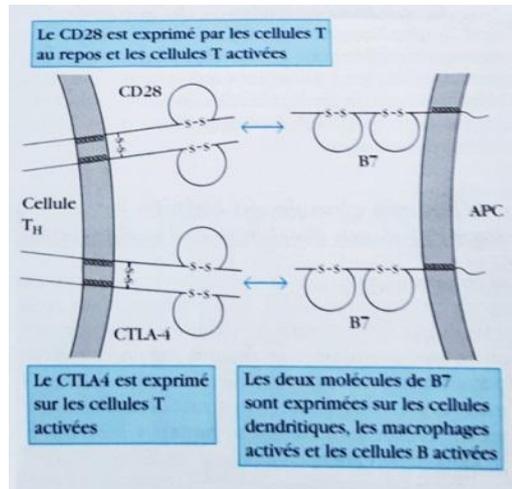


Immunologie Cellulaire & Moléculaire

Chapitre 06 : Structure et organisation génétique des récepteurs Lymphocytaire. (TCR et BCR)



1. Introduction	2
2. Le récepteur à l'antigène des lymphocytes T.....	2
2.1. La génération de la diversité des immunoglobulines.....	3
2.2. La diversité combinatoire.....	3
3. Initiation des voies de signalisation menant à l'activation des cellules B.....	4.5
3.1. Phospholipase PLC γ_2	6
3.2. Ca^{2+}	6
3.3. Protéine kinase C.....	7
3.4. La voie ras.....	7
4. Le corécepteur des cellules B.....	8.9
4.1. Principaux marqueurs de surface du LB.....	10
À retenir	10
4. Complexe du récepteur des cellules T : TCR-CD3.....	10
4.1. Le module de transduction du signal.....	11
5. Les gènes du TCR et leurs réarrangements.....	11.12
5.1. Les sélections thymiques.....	13
5.2. Les molécules CD4 et CD8.....	14
5.3. L'activation des lymphocytes T naïfs.....	14
5.4. Des signaux de costimulation.....	15
5.4.1. Le premier signal.....	16
5.4.2. Le deuxième signal.....	17
5.4.3. Le troisième signal.....	18
5.4.4. Signalisation intra-cellulaire après reconnaissance de l'antigène par le TCR...	19
5.5. L'anergie clonale.....	20
6. L'interaction CD40/CD40L.....	21
6.1. Les événements de l'activation des cellules B.....	22
Conclusion	23

Chapitre 06 : Structure et organisation génétique des récepteurs Lymphocytaire (TCR et BCR)

1. Introduction

Le BCR et le TCR sont caractérisés par leur diversité, qui résulte de recombinaisons des segments de gènes codant les chaînes lourdes et légères qui les constituent. Le nombre élevé d'antigènes susceptibles d'être rencontrés par l'organisme implique que le génome permette la synthèse d'au moins plusieurs millions de molécules différentes. Cependant, les régions constantes des différentes chaînes lourdes et légères sont invariables. Alors que les régions variables sont différentes d'un récepteur à l'autre et spécifiques chacune d'un épitope antigénique. Plusieurs segments de gènes participent à la constitution des régions variables.

2. Le récepteur des lymphocytes B

Le BCR a une structure hétéro-oligomérique, c'est un complexe tétramérique composé de deux chaînes lourdes ancrées à la membrane et de deux chaînes légères. La région cytoplasmique des immunoglobulines(Ig) de la membrane est courte : 3 résidus pour les IgM et les IgD et 28 résidus pour les IgG. Cette région intracytoplasmique ne joue aucun rôle dans la transduction du signal induit par la fixation de l'antigène sur les Ig membranaires. Ce rôle est affecté à des protéines étroitement associées au BCR : Ig α et Ig β (CD79a et b). Tout comme le CD3 présent sur les lymphocytes T, ces protéines possèdent des motifs ITAMs qui vont permettre l'initiation de la cascade de phosphorylation observée après activation du récepteur des lymphocytes B. (Figure 48).

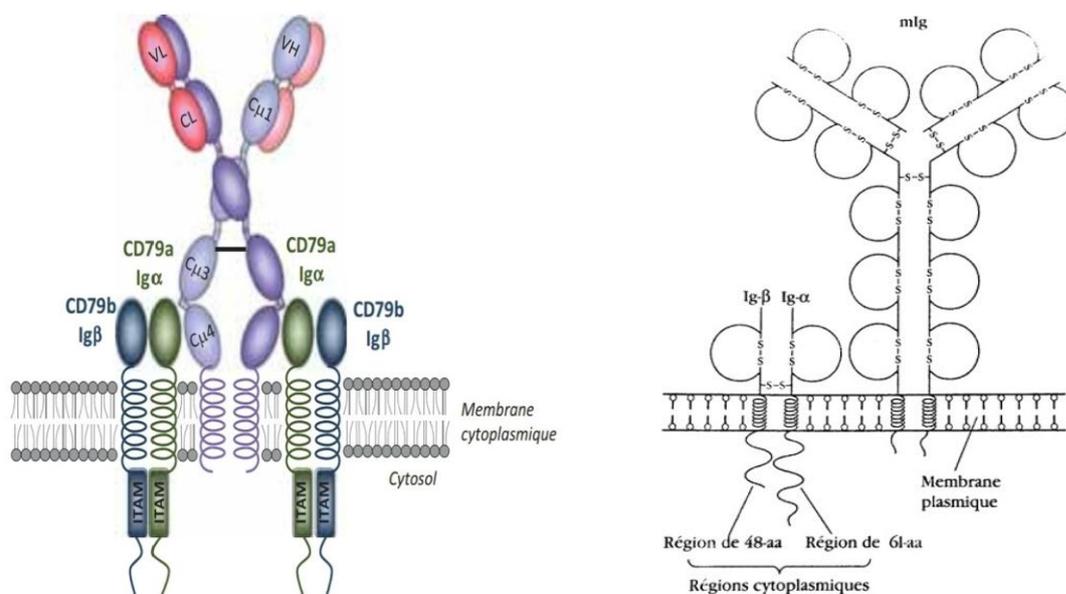


Figure 48 : Le BCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes B.

Le BCR est fonctionnellement divisé en une molécule d'immunoglobuline Fixatrice du ligand et un Hétérodimère Ig- α /Ig- β transducteur du signal. La chaîne Ig- α a une longue région cytoplasmique de 61 amino acide ; celle de la chaîne Ig- β contient 48 amino acides. Ces queues cytoplasmiques de Ig- α et Ig- β contiennent un motif de 18 résidus appelé motif permettant l'activation des immunorecepteurs via une tyrosine (ITAM, de immuno-recepteur tyrosine based activation motif). Le BCR ne peut à lui seul transmettre le signal, et ceci dû à la petite taille de la région intra-cytoplasmique. Il est toujours associé au dimère Ig- α /Ig- β uni par la liaison disulfure.

2.1. La génération de la diversité des immunoglobulines

Deux mécanismes différents assurent la diversité du BCR respectivement la diversité combinatoire et la diversité jonctionnelle. Les étapes du réarrangement des gènes codant pour un domaine variable de chaîne lourde (VH). Il se fait en trois étapes :

- Choix d'un gène D (diversité) H et d'un gène J (jonction) H;
- Choix d'un gène VH;
- Génération d'un ARN pré-messager (pré-ARNm) à partir de la séquence VDJ-domaine constant ainsi constituée sur le chromosome 14 réarrangé. La synthèse protéique d'une chaîne lourde μ se fera après épissage de ce pré-ARNm. (Figure 49).

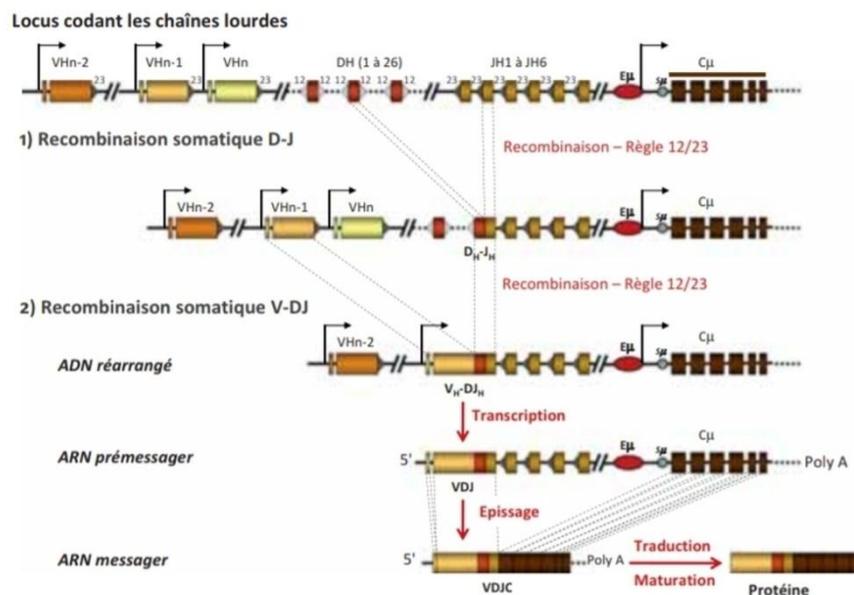


Figure 49 : Génération de la diversité des immunoglobulines.

