

Immunologie 4
Jeudi 7 février 8h30-10h30
Prof : Sterkers
Moi : Ephraïm Roos

Immunité T: TCR, tolérance

I. Récepteur

- 1) *Généralités*
- 2) *Remaniements du récepteur T : diversité, clonalité*
- 3) *Aspects chimiques de l'interaction entre le récepteur T et la molécule de HLA*
- 4) *Activation du lymphocyte par le Récepteur T*

II. La Tolérance

- 1) *Théorie de Burnett sur la tolérance*
- 2) *Acquisition d'une tolérance à l'égard du soi dans le thymus*
- 3) *Changements phénotypiques au cours de la différenciation thymique*
- 4) *Circulation des thymocytes dans le thymus, sélection positive et négative*
- 5) *Facteurs influant l'acquisition d'une tolérance en périphérie*

III. L'activation des lymphocytes T immunité cellulaire (excluant HSR) – Cytotoxicité.

- 1) *Présentation des antigènes aux T-CD8*
- 2) *Rôle des T-CD4 dans les processus d'activation des T-CD8*
- 3) *Prolifération des T-CD8*
- 4) *Différenciation des T-CD8*

I. Récepteur T

1) Généralités

Il existe deux sortes de récepteurs T :

- Les $\alpha\beta$ possédant une chaîne α et une chaîne β , ils sont prédominants (95 % des lymphocytes T circulants)
- Les $\gamma\delta$ qui sont minoritaires (moins de 5 % des lymphocytes T circulants) non abordés dans ce cours et encore mal connus.

Ces récepteurs sont exprimés sur les lymphocytes T périphériques ainsi que sur les thymocytes les plus matures lors de la différenciation thymique.

Les chaînes $\alpha\beta$ sont polymorphiques, elles constituent les unités de reconnaissance d'un antigène, elles sont associées à un complexe polypeptidique non polymorphique le complexe CD3 (fait d'assemblage de chaînes γ , ϵ , δ , et ζ).

Le récepteur T reconnaît les antigènes de façon complexe (différents des immunoglobulines) en effet, il reconnaît des fragments peptidiques d'un antigène présentés par la molécule d'histocompatibilité HLA.

Différences avec les immunoglobulines : le récepteur T n'a qu'un seul site reconnaissance, alors que les immunoglobulines en possèdent deux. Le récepteur T n'existe pas sous forme secrété, alors que les immunoglobulines oui.

Similitudes avec Immunoglobulines membranaires: Ils sont tous les deux synthétisés à partir de remaniements génétiques complexes des fragments VDJ au cours de la différenciation et ils sont tous les deux des structures de reconnaissance de l'antigène.

2) Remaniements du récepteur T : diversité, clonalité

Ces remaniements permettent deux caractéristiques essentielles des récepteurs T: la clonalité et la diversité.

La clonalité : Sur un lymphocyte T donné, tous les récepteurs T sont identiques et reconnaissent un seul et même antigène présenté par une seule molécule de CMH. Car quand le réarrangement du récepteur T est fonctionnel, ça interdit tout réarrangement additionnel.

La diversité : le nombre de lymphocytes T différents reconnaissant des antigènes différents est absolument considérable par association des séquences VDJ (en effet il ya de très nombreuses séquences V, D et J et les associations sont aléatoires ce qui permet d'obtenir une grande possibilité de combinaisons différentes). Les associations des chaînes α et β se font aussi de manière aléatoire ce qui fait que le potentiel de reconnaissance est exorbitant, de l'ordre de 10^{15} spécificités différentes.

3) Aspects chimiques de l'interaction entre le récepteur T et la molécule de HLA

Les interactions entre le récepteur T et le CMH sont étudiées par des techniques de cristallographies (en 3D).

La partie la plus polymorphique du récepteur reconnaissant la partie la plus polymorphique du peptide antigénique est situé à l'extrémité de la chaîne $\alpha\beta$ ce sont les séquences CD3.

