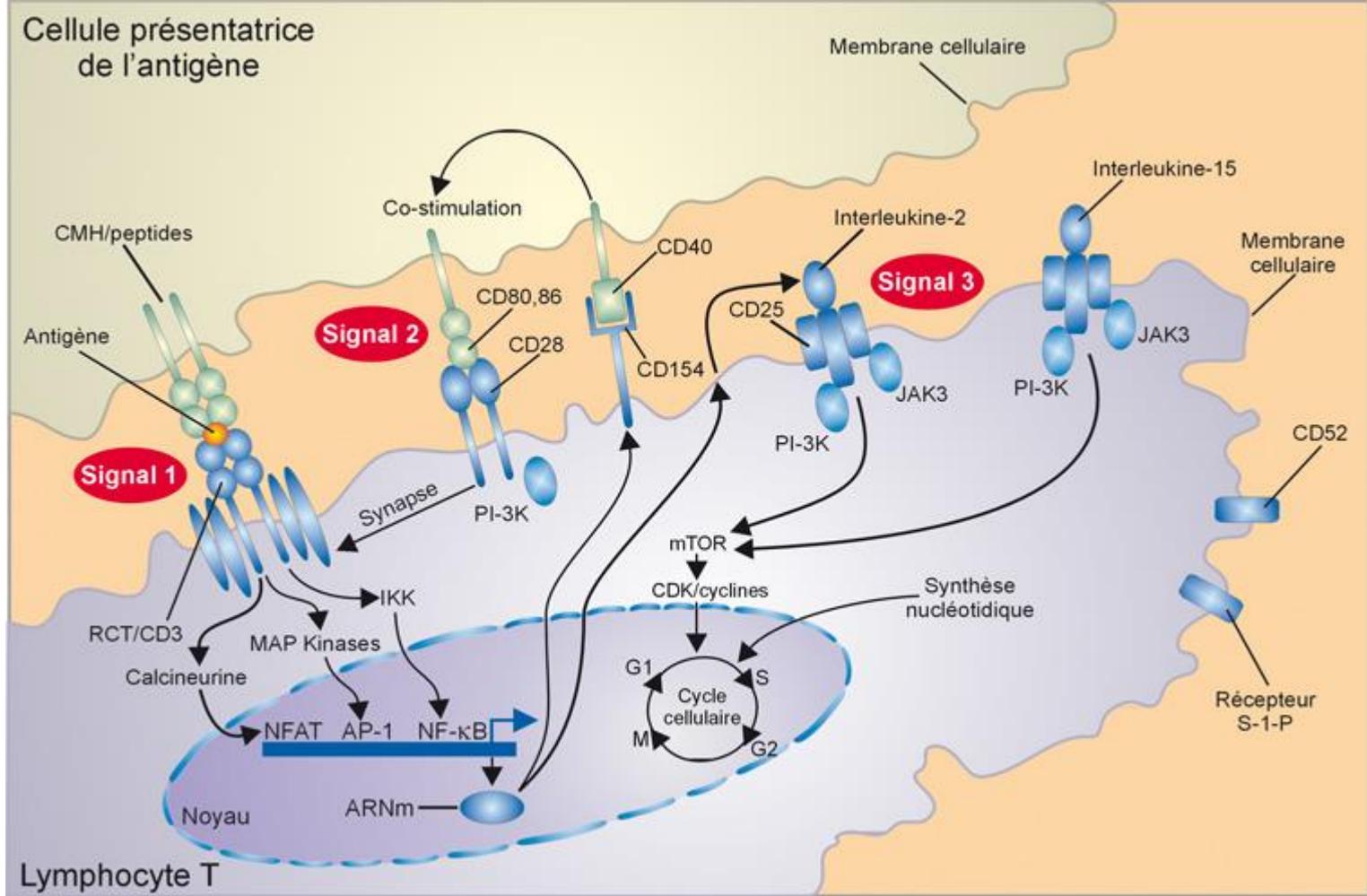


. Activation des lymphocytes
(T et B).

I) Activation des lymphocytes

- l'activation des lymphocytes est la conséquence de leur interaction avec un pathogène antigénique, directement pour les lymphocytes B et via la présentation par une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) pour les lymphocytes T. Les antigènes sont reconnus par différentes structures caractéristiques présentes à leur surfaces, on parle d'**épitope**.
- Cette activation permet ainsi aux lymphocytes de passer d'un stade **mature naïf** à un stade **mature activé** qui correspondra aux lymphocytes T cytotoxiques, lymphocytes T auxiliaires (ou lymphocytes « helper »), plasmocytes et cellules mémoires. Les signaux d'activation permettront l'activation de **facteurs de transcription** et ainsi l'expression de nouvelles molécules indispensables aux cellules matures activées, entre autre pour leur prolifération.



- La réponse lymphocytaire observée dépendra de la manière dont la cellule intègre au niveau de ces voies de transduction les divers signaux de stimulation qu'elle reçoit.

Récepteurs impliqués dans la transduction des signaux d'activation

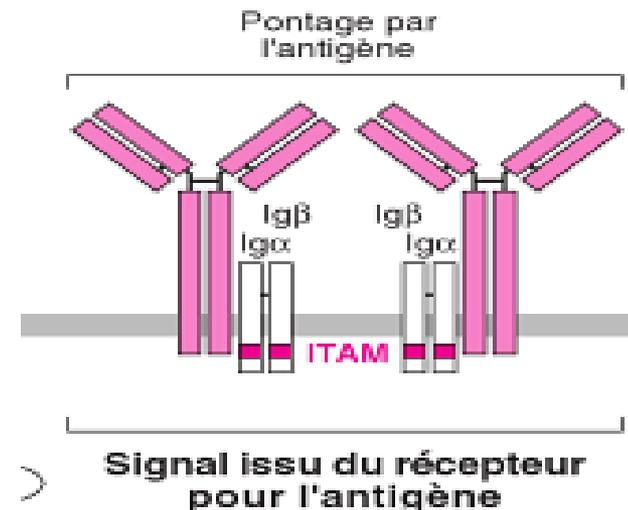
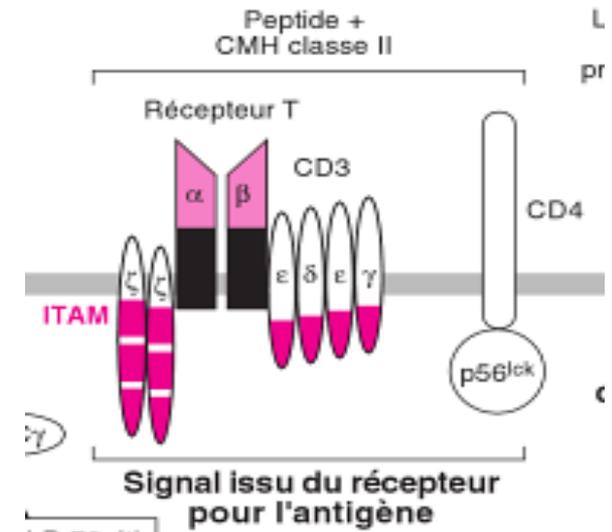
- L'activation par l'antigène de LB ou LT naifs met en jeu deux types de signaux intracellulaires
- Le 1^{er} est transmis par les complexes moléculaires formés par les récepteurs à l'Ag (BCR et TCR/CD3). Ce signal est à lui seul insuffisant pour déclencher l'activation.
- Le 2nd signal est appelé signal de costimulation.

