

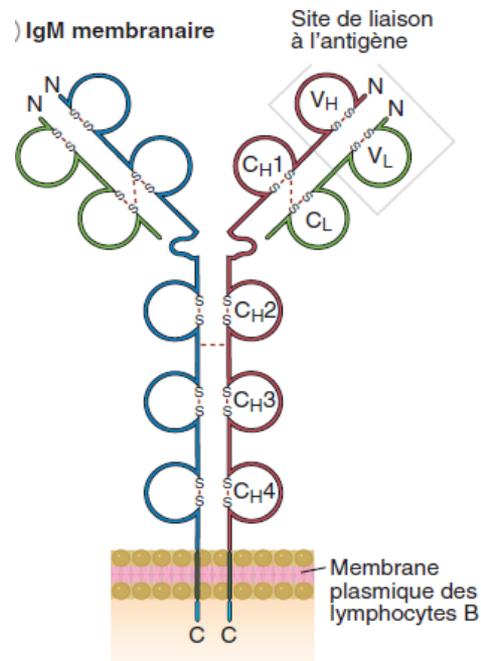
**Maturation thymique
et
Tolérance immunitaire au soi**

**Pierre Bobé
Université Paris-Saclay**

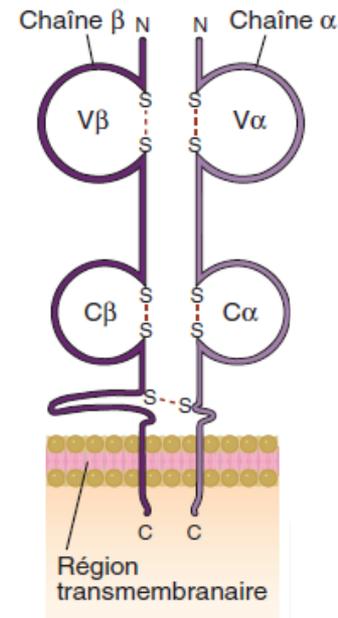
Rappel : récepteurs des lymphocytes B (BCR) et T (TCR)

- **Lymphocytes B** reconnaissent l'antigène sous sa forme native
- **Lymphocytes T** reconnaissent des peptides de l'antigène présentés par des molécules de classe I ou II du CMH

IgM membranaire



T-cell receptor



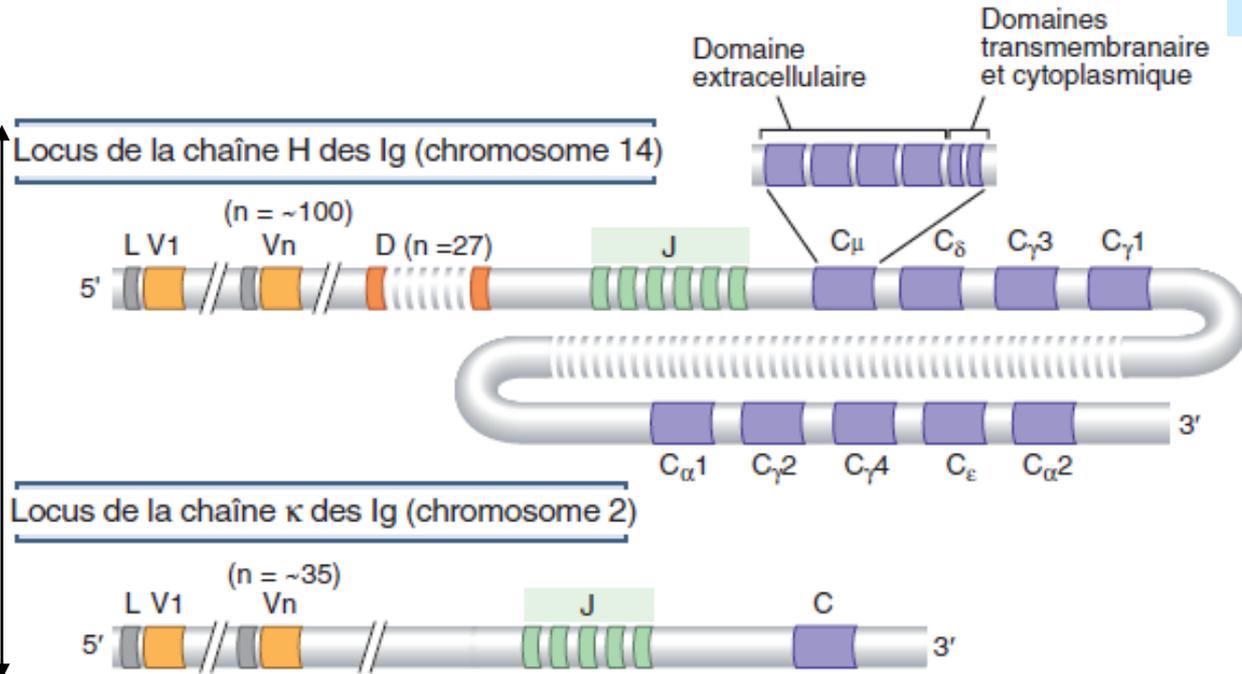
Organisation des loci des gènes des récepteurs d'antigène des lymphocytes B (BCR) et des lymphocytes T (TCR)

segments géniques :
 V = variable
 D = diversité
 J = joignant
 C = constant

BCR

domaine VH formé de la recombinaison aléatoire des segments géniques V, D et J par la recombinaison RAG1/2

domaine VL formé de la recombinaison aléatoire des segments géniques V et J par la recombinaison RAG1/2

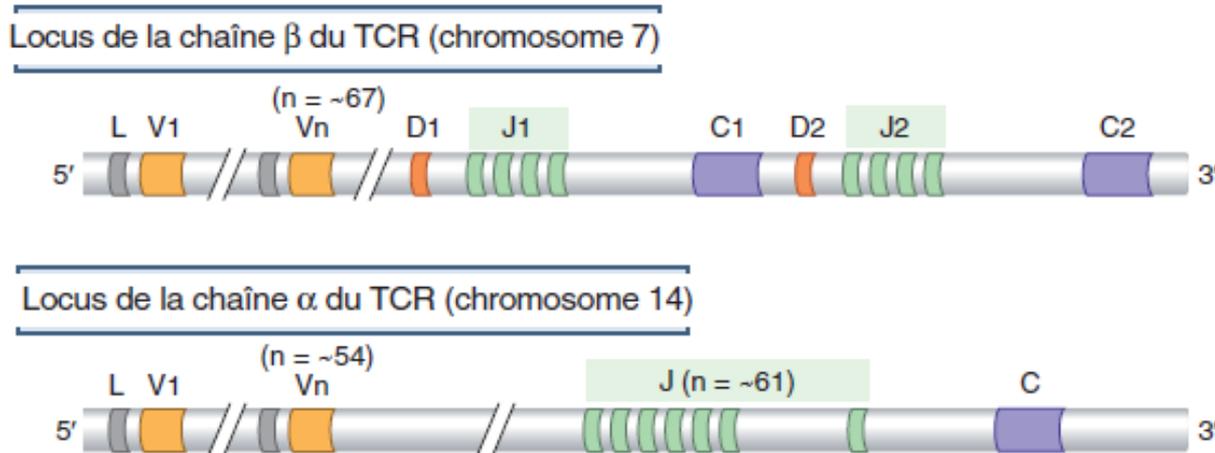


Moelle osseuse

TCR

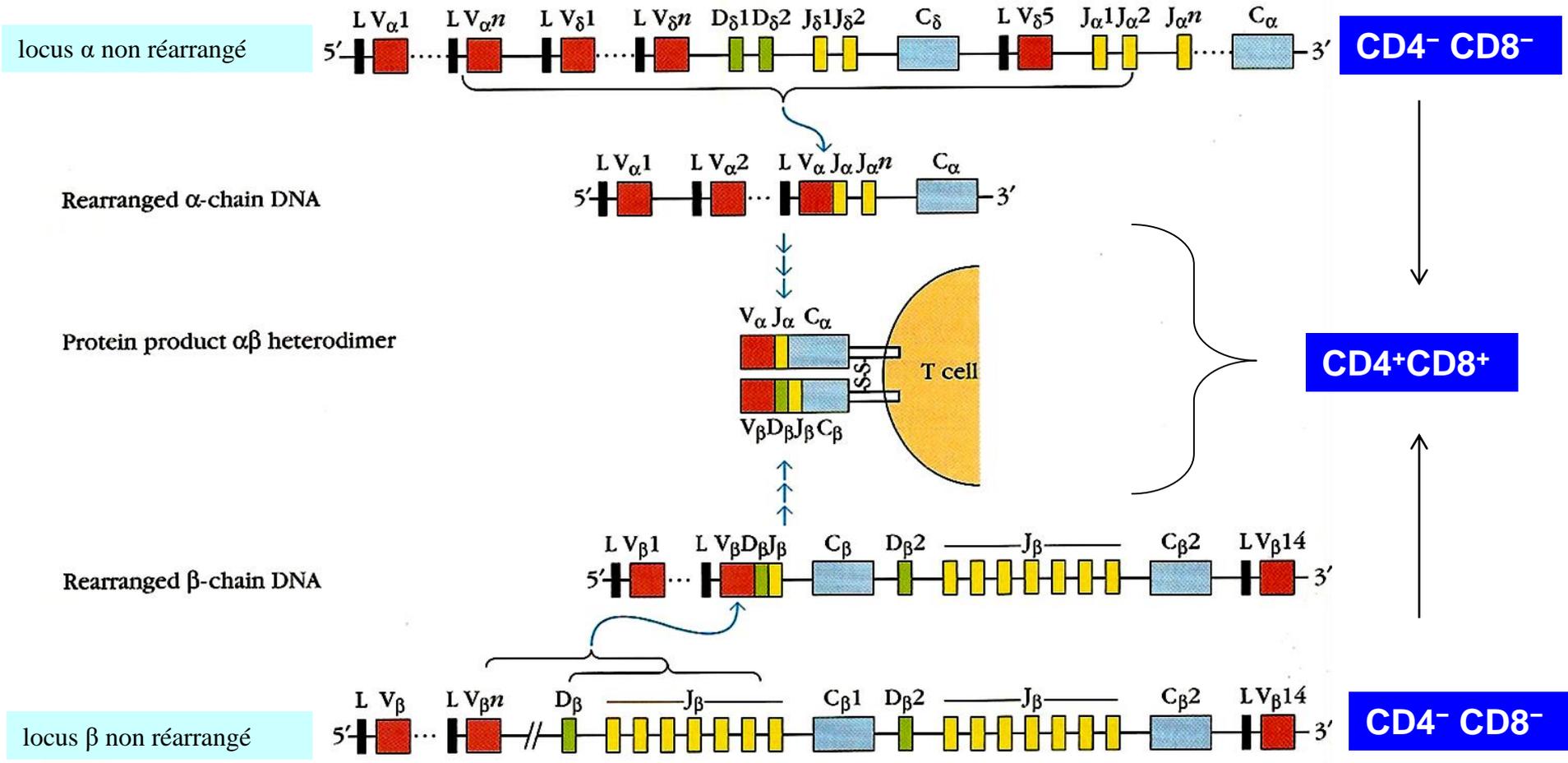
domaine V β formé de de la recombinaison aléatoire des segments géniques V, D et J par la recombinaison RAG1/2

domaine Va formé de de la recombinaison aléatoire des segments géniques V et J par la recombinaison RAG1/2



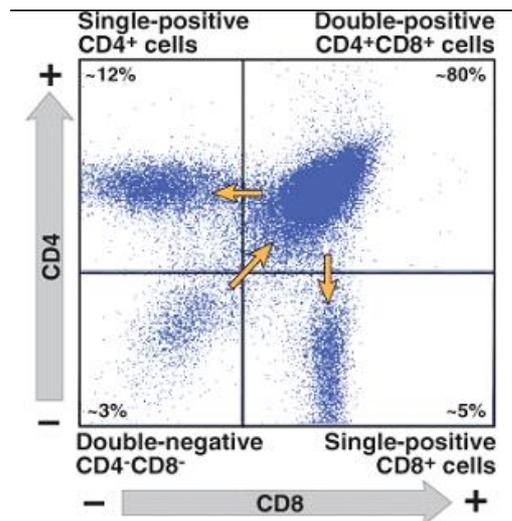
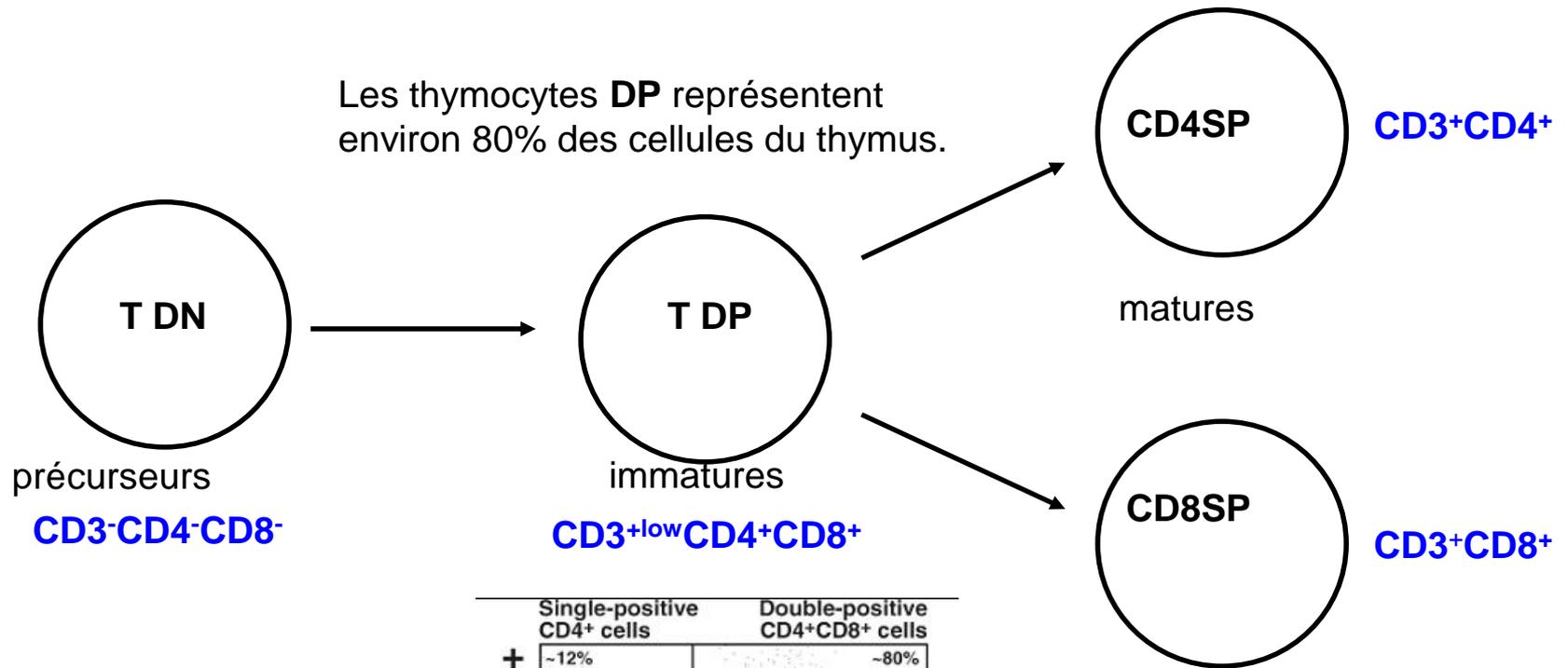
Thymus

Réarrangements des gènes α et β du TCR et production d'un récepteur d'antigène fonctionnel



Le développement des thymocytes peut être suivi grâce à l'expression des molécules de surface CD3, CD4 et CD8

4 sous-populations principales de thymocytes



	Immunoglobuline		Récepteur des cellules T	
	Chaîne lourde	κ	α	β
Nombre de segments géniques V	~100	35	54	67
Nombre de segments géniques de diversité (D)	27	0	0	2
Nombre de segments géniques de jonction (J)	6	5	61	4

Mécanisme

Diversité combinatoire :

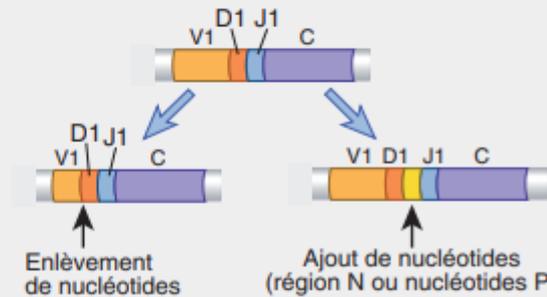
Nombre de combinaisons possibles V-(D)-J



Ig : $\sim 10^6$

TCR : $\sim 3 \times 10^6$

Diversité jonctionnelle



Ig : $\sim 10^{11}$

TCR : $\sim 10^{16}$

Répertoire potentiel total avec la diversité jonctionnelle

Éducation Thymique



Création d'un répertoire de lymphocytes T utiles et non-autoréactifs

I. Réarrangements des gènes $V\alpha/J\alpha/C\alpha$ et $V\beta/D\beta/J\beta/C\beta$ du TCR engendrent un répertoire d'environ 10^{16} TCR différents.

