

Développement des cellules de l'immunité spécifique = développement des lymphocytes

1. Origine des lymphocytes

- les lymphocytes proviennent d'une cellule souche hématopoïétique multipotentielle (= totipotente)
- Schémas
- les cellules souches se trouvent dans la moelle osseuse où elles prolifèrent et se différencient
 - on peut également les trouver dans la circulation (mais ne prolifèrent pas que).

2. Caractéristiques de la différenciation des lymphocytes

- au niveau des organes lymphoïdes primaires (LT = thymus ; LB = moelle osseuse) :
 - acquisition du récepteur pour l'antigène
 - à ce niveau s'installe une tolérance au soi (neutralisation des lymphocytes capables de reconnaître le soi)
- lymphocytes sortant des organes lymphoïdes primaires = lymphocytes naïfs : ils n'ont jamais rencontré d'antigène.
- rencontre avec l'antigène au niveau des organes lymphoïdes périphériques :
 - rate
 - ganglions
 - organes lymphoïdes associés aux muqueuses

Lymphocytes naïfs deviennent alors des lymphocytes effecteurs.

Lymphocytes effecteurs :

- dans le cadre LB : différenciation en cellules productrices d'anticorps = plasmocytes
- dans le cadre des LT :
 - LT CD 8 - - - > cytotoxiques
 - LT CD4 effecteurs : - - - > cellule T H 1 = LT inflammatoires
- - - > cellule T H 2 = LT auxiliaires : participent à l'activation des LB

La différenciation de lymphocytes serait envisagée en 2 étapes :

- au niveau des organes lymphoïdes primaires, en absence de toute rencontre avec le différent de soi : lymphocytes matures mais naïfs.
- au niveau des organes lymphoïdes secondaires, rencontre avec le différent de soi : lymphocytes effecteurs.

3. Méthodes d'étude des populations et sous-populations lymphocytaires

- lymphocytes = cellules ubiquitaires. On en trouve partout dans l'organisme, particulièrement dans le sang.
- après prélèvement sanguin, réalisation d'un frottis, puis coloration MGG.

Schémas

3.1. Analyse phénotypique

Les lymphocytes peuvent être différents entre eux par des protéines qu'ils expriment à leur surface = marqueurs, qui peuvent également être caractérisés par leurs propriétés antigéniques.

3.1.1. Contribution des anticorps pluriclonaux

Procédure :

Schémas

L'obtention d'un sérum polyclonal : contient différents anticorps qui reconnaissent différents épitopes de la protéine.

3.1.2. Les anticorps monoclonaux

- **présentation du problème**

(1)

Schémas

- les plasmocytes produisent une variété d'anticorps et 1 seule.
- plasmocyte : durée de vie relativement courte, donc quantité d'anticorps préparée relativement faible, mais tous les anticorps ont une même spécificité de reconnaissance

(2) il existe des cellules lymphocytaires B tumorales = cellule myéломateuse.

- elles prolifèrent indéfiniment
- certaines ne synthétisent pas d'Immunoglobuline

Schémas

(3) en rassemblant ces données : la solution !

Fusion d'un plasmocyte et d'une cellule myéломateuse = hybridome.

- il synthétise un Ac avec une spécificité donnée
- il prolifère indéfiniment.

- **Remarque** : dans les lymphocytes il existe une synthèse de nucléotides selon 2 voies :

Schémas

Pour se débarrasser des cellules myéломateuses non fusionnées :

- cellules déficientes au niveau de la voie d'épargne ET cultivées dans un milieu sélectif qui bloque la synthèse de novo ;

La cellule meurt donc car il n'y a pas d'apport de bases.

