

Immunologie Moléculaire et Cellulaire

Cours Master 1: Biochimie-Immunologie
2019-2020

المصدر الأول للطالب الجزائري



Pr Hammoudi-Triki D

DÉVELOPPEMENT ET HOMÉOSTASIE

I - INTRODUCTION

Deux catégories d'organes lymphoïdes : les organes lymphoïdes **primaires** ou **centraux** et les organes lymphoïdes **secondaires** ou **périphériques**.

Les précurseurs lymphocytaires subissent leur maturation au contact du microenvironnement des organes lymphoïdes primaires **indépendamment de la présence des antigènes**. Les lymphocytes matures fonctionnels qui en ressortent colonisent les organes lymphoïdes secondaires qui sont placés sur les voies de pénétration des antigènes dans l'organisme. Leurs fonctions sont donc de drainer les antigènes, d'optimiser et de réguler les interactions cellulaires indispensables à l'apparition d'une réponse immunitaire spécifique et de distribuer dans les tissus appropriés les cellules effectrices.

Les organes lymphoïdes **primaires** sont chez les mammifères la **moelle osseuse**, siège de la lymphopoïèse et de la maturation des **lymphocytes B**, et le **thymus**, siège de la maturation des **lymphocytes T**. Chez les oiseaux il faut y ajouter un organe particulier, la **bourse de Fabricius**, au sein de laquelle s'accomplit la maturation de la lignée B et dont l'équivalent chez les mammifères serait la moelle osseuse. Les organes lymphoïdes **secondaires** sont les **ganglions lymphatiques**, la **rate**, les **tissus lymphoïdes associés aux muqueuses**.

La totalité de la population lymphocytaire est répartie dans un système immunitaire distribué dans tout l'organisme soit dans des entités anatomiques distinctes (les organes lymphoïdes) soit de manière diffuse dans les tissus ou dans des réseaux de circulation. Elle est composée d'environ **10¹⁸** lymphocytes. Son poids global est d'environ **1,5 kg** pour un adulte de 70 kg, dont 70 grammes sont localisés dans la moelle osseuse.

Le **système lymphatique** débute par des capillaires lymphatiques borgnes qui se poursuivent par des vaisseaux de calibre de plus en plus gros qui se jettent finalement dans deux troncs principaux : le **tronc lymphatique droit**, qui draine la moitié **supérieure** du corps et qui se jette dans la **veine sous-clavière droite** ; le **canal thoracique** qui draine la moitié **inférieure** du corps et se jette dans la **veine sous-clavière gauche**.

II - ORGANES LYMPHOIDES CENTRAUX

Le système sanguin et lymphatique permet une circulation cellulaire intense et une répartition ubiquitaire des cellules immunocompétentes mettant à disposition de l'organisme, en permanence, la totalité du répertoire immunitaire.

Ce système est constitué de **cellules fixes** (cellules **stromales** ou **réticulaires**) et de **fibres** qui forment la trame des organes et des vaisseaux et de

cellules mobiles (les cellules immunocompétentes : lymphocytes, CPA formant le parenchyme des organes et responsable du traitement de l'information antigénique et de l'intervention à distance.

Les organes lymphoïdes **centraux** sont le site de **maturation** et de **différenciation** des lymphocytes. Le développement de ces derniers est totalement indépendant de la présence des antigènes et est sous le contrôle de l'activité inductrice du réticulum d'origine épithéliale. Ces organes sont le siège d'une intense activité mitotique favorisant les réarrangements géniques indispensables à la création des glycoprotéines de membrane reconnaissant spécifiquement l'antigène : les immunoglobulines de surface (sIgG) et le récepteur T de l'antigène (TCR). Seuls les lymphocytes porteurs de réarrangements fonctionnels migreront hors de ces organes qui sont donc le lieu d'acquisition du **répertoire antigénique** mais aussi d'apprentissage de la **tolérance au soi**.

II-1-LA MOELLE OSSEUSE

II-1-1- Architecture de la moelle

La moelle osseuse dérive du **mésenchyme**. Elle occupe l'espace libre à l'intérieur des os. On y distingue une moelle **rouge**, active, hématopoïétique, et une moelle **jaune**, inactive, grasseuse.

La vascularisation de la moelle débute par une artère nourricière qui se divise en deux artères centrales longitudinales dans la cavité centro-médullaire. Il en part des artères radiales qui se divisent en capillaires. Le retour veineux est successivement assuré par des sinus veineux, des veines radiales et des veines longitudinales.

Entre les vaisseaux et les travées osseuses la charpente réticulaire (cellules et fibres de collagène, de lamine, de fibronectine, d'hémopectine) forme une sorte d'éponge dont les pores sont remplis par le tissu hématopoïétique constitué des cellules hématopoïétiques, de cellules grasseuses et de macrophages. Selon les lignées les cellules hématopoïétiques se regroupent en **îlots** de localisation préférentielle: les érythrocytes et les mégacaryocytes sont proches des cellules réticulaires des sinus veineux; les granulocytes sont à distance des sinus veineux alors que les **lymphocytes** sont regroupés autour des **artères radiales**.

Les éléments figurés matures quittent la moelle osseuse en franchissant l'endothélium des sinus veineux. Le passage dans la circulation sanguine est un phénomène actif.

II-1-2- Les cellules souches

Les **cellules souches hématopoïétiques (CSH)**, qui ne sont à l'heure actuelle identifiables par aucun critère morphologique, se définissent par deux propriétés fonctionnelles fondamentales: leur **totipotence** et leur capacité d'**auto-**

renouvellement. Elles se retrouvent dans la population des **cellules CD34⁺**. De plus, les CSH établissent des interactions cellulaires avec cette niche via des molécules d'adhésion spécifiques. La moelle osseuse est constituée de cellules hématopoïétiques et de cellules stromales qui peuvent être des fibroblastes, des adipocytes, des cellules endothéliales et des ostéoblastes. Parmi les composants critiques de la niche hématopoïétique, nous pouvons citer les ostéoblastes qui forment la niche endostéale. En effet, la déplétion de ces cellules chez la souris entraîne une diminution des CSH dans la moelle osseuse (figure 1).

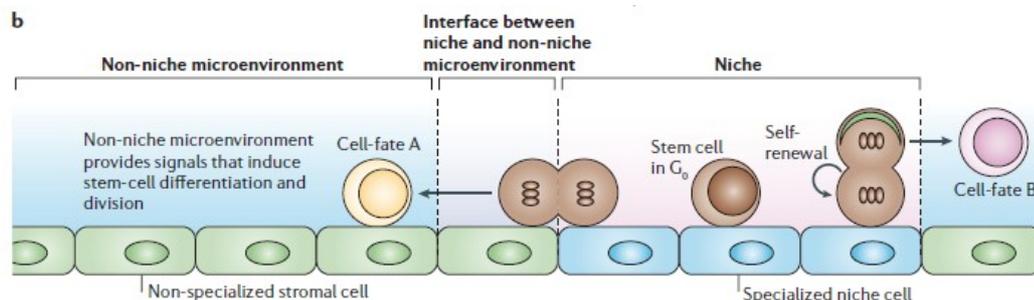


Figure 1 : Principe de la niche hématopoïétique. Les CSH sont maintenues en quiescence dans la niche. Après division asymétrique, les cellules quittent la niche et sont soumises à des signaux extrinsèques qui influencent leur engagement dans la différenciation (Wilson et al 2006).

L'étape suivante de l'hématopoïèse est représentée par des **progéniteurs multipotents**, qui à la différence des CSH ne sont **plus doués d'auto-renouvellement** et ne sont plus capables de reconstituer l'hématopoïèse de souris irradiées à dose létale (figure 2). En fonction des informations contenues dans le microenvironnement (cytokines, contacts cellulaires avec les cellules stromales) ces précurseurs vont s'engager irréversiblement dans une lignée. Pour les lymphocytes une partie poursuit son développement sur place: il s'agit de la **lignée B** qui aboutit au **plasmocyte médullaire**. Les précurseurs B et les lymphocytes pré-B représentent environ 20 % des cellules nucléées de la moelle osseuse et la majorité des lymphocytes de la moelle. Une autre partie migre vers l'autre organe lymphoïde primaire que constitue le thymus pour y devenir des lymphocytes T.

La moelle osseuse a donc, chez l'homme, **trois fonctions** dans la lymphopoïèse :

- elle agit comme organe **hématopoïétique** qui maintient constant les précurseurs des lymphocytes T et des lymphocytes B.
- elle est l'**organe lymphoïde primaire** pour la **lignée B**
- elle héberge une partie des lymphocytes B activés par l'antigène en périphérie qui se transforment en **plasmocytes** sécrétant d'anticorps.