-Le récepteur pour l'Ag impliqué dans l'activation lymphocytaire

- Le récepteur pour l'Ag des LB et LT est un complexe multimérique qui comprend un élément de reconnaissance (BCR et TCR) et un élément de transduction de signal.
- L'élément de reconnaissance est constitué de glycoprotéines membranaires dont la partie intracellulaire est extrêmement courte et dépourvue de résidus leur permettant d'interagir avec les enzymes intracellulaires impliqués dans les voies d'activation. En revanche, les glycoprotéines membranaires Ig alpha et Ig beta, associées au récepteur B, ainsi que celles qui constituent le complexe moléculaire CD3, associé au récepteur T sont pourvues au niveau de leur portion intracytoplasmique de séquences spécialisées dénomées ITAM (immunoreceptor tyrosine activation motifs)

Les ITAMs et l'activation lymphocytaire

- L'activation lymphocytaire induit la **phosphorylation** des ITAM, permettant leur liaison à certains **kinases** intracytoplasmiques qui peuvent être à leur tour **phosphorylées** et **activées**



Les facteurs de transcription

- Ces enzymes activées vont à leur tour agir sur des protéines intracytoplasmiques, appelées facteurs de transcription, qui ont la capacité de fixer l'ADN, et plus précisément les séquences régulatrices ou promoteurs des gènes.
- Certains facteurs de transcription existent sous forme de complexes inactifs dans le cytoplasme (NFkB, NFAT-1) qui après activation sont transportés ou transloqués dans le noyau , où ils pourront exercer leur activité.

ACTIVATION DES LT

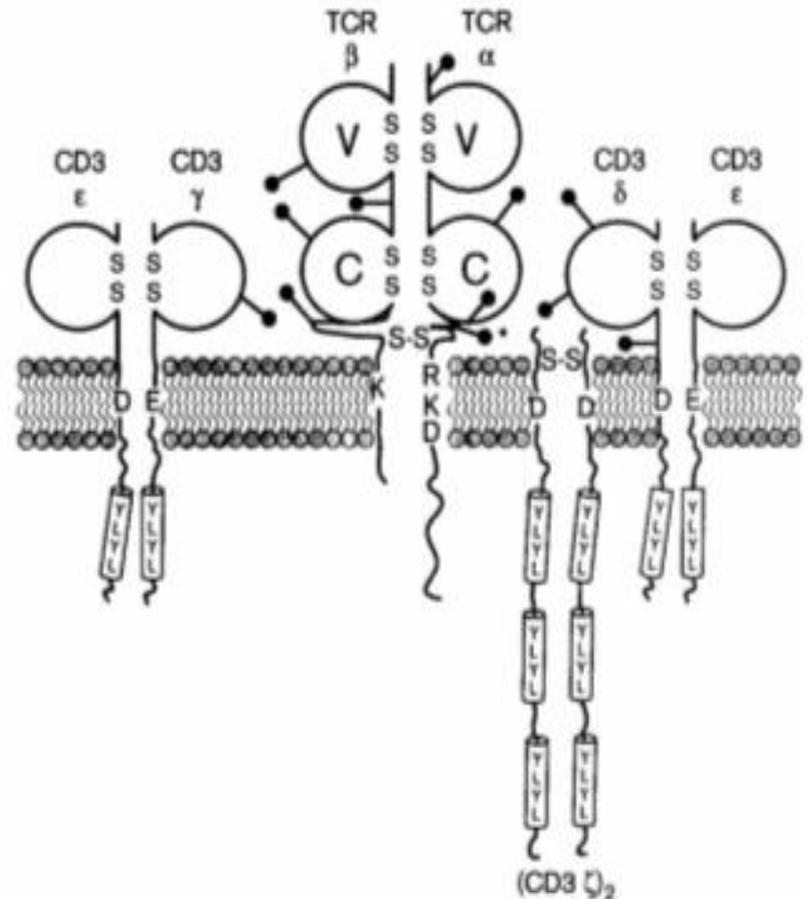
ONTOGENESE secondaire

- Au niveau des lymphocytes T, le fragment antigénique présenté par la molécule du CMH est reconnu par le TCR. Il est important de préciser que le fragment antigénique reconnu par le TCR est obligatoirement de nature peptidique.

Le TCR

- Le TCR est un hétérodimère constitué de deux chaînes polypeptidiques (Figure 1). Ces chaînes, désignées α et β , sont liées l'une à l'autre de façon covalente par des ponts disulfures.

Figure 1 Structure du TCR.



TCR/ Complex CD3

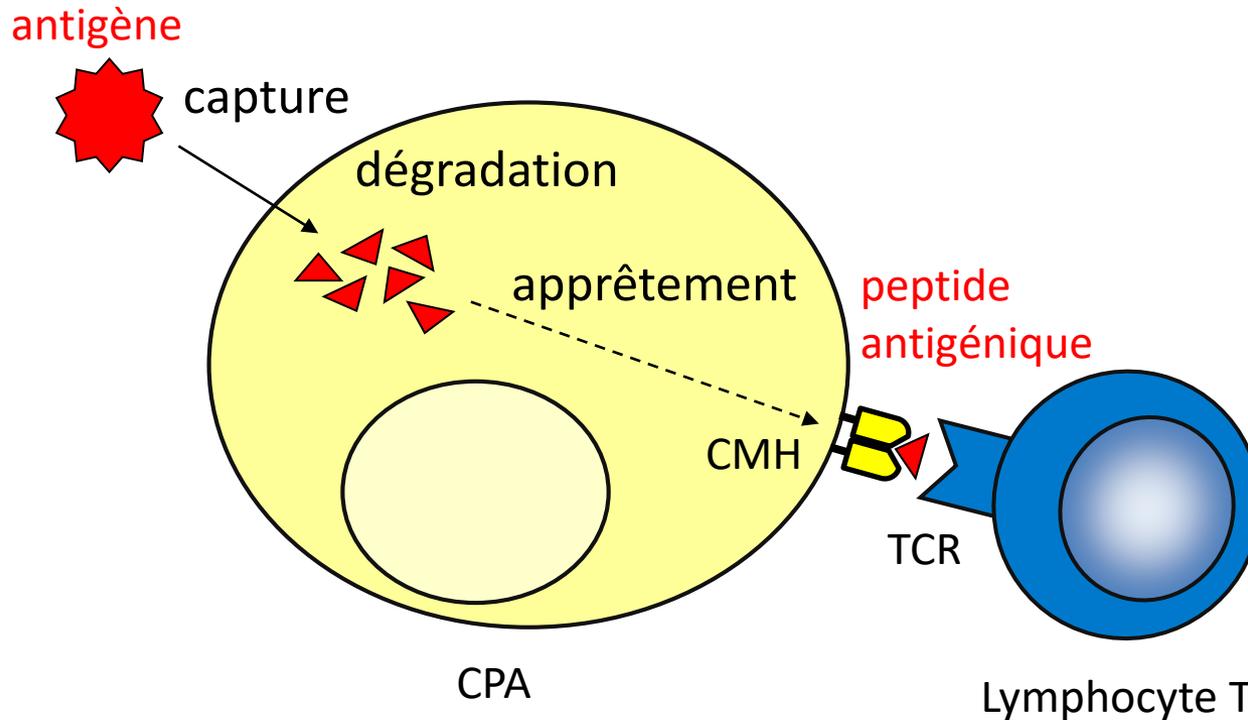
- La région cytoplasmique du TCR étant trop courte pour permettre la transduction de signaux intrinsèques, d'autres molécules s'associent physiquement au TCR et sont requises pour assurer les fonctions de transduction de signaux. Ces molécules sont au nombre de quatre ou cinq et s'associent de façon non covalente au TCR pour former le complexe TCR. Trois des membres de ce complexe sont les protéines CD3 et se composent d'une chaîne γ glycosylée de 25 à 28 kDa, d'une chaîne δ glycosylée de 20 kDa et finalement d'une chaîne ϵ non glycosylée de 20 kDa. De plus, 90% des complexes TCR contiennent un homodimère de la chaîne ζ non glycosylée de 16 kDa et les 10% restants contiennent un hétérodimère de la chaîne ζ avec une chaîne η non glycosylée de 22 kDa. Donc, la stoechiométrie minimale du TCR le plus commun est $\alpha\beta:\gamma\delta\epsilon\zeta_2$.

