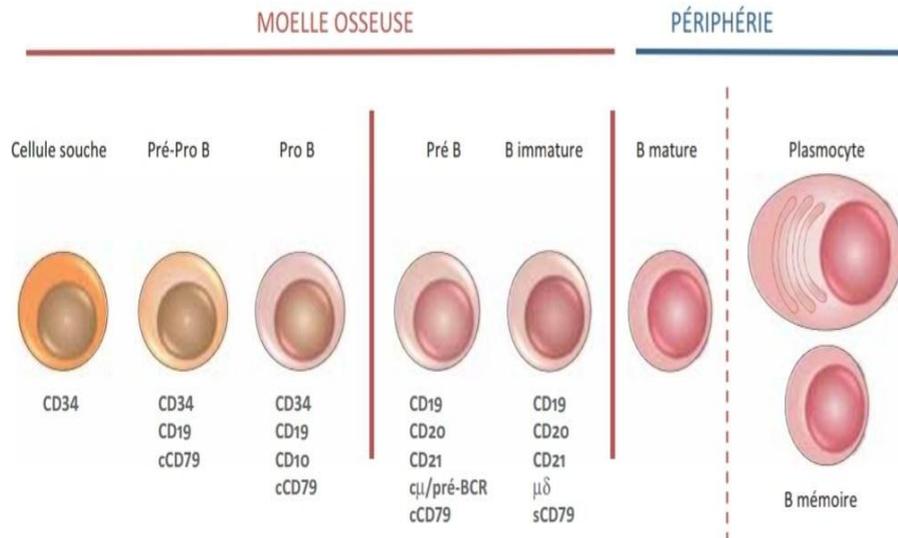


Immunologie Cellulaire & Moléculaire

Chapitre 05 : Ontogénèse des LB et des LT



Introduction

1. Maturation des cellules B.....	2
2. Lymphopoïèse B.....	3
2.1. Stade pré-pro B.....	4
2.2. Stade pro- B.....	5
2.3. Stade pré- B.....	5
2.4. Stade B- immature.....	6
2.5. Stade B- mature.....	6
3. Lymphopoïèse des lymphocytes T.....	6
3.1. Stade 1 : progéniteurs de T (pro-T).....	7
3.2. Stade 2 : précurseurs de T (pré-T).....	7
3.3. Stade 3 : lymphocytes T immatures : simples positifs.....	8.9
3.4. Stade 4 : lymphocytes T naïfs.....	10
3.5. La lymphopoïèse T secondaire (antigène -dépendante).....	10
Conclusion	10

Chapitre 05 : Ontogénèse des LB et des LT

Introduction

Chez l'homme, l'hématopoïèse, qui est la formation et le développement des cellules rouges et des cellules blanches du sang, commence dans le sac vitellin de l'embryon au cours des premières semaines du développement là, les cellules souche du sac vitellin se différencient en cellules érythroïdes primitives qui contiennent de l'hémoglobine embryonnaire.

Au troisième mois de la gestation, les cellules souche hématopoïétiques migrent du sac vitellin vers le foie fœtal, puis vers la rate ; ces deux organes ont des rôles majeurs dans l'hématopoïèse du troisième au septième mois de la gestation. Par la suite, la différenciation des CSH a lieu dans la moelle osseuse qui devient le siège majeur de l'hématopoïèse.

1. Maturation des cellules B

La première cellule possédant les caractéristiques de la lignée B, la cellule progénitrice B (cellule pro – B), qui exprime une tyrosine phosphatase transmembranaire appelée CD45R (appelée parfois B220 chez la souris).

La prolifération et la différenciation des cellules pro – B en précurseurs des cellules B (cellules pré – B) nécessitent un microenvironnement fourni par les cellules stromales de la moelle osseuse.

Ces cellules stromales jouent deux rôles importants : elles entrent directement en interaction avec les cellules pro-B et les cellules pré-B - et sécrètent diverses cytokines, en particulier l'IL- 7, qui favorise le processus développemental.