L'affinité sur la molécule d'histocompatibilité est très faible (à la différence des immunoglobulines) et elle est possible, car il existe une étroite coopération entre cellules présentatrices et les lymphocytes T (il ya non seulement interaction récepteur T/peptide antigénique mais aussi entre d'autres molécules sur les surfaces membranaires des deux cellules (signalisation)).

4) Activation du lymphocyte par le RcT

$A\beta$ très polymorphique est associé à un complexe polypeptidique non polymorphique qui permet la transduction du signal dans le milieu intracellulaire (signalisation) via des tyrosines kinases (FYN, LCK, Zap70) ce qui aboutira à la phosphorylation et l'activation de la PLC γ (phospholipase C γ), conduisant a la redistribution du calcium, d'une activation de la PKC qui activera NF κ B et NFDT avec transcription de gènes (en gros comme dab avec des chaînes de différenciation).

II. La Tolérance

Le rôle du système immunitaire : permettre à l'organisme de maintenir son intégrité. Ceci grâce à deux moyens :

- L'élimination des substances étrangères.
- Ne jamais détruire ce qui appartient au soi.

1) Théorie de Burnett sur la tolérance

Il fallait que le système immunitaire distingue le soi du non soi. Ce Monsieur Burnett a proposé que dans chaque organisme était créé un très grand nombre de clones, certains contre le soi, d'autres contre le non soi et qu'il y avait un processus de différenciation permettant la sauvegarde de ces derniers et la destruction des clones dirigés contre le soi.

2) Acquisition d'une tolérance à l'égard du soi dans le thymus

C'est en effet ce qu'il se passe : les recombinaisons VDJ, permettent une diversité de reconnaissance extraordinaire pour tout le soi et le non soi avec une clonalité. L'inactivation des lymphocytes T autos réactifs (c'est-à-dire dirigés contre le soi) se fait dans le thymus (les lymphocytes B dans la moelle). Cette tolérance se fait donc pour le soi du thymus (qui est très développé durant la vie fœtale car c'est la période optimal pour acquérir la tolérance envers le soi, le fœtus étant localisé dans un environnement stérile).

La tolérance est un phénomène actif et non inné, à chaque fois que les thymocytes reconnaissent les antigènes du soi (autos antigènes) dans le thymus il y a une activation du récepteur T et une inactivation du lymphocyte T par trois mécanismes.

- La délétion clonale : disparition des lymphocytes T ayant reconnu des autos antigènes par apoptose.

- L'anergie : la reconnaissance d'autos antigènes provoque une voie de signalisation aboutissant à l'inactivation de la cellule et non sa mort. Ce type d'inactivation peut entraîner des conséquences pathologiques autos immunes, car ces lymphocytes T désactivés, passent dans la périphérie où ils pourront être réveillés par un virus.

- Arrêt de la différenciation du thymocyte : assez efficace car ils ne passent pas en périphérie.

3) Changements phénotypiques au cours de la différenciation thymique

Au cours de la différenciation thymocitaire, il va y avoir une modification phénotypique du thymocyte.

Les précurseurs les plus immatures exposent deux molécules, CD2 et CD7 (mais ni CD4, ni CD8)

> Ce sont les thymocytes doubles négatifs.

Ils expriment ensuite CD1 de façon transitoire, puis ils co-expriment CD4 et CD8

> Thymocytes doubles positifs.

A ce stade on observe un début de réarrangement des gènes du récepteur T, ainsi qu'un début d'expression de celui-ci, les phénomènes d'acquisition de la tolérance vont donc pouvoir débuter (car il y a possibilité de reconnaissance des antigènes) puis les lymphocytes T expriment ou CD4 ou CD8 : ce sont des lymphocytes T matures et c'est à ce stade qu'ils passent en périphérie.

Ces différents stades permettent de classer les leucémies des lymphocytes T, la plus courante est la CD1 appelée leucémie thymocitaire commune.