LES LYMPHOCYTES T

ONTOGENESE secondaire

Activation des lymphocytes T naïfs dans les organes lymphoïdes secondaires :

1-Apprêtement de l'antigène :



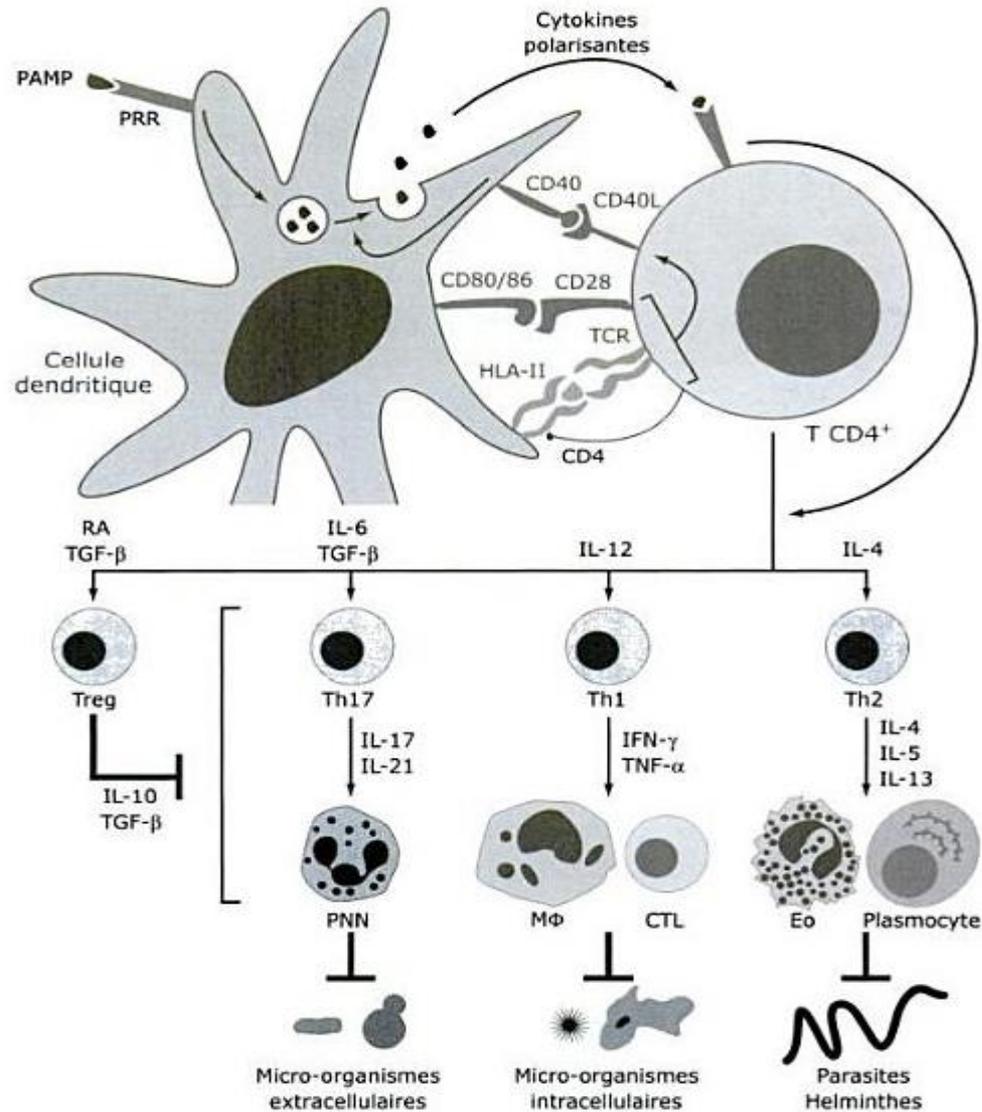
- Les antigènes protéiques capturés sont dégradés en peptides
- Les peptides sont chargés sur des molécules du SOI (CMH)
- Les complexes CMH-peptide Ag sont exprimés en surface de la CPA

1) Activation des lymphocytes T-CD4

- a) Reconnaissance du fragment antigénique
- Les lymphocytes T-CD4 sont activés par des fragments antigéniques présentés par des molécules du **CMH-II**, eux-mêmes exprimées par les cellules présentatrices d'antigènes. Et ceci au niveau des organes lymphoïdes secondaires.
- Si le TCR reconnaît un antigène, le lymphocyte T s'arrêtera, permettant la formation d'une zone de contact particulière que l'on appelle une « **synapse** » et ceci par des réarrangements protéiques au niveau de celle-ci.

Figure 27

Synapse immunologique et orientation Th



La nature **des** PAMP reconnus détermine celle **des** cytokines libérées par la cellule dendritique. L'absence du signal de co-stimulation, dû à l'interaction CD80/86-CD28, se traduit par l'anergie du Th ou sa différenciation en Treg. RA: acide rétinéique; PNN: polynucléaire neutrophile; MΦ: macrophage; CTL: lymphocyte T cytotoxique; Eo: éosinophile; †: inhibition

- Suite à la formation de la synapse s'effectuera l'activation des lymphocytes T-CD4 et ceci par deux types de signaux :
- Des **signaux de stimulation** permis par des kinases qui phosphoryleront les motifs ITAM des régions intra-cytoplasmique des chaînes du CD3 associées au TCR.
- Des **signaux de costimulation**, indispensable à une activation totale du lymphocyte, qui sont induit par l'interaction entre le cluster de différenciation **CD28** présent à la surface du lymphocyte T-CD4 et le récepteur **B7** présent à la surface de la cellule présentatrice d'antigène, ainsi que l'interaction entre le **ligand du récepteur CD40** (CD40-ligand) présent à la surface du lymphocyte et le cluster de différenciation **CD40** présent à la surface de la cellule présentatrice d'antigène.