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

Après qu'un contact initial ait été établi, un récepteur de la surface de la cellule pro-B, appelé C-KIT, entre en interaction avec une molécule de la surface de la cellule stromale qui est connue sous le nom de facteur de croissance des cellules souches (SCF, Stem, cell factor).

Cette interaction active le C-KIT, qui est une tyrosine kinase, et la cellule pro-B commence à se diviser et à se différencier en une cellule pré-B puis elle commence à exprimer un récepteur de l'IL- 7 ce dernier est sécrété par les cellules stromales qui active le processus de maturation, ce qui conduit finalement à une régulation négative de l'expression des molécules d'adhésion sur les Cellule pré-B, de telle façon que ces cellules proliférantes puissent se

détacher des cellules stromales. (Figure 41). À ce stade, les cellules pré-B n'ont plus besoin d'un contact direct avec les cellules stromales, mais elles ont toujours besoin de l'IL-7 pour leur croissance et leur maturation.

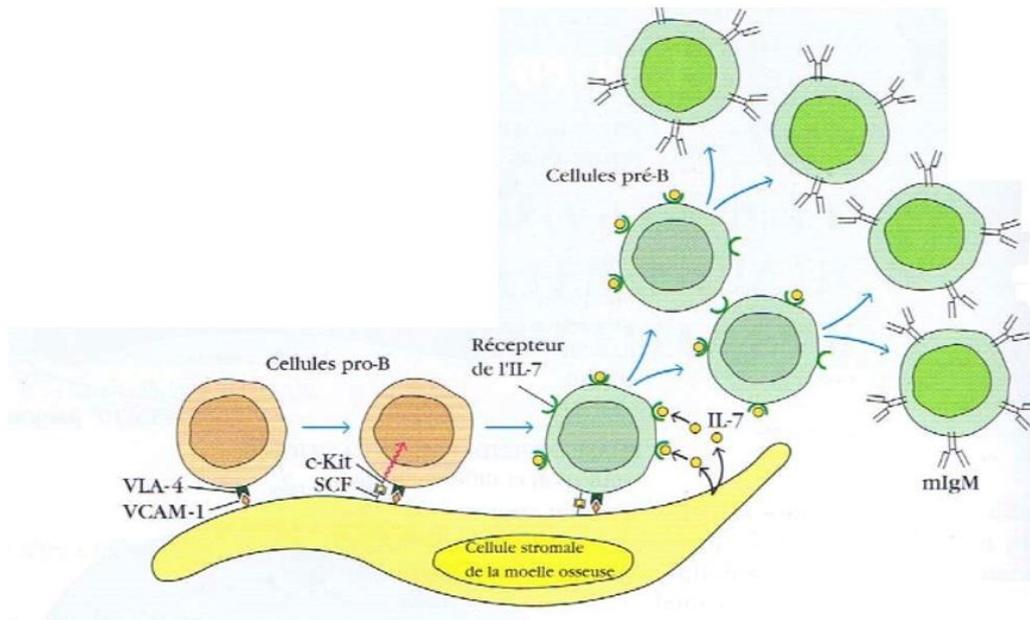


Figure 41 : Les cellules stromales de la moelle osseuse sont nécessaires à la maturation des progéniteurs des cellules B.

2. Lymphopoïèse B

Les lymphocytes B, proviennent d'une population de cellules souches lymphoïdes ou progéniteur lymphoïdes communs (PLC).

Cette dernière dérive de la cellule souche hématopoïétique primitive (C.S.H) au niveau de la moelle osseuse. Ce progéniteur est de phénotype CD34+.