2.2. La diversité combinatoire

La diversité combinatoire est gouvernée par le hasard du choix des segments constituant les régions variables. Les régions variables des chaînes lourdes (H) sont obtenues par l'association, dans un premier temps, d'un segment de jonction JH avec un segment de diversité DH, puis le réarrangement de cette association D-JH avec un segment variable VH,

le tout aboutissant à la formation d'un exon VDJ. Les régions variables des chaînes légères sont générées par une unique étape de jonction des segments VL et JL pour former un exon VJ. Les régions d'ADN comprises entre les différents segments sont déléetées lors de ces réarrangements sous forme d'un ADN circulaire (cercle d'excision ou épisome). Lors de la transcription en ARN pré-messager (pré-ARNm), les segments géniques codant les régions variables des chaînes H(VDJ) et des chaînes L (VJ) sont associés aux exons codant la région constante des chaînes correspondantes.

Après épissage, les ARN messagers (ARNm) matures sont prêts à être traduits en protéines. Le grand nombre de segments V, D et J disponibles et les multiples combinaisons possibles entre ces éléments constituent la base de la diversité combinatoire. Les recombinaisons RAG-1 et RAG-2, (recombination-activating gene) exprimées strictement par les cellules lymphoïdes, sont essentielles à la recombinaison V(D)J. Elles permettent le clivage double brin de l'ADN au niveau de la séquence RSS (Séquence Signal de Recombinaison), et la formation d'une structure en épingle à cheveux. L'expression des gènes RAG-1 et RAG-2 est strictement contrôlée lors du développement lymphocytaire B.

3. Initiation des voies de signalisation menant à l'activation des cellules B.

La liaison de l'antigène induit une phosphorylation des tyrosines situées dans les ITAMS (Immuno récepteur tyrosine-based-activation motifs) des chaînes Ig- α /Ig- β du BCR. La phosphorylation de ces chaînes par les PTKs (tyrosine protéine kinases : BLK ; Lyn ; Fyn) associées au récepteur parmi le premier événement 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. Ces phosphorylations permettent la création de sites d'ancrage sur lesquels SYK s'attache. Cette dernière va alors subir des phosphorylations qui vont induire son activation. SYK activée phosphoryle la protéine adaptatrice BLNK (ce qui crée des sites d'ancrage sur BLNK pour les protéines BTK et PLC γ_2 (Bruton's tyrosine kinase et phospholipases) ; Ces dernières jouent un rôle crucial dans la création de sites d'ancrage nécessaires pour le recrutement d'autres protéines nécessaires pour la signalisation. Cette étape est essentielle pour les événements précoces de transduction dépendants de la phospholipase et faisant intervenir le calcium Ca²⁺ et la protéine kinase C (PKC). L'association de BtK et de la PLC γ_2 à la protéine adaptatrice BLNK permet à la BTK de phosphoryler la PLC γ_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 γ_2 . Cette activation est importante une fois activée la PLC γ_2 hydrolyse les phospholipides membranaires (PIP₂, phosphoinositol 1, 4,5 biphosphate) libérant ainsi les puissants seconds messagers IP₃ et DAG (inositol 1, 4,5triphosphate et Diacylglycérol). Etant donné que BTK joue un rôle essentiel dans l'activation d'un important réseau de signaux intra cellulaire ; elle est apparue comme un participant essentiel de la signalisation intracellulaire vitale pour le fonctionnement des cellules B matures. Ces étapes initiales mettent en mouvement une série d'événements qui induisent les différentes cascades de signalisation nécessaires à l'activation des cellules B. et cela incluent des voies dépendantes des petites protéines, de la libération de calcium, et de la protéine kinase C. (Figure 50).

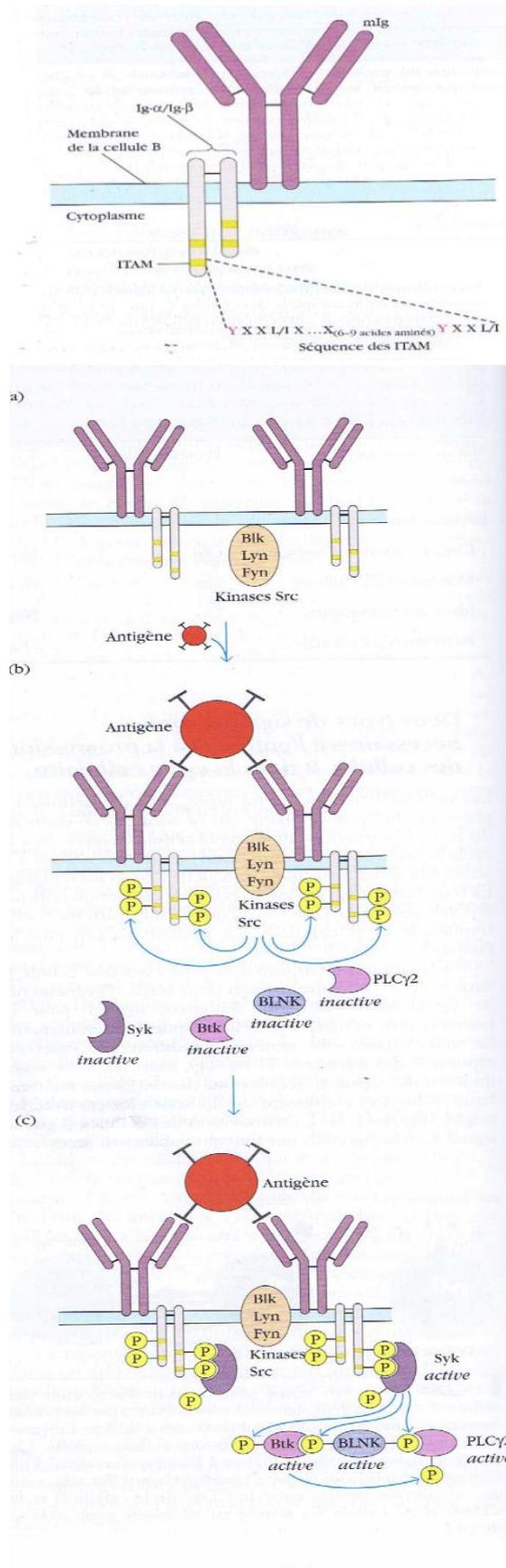


Figure 50 : Initiation des voies de signalisation menant à l'activation des cellules B.

3.1. Phospholipase PLC γ_2

La protéine adaptatrice BLNK facilite la phosphorylation de la PLC γ_2 en formant un complexe qui inclut la PLC γ_2 et Btk. L'activation de la PLC γ_2 conduit à l'hydrolyse du phosphoinositol biphosphate PIP_2 , un composant phospholipidique de la membrane, pour produire l'inositol 1, 4, 5 triphosphates (IP_3) et le diacylglycérol (DAG). L' IP_3 entraîne une sortie rapide de Ca^{2+} du réticulum endoplasmique et ouvre les canaux à Ca^{2+} dans la membrane cellulaire en provoquant une augmentation du Ca^{2+} intra cellulaire. DAG est un activateur de la protéine kinase C (PKC), une kinase multifonctionnelle qui phosphoryle de nombreuses cibles différentes. (Figure 51).

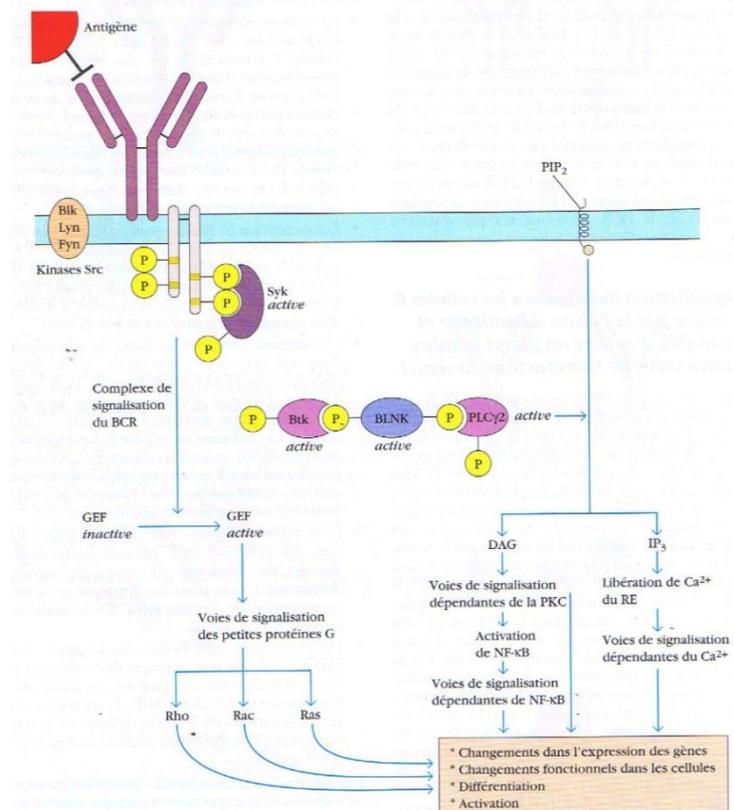


Figure 51 : Une série de phosphorylation initiée par Blk, Lyn et Fyn conduit à la formation du complexe de signalisation du BCR.

