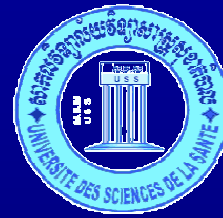


DES de Biologie Médicale Enseignement d'Immunologie



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

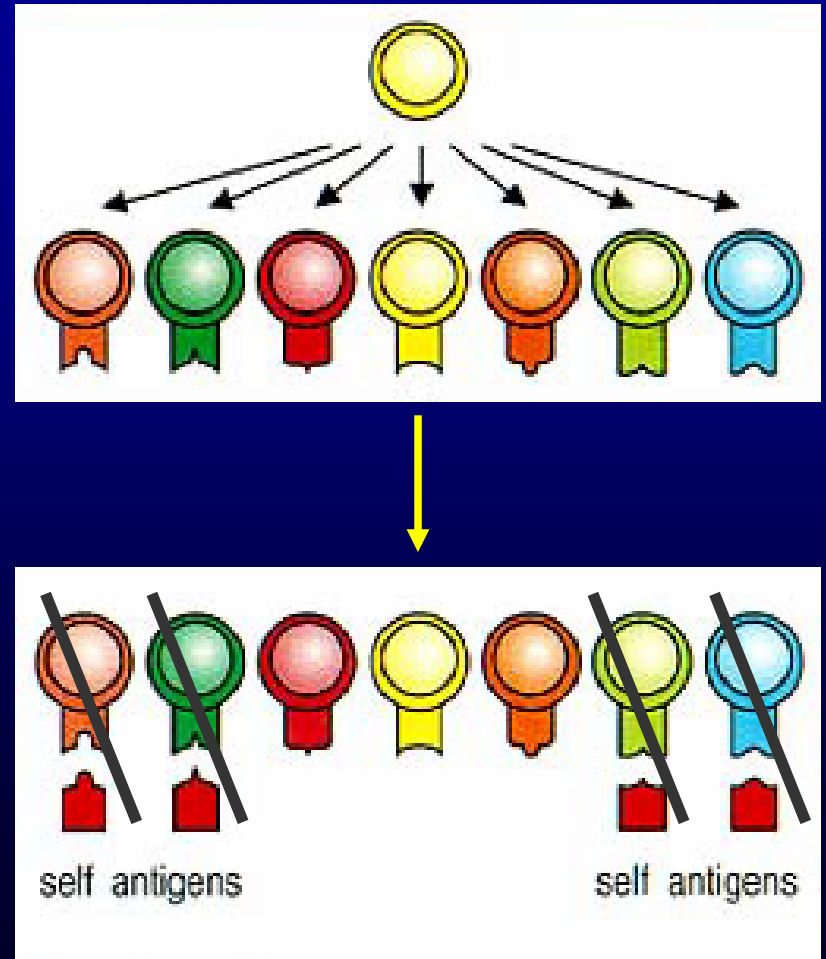
4. Développement lymphocytaire B

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

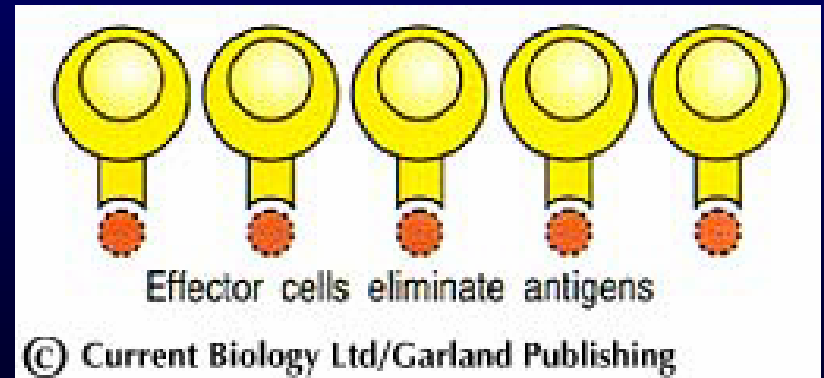


Théorie de la sélection clonale (2)

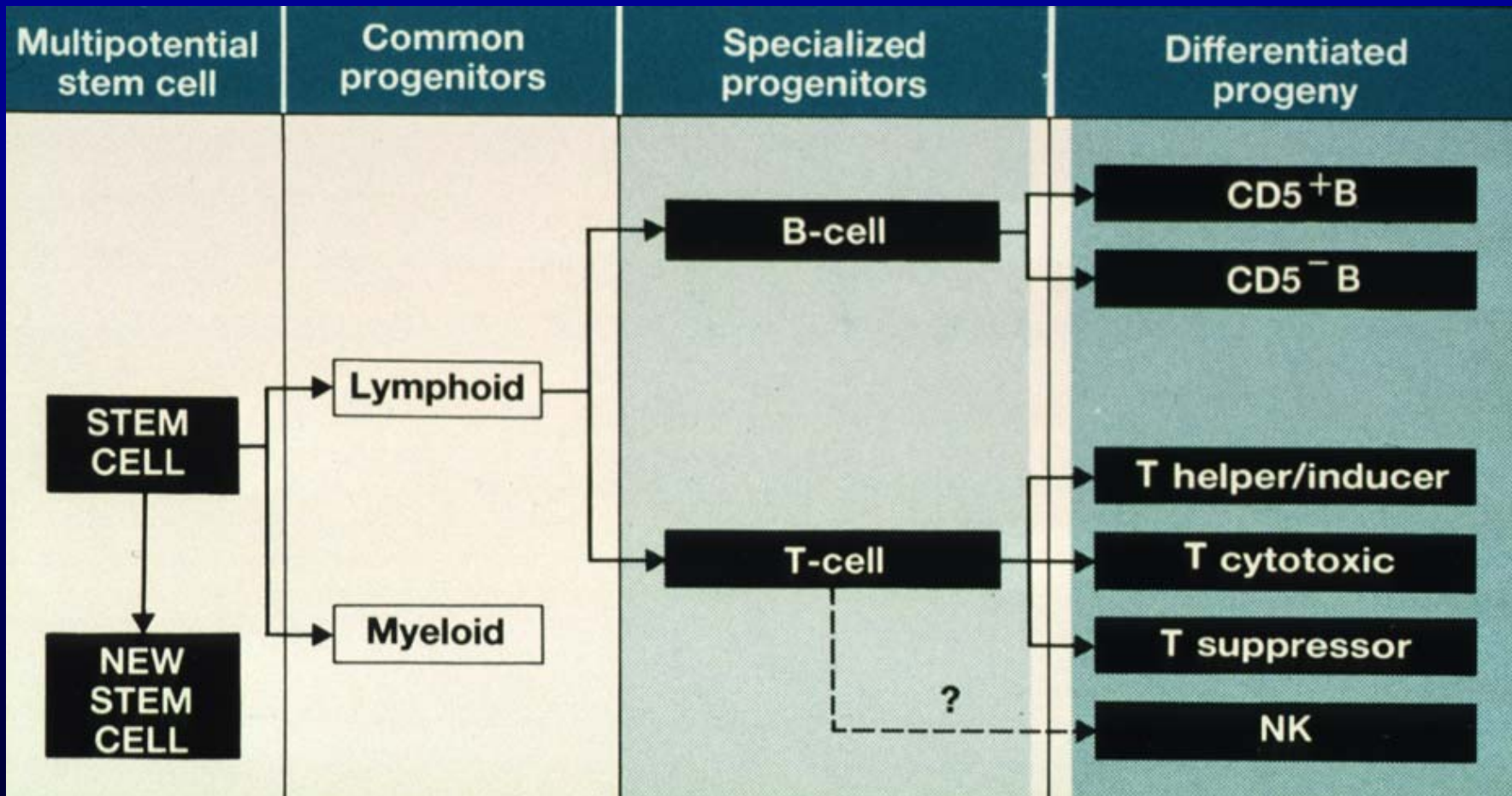
- La liaison avec une bonne affinité d'une molécule étrangère et d'un récepteur entraîne l'activation du lymphocyte



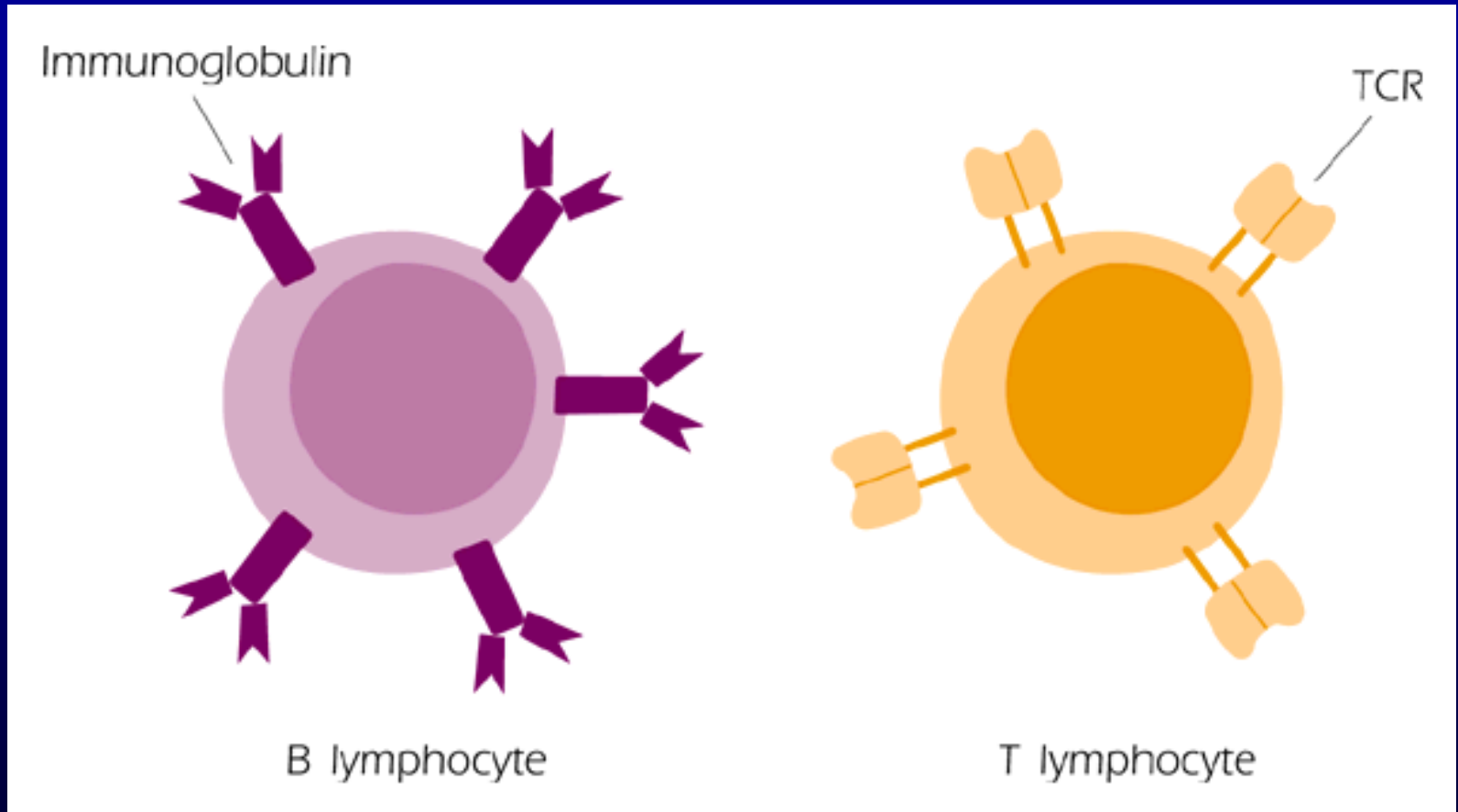
- Les cellules effectrices différenciées à partir d'un lymphocyte activé donné expriment des récepteurs de même spécificité