Sélection
positive

II. Mort des lymphocytes T ayant un TCR incapable d'interagir avec les molécules de classe I ou II du CMH.

Survie des lymphocytes T exprimant un TCR capable d'interagir avec les molécules de classe I ou II du CMH/peptide du soi

Sélection
négative

III. Élimination des lymphocytes T exprimant un TCR auto-réactif avec une avidité/affinité forte pour le complexe CMH/peptide du soi

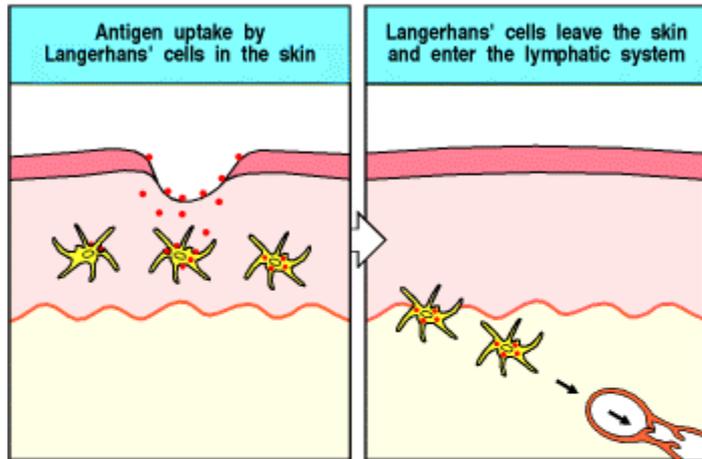
Tolérance immunitaire au « soi »

- ❑ Etat de non réponse immunitaire induit par l'exposition à un antigène
 - ❑ La tolérance immunitaire au antigène du soi est induite durant la période néonatale
 - ❑ L' exposition répétée à l'antigène maintient cet état de tolérance tout au long de la vie
 - ❑ La tolérance immunitaire concerne les lymphocytes T et B
-
- ❑ **Maladies auto-immunes : perte de tolérance à un ou plusieurs constituants du soi**
Plus de 80 maladies auto-immunes d'**étiologie** le plus souvent **inconnue**.

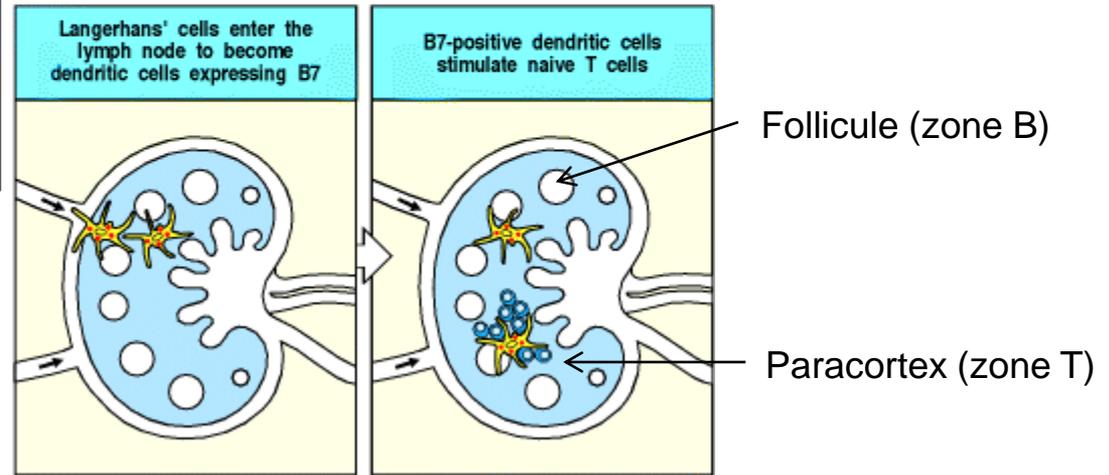
Activation et différenciation des lymphocytes T

Pierre Bobé
Université Paris-Saclay

Migration des cellules dendritiques aux ganglions lymphatiques



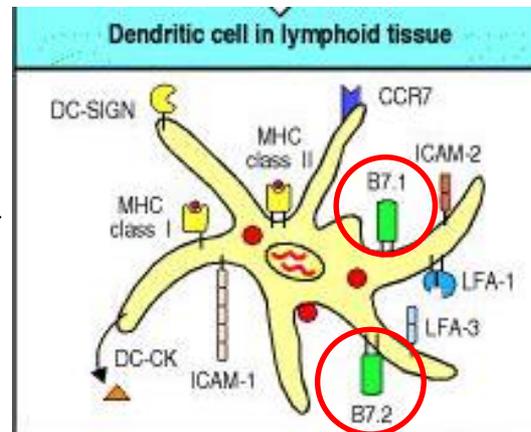
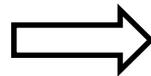
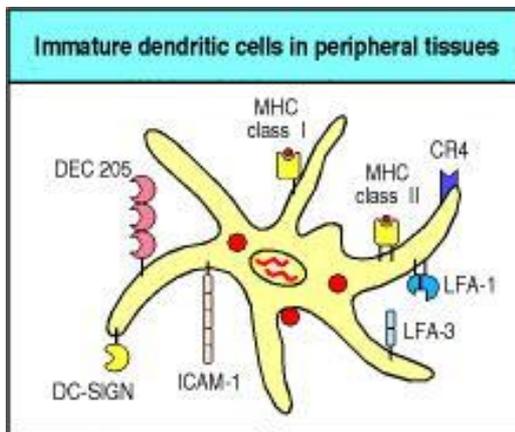
La durée de vie des DC activées est estimée à seulement 3 jours.
Cela permettrait de réguler la disponibilité de l'antigène pour les lymphocytes T et donc de contrôler les réponses immunitaires.



Maturation des cellules dendritiques durant leur migration vers les ganglions lymphatiques

Immature

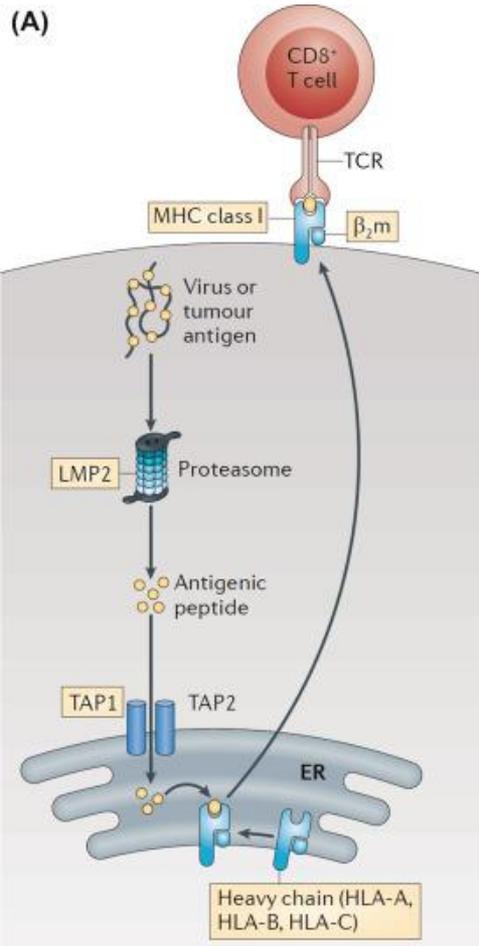
Mature



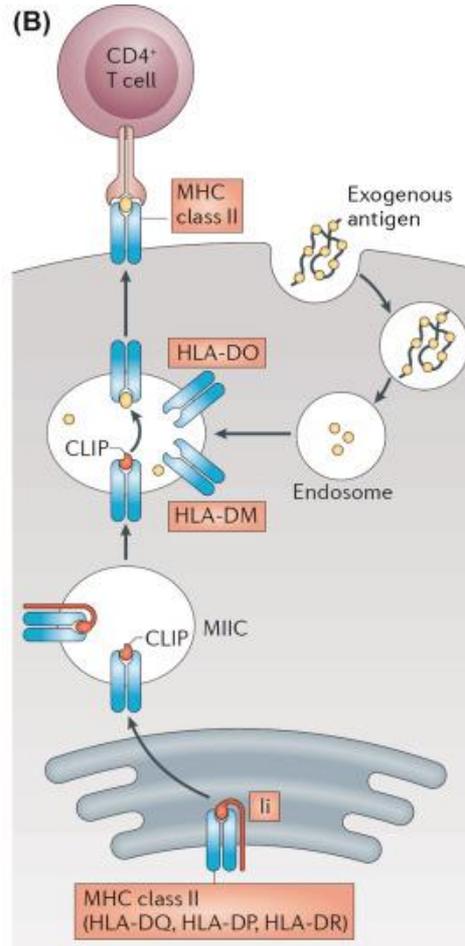
Les agents infectieux **induisent** une forte expression des molécules de costimulation B7 (ou CD80 et CD86) à la surface des cellules dendritiques.

CD80 ou B7-1
CD86 ou B7-2

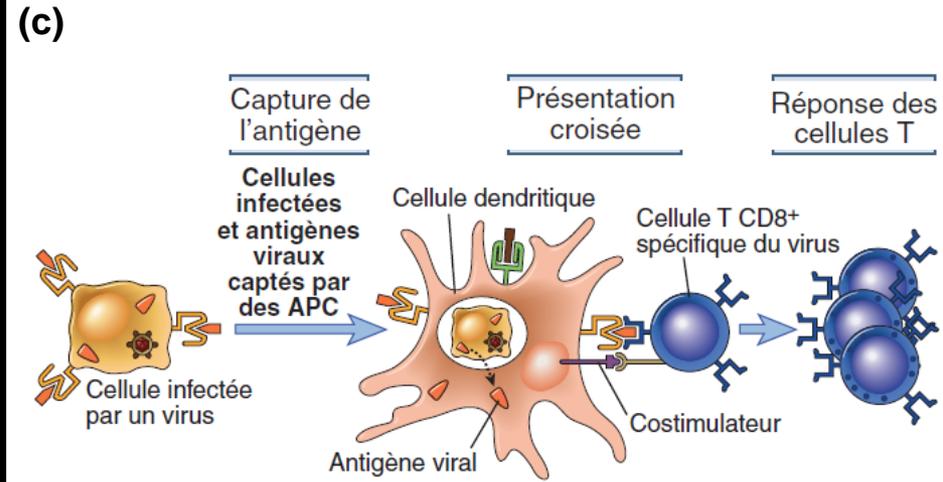
Peptide d'origine endogène



Peptide d'origine exogène



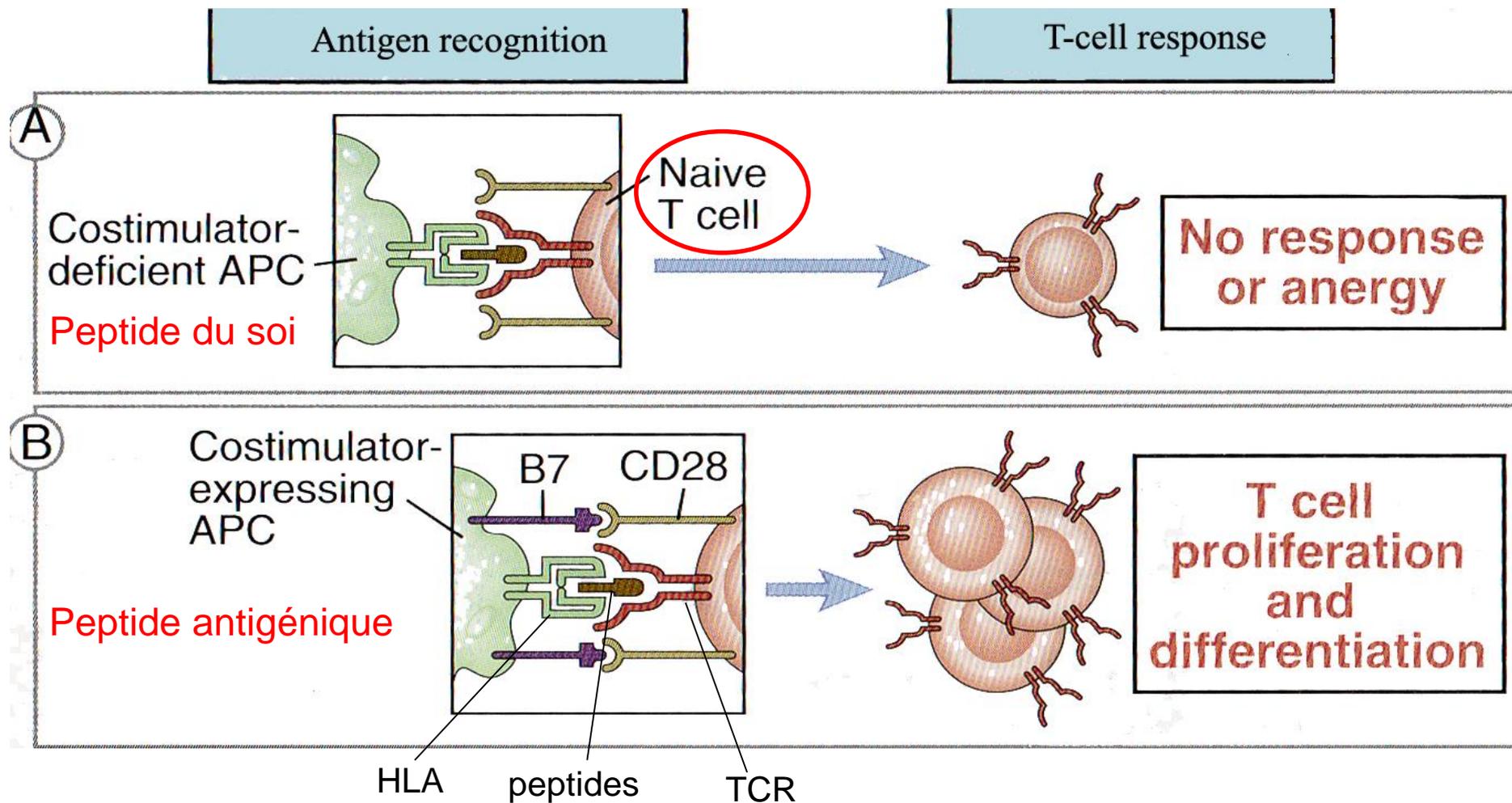
Présentation croisée

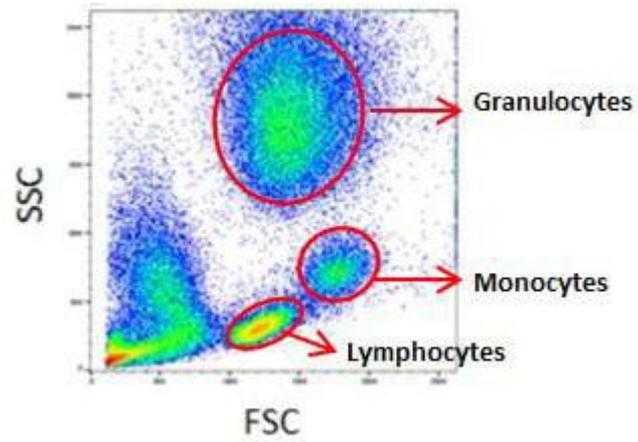


Activation des lymphocytes T naïfs par les DC : nécessité de 2 signaux

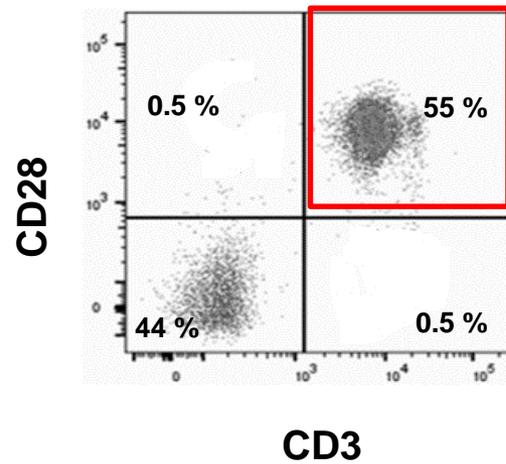
Signal 1 : HLA/peptide --- TCR (T-cell receptor)

Signal 2 : B7 (ou CD80/86) --- CD28

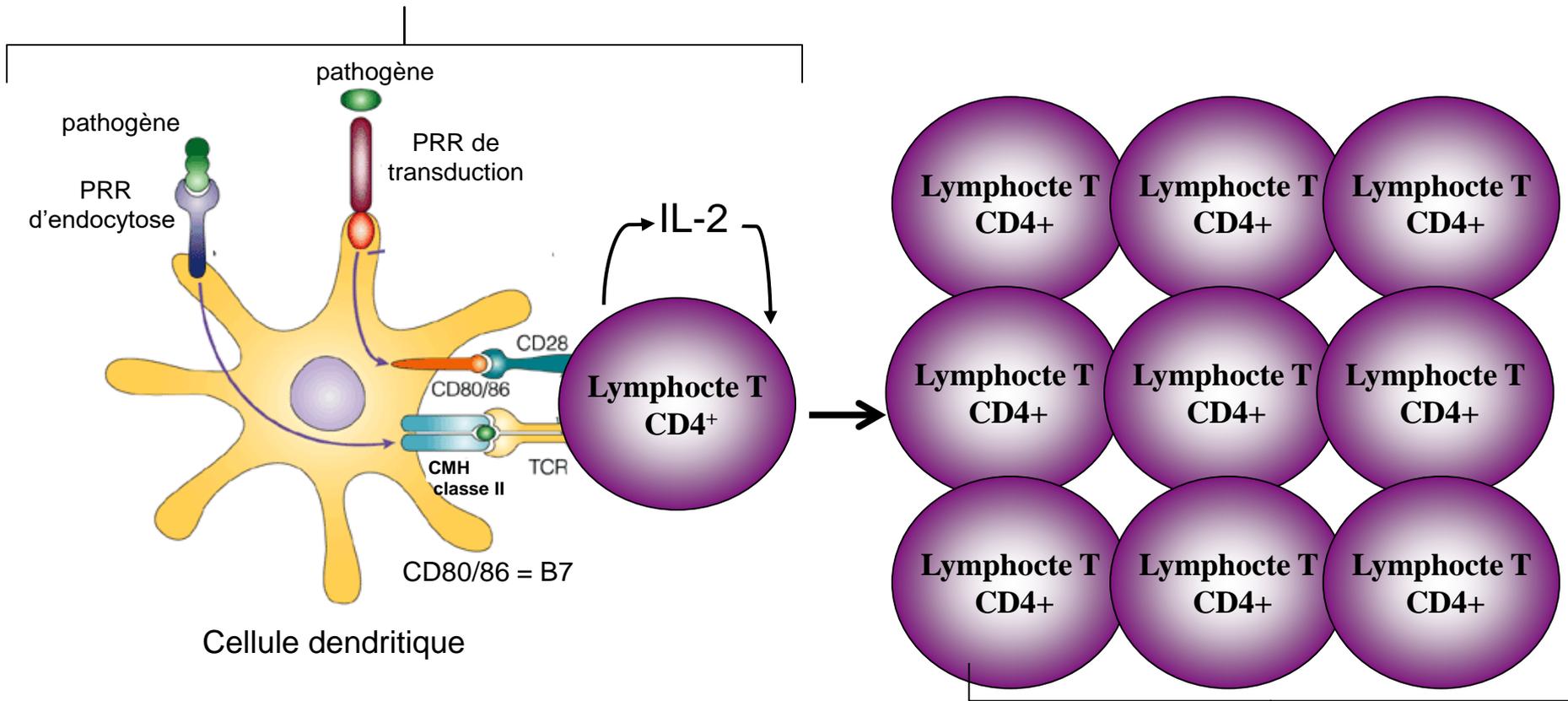




Cellules spléniques marquées avec des anticorps fluorescents anti-CD3 et anti-CD28