3.2. Ca^{2+}

L'ion calcium est impliqué dans un éventail large de processus notamment la vision, la contraction musculaire. C'est un élément essentiel dans beaucoup de réponses de cellules T et B. La sortie de calcium du réticulum endoplasmique aboutit au final à la phosphorylation d'un facteur de transcription important NFAT (nuclear factors of activated T cell=sont des facteurs transcriptionnels qui contrôlent l'expression des gènes de cytokines dans les lymphocytes). Ces protéines NFAT sont présentes à l'état basal dans le cytoplasme des lymphocytes T et B et sont transportés dans le noyau lorsque ces cellules sont activées.), suivie du transport de NFAT du cytoplasme vers le noyau. IP_3 entraîne une sortie rapide de Ca^{2+} du réticulum endoplasmique en ouvrant les canaux à Ca^{2+} dans la membrane cellulaire ce qui entraîne une augmentation du Ca^{2+} intracytoplasmique et activation de la calcineurine dépendante du

Ca^{2+} . Activation de la calcineurine qui est une phosphatase dépendant du Ca^{2+} , Ce dernier se lie à la protéine calmoduline formant un complexe calcium-calmoduline (Ca^{2+} -CaM). La calcineurine est activée retire un groupe phosphate à NFAT, ce qui permet à ce facteur de transcription de se transférer dans le noyau, pour activer la transcription de plusieurs gènes nécessaires à l'expression des cytokines pour la prolifération des lymphocytes T, comme L'IL2, L'IL4. (Figure 52).

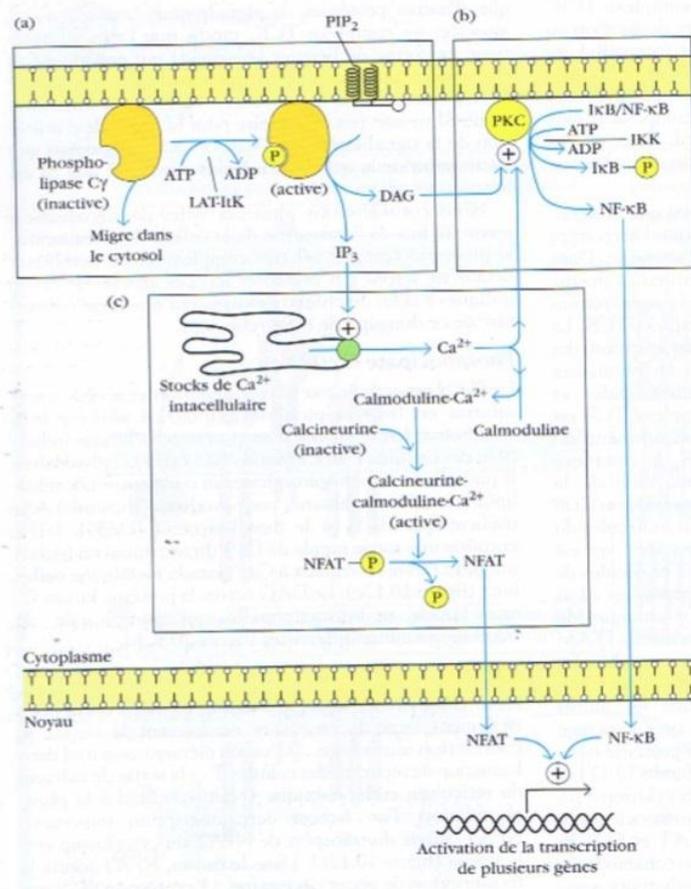


Figure 52 : Voies de transduction du signal associées à l'activation des cellules T.

3.3 Protéine kinase C

La production de DAG par PLCγ aboutit à l'activation de la protéine kinase C (PKC). Cette activation mène à la translocation de PKC au niveau des radeaux lipidiques, où l'enzyme induit une cascade d'événements menant à l'activité du facteur de transcription le NF-κB.

3.4 La voie Ras

Ras est un composant central de la voie de transduction du signal, ras sont toutes de petites protéines G, dont l'activation par GTP (guanine, Triphosphate est un donneur de phosphate) amorce une cascade de protéine kinases.

L'action des facteurs GEFs spécifiques (guanine nucléotide exchange factors) qui catalysent l'échange de GDP en GTP, Ras activée entraîne une cascade de réactions effectuées qui aboutissent à la production accrue du facteur de transcription AP-1 (activator protein-

1) essentiel pour l'activation des cellules T, et B. AP-1 protéine activatrice impliqué dans la régulation de l'expression de gènes impliqués dans la réponse à divers stimuli, comme les cytokines, facteurs de croissances, stress et infection virales ou bactériennes. Ras activée entraîne une cascade de réaction qui aboutissent à la production accrue du facteur de transcription Fos.

Après leur phosphorylation, Fos et Jun se dimérisent pour constituer le facteur de transcription AP-1. Ce dernier contrôle, divers processus cellulaires comprenant la différenciation, la prolifération et l'apoptose. (Figure 53).

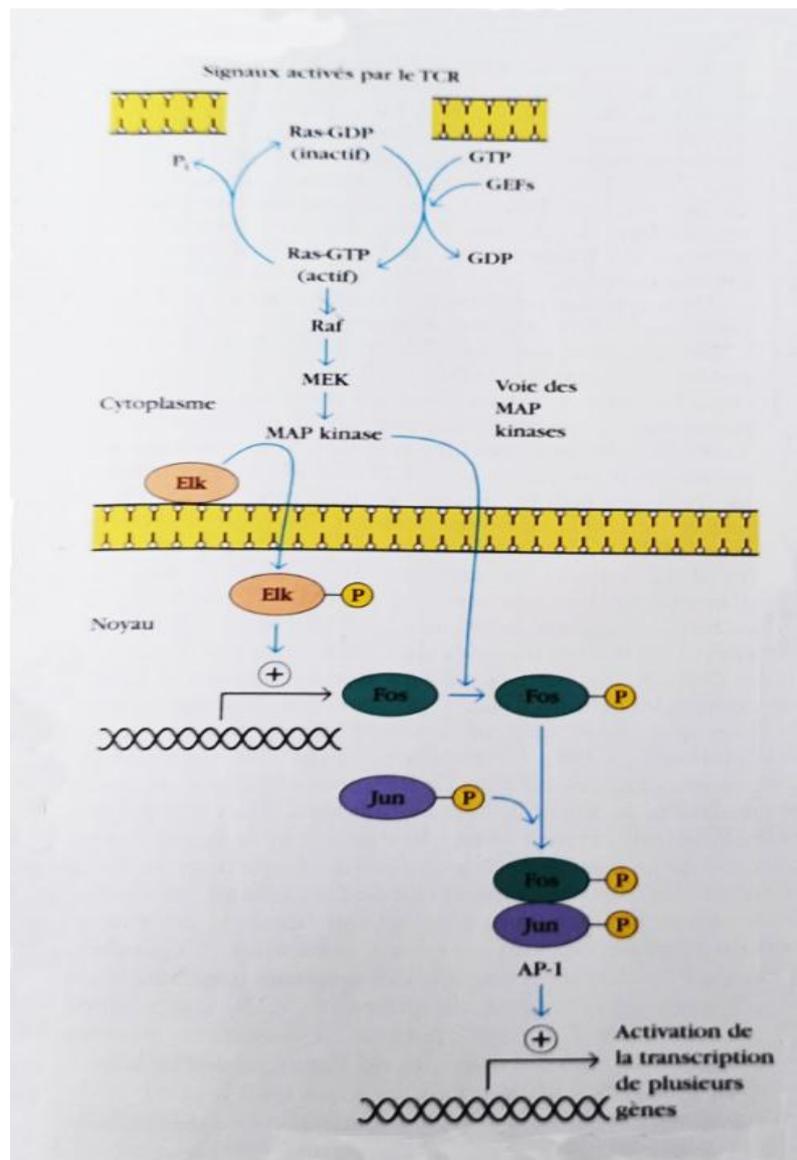


Figure 53 : Activation de la petite protéine G Ras.