La lignée lymphocytaire



Les lymphocytes B et T



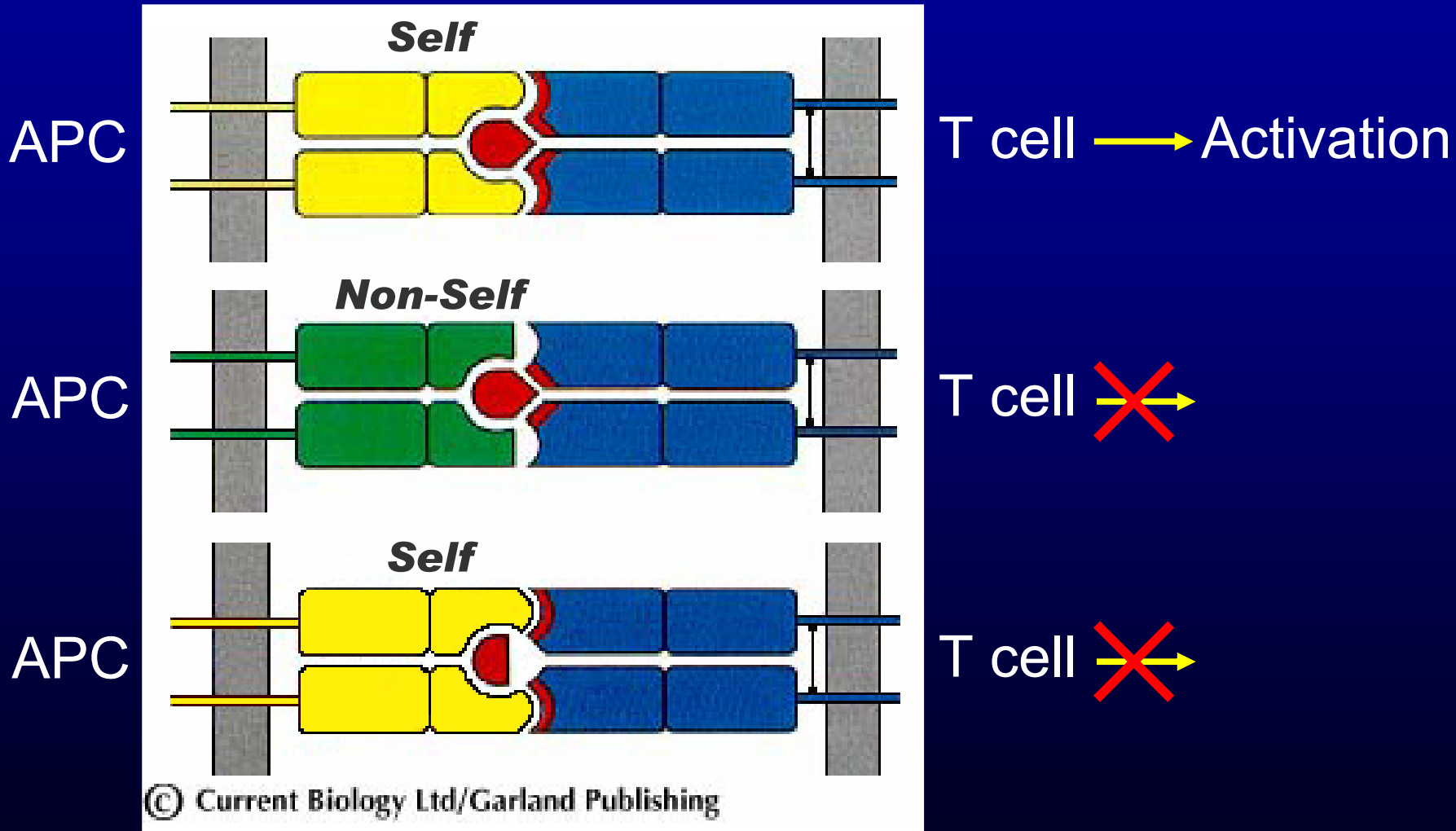
→ caractérisés par leur récepteur spécifique d'antigène

Reconnaissance par le TCR $\alpha\beta$

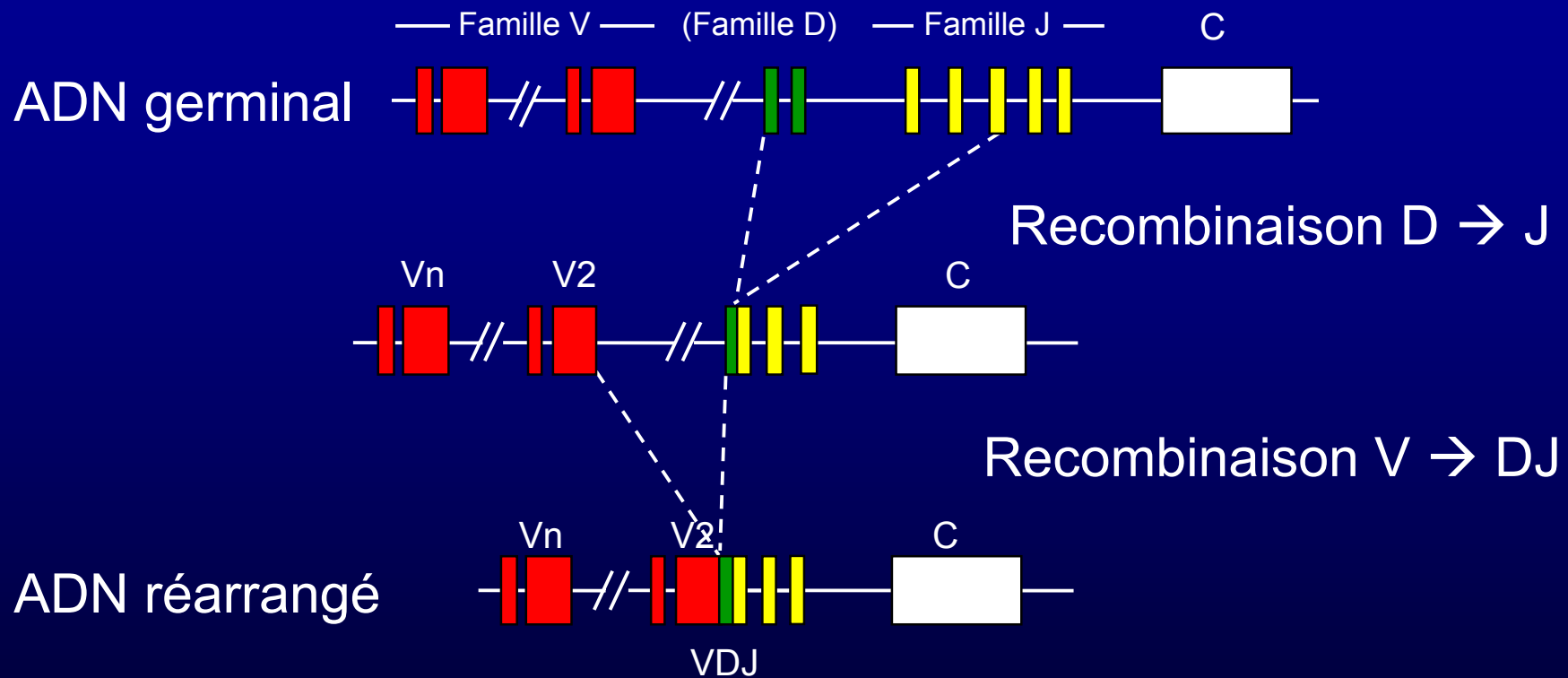
- A l'inverse des anticorps qui reconnaissent les protéines natives, le TCR reconnaît des petits *peptides*
 - produits de dégradation des protéines
 - présentés les molécules du MHC
- Pendant leur différenciation dans le thymus, les lymphocytes T sont “*éduqués*” pour reconnaître les molécules du CMH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

Restriction par le CMH

CMH TCR



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)

Différenciation lymphocytaire T & B

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

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 (!)