1) Phase d'activation des lymphocytes T CD4⁺



• Le nombre de **lymphocytes T CD4⁺ spécifiques de l'Ag** augmente de **100 à 1000 fois**

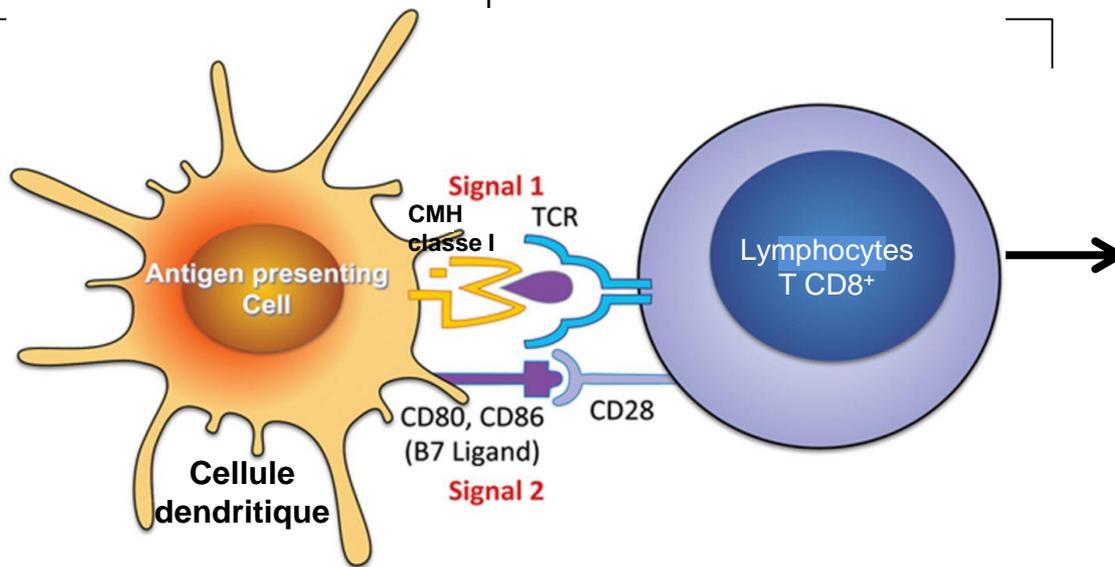
2) Phase de prolifération, durée de 5 à 6 jours

3) Phase de différenciation en lymphocytes T helper (Th) ou en lymphocytes T CD4⁺ mémoires

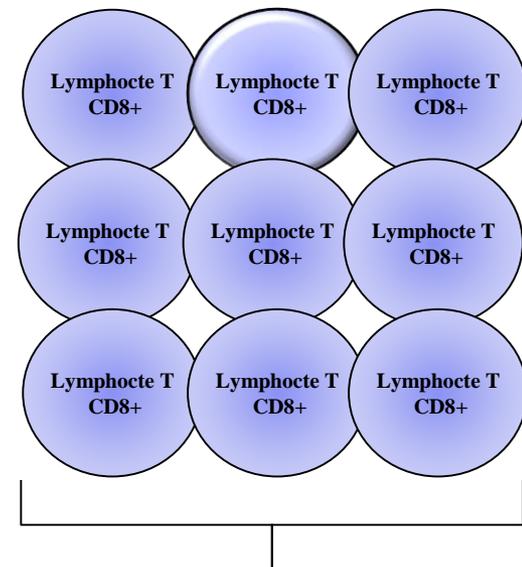
PRR (Pattern Recognition Receptors) : 3 grandes catégories fonctionnelles:

- PRR intervenant dans la **phagocytose** : récepteurs scavenger, récepteurs de la famille des lectines...
- PRR impliqués dans la **transduction du signal** : Toll-like receptors, Famille Nod...

1) Phase d'activation des lymphocytes T CD8⁺



Le nombre de **lymphocytes T CD8⁺ spécifiques d'Ag** augmente de **50 000 à 100 000** fois

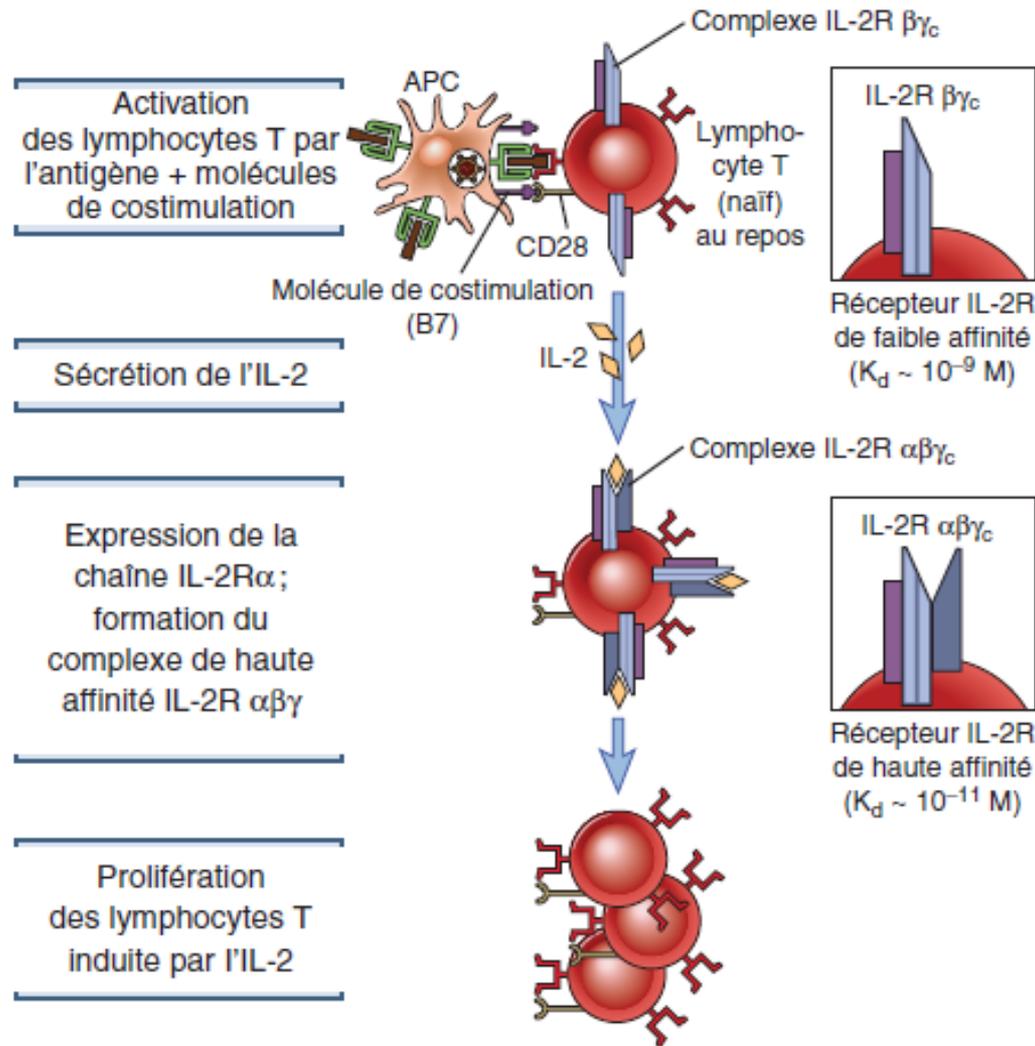


2) Phase de prolifération, durée de 5 à 6 jours



3) Phase de différenciation en lymphocytes T cytotoxiques (CTL) ou en lymphocytes T CD8⁺ mémoires

Rôle de l'IL-2 et des récepteurs de l'IL-2 dans la prolifération des lymphocytes T



$\alpha = \text{CD25}$

favorise les réponses à de faibles concentrations d'IL-2

Le TCR $\alpha\beta$ est exprimé en association avec le complexe CD3

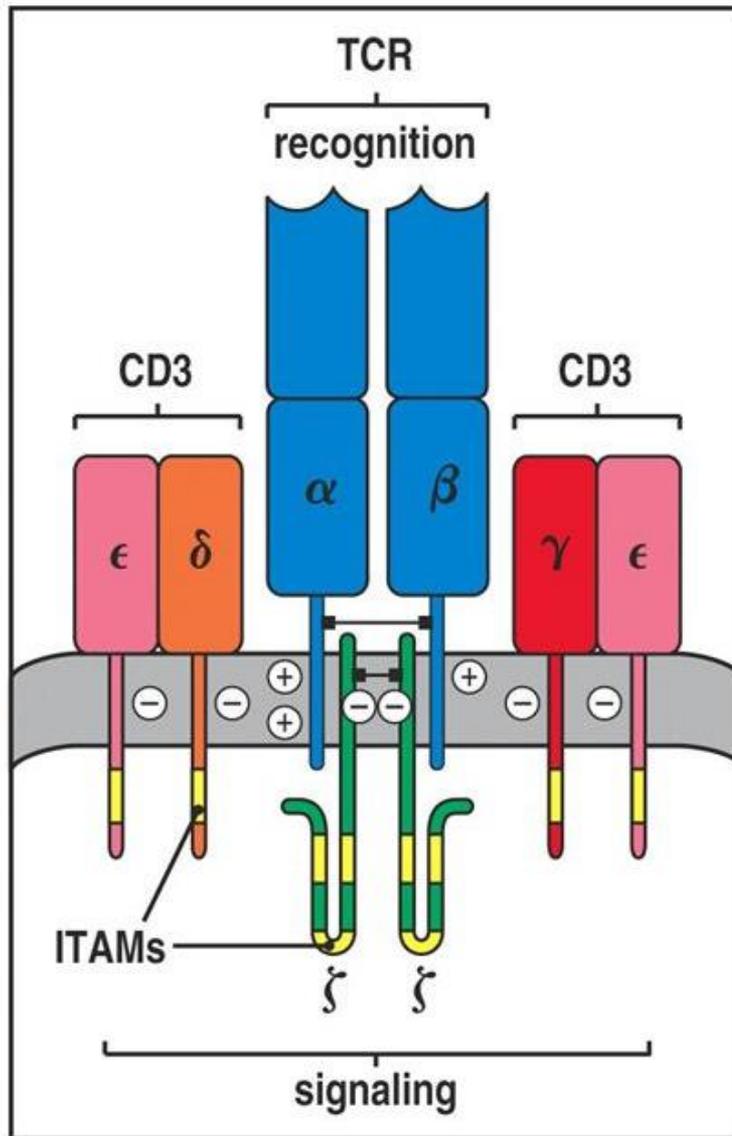
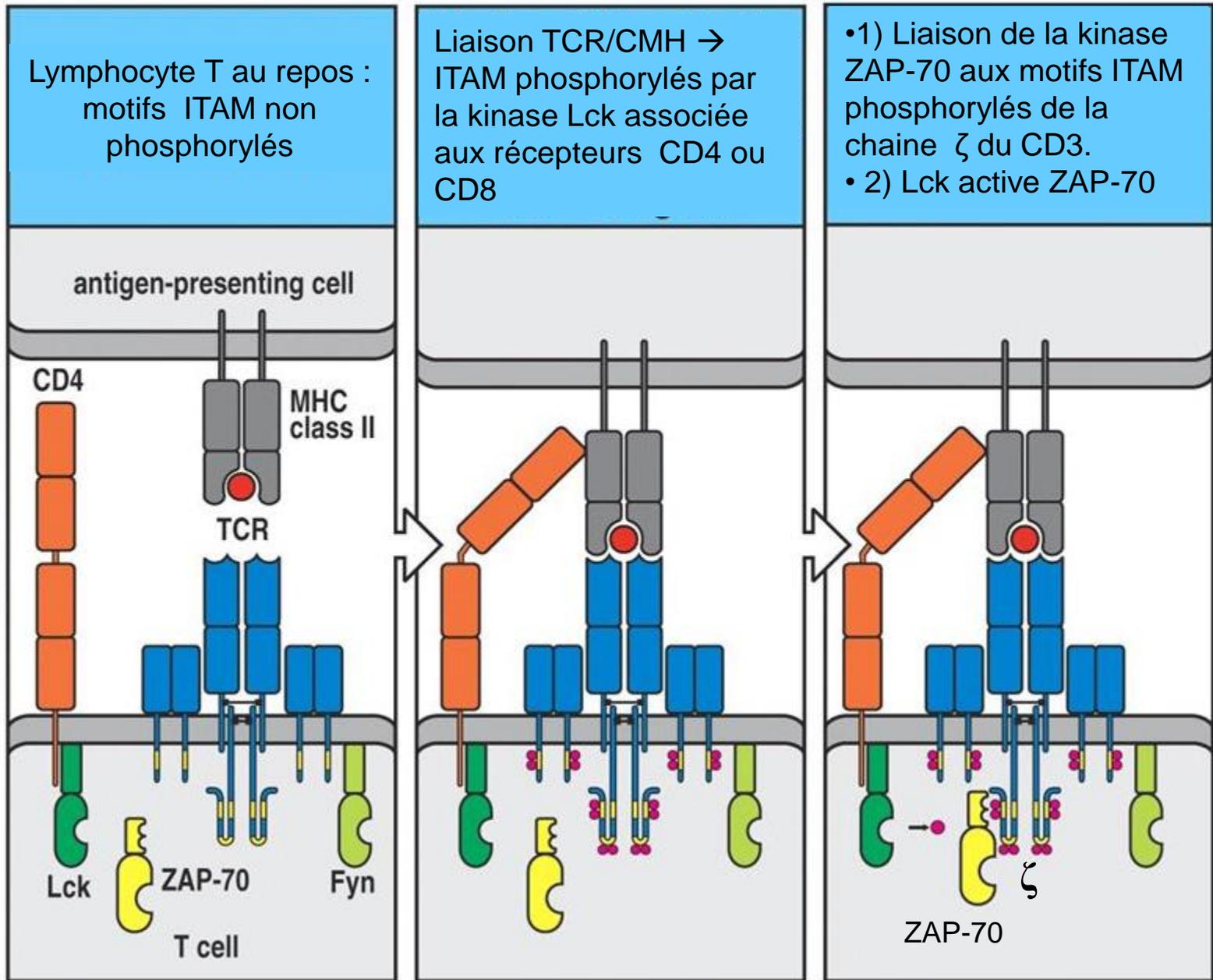


Figure 6-9 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

motifs ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*)

L'engagement du TCR aboutit à la phosphorylation de la kinase ZAP-70 et à son activation



Voies de transduction des signaux dans les lymphocytes T activés

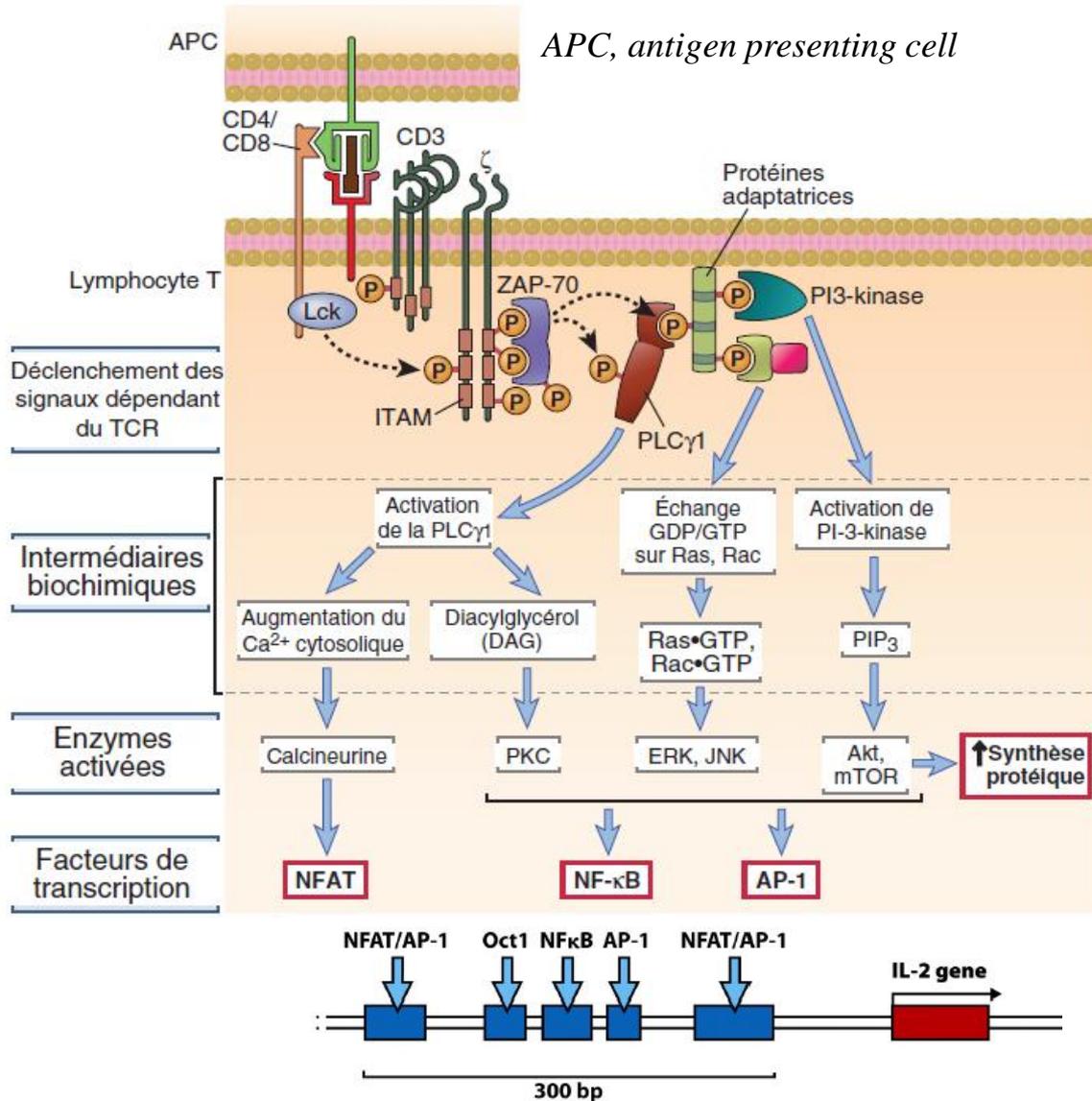


Figure 6-23 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

- 1) phosphorylation des tyrosines des motifs ITAM des molécules CD3 par la kinase Lck du CD4 ou du CD8
- 2) les ITAM phosphorylés de la chaîne du CD3 deviennent des sites d'arrimage pour la tyrosine kinase ZAP-70 qui est alors rendue enzymatiquement active suite à sa phosphorylation par Lck
- 3) ZAP-70 activée phosphoryle ensuite diverses protéines adaptatrices (LAT et SLP-76) et enzymes (PLC γ 1) impliquées dans l'activation de différentes voies de signalisation.
- 4) activation des facteurs de transcription NFAT (*nuclear factor of activated T cells*), NF- κ B et AP-1 (*activating protein 1*)

mTOR, mammalian target of rapamycin ;

