

Initiation, Fonctions et Régulation de la réponse humorale

IF2011_BMC423

Sophie Sibénil

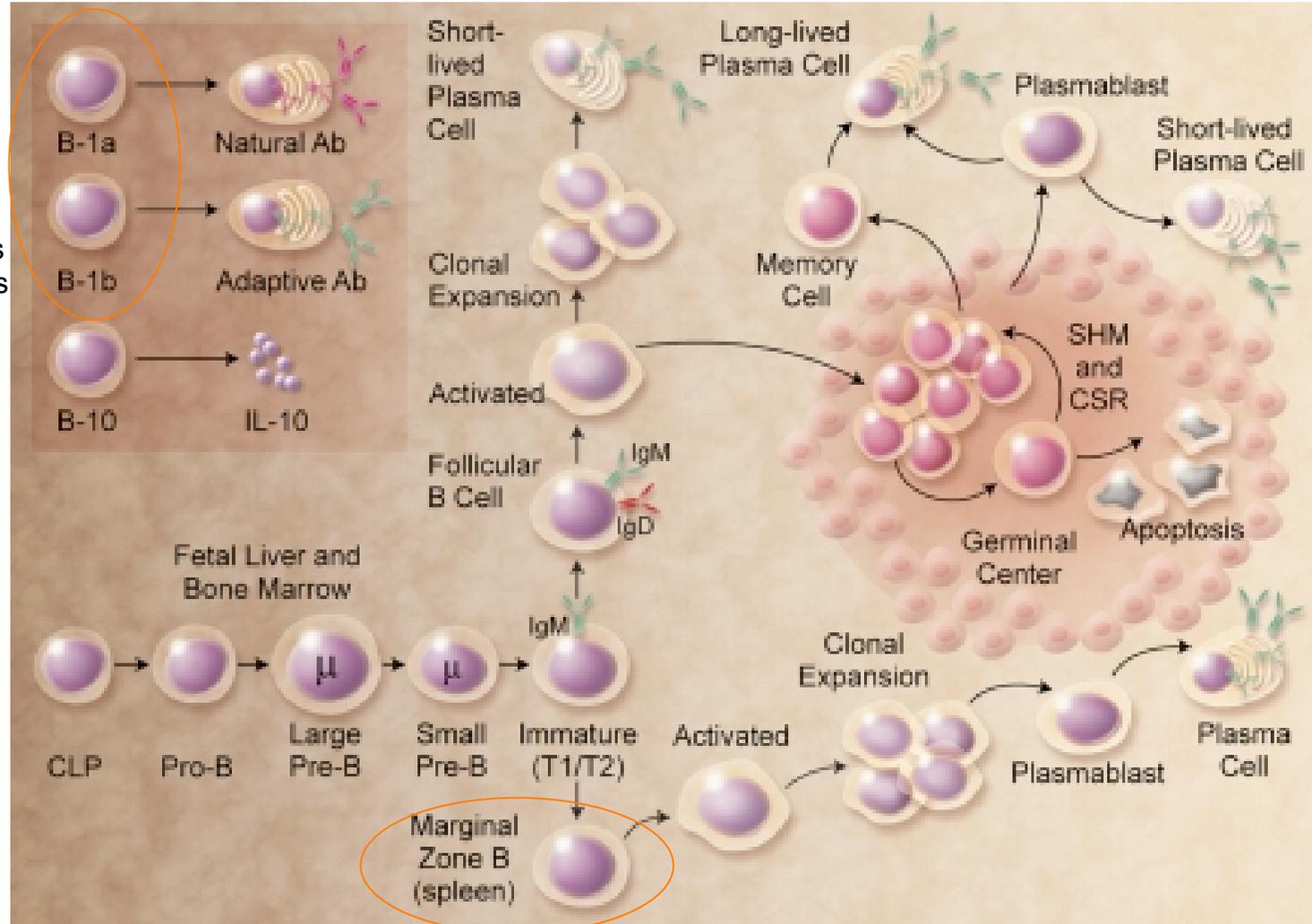
INSERM U945

Hôpital La Pitié Salpêtrière

Les différentes populations de lymphocytes B et la production d'anticorps

Protection innée contre infections bactériennes dans hôte naïf

Ac adaptatifs contre liposaccharides ou autres antigènes T indépendants



Les antigènes T-dépendants (T-D):

- Antigènes protéiques
- Apprêtement de l'antigène et présentation CMHII à des LT helper

Les antigènes T-indépendants (T-I) :

- Help des LT non nécessaire
- T-I type I: mitogènes (LPS, CpG, poly-IC), activateurs polyclonaux
- T-I type II: protéines multivalentes, polysaccharides (motifs répétitifs), engage le BCR >> réponses spécifiques de l'antigène

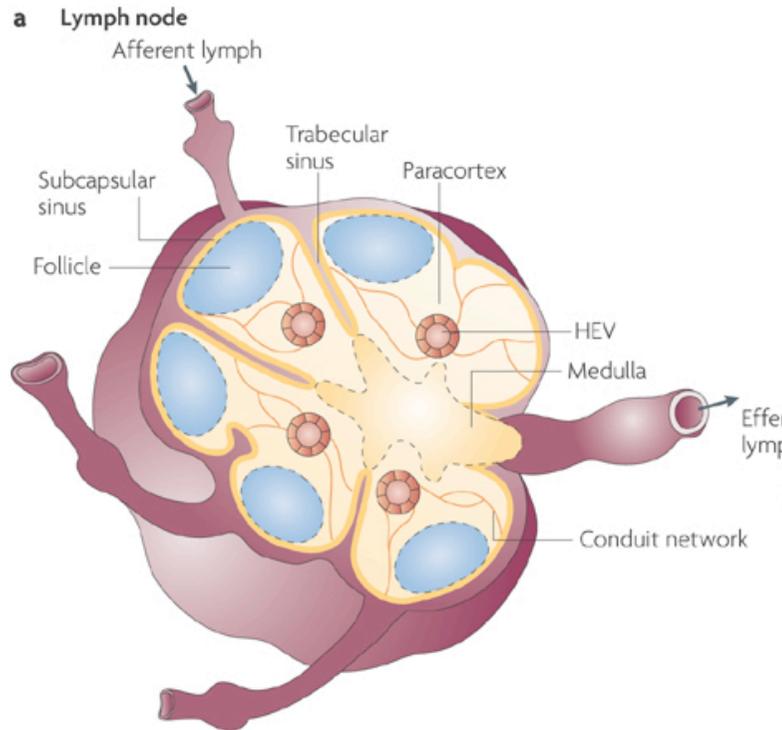
Initiation de la réponse anticorps Cartographie de la rencontre avec l'antigène

- Quels sont les sites de rencontre entre LB et antigènes in vivo ?
Mécanismes d'interaction ?
- Les cellules B peuvent rencontrer et répondre à l'Ag par différents mécanismes de façon dépendante de la nature et de la taille de l'antigène lui-même, ainsi que du contexte cellulaire et de la localisation de la présentation de l'antigène
- Important pour l'initiation de la réponse (interactions avec T helper)

Initiation de la réponse anticorps Cartographie de la rencontre avec l'antigène

- Probabilité de l'événement rencontre entre un Ag et un lymphocyte spécifique de cet Ag capable de monter une réponse rapide et efficace à priori faible
- Pour augmenter la probabilité de cette rencontre : événement qui a lieu dans sites bien définis >> ganglions ou rate (organes lymphoïdes secondaires)
- Sites avec une microarchitecture hautement organisée avec compartimentation des interactions cellulaires >> environnement idéal pour l'initiation des réponses immunes
- OLIre très connectés au systèmes sanguin et lymphatique >> concentration des Ag qui circulent dans l'organisme

Initiation de la réponse anticorps Cartographie de la rencontre avec l'antigène

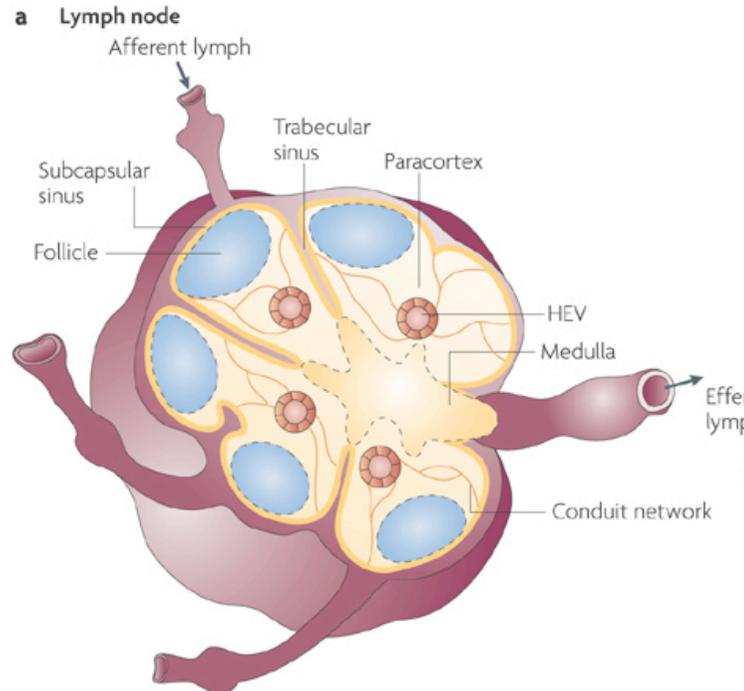


Batista et Harwood, *Nature Reviews Immunology*, 2009

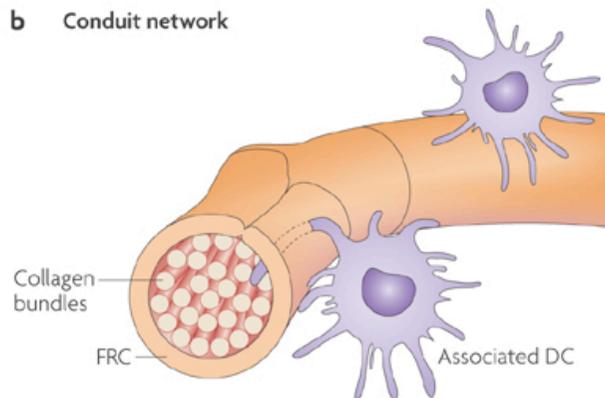
Ganglions lymphatiques:

- Capsule externe collagène protectrice
- Division en différentes régions:
 - Région macrophages sous-capsulaires (cortex) en bordure des zones B
 - Follicules : Les LB dans cette zone sont organisés en agrégats. Contiennent des cellules dendritiques folliculaires (ICAM1 + VCAM1 + Complement/Fc receptors +). Dans follicules >> centres germinatifs
 - Paracortex: zone T : adjacente aux follicules. Contient HEV (High Endothelial Venules) + APC
 - Medulla, zone la + interne des ganglions, contient LB, LT et riche en DC et macrophages

Initiation de la réponse anticorps Cartographie de la rencontre avec l'antigène



b Conduit network



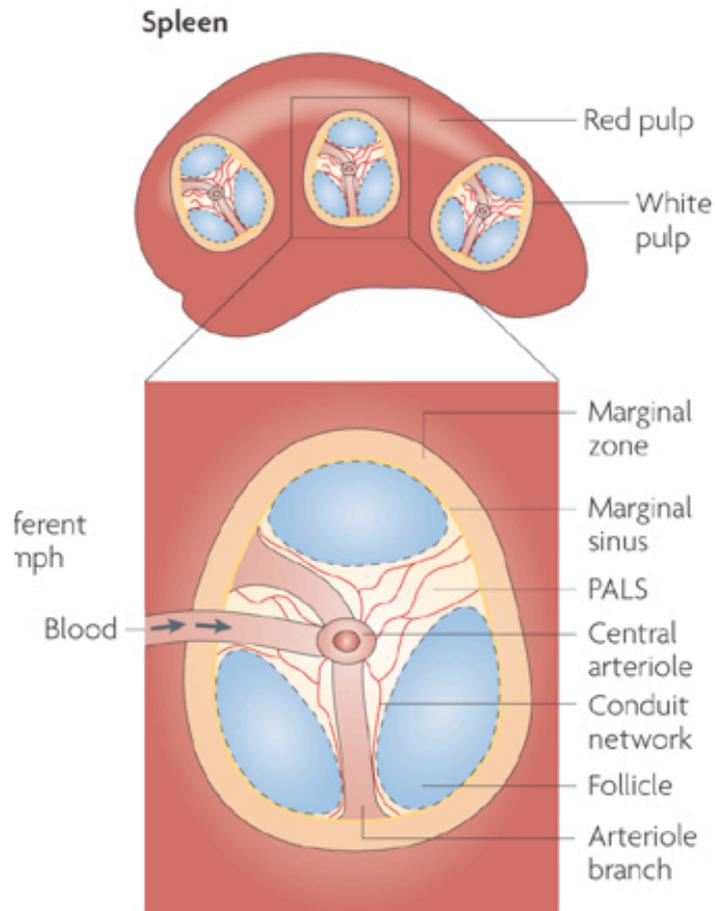
La circulation dans les ganglions lymphatiques:

- La lymphe (chemokines + antigènes collectés dans le corps) entre dans le ganglion via les vaisseaux lymphatiques afférents >> sinus subcapsulaires >> sinus trabeculaires >> medulla >> vaisseaux lymphatiques efferents

- La lymphe peut également circuler via faisceaux de collagène entourés de FRC (Fibroblastic Reticular Cells) (Conduit Network) >> permet passage de composants de faible poids moléculaire de la lymphe vers HEV

- HEVs dans le paracortex: entrée et sortie de lymphocytes dans et de la lymphe

Initiation de la réponse anticorps Cartographie de la rencontre avec l'antigène



Batista et Harwood, *Nature Reviews Immunology*, 2009

La rate :