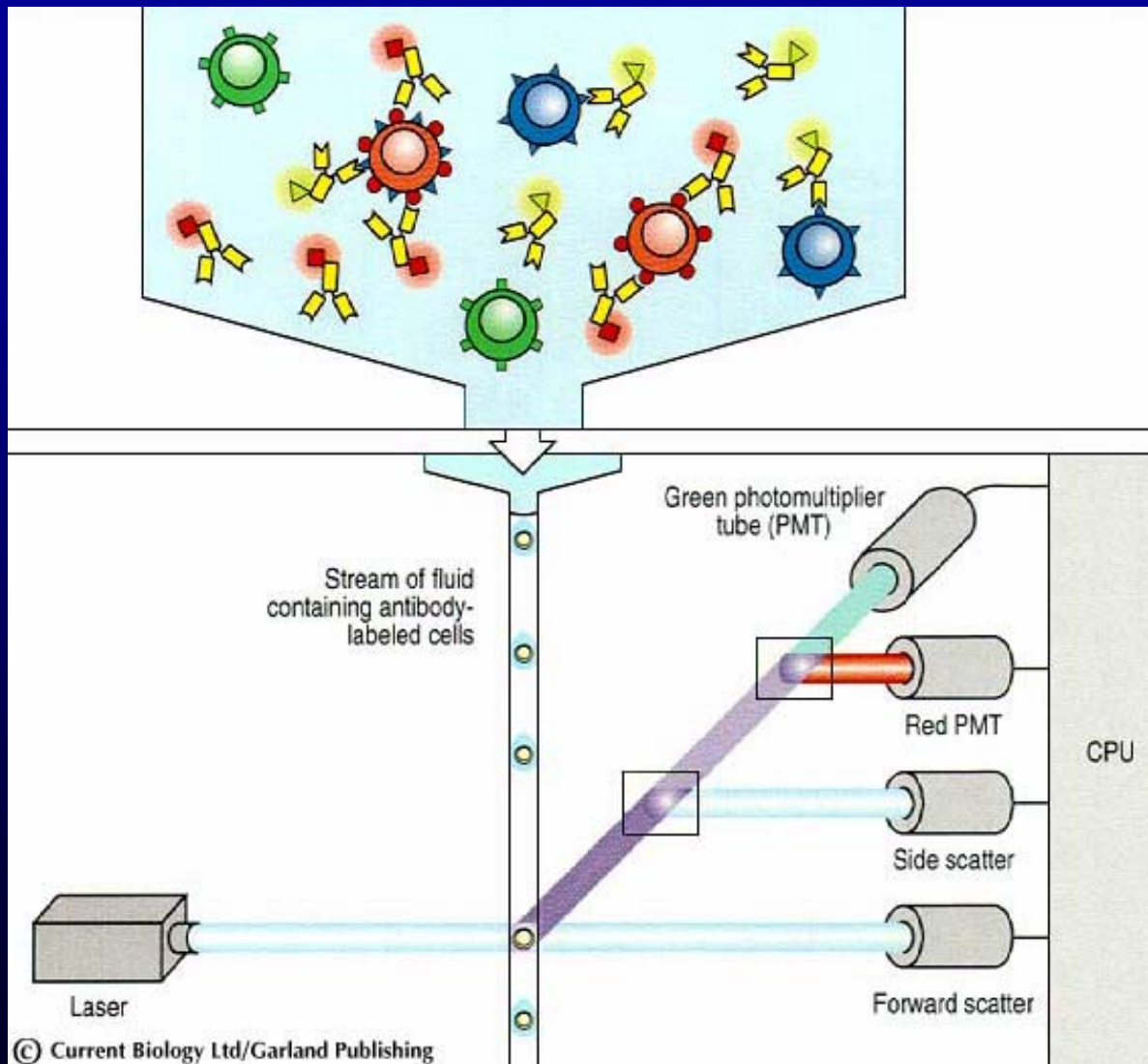
Marqueurs de différenciation T

- 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
- ...

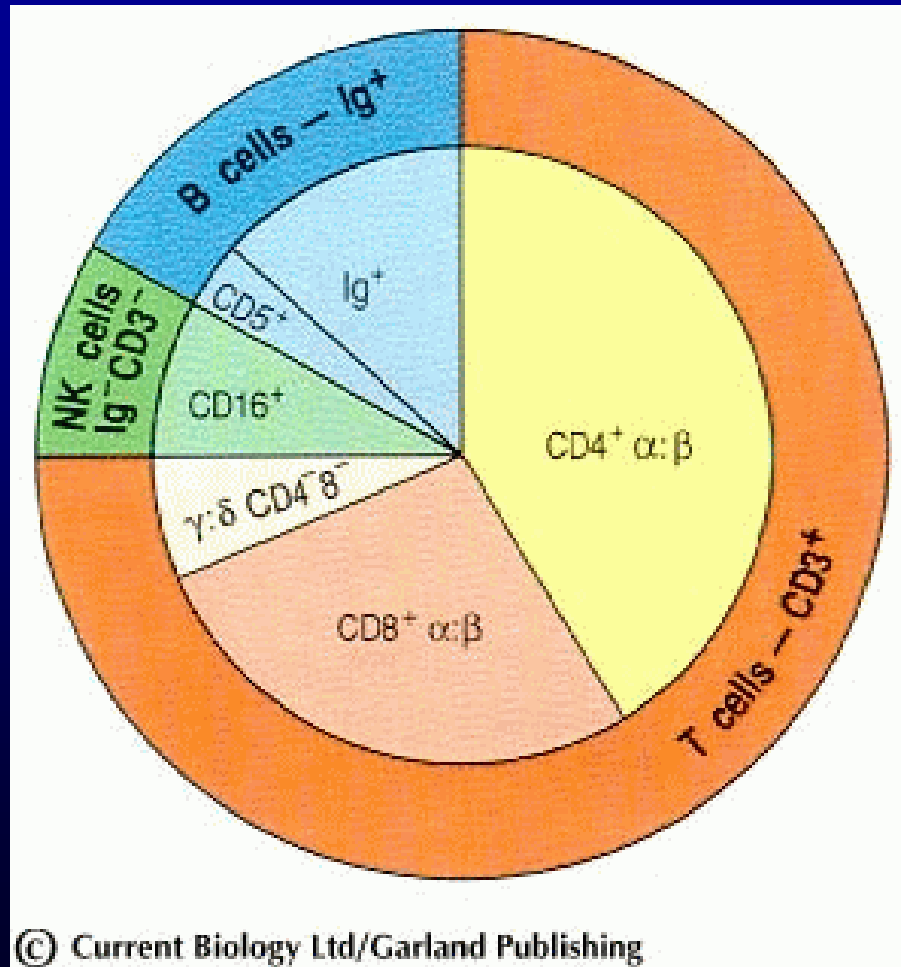
Marqueurs de différenciation B

- 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
- CD79 α/β molécules associées au BCR
- CD80 activation des cellules T (B7.1)
- ...

Cytométrie de flux (1)



Distribution lymphocytaire du sang périphérique humain (PBL)



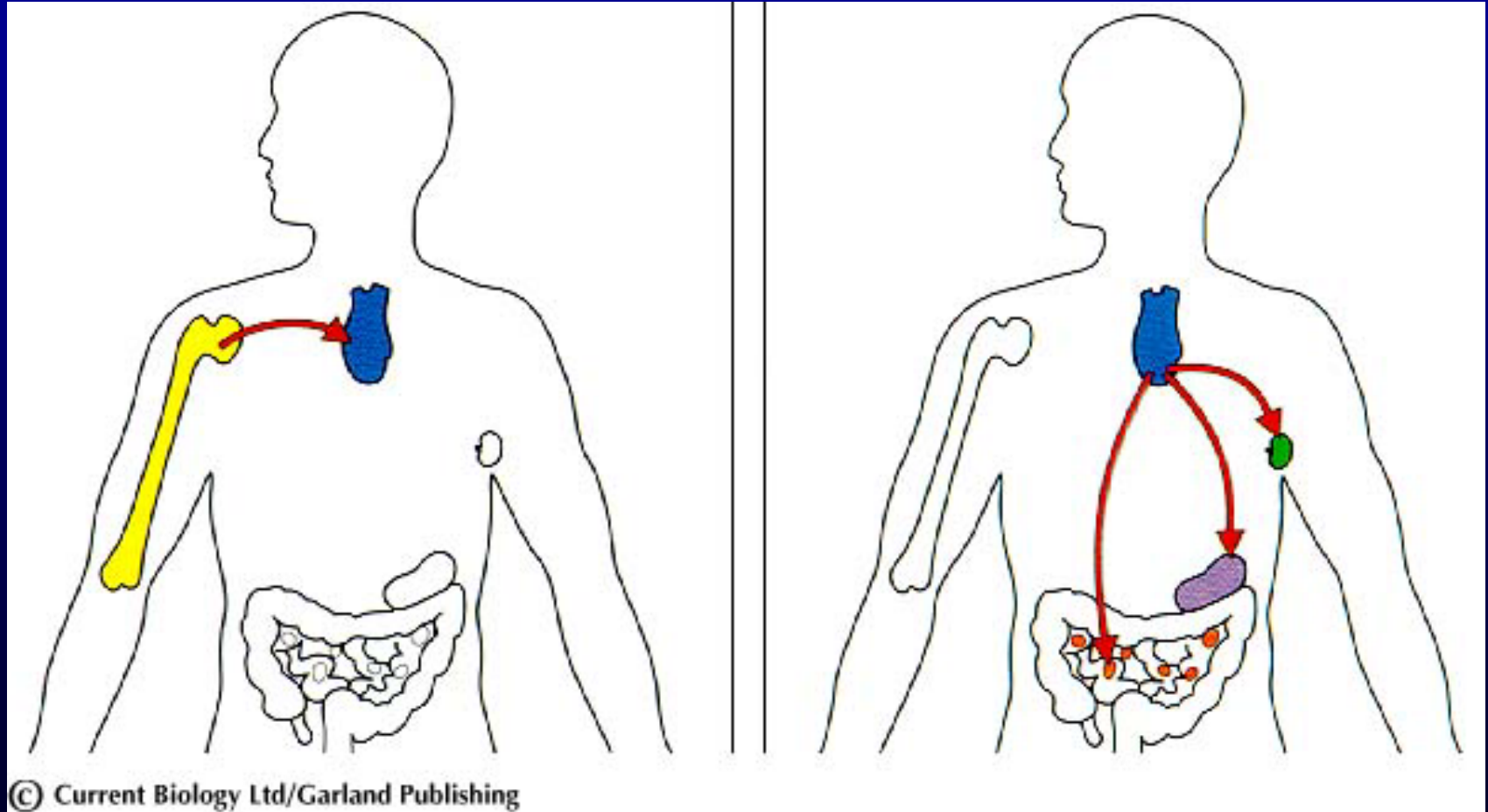
Différenciation des répertoires de lymphocytes B et T