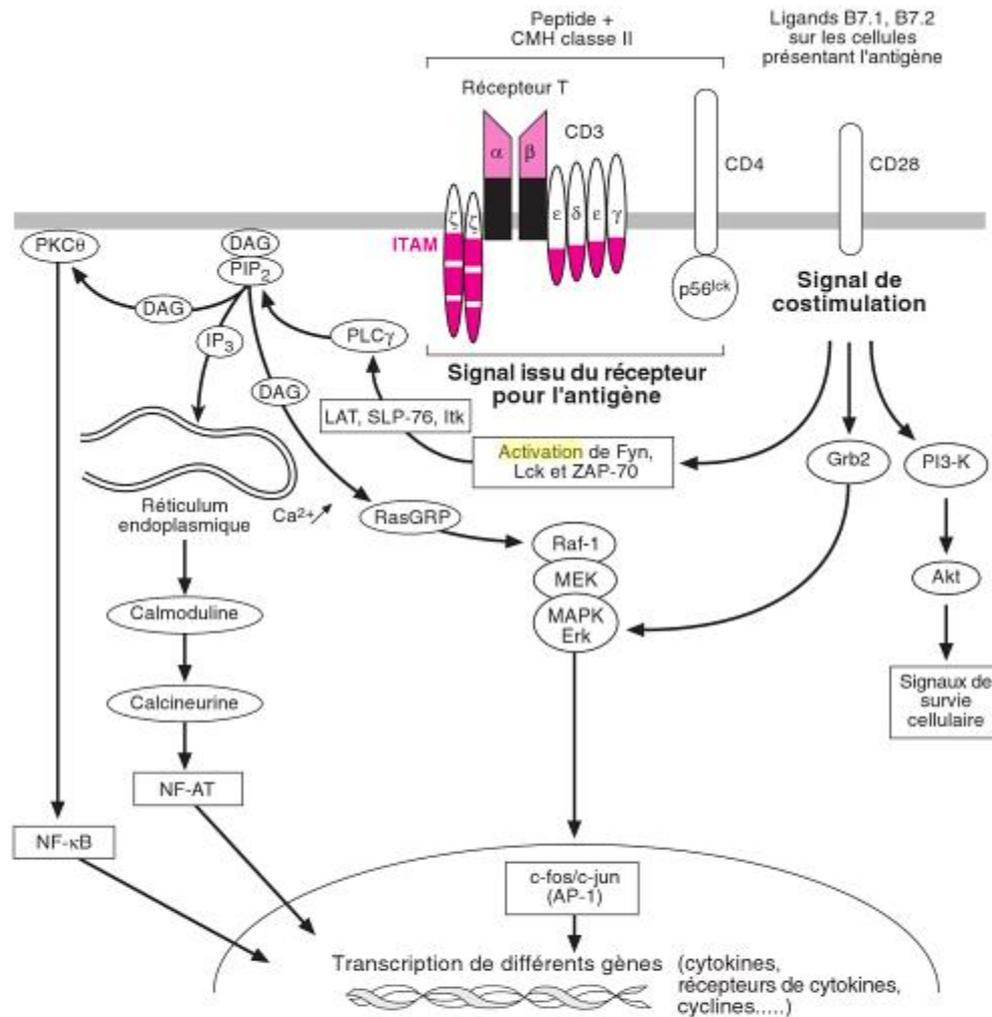


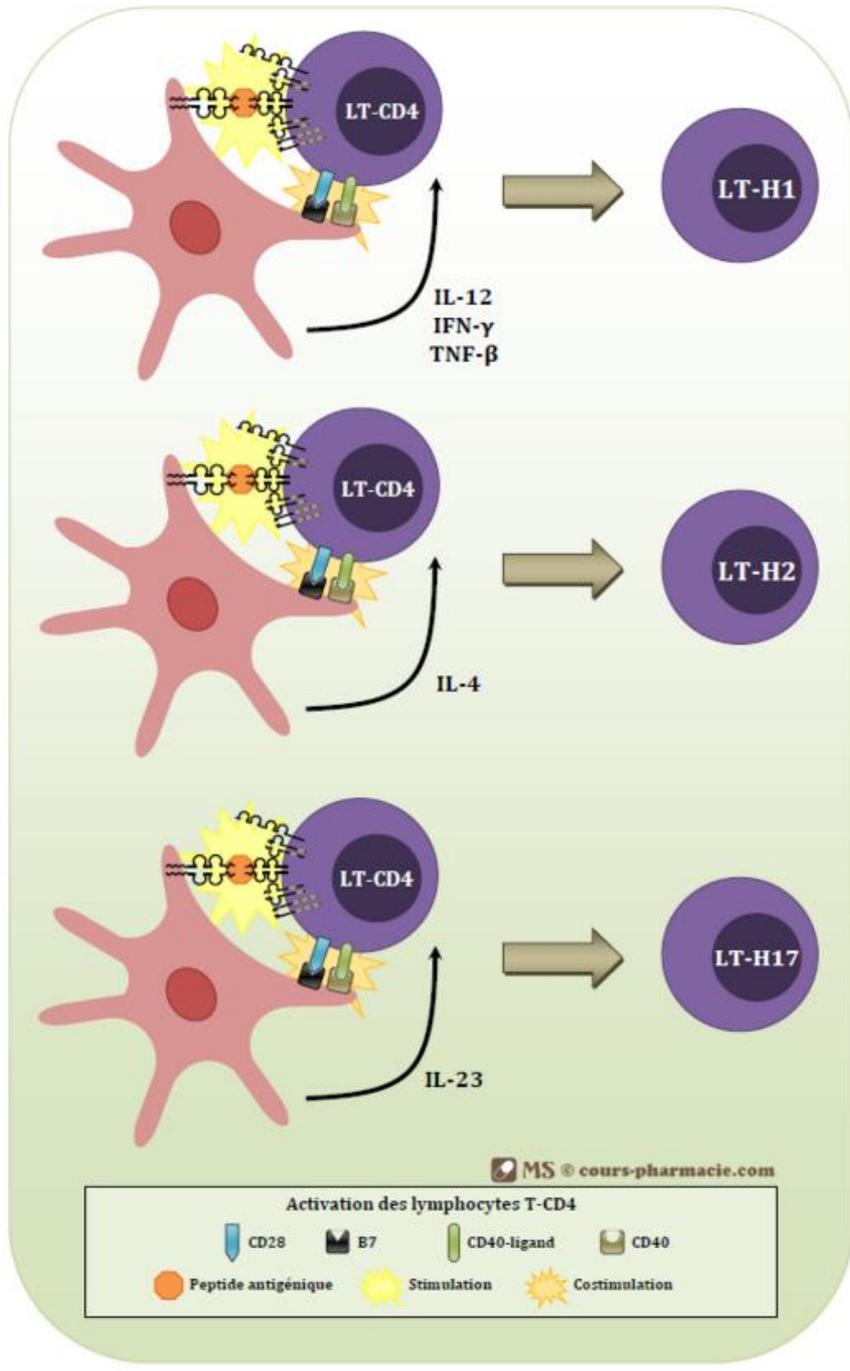
Figure 6-23 Activation lymphocytaire T. Les séquences ITAM présentes dans la partie intracytoplasmique de certaines des chaînes du complexe CD3 sont indiquées en rouge foncé.

Cette figure schématise les trois voies principales qui sont les cibles des protéine kinases activées lors de la transduction du signal par le récepteur des lymphocytes T pour l'antigène, à savoir : 1) la voie de la phospholipase C (PLC- γ), qui implique une augmentation de la concentration de Ca²⁺ intracellulaire, l'activation de la calcineurine (une protéine phosphatase) et du facteur de transcription NF-AT (pour *nuclear factor of activated T cells*) ; 2) la voie des protéines Ras qui aboutit à l'activation de MAPK (pour *mitogen activated protein kinase*) et du facteur de transcription AP-1 (formé par l'association des produits des proto-oncogènes c-fos et c-jun) ; 3) la voie d'activation de la phosphatidyl-inositol-3 kinase, qui est encore mal définie, mais qui apparaît comme le substrat moléculaire permettant la transduction des signaux de costimulation.

Dans ce schéma, les protéines ayant des fonctions enzymatiques sont entourées par des cercles et les facteurs de transcription sont encadrés.

b) Différenciations des LT-CD4

- Une fois ces cellules activées, on observera une phase de prolifération et de différenciation. En effet la destinée de la cellule CD4 sera différente suivant les cytokines produites par la cellule présentatrice d'antigène qui l'active. On distingue ainsi :
- Les **lymphocytes T auxiliaire 1** (ou **LT-H1**) obtenus grâce aux interleukines **IL-12**, **IFN- γ** et **TNF- β** . Les LT-H1 sont également responsables de l'augmentation de l'expression du récepteur B7 indispensable à la formation des lymphocytes T cytotoxiques (*cf. suite du cours*).
- Les **lymphocytes T auxiliaire 2** (ou **LT-H2**) obtenus grâce à l'interleukine **IL-4**. Ils jouent un rôle dans l'activation des lymphocytes B.
- Les **lymphocytes T auxiliaire 17** (ou **LT-H17**) obtenus grâce à l'interleukine **IL-23**.



MS © cours-pharmacie.com

Activation des lymphocytes T-CD4

			
 Peptide antigénique	 Stimulation	 Costimulation	

2) Activation des lymphocytes T-CD8

- a) Reconnaissance du fragment antigénique
- Les lymphocytes T-CD8 sont activés par des fragments antigéniques présentés par des molécules du **CMH-I**, eux-mêmes exprimées par les **cellules nucléées** de l'organisme. En effet les lymphocytes T-CD8 circulent à l'état pré-cytotoxique et reçoivent des signaux d'activation pour devenir cytotoxique. Ces signaux leurs sont donnés suite à leur interaction, également sous forme de « **synapse** », avec la cellule présentant le fragment antigénique associé au CMH-I.