Organisation similaire à celle des ganglions

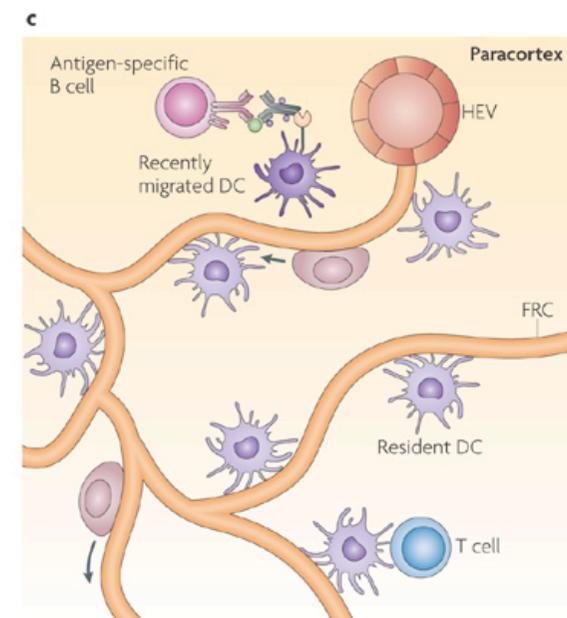
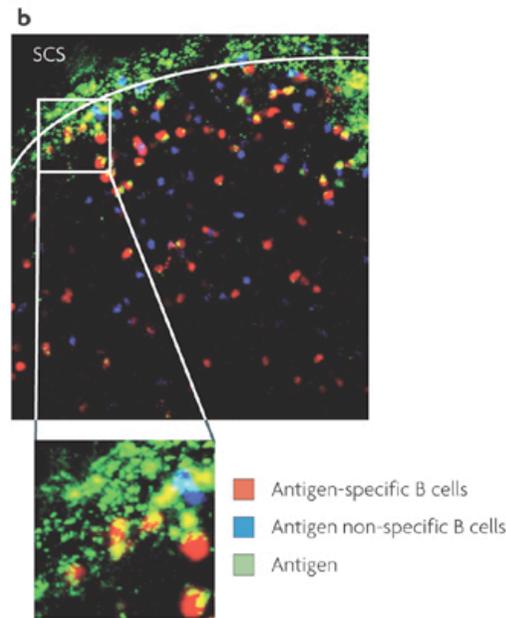
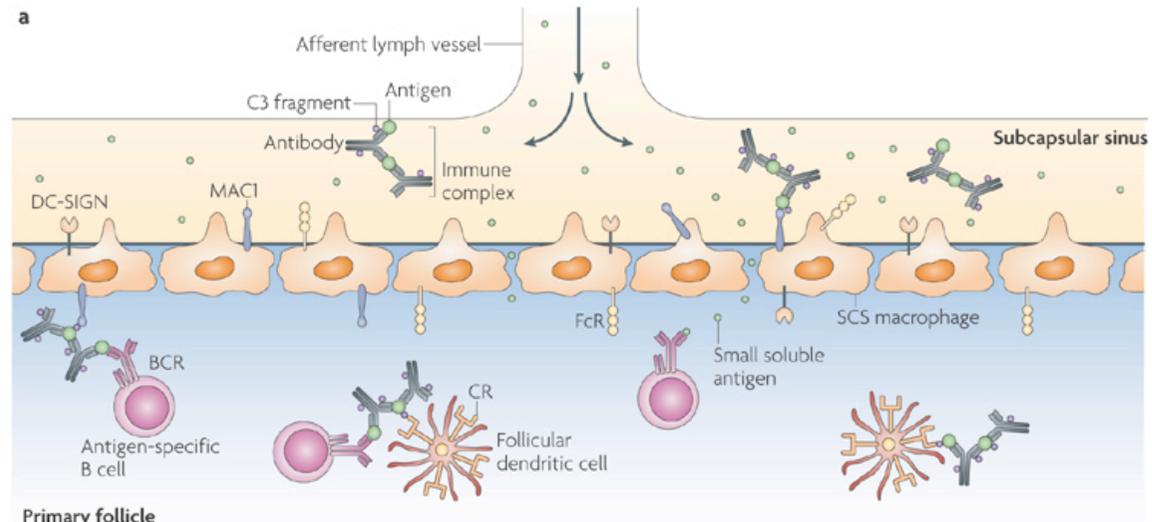
- Dans pulpe blanche : Zones B (follicules), zones T contenant un réseau de cellules réticulaires (paracortex ou periarteriolar lymphoid sheath, PALS), arteriole centrale et zone marginale

- Le sang arrive à la rate par branches artériole >> zone marginale >> pulpe rouge

- Zone marginale: contient macrophages, DC + population particulière de LB : les LB de la zone marginale (participent au développement des réponses T-dépendantes et T-indépendantes précoces)

- Pulpe rouge: très irriguée, contient APC et lymphocytes et cellules plasmatiques

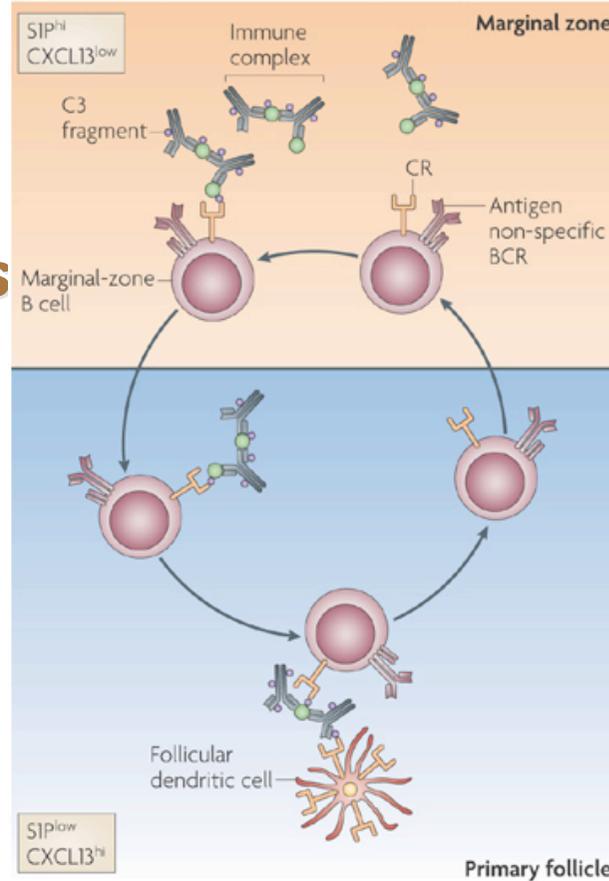
Interactions entre Ag et LB spécifiques de l'Ag dans le ganglion



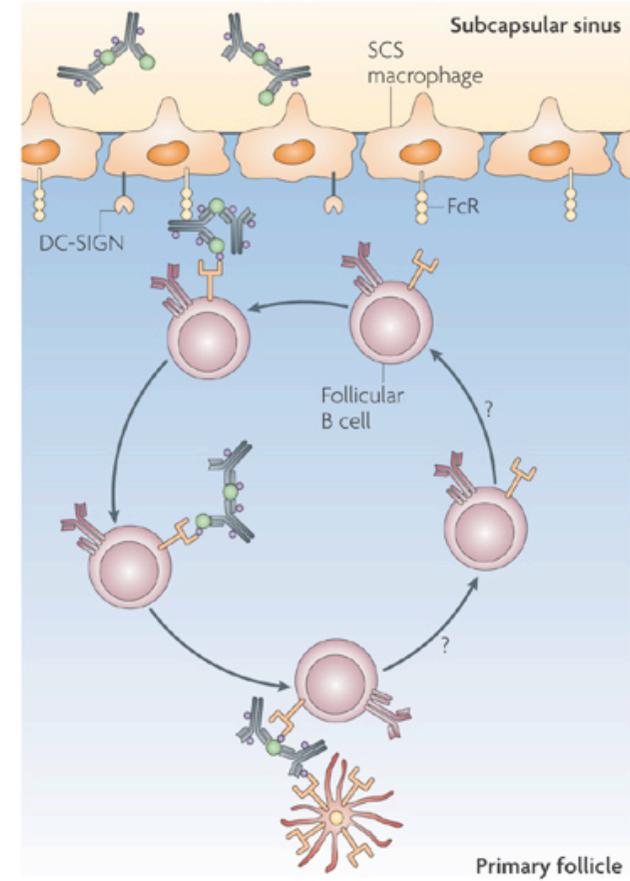
Batista et Harwood, *Nature Reviews Immunology*, 2009

Transport de l'antigène aux cellules dendritiques folliculaires dans la rate et le ganglion

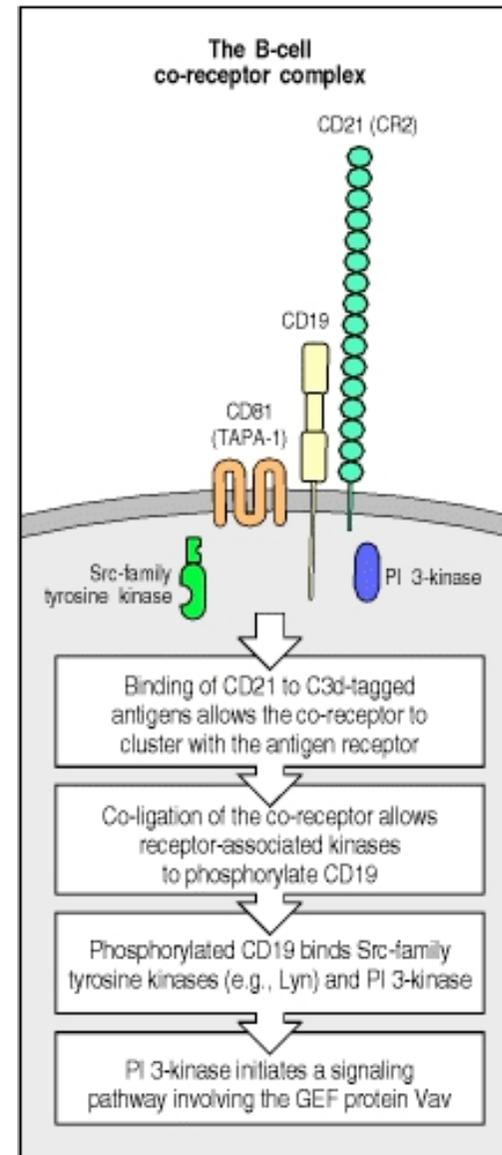
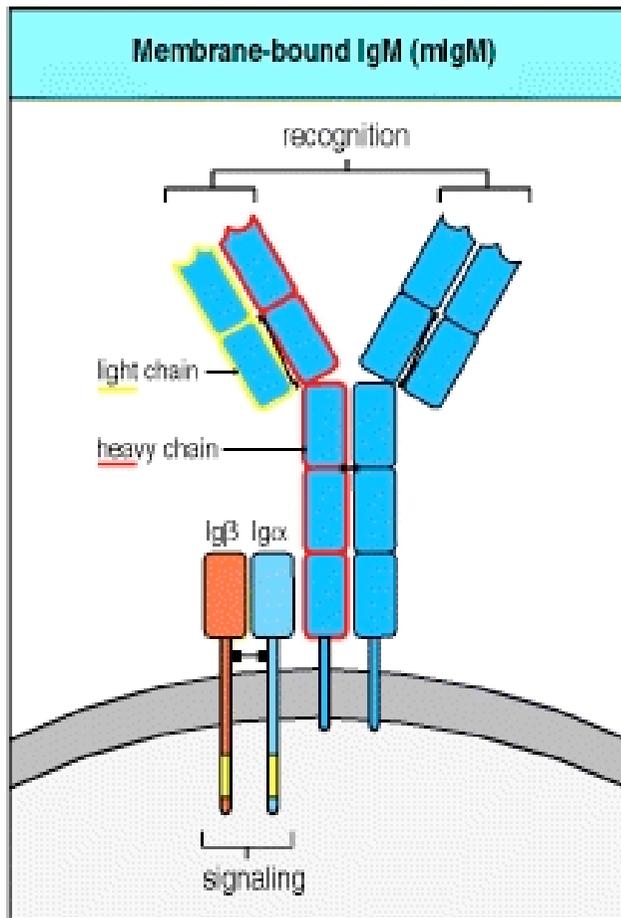
a Splenic marginal-zone B cells transport antigen to FDCs