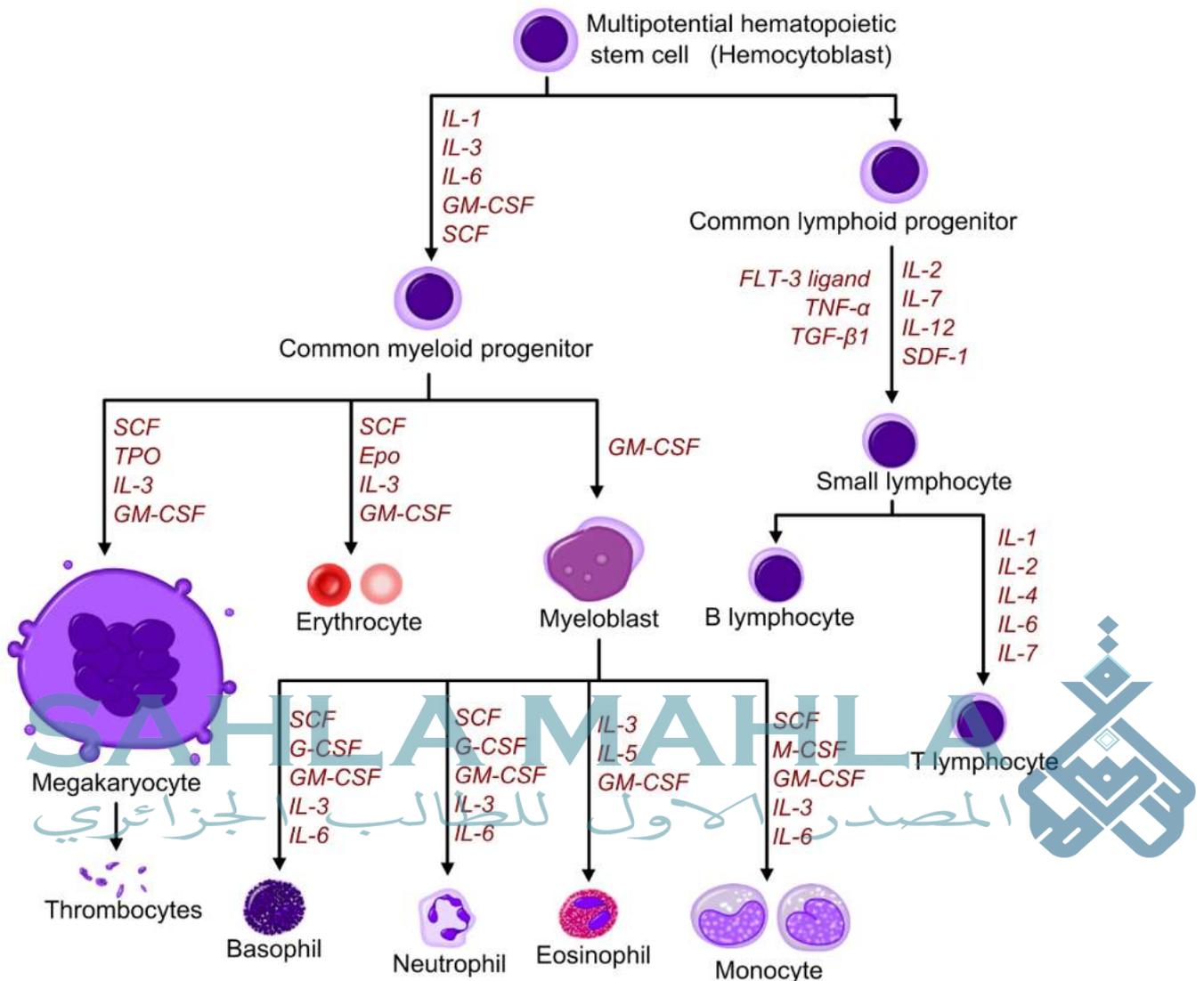


Figure 2 : Facteurs de croissance hématopoïétiques.

II-2- LA BOURSE DE FABRICIUS

Chez les oiseaux les extrémités distales des tubes digestif et génito-urinaire fusionnent en une chambre commune appelée **cloaque**. C'est le deuxième organe lymphoïde à apparaître au cours de l'ontogénèse, après le thymus. C'est en effet aux environs des 3ème-4ème jours qu'il se forme à partir d'une évagination de l'épithélium endodermique de la partie postérieure du cloaque. Aux 11ème-12ème jours se forment des follicules avec un cortex et une médullaire séparés par un épithélium. Dès les 8ème-9ème jours la bourse est colonisée par les cellules souches d'origine vitelline.

Chez les oiseaux la bourse de FABRICIUS est l'organe lymphoïde primaire de différenciation des lymphocytes B, dont l'équivalent chez les **mammifères** serait la **moelle osseuse**.

La **bursectomie néonatale** est responsable de la **disparition de l'immunité humorale** qui se traduit par une agammaglobulinémie, une absence de centres germinatifs dans les organes lymphoïdes secondaires et une absence de plasmocytes. Par contre l'hypersensibilité retardée (type IV) et le rejet des allogreffes sont parfaitement conservés. Un tableau clinique équivalent est réalisé chez l'homme par un déficit immunitaire primitif : l'**agammaglobulinémie liée au sexe**, ou maladie de **BRUTON**, due à un défaut d'une tyrosine kinase (Bruton tyrosine kinase ou Btk) qui provoque un blocage de la lignée B au stade de lymphocyte pré-B.

II-3 LE THYMUS

II-3-1 Mise en évidence du rôle du thymus

Chez la souris la **thymectomie néo-natale** entraîne un déficit immunitaire portant sélectivement sur les lymphocytes T. De même il existe une lignée de souris porteuse d'une mutation dite **nude**, caractérisée sur le plan phénotypique par une absence de pelage et une agénésie thymique, cause un déficit de l'immunité cellulaire par absence de lymphocytes T, dont les conséquences sont : défaut de réponse cytotoxique, défaut d'hypersensibilité retardée, défaut de réponse anticorps aux antigènes thymo-dépendants, tolérance des allogreffes.

II-3-2- Anatomie

Le thymus est un organe bilobé situé dans la partie supérieure du médiastin antérieur. Il est assez volumineux à la naissance où il représente 1 % du poids du nouveau-né ; sa croissance propre est moins rapide que celle du reste de l'organisme. Le poids maximum est atteint chez l'adolescent puis on observe une involution très progressive. Chez le vieillard il ne reste plus que de vagues reliquats fibreux néanmoins fonctionnels.

Le thymus est un organe lympho-épithélial volumineux, d'environ une vingtaine de grammes chez l'adulte de 30 ans. Il est formé d'une trame de **cellules épithéliales** particulières, de forme étoilée avec de longues extensions cytoplasmiques jointives à leurs extrémités par des desmosomes, qui authentifient leur nature épithéliale. Leur cytoplasme contient des granulations de nature sécrétoire en rapport avec des médiateurs impliqués dans la maturation des lymphocytes T comme en témoigne la capacité des greffes de cellules épithéliales à restaurer la compétence immunitaires des souris thymectomisées à la naissance. Le parenchyme cellulaire qui comble ce réseau épithélial est fait de lymphocytes qui prennent le nom de **thymocytes**. Il est plus riche, et donc plus dense, dans le cortex que dans la médullaire. Dans cette dernière certaines cellules épithéliales se regroupent en structures arrondies, les **corpuscules de HASSALL**. A l'intérieur de ces corpuscules les cellules épithéliales peuvent se kératiniser, se calcifier ou se nécroser.

II-3-3- Ontogénie

Les cellules épithéliales produisent les cytokines indispensables au bon déroulement de la maturation des thymocytes : citons IL-1, l'IL-3, l'IL-7 et le GM-CSF (granulocyte/macrophage colony stimulating factor).

Les autres cellules retrouvées dans le thymus sont toutes originaires de la moelle osseuse: **précurseurs des thymocytes, macrophages et cellules dendritiques** qui sont les deux types de CPA indispensables au bon déroulement de la différenciation thymique du lymphocyte T. La répartition de ces différentes cellules est fonction du site anatomique: le cortex est très riche en thymocytes les plus immatures et contient quelques macrophages alors que la médullaire est un peu moins riche en thymocytes et contient des macrophages en plus grand nombre ainsi que des cellules dendritiques. Les CPA et les cellules épithéliales expriment les antigènes du CMH.

II-3-4 Organisation fonctionnelle

Environ $1 \text{ à } 2 \cdot 10^8$ précurseurs lymphoïdes pénètrent quotidiennement dans le thymus alors que seulement 10^6 lymphocytes T matures en ressort, soit 2 %. Le renouvellement quotidien porte donc sur environ 50 % des thymocytes qui pénètrent dans le thymus, soit $5 \cdot 10^7$ chez la souris. On voit donc qu'environ 98 % des thymocytes meurent dans le thymus par un phénomène d'**apoptose**, ou mort cellulaire programmée. Ces thymocytes condamnés à disparaître in situ sont ceux qui ne peuvent franchir avec succès les barrières successives de la **sélection positive** et de la **sélection négative**.

Le **cortex externe, sous capsulaire**, contient de grandes cellules, les lymphoblastes, qui sont des cellules à division rapide. Ces thymocytes sont fonctionnellement immatures, représentent **5 à 15 %** de tous les thymocytes.

Le **cortex profond** contient deux types de cellules : des **thymocytes** de taille moyenne, **corticossensibles** qui représentent **85 %** du total des thymocytes, et des **cellules épithéliales**.

