DES de Biologie Médicale
Enseignement d'Immunologie

CM5.1

Différenciation lymphocytaire T & B

Adrien Six (adrien.six@upmc.fr)
Université Pierre et Marie Curie

Phnom Penh
septembre 2009

Différenciation lymphocytaire T & B

1. Introduction
2. Marqueurs de différenciation lymphocytaires
3. Développement lymphocytaire T
4. Développement lymphocytaire B
5. Conclusion

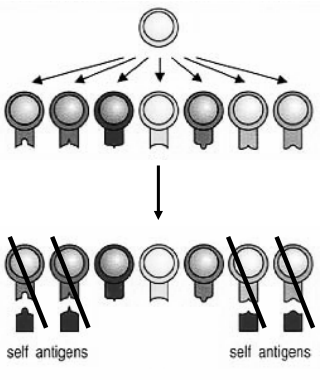
Différenciation lymphocytaire T & B

1. **Introduction**
2. Marqueurs de différenciation lymphocytaires
3. Développement lymphocytaire T
4. Développement lymphocytaire B
5. Conclusion

Théorie de la sélection clonale (1)

Burnet (1899–1985)

- Chaque lymphocyte exprime un type unique de récepteur spécifique d'antigène
- Les lymphocytes exprimant un récepteur dirigé contre un antigène du soi sont éliminés lors de la différenciation

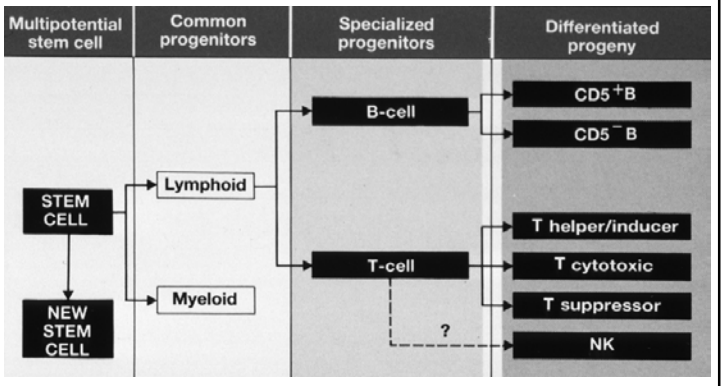


Théorie de la sélection clonale (2)

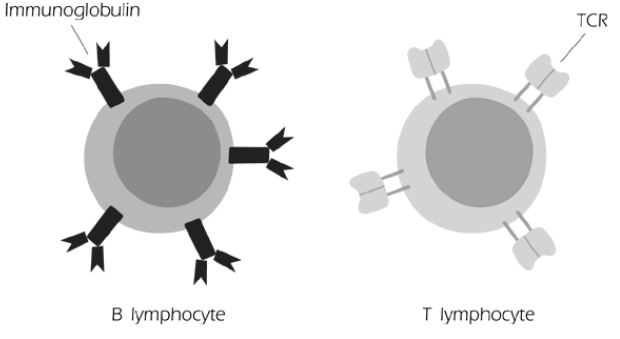
- La liaison avec une bonne affinité d'une molécule étrangère et d'un récepteur entraîne l'activation du lymphocyte

- Les cellules effectrices différenciées à partir d'un lymphocyte activé donné expriment des récepteurs de même spécificité