b Follicular B cells in the lymph node transport antigen to FDCs

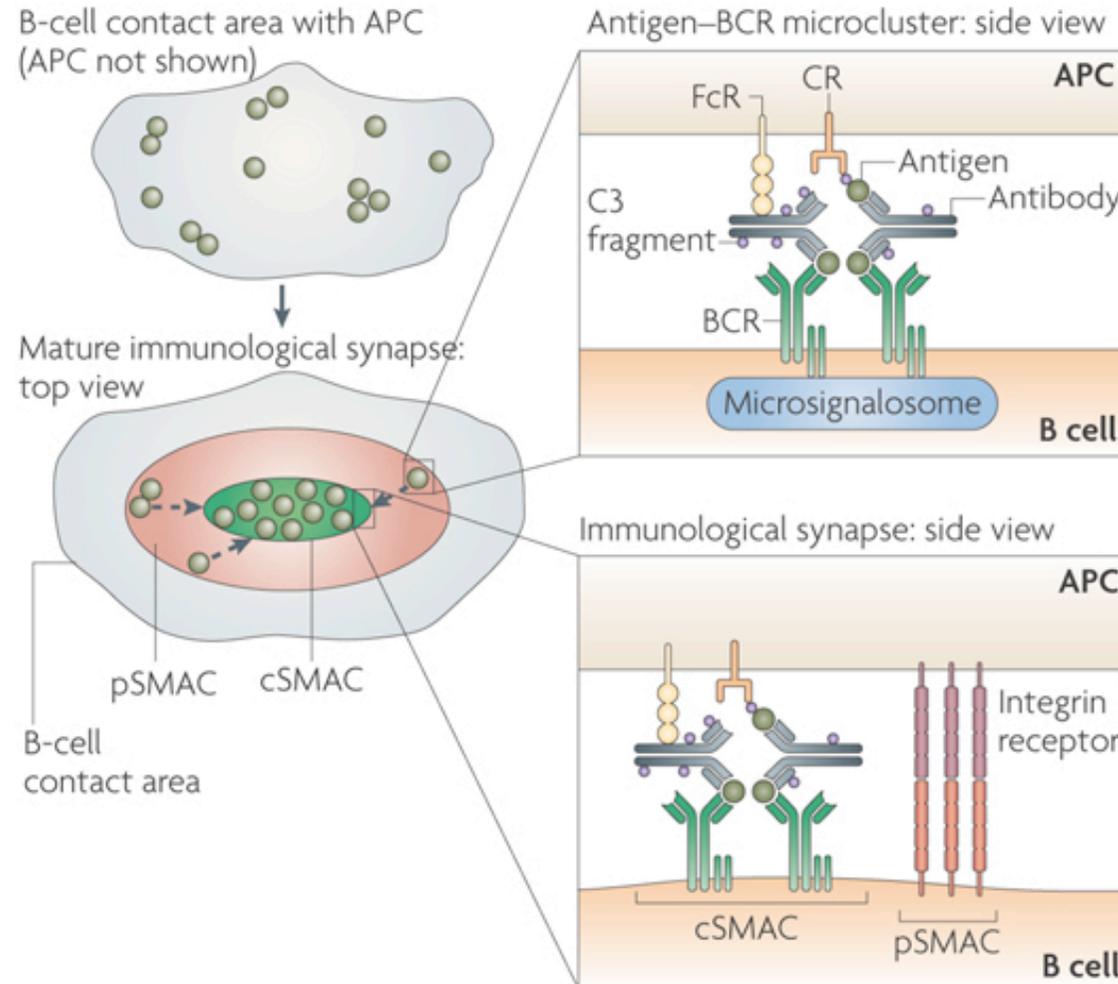


Initiation de la réponse anticorps Le complexe BCR



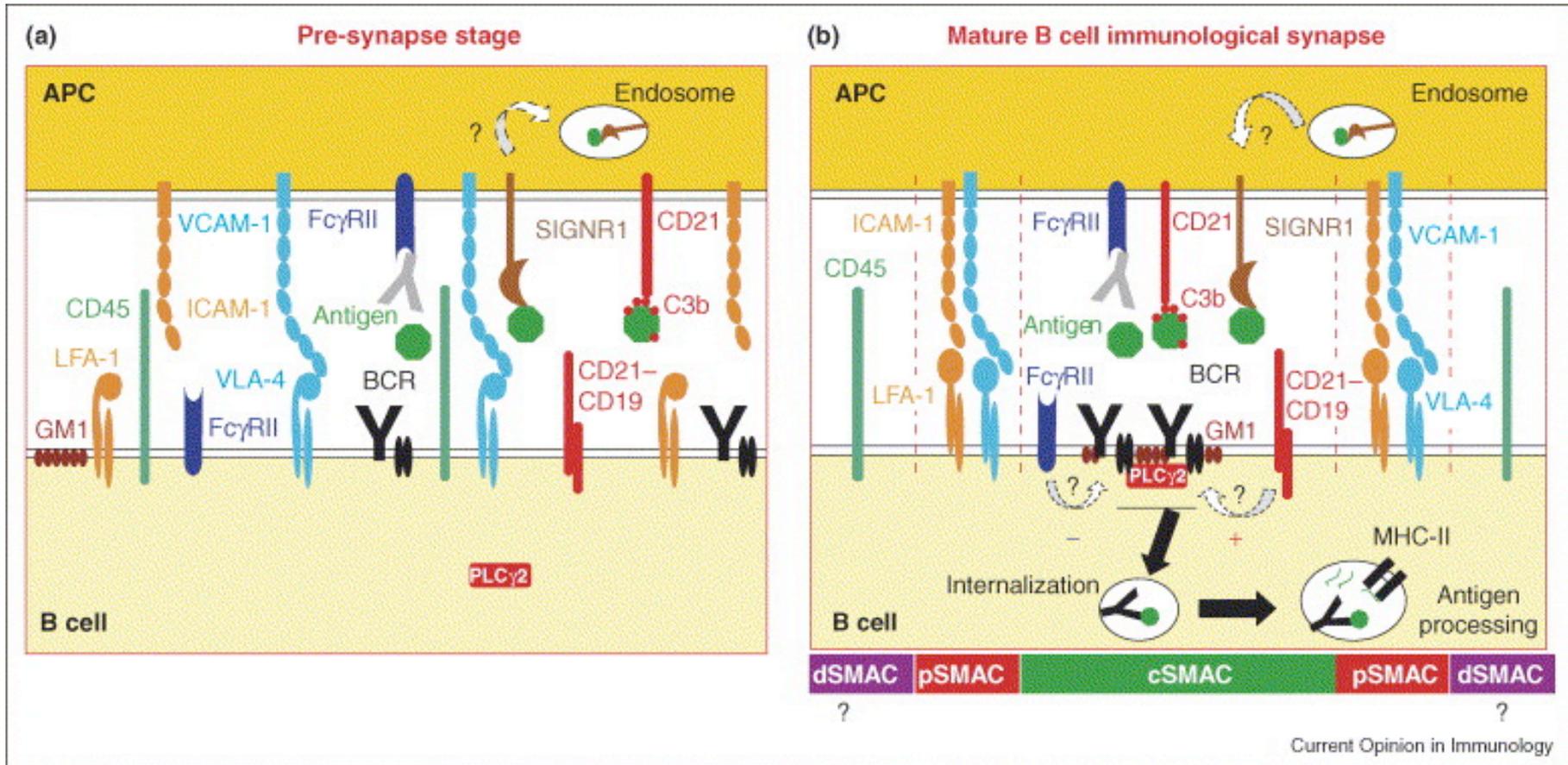
Initiation de la réponse anticorps

La synapse B



Batista et Harwood, *Nature Reviews Immunology*, 2009

Initiation de la réponse anticorps La synapse B



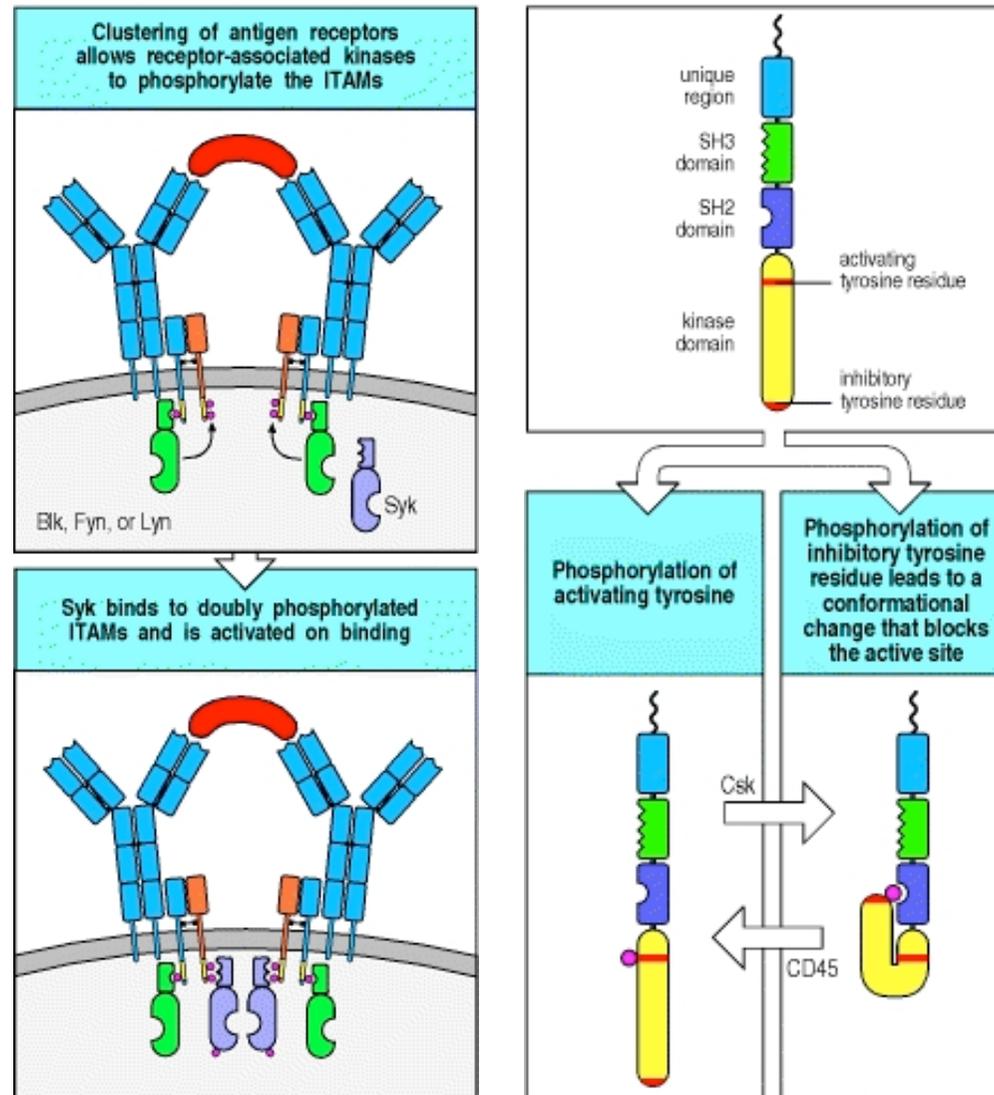
SMAC: Supramolecular activation cluster

Initiation de la réponse anticorps *La synapse B*

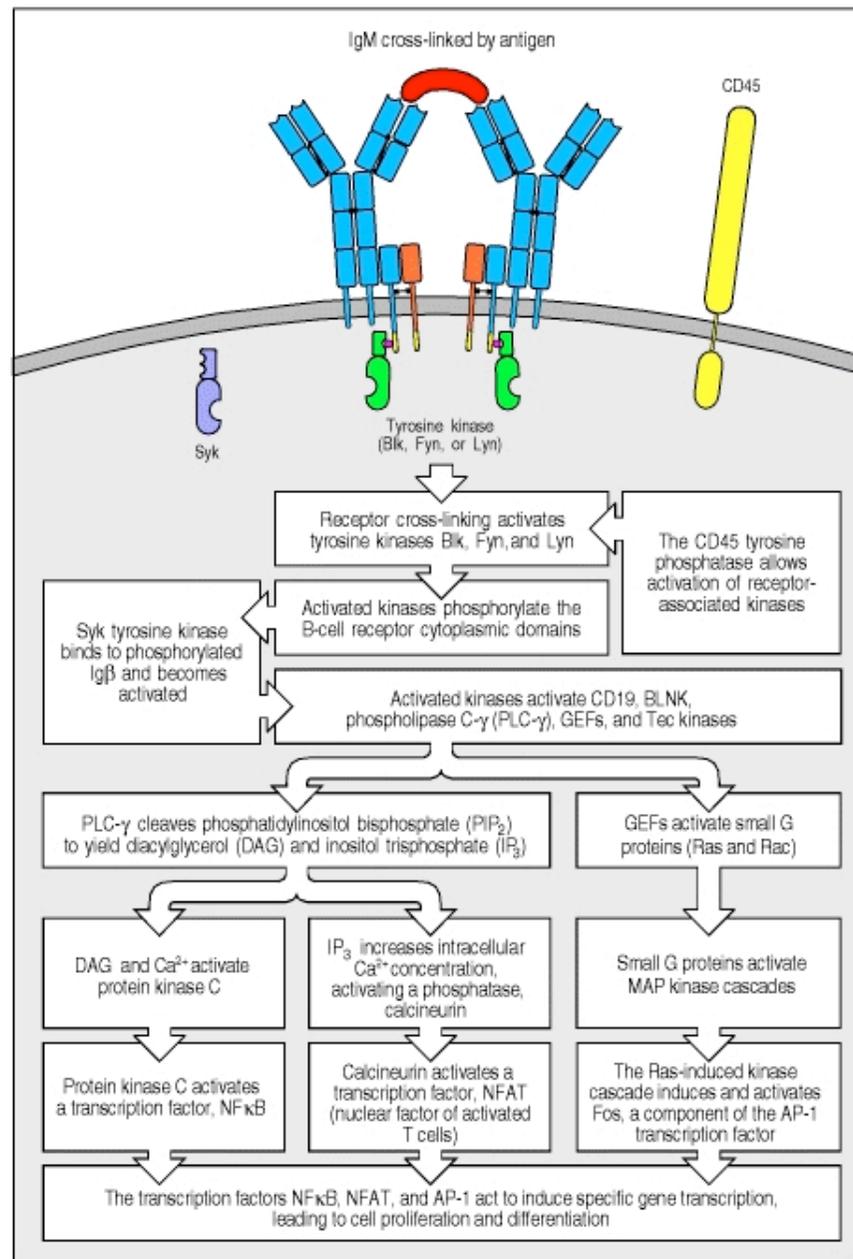
Presenting cell	Receptor	Antigen presented	Presentation strategy
Macrophage	MAC1	Complement-coated antigen	Remains on the cell surface
	Fc γ RIIB	IgG-coated antigen	Internalized in neutral endosomes and recycled?
	DC-SIGN	Carbohydrate-containing antigen	Internalized in neutral endosomes and recycled?
DC	Fc γ RIIB	IgG-coated antigen	Internalized in neutral endosomes and recycled?
	DC-SIGN	Carbohydrate-containing antigen	Internalized in neutral endosomes and recycled?
FDC	CR1 and CR2	Complement-coated antigen	Remains on the cell surface
	Fc γ RIIB	IgG-coated antigen	Internalized in neutral endosomes and recycled?
Marginal-zone B cell	CR1 and CR2	Complement-coated antigen	Remains on the cell surface
Follicular B cell	CR1 and CR2	Complement-coated antigen	Remains on the cell surface
	Fc γ RIIB	IgG-coated antigen	Internalized in neutral endosomes and recycled?

CR, complement receptor; DC, dendritic cell; DC-SIGN, DC-specific ICAM3-grabbing non-integrin; Fc γ RIIB, low-affinity Fc receptor for IgG; FDC, follicular DC; ICAM3, intercellular adhesion molecule 3; MAC1, macrophage receptor 1.

La signalisation du BCR



La signalisation du BCR



Les autres signaux : le help des LT

- Présentation de l'Ag par LB pré-activé à un LTh

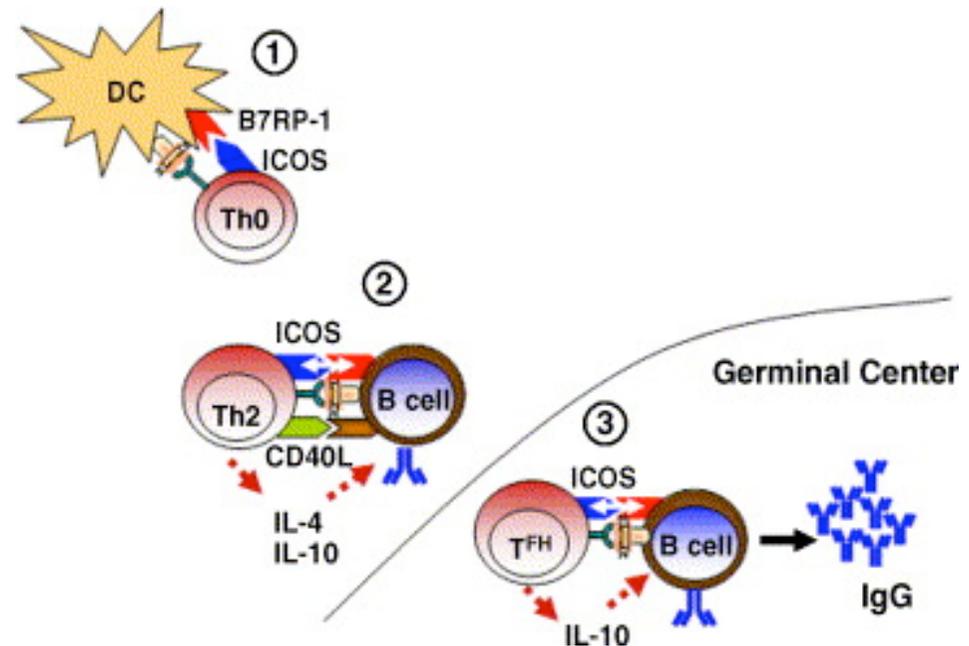
Interactions TCR / CMHII + peptide présenté par le LB)