La lymphopoïèse comporte deux phases à la différence des autres lignées :

- La lymphopoïèse primaire ou basale, produit des lymphocytes matures nécessaires aux besoins de l'organisme.
- La lymphopoïèse secondaire correspond aux multiplications des lymphocytes matures soumises à l'activation du contact antigénique. Elle permet l'adaptation de la réponse immunitaire. 75% des cellules B en cours de différenciation médullaire, meurent par apoptose. Les interactions entre les cellules B et les cellules stromales assurent une forme de sélection positive permettant à une minorité de cellules B ayant subi un réarrangement productif des gènes d'Ig de poursuivre leur maturation. (Figure 42).

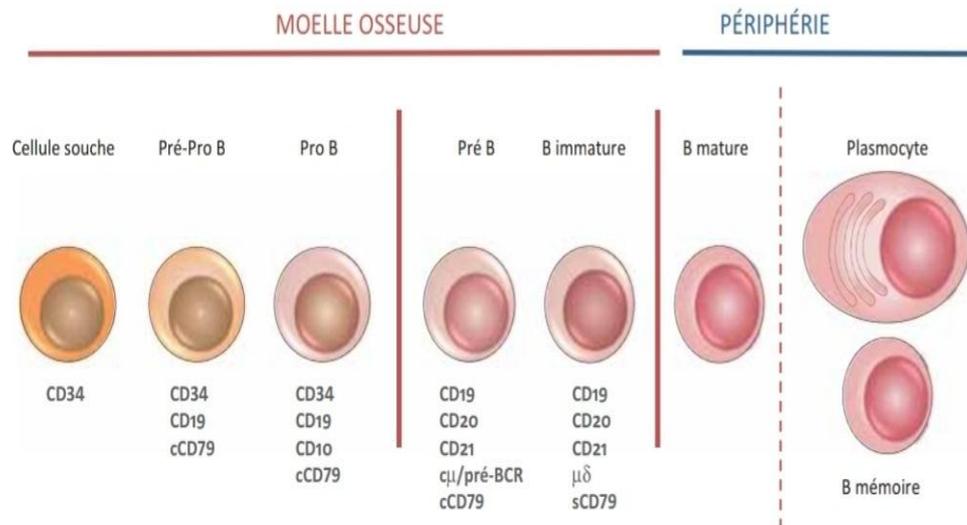


Figure 42 : Principales étapes de maturation des LB. (Ontogénèse).

2.1. Stade pré-pro B

Dans la moelle osseuse, les précurseurs B les plus immatures constituent une sous population de cellules exprimant le marqueur CD43. Ces cellules n'ont pas encore réarrangé les gènes d'immunoglobuline(Ig). Cependant, l'expression du gène B29 codant pour le CD79b, molécule importante pour la transduction du signal via le récepteur d'antigène, est détectée dès ce stade. (Figure 43).