La lignée lymphocytaire



Les lymphocytes B et T

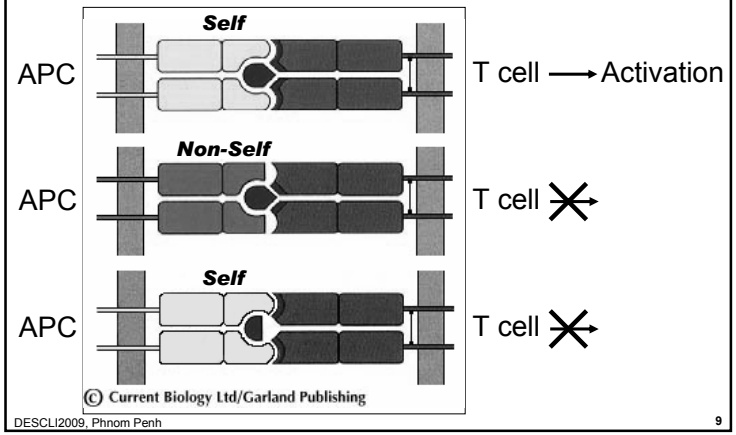


→ caractérisés par leur récepteur spécifique d'antigène

Reconnaissance par le TCR$\alpha\beta$

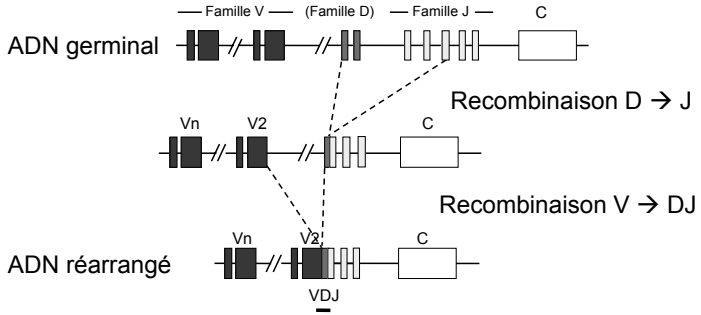
- A l'inverse des anticorps qui reconnaissent les protéines natives, le TCR reconnaît des petits *peptides*
  - produits de dégradation des protéines
  - présentés les molécules du MHC
- Pendant leur différenciation dans le thymus, les lymphocytes T sont "*éduqués*" pour reconnaître les molécules du CMH de l'organisme → *restriction par le CMH*

Restriction par le CMH



DESCLI2009, Phnom Penh 9

Les régions variables d'Ig et de TCR sont créées pendant la recombinaison V(D)J



CDR3 = jonction V(D)J

→ Contact avec l'antigène (Ig)

→ Contact avec le complexe CMH/peptide (TCR)

DESCLI2009, Phnom Penh 10

Différenciation lymphocytaire T & B

1. Introduction
2. **Marqueurs de différenciation lymphocytaires**
3. Développement lymphocytaire T
4. Développement lymphocytaire B
5. Conclusion

DESCLI2009, Phnom Penh 11

Marqueurs de différenciation

- Marqueurs identifiés et caractérisés à la surface des lymphocytes grâce à l'utilisation des anticorps monoclonaux.
- Ces marqueurs sont numérotés CD1, CD2... (*cluster of differentiation*)
- Chaque CD caractérise un stade de développement et/ou une distribution tissulaire.
- CD1 à CD349 (!)

DESCLI2009, Phnom Penh

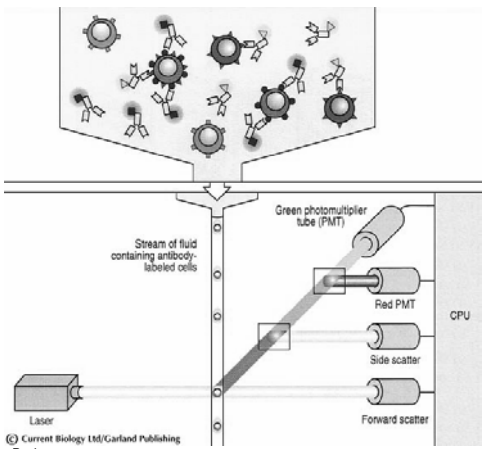
Marqueurs de différenciation T

- CD2 molécule d'adhésion
- CD3 molécules associées au TCR
- CD4 co-récepteur pour CMH II
- CD5 modulation signalisation TCR
- CD7 costimulation?
- CD8 co-récepteur pour CMH I
- CD28 activation des cellules T naïves
- CD40L activation des cellules B naïves
- ...

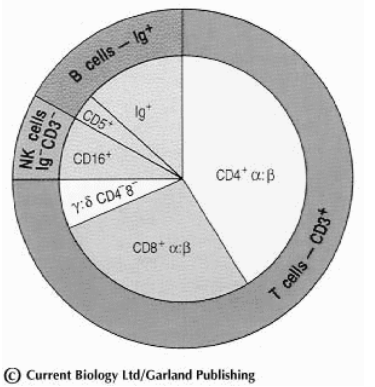
Marqueurs de différenciation B

- CD5 modulation signalisation BCR
- CD19 co-récepteur du BCR
- CD21 co-récepteur du BCR; CR2
- CD28 marqueur d'activation plasmocytes
- CD40 activation des cellules B
- B220 isoforme de CD45
- CD79α/β molécules associées au BCR
- CD80 activation des cellules T (B7.1)
- ...