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

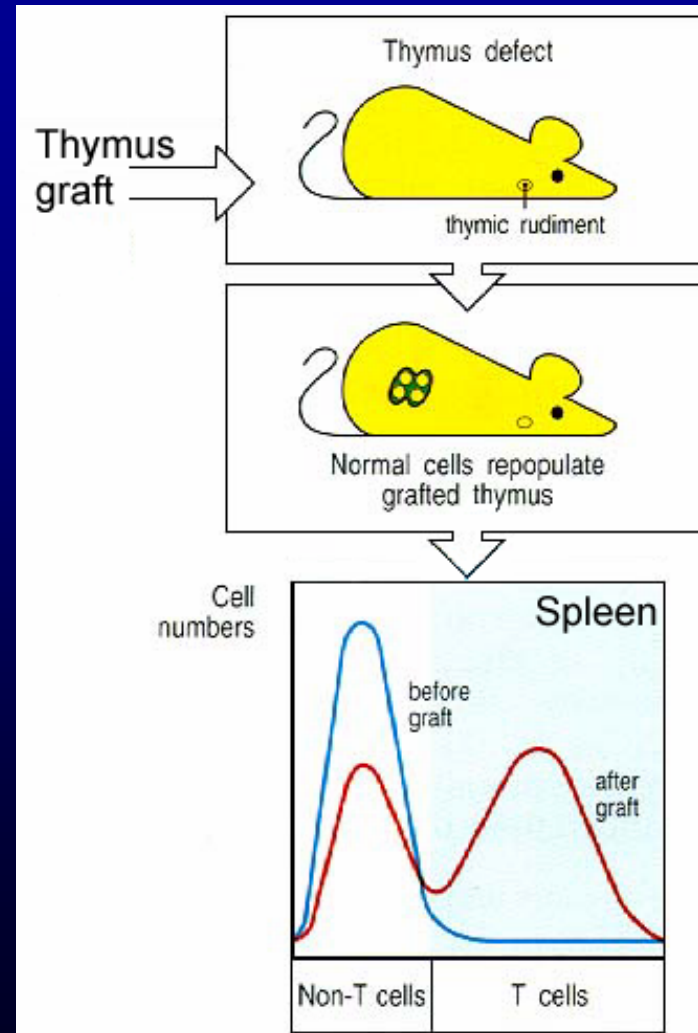
Questions

- 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

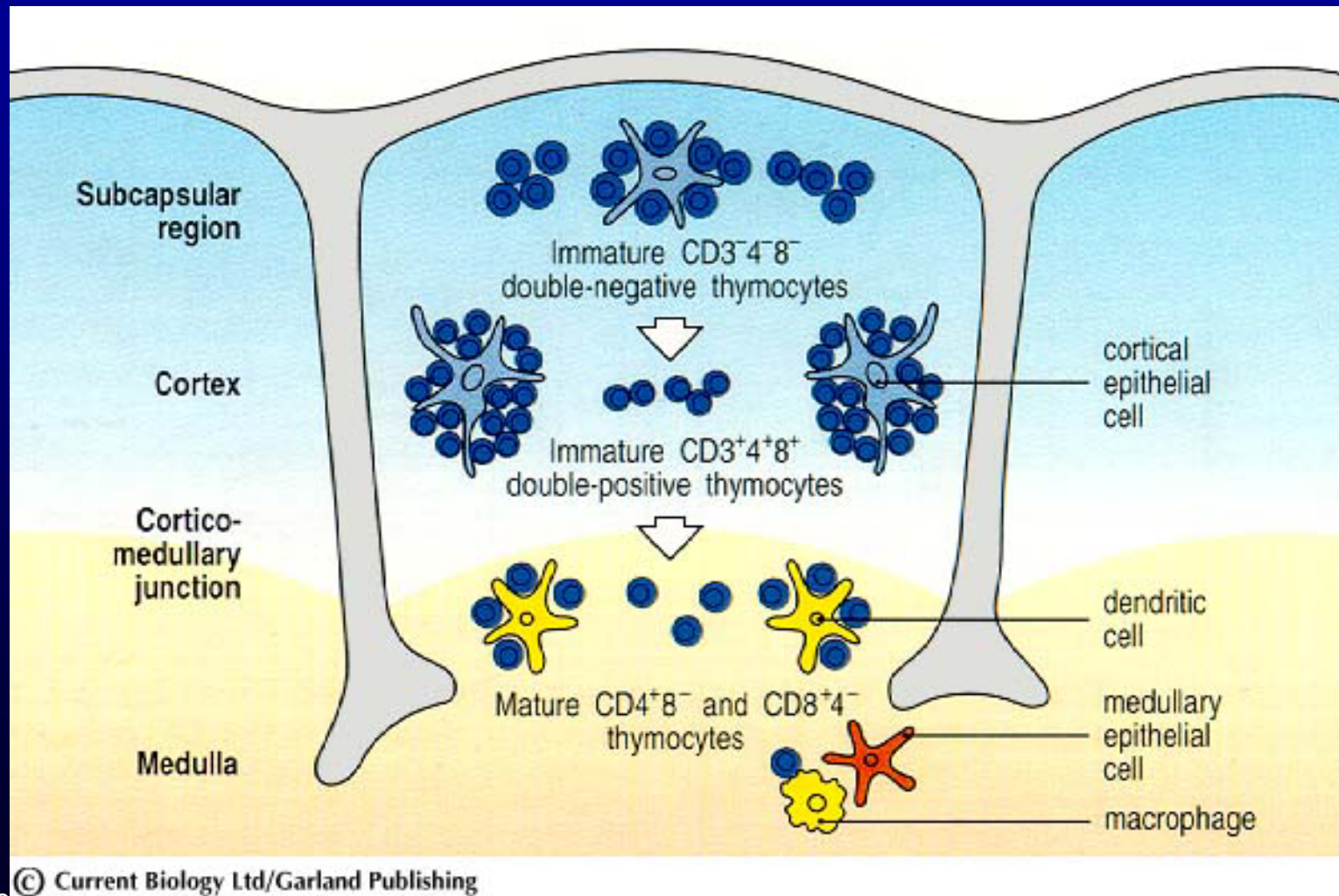
Les lymphocytes T se différencient dans le thymus



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



Architecture cellulaire du thymus



Différenciation thymique (1)

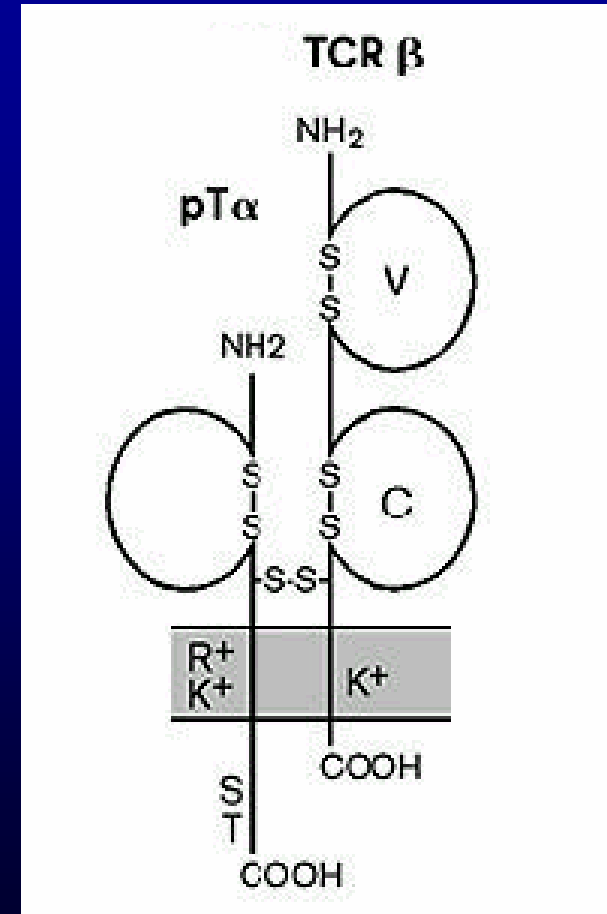
- Les différentes populations identifiées correspondent à des stades de différenciation des thymocytes
 - Chaque stade peut-être critique pour:
 - les réarrangements du TCR
 - la restriction par le CMH
 - la sélection positive ou négative
- notion de *points de contrôle (checkpoint)*

Identification du pré-TCR

- Lors de stades précoces de différenciation, la chaîne TCR β est trouvée en surface sans la chaîne TCR α

→ Identification de la chaîne pT α

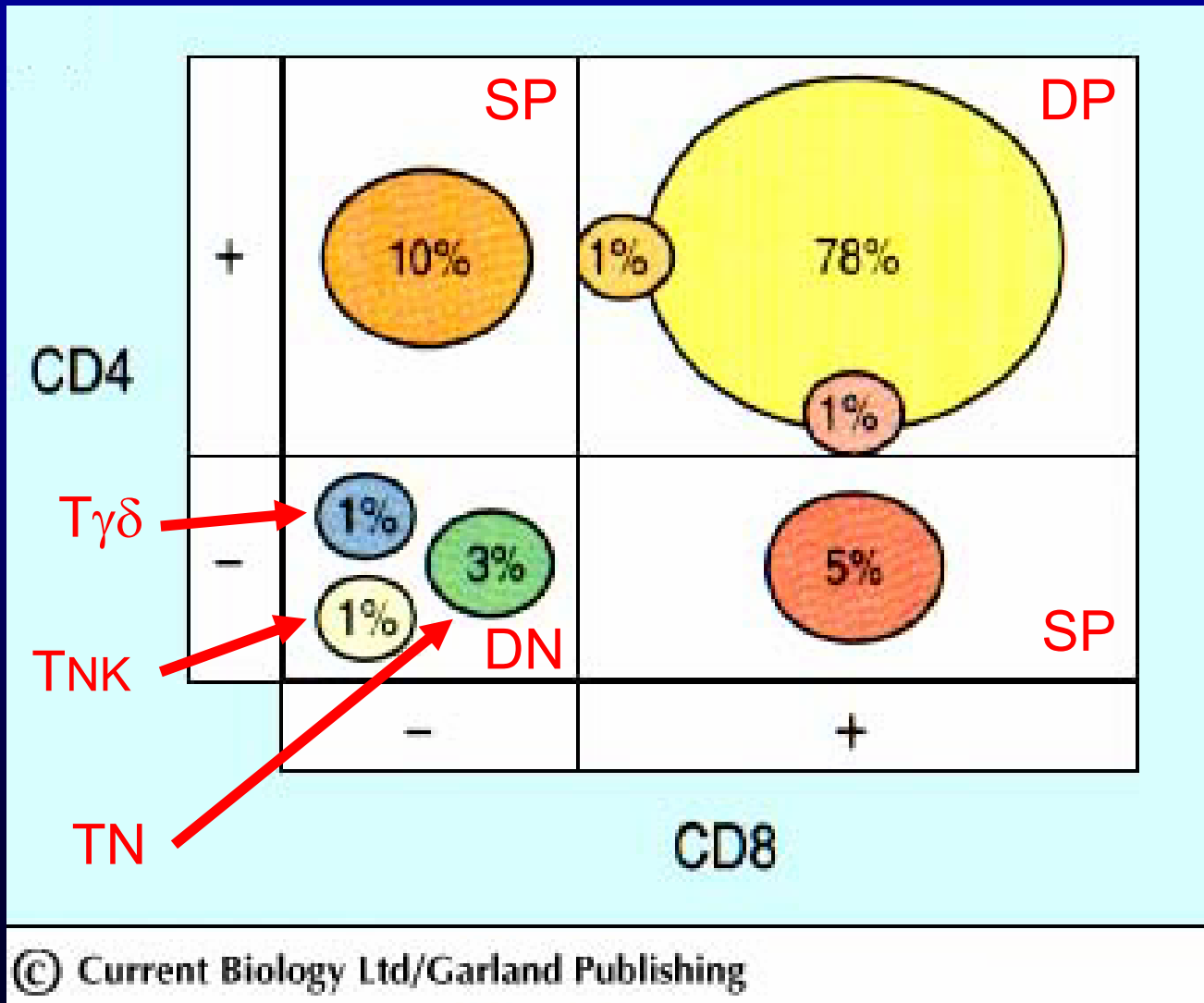
→ Stade pré-T = expression du pré-TCR (TCR β /pT α /CD3)