- Comme pour les LT-CD4 on distingue deux types de signaux :
- Des **signaux de stimulation** permis par des kinases qui phosphoryleront les motifs ITAM des régions intra-cytoplasmique des chaînes du CD3 associées au TCR.
- Des **signaux de costimulation**, indispensable à une activation totale du lymphocyte, qui sont induit par l'interaction entre le cluster de différenciation **CD28** présent à la surface du lymphocyte T-CD8 et le récepteur **B7**.
- Il est nécessaire de préciser que la plupart des cellules nucléées cibles expriment les molécules du CMH-I, ce qui n'est pas le cas du récepteur B7 exprimé par les cellules présentatrices d'antigène (macrophages, cellules dendritiques et lymphocytes B). L'activation n'est donc pas directe, et nécessite une seconde interaction avec une cellule présentatrice d'antigène qui sera principalement la cellule dendritique.

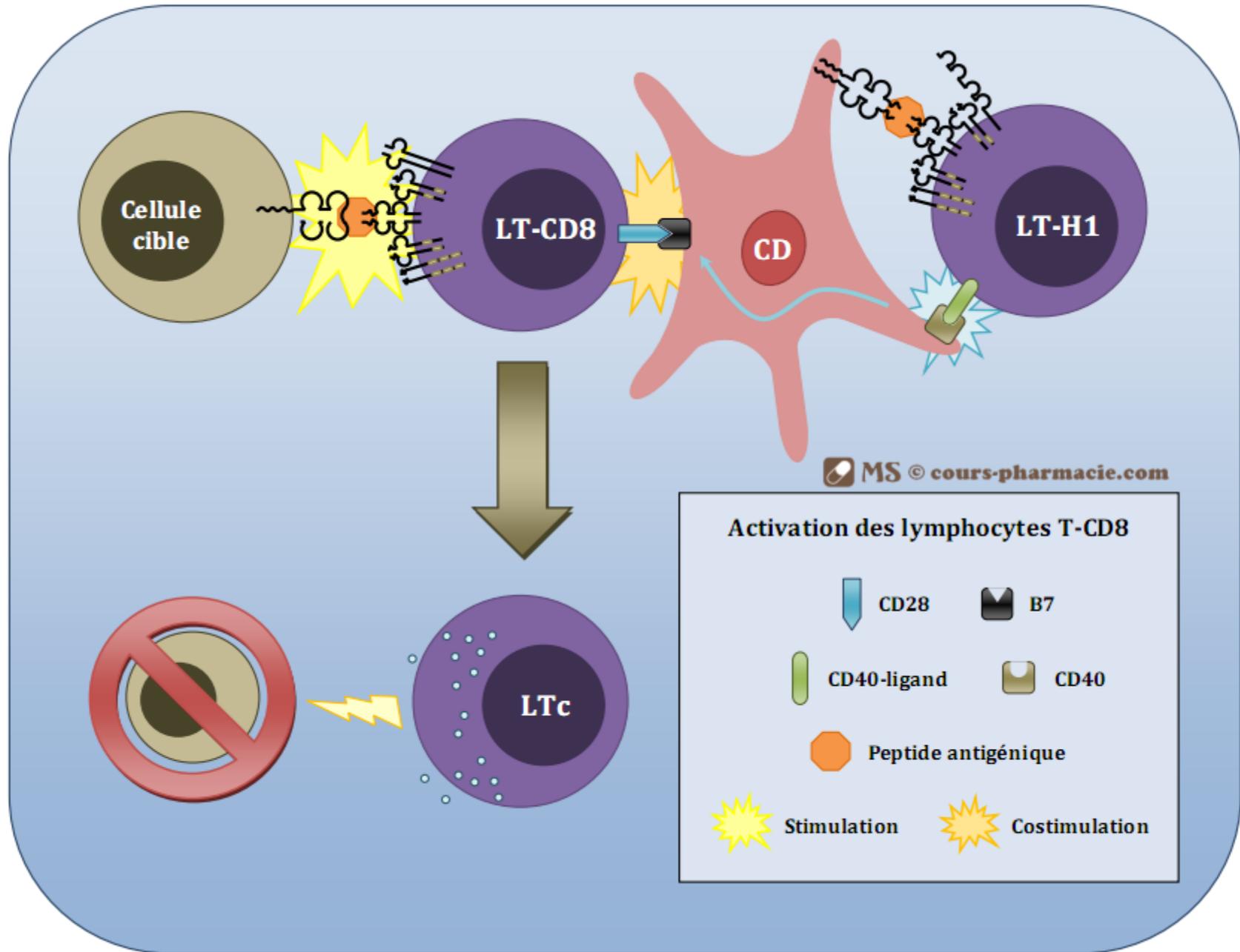
- Cependant la cellule dendritique exprime parfois trop faiblement le récepteur B7. De cette manière, suivant la situation à laquelle on est confrontée, le lymphocyte T-CD8 peut être activé par :
- **La cellule dendritique infectée** : Les cellules dendritiques infectées présentent directement le B7 et en quantité suffisante. Ils permettent ainsi l'activation du LT cytotoxique qui ira lyser la cellule cible présentant l'antigène. L'antigène devra être présenté par les molécules du CMH-I et donc correspondre à des antigènes synthétisés dans la cellule (antigène viral...).
- **La cellule dendritique non infectée par cross-priming ou cross-présentation** : Les cellules dendritiques non infectées nécessitent préalablement l'internalisation de l'antigène qui sera dégradé dans le cytoplasme, afin d'être présenté par des molécules du CMH-I, bien que l'antigène vienne de l'extérieur.
 - La **cross-présentation** est basée sur le fait que la paroi du phagosome comporte des constituants du réticulum endoplasmique (CMH-I, transporteurs). Après internalisation des fragments d'antigènes sont rejetés dans le cytoplasme par des canaux. Ces antigènes sont dégradés par le protéasome et à nouveau internalisés dans le phagosome afin de s'associer aux molécules de classes 1 du CMH.
 - Le **cross-priming** est basée sur le fait que certain agents infectieux vont induire l'apoptose des cellules phagocytaires. Il se forme ainsi des **microparticules apoptotiques** qui vont être internalisées par des cellules dendritiques.

-

Le souci de ces cellules est qu'elle exprime trop faiblement le B7 ; ce cas de figure nécessite l'aide des **LT-CD4** (LT-H1 en particulier). En effet les **LT-H1** vont reconnaître les antigènes présentées par les molécules du **CMH-II** exprimées à la surface des cellules dendritiques, et c'est l'interaction entre le **ligand du récepteur CD40** (CD40-ligand) présent à la surface des LT-H1 et le cluster de différenciation **CD40** présent à la surface des cellules dendritiques qui induira l'augmentation de l'expression du B7. Cette augmentation d'expression du B7 permettra ainsi la formation des signaux de costimulation et donc l'activation des LT cytotoxiques.

b) Mécanisme d'action des LT cytotoxiques

- Les lymphocytes T cytotoxiques sont responsables de l'immunité cellulaire aboutissant à la mort de la cellule cible. On observe une libération des granules cytotoxiques (lysosomes particuliers) qui contiennent deux catégories de molécules que l'on appelle des **cytotoxines** :
- La **perforine** est une protéine qui en se polymérisant forme des pores dans la membrane de la cellule cible.
- Les **sérine-estérases** ont pour but de détruire l'ADN en activant des caspases qui iront fragmenter l'ADN afin d'induire l'apoptose.



Cellule cible

LT-CD8

CD

LT-H1

LTc

MS © cours-pharmacie.com

Activation des lymphocytes T-CD8

CD28 B7

CD40-ligand CD40

Peptide antigénique

Stimulation Costimulation

ACTIVATION DES LB

ACTIVATION DES LB

- L'activation des lymphocytes B peut se faire de différentes manières suivant l'implication des lymphocytes T : **thymo-dépendante** ou **thymo-indépendante**.