De cette manière :

Schémas

- **mécanisme** :

- o immunisation d'un animal avec 1 antigène
 - on obtient des plasmocytes (cellules rate) que l'on fusionne avec des cellules myéломateuses ; on obtient des hybridomes que l'on clone.
 - mise en culture : toutes les cellules dont mêmes puis sont identiques
 - elles produisent une variété d'anticorps = anticorps monoclonal.
-
- o les anticorps produits dans les différents puits sont testés avec l'antigène. Les hybridomes produisant les meilleurs anticorps sont conservés.

(Poly page 45)

- **détection** :

- o méthode directe

Schémas

Anticorps monoclonal couplé à : 1 fluorochrome, une ferritine, une enzyme (ex : phosphatase alcaline), billes magnétiques etc.

- o méthode indirecte

Schémas

Principale conclusion de l'étude phénotypique

- lymphocytes, avec des combinaisons particulières de protéines membranaire, présentent des fonctions différentes.
- molécules membranaires = antigènes de différenciation qui définissent les C D (cluster of différenciation) suivi d'un nombre arbitraire.

Ex : schéma

3.2. Analyse fonctionnelle

Rares lymphocytes, après rencontre avec l'antigène, vont proliférer, se différencier.

Schéma

les Mitogènes polyclonaux (stimulant un ensemble de lymphocytes) sont des protéines, telles que les lectines, capable d'interagir de manière très spécifique et avec des résidus osidiques bien définis.

Schéma

- lectines :
 - phytohémagglutinine (PHA) : stimule spécifiquement les LT humains.
 - concanavaline A (con A) : LT souris.
 - mitogène de Pekeweed (P W M) : LT et LB humains.
- lipopolysaccharide bactérien (L P S) : LB murins.

Les lymphocytes au repos après stimulation (lectines par exemple) vont devenir des lymphocytes stimulés.

Schémas

Augmentation du volume cellulaire, le rapport nucléocytoplasmique diminue : la cellule va se diviser.

Après prolifération, retour à une morphologie de lymphocyte un repos. Prophase

Modifications similaires :

Lorsqu'un lymphocyte rencontre un antigène et qu'il reconnaît spécifiquement, au niveau des organes lymphoïdes périphériques (cellules stimulées à ce niveau) ; on ne retrouve donc pas habituellement de lymphocytes activés dans le sang (sauf si mononucléose infectieuse, ou leucémie lymphoïde aiguë).

4. Développement des lymphocytes T

4.1. Origine

Cellules souches hématopoïétiques totipotentes - - - - > progéniteurs - - - - > thymus (organe lymphoïde primaire où se développent les LB) : thymocytes.

- absence de thymus : syndrome de Di Georges (absence de LT)
- production des lymphocytes T en fonction de l'âge : thymus complètement développé avant la naissance, donc production des LT au cours des premières années, avant la puberté.. Après la puberté, le thymus involue, donc la production de LT est ralentie.

4.2. Développement et structure du thymus

- embryogenèse :

- le thymus se constitue à partir d'une poche de tissu située au niveau de la région pharyngienne de l'embryon. Cela constitue un réseau de cellules épithéliales = le stroma thymique.

- l'ébauche thymique va alors être colonisée par des cellules d'origine hématopoïétique : les précurseurs des thymocytes, des macrophages, des cellules dendritiques.

Thymus : de nombreux lobules :

Schémas

4.3. Développement des lymphocytes T dans le thymus.

- progéniteurs des lymphocytes T :
 - issus de la moelle osseuse
 - quand ils pénètrent dans le thymus, ils n'ont aucune des molécules retrouvées à la surface des LT matures
 - ils ne possèdent pas de récepteur pour l'antigène.
- interaction avec le stroma thymique (cellules épithéliales)
 - prolifération rapide et d'expression du CD 2 (interaction avec le LFA3)
 - ils n'expriment pas le TCR, CD4, et CD 8 : thymocytes double négatifs (environ 5% des thymocytes est présent dans le thymus).
- les cellules progressent dans leur maturation
 - réarrangement des gènes codant pour le TCR
 - ils expriment le TCR, également le CD4 et CD 8 = thymocytes double positifs.