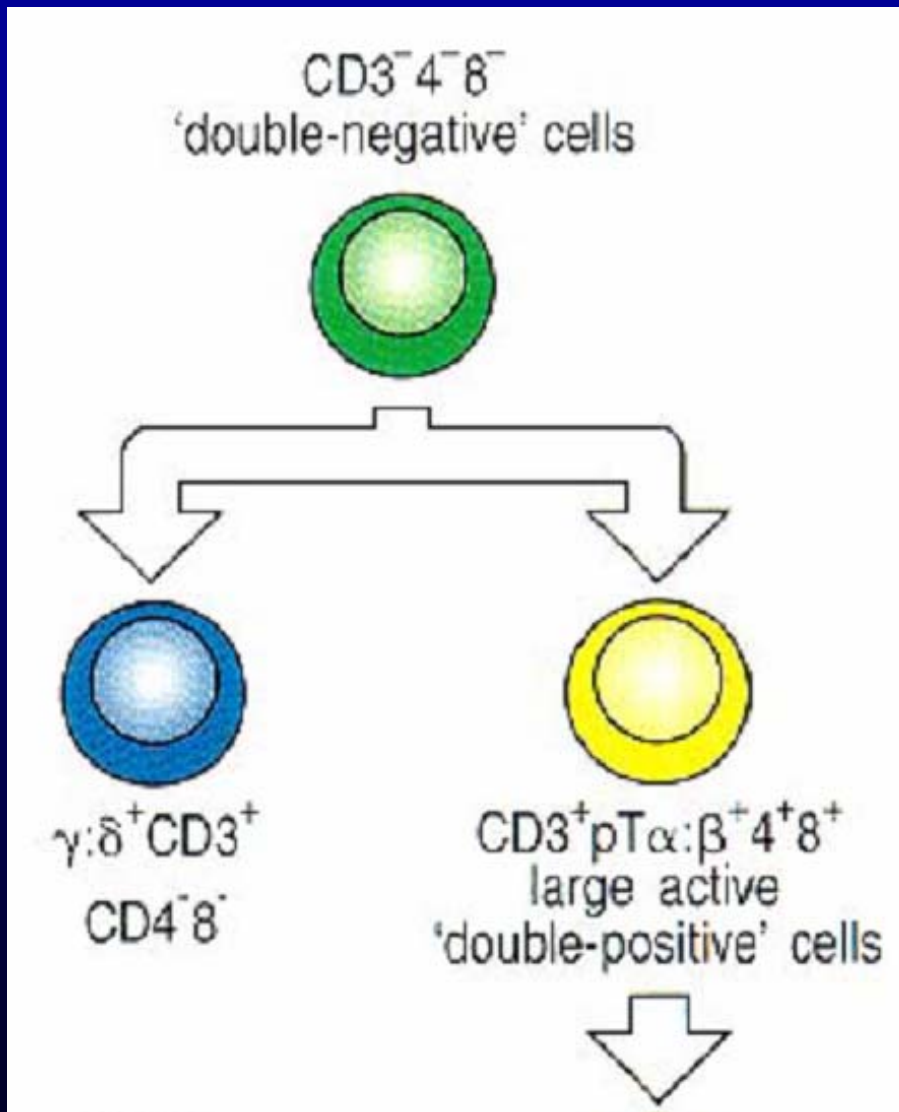
Rôle critique du pré-TCR

- pT α (gp33) exprimée tôt dans l'ontogénie et associée à CD3/TCR β
- 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 TCR β)
 - prolifération des thymocytes DP
 - induction des réarrangements TCR α

Différenciation thymique (2)



Différenciation thymique (3)



Engagement (pro-T)
CD3 cytoplasmique

Réarrangements β, γ, δ
pT α cytoplasmique
Engagement $\alpha\beta/\gamma\delta$

Expression CD4/CD8
Exclusion allélique β
Prolifération
Réarrangement TCR α

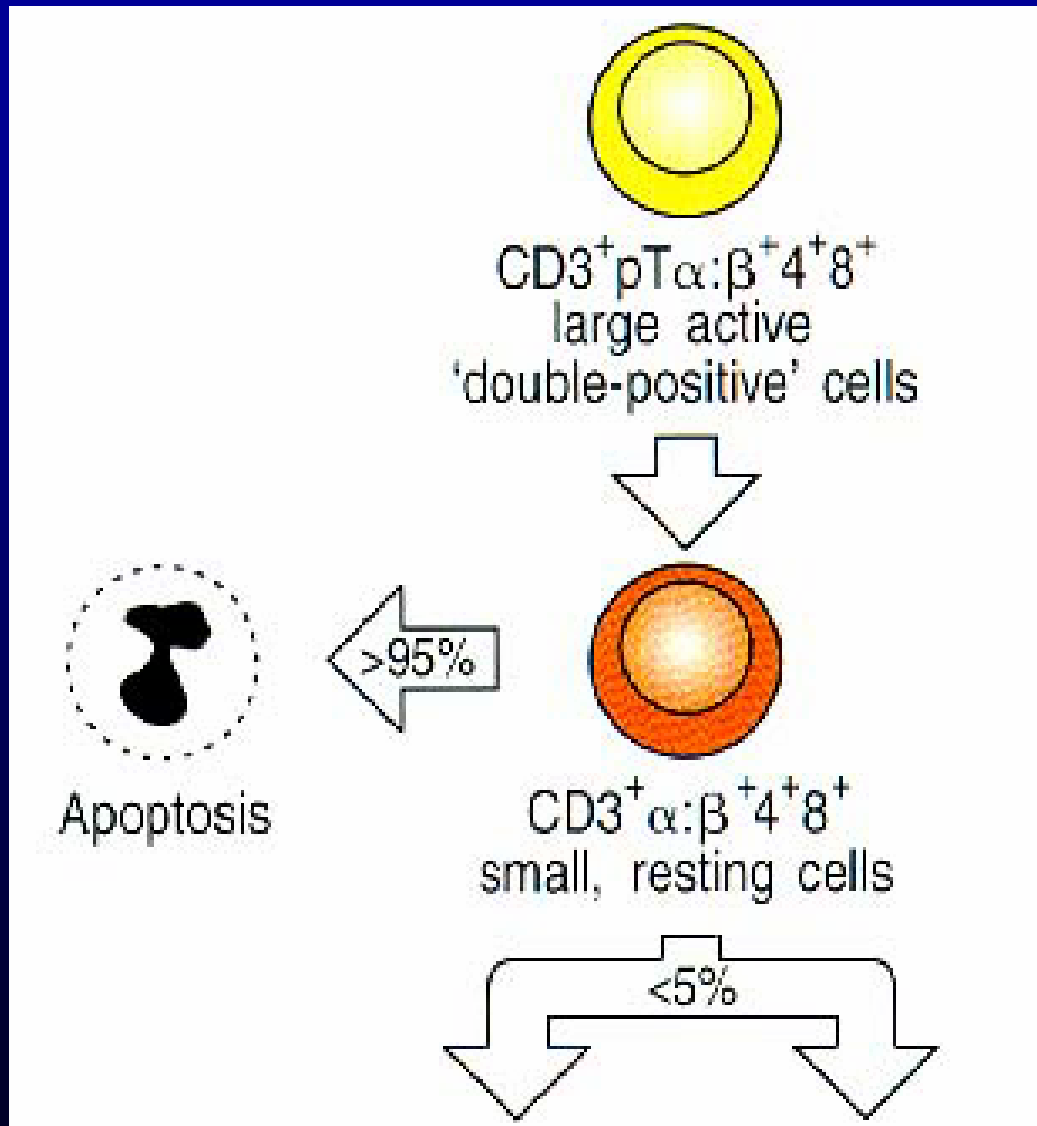
Exclusion allélique

- Un réarrangement TCR β productif sur un locus TCR β entraîne l'arrêt de la recombinaison V(D)J sur l'autre locus
- une seule chaîne TCR β par cellule T, en accord avec la théorie de sélection clonale