- Interactions molécules de costimulation

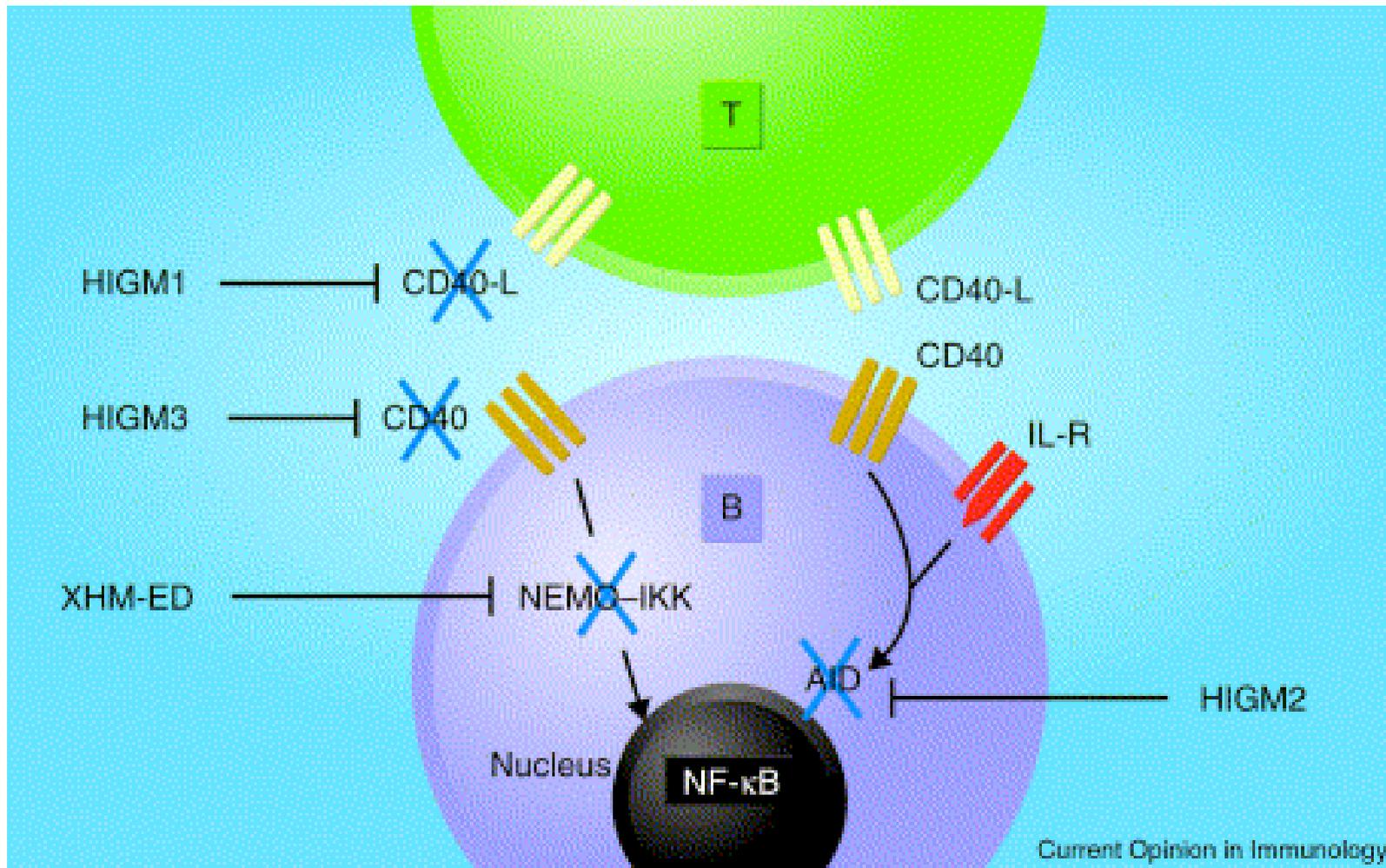
- Production de cytokines

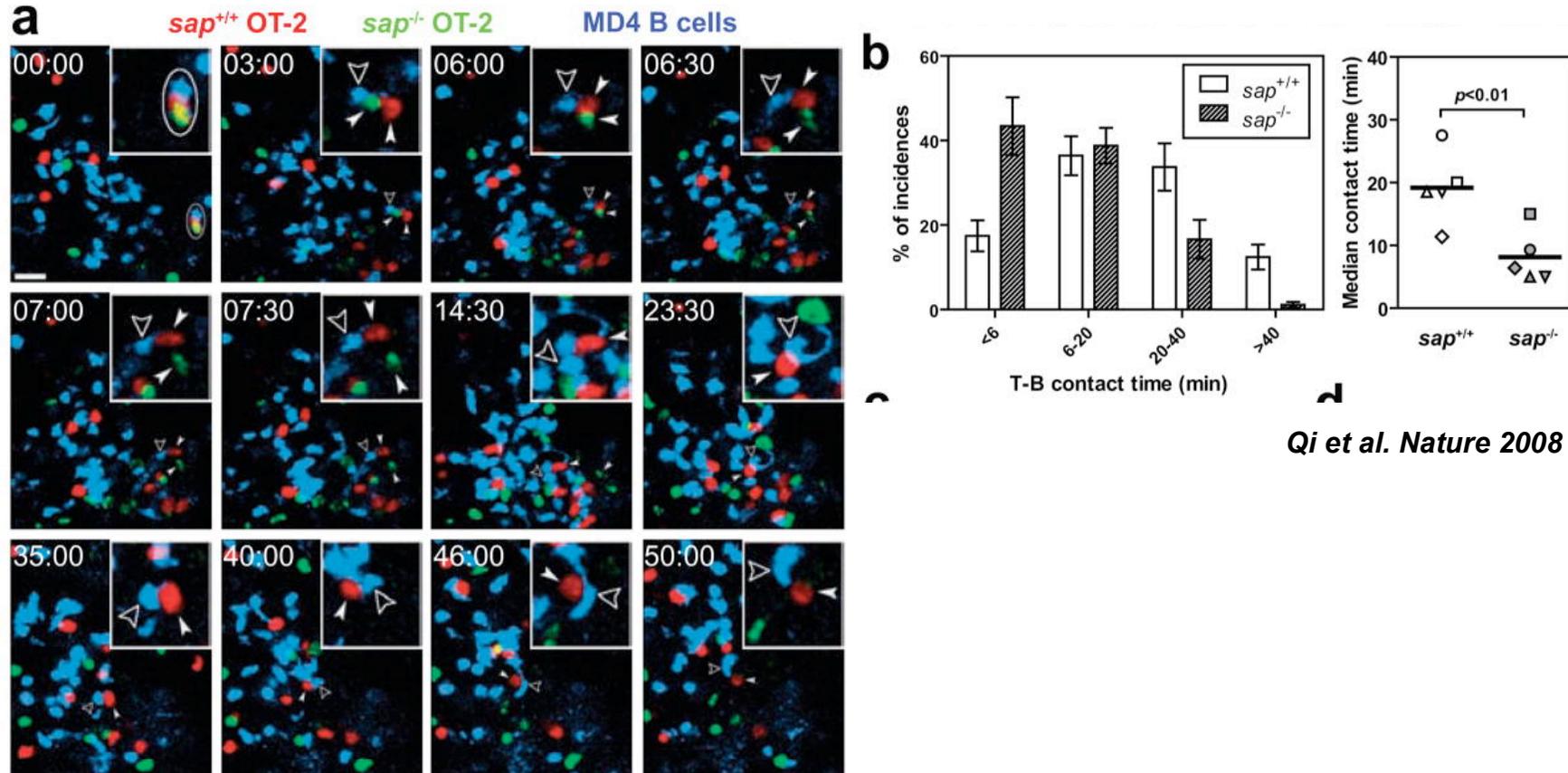
- Prolifération LB et formation de centres germinatifs (commutation de classe et hypermutations somatiques)

Mécanismes dépendants de AID
(Activation-Induced Cytidine Deaminase)



Les autres signaux : le help des LT



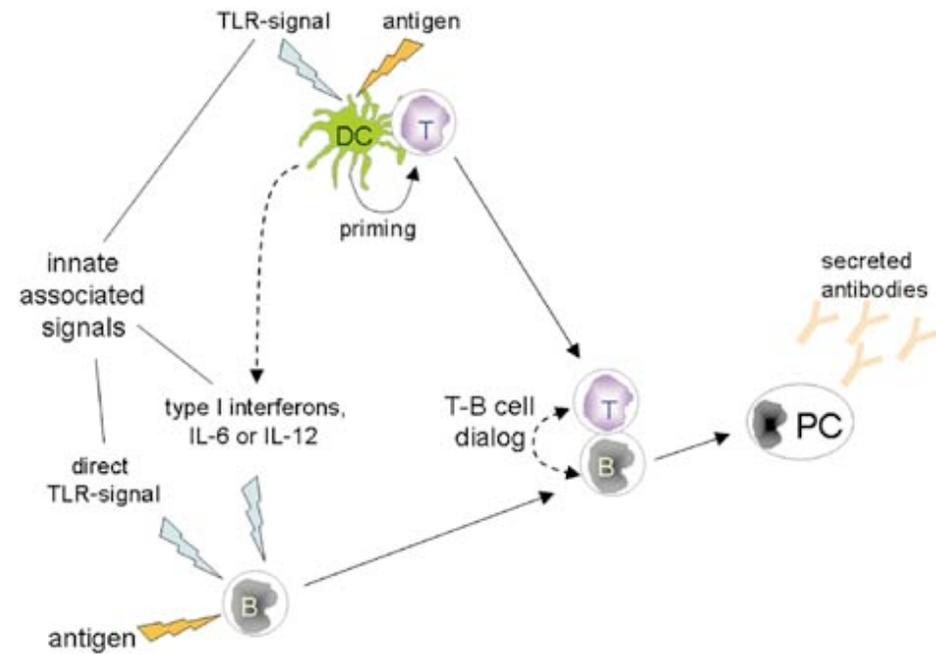
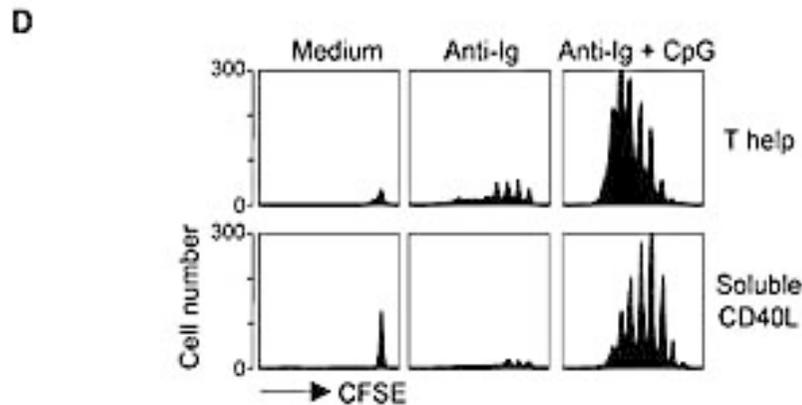
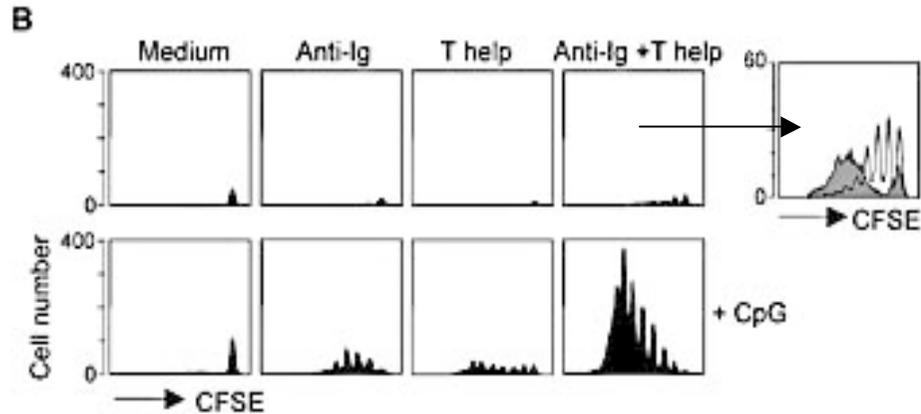


SAP: petite protéine adaptatrice impliquée dans l'activation des LT

Déficiencia en SAP >> défaut de formation de centres germinatifs

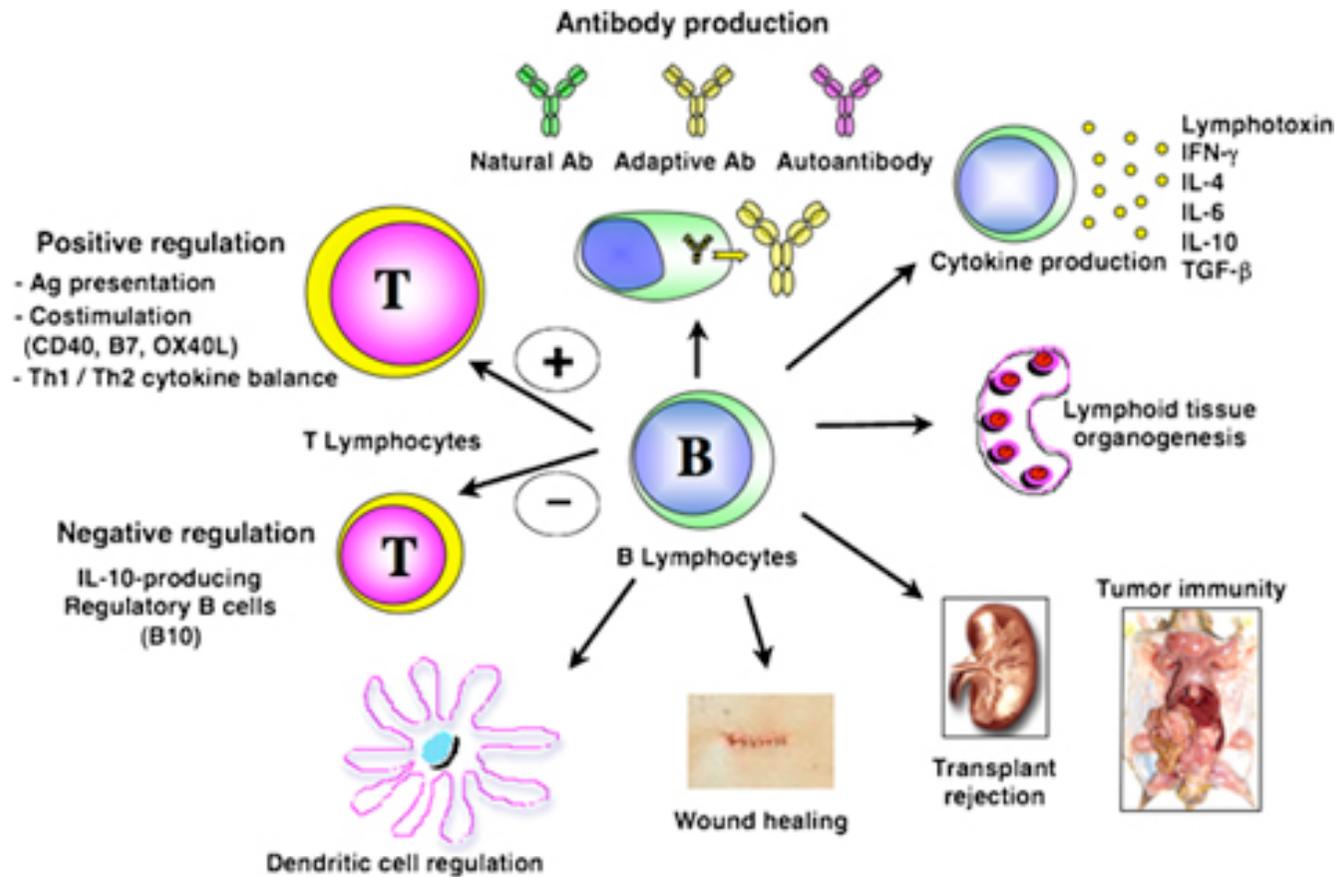
Rencontre du troisième signal...

L'activation des TLR



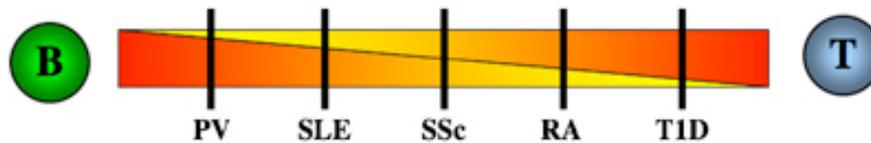
Fonctions des lymphocytes B

Les lymphocytes B régulent les réponses immunes et le développement du système immunitaire

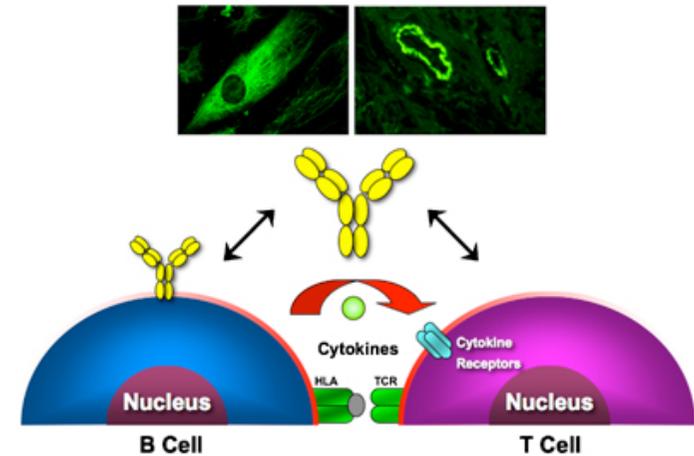
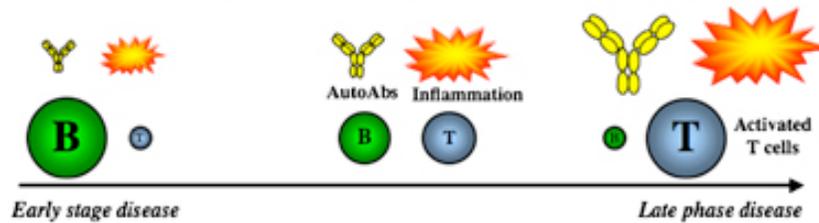


Rôle des lymphocytes B dans l'autoimmunité ?