4. Le corécepteur des cellules B

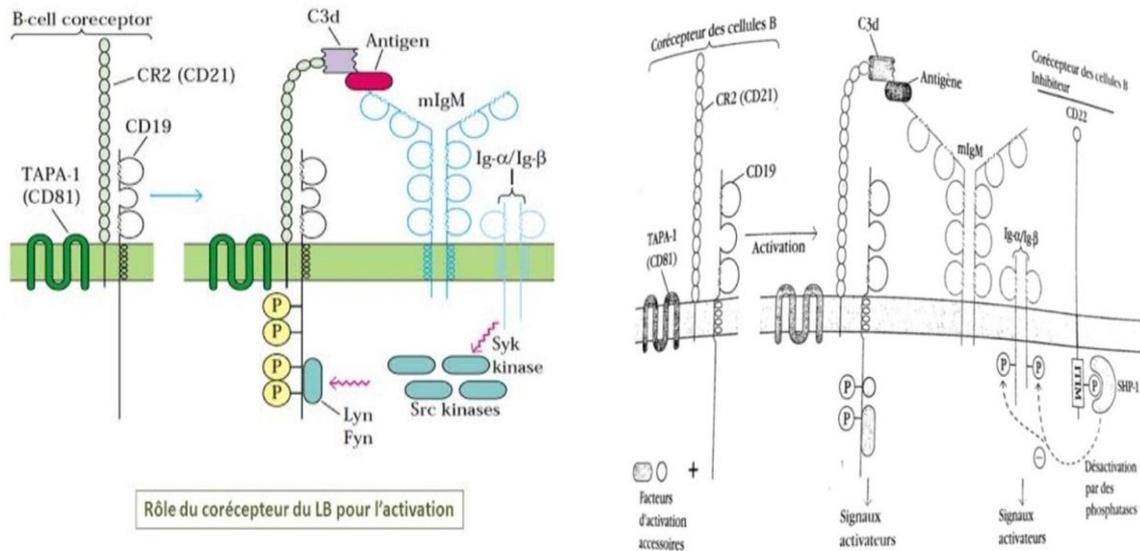


Figure 54 : Le corécepteur des cellules B.

Le corécepteur des cellules B est un complexe de trois protéines : CD19, le CR2 (CD21) et TAPA-1 (CD81). Comme le montre la figure ci-dessus ;

- Le CD19 est une protéine clé de ce complexe et a une longue queue cytoplasmique qui fournit des sites d'ancrage pour les molécules qui augmentent les signaux délivrés par les BCR. Le CD19 contient six résidus tyrosine dans sa longue queue cytoplasmique et il est un substrat majeur de l'activité des tyrosine protéine kinases, induite par la liaison du BCR ; la phosphorylation du CD19 lui permet de fixer de nombreuses molécules de signalisation, y compris la tyrosine protéine kinase lyn. La phosphorylation et l'association du composant CD19 avec le BCR délivrent des signaux de stimulation supplémentaires pour l'activation des cellules B.
- Le composant CR2 est un récepteur du C3d produit de dégradation du système du complément. Ce composant CR2 du complexe du corécepteur se lie à l'antigène associé au complément qui a été capté par la mIg de la cellule B. ceci établit une liaison entre le corécepteur et le BCR et permet au composant CD19 du corécepteur d'interagir avec les chaînes Ig α / Ig β du complexe.
- TAPA-1(CD81) transmet des événements de transduction impliqués dans la croissance, le développement et la mobilité cellulaire.
- La molécule CD22, contient un ITIM (de immunorecepteur tyrosine inhibitory motif) qui porte un site d'ancrage pour SHp-1, une tyrosine phosphatase qui délivre des signaux inhibiteurs en déphosphorylant les tyrosines du BCR. (Constitutivement

associée au BCR peut agir comme un régulateur négatif de l'activation des lymphocytes B). (Figure 54).

4.1. Principaux marqueurs de surface du LB

- **CD19**:B (100%), c'est le meilleur marqueur des LB (identification et numération de ces cellules). Il est exprimé très tôt au cours de la différenciation pour disparaître au stade de plasmocyte.
- **CD20** : B (à partir de stade pré-B).
- **CD21** : transmission d'un signal de Co-stimulation, conduisant à une protection vis à vis de l'apoptose des LB, et à une hyper expression des CD80, CD86, CD23
- **CD 23** : (FcεR-IIa), molécule de prolifération des LB activés.
- **CD40** : intervient dans l'interaction LT-LB en se liant à son ligand CD40 ligand.Cette interaction est nécessaire pour la commutation isotypique (Switch) aboutissant à la synthèse d'IgG, IgA, IgE.

À retenir

- Les lymphocytes B sont issus des progéniteurs hématopoïétiques et se différencient dans la moelle osseuse.
- Le réarrangement aléatoire des gènes codant pour la partie variable des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines s'effectue dans la moelle osseuse et aboutit à la constitution d'un récepteur B pour l'antigène (BCR) spécifique pour chaque lymphocyte B.
- Les étapes de recombinaisons somatiques des gènes des immunoglobulines sont indépendantes de l'antigène.
- Cette recombinaison repose sur l'expression de complexes enzymatiques spécifiques de la lignée lymphoïde, les protéines RAG1/2.
- L'ensemble des réarrangements productifs des gènes des immunoglobulines constitue le répertoire B, sélectionné pour éliminer les clones autoréactifs.
- Les lymphocytes B naïfs sortent de la moelle osseuse et gagnent les organes lymphoïdes secondaires.

4. Complexe du récepteur des cellules T : TCR-CD3

Comme il a été discuté, l'immunoglobuline membranaire des cellules s'associe à une protéine membranaire, l'hétérodimère Ig- α /Ig- β , pour former le récepteur de l'antigène des cellules B. de même, le récepteur des cellules T s'associe au CD3 pour former le complexe membranaire TCR-CD3. Dans les deux cas, la molécule accessoire participe à la transduction du signal après l'interaction d'une cellule B ou d'une cellule T avec l'antigène. Des expérimentations ultérieures ont démontré que non seulement le CD3 est étroitement associé à l'hétérodimère $\alpha\beta$, mais aussi que son expression est nécessaire à l'expression membranaire des récepteurs des cellules T $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$. Ainsi, chaque hétérodimère forme un complexe avec le CD3 sur la membrane des cellules T. Des gènes codant soit le CD3, soit les chaînes du TCR, se traduit par la disparition de tout le complexe moléculaire de la membrane.

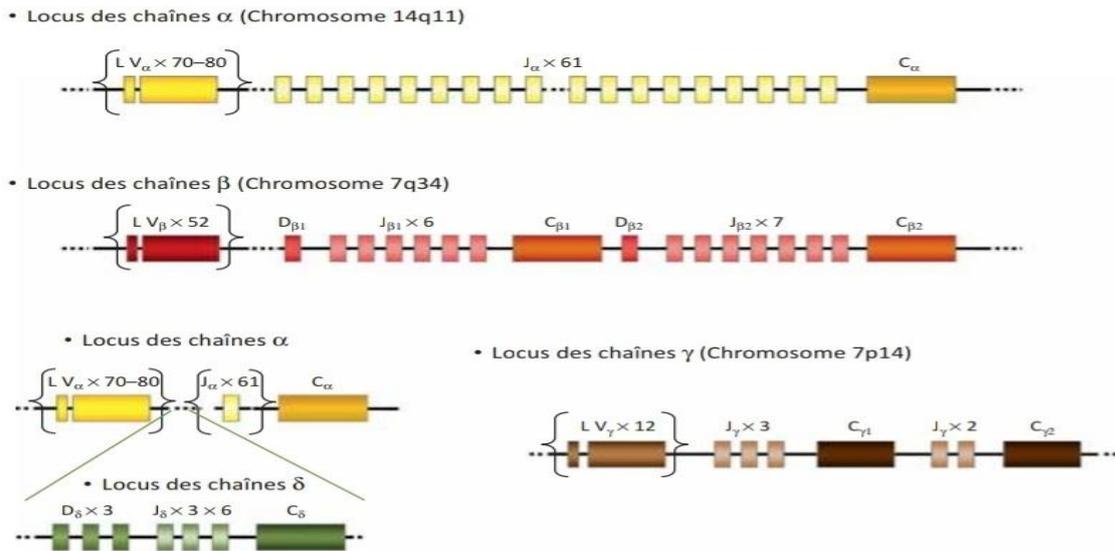


Figure 56 : Réarrangements de type VJ (chaîne α et γ) ou DJ puis VDJ (chaînes β et δ) au cours de la différenciation des thymocytes.

Ces signaux sont reconnus par le complexe enzymatique de la recombinaise comprenant notamment les enzymes RAG (recombination activating gene) capable de cliver puis de réparer l'ADN. Ceci explique que le déficit congénital en enzymes RAG soit responsable d'un déficit immunitaire touchant les populations lymphocytaires T et B. Les réarrangements des chaînes ont lieu dans un ordre chronologique précis : δ , γ , β et α . Les réarrangements s'accompagnent de l'excision de petits fragments d'ADN qui se retrouvent sous forme épisomale dans le cytoplasme, les TREC (T-cell receptor excision circle). Ainsi le réarrangement productif de la chaîne α induit l'élimination complète du locus de la chaîne δ . La quantification des TRECs dans les lymphocytes T périphériques est utilisée pour apprécier l'activité thymique. Contrairement à ce qui se passe avec les récepteurs B à l'antigène (BCR) les TRC ne peuvent se modifier après rencontre avec l'antigène en périphérie. La taille théorique du répertoire des lymphocytes T $\alpha\beta$ est très grande lorsque l'on tient compte de la diversité germinale (nombre de différents segments V, D et J pour les deux chaînes), des différentes possibilités combinatoires qui en résultent pour chaque chaîne de TCR (réarrangements VJ ou VDJ), des différentes possibilités combinatoires entre chaînes et enfin de la diversité jonctionnelle (imprécision des processus de réparation après coupure aboutissant à la délétion ou l'addition aléatoires de nucléotides au niveau des boucles les plus variables CDR3) on estime que, par ces mécanismes, 10^{15} TCR différents pourraient être générés. Le nombre de lymphocytes T dans l'organisme est toutefois limité à 10^{12} l'essentiel de la diversité idiotypique des TCR repose sur les parties jonctionnelles qui codent pour les boucles hypervariables CDR3 des chaînes α et β , régions qui interagissent principalement avec les peptides antigéniques. Le domaine variable permet la reconnaissance spécifique de l'antigène. Le domaine variable des TCR possède 3 régions hypervariables (complementary determining region). Alors que la CDR1 et la CDR2 sont codées de façon germinale par les

gènes V, la CDR3 est codée par la juxtaposition des segments V, D et J réarrangés pour former le gène de la chaîne du TCR considérée. (Figure 57).