Dans la **médullaire** les thymocytes sont de taille moyenne, représentent **10 à 15 %** des thymocytes totaux et sont **corticorésistants** dans toutes les espèces. Ils expriment très fortement le **TCR**. Ils sont au contact de cellules épithéliales spatulées exprimant des antigènes de classe I du CMH et de cellules dendritiques interdigitées, dérivant de la moelle osseuse et exprimant les antigènes de classe I et de classe II du CMH. La médullaire intervient dans le processus de **sélection négative** par élimination des clones de thymocytes à TCR anti-soi de forte affinité.

III - ORGANES LYMPHOIDES SECONDAIRES

Le développement de ces organes est **plus tardif** que celui des organes lymphoïdes primaires. Leur peuplement se fait à partir de cellules provenant de ces

derniers. Ce sont des organes effecteurs : les lymphocytes y achèvent leur maturation et y expriment leurs capacités fonctionnelles sous l'influence des **stimulations antigéniques** qui remodelent en permanence leur architecture.

Ils sont destinés à recevoir les lymphocytes T issus du thymus et les lymphocytes B issus de la moelle osseuse. C'est au niveau de ces organes périphériques que se feront les contacts avec les antigènes parvenant par la voie lymphatique ou la voie sanguine ou même à travers les épithéliums des muqueuses. Il faut noter d'emblée qu'il existe un **perpétuel remaniement** de ces structures et insister tout de suite sur le problème de la **recirculation** des lymphocytes qui sera explicité plus loin.

Les organes lymphoïdes secondaires sont répartis en deux sous-ensembles :

- un compartiment **systémique** dévolu à la protection immunitaire du milieu intérieur. Il comprend la rate, la majorité des ganglions lymphatiques et une partie du système lymphoïde diffus. Les isotypes prédominant y sont l'**IgG** et l'**IgM**.

- un compartiment **muqueux** destiné à la défense des muqueuses. Il comprend le tissu lymphoïde diffus des chorions muqueux, les ganglions lymphatiques qui les drainent, la glande mammaire. Il se singularise par la nature de l'isotype qui y prédomine : l'**IgA sécrétoire**.

III-1 TISSUS LYMPHOÏDES DIFFUS

Toutes les surfaces de l'organisme sont recouvertes par un épithélium qui est formé d'une couche de cellules cubiques fermement liées entre elles par des desmosomes.

En-dessous se situe la **lamina propria** constituée d'un réseau de fibroblastes et de fibres dont les mailles sont remplies par des cellules, dont des lymphocytes. Les lymphocytes sont également parsemés dans la couche sous-jacente qui se nomme la **sous-muqueuse**.

III-2 LES FOLLICULES LYMPHOÏDES SOLITAIRES

Les follicules lymphoïdes sont des amas arrondis de lymphocytes et de cellules dendritiques, entourés par un réseau de capillaires lymphatiques et sans position anatomique fixe.

Ils sont localisés dans la **lamina propria**, et en plus pour ce qui est de l'intestin, dans la sous-muqueuse.

Leur morphologie varie en fonction de l'existence ou non d'une **stimulation antigénique**. On en distingue deux types :

- les follicules lymphoïdes **primaires** d'aspect uniforme observés en l'**absence de stimulation antigénique**.

- les follicules lymphoïdes **secondaires** à la structure polarisée caractérisée par la présence d'un **centre clair germinatif**, développé au sein de l'amas de petits lymphocytes du follicule primaire qu'il repousse en périphérie et qui y

formeront le manteau. Le centre clair germinatif apparaît quelques jours après une **stimulation antigénique** : C'est une zone **burso-dépendante**.

Le follicule lymphoïde est constitué de deux types cellulaires : les cellules lymphoïdes et les cellules non-lymphoïdes. Ces dernières sont représentées par un réseau de **cellules folliculaires dendritiques (CFD)** dont la fonction est de capter les antigènes solubles complexés aux anticorps et de les exposer de façon durable à leur surface grâce à l'expression de récepteur pour le fragment Fc des Ig (Rfc).

III-3 LES GANGLIONS LYMPHATIQUES

III-3-1- Architecture du ganglion lymphatique

Les ganglions lymphatiques sont des organes **encapsulés** qui sont situés sur le réseau lymphoïde.

Les ganglions sont des organes en forme de haricot assimilables à des **filtres** interposés sur la circulation lymphatique. Ils ont une double fonction :

- **exclusion des pathogènes** par phagocytose des macrophages
- **initiation de la réponse immunitaire adaptative**

Le **parenchyme ganglionnaire** est séparé en trois sous-régions :

- une région périphérique sous-capsulaire plus ou moins épaisse : le **cortex**,
- la région la plus profonde, proche du hile et donc de la sortie du ganglion : la **médullaire**,
- enfin, entre les deux précédentes la région dite corticale profonde ou **paracorticale**.

Les régions **corticale** et **médullaire** sont surtout riches en **lymphocytes B** alors que la région **paracorticale** est à **prédominance T**. On trouve des macrophages dans toutes les zones.

La vascularisation sanguine du ganglion se fait par une artère qui pénètre dans le parenchyme au niveau du hile dont les divisions ultimes capillaires se font avant la jonction cortico-médullaire. Dans cette zone paracorticale les **veinules post-capillaires** qui leur font suite se caractérisent par des **cellules endothéliales** de morphologie particulière **cuboïdale**, turgescents (**HEV** pour "high endothelial venules"). C'est à leur niveau que se fait le passage des lymphocytes du sang vers le parenchyme ganglionnaire par un mécanisme actif appelé **diapédèse**.

Sur le plan architectural on décrit :

- un **sinus marginal**, sous-capsulaire, baigné par la lymphe dans laquelle circulent les CPA et les lymphocytes.
- un **cortex**, ou zone corticale, partie la plus externe du ganglion, qui contient essentiellement des **lymphocytes B**.
- une **zone paracorticale**, qui contient principalement des **lymphocytes T** ainsi que des **cellules interdigitées** (nom local des cellules dendritiques, voir cours "cellules de l'immunité") qui expriment fortement les antigènes HLA de classe II et

dont la fonction est de présenter l'antigène aux lymphocytes T. cette zone est le site **d'induction des réponses cellulaires T**

- la **zone médullaire** est riche en **lymphocytes B**, mais surtout en **plasmocytes**, cellules destinées à la fabrication des anticorps situés dans les cordons médullaires. Il existe également de nombreux macrophages.

Les fonctions du ganglion sont de **capter**, de **retenir**, de **phagocyter** des particules étrangères inorganiques (poussières) des particules étrangères organiques (antigène), des agents infectieux (micro-organismes) et des cellules atypiques (métastases). L'absence de membrane basale favorise les échanges entre les vaisseaux et le parenchyme. La proximité des cellules qui y résident favorise les contacts nécessaires à l'élaboration d'une réponse immunitaire spécifique.

III-4 LA RATE

III-4-1 Ontogénie

La rate est le **plus gros organe lymphoïde** chez l'homme (150 grammes) et est située dans le **quadrant supérieur gauche** de l'abdomen, derrière l'estomac. A la différence des autres organes lymphoïdes secondaires c'est un filtre placé sur la circulation sanguine et non lymphatique : elle n'a **pas de lymphatiques afférents** et assure ainsi l'épuration des antigènes véhiculés par le sang.

Les lymphocytes et les CPA sont compartimentalisés dans la rate comme dans le ganglion. Les manchons lymphoïdes péri-artériolaires sont une **zone T dépendante** : les lymphocytes T qui s'y trouvent sont pour 2/3 CD4⁺, 1/3 CD8⁺, avec cependant une plus forte représentation des lymphocytes T $\gamma\delta$ (20 %) que dans la circulation sanguine. Les **follicules de MALPIGHI** représentent des territoires **burso-dépendants** aux structures anatomiques et aux fonctions identiques à celles précédemment décrites pour les follicules lymphoïdes isolés et le ganglion. La zone marginale reçoit la majeure partie du flux sanguin et on y retrouve de nombreux macrophages qui y exercent leur pouvoir phagocytaire. Les **cordons de BILLROTH** sont une zone **burso-dépendante** constituée d'une trame réticulinique avec des cellules fixes, les CPA, et des cellules mobiles, les éléments figurés du sang dont des lymphocytes et des plasmocytes qui proviennent de cellules différenciées dans la pulpe blanche. C'est le lieu d'une synthèse active d'anticorps.

La fonction de la rate est double. C'est un lieu de **production d'anticorps** et de **cellules immunocompétentes** vis-à-vis d'antigènes arrivant par **voie sanguine**. Deuxièmement, elle joue un rôle de **filtre** important placé sur la circulation sanguine pour y éliminer, grâce à ses macrophages, les particules étrangères et les éléments figurés sénescents, principalement les globules rouges. Son architecture est fonction de l'état immunitaire de l'individu : chez un adulte normal la **pulpe blanche** ne représente que **20 %** du parenchyme splénique.

III-5 LES FORMATIONS LYMPHOÏDES ANNEXÉES AUX MUQUEUSES

La muqueuse est infiltrée par de nombreux lymphocytes et plasmocytes, principalement à **IgA** qui se présentent soit de manière diffuse, soit sous forme de follicules isolés soit enfin, en certains sites anatomiques, sous forme d'agrégats de follicules lymphoïdes. Ces sites privilégiés sont les amygdales, les **plaques de PEYER**. Ils se caractérisent par l'**absence de lymphatiques afférents**, les antigènes provenant directement de la lumière intestinale.