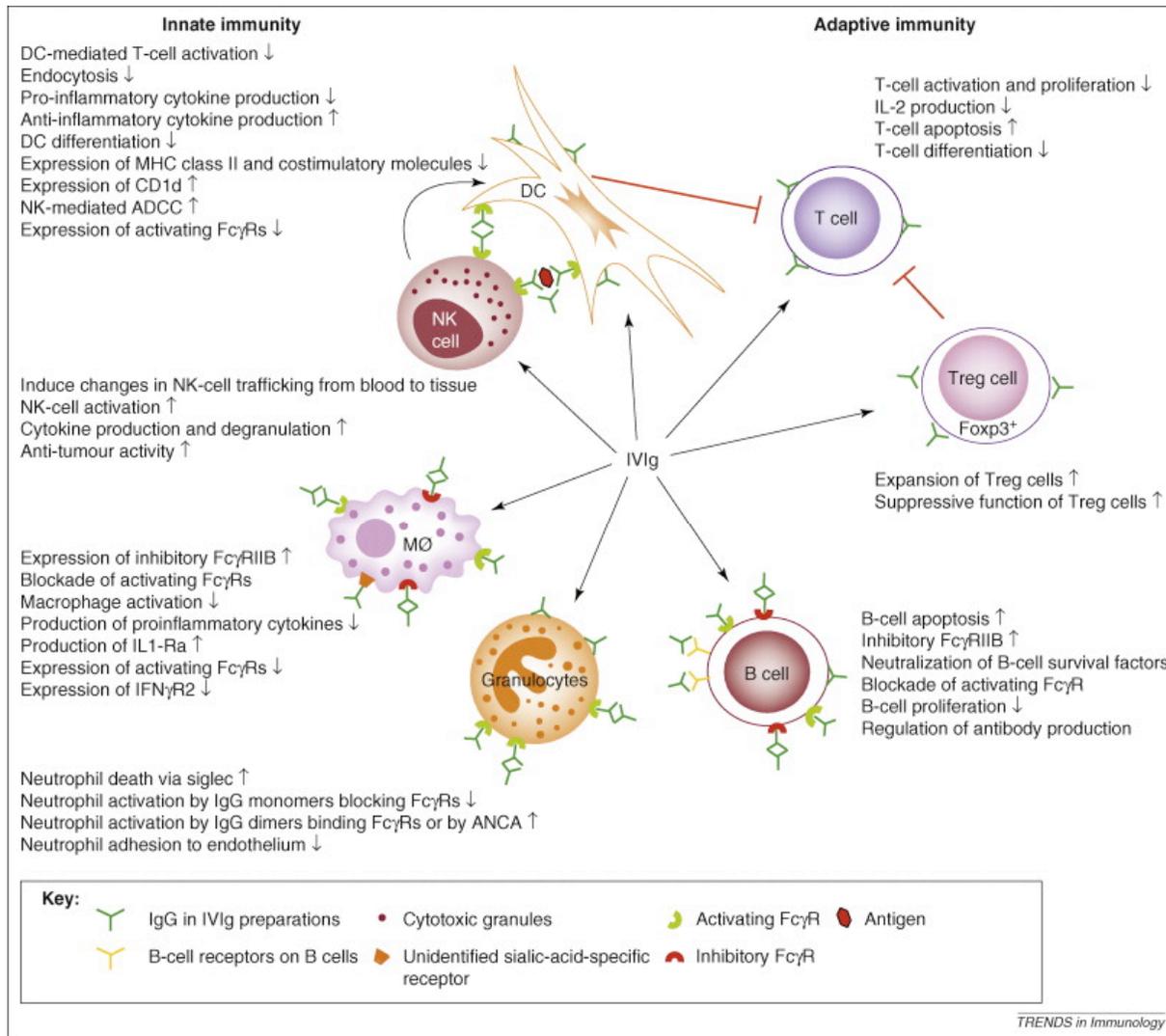
A. B cell contributions to each autoimmune disease



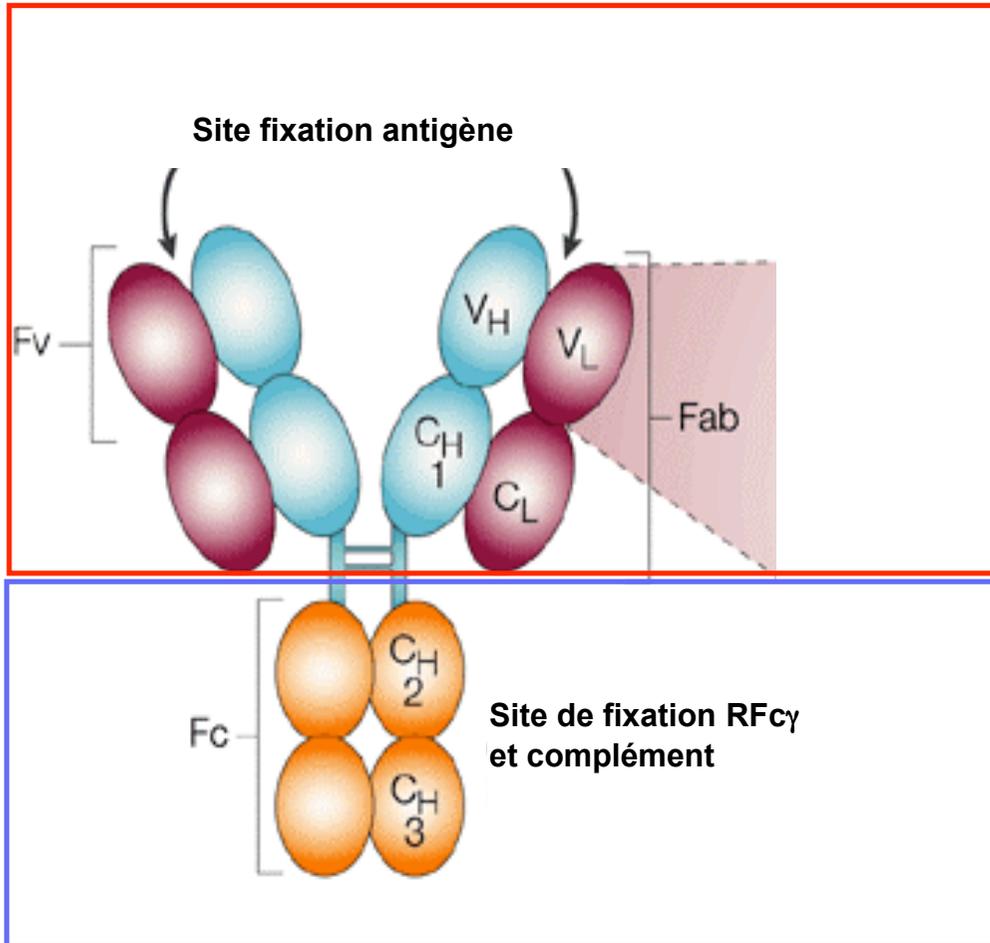
B. B cell contributions during disease time course



Implication thérapeutique des anticorps dirigés contre les molécules du soi : les immunoglobulines intraveineuses



Fonctions des anticorps et regulation du système immunitaire par les anticorps

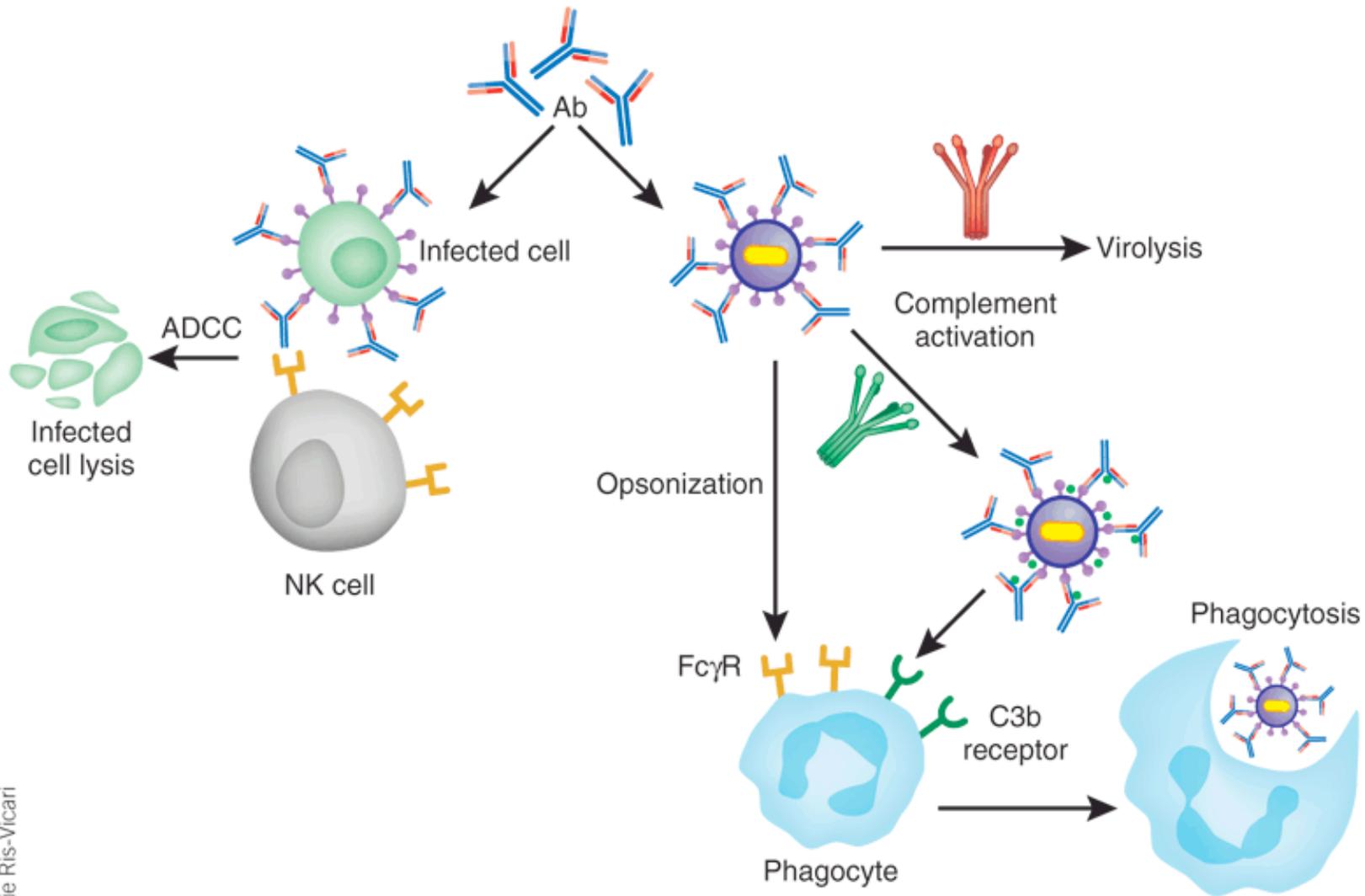


Fonctions de liaison à la cible

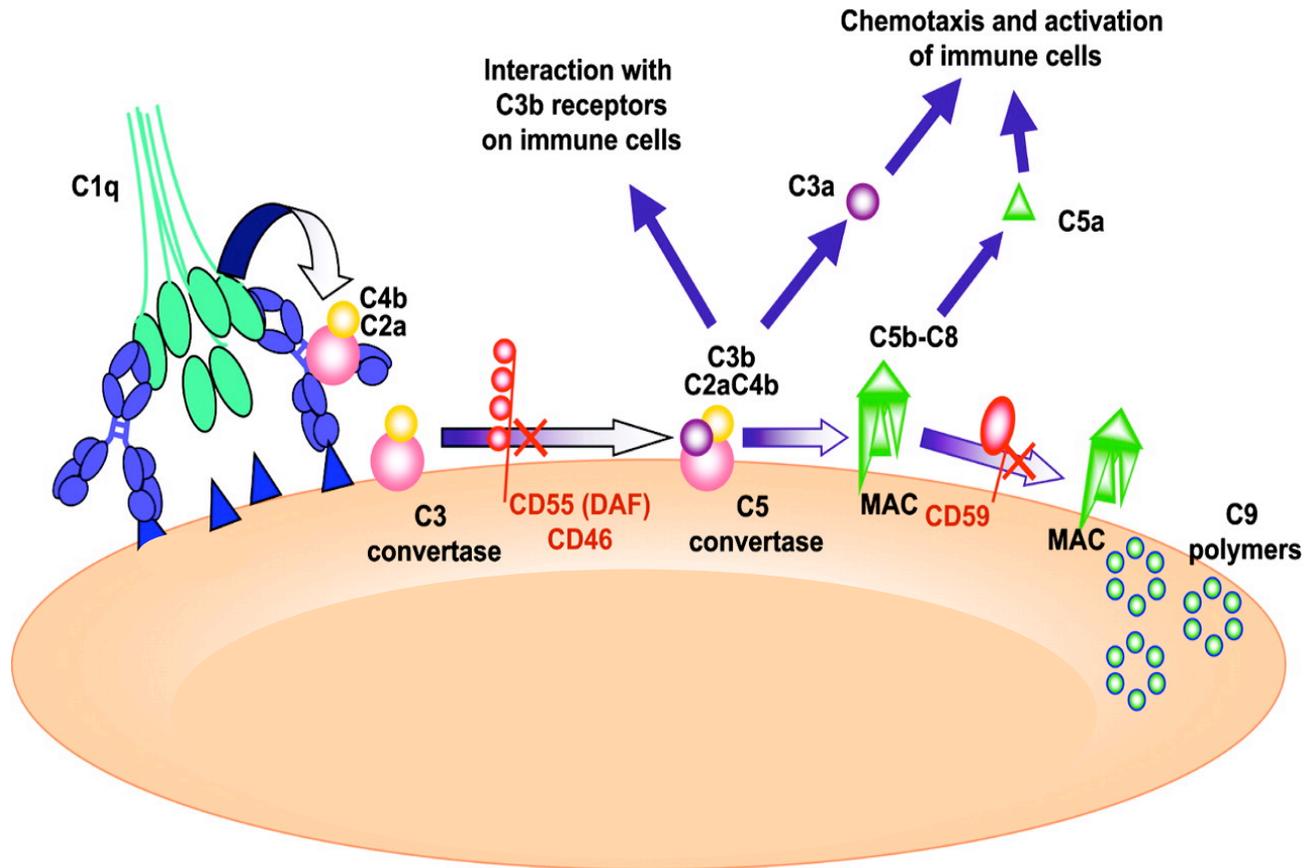
Fonctions effectrices

(D'après Brekke et Sandlie., *Nat Rev Drug Discover*, 2003)

Fonctions des anticorps



Fonctions des anticorps



D'après Cartron et al., Blood 2004

Fonctions effectrices via interactions Fc / RFc :

Fixation aux RFc:

IgG → RFc γ , RFc η

IgA → RFc α I

IgM → RFc μ

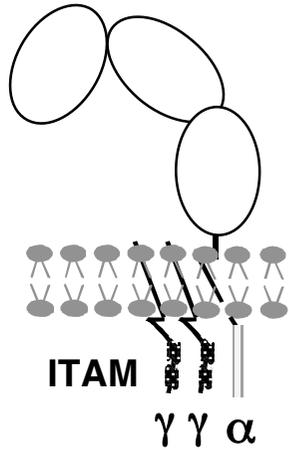
IgE → RFc ϵ

Les différents types de RFcγ

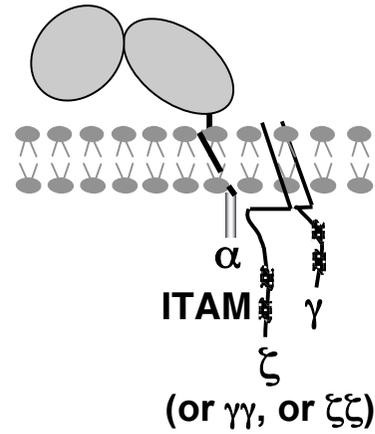
	Activating Fc receptors					Inhibitory Fc receptor
Mouse						
Structure						
Name	FcγRI	FcγRIII		FcγRIV		FcγRIIB
Affinity	High	Low to medium		Low to medium		Low to medium
Human						
Structure						
Name	FcγRI	FcγRIIA	FcγRIIC	FcγRIIIA	FcγRIIIB	FcγRIIB
Affinity	High	Low to medium	Low to medium	Low to medium	Low to medium	Low to medium
Alleles		FcγRIIA ^{131H} FcγRIIA ^{131R}		FcγRIIIA ^{158V} FcγRIIIA ^{158F}	NA1 NA2	FcγRIIB ^{232I} FcγRIIB ^{232T}

