de surface suivantes CD2, CD3, CD5, CD11b, CD16, CD25 et CD28. La majorité de ces cellules sont productrices d'IL-4, IL-5 et IFN γ .

Les différentes fonctions :

- les lymphocytes TCR $\gamma\delta$ renferment des cellules capables de lyser *in vitro* les cellules infectées par des mycobactéries.
- le nombre de ces cellules augmente au cours de la rougeole et les lésions de leishmaniose cutanée.
- le nombre de ces cellules augmente chez les patients du SIDA.
- ces cellules possèdent la capacité de lyser des cellules tumorales.

2-1-2- Les lymphocytes B : sont des cellules de 7 à 8 μm de diamètre. Elles ont la même morphologie que les lymphocytes T, leur rôle principal est de produire les anticorps.

2-1-2-1 Maturation des lymphocytes B

Les stades de différenciation peuvent être divisés en deux phases :

➤ **Phase indépendante de l'antigène :**

- **Pro B :** les cellules souches lymphoïdes se différencient en cellules pro B, exprimant à leur surface le marqueur lymphocytaire CD45R (une tyrosine phosphatase transmembranaire). Ce stade se divise en deux compartiments, pro B précoce dans lequel apparaît la molécule CD19 et le stade pro B tardive qui est caractérisé par le réarrangement de gènes de la chaîne lourde μ .

Après prolifération, au niveau de la moelle osseuse, une différenciation en pré B nécessite une interaction avec les cellules stromales.

- **Pré B :** les lymphocytes expriment le pré BCR et le marqueur CD20. Le pré-BCR est composé de deux chaînes lourdes μ et de deux chaînes légères de substitution (Surrogate Light Chains, SLC). Il est également associé à deux molécules de signalisation, $\text{Ig}\alpha$ et $\text{Ig}\beta$ (ou respectivement CD79a et CD79b).

A ce stade les lymphocytes B sont de grande taille et sont appelés large pré-BII. La génération d'un signal par le pré BCR entraîne une prolifération intense des lymphocytes B et les cellules se transforment en petites cellules (stade de Small pré-BII).

Une fois que la cellule sort du cycle cellulaire, le complexe pré-BCR est internalisé. La synthèse des chaînes légères κ ou λ , qui vont remplacer le SLC, entraîne l'expression d'une IgM monomérique qui sera exprimée à la surface cellulaire.

- **Stade B immature :** les lymphocytes B immatures exprimant des molécules IgM à la surface sont alors sujets à un processus de sélection négative permettant l'élimination des lymphocytes à BCR auto-réactifs.

Ces derniers seront éliminés par apoptose (BCR auto-réactif de forte affinité), ou deviendront non réactives par un processus d'anergie (BCR auto-réactif de faible affinité). Un autre phénomène d'échappement est lié à la ré-édition du BCR (ou BCR-editing) avec réarrangement de la chaîne légère (VL) du BCR initialement auto-réactif. Les cellules B immatures qui réussissent à passer ces premiers points de contrôle de la tolérance, quitteront la moelle osseuse et poursuivront leur développement en périphérie.

- **Stade B mature :** les cellules B immatures ayant quitté la moelle osseuse passent par un stade intermédiaire, le stade B transitionnel. Ils expriment une IgM et une IgD de surface et se différencient, soit en lymphocytes B folliculaires conventionnels impliqués dans les réponses humorales dépendantes des lymphocytes T, soit en lymphocytes B de la zone marginale qui sont impliqués dans les réponses humorales thymo-indépendantes.

➤ **Phase dépendante de l'antigène**

Les lymphocytes B folliculaires représentent 80% des cellules B de la rate et possèdent la capacité de coloniser les ganglions lymphatiques. Après activation, les lymphocytes B peuvent se différencier rapidement (sous l'effet de l'IL-1) en plasmocytes producteurs IgM à courte durée de vie, ou bien former des centres germinatifs où ils subissent les processus d'hypermutation somatique et de commutation isotypique, avant de se différencier en cellules B mémoires ou en plasmocytes (en présence de l'IL-5, et l'IL-6).

2-1-2-2 Le récepteur BCR (B cell receptor) : le récepteur de l'Ag au niveau des cellules B est une immunoglobuline. Initialement les cellules produisent l'IgM puis l'IgD (fig. 5).

Cependant, ces immunoglobulines membranaires sont associées à deux autres polypeptides l'Ig α (CD79a) et l'Ig β (CD79b); ces deux molécules ont un rôle dans la transduction du signal.

Il existe également des corécepteurs associés au BCR ; CD19, CD21, CD32 et CD81.

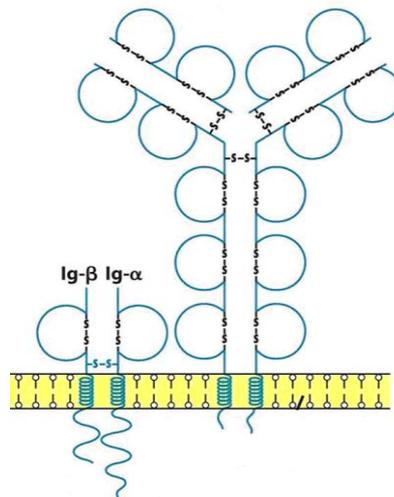


Figure 5: structure du complexe BCR/ Ig α -l'Ig β .