Le système immunitaire muqueux diffère du système immunitaire systémique par la nature de l'isotype prédominant d'immunoglobuline (**IgA**) à la structure particulière (**IgA sécrétoire**) et par la caractéristique fondamentale de ces cellules de recirculer après l'immunisation primaire pour venir coloniser spécifiquement des territoires du même compartiment muqueux (phénomène d'**écotaxie**, ou "**homing**").

III - 5 - 1 - Les amygdales

Elles sont placées à l'entrée des voies aéro-digestives supérieures comme six sentinelles.

III - 5 - 2 - Les plaques de PEYER

Quelle que soit l'espèce les PP représentent un constituant majeur du tissu lymphoïde intestinal. Chez l'homme on en dénombre environ 240 à la puberté, chiffre qui décline avec l'âge. Ce sont les **sites inducteurs** de la réponse immunitaire muqueuse.

Elles comportent un épithélium caractéristique associant des cellules épithéliales cubiques, des cellules caliciformes et des **cellules M** ou cellules épithéliales associées aux follicules qui sont capables de capter sans les dégrader les antigènes et qui présentent des associations étroites avec les cellules dendritiques, responsables de la présentation de l'antigène aux lymphocytes. Cet épithélium recouvre un dôme où l'on retrouve des lymphocytes B, des lymphocytes T et des cellules présentant l'antigène. En-dessous se situent des follicules lymphoïdes avec des centres germinatifs, siège des lymphocytes B, et des zones parafolliculaires, T dépendantes.

Les précurseurs d'origine médullaire (lymphocyte B) et thymique (lymphocyte T) arrivent par voie sanguine et pénètrent dans les follicules au niveau des veinules post-capillaires par interaction avec des cellules endothéliales de morphologie particulière (HEV pour "high endothelial venules").

Leur principale caractéristique est d'être enrichie en précurseurs de lymphocytes B sécréteurs d'IgA. Cependant malgré la présence de toutes les sous-populations lymphocytaires requises, il n'y a pas de production locale d'IgA.

III - 5 - 3 - L'appendice iléo-caecale

L'appendice iléo-caecale est une formation de 10 à 15 cm de long annexée à la jonction iléo-caecale ayant la structure en 7 couches de la paroi digestive mais ne possédant pas de villosités. Son chorion est infiltré par de nombreux (environ 200) follicules lymphoïdes ce qui lui confère une structure proche de celle des amygdales.

III- 5 - 4 - Le système immunitaire cutané :

La peau est en effet riche en lymphocytes et en **cellules de LANGHERANS** (nom local des cellules dendritiques).

III - 5 - 5 - Les séreuses :

On trouve au niveau des séreuses (plèvre, péricarde, péritoine) un faible pourcentage d'une sous-population particulière de lymphocytes B, dite **B1**, identifiée par le marqueur **CD5**.

III - 5 - 6 - Les sites effecteurs: lamina propria et lymphocytes intra-épithéliaux

La **lamina propria** est peuplée de cellules immunocompétentes complètement différenciées, à pouvoir effecteur distinct. C'est le siège de différenciation terminale des lymphocytes issus des plaques de Peyer.

On retrouve au sein de l'épithélium muqueux des lymphocytes, les **LIE (Lymphocytes intra-épithéliaux)** : Des **lymphocytes T** ayant une morphologie typique de grand lymphocyte granuleux (LGL pour "large granular lymphocyte"). Ils sont capables de sécréter diverses lymphokines après stimulation par les antigènes ou les mitogènes des parois de microorganismes et sont doués d'activité **cytotoxique**. Par le biais de la sécrétion d'interferon (IFN) ils peuvent aussi induire l'expression d'antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II sur les cellules épithéliales coliques qui normalement ne les expriment pas, ce qui pourrait avoir une importance en pathologie.

Les fonctions de ces LIE sont donc multiples :

- **cytotoxique** par leurs granulations ; sécrétrice (IL-2, IL-3, IFN, TNF)
- **écotaxique**
- **reconnaissance de l'antigène** de manière classique par fixation de l'antigène dans la poche polymorphique de l'antigène du CMH ou par reconnaissance d'un super-antigène lié à la portion latérale non polymorphique de l'antigène du CMH et reconnu par la partie latérale de la chaîne ou du TCR. Les entérotoxines ou les protéines de stress sont des exemples de super antigènes.

Les LIE thymoindépendants se différencient dans le micro-environnement intestinal: les antigènes HLA de classe I non classiques (TI, Qa), peu polymorphes, sont fortement exprimés sur les cellules épithéliales et serviraient à la présentation des antigènes, expliquant le caractère oligoclonal de leur répertoire. Au cours de

L'ontogénèse des réarrangements du gène de la chaîne du TCR ont lieu dans les LIE avant le développement thymique.

L'activation des LIE se ferait principalement de manière non-spécifique de l'antigène, par la voie d'activation CD2, les entérocytes exprimant le ligand CD58 ou LFA-3 en utilisant des molécules accessoires propres E7, et non les α_1 intégrines, et des molécules HLA de classe I non classiques.

Les LIE sont donc capables, par cytotoxicité, de détruire des cellules épithéliales infestées (par un virus) ou recouvertes de toxines bactériennes ou à la teneur augmentée en protéines de stress.

IV- L'ÉCOTAXIE ("OU "HOMING")

➤ La recirculation

La recirculation des lymphocytes est un élément capital qui permet d'augmenter la probabilité de rencontre entre un clone de lymphocytes et son antigène spécifique. Cette recirculation pallie à l'impossibilité qu'a l'organisme d'exprimer en tout site et à n'importe quel moment l'intégralité du répertoire immunologique. La compartimentalisation du système immunitaire en organes lymphoïdes primaires, secondaires permet de répondre avec le moindre coût aux impératifs requis pour l'élimination de l'antigène. Le plus souvent ce sont les mêmes lymphocytes qui recirculent avec, en plus à chaque cycle, quelques lymphoblastes ou quelques cellules effectrices nouvelles.

Chez l'homme il existe environ 10^{12} lymphocytes représentant 10^8 à 10^{10} clones différents. Des travaux estiment que le renouvellement quotidien porte sur 20 % du total de ces lymphocytes. Ce phénomène actif, de recirculation dépend de phénomènes d'**adhérence** entre les différents types cellulaires..

Il fait intervenir des interactions spécifiques entre des récepteurs de "homing" (de domiciliation) sur les lymphocytes et des adressines (molécules d'adressage) sur les cellules endothéliales.

Les récepteurs du homing ne sont **pas spécifiques de l'antigène** : leur expression et leur spécificité ne sont pas influencés par la présence de ce dernier.

➤ Les cellules endothéliales cubiques des veinules post-capillaires

Le passage du sang dans les organes lymphoïdes secondaires se fait au niveau d'un endothélium spécialisé, cuboïde, des veinules post-capillaire (HEV). Les HEV sont retrouvées dans toutes les espèces de mammifères et sont caractérisées par un endothélium rebondi parsemé de lymphocytes adhérents et infiltrés. Elles existent dans tous les organes lymphoïdes secondaires à l'exception de la rate, où le passage des lymphocytes se fait au niveau des sinus marginaux médullaires. On les retrouve dans les **zones para-folliculaires T-dépendantes**.

➤ Mise en évidence du phénomène d'écotaxie

Les **lymphocytes matures naifs** recirculent dans tout l'organisme pour augmenter la probabilité de rencontre d'un clone faiblement représenté avec son antigène spécifique. Les **cellules mémoires** recirculent dans tous les tissus similaires à celui où a eu lieu la première rencontre avec l'antigène, où elles ont donc le plus de chance de l'y rencontrer à nouveau. Enfin, les **cellules effectrices** sont directement adressées dans l'organe cible où se trouve l'antigène pour y accomplir leur fonction et y mourir.

➤ **BASES MOLÉCULAIRES**

Sous l'effet de l'IL-1, du TNF ces cellules endothéliales produisent trois types de molécules d'adhérence appartenant à des familles différentes :

- **sélectines** et leur ligand oligosaccharidiques
- **intégrines** et leurs ligands appartenant à la super-famille des Ig
- autres molécules d'adhérence telles que le CD44.

L'écotaxie est un phénomène actif, comprenant au moins trois étapes. La première (**roulement**) est représentée par l'interaction entre un récepteur du homing (HR) d'expression constitutive sur le lymphocyte et son ligand d'expression modulée sur l'HEV. Cette liaison est faible et transitoire et n'a pour seule fonction que de ralentir le passage des lymphocytes. En l'absence d'**activation**, qui représente la deuxième étape, susceptible d'induire l'apparition de **mécanismes d'adhérence** plus forts constituant la troisième étape on aboutit au relargage du lymphocyte dans le courant circulatoire.

SAHLA MAHLA

➤ **Sélectines**

La première étape ou "rolling" fait intervenir les **sélectines** et leur ligand oligosaccharidiques.

Les sélectines sont parfaitement identifiées depuis 1989. On en reconnaît trois selon leur origine:

- la E-sélectine (**CD62E**) exprimée sur les cellules endothéliales activées par l'IL-1 ou le TNF
- la P-sélectine (**CD62P**) exprimée principalement sur les plaquettes activées par l'héparine ou l'histamine, mais aussi sur les cellules endothéliales activées de la même façon
- la L-sélectine (**CD62L**) d'expression constitutive à la différence des deux précédentes sur les lymphocytes.