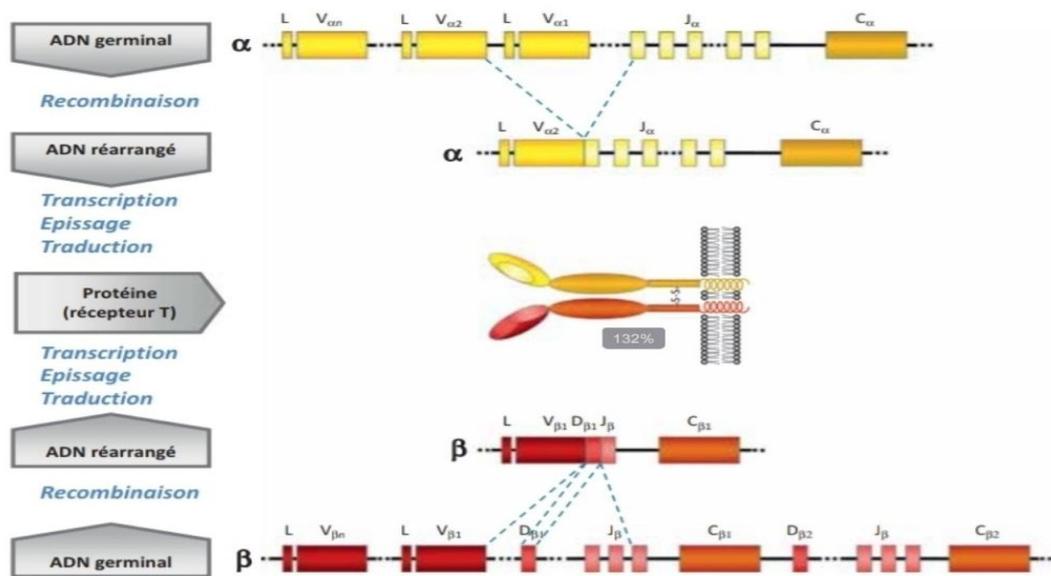


Figure 57 : Mécanismes impliqués dans la diversité des répertoires des BCR et TCR.

5.1. Les sélections thymiques

Les réarrangements des chaînes du TCR conduisent à l'expression de TCR plus ou moins complets à la surface des thymocytes. Ceux-ci permettent la reconnaissance de structures antigéniques présentées par les cellules non thymocytaires indispensables à la délivrance de signaux de survie ou de mort cellulaire. Les thymocytes passent, en fonction de la maturation de leur TCR, par plusieurs étapes durant lesquelles ils reçoivent ce type de signaux, ce sont les étapes de sélection. La finalité de celles-ci est de sélectionner des thymocytes ayant un TCR fonctionnel et non susceptible d'induire des phénomènes d'auto-immunité en périphérie. Les différentes étapes franchies au cours de la différenciation des thymocytes et aboutissant à la production de lymphocytes $\alpha\beta$ sont détaillées ci-après. La β -sélection est la première à survenir au stade DN3 lorsqu'ils ont réarrangé efficacement leur chaîne β , les thymocytes immatures expriment un TCR incomplet appelé pré-TCR correspondant à l'association d'une chaîne β à une chaîne dite pré-T α . Malgré son nom, cette chaîne est très différente d'une chaîne α classique puisqu'elle ne contient pas de domaine variable et elle est donc identique sur tous les thymocytes. Ce pré-TCR 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. Au cours de cette étape de prolifération survient le réarrangement du locus α . En principe, on pourrait donc trouver en circulation des lymphocytes partageant la même chaîne β , mais exprimant des chaînes α différentes.

La sélection positive, a lieu au stade DP lorsque les thymocytes expriment un TCR $\alpha\beta$ potentiellement fonctionnel. Des antigènes du soi sont présentés par les cellules épithéliales corticales aux thymocytes DP. Les thymocytes dont le TCR ne reconnaît pas le complexe CMH-peptide du soi ne reçoivent pas de signal de survie et meurent. L'avidité du TCR pour le

complexe CMH-peptide du soi est ici intermédiaire. Cette étape permet l'élimination des lymphocytes T impropres à collaborer avec les molécules HLA (CMH humain) de l'hôte. En effet, la reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T a toujours lieu dans le contexte du CMH. On parle de « restriction de la reconnaissance de l'antigène par le CMH ».

La sélection négative, contrairement aux deux précédentes, s'accompagne d'une mort des cellules recevant un signal trop intense via le TCR. Elle entraîne ainsi la délétion des thymocytes exprimant un TCR ayant une trop forte affinité pour les antigènes du soi. Les cellules présentant ces antigènes sont ici les cellules dendritiques situées à la jonction cortico-médullaire. Ces cellules captent les antigènes exprimés par les cellules épithéliales médullaires et les présentent via leur CMH aux thymocytes double-positifs DP.

5.2. Les molécules CD4 et CD8

Suite à ces différentes étapes, les thymocytes donnent naissance à des lymphocytes T naïfs simple-positifs (SP) CD4+ ou CD8+, reconnaissant respectivement les molécules du CMH de classe I ou de classe II, et ils quittent le thymus par les vaisseaux de la jonction cortico-médullaire. Les molécules CD4 et CD8 sont des déterminants majeurs des lymphocytes T et permettent de distinguer en périphérie des lymphocytes auxiliaires exprimant la molécule CD4 et des lymphocytes cytotoxiques exprimant la molécule CD8. Ces molécules coréceptrices pour le TCR, également importantes pour distinguer les différents stades de maturation des thymocytes au cours de l'ontogénie, elles appartiennent à la superfamille des immunoglobulines. Les molécules CD4 et CD8 stabilisent l'interaction CMH/TCR en interagissant avec une partie faiblement polymorphe du CMH et participent à la signalisation intracellulaire en recrutant des kinases de type Src, les protéines p56^{lck}.

5.3. L'activation des lymphocytes T naïfs

Les CPA professionnelles sont appelées ainsi car elles sont les seules cellules capables d'activer les lymphocytes T naïfs. L'interaction entre les lymphocytes T naïfs et les CPA professionnelles a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires. Bien que la reconnaissance des complexes antigène-CMH ne soit médiée que par le complexe TCR-CD3, diverses autres molécules membranaires jouent un rôle accessoire important dans la reconnaissance de l'antigène et l'activation des cellules T. Certaines de ces molécules renforcent l'interaction entre les cellules T et les cellules présentatrices de l'antigène ou les ciblent.

(Tableau 05).

Tableau 05 : Quelques molécules accessoires des cellules T.

Non	Ligand	Fonction		Membre de la superfamille des Ig
		Adhésion	Transduction du signal	
CD4	Classe II du CMH	+	+	+
CD8	Classe I du CMH	+	+	+
CD2 (LFA-2)	CD58 (LFA-3)	+	+	+
LFA-1(CD11a/CD18)	ICAM-1(CD54)	+	?	+/-
CD28	B7	?	+	+
CTLA-4	B7	?	+	-
CD45R	CD22	+	+	+
CD5	CD72	?	+	-

LFA-1 : molécule d'adhérence présente à la surface des leucocytes. **LFA-2** (leucocytes fonction ag-3). La synapse immunologique est formée par de nombreuses molécules d'adhésion, telles que **CD2 (LFA-2)**, **ICAM-1**(intercellular cell adhesion molecule-1).

Les cellules T ont plusieurs molécules membranaires accessoires, parmi lesquelles figurent le CD2, Le LFA-1, le CD28 et CD45R qui se fixent indépendamment à d'autres ligands présents sur les cellules présentatrices de l'antigène ou les cellules cibles.

Une fois qu'un contact cellule-cellule a été réalisé par l'intermédiaire des molécules d'adhésion, le récepteur des cellules T peut explorer la membrane à la recherche de complexes peptide-CMH. Lors de l'activation d'une cellule T par un complexe particulier peptide-CMH, il y a une augmentation transitoire de l'expression des molécules membranaires accessoires (par exemple, CD2, LFA-1), ce qui provoque un contact plus étroit entre les cellules entrant en interaction et qui permet aux cytokines ou aux substances cytotoxiques d'être transférées plus efficacement. Peu après l'activation, le degré d'adhésion diminue et la cellule T se détache de la cellule présentatrice de l'antigène ou de la cellule cible. (Figure 58).

5.4. Des signaux de costimulation

L'activation des cellules T par contact avec l'antigène présenté sur la membrane d'une APC résulte l'interaction dynamique de multiples molécules membranaires qui crée les signaux intracellulaires nécessaires. La cellule T naïve nécessite 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 autres ligands présents sur les cellules présentatrices de l'antigène ou les cellules cibles.