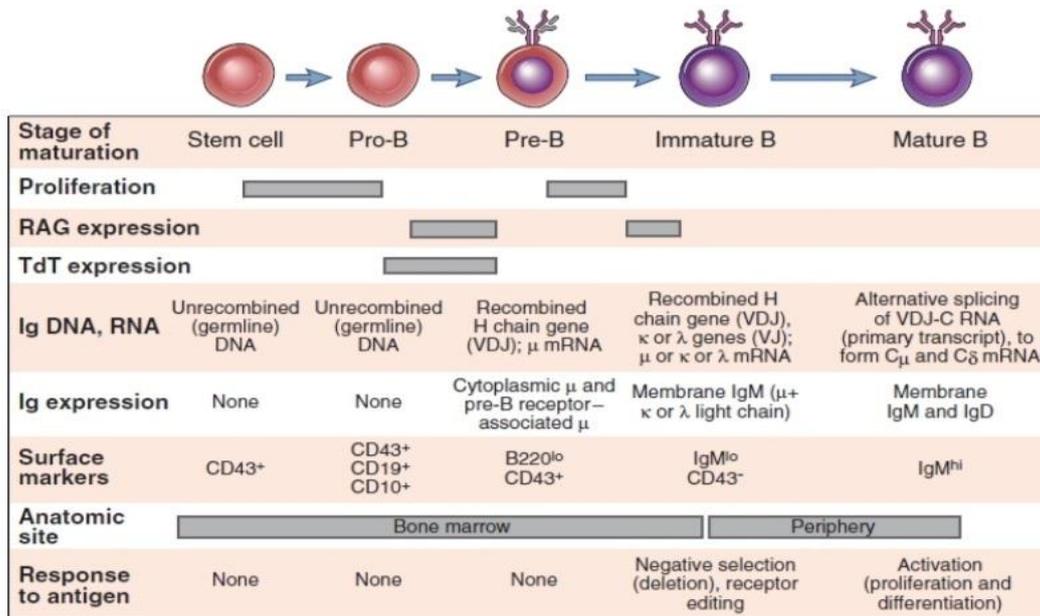


Figure 43 : Ontogénèse des lymphocytes B.

2.2. Stade pro-B

Les gènes des Ig ne sont pas réarrangés, ils sont en configuration germinale.

A ce stade apparaissent les marqueurs:

- CD10
- CD19, CD22
- CD79a/CD79b ou $Ig\alpha/Ig\beta$: constituant le module de transduction du signal. C'est à ce stade que le réarrangement des gènes d'immunoglobulines se met en place.

En effet, la protéine RAG1 et RAG2 (le gène activateur de recombinaison) sont nécessaires au réarrangement des VDJ au sein du locus IgH codant pour la chaîne lourde. L'enzyme Tdt (désoxyribonucléotidyltransférase) catalysant l'addition des nucléotides jonctionnelles et abondamment exprimée durant ce stade.

Cependant, le taux de cette enzyme diminue avant que le réarrangement génique au niveau du locus de la chaîne légère ne soit accompli, seulement la synthèse de la chaîne lourde cytoplasmique est observée dans ce stade et aussi seulement les cellules qui ont pu faire un réarrangement productif peuvent survivre et continuer leurs étapes de maturation.

2.3. Stade pré-B

A ce stade, les gènes de la chaîne lourde sont réarrangés. Donc la chaîne lourde μ est alors exprimée à la surface des cellules pré-B, en association avec la pseudo-chaîne légère, et avec les protéines $Ig\alpha$ et $Ig\beta$. La pseudo-chaîne légère. (Chaîne légère de substitution). Ce complexe est constitué de protéines. (Figure 44). Une séquence de type Appelée V_{pre-B} , et une séquence de type Appelée $\lambda 5$, qui s'associent de façon non covalente pour former une structure de type chaîne légère.

Le récepteur des cellules pré-B est formé de la chaîne légère de substitution et d'une chaîne lourde μ associées à l'hétérodimère $Ig\alpha$ et $Ig\beta$. Cette association forme le pré-BCR, indispensable pour la poursuite de la maturation des lymphocytes B et les gènes codant la chaîne légère débutent leur réarrangement. A ce stade on distingue : les marqueurs CD10, CD20, CD21, CD22 sont exprimés.

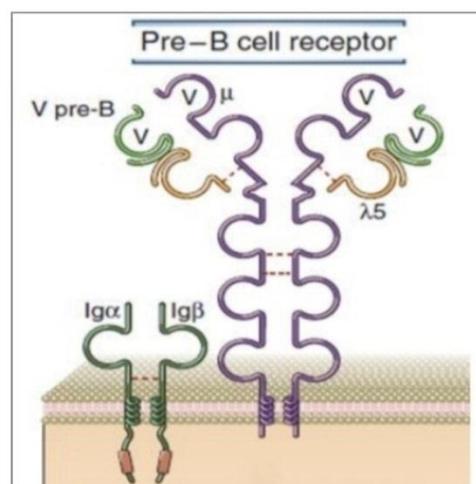


Figure 44 : Structure du pré-BCR.