Cytométrie de flux (1)



Distribution lymphocytaire du sang périphérique humain (PBL)



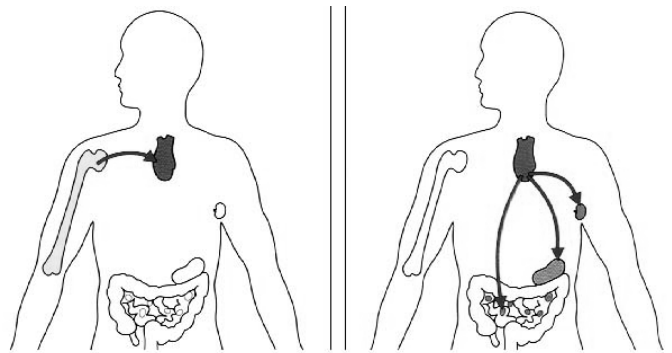
Différenciation des répertoires de lymphocytes B et T

1. Introduction
2. Marqueurs de différenciation lymphocytaires
3. **Développement lymphocytaire T**
4. Développement lymphocytaire B
5. Conclusion

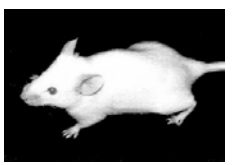
Questions

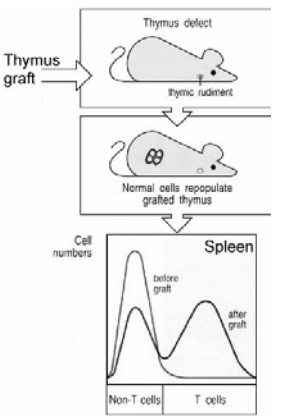
- Engagement des précurseurs communs vers les différentes lignées lymphocytaires
- Régulation de la taille des populations lymphocytaires
- Régulation de la recombinaison V(D)J
  - développement
  - spécificité tissulaire
  - spécificité de lignée
- Sélection des répertoires lymphocytaires

Les lymphocytes T se différencient dans le thymus

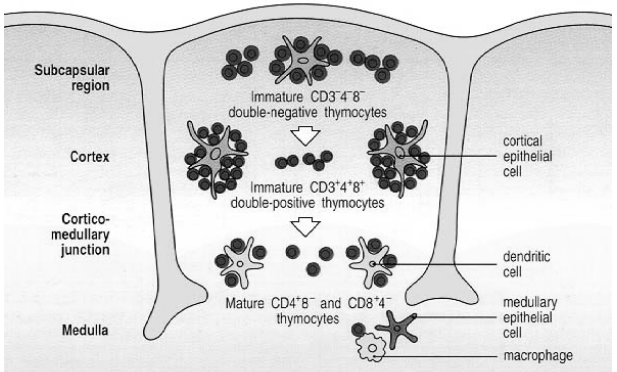


Pas de lymphocytes T chez les enfants athymiques (DiGeorge) ou les souris *nude*





Architecture cellulaire du thymus



Différenciation thymique (1)

- Les différentes populations identifiées correspondent à des stades de différenciation des thymocytes
- Chaque stade peut-être critique pour:
  - les réarrangements du TCR
  - la restriction par le CMH
  - la sélection positive ou négative

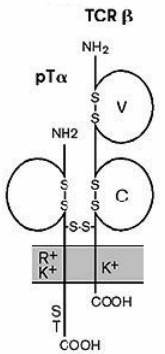
→ notion de *points de contrôle (checkpoint)*

Identification du pré-TCR

- Lors de stades précoces de différenciation, la chaîne TCRβ est trouvée en surface sans la chaîne TCRα

→Identification de la chaîne pTα

→Stade pré-T = expression du pré-TCR (TCRβ/pTα/CD3)