IV-2-1-2- Ligands

Le ligand de la L-sélectine est reconnu chez l'homme et la souris par un Ac mcl, MECA-79, qui se lie à un épitope oligosaccharidique partagé par trois adressines:

- **GlyCAM1** (glycolysation dependent cell adhesion molecule 1),
- **CD34**
- **MAdCAM1** (mucosal addressin cell adhesion associated molecule 1).

➤ Chémokines et CD44

L'activation des lymphocytes arrêtés sur les HEV ou sur un endothélium au sein d'un foyer inflammatoire est secondaire à l'action de différents médiateurs solubles, appelés **chémokines** car fonctionnant comme des facteurs chimiotactiques: le fragment C5a du complément, le Platelet activating Factor (PAF), l'IL-8, et les peptides N-formylés des parois bactériennes tels que le fMLP (N-formyl-méthionine-leucine-phenylalanine).

Ces différents médiateurs sont retenus à la surface des cellules endothéliales par des glycosaminoglycans, tel que le **CD44** qui possède une extrémité N-terminale de 90 AA présentant une homologie de structure avec les protéoglycans de cartilage permettant une interaction protéine-acide hyaluronique.

La fixation des chemokines aboutit à augmenter leur concentration locale dans un foyer inflammatoire, les protégeant ainsi de la dilution plasmatique. Les récepteurs de ces différentes chémokines appartiennent tous à la superfamille des **serpentes**, glycoprotéines à sept domaines transmembranaires couplées à des protéines liant le GTP.

➤ 2- et 1-Intégrines

L'activation des lymphocytes alors qu'ils sont faiblement attachés aux HEV par l'interaction sélectine-adressine est responsable de l'induction de molécules d'adhérence secondaire beaucoup plus puissantes, capables donc de renforcer la liaison et de favoriser la diapédèse. De telles molécules se retrouvent dans la famille des **2 intégrines** ou celle des **1-intégrines**.

المصدر الأول للطالبي الجزائري -2-Intégrines

Le représentant type de la première est la molécule **LFA-1** (leucocyte function associated antigen-1), hétérodimère $\alpha_2\beta_1$, reconnu par les Ac mcl des cluster **CD11a** (α) et **CD18** (β). On lui connaît deux ligands sur les cellules endothéliales :

- **ICAM-1** ("intercellular adhesion molecule 1") qui appartient à la superfamille des Ig car possédant cinq domaines "Ig-like" et dont l'expression cellulaire est ubiquitaire, très fortement inductible sur les cellules endothéliales dans un site d'inflammation.
- **ICAM-2** ("intercellular adhesion molecule-2") qui possède deux domaines Ig-like mais dont l'expression cellulaire est beaucoup plus restreinte puisque seuls les lymphocytes et les cellules endothéliales en possèdent sans que l'inflammation n'en régule le niveau d'expression.

-VLA-4 et son ligand VCAM-1

Les cellules endothéliales expriment à leur surface une molécule d'environ 110 kD appelée **VCAM-1** ("vascular cell adhesion molecule-1") ou INCAM-110 ("inductible cell adhesion molecule-110") qui est inductible grâce à la présence d'une région de type NF-kB en 5' de son gène tout comme celui de la E-sélectine. Son ligand est une intégrine, **VLA-4** ou very late antigen-4 ($\alpha_4\beta_1$ ou **CD49d/CD29**)

possédant sept domaines Ig-like dont les plus homologues entre eux (1 et 4) sont impliqués dans l'adhérence non seulement aux cellules endothéliales, mais aussi aux cellules stromales et dendritiques. Elles joueraient un rôle dans les tissus non lymphoïdes soumis à une inflammation chronique.

➤ **Autres interactions moléculaires**

En plus de ces récepteurs spécifiques pour l'écotaxie d'autres systèmes ligand/récepteur de distribution générale interviendraient dans les interactions lymphocytes-cellules endothéliales des veinules post-capillaires. On peut ainsi citer le **CD31**, **LFA-3**, **CD2**, **CD4**, **CD8**, les molécules du **CMH**.

Le **CD31** est une glycoprotéine de 130 kDa, appartenant à la super-famille des Ig, responsable d'adhérence homo- ou hétérotypique, d'expression constitutive sur les cellules endothéliales et inductible sur les plaquettes, les polynucléaires, les monocytes et certaines sous-populations de lymphocytes.

LFA-3 ("leukocyte function associated antigen-3" ou **CD58**) exprimés par les cellules endothéliales et **CD2** son ligand sur les lymphocytes appartiennent tous les deux à la super-famille des Ig. Leur rôle est très controversé dans l'adhérence ; ils interviendraient plus dans l'activation des lymphocytes.

Il en va de même pour les interactions entre les molécules **CD4** et **CD8** et les molécules du **CMH** qui sont inductibles par l'IFN sur les cellules endothéliales.

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



Récepteurs de l'immunité innée

Introduction

L'immunité innée et immunité adaptative sont deux systèmes immunitaires qui se distinguent par leurs récepteurs à l'antigène, par le fait que l'immunité innée est moins spécifique, plus rapide et transitoire. L'immunité adaptative est plus spécifique, mais moins rapide (quelques jours), garde en mémoire l'antigène et donc est plus pérenne. Malgré ces différences, les deux types d'immunité partagent de nombreuses cellules, composants cellulaires et moléculaires et s'unissent pour former un front de défense contre les microorganismes (figure 1). Les récepteurs de l'immunité innée sont les pattern recognition receptors (**PRR**) et reconnaissent des structures communes à des groupes de pathogènes : les pathogen associated molecular pattern (**PAMP**). Au contraire, l'immunité adaptative utilise les immunoglobulines et les récepteurs T de l'antigène (**TCR**) pour la reconnaissance de ces microorganismes. Ces récepteurs sont codés par un petit nombre de gènes mais les réarrangements géniques permettent la création d'un large répertoire. Les PRR sont divisés en quatre familles : les toll-like receptors (**TLR**), les nucleotide-binding oligomerization domain (**NOD**), les RIG-I-like RNA helicase (**RLR**), les **lectines**. Leurs fonctions principales sont de détecter la présence et le type de pathogènes, de déclencher une réponse locale et de stimuler la réponse adaptative. La compréhension des processus de stimulation ou d'inhibition des PRR, leurs mécanismes d'action, la diversité de leurs effets a permis d'ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques.

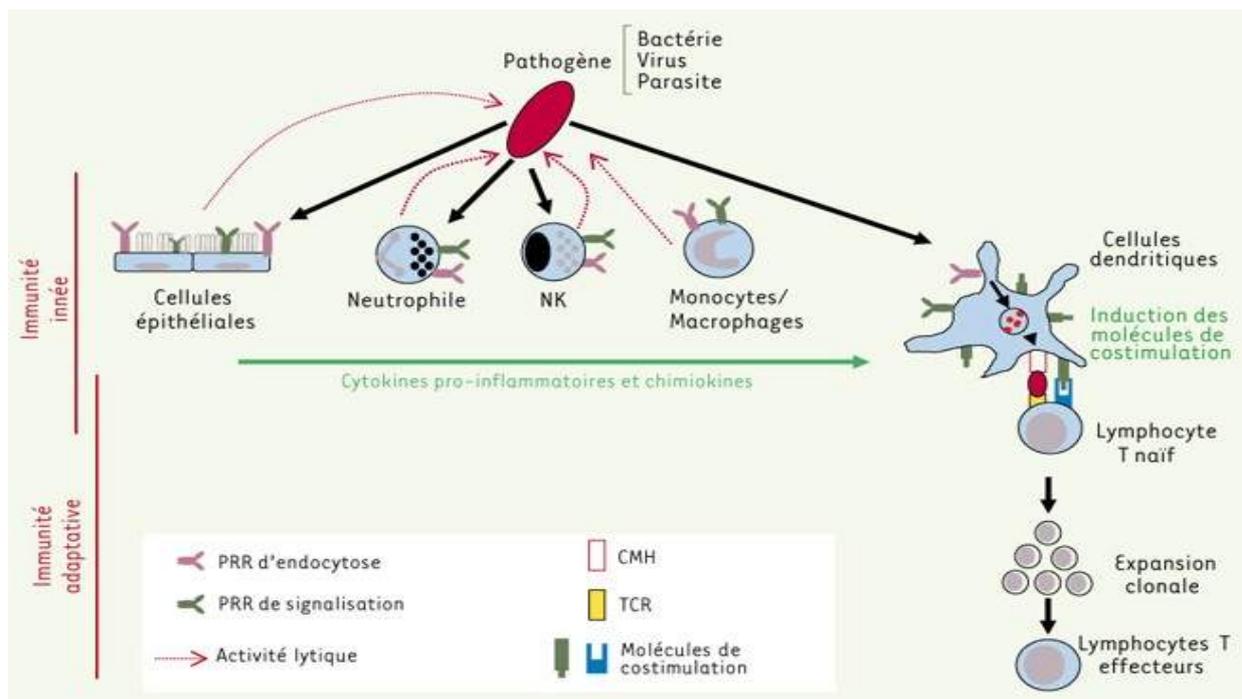


Figure 1. Interconnexion immunité innée - immunité adaptative.