4) Circulation des thymocytes dans le thymus, sélection positive et négative

L'acquisition de la tolérance se fait dans le thymus avec une migration des cellules au fur et à mesure de leur différenciation : les cellules les plus immatures se trouvent dans la corticale, puis elles migrent dans la medullo-corticale et la médullaire.

Les thymocytes rencontrent différentes natures de cellules présentatrices d'antigènes dans les différentes couches : dans la corticale, il s'agit surtout de cellules épithéliales alors que dans les couches medullo-corticale et médullaires, ce sont les cellules dendritiques qui présentent les antigènes.

Les cellules dendritiques présentent un antigène aux lymphocytes T avec en plus de l'interaction CMH/ récepteur T, des interactions moléculaires complexes entre les cellules (dans les deux sens).

Selon la nature de la cellule présentatrice d'antigènes, les interactions moléculaires seront différentes et le signal induira ou une tolérance du lymphocyte T ou son activation. Pendant leur transit, les thymocytes subissent une double sélection (une positive, et une négative)

La sélection positive :

Elle a lieu dans la corticale, lorsque les thymocytes commencent les réarrangements du récepteur T et l'expriment, la suite de la différenciation va dépendre de la spécificité du récepteur

T (envers HLA) : **la première sélection autorise les thymocytes reconnaissant le HLA de l'hôte à poursuivre leur différenciation.**

Cette sélection permet une grande efficacité du système (en effet, les thymocytes ne reconnaissant pas le HLA, sont éliminés car ils ne reconnaîtront pas les antigènes étrangers non plus (et ouais, on sélectionne que les meilleurs, ça me rappelle quelque chose...)).

La sélection négative :

Ces thymocytes sélectionnés positivement vont poursuivre leur migration dans le thymus, et encore plus exprimer le récepteur T et s'ils reconnaissent les autos anticorps sur CMH avec une trop forte affinité, ils seront éliminés (sélection négative).

Théoriquement, il faudrait que tous les anticorps du soi soient présents, mais en pratique, une cellule présentatrice d'antigènes, ne présente seulement ce qu'elle a à sa disposition (les protéines de l'hôte qu'elle rencontre s'il n'est pas infecté, et de nouvelles protéines si l'hôte est infecté) donc les cellules présentatrices d'antigène peuvent présenter tous les autos anticorps, à la restriction que les protéines soient exprimées (pas de reconnaissance possible d'insuline dans le thymus). Les lymphocytes T dirigés contre des autos antigènes non exprimés dans le thymus ne seront donc pas délétés, mais ça ne pose aucuns problèmes d'auto immunité (Cf. un peu plus loin).

Expérience :

On a des souris exprimant exclusivement des récepteurs T reconnaissant H2B (molécule du CMH murin) présentant un peptide antigénique exprimé a partir du chromosome Y (auto antigène possible chez les mâles et un antigène étranger possible chez la femelle).

Les lymphocytes T anti-cetteprotéineduchromosomeY sont présents en périphérie chez les femelles car ils ont subi une sélection positive H2B chez les femelles H2B (la femelle est H2B comme ses thymocytes) par contre pas de délétion clonale car elle n'a pas de chromosomes Y.

Chez les mâles il n'y a pas ces lymphocytes T dans le sang, car ils ont passé la sélection positive (H2B) mais non la sélection négative car il y a le chromosome Y.

Chez les mâles et chez les femelles possédant un autre typage H2 (H2D par exemple) les lymphocytes T sont aussi absents car il n'y a pas eu la sélection positive (les lymphocytes n'ont pas reconnu les H2D).

(!! Attention fuites !! : Elle a dit juste a ce moment la, « on va poser une question à l'examen sur la tolérance pour voir si c'était inutile de répéter les sélections » (Je dis juste ca comme ca maintenant c'est entre vos mains)).