PKC, protéine kinase C ;

PLC γ 1, isoforme γ 1 de la phospholipase C spécifique du phosphatidylinositol

Rôle central des lymphocytes T helper dans l'immunité grâce à leur capacité à :

- 1) Permettre l'activation des lymphocytes T CD8⁺ lorsque le taux de molécules B7 (CD80/CD86) est insuffisant à la surface des cellules dendritiques
- 2) - Aider les lymphocytes B à s'activer (cas des antigènes thymo-dépendant),
- Induire, en réponse secondaire, la commutation de classe (IgM → IgG, IgE ou IgA) et la maturation d'affinité des anticorps (mutation somatiques des régions hypervariables)
- 2) Aider à la ré-activation des macrophages du site inflammatoire en activant de nouvelles voies de microbicidies ⇒ élimination des agents infectieux intra-cellulaires
- 3) Aider au recrutement des polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles aux sites inflammatoires
- 4) Réguler la réponse immunitaire : lymphocyte T régulateur (ou Treg) de phénotype CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺

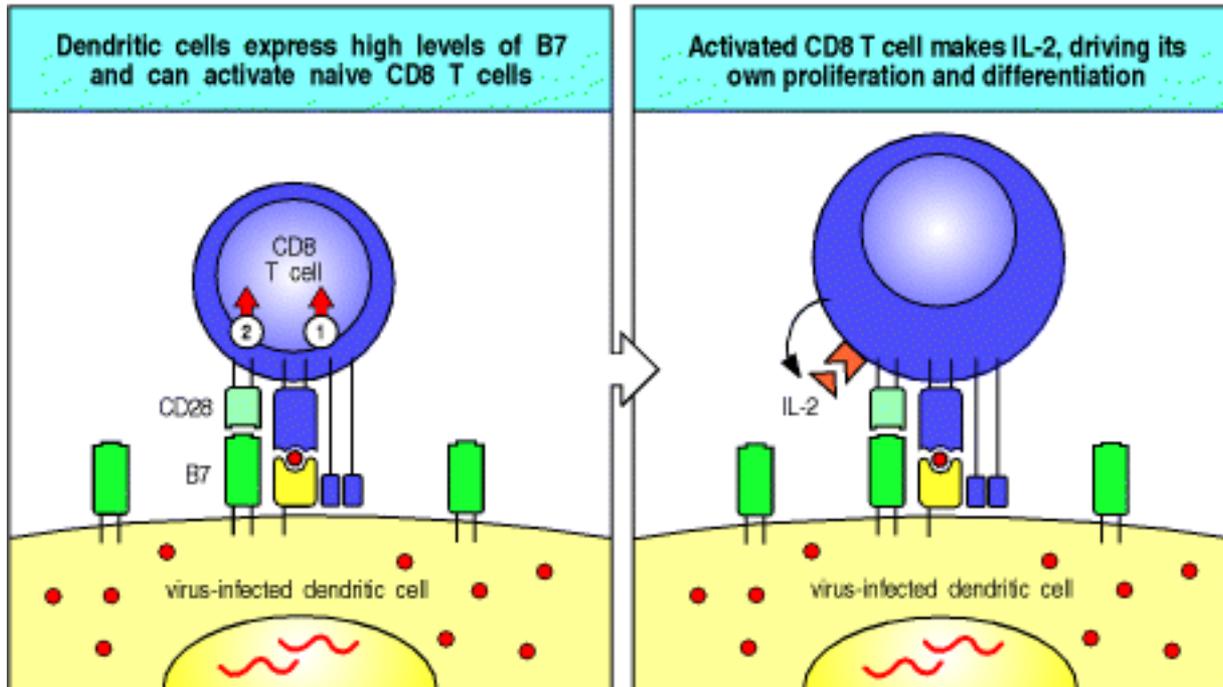
Activation des lymphocytes T CD8 naïfs

- Les lymphocytes T CD8⁺ naïfs se différencient en lymphocytes T cytotoxiques (CTL).
- Cette différenciation des lymphocytes T CD8⁺ naïfs nécessite une plus forte costimulation par les molécules B7 que pour les lymphocytes T CD4 naïfs.

Deux manières différentes d'activer les lymphocytes T CD8 naïfs :

- 1) reconnaissance de l'antigène sur des cellules dendritiques exprimant fortement les molécules B7.
- 2) reconnaissance de l'antigène sur des cellules dendritiques exprimant faiblement les molécules B7 → nécessité d'une réactivation des cellules dendritiques par des lymphocytes T CD4⁺.

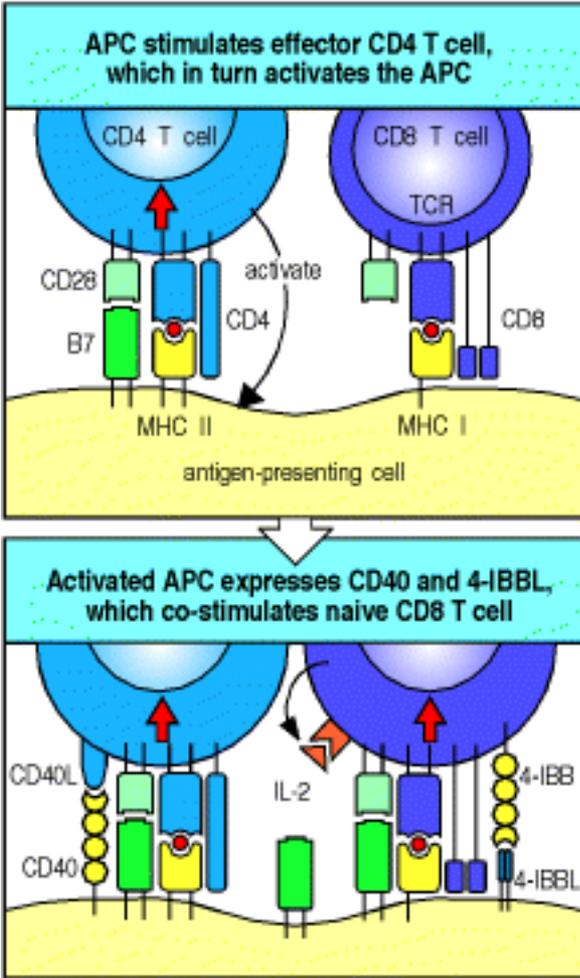
1. Cas de cellules dendritiques possédant de forte capacité de co-stimulation par les molécules B7
→ cellules dendritiques pouvant activer directement les lymphocytes T CD8⁺ naïfs



2. Cas des cellules dendritiques dont les capacités de co-stimulation par les molécules B7 sont suffisantes pour activer les lymphocytes T CD4⁺ mais insuffisantes pour activer les lymphocytes T CD8⁺

- Cellule dendritique présentant une capacité de co-stimulation par B7 insuffisante pour les lymphocytes T CD8⁺ mais pas pour les lymphocytes T CD4⁺

- La liaison du ligand de CD40 (CD40L) du lymphocyte T CD4⁺ activé au CD40 de la cellule dendritique augmente son taux d'expression de B7 lui permettant alors d'activer les lymphocytes T CD8⁺.



liaison B7 avec CD28

↓

Induction de CD40L sur le lymphocyte T CD4⁺

↓

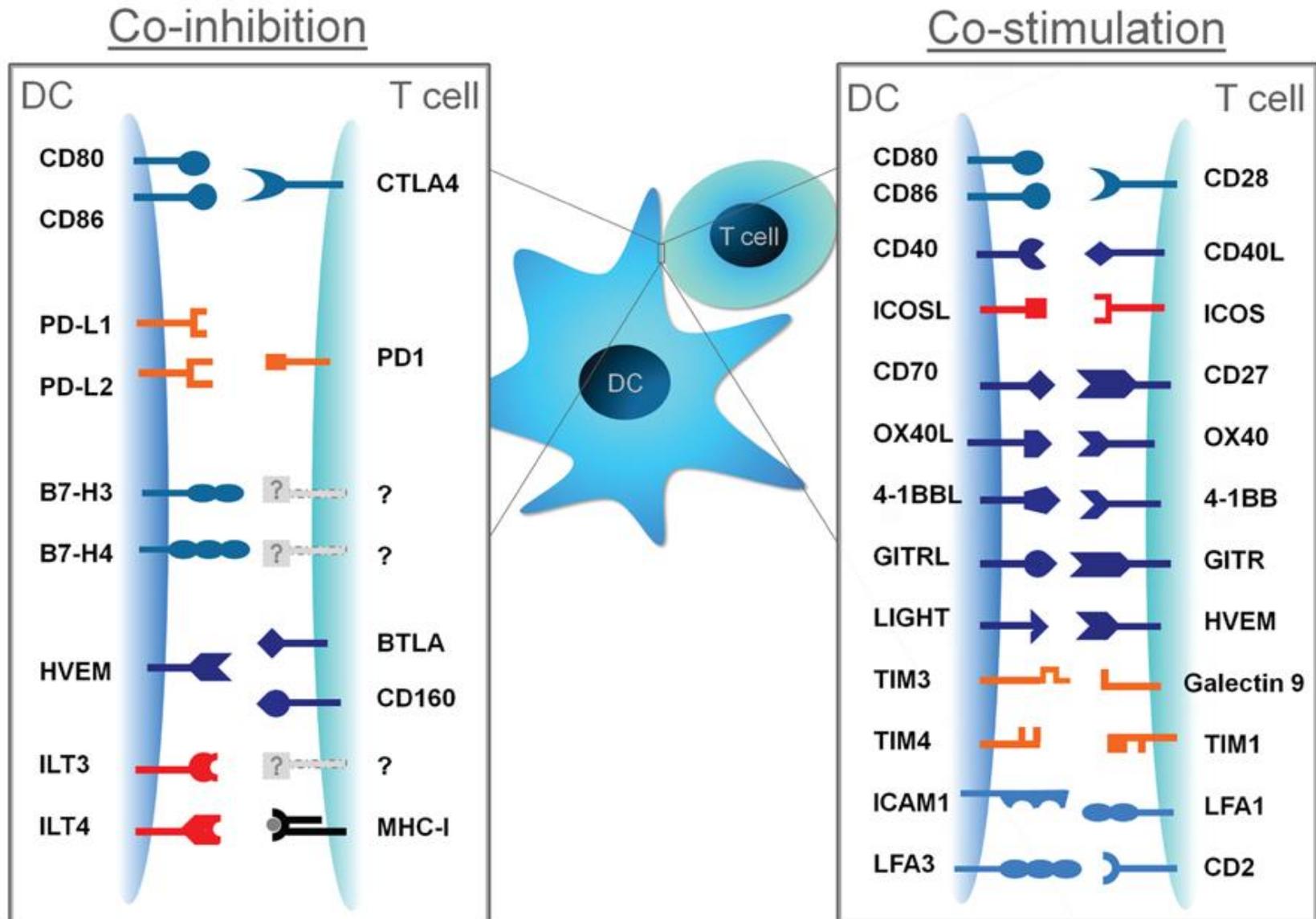
Liaison CD40/CD40L

↓

Induction de B7 sur la cellule dendritique

autres molécules de co-stimulation | 4-1BB ou CD137 : induit sur les lymphocytes T activés essentiellement CD8⁺
 | 4-1BBLigand : induit sur les CPAg activés

Molécules co-stimulatrices et co-inhibitrices et leurs ligands

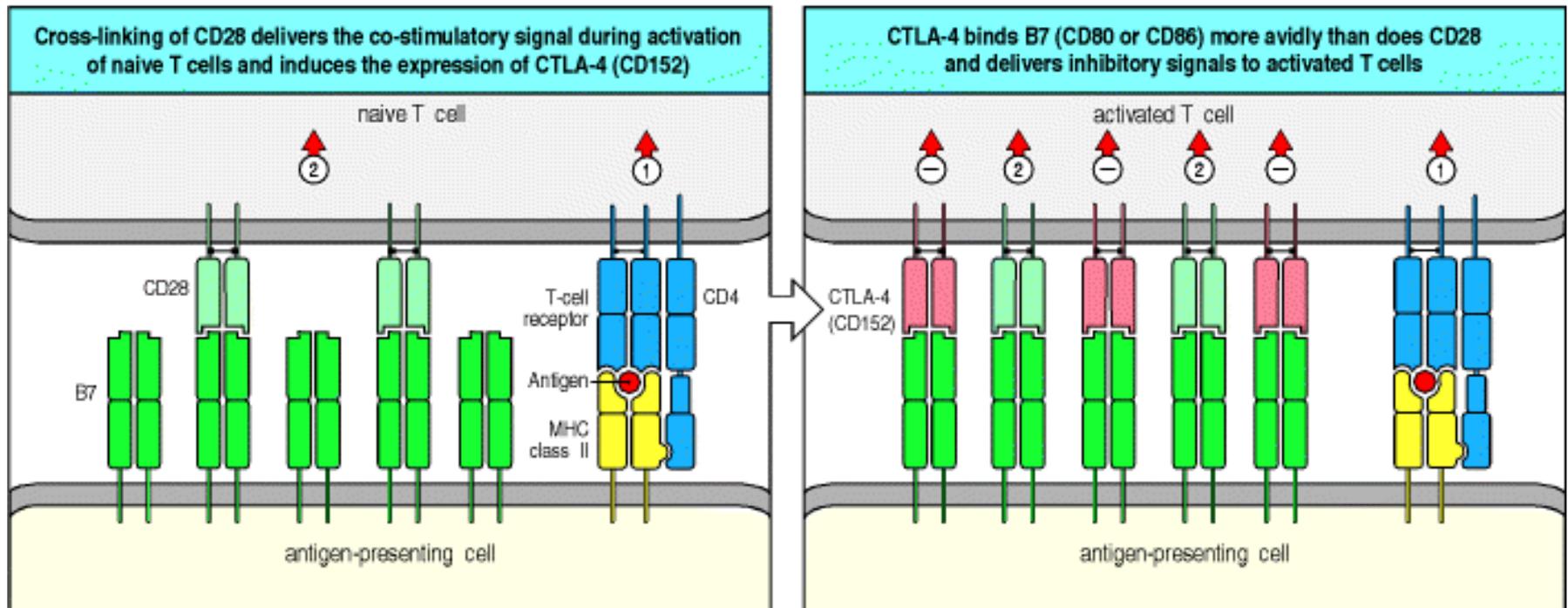


Bakdash et al., Front. Immunol., 28 February 2013

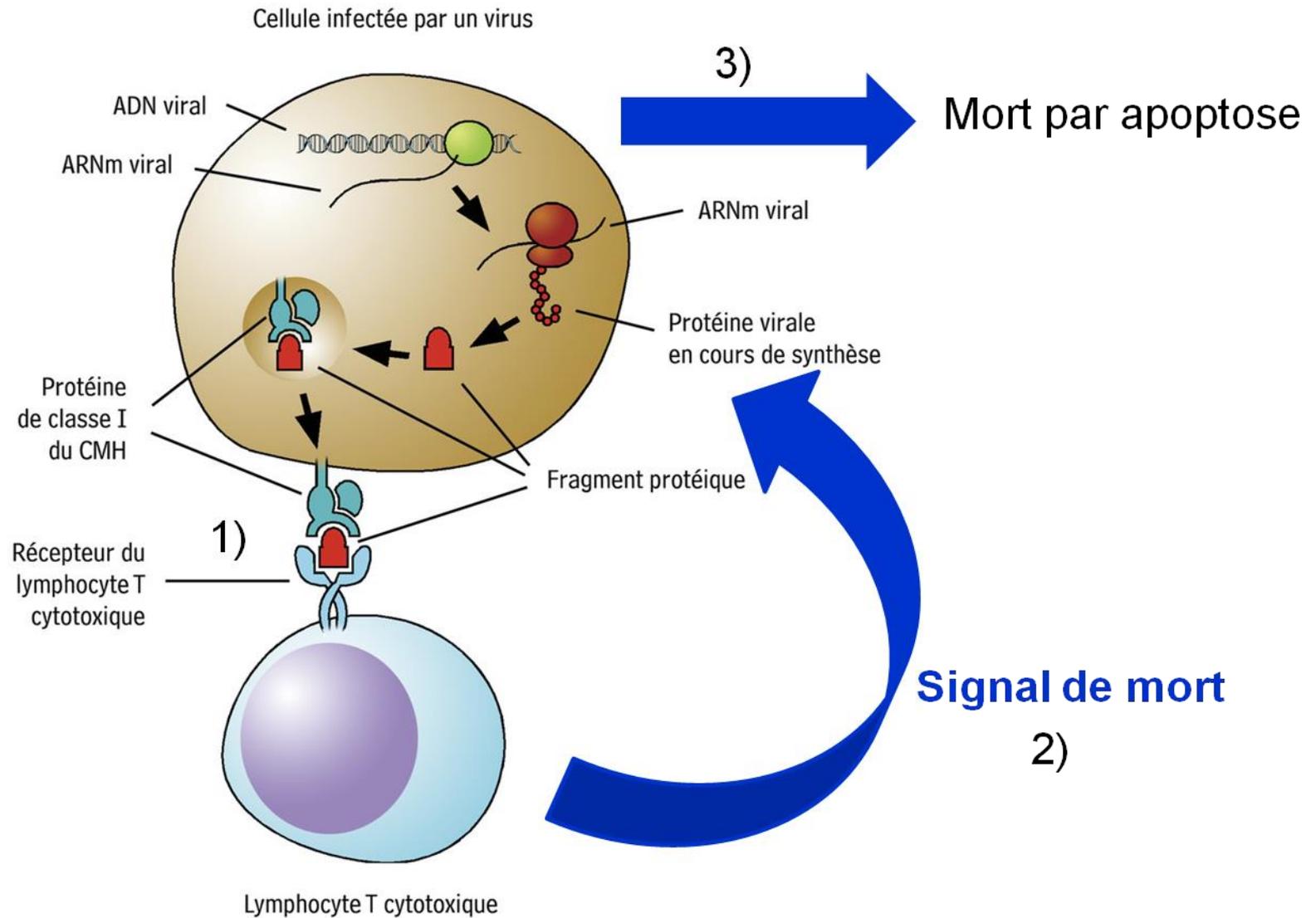
Arrêt de la prolifération des lymphocytes T