Régulation des réarrangements

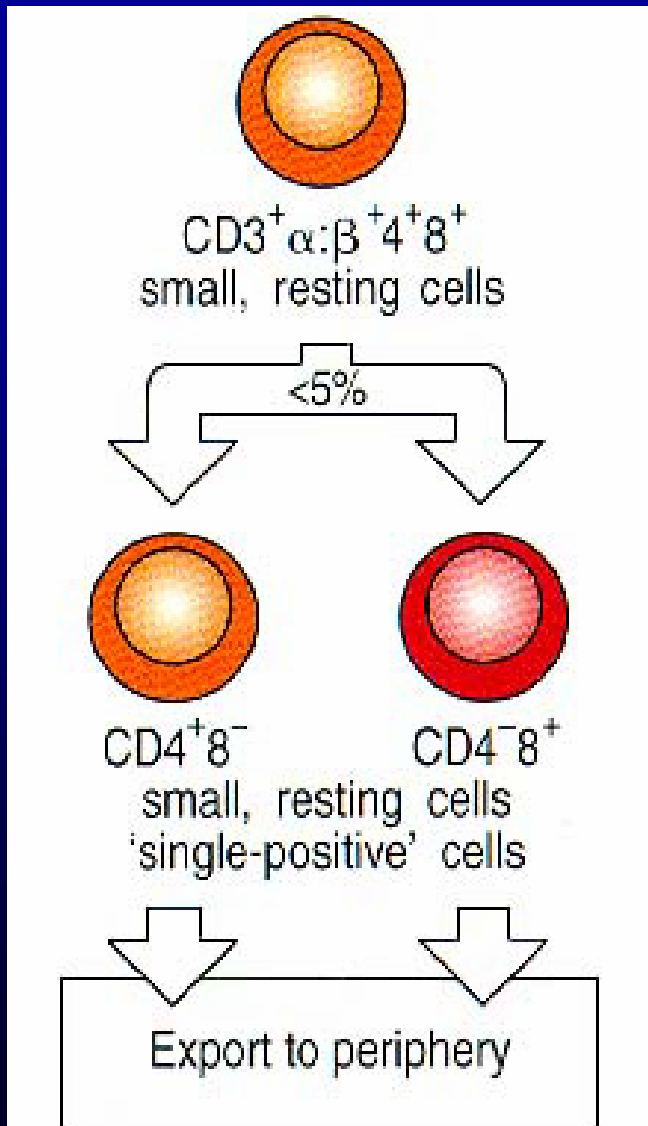
- TCR δ , TCR γ et TCR β réarrangent en même temps au stade pro-T
- Les réarrangements TCR α sont limités aux thymocytes pré-T DP engagés vers la lignée $\alpha\beta$ et exprimant TCR β
- A l'inverse de TCR β , les réarrangements TCR α ont lieu sur les deux chromosomes → l'exclusion allélique a lieu au stade post-transcriptionnel
- Très peu de double TCR β mais souvent double TCR α au niveau ARN (~30%)

Différenciation thymique (4)



Sélection positive
Sélection négative

Différenciation thymique (5)



Sélection positive
Sélection négative

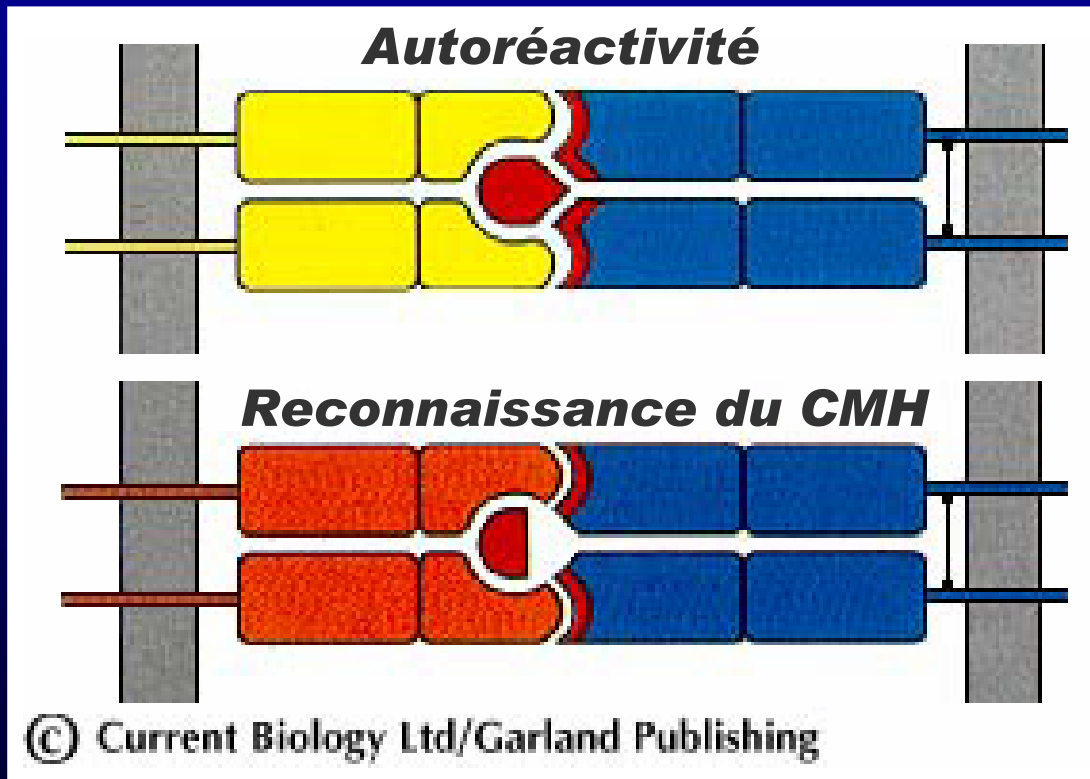
Engagement CD4/CD8
Restriction pour le CMH
Fonction effectrice

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)

CMH TCR

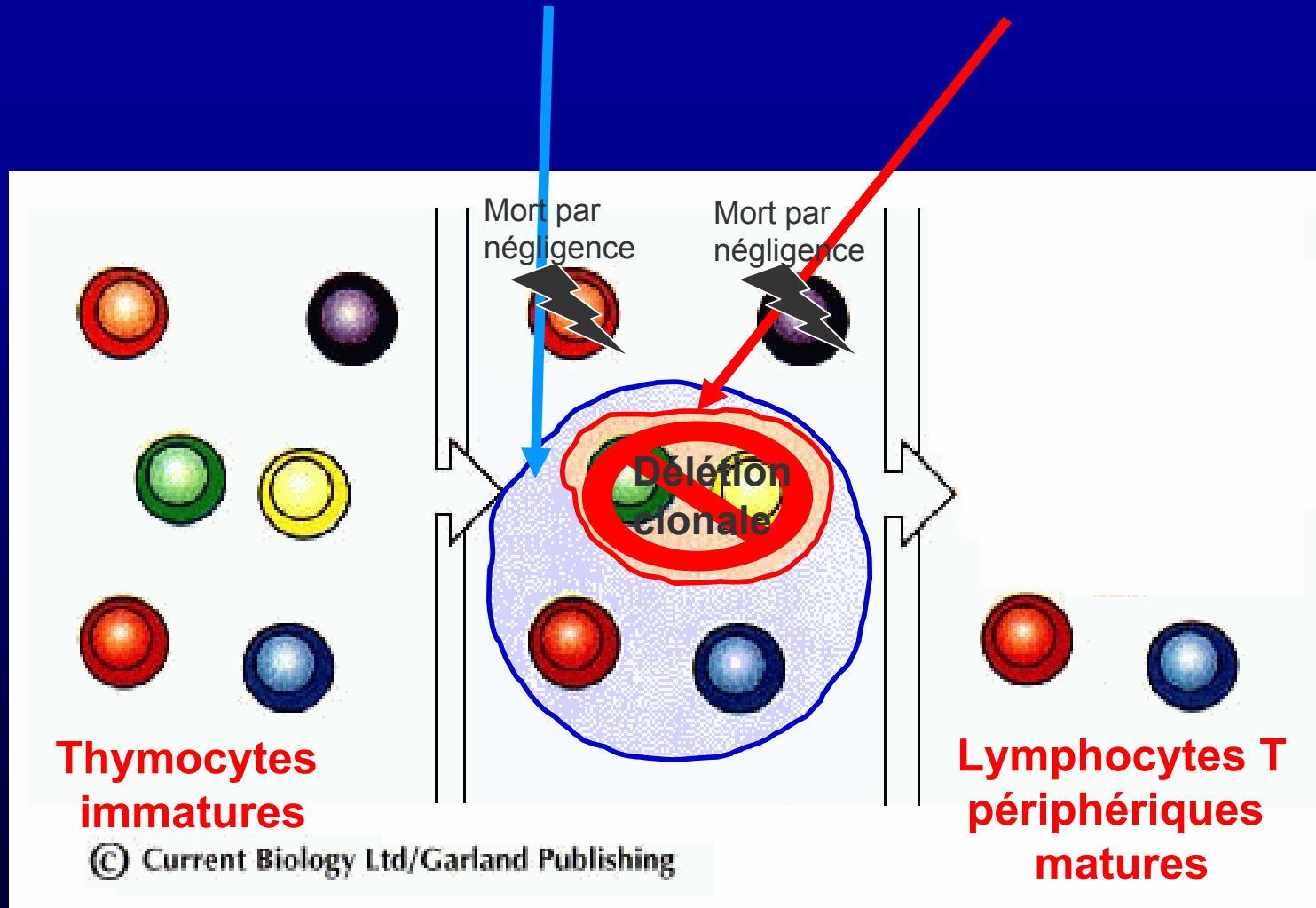


→ **Sélection négative**

→ **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 TCR β 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