2.4. Stade B-immature

Ce stade est caractérisé par la production d'une chaîne légère classique qui va remplacer la pseudo-chaîne légère ce qui donne naissance à une IgM membranaire.

Les LB immatures quittent la moelle osseuse, vont subir une sélection négative où les cellules possédant des Ig membranaires spécifiques pour les antigènes du soi sont éliminées par apoptose.

2.5. Stade B-mature

Dans la rate, les lymphocytes B immatures acquièrent l'IgD de surface pour devenir matures. Ce sont les LB naïfs fonctionnels exprimant IgM et IgD de surface, les LB matures colonisent par la suite les zones B dépendantes des organes lymphoïdes périphériques (OLP) et s'organisent en follicules primaires.

Le BCR des lymphocytes B mémoires comportent en général, une seule classe d'Ig (IgG, IgA ou IgE).

L'ensemble des événements conduisant à la sélection clonale des lymphocytes B entraîne la perte d'une grande partie des cellules ; montrant ainsi l'existence d'une sélection stricte à la sortie de la moelle osseuse ainsi qu'à la périphérie.

Les lymphocytes naïfs quittent la moelle osseuse vers la circulation sanguine puis lymphatique.

En effet, les sinus veineux présents dans la moelle osseuse sont très permissifs, permettant ainsi un passage aisé des cellules sanguines vers le sang.

Chez l'homme, la durée du développement des lymphocytes B matures à partir du précurseur lymphoïde commun est estimée de 2 à 3 jours.

3. Lymphopoïèse des lymphocytes T

Les progéniteurs lymphoïdes communs ou PLC (cellules souches lymphoïdes) se développent en progéniteurs lymphoïdes T (pro-T) sous l'action de cytokines IL3 et SCF (stem cell factor) sécrétées par les cellules stromales. Les proT prolifèrent et se différencient, en présence de l'IL7, SCF, IL2, IL3... etc., en lymphocytes T naïfs dans le thymus.

Les progéniteurs T (pro-T) de la moelle osseuse accèdent au thymus à partir des vaisseaux sanguins situés à proximité de la jonction corti-médullaire thymique puis de là migrent vers la région sous -capsulaire du cortex thymique.

A ce moment-là, ils s'appellent des thymocytes. Cette migration depuis la moelle osseuse jusqu'au thymus s'effectue sous l'effet de l'interaction moléculaire entre la chimiokine CCL25 produite par les cellules corticales thymiques et son récepteur CCR9.

Leur différenciation se déroule du cortex vers la médullaire en 4 étapes, distinguables sur la base de l'expression des corécepteurs CD4 et CD8. (Figure 45).