- L'activation des lymphocytes T par les deux voies TCR/CMH/peptide et CD28/B7 induit l'expression de CTLA-4 (CD 152)
- CTLA-4 possède une affinité, pour la molécule B7, 20 fois supérieure à celle de CD28
- La liaison CTLA-4-B7 induit un signal négatif qui diminue la production d'IL-2 aboutissant à un arrêt de la phase proliférative de la réponse

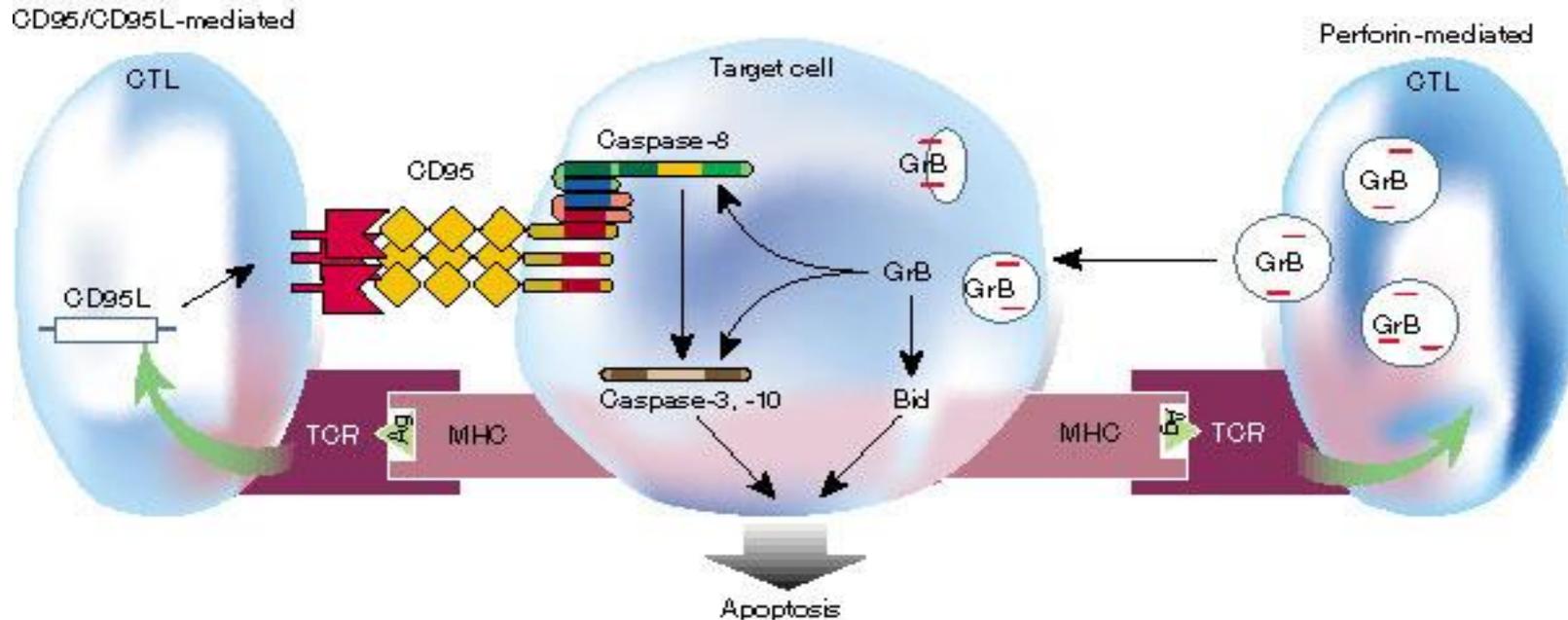
→ Une déficience génétique en CTLA-4 est responsable d'un **syndrome lymphoprolifératif** caractérisé par une augmentation massive de la taille des organes des lymphoïdes secondaires (adénopathies et splénomégalie)



Pouvoir cytotoxique des lymphocytes T CD8⁺



2 mécanismes différents

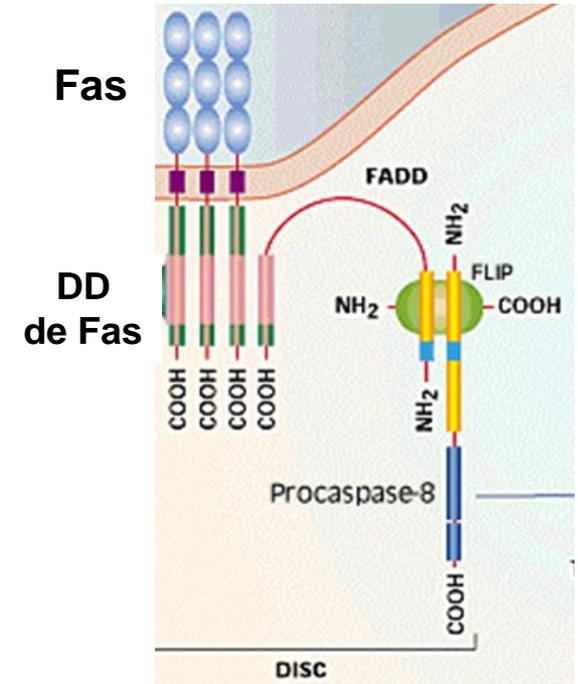
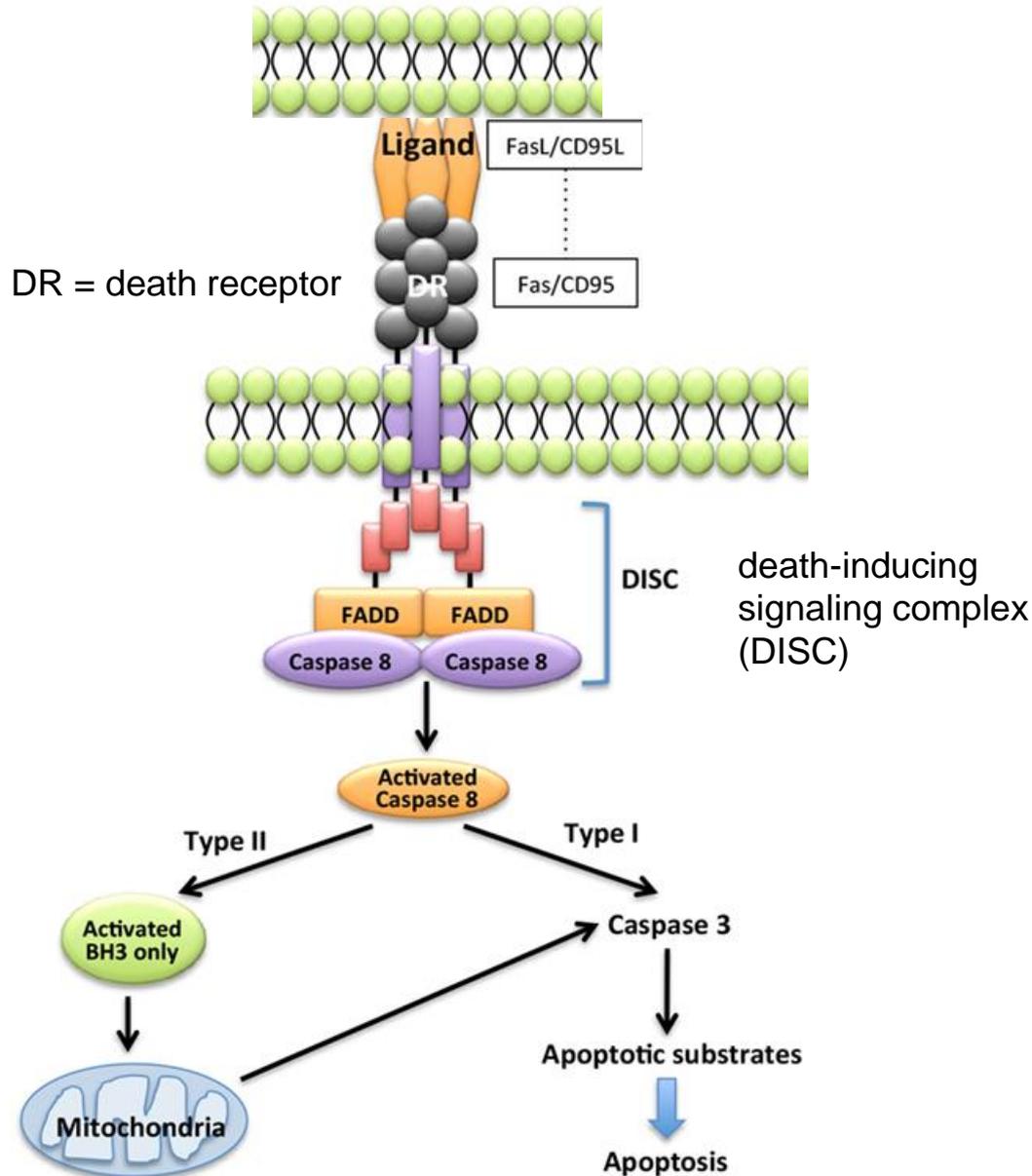


Voie granzyme/perforine :

- Libération par exocytose, après activation des cellules, de granules contenant Perforines et Granzymes.
- La concentration élevée en Ca_2^+ des fluides extracellulaires permet aux Perforines de polymériser dans la membrane de la cellule cible pour former des pores qui permettent l'entrée dans la cellule des Granzymes (serine proteases) qui vont activer les caspases.

Voie d'apoptose Fas/Fas ligand ou CD95/CD95 ligand

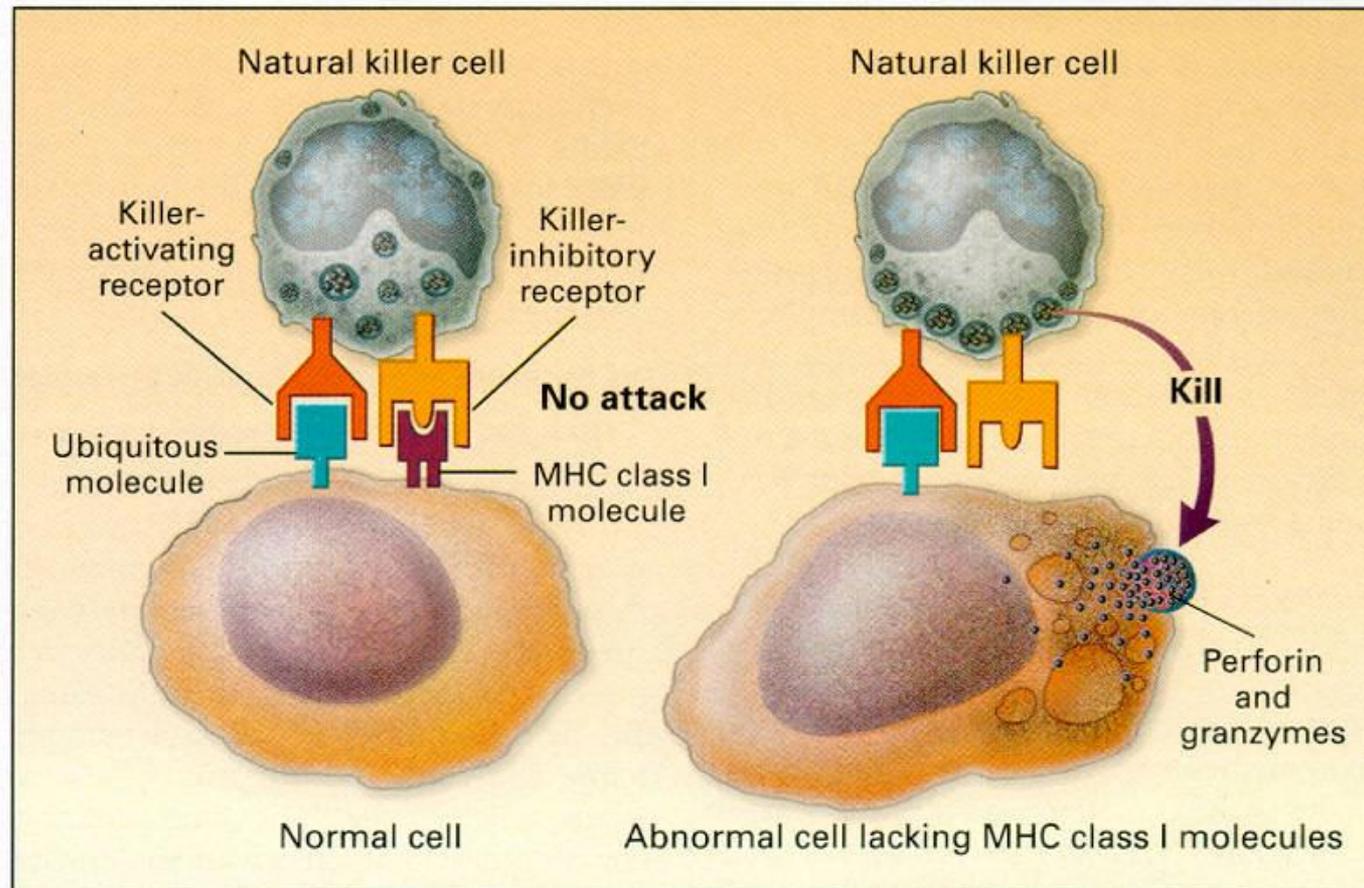
Voie d'apoptose Fas/Fas ligand ou CD95/CD95 ligand



DD: death domain
FADD: Fas associated DD

Cellules NK (Natural Killer) et récepteurs KIR (Killer Inhibitory Receptors)

La réduction du taux d'expression en molécules de classe I du CMH permet aux cellules infectées par des virus ou aux cellules tumorales d'échapper aux lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺.



Les cellules dendritiques délivrent 3 types de signaux aux lymphocytes T CD4⁺ naïfs

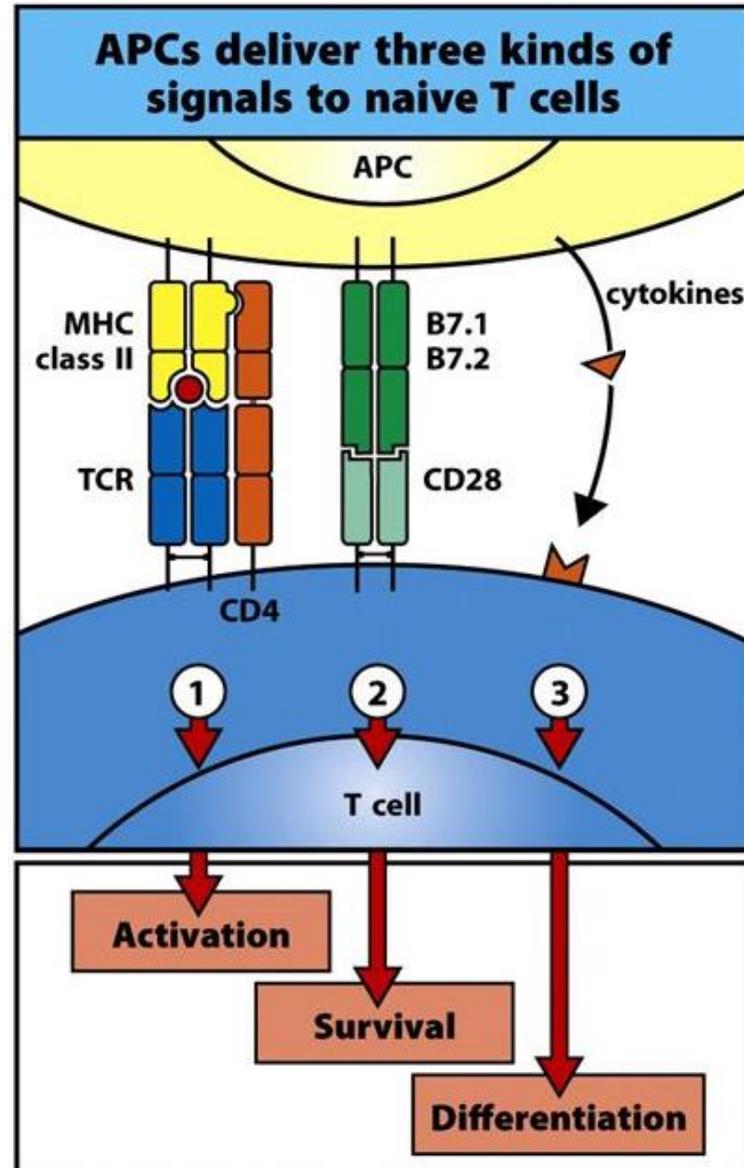


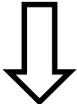
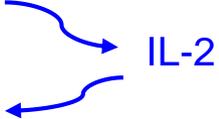
Figure 8-19 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Lymphocytes T CD4⁺ matures naïfs

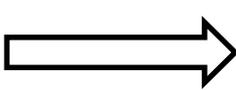
Signal 1 : HLA/peptide ---TCR
Signal 2 : B7--- CD28



Activation et prolifération
des lymphocytes T

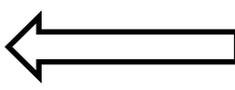


IL-12

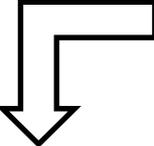


Lymphocytes T effecteurs immatures
Th0

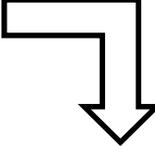
IL-4



Signal 3



Lymphocytes T effecteurs
de type Th1



Lymphocytes T effecteurs
de type Th2

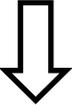


IFN- γ , TNF- α , ...