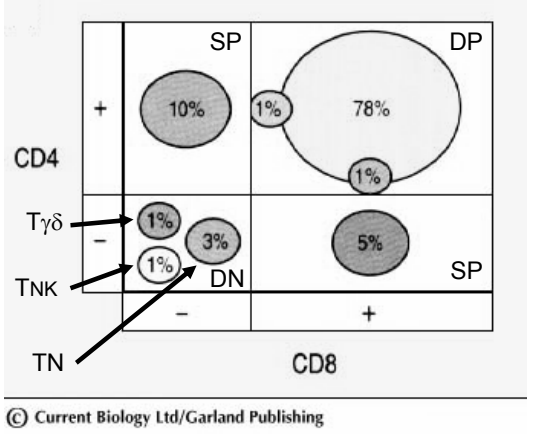


D'après Borst *et al.* (1996) Curr. Op. Immunol. 8:181-190

Rôle critique du pré-TCR

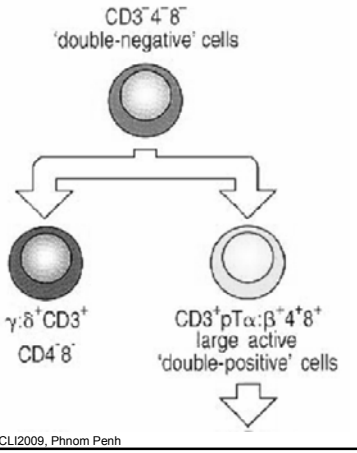
- pTα (gp33) exprimée tôt dans l'ontogénie et associée à CD3/TCRβ
- L'expression du pré-TCR à la surface du thymocyte permet :
  - transition du stade double négatif $CD4^-$ $CD8^-$ (DN, pro-T) vers le stade double positif $CD4^+$ $CD8^+$ (DP, pré-T)
  - exclusion allélique (arrêt des réarrangements TCRβ)
  - prolifération des thymocytes DP
  - induction des réarrangements TCRα

Différenciation thymique (2)



© Current Biology Ltd/Garland Publishing

Différenciation thymique (3)



Engagement (pro-T)
CD3 cytoplasmique

Réarrangements β, γ, δ
pTα cytoplasmique
Engagement αβ/γδ

Expression CD4/CD8
Exclusion allélique β
Prolifération
Réarrangement TCRα

Exclusion allélique

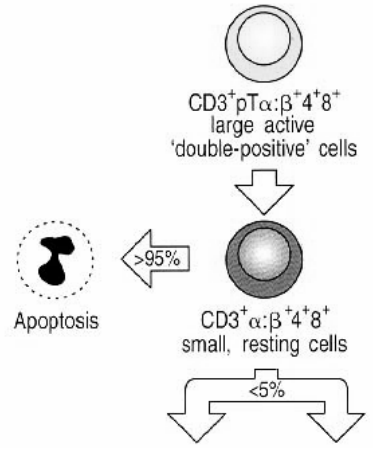
- Un réarrangement TCRβ productif sur un locus TCRβ entraîne l'arrêt de la recombinaison V(D)J sur l'autre locus

→ une seule chaîne TCRβ par cellule T, en accord avec la théorie de sélection clonale

Régulation des réarrangements

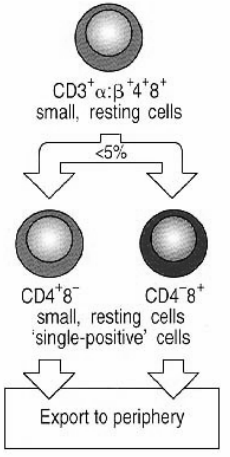
- TCRδ, TCRγ et TCRβ réarrangent en même temps au stade pro-T
- Les réarrangements TCRα sont limités aux thymocytes pré-T DP engagés vers la lignée αβ et exprimant TCRβ
- A l'inverse de TCRβ, les réarrangements TCRα ont lieu sur les deux chromosomes → l'exclusion allélique a lieu au stade post-transcriptionnel
- Très peu de double TCRβ mais souvent double TCRα au niveau ARN (~30%)

Différenciation thymique (4)



Sélection positive
Sélection négative

Différenciation thymique (5)