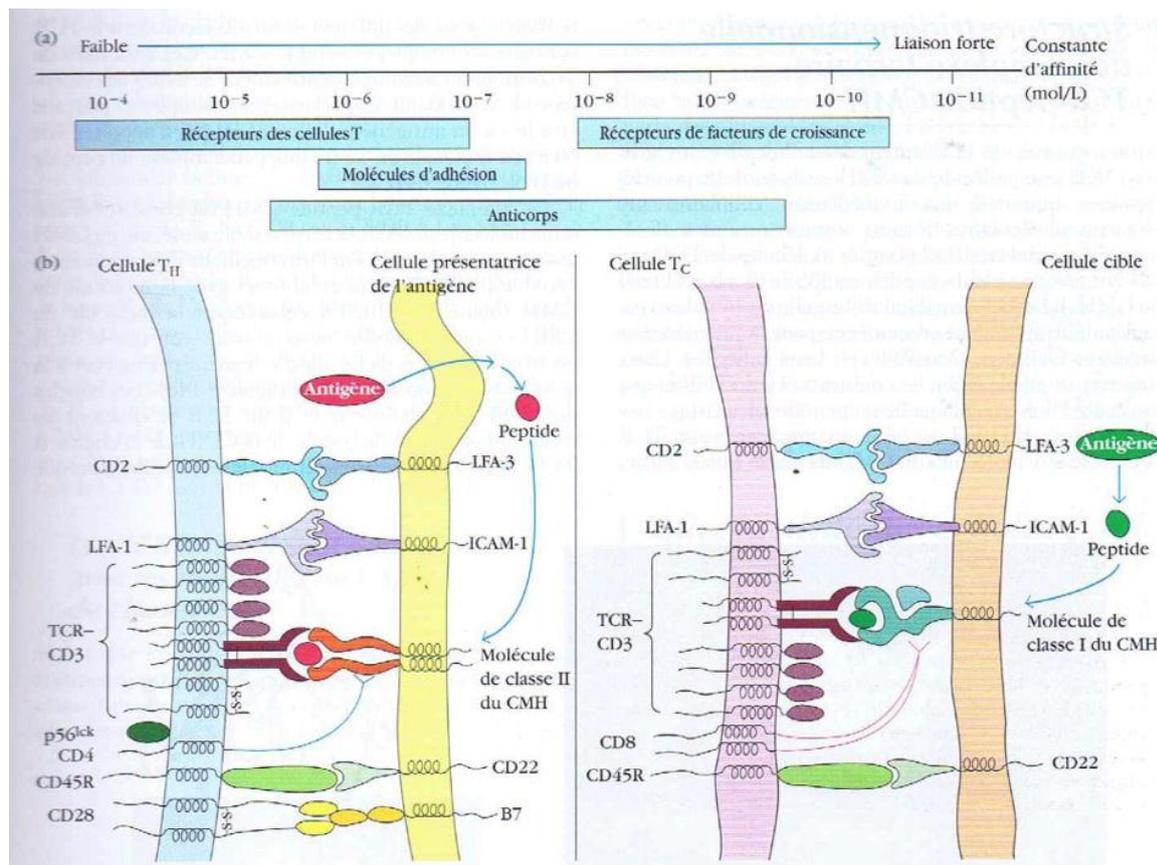


Figure 58 : L'activation des cellules TH nécessite un signal de costimulation apporté par les cellules présentatrices de l'antigène.

5.4.1. Le premier signal

Cette interaction entre le TCR et le complexe peptide-CMH du soi ou premier signal de l'activation du lymphocyte T en assure la spécificité. Il faut noter que l'interaction TCR/complexe peptide-CMH doit être prolongée et de forte intensité pour être efficace dans l'activation du lymphocyte T naïf. L'affinité entre le paratope du TCR et l'épitope présent dans le sillon de la molécule du CMH joue un rôle majeur dans la stabilité de cette liaison, renforcée par la liaison des corécepteurs CD4 et CD8 aux molécules du CMH de classe II ou de classe I respectivement. D'autres molécules telles que les molécules d'adhésion CD2 et LFA-1 vont également favoriser l'interaction CPA/lymphocyte T naïf et prolonger la durée du premier signal. Une réorganisation du cytosquelette permet alors la formation d'une zone élargie de contact étroit entre le lymphocyte T et la CPA, la synapse immunologique. Les lymphocytes T circulent dans la zone T des organes lymphoïdes secondaires en recrutant les complexes peptide-CMH exposés à la surface des cellules dendritiques. Si leur TCR est complémentaire d'un de ces complexes, la reconnaissance spécifique qui en résulte déclenche un premier signal d'activation qui va arrêter le déplacement du lymphocyte T et engager la formation d'une structure de contact privilégié avec la cellule dendritique appelée synapse immunologique. Le TCR et la molécule de costimulation CD28 sont positionnés au centre de la synapse. La présence d'un signal 2 apporté par la liaison de CD28 aux molécules CD80 et CD86 exprimées par les cellules dendritiques activées est en effet indispensable et une boucle

positive d'activation complète du lymphocyte T naïf. Pour ce faire, la signalisation TCR/CD28 induit également l'expression plus tardive de la molécule CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte Antigen, CD152) qui se lie à CD80/86 avec une plus forte affinité que CD28 ; la résultante est un signal d'inhibition de la boucle positive d'activation. (Figure 59).

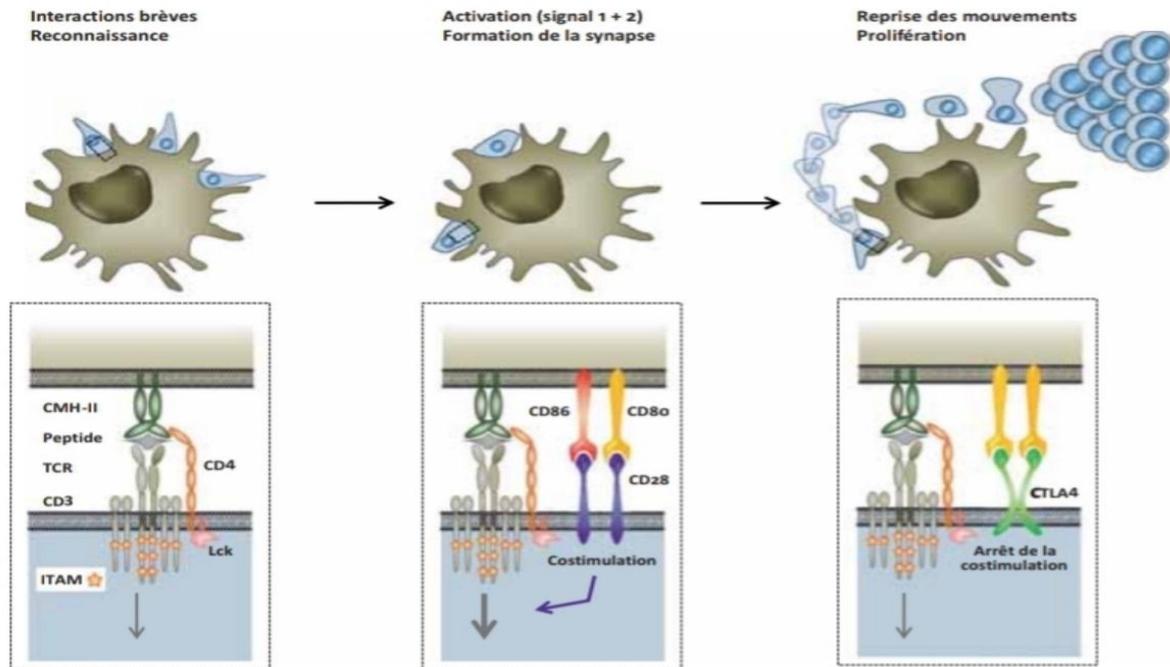


Figure 59 : Représentation schématique de l'interaction entre la cellule dendritique présentatrice d'antigène et le lymphocyte T naïf lors d'une activation Spécifique d'antigène.

5.4.2. Le deuxième signal

Un deuxième signal est nécessaire pour poursuivre cette activation spécifique de l'antigène. Ce signal de Co stimulation est indispensable pour protéger les cellules T d'une anergie ou d'une apoptose précoce qui intervient en son absence. Les molécules B7, B7-1(CD80) sont de 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(CD80) et le B7-2(CD86). Les deux molécules ont une organisation semblable de leurs domaines extracellulaires, mais des domaines cytosoliques considérablement différents. Les deux molécules B7 sont exprimées constitutivement sur les cellules dendritiques et induites sur les macrophages activés et les cellules B activées. Les ligands des B7 sont le CD 28 et le CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen connu aussi sous le nom de CD125), exprimés tous deux sur la membrane des cellules T sous forme d'homodimère unis par la 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 le CD28 délivre un signal de costimulation positif à la cellule T, mais le signal passant par le CTLA-4 est inhibiteur et régule négativement l'activation de la cellule T. Le CD28 est exprimé par

les cellules T au repos et les cellules T activées, mais le CTLA-4 est pratiquement indétectable sur les cellules au repos. (Figure 60).