Les R_{Fcγ} humains

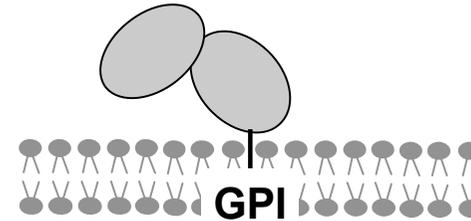
hFcγRI



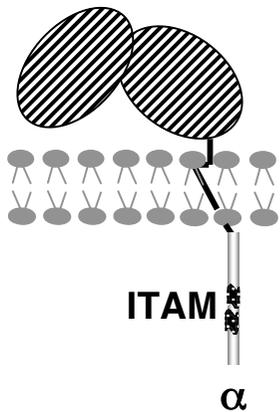
hFcγRIIIA



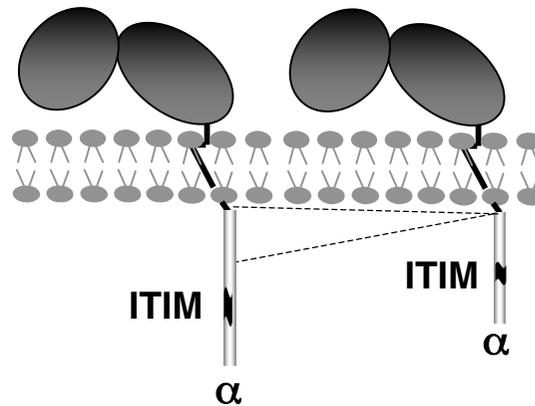
hFcγRIIIB



hFcγRIIA

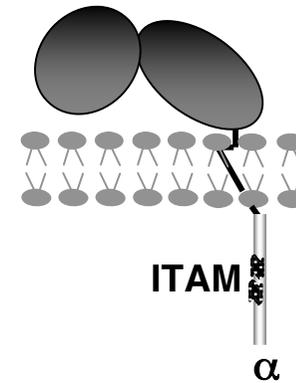


hFcγRIIB1

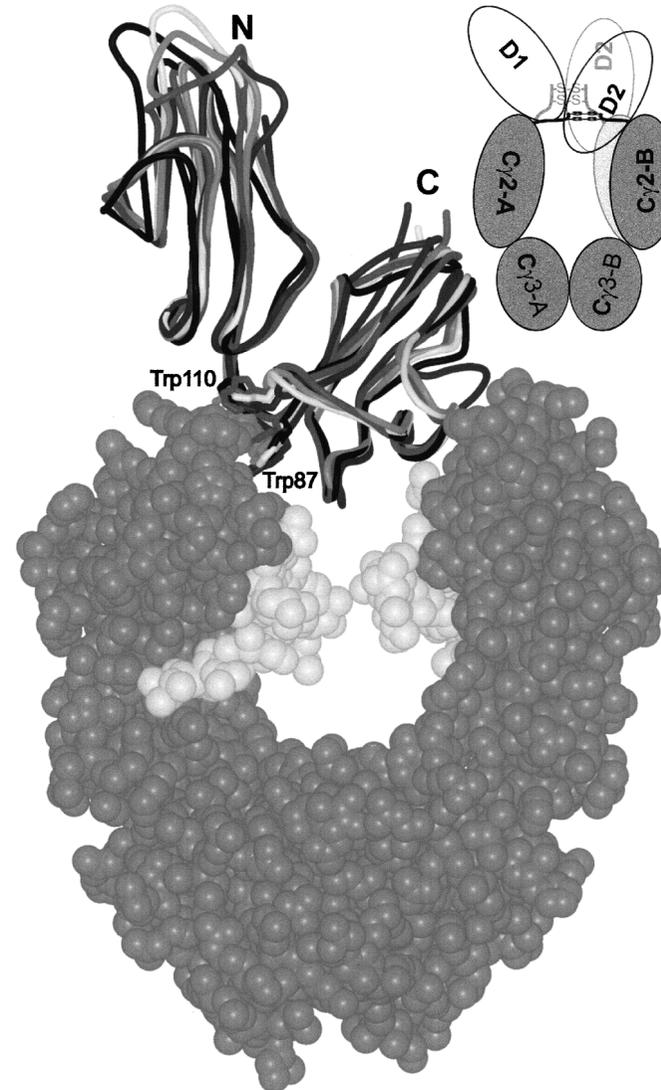
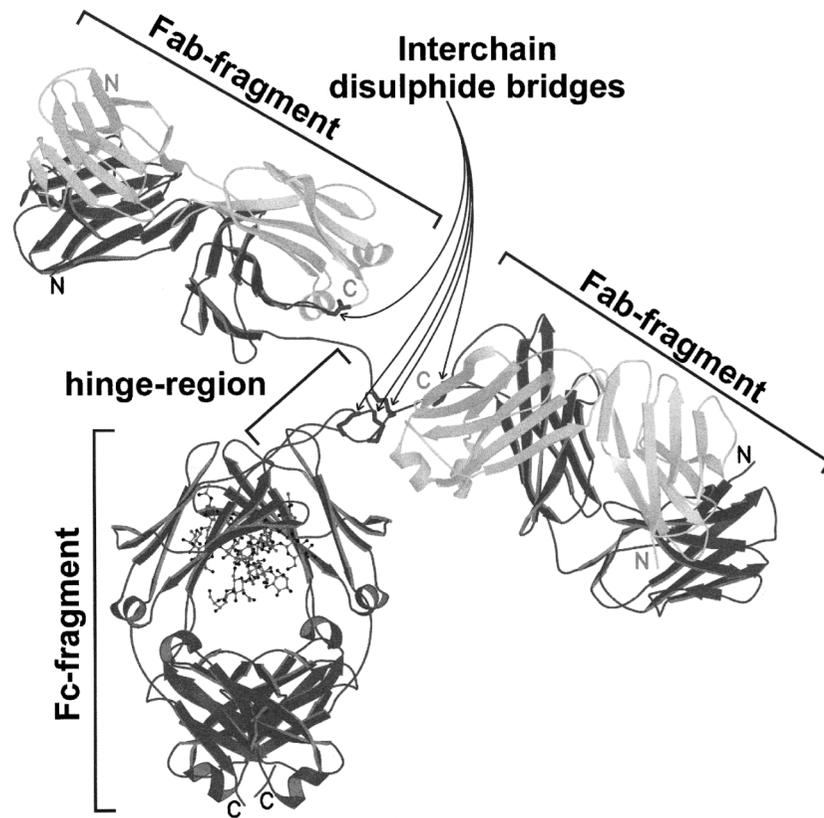


hFcγRIIB2

hFcγRIIC



Interactions IgG / RFc γ



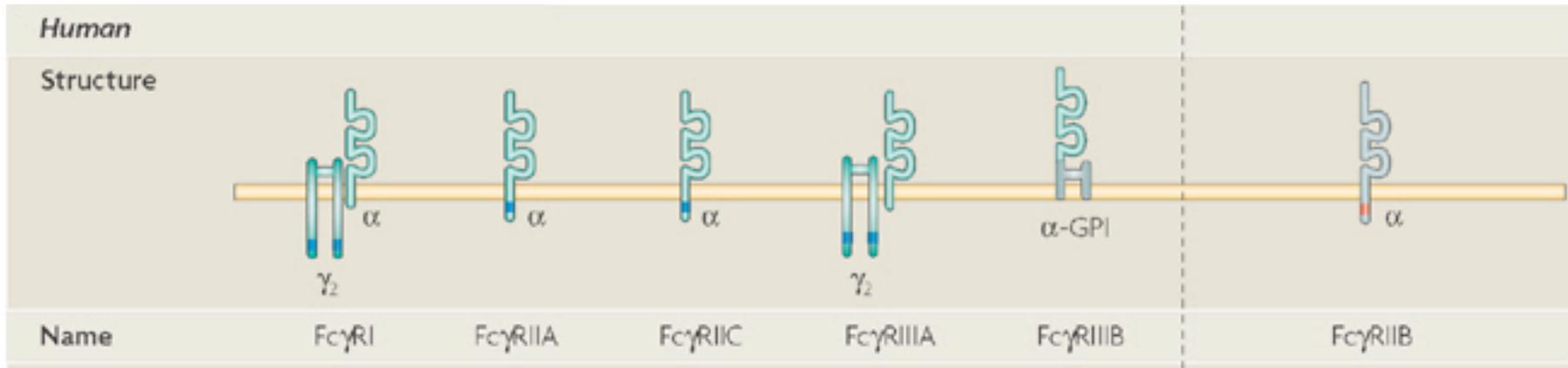
Human						
Structure						
Name	FcγRI	FcγRIIA	FcγRIIC	FcγRIIIA	FcγRIIB	FcγRIIB
	Monocytes, macrophages, précurseurs CD34 ⁺	Monocytes, macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques, plaquettes	Cellules NK	Cellules NK, monocytes, macrophages	Neutrophiles	Lymphocytes B, basophiles, mastocytes, monocytes, macrophages, cellules dendritiques

Activating Fc receptors			Inhibitory Fc receptor	
Mouse				
Structure				
Name	FcγRI	FcγRIII	FcγRIIV	FcγRIIB
	Monocytes, macrophages, cellules dendritiques	Cellules NK, monocytes, macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques	Monocytes, macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques	Lymphocytes B, basophiles, mastocytes, monocytes, macrophages, cellules dendritiques, neutrophiles

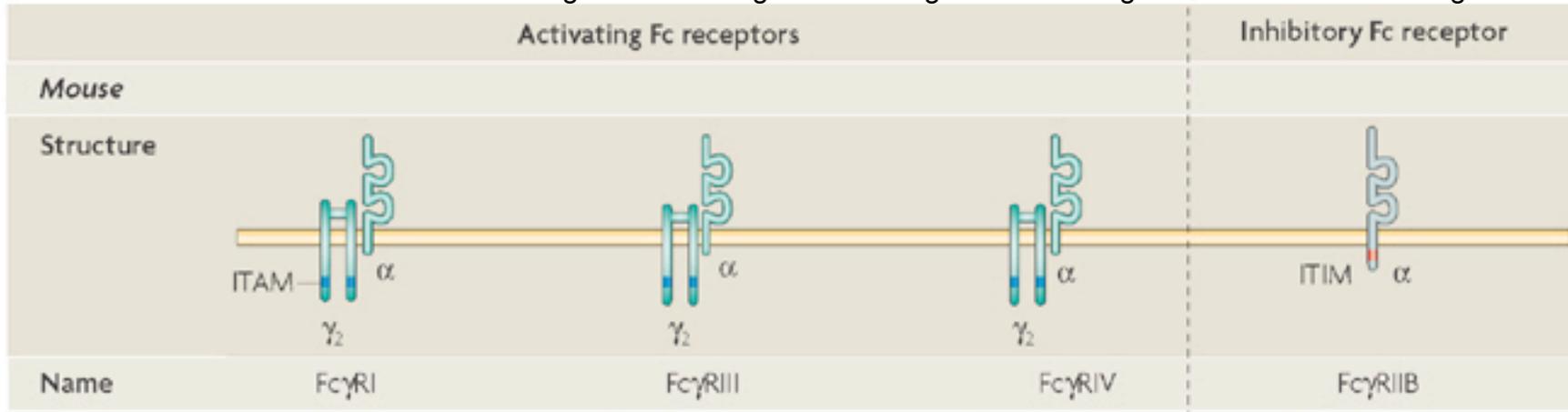
- La plupart des cellules immunitaires (macrophages, monocytes, cellules dendritiques) ont à leur surface **à la fois des RFc γ activateurs et des RFc γ inhibiteurs**

- Deux types cellulaires ne co-expriment pas des récepteurs activateurs et inhibiteurs:
 - Les cellules NK (RFc γ III⁺)
 - Les lymphocytes B (RFc γ IIB⁺)

Isotypes et fixation aux R_{Fcγ}



IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3
>> IgG4	IgG2	IgG2	>> IgG4	>> IgG4	> IgG2
	>> IgG4	>> IgG4	>> IgG2	>> IgG2	> IgG4