1. Localisation, structure et ligands des TLR

1.1. Localisation

Les TLR sont des récepteurs cellulaires présents chez l'homme et les mammifères et sont homologues au produit du gène de drosophile *Toll*. Actuellement 11 TLR (TLR1-TLR11) sont identifiés chez l'homme. Les TLRs se trouvent sur des cellules immunes : macrophages, cellules dendritiques, LB et T, neutrophiles, cellules NK, monocytes, éosinophiles et sur des cellules non immunes : fibroblastes, synoviocytes, kératinocytes, cellules épithéliales des tractus intestinal, respiratoire et urogénital. Les TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 et TLR11 sont exprimés sur la membrane des cellules alors que les TLR3, TLR7, TLR8 et TLR9 sont sur l'endosome.

1.2. Structure

Les TLR sont des protéines transmembranaires de type 1, fidèlement conservées au cours de l'évolution. Sur la base de la similarité de leurs domaines intracytoplasmiques, les TLRs appartiennent à la famille des récepteurs de l'interleukine-1 (IL-1). Chaque TLR contient un domaine extracellulaire riche en séquences répétées de leucine, participant à la reconnaissance du ligand, et un domaine intracellulaire contenant une région appelée *Toll-IL-1R homology* (TIR) domain. Ce domaine TIR est une structure phylogénétiquement conservée, que partagent les TLR, le domaine intracytoplasmique des récepteurs de l'IL1 et de l'IL-18 (Figure 2). Les gènes codant pour les TLR sont positionnés à différents endroits du génome (TLR 1, 6, 10 sur le chromosome 4, TLR 7 et 8 sur le chromosome X).

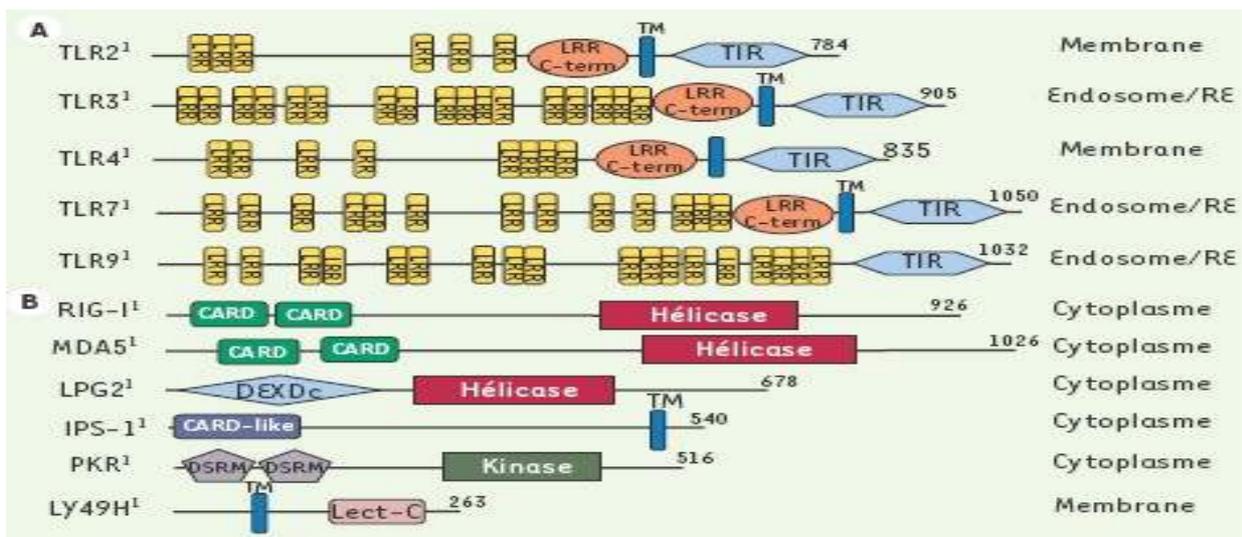


Figure 2. Molécules impliquées dans la réponse innée TLR-dépendante (A) et TLR-indépendante (B). Différents domaines, identifiés par SMART (*simple modular architecture research tool*) sont représentés.

LRR : régions riches en leucine ; TIR : *Toll-interleukin 1 receptor* ; TM : domaine transmembranaire ; CARD : domaine de recrutement des caspases ; DEXDc : domaine *dead* des protéines à hélicase ; DSRM : domaine de liaison à l'ARN double brin ; Lect-C : lectine de type C. La localisation cellulaire de ces protéines est indiquée (RE : réticulum endoplasmique).

1.3. Ligand

Les TLR sont les récepteurs de l'immunité innée qui reconnaissent des structures particulières exogènes sur les microorganismes ***pathogen associated molecular pattern (PAMP)*** et des structures endogènes ***damage-associated molecular patterns (DAMP)*** (Tableau 1).

1.3.1. Les *pathogen associated molecular pattern (PAMP)*

Les PAMP sont caractérisés par trois propriétés. La première est qu'ils sont absents des cellules de l'hôte. La deuxième est qu'ils sont communs à de nombreuses espèces de microorganismes, ce qui permet de reconnaître l'énorme diversité des microbes par un nombre restreint de récepteurs. La troisième propriété est qu'ils sont essentiels à la survie des microorganismes, ce qui limite l'apparition de mutants échappant à la reconnaissance.

- Le TLR1 a pour ligand les lipopeptides des mycobactéries.
- Les ligands de TLR2 sont les lipoprotéines des bactéries, les peptidoglycanes des bactéries Gram positif, l'acide lipotéichoïque (LTA) des streptocoques B, les porines des *Neisseria*, les lipoarabinomannane des mycobactéries, le zymozan des *Saccharomyces cerevisiae*, les phospholipomannane des *Candida albicans*, les glucuronoxylomannane des *Cryptococcus neoformans*, les mutin-type transmembran glycoprotein (tGPI-mutin) des trypanosomes, les hémagglutinines du virus de la rougeole.
- Le TLR3 reconnaît le polyinosinic-polycytidylic acid (poly IC),
- Le TLR4 a pour ligand les lipopolysaccharides (LPS) bactériens (bactéries Gram négatif), les mannanes des champignons, les glycoinositolphospholipides des parasites et les protéines de l'enveloppe des virus.
- Le TLR5 a pour ligand la flagelline des bactéries flagellées.
- Le TLR6 a pour ligand les lipoprotéines des mycoplasmes, le LTA des streptocoques B et le zymozan des *S. cerevisiae*.
- Les TLR7 et TLR8 sont activés par l'ARN simple brin des virus à ARN,
- Le TLR9 est activé par le cytosine-phosphate-guanine (CpG) ADN des bactéries, l'hémozoïne (dérivé de l'hémoglobine) du plasmodium, l'ADN des virus.
- Le ligand de TLR10 n'est pas encore identifié.
- Le TLR11 reconnaît un élément inconnu sur les bactéries à tropisme urologique et la profilin-like molécule de *Toxoplasma gondii*.

1.3.2. Les DAMP

Les DAMP (ligands endogènes) sont des molécules qui signalent un danger ou une lésion. Ce sont des molécules libérées au cours de la mort cellulaire, du choc hémorragique, de l'ischémie : high mobility group box 1 (HMGB1), HSP (protéine du choc thermique), ADN et ARN. D'autres ligands peuvent être libérés suite à une lésion tissulaire chimique ou physique : fragments de hyaluronate, héparine sulfate, fibronectine et fibrinogène. Ainsi, il a été démontré que le TLR1 se lie aux b-défensines humaines (hBD), les TLR2 et TLR6 aux HSP et à la HMGB1. Les molécules endogènes qui activent le TLR3 sont l'ARNm, l'HSP, l'HMGB1 et les fragments de hyaluronane. La HMGB1, la fibrinectine, le surfactant A et les lipoprotéines sont les ligands endogènes de TLR4, l'ARN simple brin est celui de TLR7 et TLR8 et enfin l'ADN est celui de TLR9.

2. Fonctions des TLR

Les TLR ont pour fonction de détecter les microorganismes, d'initier une réponse locale effectrice et enfin de stimuler l'immunité adaptative.

2.1. Détection des microorganismes

Cette détection est effectuée essentiellement par les cellules dendritiques, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. Toutes ces cellules scannent le monde extérieur par l'intermédiaire de la peau et des muqueuses mais également le monde intérieur puisqu'elles se déplacent à travers le sang et la lymphe (cellules dendritiques). Les cellules épithéliales détectent également les pathogènes aux portes d'entrées.

Tableau I : les TLR et les ligands

Famille	Agonistes microbiens	Agonistes du soi	Autres
TLR1 (+ TLR2)	Triacyl lipopeptides (bactéries, mycobactéries)		
TLR2	Lipoprotéines/lipopeptides (nombreux pathogènes) Peptidoglycane et acide lipotéichoïque (bactéries Gram positif)* Lipoarabinomannane (mycobactérie) OmpA (bactérie à Gram négatif)	HSP70**	
TLR3	ARN double brin (virus)		Poly[I:C]
TLR4	Lipopolysaccharide (bactérie à Gram négatif) Protéines virales (RSV, MNTV)	HSP2 Domaines de fibronectine, acide hyaluronique et héparane sulfate	
TLR5	Flagelline (bactérie)		
TLR6 (+ TLR2)	Diacyl lipopeptides (mycoplasme)		
TLR7	ARN simple brin (virus)		Drogues (imidazoquinoline, isoxaribine, broprimine)
TLR8	ARN simple brin (virus)		Imidazoquinoline
TLR9	ADN hypométhylé (bactérie) Hémocoïne	Complexes out-anticoorpe/ADN génomique	
TLR10	?		