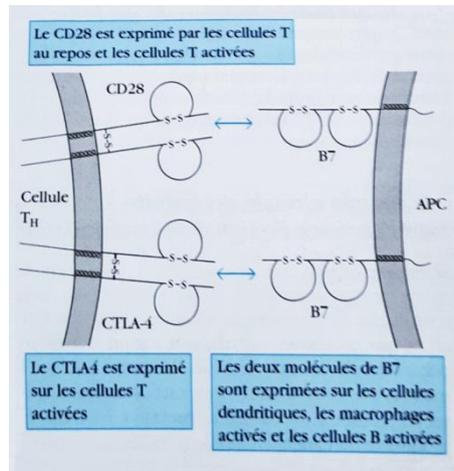


Figure 60 : L'activation des cellules Th nécessite un signal de costimulation apporté par les cellules présentatrices de l'antigène. (APC).

L'engagement du TCR provoque l'induction de l'expression du CTLA-4 et ce dernier est facilement détectable dans les 24h qui suivent la stimulation, avec une expression maximale dans les 2 à 3 jours qui suivent cette stimulation. Même si les taux des pics de CTLA-4 sont plus faibles que ceux du CD28, le CTLA-4 est encore en position favorable dans la compétition pour les molécules B7 parce qu'il a une activité significativement plus grande pour ces molécules que le CD28.

Il est intéressant de remarquer que le taux de l'expression du CTLA-4 est augmenté par les signaux de costimulation créés par le CD28. Cela apporte un feedback de régulation qui applique efficacement le freinage par le CTLA-4 proportionnellement à l'accélération reçue du CD28. L'importance du CTLA-4 dans la régulation et l'activation et la prolifération des lymphocytes est mise en évidence par des expériences effectuées avec des souris knock-out de CTLA-4, homozygotes pour des mutations nulles dans le gène du CTLA-4. Chez ces souris knock-out, les cellules T prolifèrent massivement, ce qui conduit à une lymphadénopathie (ganglions lymphatiques largement augmentés), à une splénomégalie (grosse rate) et à la mort dans les 3 ou 4 semaines qui suivent la naissance. Manifestement, la production de signaux d'inhibition par l'engagement du CTLA-4 est importante dans l'homéostasie des lymphocytes.

5.4.3. Le troisième signal

Un « troisième signal » intervient : il est donné par des cytokines présentes dans le micro-environnement des ganglions lymphatiques. Ces cytokines sont majoritairement produites par les cellules dendritiques mais aussi par les autres cellules immunitaires dans le voisinage. Ces cytokines vont participer à la différenciation fonctionnelle des lymphocytes T CD4.

Ainsi, après reconnaissance de l'antigène et activation, les lymphocytes T CD4+ prolifèrent, et une partie des clones activés deviennent lymphocytes effecteurs ou auxiliaires (en anglais T helper, Th) ou bien dans certaines conditions des lymphocytes T à activité régulatrice (T régulateurs). Les lymphocytes T CD4 activés présentent ainsi une hétérogénéité fonctionnelle: ils sécrètent des répertoires de cytokines différents ; recrutent et activent certaines cellules de l'immunité innée ; peuvent favoriser l'activation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques et des lymphocytes B spécifiques de l'antigène. (Figure 61).

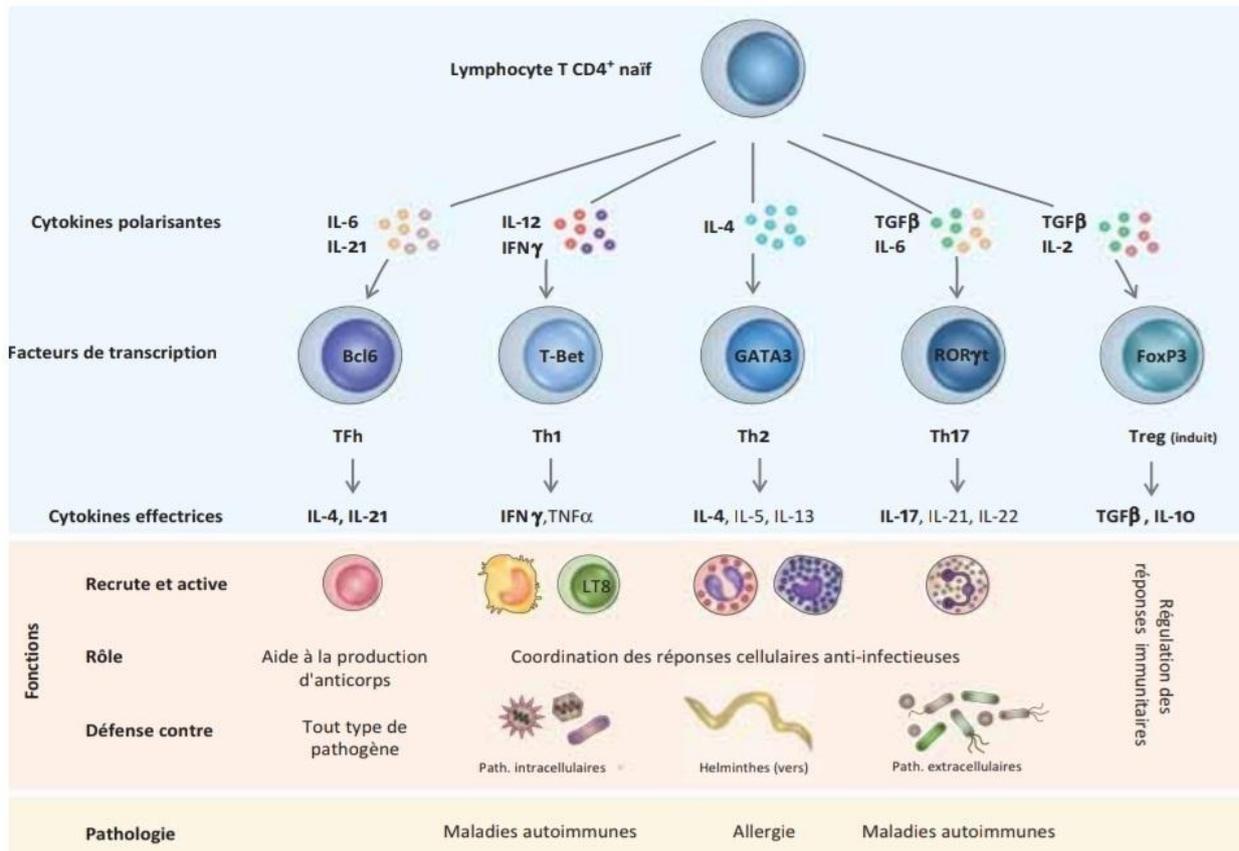


Figure 61 : Polarisation et fonctions des lymphocytes T CD4 +.

5.4.4. Signalisation intra-cellulaire après reconnaissance de l'antigène par le TCR.

Après liaison entre le complexe CMH-peptide et le TCR, le co-récepteur (ici CD4, qui reconnaît une région non polymorphe du CMH) est rapproché physiquement du complexe TCR/CD3. CD4 est associé à une tyrosine kinase, Lck, qui est dans un état inactif par la présence d'un résidu phosphate. Ce résidu va être retiré par une phosphatase transmembranaire, CD45, activant ainsi Lck et une autre kinase de tyrosines, Fyn (1). Ces kinases de tyrosines vont alors phosphoryler les motifs ITAM des chaînes du CD3 (2).

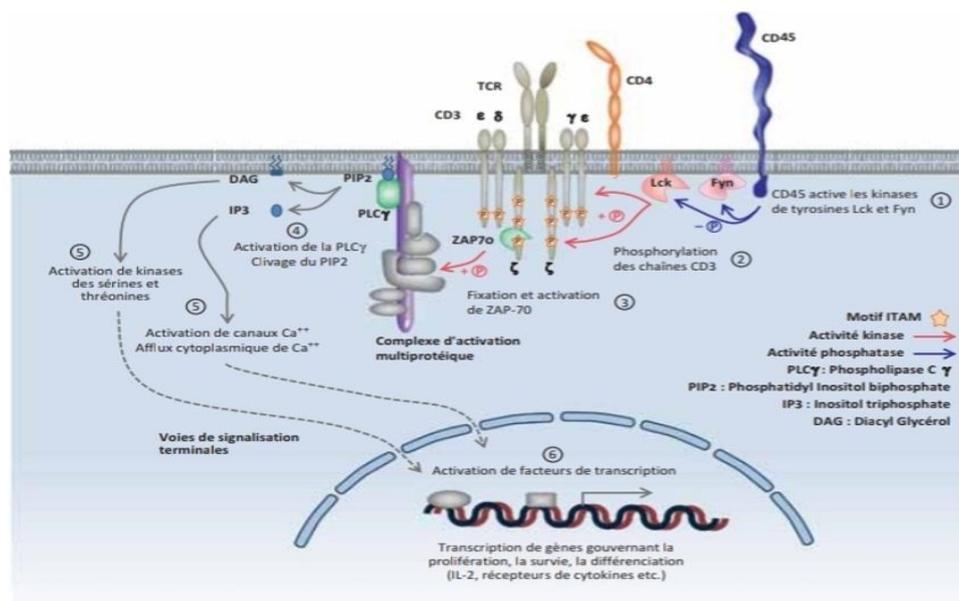


Figure 62 : La signalisation intracellulaire après reconnaissance de l'antigène par le TCR.