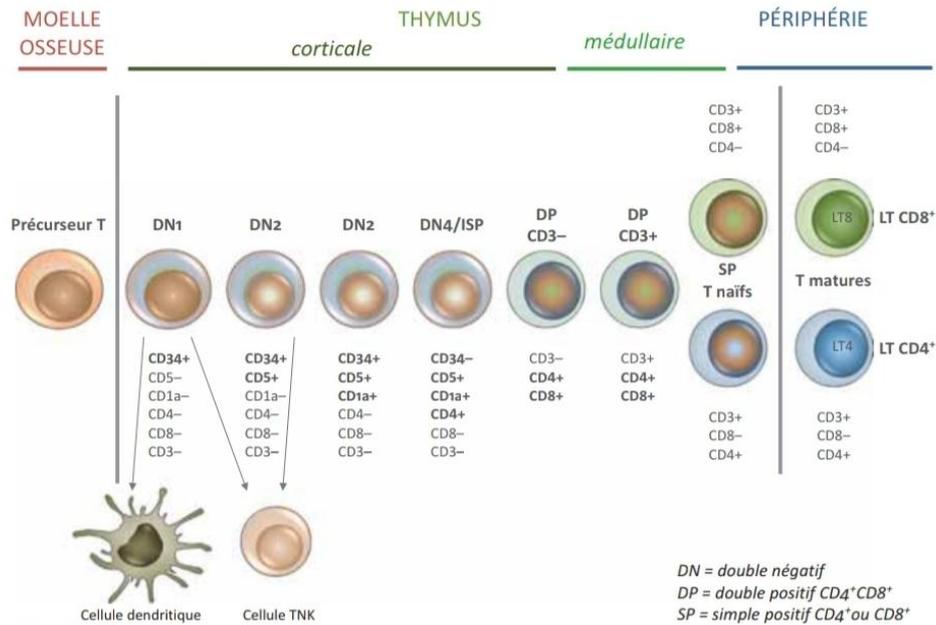


Figure 45 : Ontogénèse des lymphocytes T. Pro T : progéniteur de T. PréT : précurseur de T. cCD3 : CD3 cytoplasmique. DN : double négatif. DP : double positif CD4+CD8+. SP: simple positif CD4+ou CD8.

3.1. Stade 1 : progéniteurs de T (pro-T)

Le cortex thymique externe contient des prothymocytes, grandes cellules blastiques qui se divisent activement. Le CD3 est synthétisé au cours de ce stade ; cependant il n'est pas exprimé à la surface cellulaire. Ces pro- thymocytes doubles négatifs (CD4-, CD8-, TCR) représentent 5% des lymphocytes du thymus.

Ces prothymocytes vont proliférer dans cette zone sous capsulaire et vont acquérir leurs marqueurs de surface sous l'effet de certaines molécules sécrétées par les cellules épithéliales corticales.

3.2. Stade 2 : précurseurs de T (pré-T)

Ce stade est caractérisé par le réarrangement des gènes codant pour la chaîne β à 90% du TCR ($\alpha\beta$) et pour la chaîne γ à 5% du TCR ($\gamma\delta$) de plus, l'expression membranaire d'un pré TCR et de CD3 n'est observée qu'à la fin de ce stade. Le pré-TCR est constitué d'une chaîne β associée à une chaîne pré-T α invariante transmet des signaux de survie et de prolifération.

Plus de 90% des cellules qui arrivent à ce stade meurent du fait de l'absence d'expression de pré -TCR à leur surface. Ces thymocytes pré-T sont localisés au niveau du cortex profond. Ce stade se termine par le réarrangement du locus α et l'expression membranaire du TCR ($\alpha\beta$).

L'acquisition du TCR et les marqueurs spécifiques des LT (CD4+, CD8+, CD3+) nécessite au moins une semaine. A la fin de cette étape, on parle de thymocytes doubles positifs. La restriction par le CMH est acquise lors du processus de la sélection positive qui se déroule à ce stade. Elle a lieu dans le cortex profond.

Elle consiste en la survie des cellules reconnaissant le CMH du soi. La reconnaissance se fait par le TCR mature (au stade double positif) au contact des molécules du CMH des cellules épithéliales corticales thymiques.

Les thymocytes qui sont capables d'interagir avec les molécules de CMH ne représentent que 5% des thymocytes initiaux. (Figure 46). Ayant subi la sélection positive, les thymocytes doubles positifs migrent du cortex vers la médulla ; où ils vont subir la sélection négative pour éliminer les thymocytes auto réactifs.

Cette migration s'effectue sous l'effet des chimiokines CCL21 and CCL19 interagissant avec leur récepteur CCR7. (Figure 46).