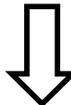


IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, ...

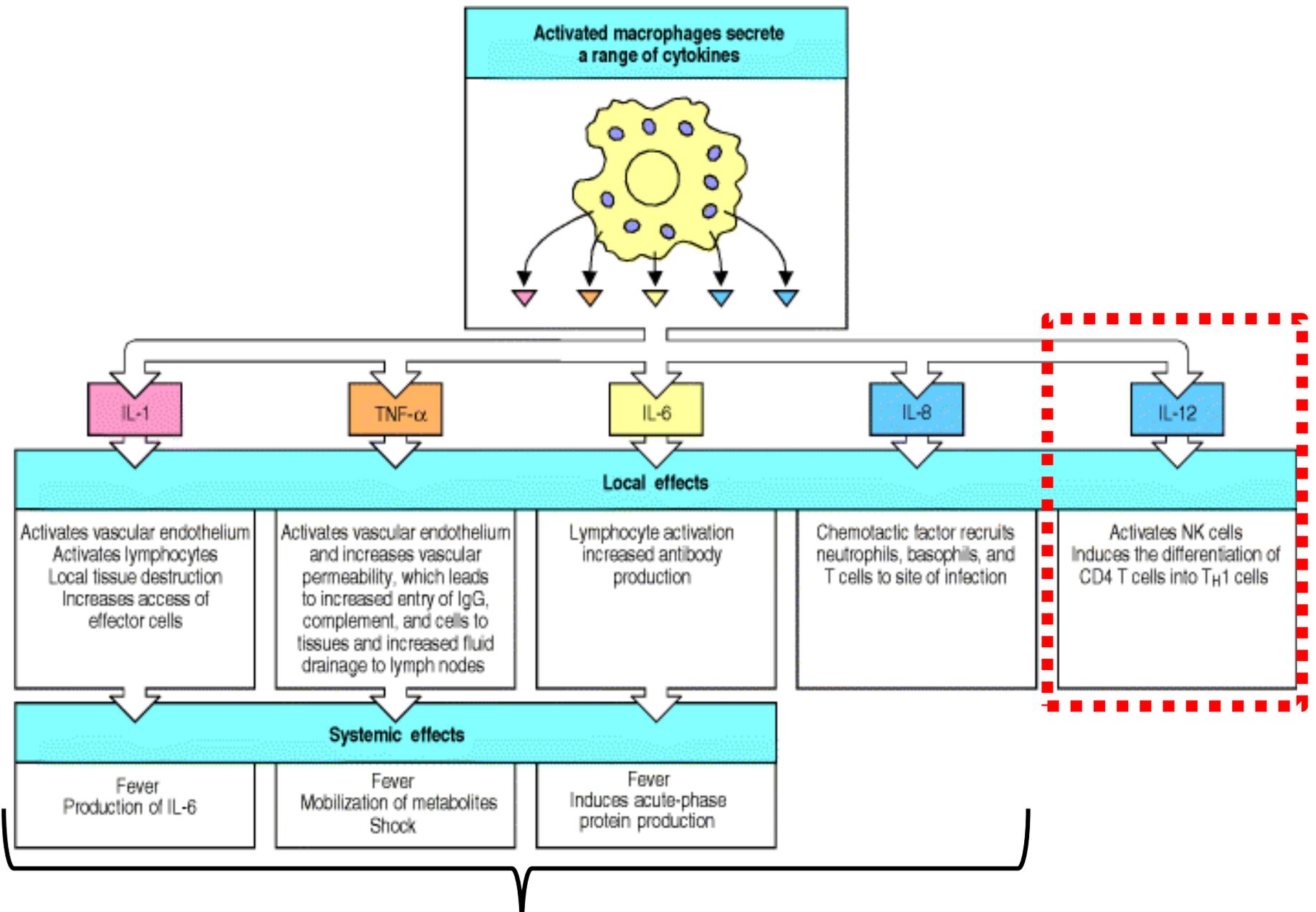
IFN = interféron



- réactivation des macrophages
- commutation de classe

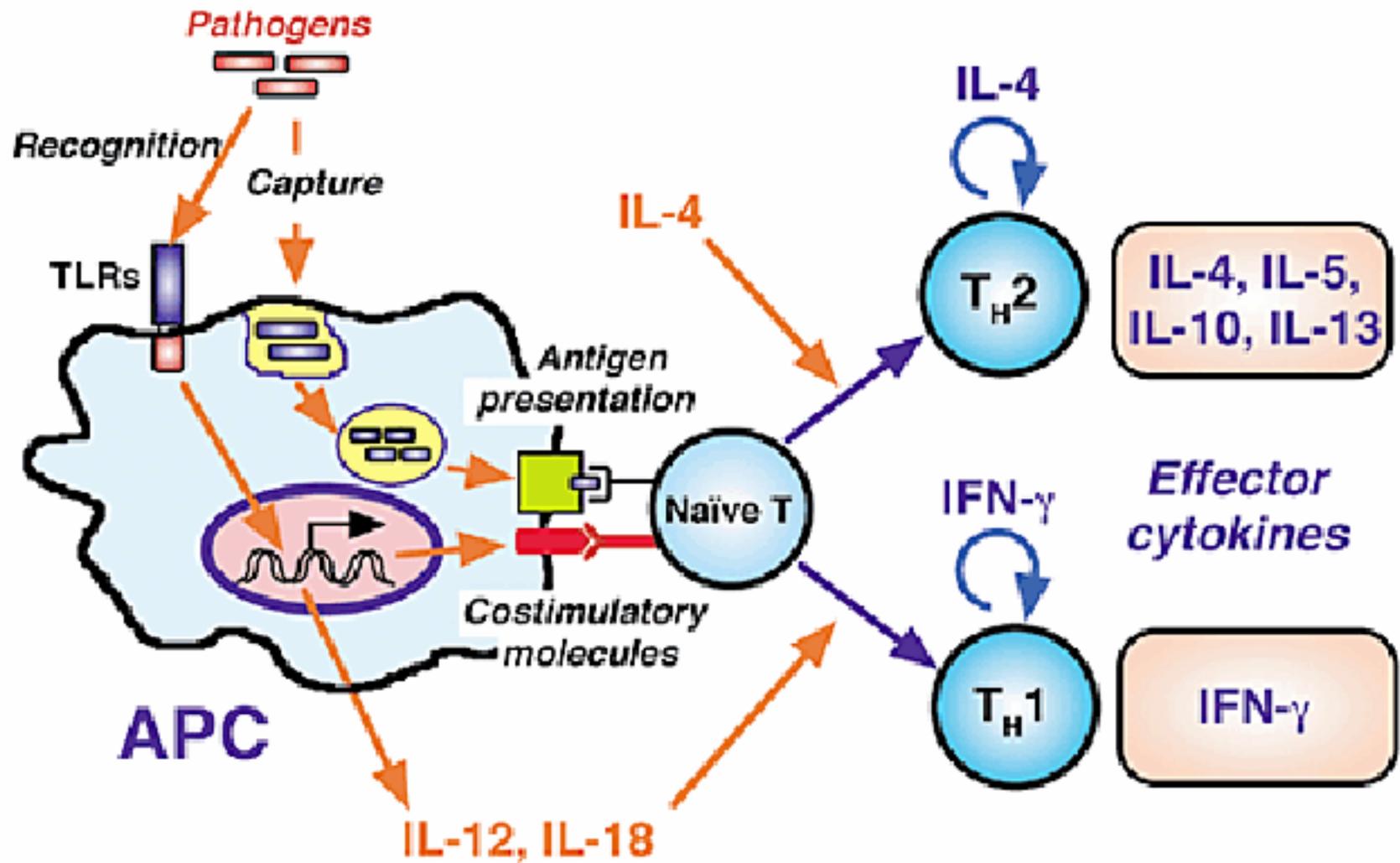


- commutation de classe
- immunité anti-parasitaire

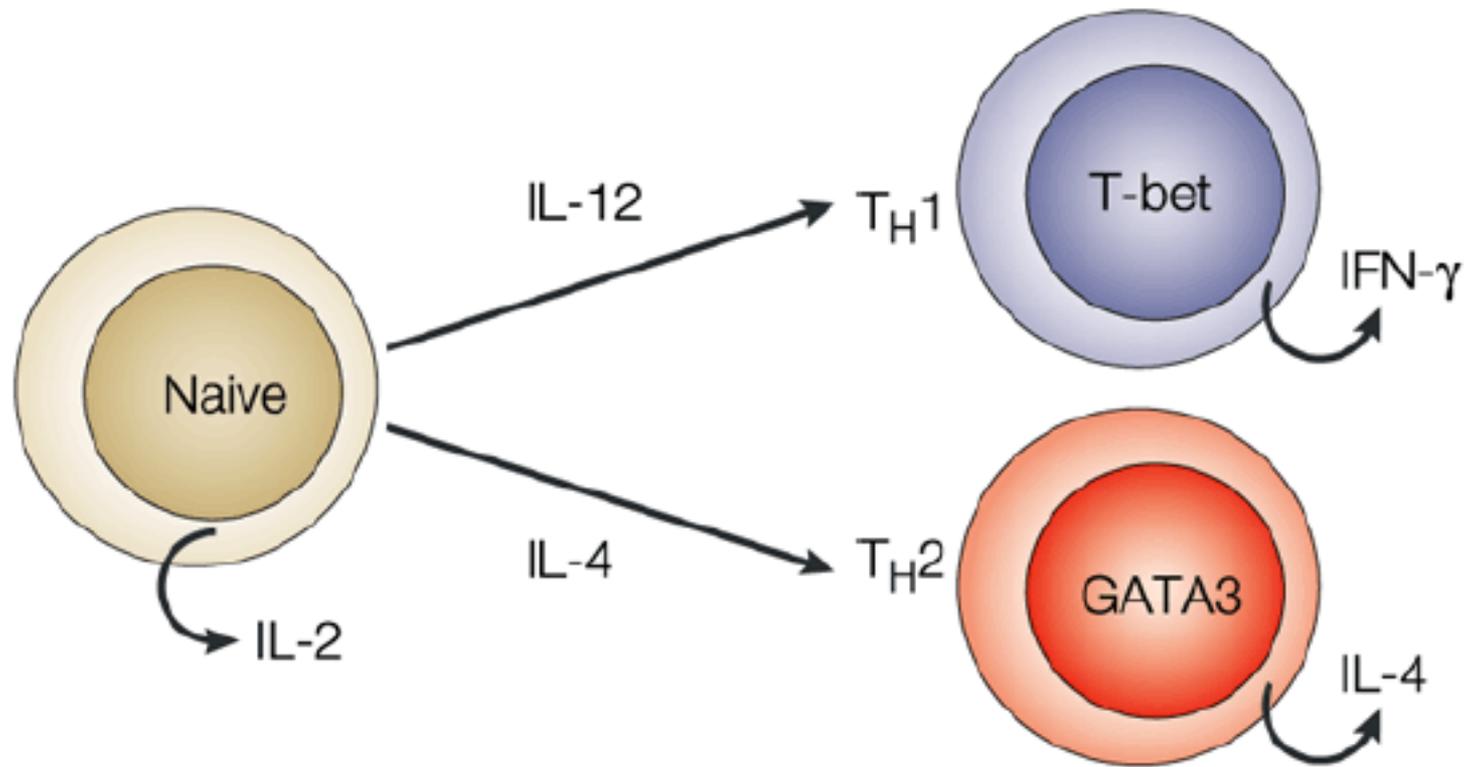


Réponse inflammatoire : recrutement des polynucléaires neutrophiles à partir de la circulation sanguine

Rôle des cytokines dans la différenciation des lymphocytes T CD4⁺



APC = antigen-presenting cell



Nature Reviews | Immunology

Échappement des microbes à leur destruction par les macrophages inflammatoires

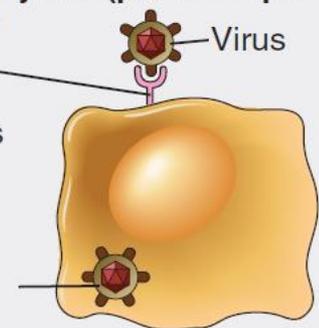
- ❑ Bactéries (**mycobactéries**, **Listeria**) à développement intracellulaire : capacité de résister à la destruction dans le phagolysosome des macrophages inflammatoires
- ❑ Parasites unicellulaires à développement intracellulaire : certains protozoaires (**Leishmania**) prolifèrent dans les macrophages.

protozoaire : unicellulaire eucaryote dont certaines espèces sont parasites de l'homme

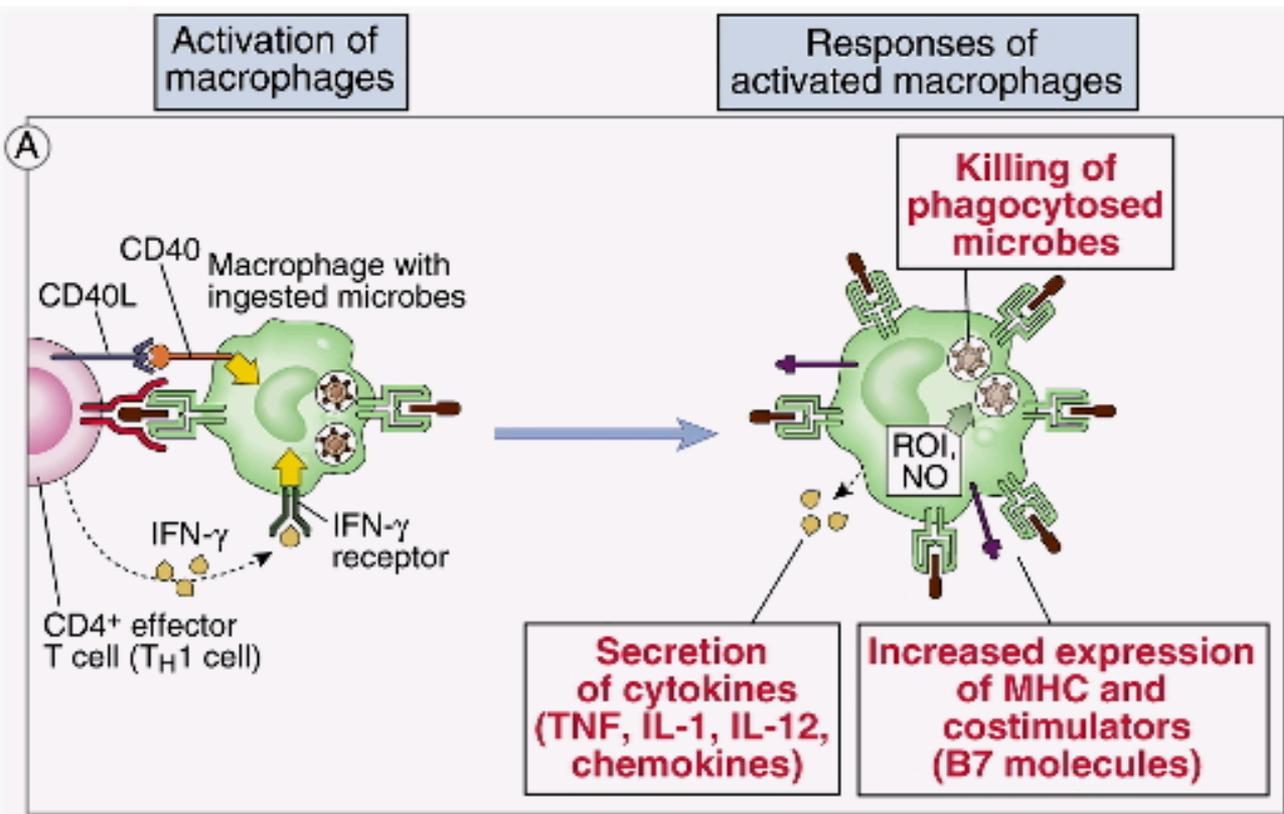
Microbes intracellulaires	Exemples
A Phagocyte Microbes phagocytés survivant dans les phagolysosomes Microbes s'échappant des phagolysosomes vers le cytoplasme	Bactéries intracellulaires : Mycobactéries <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Legionella pneumophila</i> Champignons : <i>Cryptococcus neoformans</i> Protozoaires : <i>Leishmania</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>

A. Les microbes peuvent être ingérés par les phagocytes et survivre dans les vacuoles (phagolysosomes), ou s'échapper dans le cytoplasme où ils sont insensibles aux mécanismes microbicides des phagocytes.