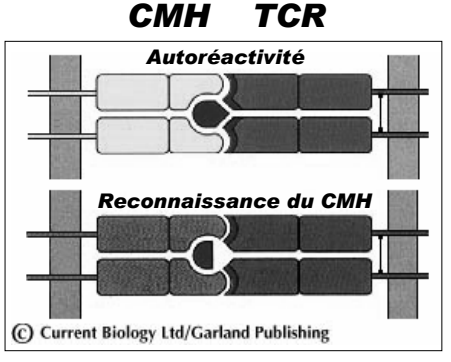
Sélection positive
Sélection négative

Engagement CD4/CD8
Restriction pour le CMH
Fonction effectrice

Sélections positive et négative (1)

- Sélection positive: le TCR doit avoir une certaine réactivité avec une molécule du CMH du soi
- L'expression du co-récepteur CD4/CD8 suit la restriction pour le CMH
  → CD4/classe II et CD8/classe I
- Sélection négative: les cellules T autoréactives (reconnaissant CMH +.peptide du soi) sont éliminées

Sélections positive et négative (2)

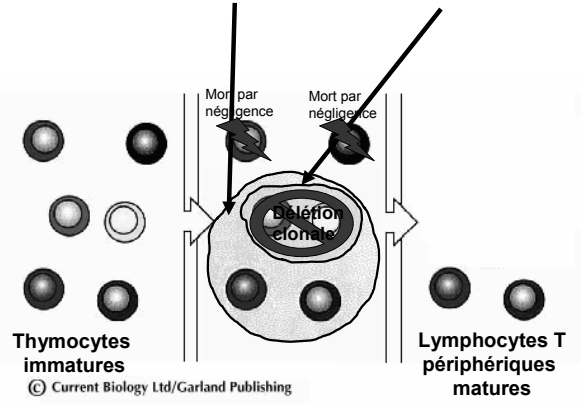


Sélection négative

Sélection positive

→ *Éducation thymique*

Sélections positive et négative (3)



Développement T chez l'homme (2)

- Dès huit semaines de gestation, on observe la synthèse de chaînes TCRβ en même temps que la colonisation du thymus par des précurseurs T
- Les premières cellules $\gamma\delta$ et $\alpha\beta$ apparaissent en même temps
- Le répertoire T est en place dès la fin du premier trimestre de gestation

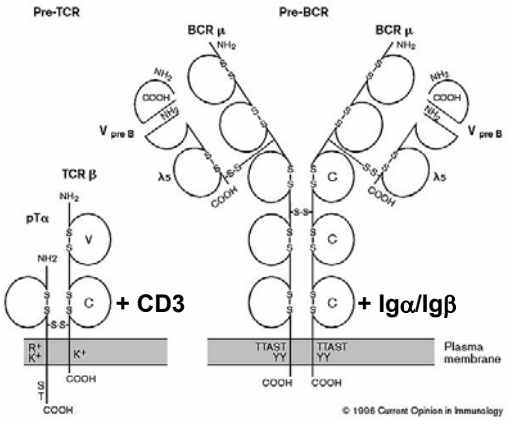
Développement T chez l'homme (3)

- Les cellules T$\gamma\delta$ représentent 1 à 5 % des lymphocytes T dans tous les tissus
- Vie fœtale:
  - prédominance Vδ2-Dδ3 et Vγ2-Jγ1
  - Jonctions simples
- Après la naissance:
  - Vδ1-Dδ1,Dδ2 et Vγ1-Jγ2
  - Jonctions complexes (N addition, DDδ)

Différenciation des répertoires de lymphocytes B et T

1. Introduction
2. Marqueurs de différenciation lymphocytaires
3. Développement lymphocytaire T
4. **Développement lymphocytaire B**
5. Conclusion

Caractérisation du pré-BCR



D'après Borst *et al.* (1996) Curr. Op. Immunol. 8:181-190

Rôle du pré-BCR

- *Exclusion allélique*: Un réarrangement IgH productif sur un locus IgH entraîne l'arrêt de la recombinaison V(D)J sur l'autre locus

→Une seule chaîne IgH produite par cellule B, en accord avec la théorie de sélection clonale