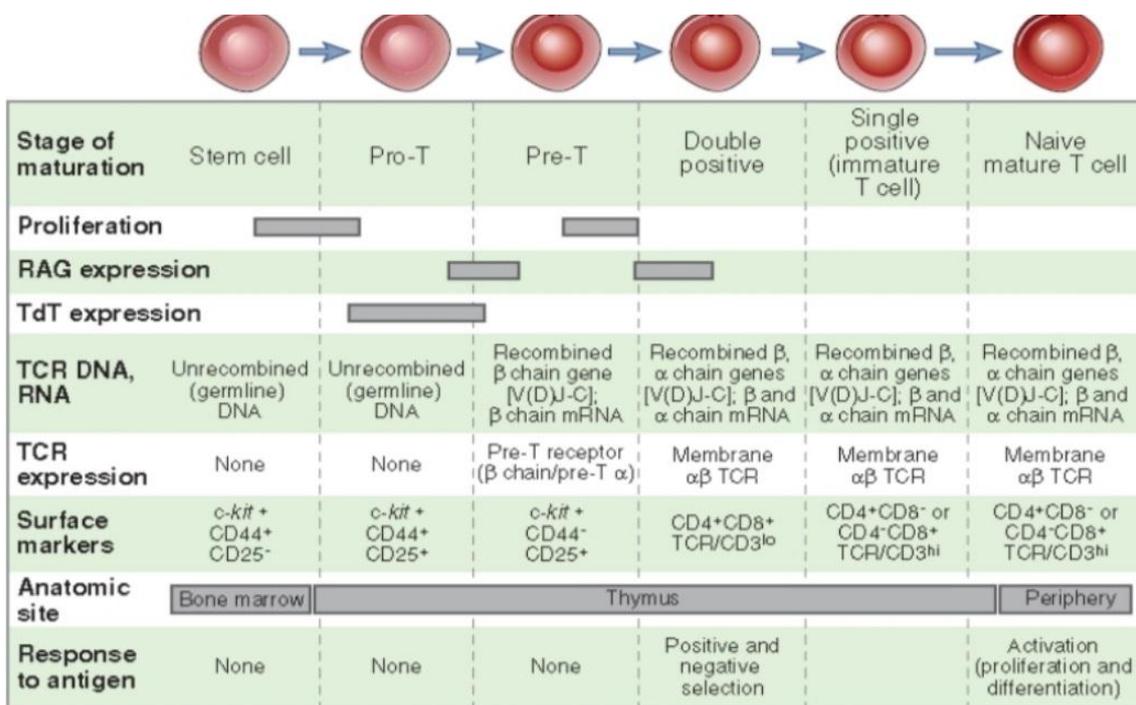


Figure 46 : Ontogénèse des lymphocytes T.

3.3. Stade 3 : lymphocytes T immatures : simples positifs

Dans la médullaire, les thymocytes simples positifs sélectionnés subissent la sélection négative (C'est la tolérance au soi) pour éliminer les thymocytes autoréactifs. Les thymocytes dont les TCR reconnaissent avec une forte affinité les peptides du soi (auto antigènes) associés à une molécule du CMH à la surface des cellules dendritiques ou des macrophages sont éliminés.

Les thymocytes dont les TCR ne reconnaissent pas les peptides du soi associés à une molécule du CMH à la surface des cellules dendritiques ou des macrophages survivent. Ils représentent seulement 1 à 2% des thymocytes initiaux.

- Le lymphocyte est éliminé par apoptose si son TCR présente une forte affinité pour un antigène du soi associé à une molécule de CMH de type I ou II.
- Le TCR présentant une faible affinité pour un antigène du soi associé à une molécule de CMH de type I => conservation et évolution vers un lymphocyte T spécialisé de type CD8 dit LTCD8+.
- Le TCR présentant une faible affinité pour un antigène du soi associé à une molécule de CMH de type II => conservation et évolution vers un lymphocyte T spécialisé de type CD4 dit LTCD4+.
- Les cellules ayant survécu à la sélection négative représentent seulement 1 à 2% des thymocytes initiaux. Les lymphocytes TCD4 et TCD8 deviennent matures.

Ce sont des lymphocytes T naïfs. Ils quittent le thymus via la circulation sanguine pour atteindre les organes lymphoïdes secondaire. (Figure 47).