Beaucoup de lymphocytes T autos immuns immergent du thymus (tous ceux qui n'ont pas retrouvé leur antigène spécifique) ils sont potentiellement dangereux mais non actifs le plus souvent. Ceci a été démontré (encore et toujours) à partir d'expériences sur les souris :

Expérience :

Souris transgéniques pour un gène codant pour une protéine virale, exprimée exclusivement au niveau des cellules β de Langerhans du pancréas.

Ces souris ont les lymphocytes T spécifiques de cette protéine virale en périphérie.

Pourtant ces souris vivent très bien, les lymphocytes T ne sont pas agressifs, elles n'ont pas de diabète.

Pourquoi ? Parce que les cellules β de Langerhans présentent l'antigène de façon inadéquate pour activer les lymphocytes T. En effet seul les cellules dendritiques peuvent activer les lymphocytes T dans le thymus en **réponse primaire**, les autres cellules ne le peuvent qu'en réponse au moins secondaire.

Si maintenant on infecte la souris avec le virus exprimant la protéine qu'on avait transgénisée sur les cellules β de Langerhans, on observe un diabète chez les souris.

Conclusion : des cellules auto réactives peuvent exister en périphérie sans être actives en particulier quand l'antigène spécifique est présenté par des cellules non professionnelles mais c'est une situation réversible : les lymphocytes T peuvent être réactivés par une infection virale.

Concernant la tolérance, dans le thymus, ce sont les phénomènes de délétion clonale qui prédominent, alors qu'en périphérie, ce sont les phénomènes d'anergie (cellule désactivée) et d'ignorance (cellule indifférente après reconnaissance de l'antigène).

Lorsque le système immunitaire est confronté à antigène, faut-il activer les lymphocytes T ou induire une tolérance ?

5) Facteurs influant l'acquisition d'une tolérance en périphérie

Différentes situations, favorisant l'activation ou la tolérance :

- Immunocompétence de l'hôte : à la naissance, il est beaucoup plus tolérant qu'à l'âge adulte (avec une grande sensibilité aux infections des nourrissons, et une morbidité associée élevée), à noter que l'on peut activer la tolérance si besoin grâce aux immunosuppresseurs.

- Nature de l'antigène : on peut tolérer certains antigènes étrangers (exemple : pour se nourrir), donc certains antigènes étrangers seront dit immunogènes et d'autres tolérogènes.

- Voie d'administration : administration orale plutôt tolérogène, en sous-cutané ou intramusculaire plutôt immunogènes.

- Dose d'antigène : des quantités très faibles ou très fortes sont tolérogènes. Dans la sensibilisation des allergies on utilise des faibles quantités d'allergènes.

III. L'activation des lymphocytes T immunité cellulaire (excluant HSR) – Cytotoxicité.

1) Présentation des antigènes aux T-CD8

En réponse primaire, seules certaines cellules sont capables de présenter un antigène aux lymphocytes T CD8 : les cellules dendritiques et les cellules de Langerhans de la peau (aucun rapport aux cellules du pancréas attention). Tout antigène présenté par une autre cellule en réponse primaire sera ignoré.

Les HLA de classe I présentent des peptides d'origines endogènes (synthétisés par la cellule qui les présente, donc même les protéines exprimées par une cellule infectée)

Pour présenter des peptides antigéniques, les cellules dendritiques (n'étant pas infectées) vont phagocyter des cellules infectées nécrotiques et présenter les antigènes aux lymphocytes T.

Les cellules dendritiques présentent des antigènes aux lymphocytes T CD8 et aux lymphocytes T CD4 en réponse primaire pour aboutir à une réponse active :

Les cellules dendritiques présentent un peptide exogène aux lymphocytes T CD4 via le CMH de classe II, ceci se fait toujours grâce aussi à une coopération très étroite entre les deux cellules avec des molécules de co-stimulation jouant des rôles importants comme CD40 sur cellule dendritique qui interagit avec CD40 ligand présent sur le lymphocyte T et qui va entraîner la différenciation du lymphocyte T CD4.