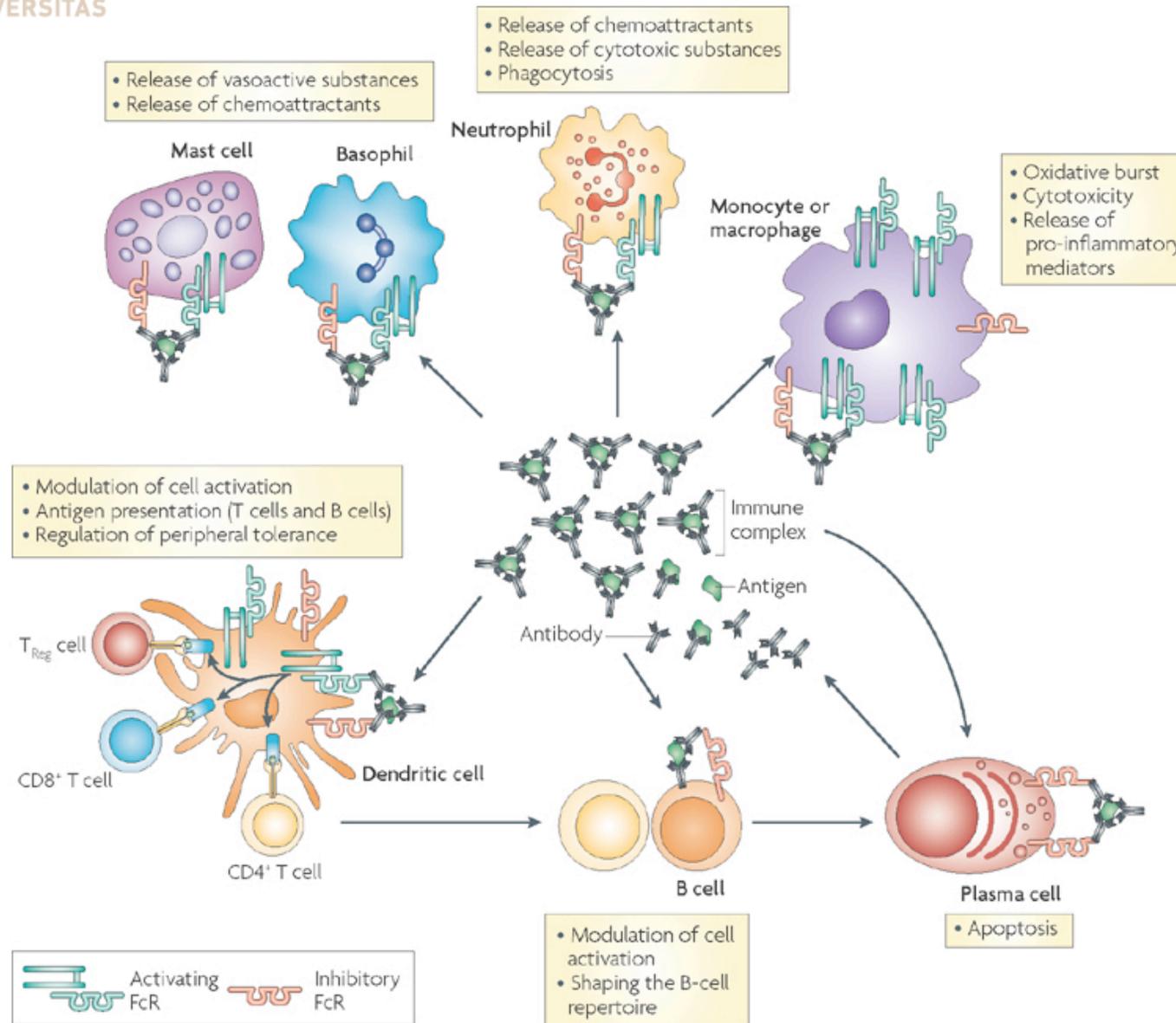


IgG2a	IgG1	IgG2a	IgG1
	IgG2a	IgG2b	IgG2a
	IgG2b	>> IgG3	IgG2b
	>> IgG3		>> IgG3

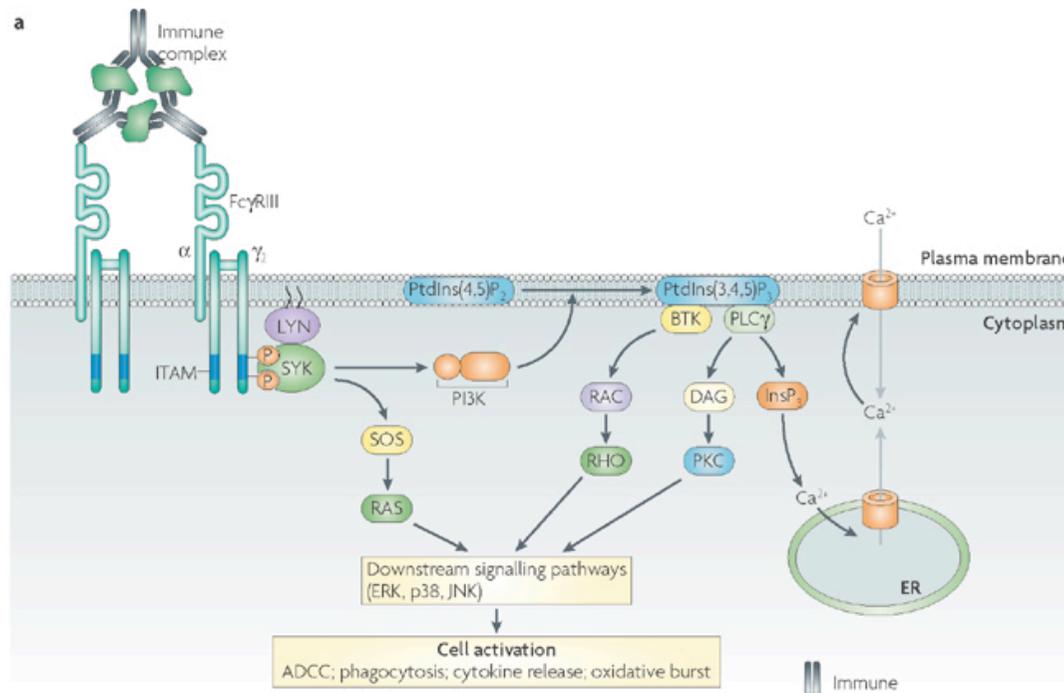
- Pour l'Homme : **IgG1 et IgG3 pro-inflammatoires**
- Pour la souris : **IgG2a et IgG2b pro-inflammatoires** (activité > IgG1 et IgG3 *in vivo*)
- Malgré ces capacités d'interactions *in vitro*, l'activité *in vivo* de chacun des isotypes peut dépendre d'autres facteurs (cellules effectrices RFc γ ⁺, environnement cytokinique....)

Exple: dans le modèle de thrombocytopénie immune : activité *in vivo* des IgG2b exclusivement dépendante du RFc γ IV

Fonctions des RFcγ

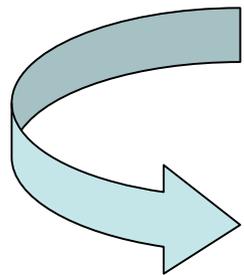


Fonctions des RFc γ



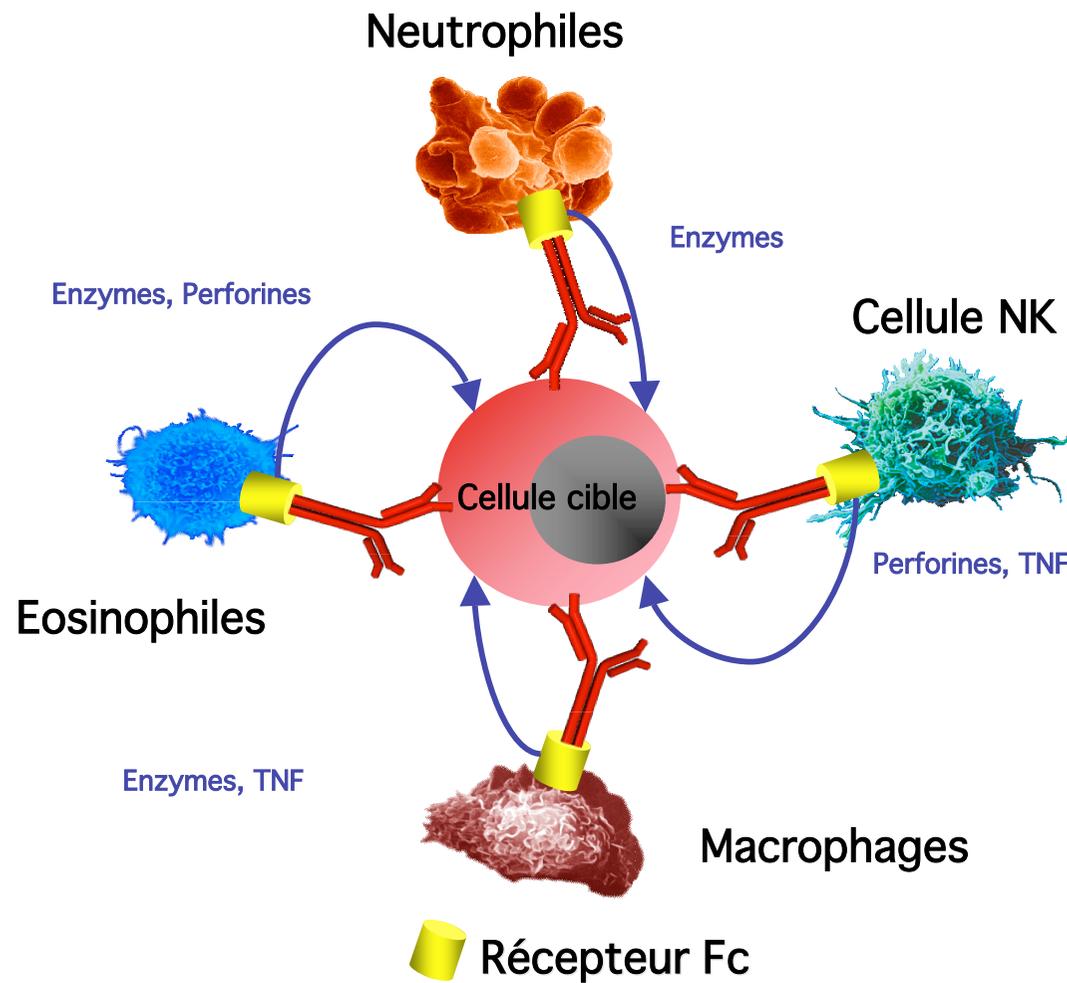
Cross-link RFc γ activateurs :

- Phosphorylation ITAM (Src)
- Recrutement kinase Syk
- Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
- Ca $^{2+}$ intracellulaire

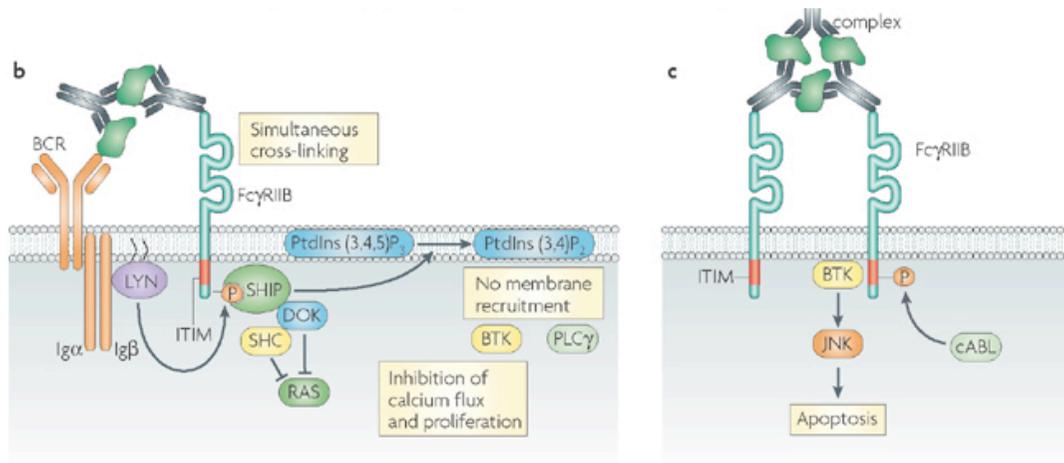


Endocytose, phagocytose, ADCC, production de cytokines....

ADCC ou Cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps



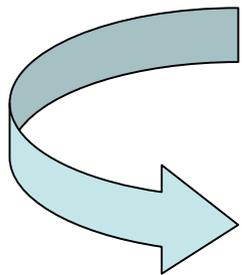
Fonctions des RFcγ



Nature Reviews | Immunology

Cross-link RFcγ inhibiteurs et BCR :

- Phosphorylation ITIM (Lyn)
- Recrutement phosphatase SHIP
- Hydrolyse Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate

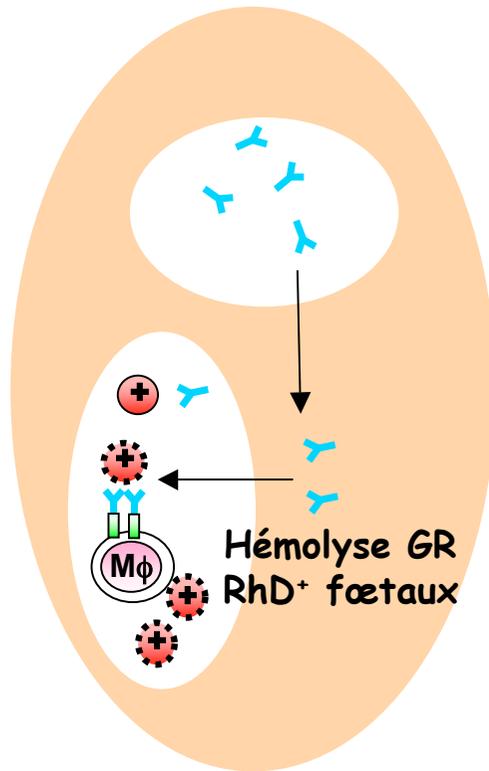


Inhibition de l'activation des LB, apoptose des LB

Fonctions des $RFc\gamma$: applications thérapeutiques

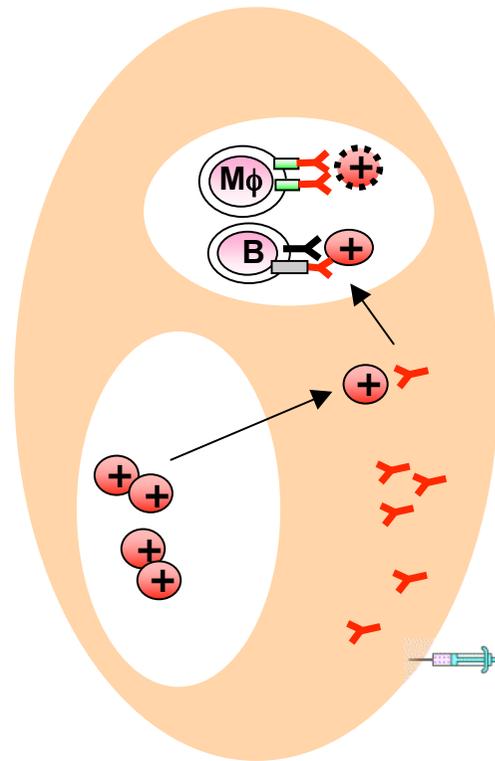
L'engagement du $RFc\gamma IIB$ comme régulateur de la réponse humorale

Hémolyse globules rouges
foetaux RhD⁺

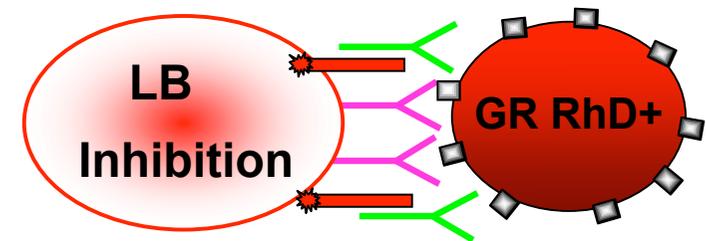


Anti-RhD (maternel)
BCR
RFc $\gamma I/IIA/IIIA$

Prévention de
l'alloimmunisation



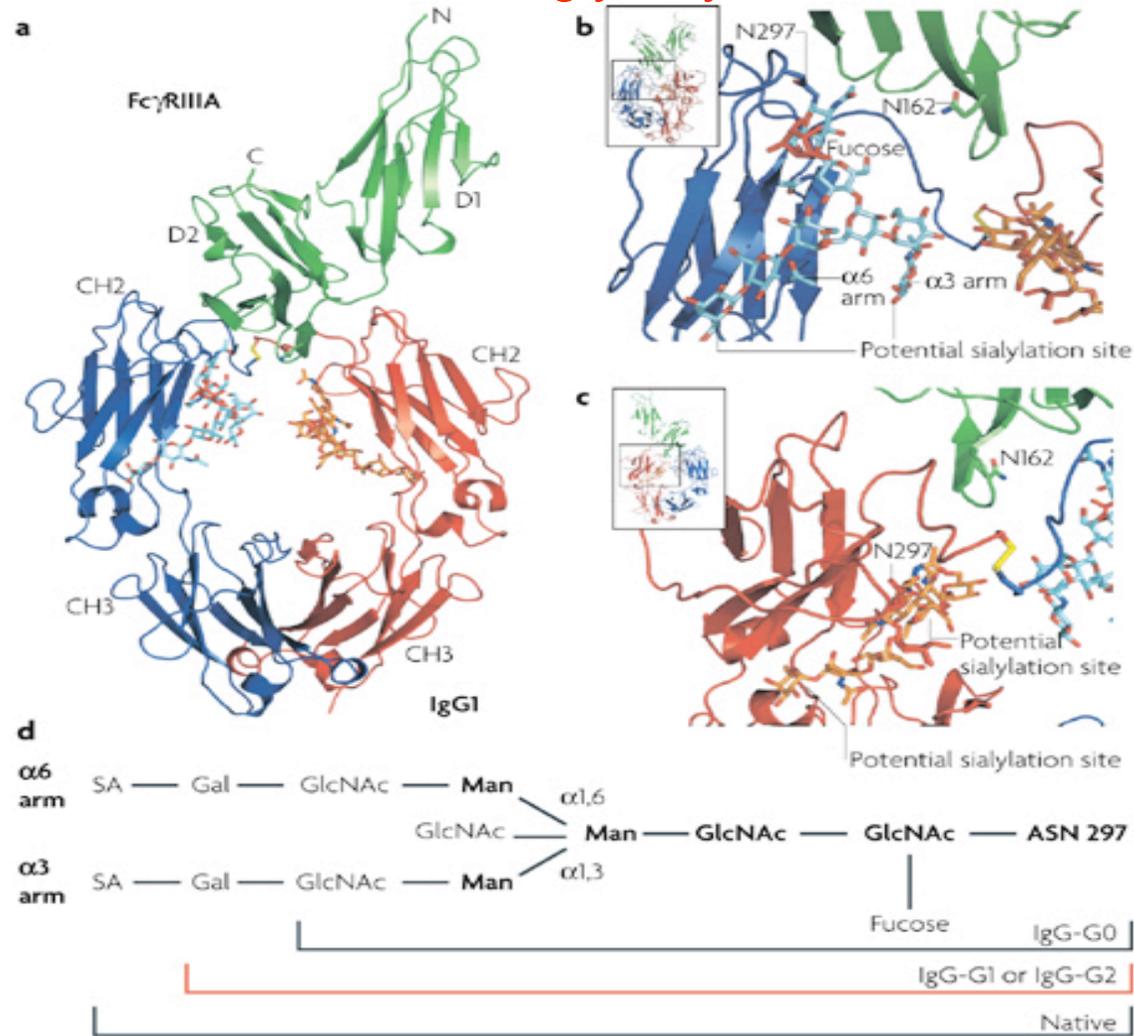
RFc γIIB
Anti-RhD
(prophylaxie passive)