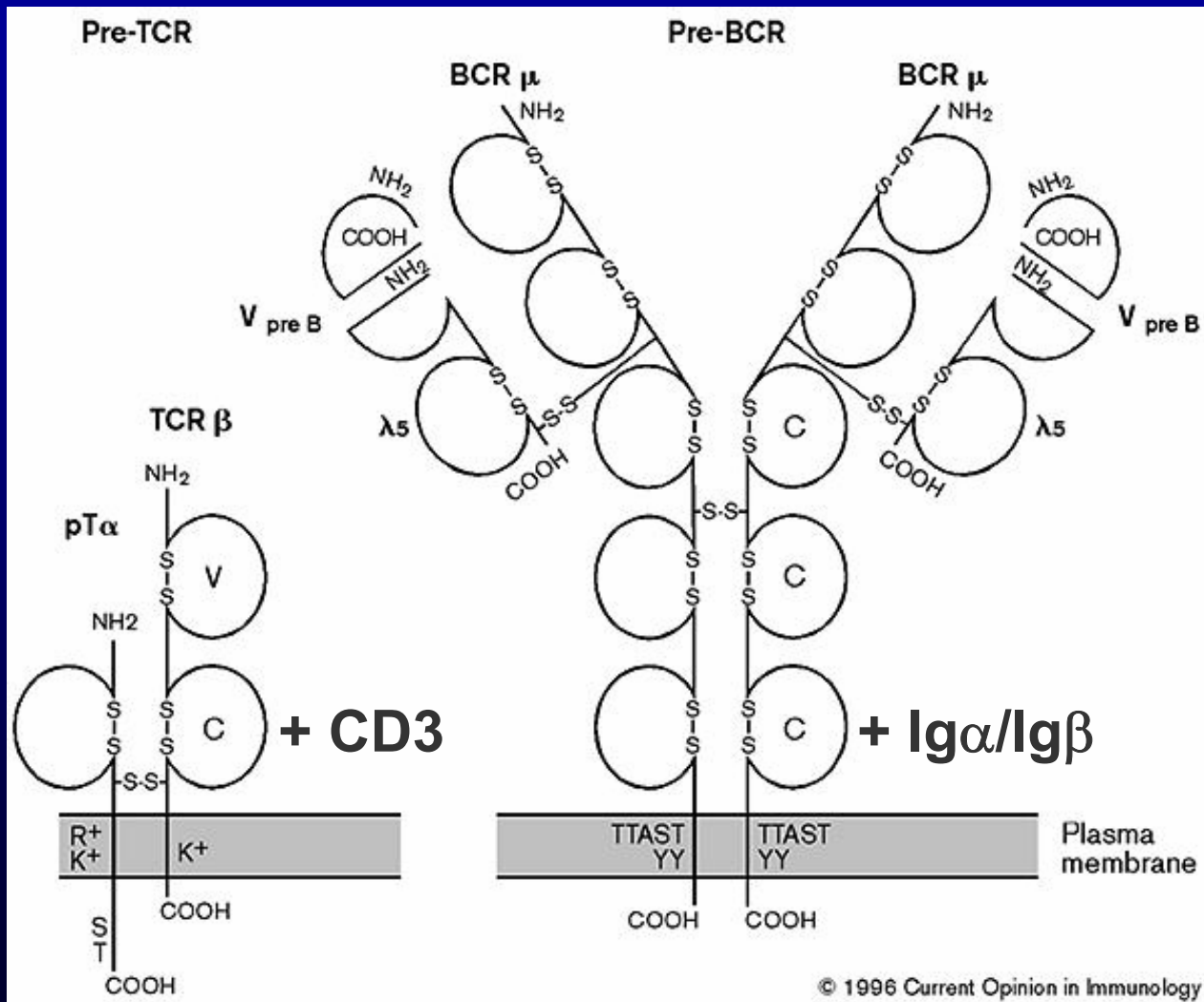
Développement T chez l'homme (3)

- Les cellules $T_{\gamma\delta}$ représentent 1 à 5 % des lymphocytes T dans tous les tissus
- Vie foëtale:
 - prédominance $V\delta 2$ - $D\delta 3$ et $V\gamma 2$ - $J\gamma 1$
 - Jonctions simples
- Après la naissance:
 - $V\delta 1$ - $D\delta 1, D\delta 2$ et $V\gamma 1$ - $J\gamma 2$
 - Jonctions complexes (N addition, $DD\delta$)

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



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)

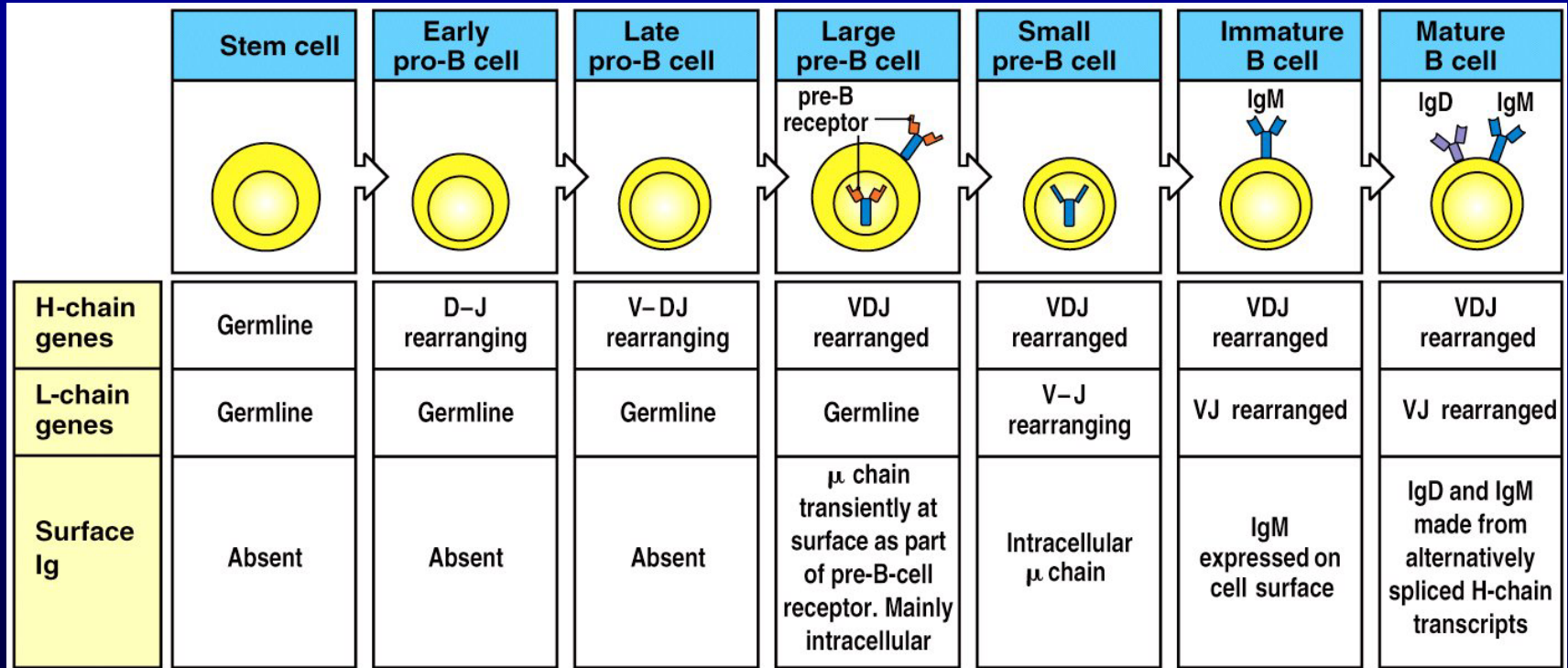


Figure 7-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Différenciation des lymphocytes B (2)

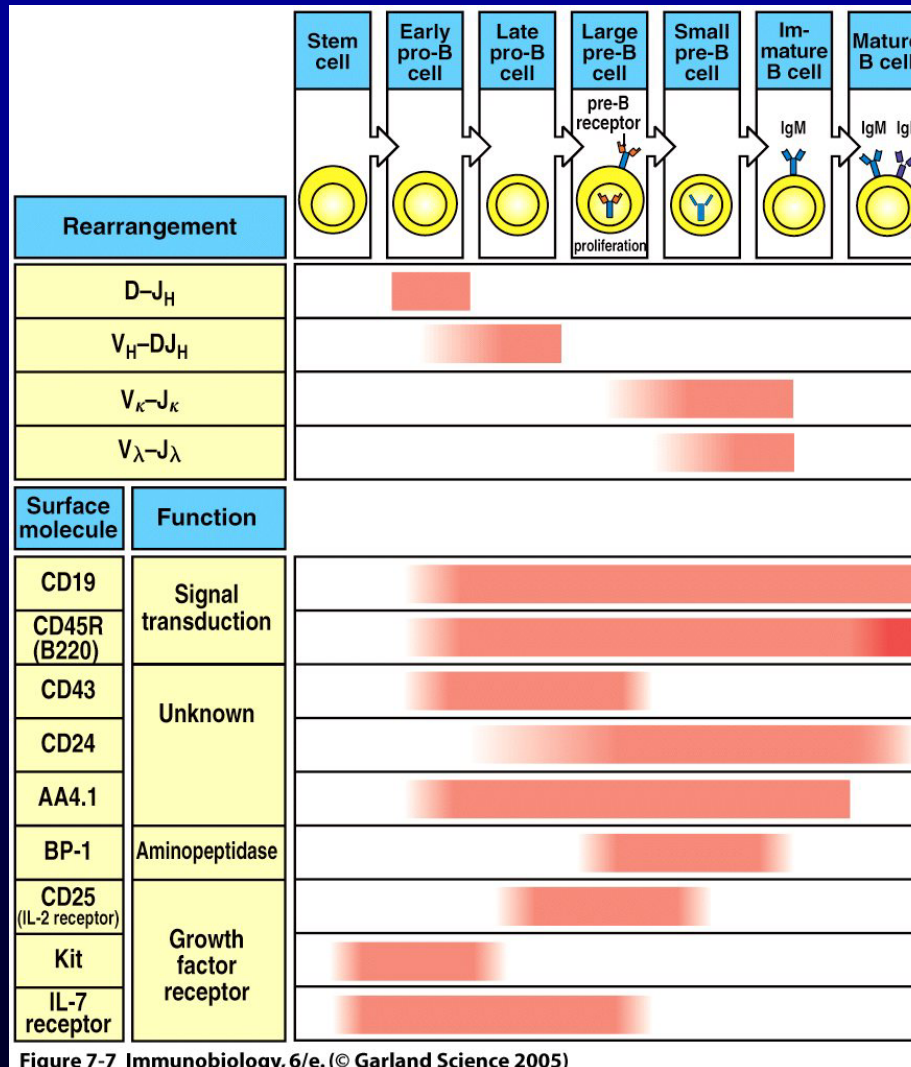
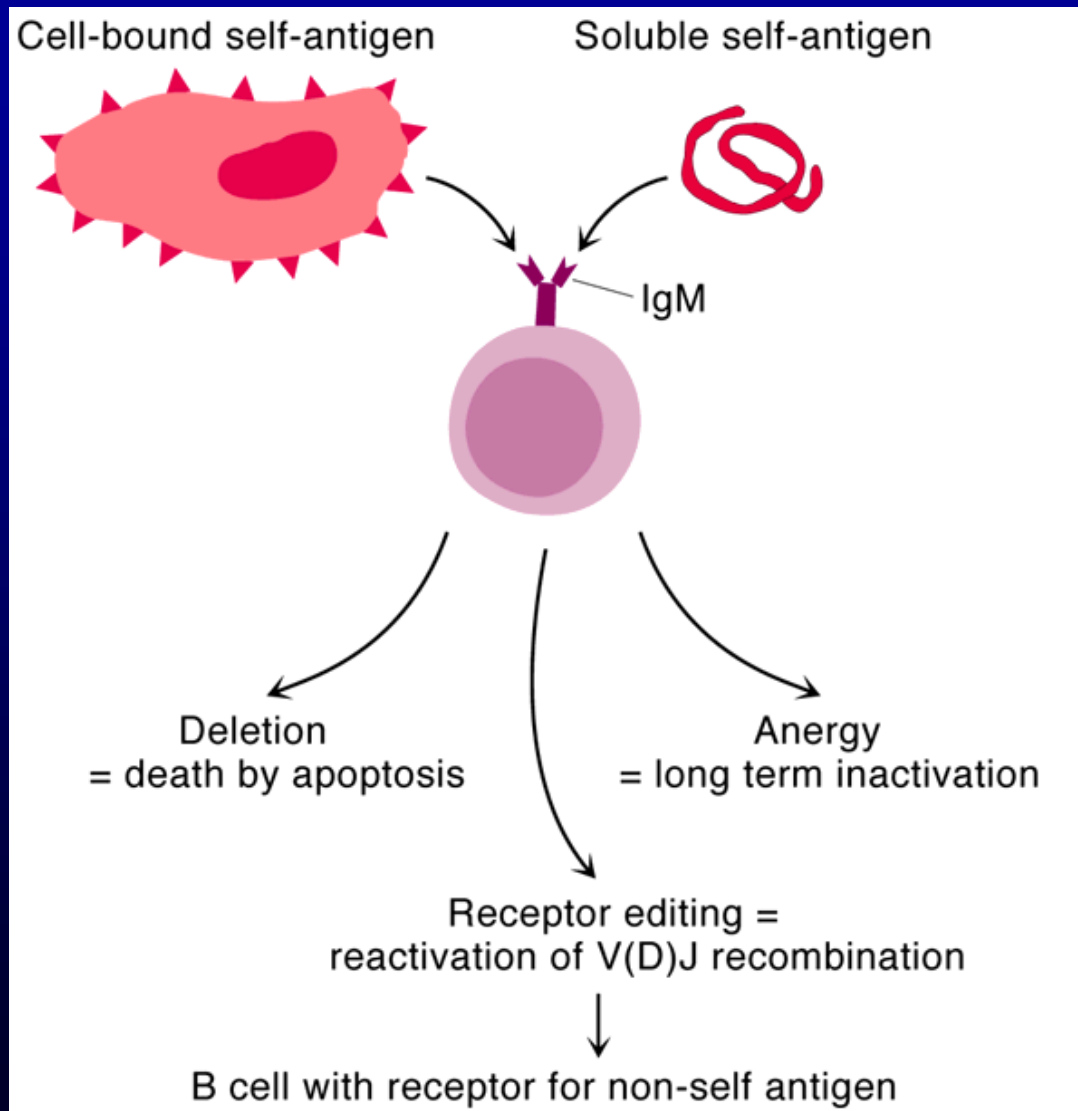