B. Cas des cellules non phagocytaires

B Cellule non phagocytaire (par exemple cellule épithéliale) Récepteur cellulaire pour le virus Microbes infectant des cellules non phagocytaires	 Virus Rickettsies : toutes Protozoaires : <i>Plasmodium falciparum</i> <i>Cryptosporidium parvum</i>
--	---

Les lymphocytes Th1 stimulent les fonctions microbicides des macrophages inflammatoires



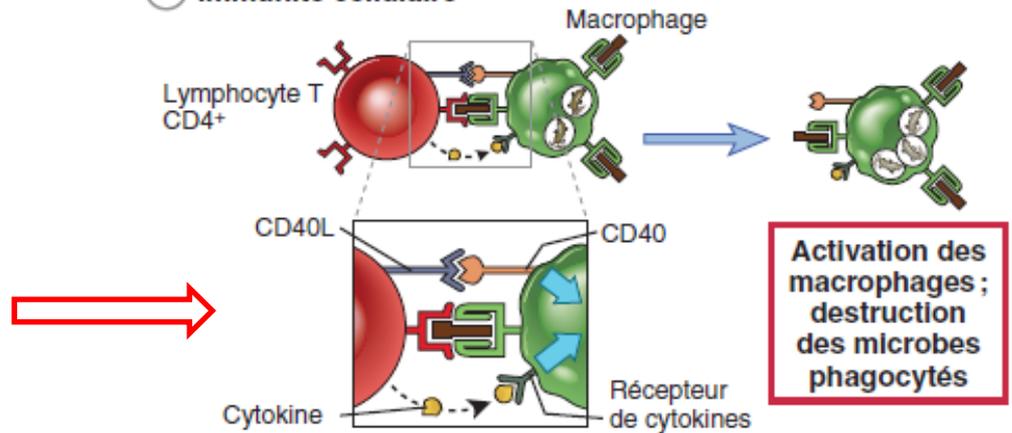
B Macrophage response	Role in cell-mediated immunity
Production of reactive oxygen intermediates, nitric oxide, increased lysosomal enzymes	Killing of microbes in phagolysosomes (effector function of macrophages)
Secretion of cytokines (TNF, IL-1, IL-12)	TNF, IL-1: leukocyte recruitment (inflammation) IL-12: TH1 differentiation, IFN-gamma production
Increased expression of B7 costimulators, MHC molecules	Increased T cell activation (amplification)

Rôle de CD40 et CD40 Ligand dans les fonctions effectrices des lymphocytes T CD4⁺

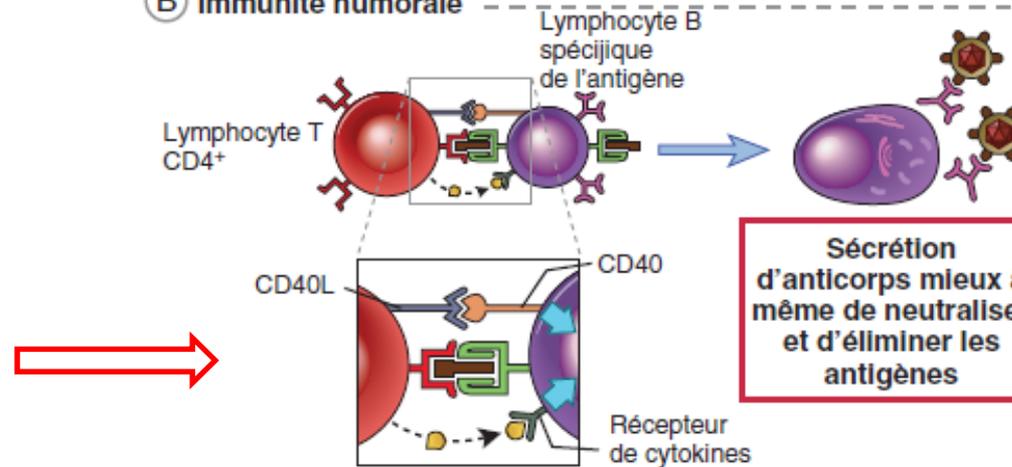
Les lymphocytes T CD4⁺ activent macrophages et lymphocytes B

Fonctions effectrices des macrophages et des lymphocytes B activés

(A) Immunité cellulaire

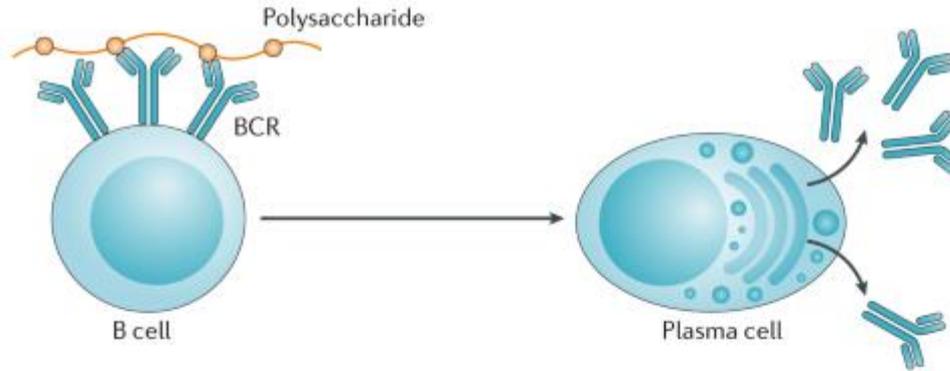


(B) Immunité humorale



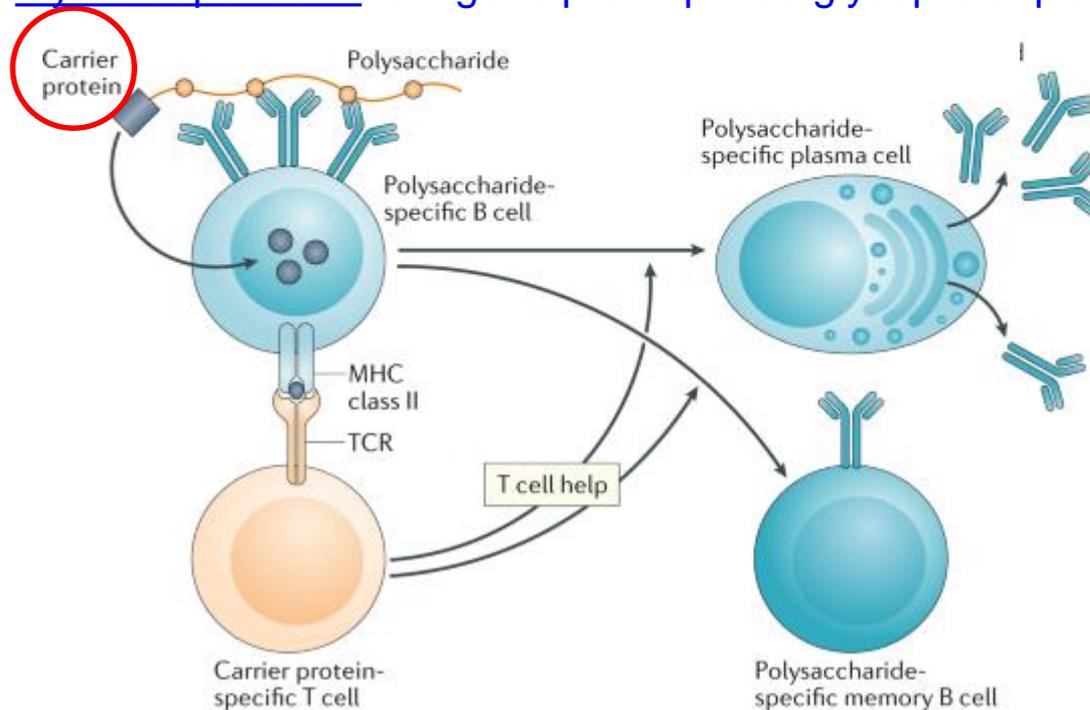
- Commutation de classe
- Maturation d'affinité

Antigène thymo-indépendant : antigène à motifs répétés tels les antigènes polysaccharidiques des capsules de pneumocoques (bactéries *Streptococcus pneumoniae*)



- synthèse d'IgM
- pas de maturation d'affinité
- pas de commutation isotypique,
- plasmocytes à courte durée de vie

Antigène thymo-dépendant : antigène protéique ou glycoprotéique



- commutation isotypique
- lymphocytes B mémoires
- maturation d'affinité
- plasmocytes à longue durée de vie

Les différents cytokines induisent la commutation de différents isotypes.

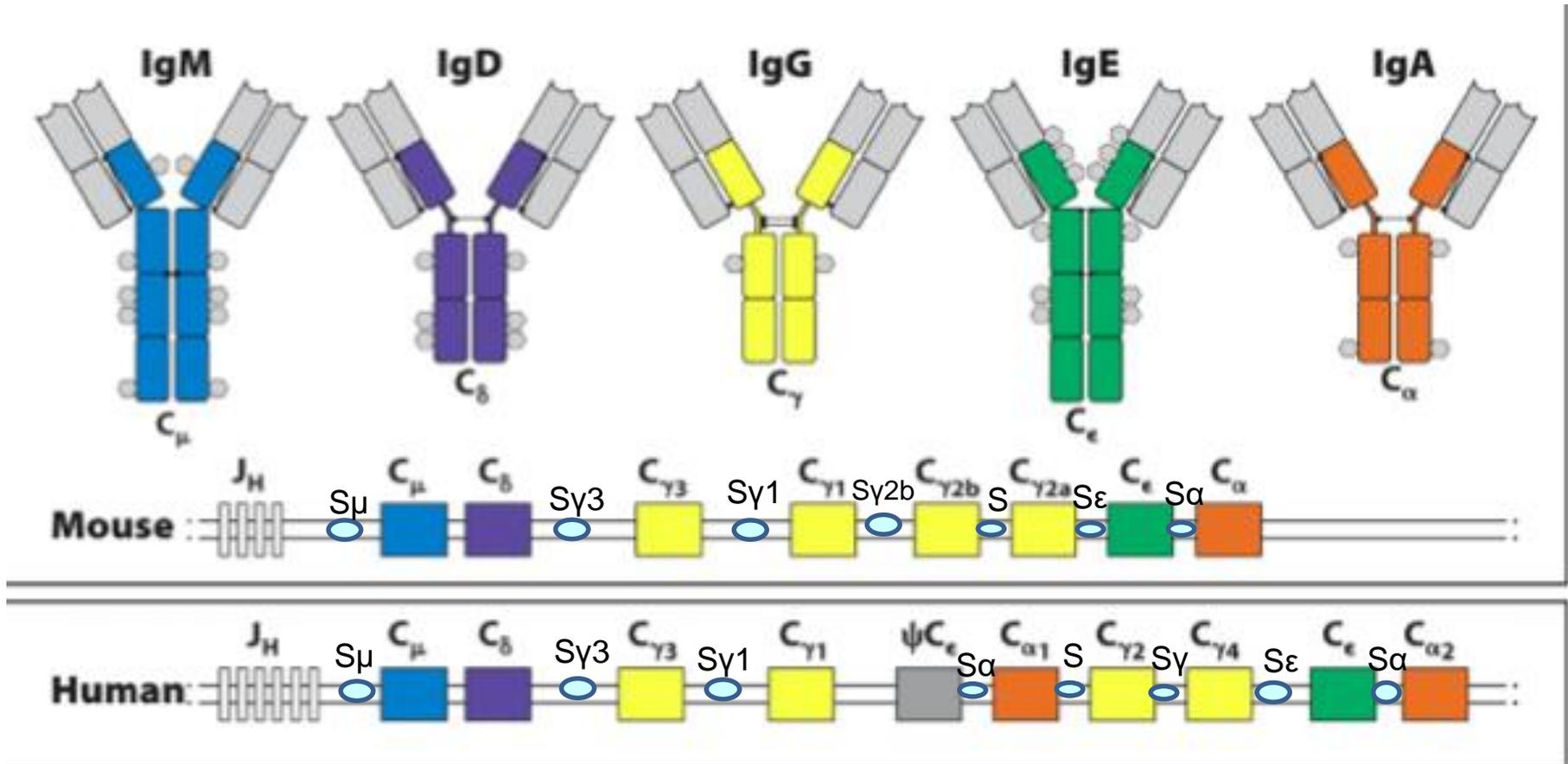
Role of cytokines in regulating Ig isotype expression

Cytokines	IgM	IgG3	IgG1 IgG4 (humaine)	IgG2b	IgG2a	IgE	IgA
IL-4	Inhibits	Inhibits	Induces		Inhibits	Induces	
IL-5							Augments production
IFN- γ	Inhibits	Induces	Inhibits		Induces	Inhibits	
TGF- β	Inhibits	Inhibits		Induces			Induces

Figure 9-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Chez l'homme, les IgG1 et les IgG3 fixent et activent le complément
 Chez la souris, les IgG2a/b et les IgG3 fixent et activent le complément.

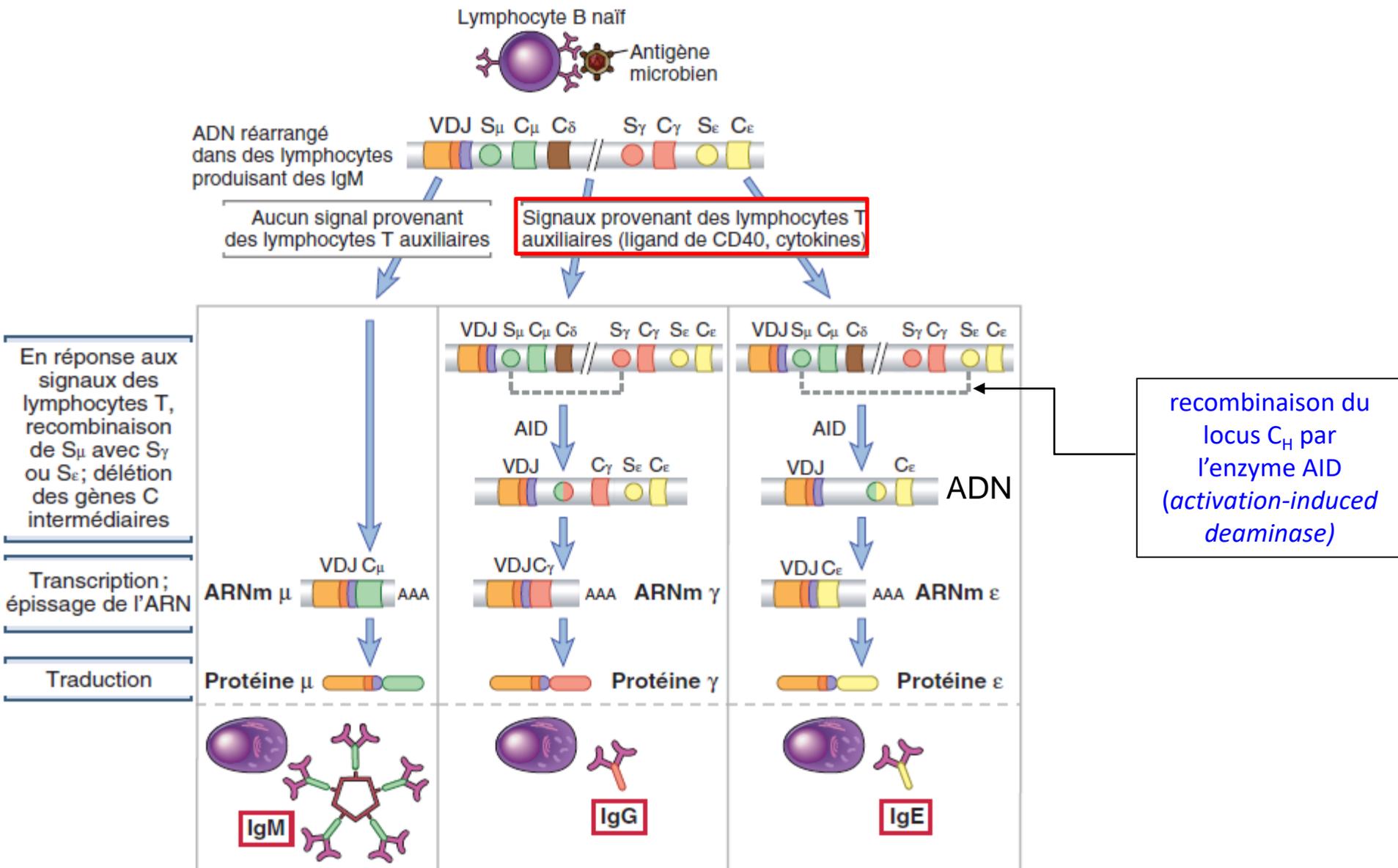
Mécanisme de la commutation isotypique des chaînes lourdes d'immunoglobulines



Switch region (S) ou région de commutation

$S_m = 150$ répétitions du motif [(GAGCT) n GGGGGT] en général $n = 3$

Commutation isotopique des chaînes lourdes d'immunoglobulines



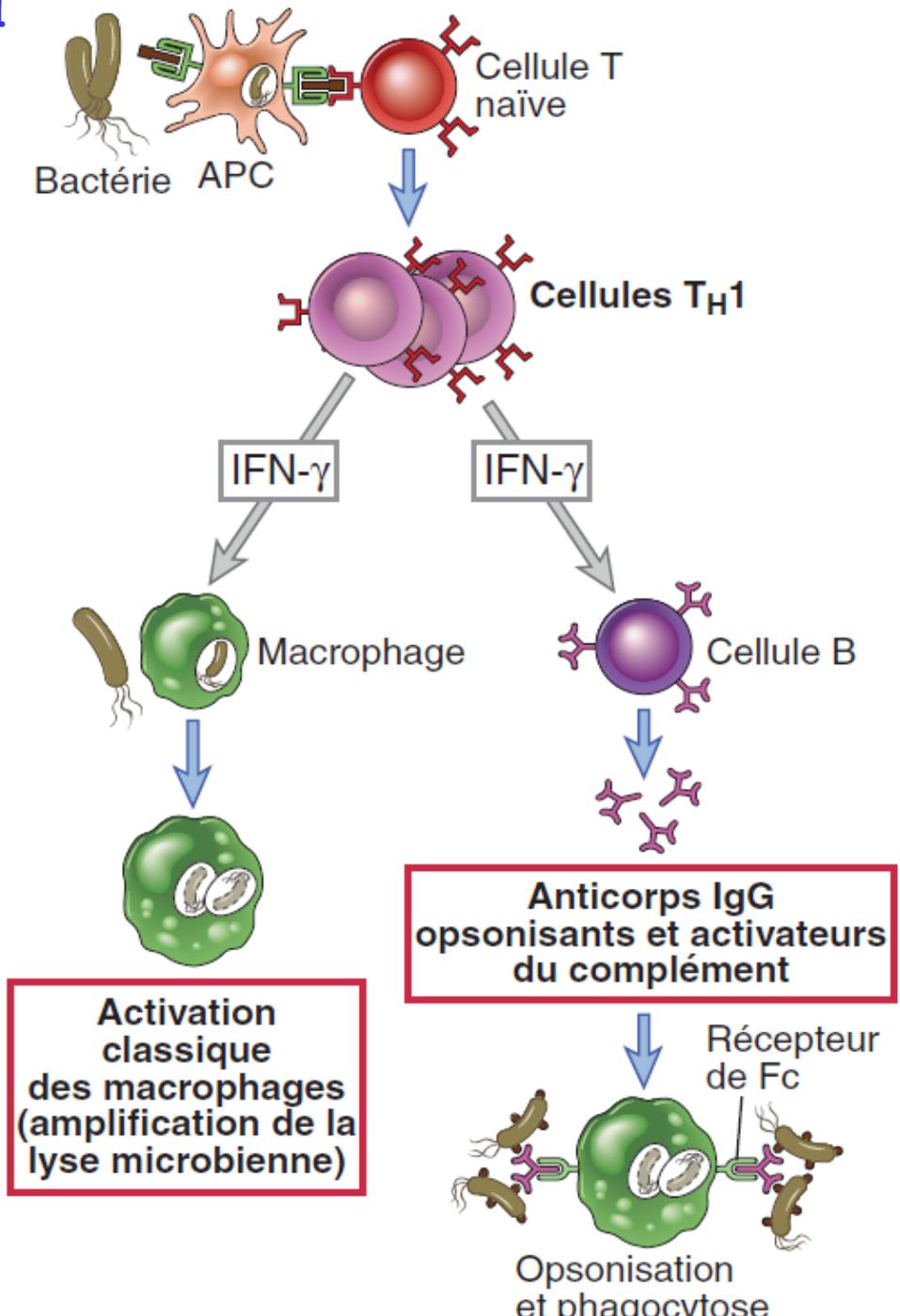
Chaque classe d'Ig humaine est spécialisée dans sa fonction et dans sa répartition