2.2. Initiation de la réponse effectrice

Cette réponse est bien illustrée par l'action multiple qu'exerce le complexe TLR-ligand sur la cellule dendritique et son environnement (figure 3).

2.2.1. Au niveau de la cellule

Les TLR jouent un rôle prépondérant dans l'activation des cellules de l'immunité innée et constituent des interfaces moléculaires entre immunité innée et immunité adaptative. Lors d'un contact avec un agent pathogène, les cellules de l'immunité innée (cellules épithéliales, neutrophiles, monocytes/macrophages, cellules NK, cellules dendritiques), activées *via* les récepteurs de signalisation TLR, produisent des médiateurs bactéricides ainsi que des chimiokines et cytokines proinflammatoires. Les antigènes capturés par les cellules dendritiques sont présentés dans les molécules du système du CMH.

Les cellules dendritiques, activées par des ligands des TLR, subissent un processus de maturation caractérisé par une augmentation d'expression des molécules de costimulation nécessaires à l'activation des lymphocytes T naïfs. Les cellules dendritiques activées migrent vers les ganglions proximaux, où elles rencontrent les lymphocytes T spécifiques des antigènes microbiens. Les lymphocytes T activés par les cellules dendritiques se divisent et se différencient en cellules effectrices.

La reconnaissance du ligand améliore la fonction de cellule présentatrice d'antigène (CPA), la capture de l'antigène et son acidification, le transport des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), augmentent leur capacité de migration vers les ganglions et initient la production rapide de plusieurs médiateurs, tels que les interférons (IFN), le facteur de nécrose tumorale (TNF α), les interleukines (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12) et différentes chémokines. La stimulation d'un même TLR situé sur deux cellules différentes n'entraîne pas forcément la production des mêmes cytokines. Ainsi, l'activation du TLR7 par CpG aboutit à la sécrétion d'IL12 dans les cellules dendritiques myéloïdes et à celle de l'INF α dans les cellules dendritiques plasmocytoides. Les cellules dendritiques myéloïdes des différents organes (cellules interstitielles) et les cellules dendritiques myéloïdes de la peau (cellules de Langerhans) sécrètent l'IL12, le TNF, IL6, mais l'IL10 est sécrété uniquement par les cellules interstitielles. Les cellules dendritiques plasmocytoides sécrètent les INF α et INF β .

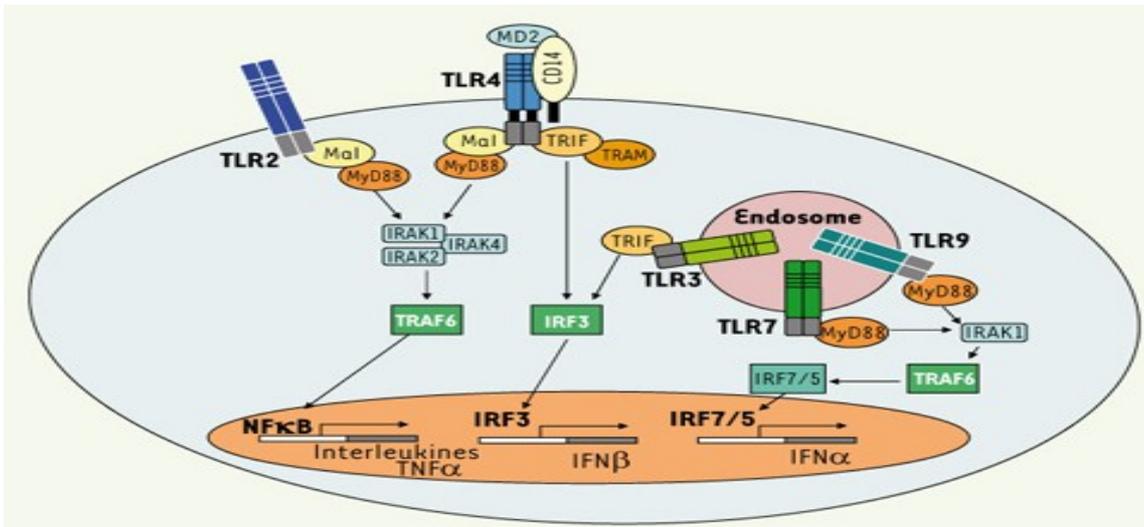


Figure 3. Voies de signalisation via les TLR.

2.3. Stimulation de l'immunité adaptative

L'immunité innée joue un rôle décisif dans la nature et l'amplitude de la réponse adaptative, par son action sur les LT et les LB

2.3.1. Lymphocytes T

L'action sur les lymphocytes T peut être directe, par activation des TLR qu'ils portent ou indirecte, par activation des TLR des CPA. Les CPA, surtout les cellules dendritiques, vont renforcer l'expression de leurs molécules de costimulation CD80, CD86 et CD40, orienter la différenciation des lymphocytes T helper (TH) en TH1 ou TH2 et initier la différenciation de lymphocytes cytotoxiques TCD8. La sécrétion de l'IL12 et de l'INF par les cellules dendritiques permet la différenciation de TH en TH1. En revanche, l'orientation vers TH2 est médiée par l'IL10.

L'activation directe des lymphocytes T est provoquée par la liaison de TLR2 et de TLR4 qu'ils portent : la liaison d'un lipopeptide bactérien (Pam3Cys-SK4) à TLR2 des lymphocytes TH activés entraîne la synthèse des cytokines d'évolution vers TH1.

2.3.2. Lymphocytes B

L'action des TLR sur les lymphocytes B est multiple. Ils agissent sur les B comme sur toute CPA, en augmentant la sécrétion de cytokines. L'activation du TLR2 ou du TLR4 ou encore du TLR9 des lymphocytes B entraîne la sécrétion d'IL10 et d'IL6. L'activation des trois TLR simultanément entraîne la sécrétion de l'INFγ en plus de l'IL10 et de l'IL6. En revanche, l'activation de TLR4 des cellules dendritiques aboutit à la sécrétion de l'IL12 et l'IL6. En plus de cette action des TLR sur le lymphocyte B comme CPA, ils entraînent une augmentation de la production des immunoglobulines et notamment les IgM.

3. Voies de signalisation des TLR

Après la liaison avec leurs ligands, les TLR recrutent un ensemble de protéines adaptatrices qui se fixent sur les domaines TIR des TLR. Cette fixation déclenche une cascade d'interactions qui aboutit à la translocation des facteurs nucléaires et permet la synthèse des différentes cytokines et chimiokines (Figure 4).

3.1. Les facteurs nucléaires

Les facteurs nucléaires sont nuclear factor KB (NF-KB), AP1 (activator protein 1) et interferon regulatory factor (IRF). La famille NF-KB est formée de cinq membres : RelA (p65), β RelB, C-Rel, p105 (NF-kB1 ; précurseur de p50) et p100 (NFkB2 ; précurseur de p52). NF-KB inactif circule sous forme d'un hétérodimère : NF-KB-inhibitor KB (I κ B). I κ B est une famille formée de sept protéines inhibitrices (I κ B α , I κ B β , I κ B γ , I κ B ϵ , Bcl-3, I κ B ζ et I κ BNS). Le facteur nucléaire AP1 est formé de deux parties : c Jun et c Fos. La famille IRF est formée de IRF1, IRF3, IRF5, IRF7.

3.2. Les protéines adaptatrices

Les protéines adaptatrices sont au nombre de quatre. Les deux premières sont le myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88) et le TIR-containing adaptor inducing interferon- β (IFN- β)/TIR-domain-containing adaptor molecule 1 (TRIF/TICAM1). Les deux autres sont le TIR containing adaptor protein/MyD88-adaptor-like (TIRAP/ MAL) et le TIR-domain-containing adaptor molecule/TRIFrelated adaptor molecule 2 (TRAM/TICAM2). Les TLR5, TLR7 et TLR9 utilisent directement et seulement l'adaptateur My88. TLR2 utilise My88 mais par l'intermédiaire de TIRAP qu'il fixe en premier.

Le TLR4 utilise TIRAP pour fixer My88 et TRAM pour fixer TRIF. En plus le TLR4 doit s'associer à un facteur sécrété de 25 kDa, MD-2, pour atteindre la membrane plasmique et interagir avec le LPS. Le corécepteur CD14 est lui aussi associé à TLR4 au sein du complexe récepteur aux LPS. Le TLR3 n'utilise pas My88, il fixe TRIF directement. Au total deux voies de transduction du signal sont utilisées, notamment la voie MyD88 dépendante et la voie TRIF dépendante.