Figure 7-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

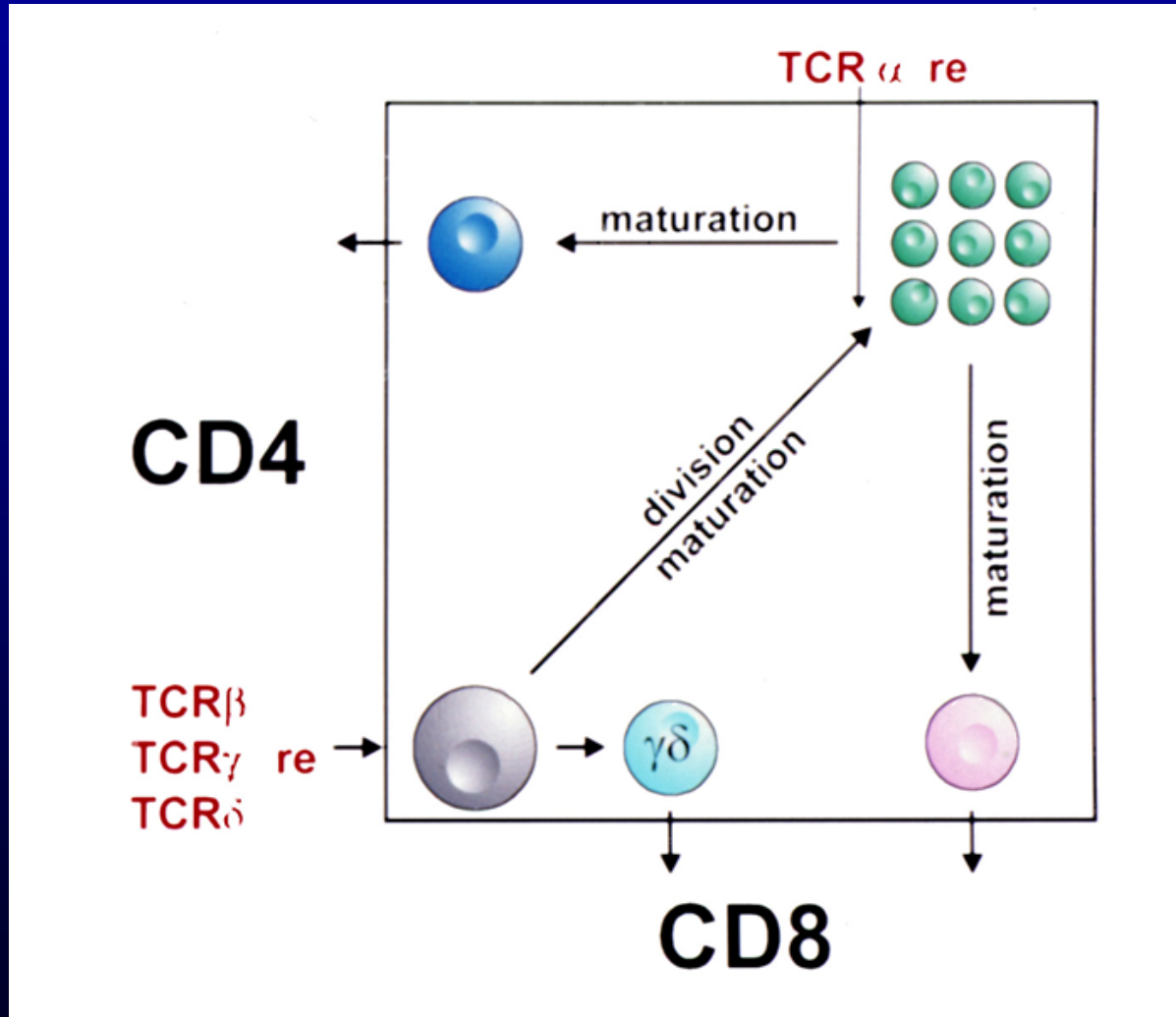
Sélection des lymphocytes B



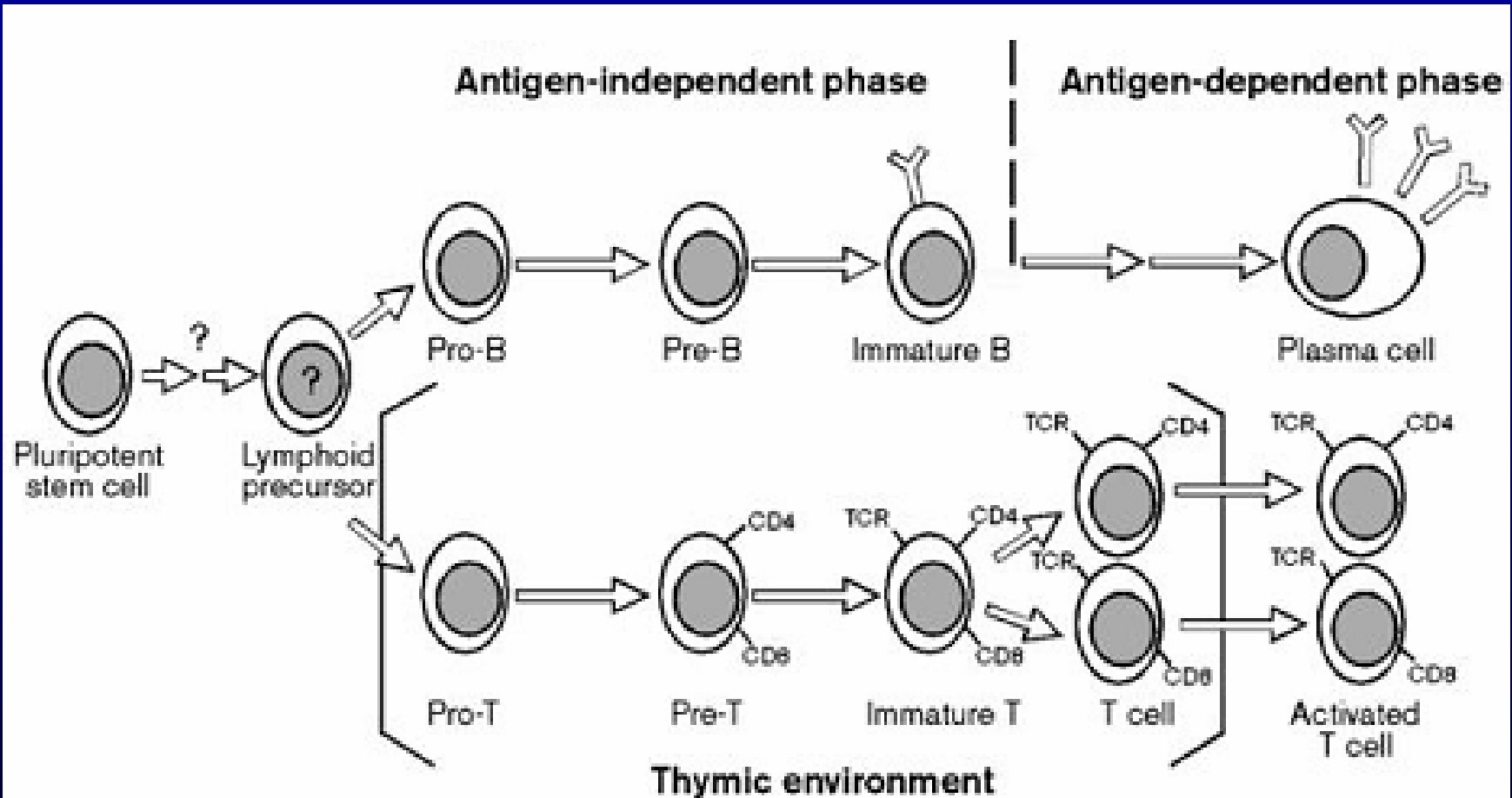
Différenciation des répertoires de lymphocytes B et T

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



© 1998 Current Opinion in Immunology