Il y a aussi des molécules d'adhésions qui sont nécessaires car l'affinité récepteur T/peptide est faible. Ainsi lors de la fixation avec l'antigène l'adhésion va augmenter.

Pour les lymphocytes T CD8 les cellules dendritiques présentent des peptides endogènes associés à des CMH de classe I.

Le couple CD40/ CD40 ligand est important pour les CD8 aussi, et s'il est absent il y aura différenciation des lymphocytes T CD8 mais ils n'auront pas de mémoire.

2) Rôle des T-CD4 dans les processus d'activation des T-CD8

Les lymphocytes T CD4 (helper) produisent des cytokines indispensables à la différenciation des CD8.

Il existe deux sortes de lymphocytes T CD4 :

- Les TH1 : agissent sur les lymphocytes T CD8 ; permet la cytotoxicité.
- Les TH2 : agissent sur les lymphocytes B et permettent leur différenciation en plasmocytes.

Ils ne sécrètent pas les mêmes cytokines ce qui fait leur différence de fonctions.

Les TH1 sécrètent l'IFN γ : indispensable à la différenciation des lymphocytes T CD8.

La reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T CD8 va entraîner deux phénomènes :

- Une différenciation permettant la sécrétion d'IL-2 de novo

- Une prolifération clonale (seul les lymphocytes ayant reconnu l'antigène) en partie permise par IL-2.

3) Prolifération des T-CD8

Certaines infections peuvent provoquer une énorme prolifération des lymphocytes T CD8, comme la mononucléose infectieuse due à l'Epstein Barr virus, avec des énormes adénopathies composées de cellules lymphocytes T CD8 spécifiques de l'EBV.

Après cette prolifération (présente dans n'importe quelle autre infection) il y a des phénomènes de contraction : une très grande majorité des lymphocytes T CD8 vont mourir par apoptose (AICD=Activation Induced Cell Death).

Cette mort programmée survient lorsque l'antigène n'est plus présent dans l'organisme **ou** lorsque l'IL-2 (anti apoptotique et prolifératif) disparaît (l'un induisant l'autre).

4) Différenciation des T-CD8

La différenciation des lymphocytes T CD8 va aboutir à la formation de cellules cytotoxiques qui vont tuer les cellules infectées (réponse immunitaire cellulaire).

Au cours de cette différenciation, il va y avoir une accumulation dans des granules de sécrétion dans des lymphocytes T CD8 dits pré-CTL : les perforines et les granzymes.

Après reconnaissance **secondaire** de son antigène spécifique sur une cellule infectée il va y avoir dégranulation (attention, cette fois-ci seule la reconnaissance de l'antigène suffit, il n'y a pas d'étroite communication moléculaire)

Les perforines vont perforer (bien joué) la cellule cible et y créer donc des micros canaux par lesquels vont pouvoir être injectés des granzymes qui, elles, vont activer les caspases intracellulaires aboutissant à la mort par apoptose de la cellule infectée.

Mais il y a un gros inconvénient car il peut y avoir des immunopathologies : exemple de l'hépatite fulminante liée à une réponse immunitaire excessive et qui est responsable de l'éradication du virus, certes, mais surtout de la destruction totale du foie.

Autre inconvénient : lorsqu'une cellule cytotoxique détruit la cellule cible, elle va libérer des virus dans la circulation et le relai va être pris par la réponse humorale en particulier par les anticorps neutralisants, empêchant au virus de pénétrer dans les cellules cibles en se fixant dessus (donc la réponse cellulaire n'est pas exclusive, il y a un relai pris par des anticorps)

Je ne sais pas pourquoi elle a parlé d'inconvénient ici mais bon...

Je joins le poly qui nous a été distribué en cours, perso je ne l'ai pas lu en détail mais de loin il m'a paru un peu trop complet, trop lourd et pas agréable à lire et avec des choses dont la prof n'a pas parlé.