A ce stade : éducation : la sélection aboutit à la mise en place de la tolérance du soi et de la restriction aux molécules CMH du soi.

4.3.1. La sélection positive

- restriction aux molécules CMH du soi :
 - TCR des thymocytes double positifs sont capables d'interagir a priori avec toutes les formes alléliques des molécules du CMH
 - chez un individu donné : seuls ceux qui disposent d'un TCR capable d'interagir avec les molécules CMH exprimées par cet individu vont survivre.
- Il y a donc interaction avec les molécules CMH exprimées par les cellules épithéliales thymiques (exprimant molécules CMH - I et CMH - II).
- interaction : signal positif - - - > survie
 - pas d'interaction : apoptose.

Schémas.

- devenir phénotypique et des thymocytes

Thymocytes double positifs (CD4 et CD8) vont donner des LT soit CD4, soit CD8.

Orientations en deux étapes :

o distinction de 2 catégories de cellules :

- CD4 + fort, CD8 + faible
 - CD4 + faible, CD8 + fort
 - o dans un deuxième temps :
- seuls les CD4 + fort CD8 + faible qui interagissent avec les molécules CMH - II poursuivent leur maturation : perdent CD8 donc forment des LT CD4.
 - seuls les CD4 + faible CD8 + fort interagissent en avec les molécules CMH - I poursuivent leur maturation : perdent CD4 donc forment des LT CD8.

4.3.2. La sélection négative

C'est la tolérance au soi.

Les TCR des thymocytes double positifs reconnaissent le soi et le différent de soi.

Rappel : les molécules du CMH sont exprimées avec un peptide ; au niveau du thymus les peptides présentés par les molécules CMH sont uniquement des peptides du soi.

Thymocytes double positifs :

Reconnaissance spécifique du peptide présenté par les molécules CMH des cellules dendritiques, macrophages : les éliminations

Des thymocytes dont les TCR ont une spécificité pour le soi : sélection négative. C'est le mécanisme central de la mise en place de la tolérance du soi.

- sélection négative :

Schémas

Pas de reconnaissance spécifique du peptide présenté par la molécule CMH : survie. Maturation du thymocyte peut se poursuivre.

Les cellules qui survivent quittent le thymus = LT matures naïfs qui deviennent des LT effecteurs par reconnaissance spécifique de l'antigène.

Le thymus est donc un lieu de prolifération cellulaire intense chez l'individu jeune. On estime qu'il il y a moins de 2% des cellules qui y naissent qui vont pouvoir se différencier : reflet d'un criblage qui permet une restriction aux molécules CMH du soi (sélection positive) et la mise en place d'une tolérance au soi (sélection négative).

Remarque :

Une minorité de lymphocytes T présentent un TCR gamma delta (associées à CD3) :

- structure similaire au TCR $\alpha\beta$
- organisation génique similaire à celle des gènes codant pour les chaînes α et β mais en plus simple : variabilité très limitée.

Les LT gamma delta ont un développement particulier : localisation dans les tissus épithéliaux et fonction mal connue de (nature du ligand ?).

5. Le développement des lymphocytes B

Cellule souche hématopoïétique totipotente : donne par différenciation des cellules souches lymphoïdes.

Le LB poursuit son développement dans le foie fœtal à partir de la 8ème, 9ème semaine de la vie embryonnaire ; puis passe dans la moelle osseuse = organe lymphoïde primaire de développement des LB.

5.1. Étape du développement LB

L'acquisition du BCR se fait en différentes étapes, par réarrangements séquentiels.

- cellules Pro - B :

Elles n'expriment pas de BCR et les gènes n'ont pas encore été réarrangés.

Elles subissent un premier réarrangement par :

Segments de gènes codant pour la chaîne lourde.

Si le réarrangement est productif : synthèse de la chaîne mu.

Schémas

+ voir cours