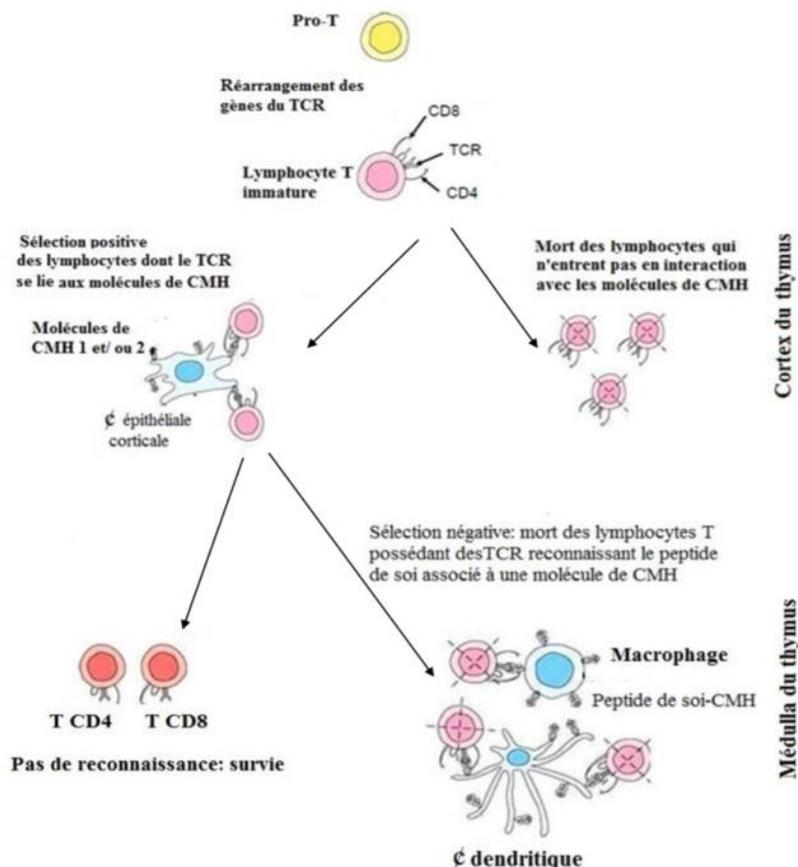


Figure 47 : Sélection positive et négative des thymocytes.

3.4. Stade 4 : lymphocytes T naïfs

Les lymphocytes TCD4 et TCD8 deviennent matures.

Ce sont des lymphocytes T naïfs car ils n'ont pas encore rencontré d'antigène. Ils quittent le thymus et entrent dans la circulation, ils sont au repos.

3.5. La lymphopoïèse T secondaire (antigène-dépendante)

Les lymphocytes T naïfs restent habituellement quiescents et dans cet état ils ne témoignent pas d'activité auxiliaire (helper) ou cytotoxique. Ils circulent entre le sang et les organes lymphoïdes secondaires en quête d'antigènes.

Quand des lymphocytes T naïfs sont activés par leur antigène spécifique, ils prolifèrent puis se différencient, une petite partie, en lymphocytes mémoires, et une grande partie, en lymphocytes effecteurs exprimant une activité helper ou cytotoxique.

Conclusion

La lymphopoïèse et l'immunopoïèse sont deux étapes successives et complémentaires qui aboutissent à produire des cellules très spécifiques de chacun des antigènes existants. Au cours de chacune de ces étapes les cellules prolifèrent intensément et sont l'objet de multiples remaniements chromosomiques. Une anomalie génomique peut survenir, elle sera habituellement suivie de la mort de la cellule correspondante (apoptose), mais parfois l'anomalie induit un avantage de prolifération qui est la base d'une maladie cancéreuse : par exemple une leucémie aigüe quand elle se produit dans une cellule de la moelle épinière, ou un lymphome quand elle se produit dans une cellule du follicule lymphoïde.