1) Activation thymo-dépendante

- a) Les signaux d'activation
- L'activation thymo-dépendante est la plus couramment utilisée et tout comme pour l'activation des lymphocytes T on distingue deux types de signaux qui sont induit par l'interaction antigène-BCR :
- Les **signaux de stimulation** sont responsables d'une part de l'internalisation, autrement dit de l'endocytose, du complexe antigène-BCR, permettant ainsi la dégradation de l'antigène dans le système endosomale. Les fragments peptidiques obtenus seront associés à des molécules du CMH-II, procurant au lymphocyte B le statut de cellule présentatrice d'antigène. Les signaux de stimulation sont responsables d'autre part de l'activation des tyrosines kinases qui phosphoryleront les motifs ITAM des régions intra-cytoplasmiques du dimère $Ig\alpha$ - $Ig\beta$ associé au BCR, entraînant ainsi l'activation de facteur de transcription qui permettront l'expression de nombreuses molécules.
- Les **signaux de costimulation** sont indispensables à une activation totale du lymphocyte et sont permis par un certain nombre de **corécepteurs (CD19, CD21 et CD81)** qui vont amplifier le signal.

b) Prolifération et augmentation de l'affinité

- D'autre part les LB activés reçoivent encore des **signaux de prolifération**, qui ne sont cette fois-ci pas induit par l'interaction antigène-BCR mais par les LT-H2. Ces signaux seront induits par différents moyens : l'interaction entre le **ligand du récepteur CD40** (CD40-ligand) présent à la surface du LT-H2 et le cluster de différenciation **CD40** présent à la surface du LB, les interleukines **IL-4** produites par les LT-H2, ...
- Suite à cette activation, les lymphocytes obtenus se multiplieront intensément et certains d'entre eux donneront des plasmocytes qui des **IgM de basse affinité pour l'antigène** ; ces plasmocytes ne quitteront pas les organes lymphoïdes secondaires.
- Les autres cellules continueront de se multiplier dans les follicules primaires afin de former des centres germinatifs, ces cellules sont alors appelées des **centroblastes**. Ces derniers n'expriment plus de BCR car des mutations s'effectuent au niveau des gènes codant pour les parties variables des chaînes lourdes et des chaînes légères, au fur et à mesure des divisions ; on parle d'**hypermutation somatique**.
- Les centroblastes vont ainsi devenir des centrocytes qui ne se divisent plus et qui ré-expriment à leurs surface un BCR qui reconnaît toujours le même antigène de départ mais avec une affinité modifié. Ces centrocytes vont être sélectionnés par des complexes antigène-BCR présent au niveau de cellules dendritiques folliculaires, et de cette manière seul ceux exprimant des **BCR** ayant une **forte affinité pour l'antigène** recevront le **signal de survie**.

c) Le devenir des centrocytes

- Les centrocytes sélectionnés vont à ce stade de nouveau interagir avec les LT-H2 permettant ainsi la formation de deux types de cellules :
- Des **plasmocytes** qui vont produire des anticorps (IgM) de **haute affinité pour l'antigène**. La sécrétion d'interleukines va permettre la **commutation de classe**, et de cette manière il n'y aura plus de sécrétion d'IgM mais d'IgA, d'IgE ou d'IgG. On observera une latence de 4 à 8 jours entre la production d'immunoglobulines de faible affinité et celles de haute affinité.
- Des **lymphocytes B mémoires** qui vont quitter les follicules secondaires pour aller dans la circulation et ceci afin de faciliter la rencontre avec l'antigène. Ces cellules ont la caractéristique de pouvoir sécréter directement, sans temps de latence, des anticorps de haute affinité lors d'une deuxième infection par le même antigène. La réponse obtenue se produit pour des taux beaucoup plus faible d'antigène et est considérablement plus importante en intensité.