Ceci permet le recrutement et la phosphorylation d'une autre kinase de tyrosines, ZAP-70 (3), qui peut alors à son tour activer un complexe d'activation multiprotéique, rassemblant d'autres protéines importantes pour la signalisation de l'activation. ZAP-70 et fyn activent la phospholipase C (PLC γ), qui à son tour clive un phospholipide membranaire, le phosphatidylinositol biphosphate (PIP₂) (4) pour générer du diacylglycérol (DAG) et de l'inositol triphosphate (IP₃), responsables de l'activation de kinases des sérines et thréonines (5) et de l'augmentation du calcium intra-cellulaire (5).

L'augmentation du calcium résulte dans l'activation d'une phosphatase, la calcineurine, qui dephosphoryle le facteur de transcription NFAT. DAG active la protéine Ras qui à son tour active le facteur de transcription AP1.

Une autre action de DAG est d'activer la kinase PKC θ , qui induit l'activation et la translocation nucléaire d'un autre facteur de transcription, NF- κ B. Cette activation de facteurs de transcription (6) est responsable de la transduction de gènes gouvernant la survie et les fonctions du lymphocyte T activé. (Figure 62).

5.5. L'anergie clonale

La reconnaissance par une cellule d'un complexe peptide antigénique-CMH à la surface d'une cellule présentatrice de l'antigène se traduit, soit par une activation et expansion clonale, soit par un état de non réponse appelé anergie clonale.

L'anergie est un état d'inactivation marqué par l'incapacité des cellules à proliférer en réponse à un complexe peptide-CMH. L'expansion clonale ou l'anergie clonale sont déterminées par la présence ou l'absence d'un signal de costimulation (signal 2), tel que celui produit par l'interaction du CD28 des cellules T et du B7 des cellules présentatrices de l'antigène.

Des expérimentations effectuées avec des cellules en culture ont montré que lorsqu'une cellule T au repos reçoit le signal Médie par le TCR (signal 1), en l'absence d'un signal de costimulation approprié, la cellule T devient alors anergique.

6. L'interaction CD40/CD40L

Une fois qu'une cellule TH a reconnu un peptide antigénique apprêté présenté par une molécule la classe II du CMH sur la membrane d'une cellule B, les deux cellules entrent en interaction pour former un conjugué T-B (signal1).

Cette formation ne conduit pas uniquement à la libération directionnelles 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 essentiel, à l'activation des cellules B dépendantes des cellules T.

Les cellules B naïves expriment la glycoprotéine membranaire CD40, qui appartient à la famille des facteurs de nécrose tumorale (TNF) des protéines de la surface cellulaire et des cytokines solubles qui régulent la prolifération cellulaire et la mort cellulaire programmée par apoptose.

Le CD40 appartient à la famille des récepteurs des facteurs de nécrose tumorale (TNFR). L'interaction du CD40 L et du CD40 de la cellule B délivre un signal (signal 2) à la cellule B qui de concert avec le signal crée par les liaisons croisées entre les mIg (signal1) amène la cellule B à proliférer et à se différencier.

Des études ont montré que, bien que la liaison du CD40 avec son ligand exprimé par les cellules T, CD40 L, soit 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 des seconds messagers IP₃et DAG.la liaison du CD40 conduit aussi à son association à des membres de la famille des facteurs de nécrose associés au TNFR.

Une conséquence de cette interaction est l'activation du facteur de transcription : NF-KB.

Donc l'interaction CD40/ CD40 L est nécessaire à la survie des cellules B, la génération de populations de cellules à mémoire. Par contre la molécule membranaire CD22 peut agir

comme un récepteur négatif de l'activation des lymphocytes B ; des tyrosines protéine phosphatases ancrées aux ITAMS de la queue cytoplasmiques du CD22 contribuent à désactiver le signal du complexe associé au BCR en enlevant les phosphates ajoutés par les tyrosines kinases activatrices.

6.1. Les événements de l'activation des cellules B

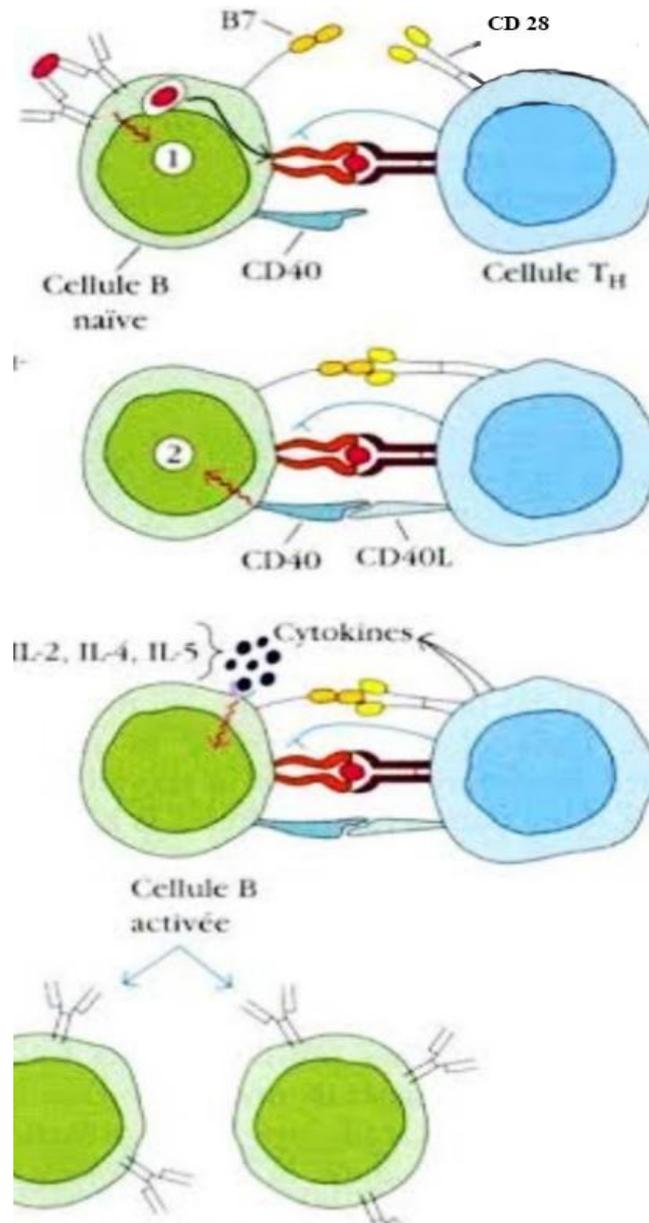


Figure 63 : Séquence des événements de l'activation des cellules B.

a)-L'antigène lie plusieurs mIg, générant un signal 1 qui conduit à une augmentation d'expression au CMH de classe II et commence à présenter des protéines B7 (CD80-CD86), les plus puissants agents de costimulation à la surface de leur membrane la liaison de B7 au

récepteur CD28 d'un lymphocyte est un signal de costimulation crucial, surtout pour les lymphocytes TH.

Les complexes Ag- Ac sont internalisés par endocytose et dégradés en peptides se lient au CMH classe II et sont présentés à la membrane sous forme de complexes CMH- peptides.

(b)- La cellule TH reconnaît le complexe CMH- peptide de classe II sur la membrane de la Cellule B.

©- Ceci plus le signal de costimulation active la cellule TH.

1- La cellule TH commence à exprimer le CD40L.

2- L'interaction du CD40 et CD40L donne le signal 2.

3- L'interaction B7-CD28 apporte une costimulation la cellule TH.

(d)-1-La Cellule B commence à exprimer les récepteurs diverses cytokines.

2-Les cytokines libérées par la cellule TH sont également des agents de costimulation emmènent progressivement la cellule B à proliférer et se différencier. (Figure 63).

Conclusion

L'activation par les tyrosines protéine kinases membranaires :

Les PTKS associées au récepteur ($PC6^{LCK}$ pour les cellules T et Lyn, BLK et Fyn pour les cellules B) catalysent les phosphorylations lors des phases initiales de la transduction du signal, essentielles à la formation d'un complexe de signalisation fonctionnel.

L'assemblage d'un gros complexe de signalisation doué d'une activité tyrosine protéine kinase : les tyrosines phosphorylées des ITAM du BCR et du TCR fournissent des sites d'ancrage pour les molécules qui dotent ces récepteurs d'une activité PTK ; ZAP-70 pour les cellules T et syk pour les cellules B, les protéines adaptatrices, BLNK pour les cellules B, LAT et SLP-76 pour les cellules T, jouent un rôle similaire en établissant un échafaudage pour l'association d'éléments essentiels au complexe de signalisation.

Le recrutement d'autres voies de signalisation :

L'activation des cellules B et T requiert l'activation coordonnée de beaucoup de voies de signalisation différentes.

Des changements dans l'expression des gènes :

L'une de plus importante conséquences des nombreux processus de transduction du signal mis en mouvement par l'engagement du BCR ou du TCR est la génération ou la translocation vers le noyau de facteur de transcription actifs qui stimulent ou inhibent la transcription des gènes spécifiques.