Anti-RhD (Prophylaxie passive)
RFc γIIB
RFc $\gamma I/II$
RFc γIII
BCR
Ag RhD
ITIM
ITAM

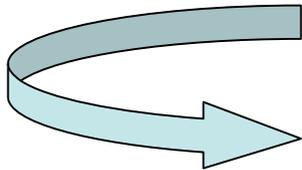
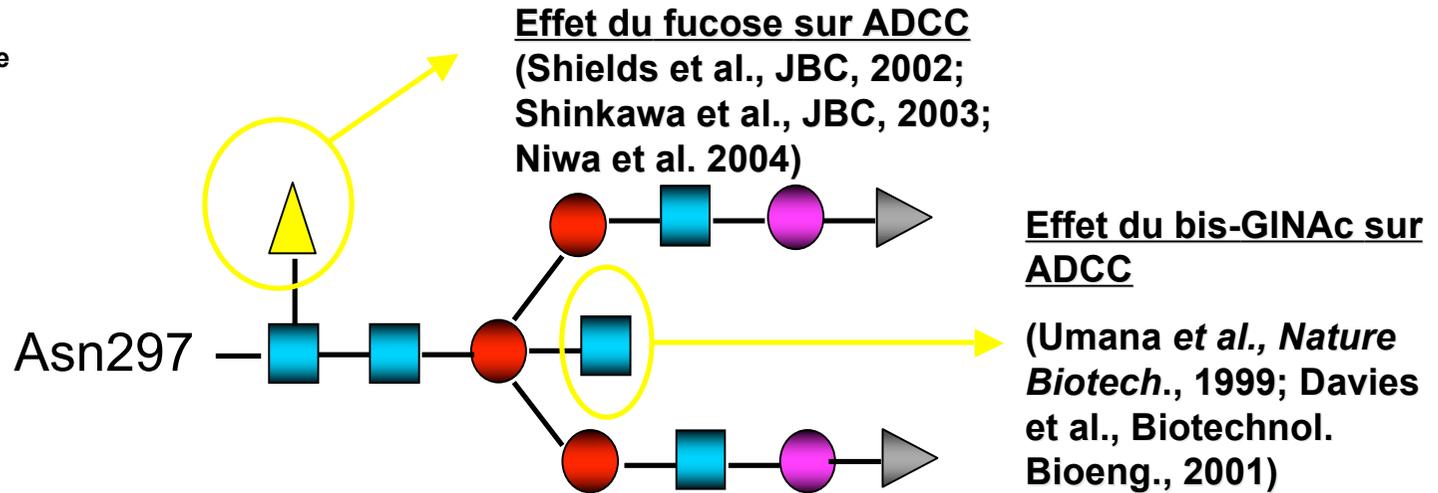
Modulation des fonctions effectrices des anticorps

Le rôle de la N-glycosylation du Fc



Modulation des fonctions effectrices des anticorps

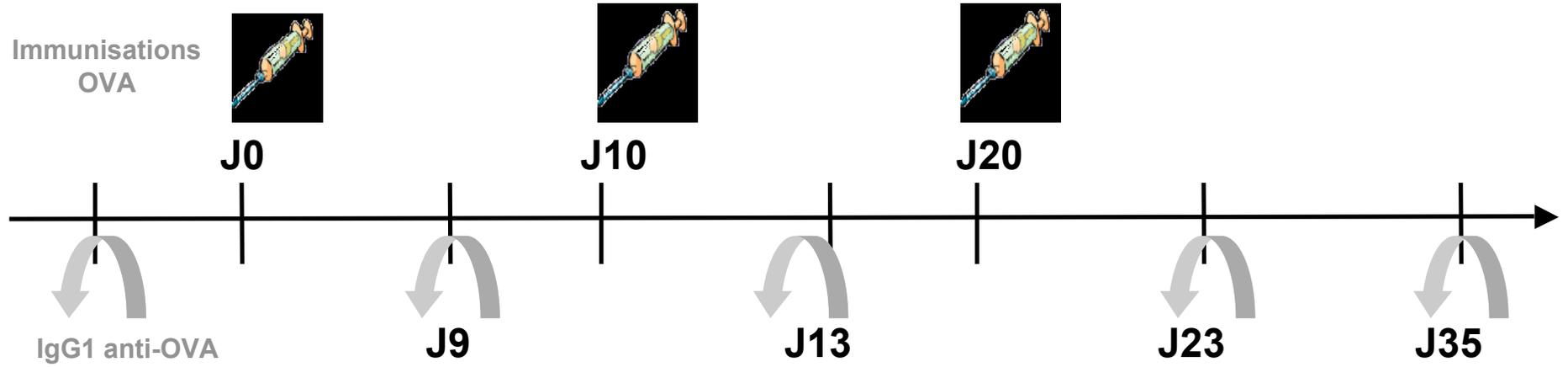
Le rôle de la N-glycosylation du Fc



Production des AcM recombinants dans des lignées cellulaires présentant une synthèse des carbohydrates particulière

(CHO-Lec13, YB2/0, CHO FUT8^{-/-} ...)

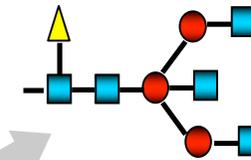
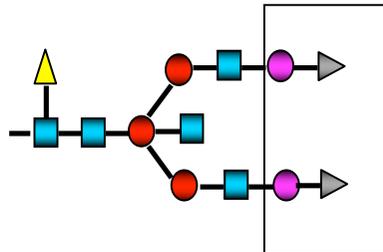
Modulation des fonctions effectrices des anticorps



% Fucose



% Galactose



G0F

Mannose Binding Protein

Récepteurs type lectine

(Monocytes, macrophages, NK)

C1r (Complément)



RFc γ inhibiteurs

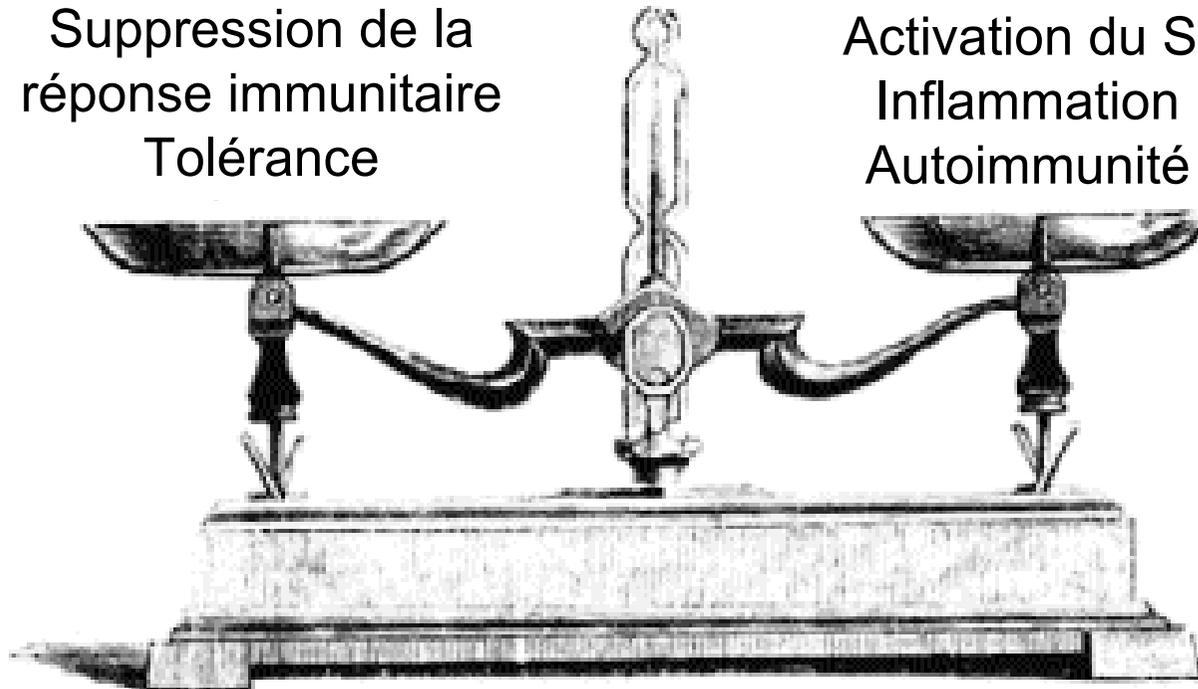


Suppression de la
réponse immunitaire
Tolérance

RFc γ activateurs



Activation du SI
Inflammation
Autoimmunité



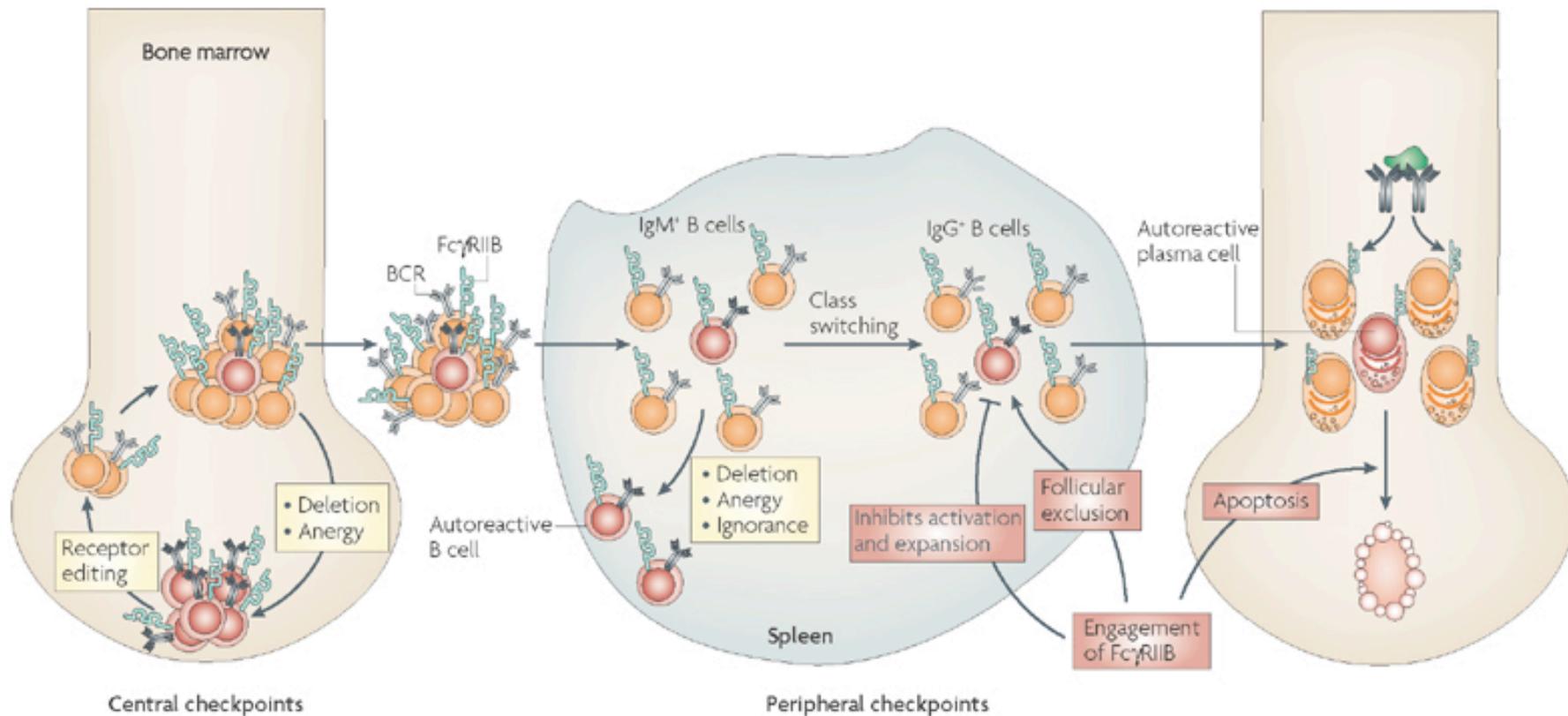
Fonctions des RFc γ : modèles d'étude chez la souris et polymorphismes

Délétion / Polymorphisme	Fonctions cellulaires	Phénotype
Chaîne γ (RFc activateurs) / ou Chaîne α RFc γ III / ou RFc γ III ^{-/-}	Diminution : ADCC Phagocytose Opsonisation	Résistance anaphylaxie et autoimmunité
RFc γ IIB	Augmentation: Réponse des macrophages aux IC Flux calcique Phagocytose Maturation des cellules dendritiques par IC	Sensibilité anaphylaxie et autoimmunité
Polymorphisme promoteur FCGR IIB (souches NZB, NOD, BXSB, MRL)	Réduction de l'expression du RFc γ IIB sur les LB activés, les LB du centre germinatif et les plasmocytes	Autoimmunité (lupus)

Polymorphismes des R $\text{F}\gamma$ humains inhibiteurs et pathologies associées

Human	Promoter polymorphism	Increased level of SLE; Increased disease severity	Low expression due to decreased binding of activating transcription factors
	Allelic variant (I232T)	SLE associated	Impaired recruitment to lipid rafts
	Not defined	SLE associated	Impaired expression of Fc γ RIIB

Régulation de la production d'anticorps



Centre germinatif: délétion des LB faible affinité pour l'antigène

Nature Reviews | Immunology
Moelle osseuse: Régulation des plasmocytes longue durée de vie

- La réponse humorale est initiée par la rencontre avec un antigène qui peut être soluble ou lié à la membrane de cellules
- Les premières étapes de la réponse humorale font intervenir la formation d'une synapse immunologique
- La liaison du BCR avec l'antigène induit des phosphorylations de motifs ITAM + recrutement de protéines adaptatrices
- Des signaux supplémentaires sont nécessaires pour une activation optimale des LB naïfs
- Un help des LT est nécessaire pour la formation de centres germinatifs (commutation de classe et maturation de l'affinité)
- Les fonctions des anticorps : sont liés aux fonctions de liaison à la cible + fonctions effectrices dépendantes des interactions Fc / RFc
- Les propriétés structurales des anticorps ont une influence sur leurs propriétés effectrices
- La réponse anticorps est régulée par différents mécanismes (certains RFc γ IIb dépendants) (autoimmunité : dérégulation de ces contrôles)