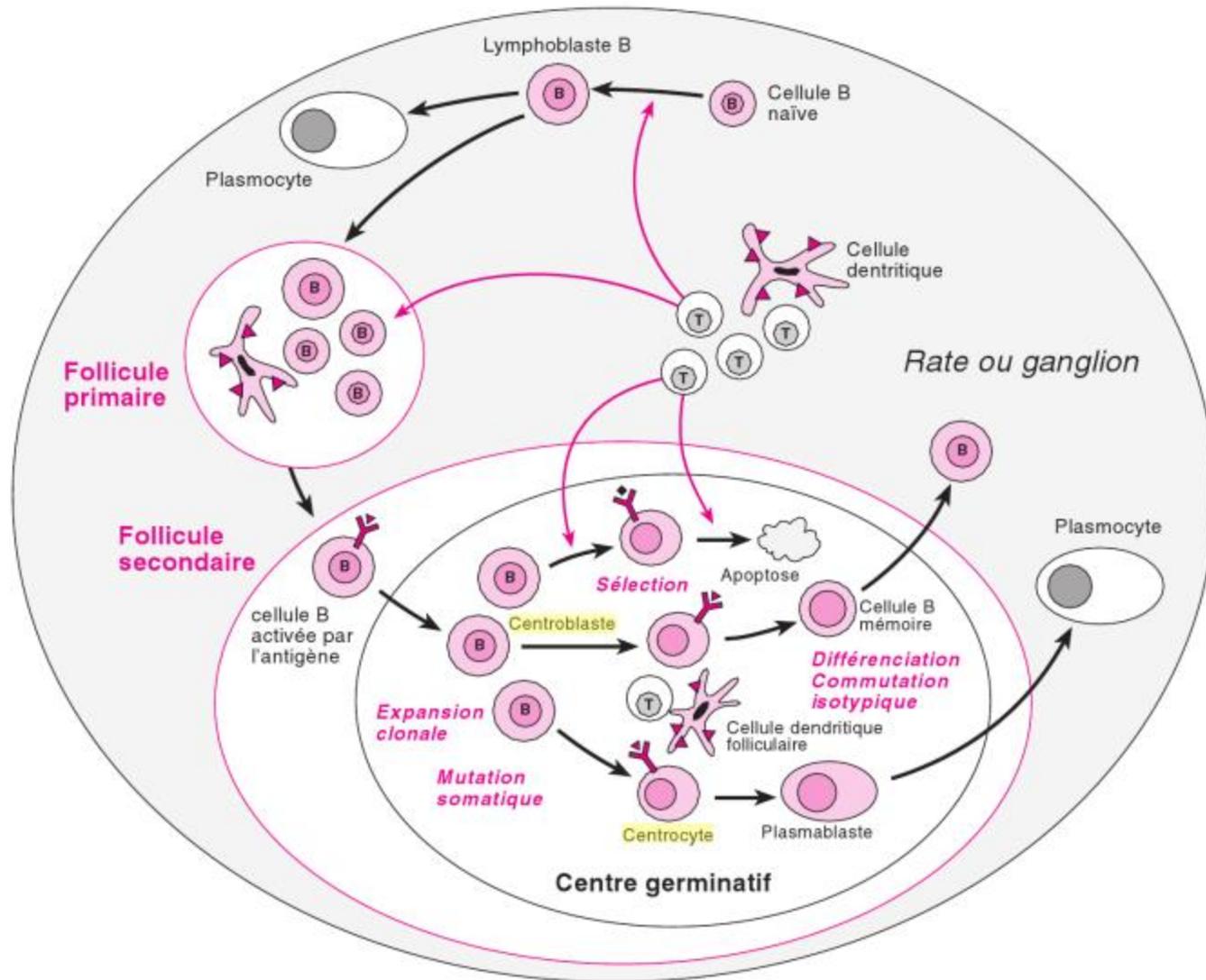
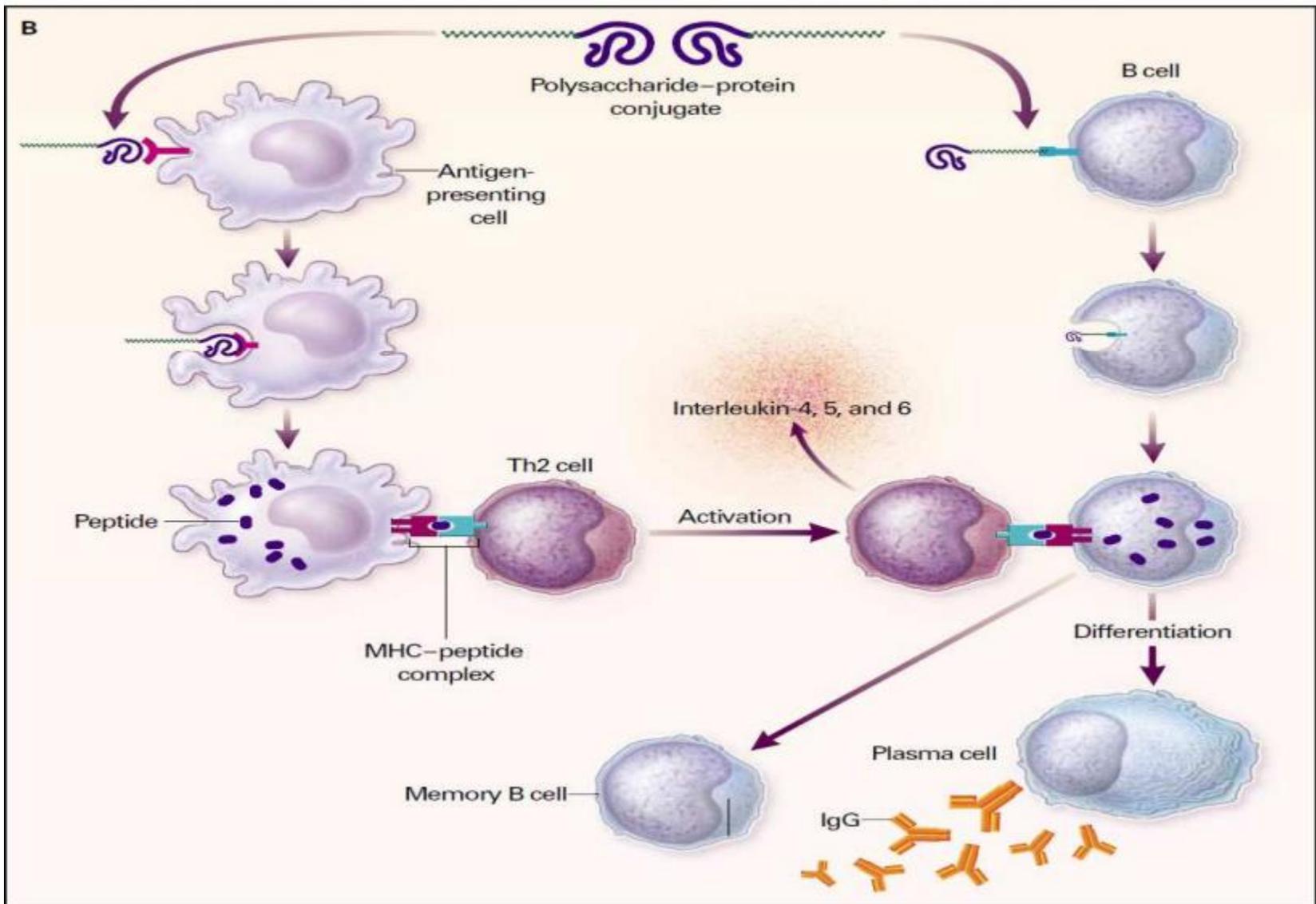
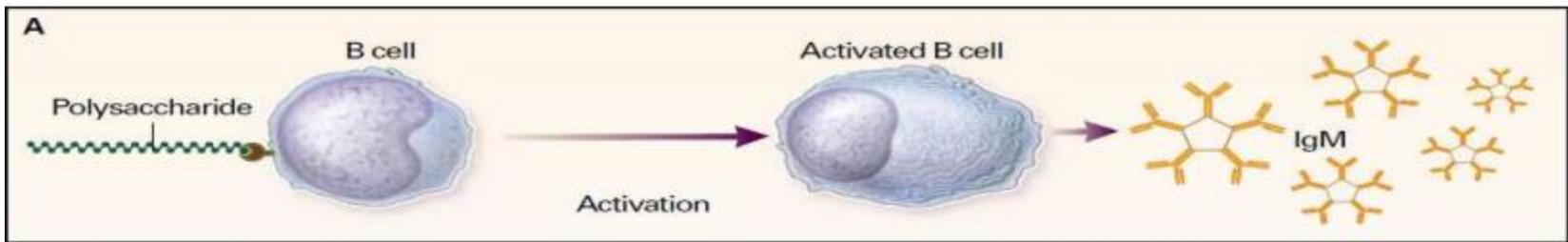


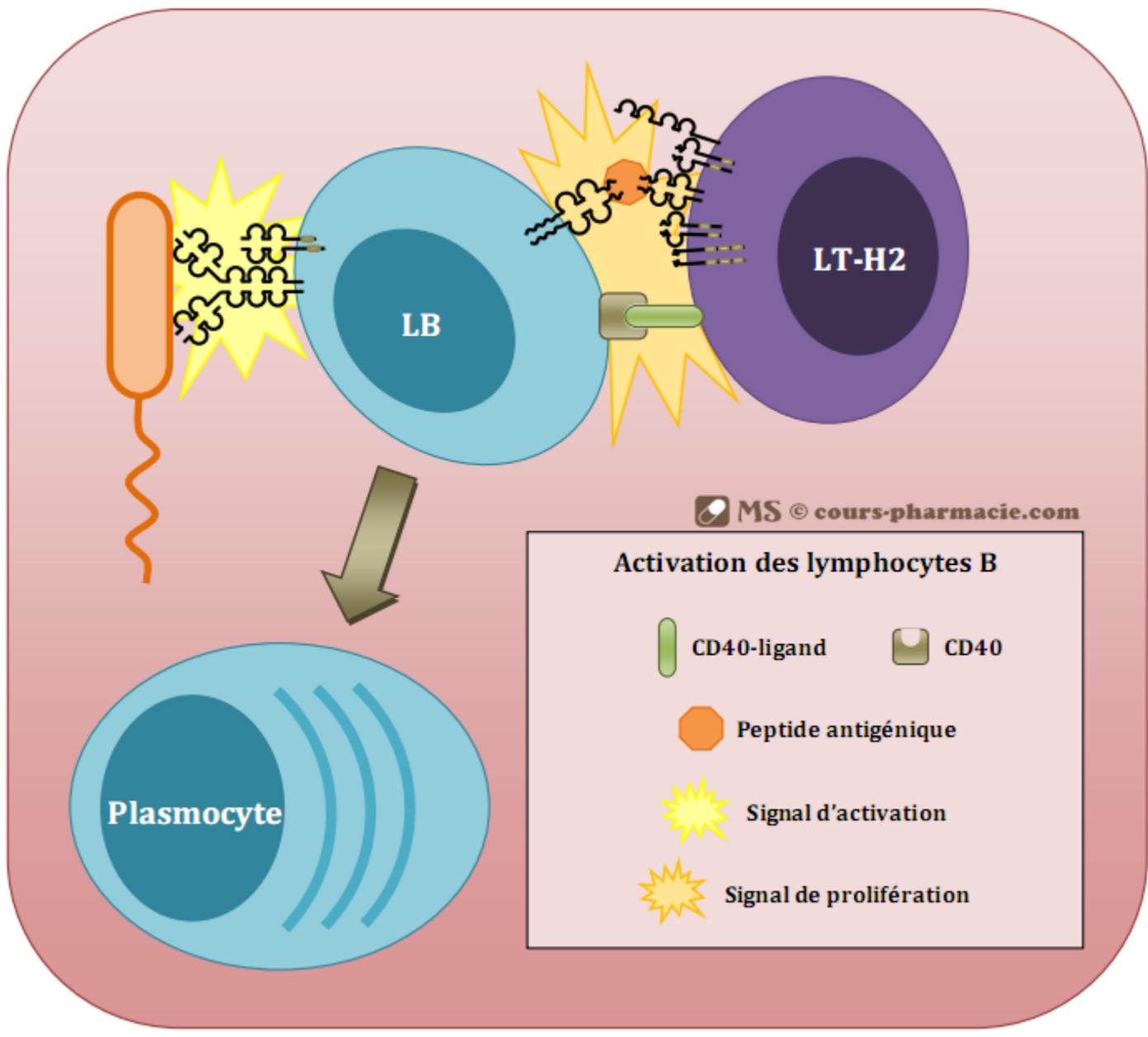
Figure 7-5 Les étapes de la différenciation des lymphocytes B au cours d'une réponse immunitaire. Les lymphocytes B naïfs, porteurs d'IgD et d'IgM de surface, qui « recirculent », pénètrent dans les organes lymphoïdes secondaires, les ganglions lymphatiques ou la rate. Si, une fois au sein de l'organe, ils ne rencontrent pas l'antigène, ces lymphocytes B traversent la zone T (ou zone marginale) et migrent soit dans les follicules primaires soit à la périphérie des follicules secondaires. Si, au contraire, ils rencontrent l'antigène, soit sous forme libre soit en association avec les cellules dendritiques interdigitées, les lymphocytes B naïfs spécifiques interrompent leur migration, s'activent et prolifèrent. Plusieurs de ces clones B vont se différencier en plasmocytes à courte durée de vie localisés dans le cortex profond des ganglions lymphatiques ou, dans la rate, au niveau de la zone T-dépendante et la pulpe rouge. La majorité de ces plasmocytes vont synthétiser des anticorps de type IgM dont les régions variables ne présentent pas de mutations somatiques et qui, de ce fait, expriment une faible affinité pour l'antigène. Ce sont ces cellules qui synthétisent les anticorps constituant la réponse primaire que l'on retrouve en circulation dans les 3 à 4 jours qui suivent une immunisation.