- *Prolifération des cellules pré-B*:

→Enrichissement en réarrangements productifs

- *…Induction des réarrangements IgL*:

→Production d'une Ig complète

Différenciation des lymphocytes B (1)

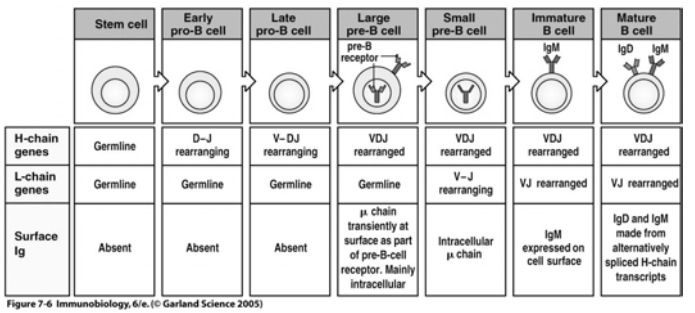


Figure 7-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Différenciation des lymphocytes B (2)

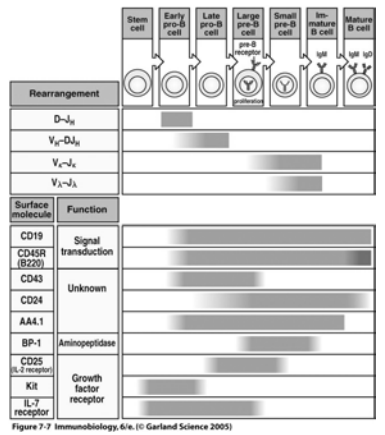
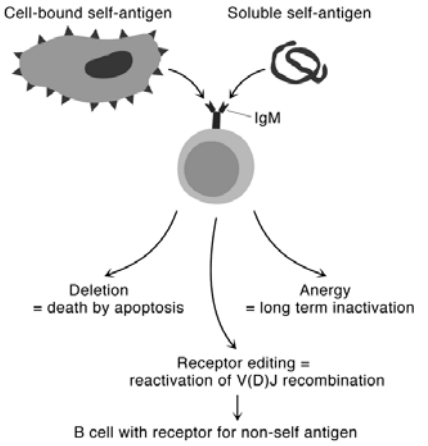


Figure 7-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Sélection des lymphocytes B

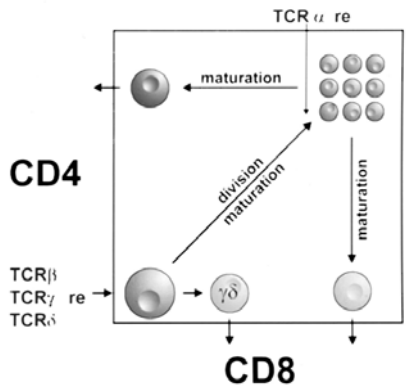


© 2000 John Wiley & Sons, Inc.

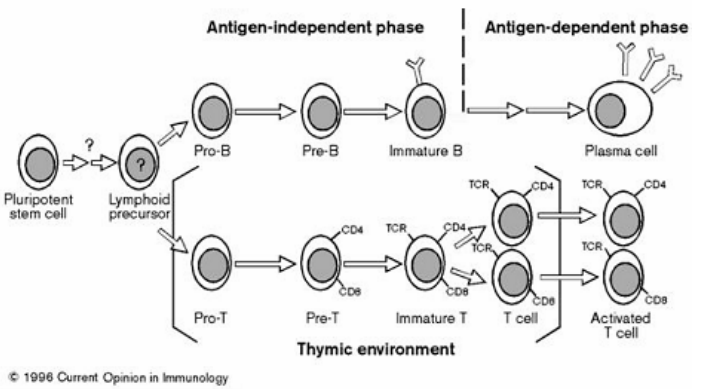
Différenciation des répertoires de lymphocytes B et T

1. Introduction
2. Marqueurs de différenciation lymphocytaires
3. Développement lymphocytaire T
4. Développement lymphocytaire B
5. **Conclusion**

Rappel différenciation T



Parallèle de la différenciation B et T



D'après Fitzsimmons et Hagman (1996) Curr. Op. Immunol. 8:166-174