Functional activity	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralization	+	-	++	++	++	++	++	-
Opsonization	-	-	+++	*	++	+	+	-
Sensitization for killing by NK cells	-	-	++	-	++	-	-	-
Sensitization of mast cells	-	-	+	-	+	-	-	+++
Activates complement system	+++	-	++	+	+++	-	+	-

Distribution	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Transport across epithelium	+	-	-	-	-	-	+++ (dimer)	-
Transport across placenta	-	-	+++	+	++	+/-	-	-
Diffusion into extravascular sites	+/-	-	+++	+++	+++	+++	++ (monomer)	+
Mean serum level (mg ml ⁻¹)	1.5	0.04	9	3	1	0.5	2.1	3x10 ⁻⁵

*IgG2 can act as an opsonin in the presence of Fc receptors of a particular allotype, found in about 50% of white people.
(an immunoglobulin allotype is the allele of the antibody chains found in the individual)

Fonctions des lymphocytes Th1



Lymphocytes Th2 dans l'immunité antiparasitaire

Cytokines produites par les Th2 : **IL-4, IL-5, IL-6**

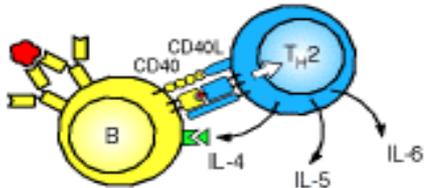
IL-4 → Différenciation en Th2 ;

IL-4 → Prolifération des lymphocytes B ; Commutation de classe vers IgE et IgG1 (souris) / IgG4 (humain)

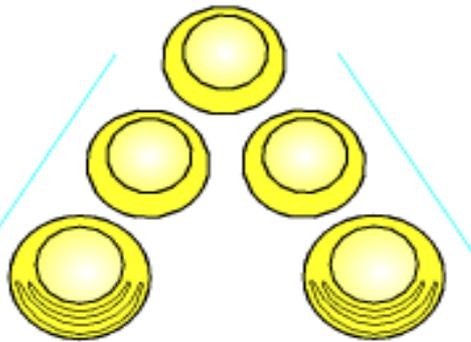
IL-5 → Prolifération et Différenciation des polynucléaires éosinophiles ; Commutation vers IgA

IL-6 → Prolifération des lymphocytes B et différenciation en plasmocytes

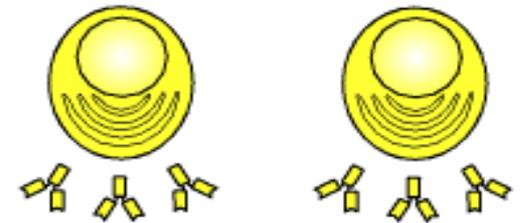
Antigen recognition induces expression of effector molecules by the T cell, which activates the B cell



B-cell proliferation



Differentiation to antibody-secreting plasma cells



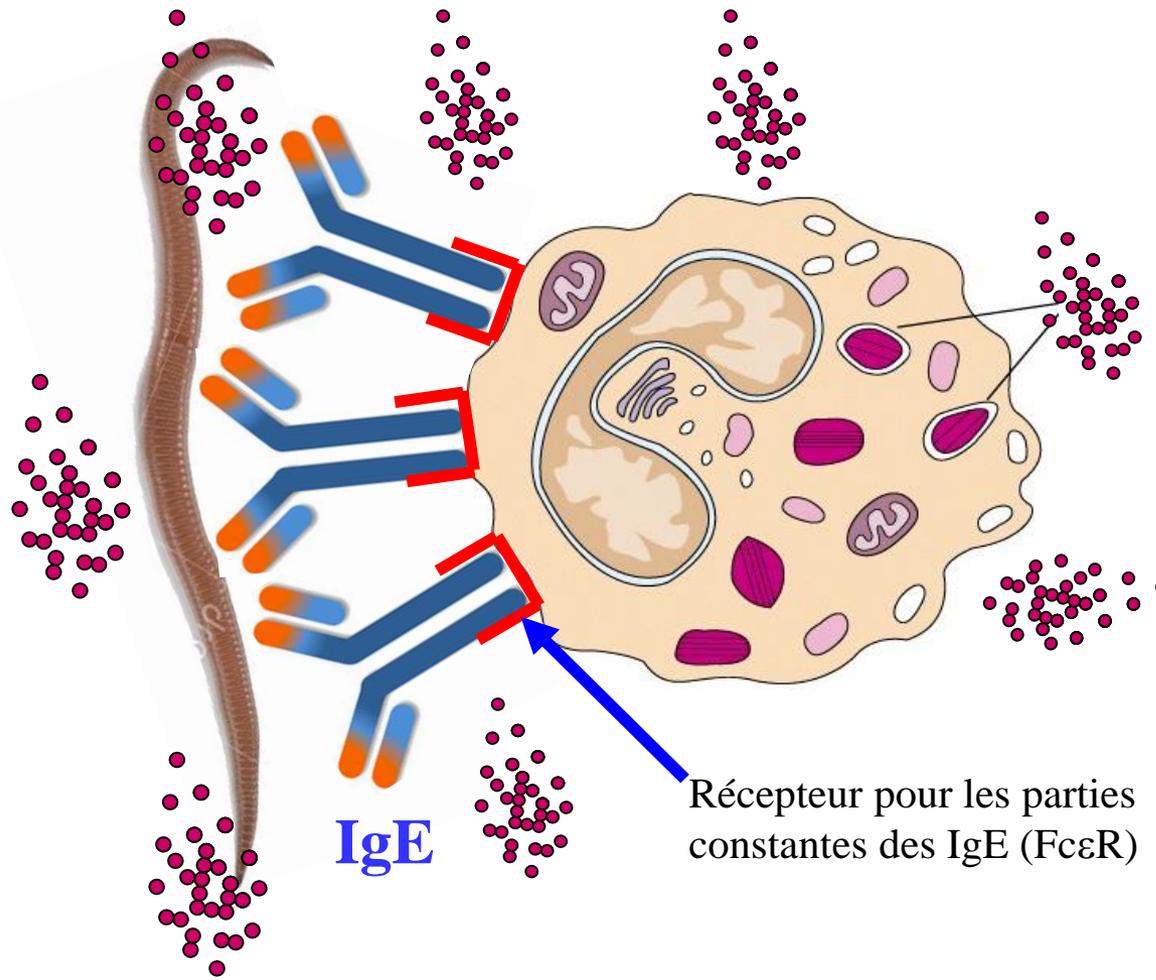
Parasites

Microparasites	Macroparasites
Unicellulaire	Pluricellulaire
Eucaryotes protozoaires : <i>Leishmania</i> , <i>Plasmodium</i>	Helminthes (vers parasites)
Eucaryote : <i>Trypanosoma</i>	Cestodes (douve, hydatidose)
Champignon dimorphique (stade mycelia) inhalé sous forme de spores	Trématodes (<i>Schistosoma</i> , <i>Trypanosoma</i>)
	Nématodes : Trichine, Filaires, Onchocercaires

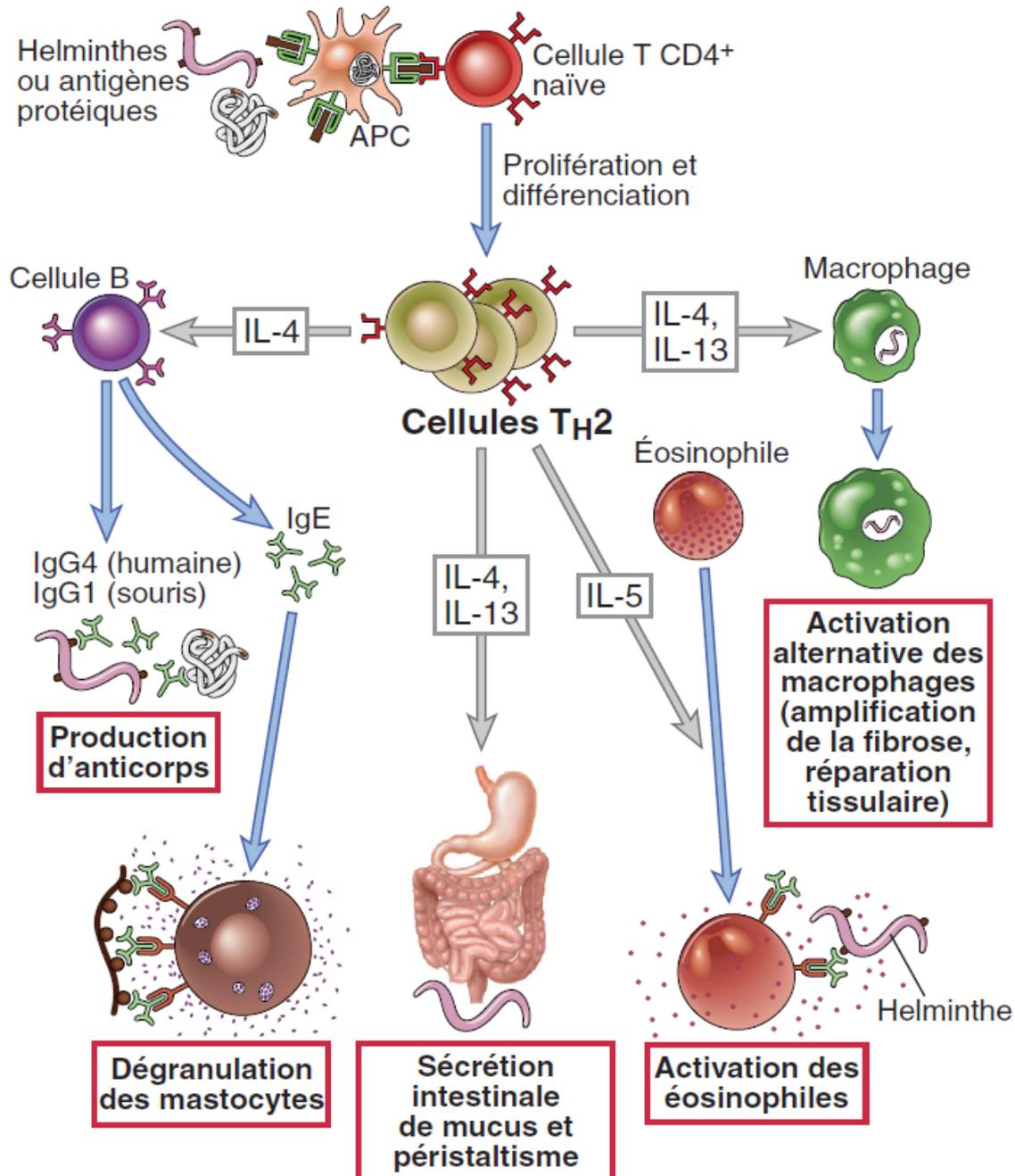
Th2 dans l'immunité antiparasitaire : exemple des helminthiases

Elles se caractérisent par une forte concentration d'IgE et une hyperéosinophilie.

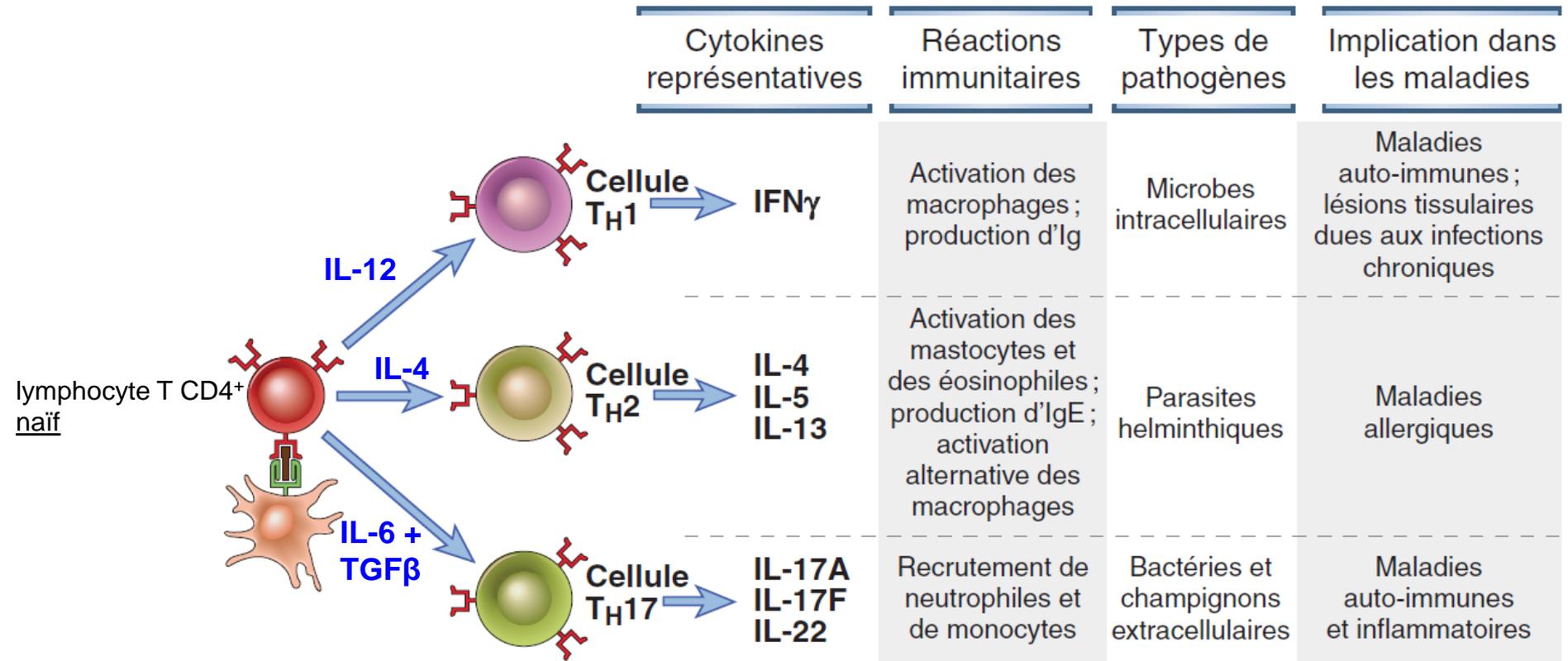
- 1) Formation des complexes IgE-parasites
- 2) Liaison des complexes IgE-antigènes aux récepteurs FcεR1 des polynucléaires éosinophiles
- 3) Agrégation des récepteurs FcεR1 des polynucléaires éosinophiles
- 4) Dégranulation de médiateurs cytotoxiques : Major basic protein (MBP), Eosinophil peroxidase (EPX), ...



Fonctions des lymphocytes Th2



Caractéristiques des sous-populations de lymphocytes T helper



Échappement des microbes à l'immunité cellulaire

Microbe	Mécanisme	
Mycobactérie	Inhibition de la fusion des phagolysosomes	<p>Phagosome contenant des mycobactéries ingérées</p> <p>Lysosome contenant des enzymes</p> <p>Les mycobactéries survivent dans le phagosome</p>
Virus herpès simplex (HSV)	Inhibition de la présentation de l'antigène : une protéine du HSV interfère avec le transporteur TAP	<p>Protéine cytosolique</p> <p>Protéasome</p> <p>RE</p> <p>TAP</p> <p>CD8+ CTL</p> <p>Inhibition de la présentation antigénique</p> <p>EBV</p> <p>HSV</p> <p>CMV</p>
Cytomégalovirus (CMV)	Inhibition de la présentation de l'antigène : inhibition de l'activité du protéasome; élimination des molécules du CMH de classe I du réticulum endoplasmique (RE)	
Virus d'Epstein - Barr (EBV)	Inhibition de la présentation de l'antigène : inhibition de l'activité du protéasome	
Virus d'Epstein - Barr (EBV)	Production d'IL-10, inhibition de l'activation des macrophages et des cellules dendritiques	<p>Lymphocyte B infecté par l'EBV</p> <p>Macrophage</p> <p>EBV</p> <p>IL-10</p> <p>Inhibition de l'activation du macrophage</p>
Poxvirus	Inhibition de l'activation des lymphocytes effecteurs : production de récepteurs solubles des cytokines	<p>Poxvirus</p> <p>Récepteurs solubles d'IL-1 ou d'IFN-γ</p> <p>IL-1, IFN-γ</p> <p>Blocage de l'activation des lymphocytes effecteurs par les cytokines</p>