D'autres lymphocytes B vont bénéficier de la coopération avec des lymphocytes T, activés eux aussi par la présence des cellules dendritiques qui présentent l'antigène spécifique et, suite à cette interaction, s'activer et migrer dans les follicules primaires où ils vont proliférer. Ces lymphoblastes B qui prolifèrent de manière intense vont, du fait de cette prolifération, progressivement « évincer » les lymphocytes B naïfs du follicule primaire, ce qui aboutit à la formation d'un follicule secondaire classique au sein duquel apparaît le centre germinatif, composé de la progéniture des lymphoblastes B spécifiques activés, à savoir les centroblastes et les centrocytes. C'est la reconnaissance de leur antigène initial spécifique, par l'immunoglobuline de surface, qui entraîne la différenciation des centroblastes soit en centrocytes puis en plasmablastes et en plasmocytes (producteurs des immunoglobulines spécifiques de la réponse secondaire), soit en lymphocytes B mémoire. Les centroblastes qui ne rencontrent pas l'antigène spécifique sont éliminés par apoptose. C'est au niveau du centre germinatif que s'effectuent la commutation isotypique et les processus de mutation somatique qui caractérisent cette réponse secondaire. L'existence d'une coopération B-T et, plus précisément, l'interaction entre les molécules CD40, à la surface du lymphocyte B, et le ligand de CD40, à la surface du lymphocyte T activé, est essentielle à la formation du centre germinatif. Ainsi les centres germinatifs sont-ils totalement absents chez les patients atteints d'une forme de déficit immunitaire, le syndrome d'hyper-IgM lié à l'X, et qui n'expriment pas le ligand de CD40, du fait d'une mutation au niveau du gène codant.

2) Activations thymo-indépendantes

- Contrairement à l'activation thymo-dépendante, les activations thymo-indépendantes ne nécessitent pas l'aide des LT-H2 pour produire les anticorps. On les classe en 2 catégories :
- **L'activation thymo-indépendante de type 1** entraîne une **stimulation polyclonale** des lymphocytes B. Cette activation ne passe pas par le BCR mais par des récepteurs communs à tous les LB qui reconnaissent les pathogènes que l'on appelle des **mitogènes**.
- **L'activation thymo-indépendant de type 2** entraîne une **stimulation monoclonale** des lymphocytes B. Cette activation passe cette fois-ci par le BCR qui reconnaît des **déterminants sucrés répétitifs**. On observera cependant essentiellement une production d'IgM.





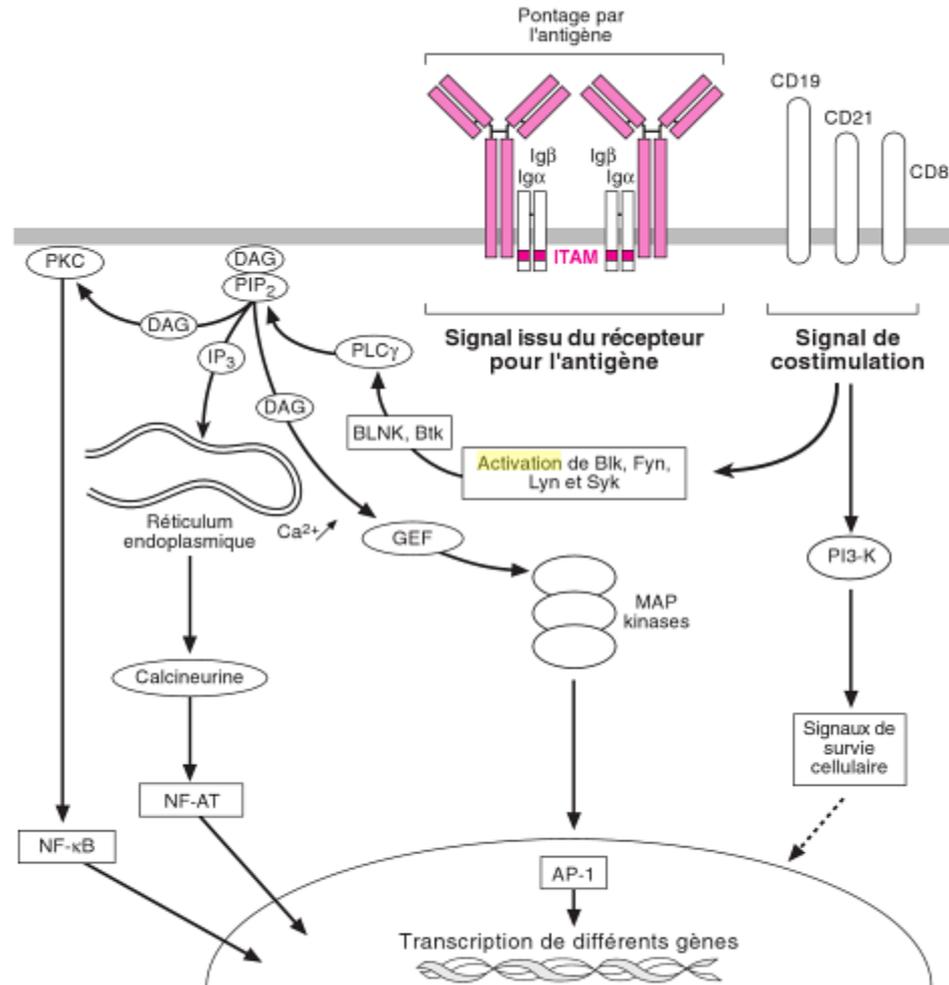


Figure 6-24 Activation lymphocytaire B. Principales voies de transduction du signal issues de l'activation du récepteur pour l'antigène des lymphocytes B.