3.3. Voie du MyD88

Le MyD88 activé par le TLR au niveau de son death domain (DD), va interagir avec la famille des protéines kinases IL-1 receptor-associated kinase (IRAK), IRAK1, IRAK2, IRAK4, IRAK-M). IRAK4 est la première kinase activée. Une fois phosphorylée, IRAK4 se détache de My88 et interagit avec TNF-receptor-associated factor (TRAF6) ubiquitiné. Le complexe IRAK4-TRAF6 formé initie quatre voies. La première aboutit à la translocation des facteurs nucléaires NF-KB et AP1, les trois autres aboutissent à la translocation des IRF.

a- La première voie fait intervenir deux molécules : transforming growth factor- β -activated kinase-1 (TAK1) et TAK1 binding protein (TAB), TAB1, TAB2 et TAB3). Le complexe TAK1-TAB formé et activé initie deux voies : la voie de l'I κ B kinase (IKK) qui entraîne la translocation de NF- κ B et la voie des mitogen-activated protein kinase (MAPK) qui aboutit à la translocation de AP1



Figure 4 : Voies de signalisation des TLR. Transduction du signal après reconnaissance des ligands par les TLR membranaires (TLR2, TLR4 et TLR5) et endosomiaux (TLR3, TLR7, TLR9), Lipopolysaccharides (**LPS**), polyinosinic-polycytidylic acid (**poly IC**), myeloid differentiation primary response gene 88 (**MyD88**), TIR-containing adaptor inducing interferon- β (**TRIF**), TIR-containing adaptor protein (**TIRAP**), TIR-domain-containing adaptor molecule (**TRAM**), IL-1 receptor-associated kinase (**IRAK**), tumour necrosis factor (**TNF**) receptor-associated factor (TRAF6), transforming growth factor- β -activated kinase-1 (TAK1), TAK1 binding protein, TAB1 (TAB), mitogen-activated protein kinase kinase (MAP2K), I κ B kinase (IKK), TANK-binding kinase (TBK1), NF- κ B essential modifier (NEMO), receptor-interacting protein 1 (RIP1), nuclear factor κ B (NF- κ B), activator protein 1 (AP1), interferon regulatory factor (IRF), inducible nitric oxide synthetase (iNOS), interferon (INF), tumor necrosis factor (TNF), inteleukine (IL). Les facteurs qui exercent un contrôle négatif sur les voies de signalisation des TLR sont les suivants : (1) soluble TLR (sTLR) et le radioprotective 105 (RP105) ; (2) single immunoglobulin IL-1-related protein (SIGIRR), suppressor of tumorigenicity (ST2), flightless I

homolog (Fliih) ; (3) suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1), ST2 ; (4) SARM (TIR domain- containing protein) et TRAF4 ; (5) IRAK M, IRAK2, toll-interacting protein (Tollip), et SIGIRR ; (6) TRAF 4, b arristin et A20 ; (7) listeria INDuced (LIND), A20-binding inhibitor of NF-kB activation (ABIN 3), ubiquitin-conjugating enzyme (Ubc13 E2), TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor (TRAILR) ; (8) activating transcription factor-3 (ATF3) et suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) ; (9) dual specificity phosphatases (DUSP) ; (10) peptidyl-prolyl isomerase-1 (PIN1).

b- La deuxième voie initiée par le complexe IRAK4-TRAF6 est la translocation de IRF5 qui migre vers le noyau et entraîne la synthèse de l'IL6, le TNF a.

c. La troisième voie aboutit à l'activation de IRF1 qui entraîne la synthèse de l'INF b, p35, IL12 et iNOS.

d- La quatrième voie déclenchée par le complexe IRAK4-TRAF6 est celle qui active le complexe TRAF3-IRAK1-IKKa. Ce dernier initie la translocation de IRF7 en phosphorylant sa partie C terminale. Deux IRF7 activés forment un homodimère qui migre vers le noyau pour activer les gènes des IFN a et b. Ces deux dernières voies sont utilisées uniquement par TLR7 et TLR9.

3.4. Voie du TRIF

Cette voie est utilisée par le TLR3 et le TLR4. Le TLR3 fixe directement TRIF sur son domaine TIR, alors que TLR4 utilise TRAM comme intermédiaire pour fixer TRIF. Deux voies sont possibles : la voie de TRAF6 et celle de TRAF3. Dans la voie de TRAF6, le TRIF active TRAF6 qui se lie à receptor-interacting protein 1 (RIP1). Le complexe TRAF6-RIP1 active TAK1-TABs et rejoint la voie My88. La voie de TRAF3 : TRIF active TRAF3, TBK1 et IKKi qui phosphorylent IRF3. Deux IRF3 forment un homodimère qui migre vers le noyau pour entraîner la synthèse de INF b.

3.5. TLR et apoptose

À travers les mêmes voies de signalisation, My88 et TRIF, les TLR dans certaines conditions peuvent entraîner une apoptose en recrutant des protéines de la mort : les associated death domain protein (FADD). Ces FADD activent la voie des caspases 8 et 9 qui aboutissent à l'apoptose.

4. Régulation des voies des TLR

L'équilibre entre une réponse inflammatoire appropriée et inappropriée doit être maintenu, d'où l'obligation d'un contrôle négatif de ce mécanisme. Ce contrôle fait intervenir un certain nombre de facteurs qui inhibent la cascade d'activation des TLR à différents niveaux.

4.1. Inhibition de la fixation de ligands

Les facteurs bloquants la fixation des ligands sur les TLR sont le soluble TLR (sTLR) qui entre en compétition avec les TLR membranaires et diminue donc les phénomènes inflammatoires et le radio-protecteur 105 (RP105) en se liant au TLR4, empêche la fixation des LPS.

4.2. Inhibition des protéines adaptatrices

La deuxième catégorie des régulateurs de l'activation des TLR sont ceux qui empêchent la fixation ou l'activation des protéines adaptatrices. L'inhibition de MyD88 est exercée par single immunoglobulin IL-1-related protein (SIGIRR) exprimé sur les cellules épithéliales et les cellules dendritiques, par My88s (forme soluble de My88) qui entre en compétition avec My88.

a- Inhibition du complexe IRAK4-TRAF6 : IRAK M, IRAK2, toll-interacting protein (Tollip) et SIGIRR qui inhibent l'activation d'IRAK 4, TRAF 4 qui bloque IRAK4 et TRAF 6.

b- Inhibition de IKK β , α et γ : Listeria INDuced (LIND), A20-binding inhibitor of NF- κ B activation (ABIN 3), ubiquitin-conjugating enzyme (Ubc13 E2), TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor (TRAILR) bloquent la famille des IKK.

c- Inhibition du facteur nucléaire NF- κ B Activating transcription factor-3 (ATF3) et suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) bloquent NF- κ B.

d- Inhibition de AP1, les dual specificity phosphatases (DUSP) inhibent les facteurs JNK et ERK.

4.3. Inhibition de la voie de TRIF :

Cette voie est régulée par plusieurs facteurs. SH-2 containing protein tyrosine phosphatase (SHP-2) bloque TAB1 et peptidyl-prolyl isomerase-1 (PIN1) bloque IRF3.

5. Les TLR en thérapie

La compréhension des mécanismes d'action des TLR a permis le développement de deux voies thérapeutiques. La première utilise la stimulation et l'activation des TLR par des agonistes pour les vaccins contre les maladies infectieuses, les allergies et les cancers. La seconde inhibe l'action des TLR dans les pathologies où cette action est néfaste telle que les maladies auto-immunes et les maladies inflammatoires chroniques.

5.1. Les agonistes des TLR

Les ligands des TLR sont utilisés comme adjuvants de vaccins renforce l'immunité humorale et cellulaire. Ces agonistes ont pour cible la cellule dendritique, interphase entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Les défenses contre plusieurs pathogènes nécessitent la différenciation de TH en TH1. L'activation intense des TLR permet cette différenciation par l'intermédiaire de la sécrétion d'IL12 et augmente l'efficacité des vaccins en renforçant la migration de cellules dendritiques vers les

ganglions lymphatiques, l'expression des molécules du CMH, l'accumulation des complexes CMH-antigène à la surface cellulaire et en augmentant l'expression des molécules de costimulation.

a- Les ligands des TLR utilisés dans l'allergie :

Le mécanisme central des allergies est la production inappropriée de TH2. Normalement, les réponses TH1 et TH2 sont en équilibre. L'augmentation de TH1 va entraîner une diminution de TH2. L'activation de TLR4 et TLR9 induit une forte réponse TH1 et donc leurs agonistes sont utilisés contre l'allergie, en tant qu'adjuvants des allergènes.

b- Les ligands des TLR utilisés dans les maladies infectieuses

Les agonistes de TLR7, TLR8, TLR9, TLR3 ont donné des résultats prometteurs dans les maladies infectieuses et surtout virales en induisant une augmentation de la sécrétion des INF, une action antivirale et une stimulation des cellules T. Le TLR7 intervient dans les infections par le virus de l'hépatite C. Le TLR3 semble avoir une action sur l'infection par le VIH.

c- Les ligands des TLR utilisés dans les cancers.

Les ligands des TLR sont utilisés, soit en tant qu'adjuvants d'un vaccin antitumoral spécifique, soit comme monothérapie, les ligands des TLR renforcent, d'une part, l'immunité innée en stimulant l'immunité antitumorale existante à travers les cellules NK, les monocytes et les macrophages. D'autre part, ils renforcent la tolérance aux antigènes du soi pour que ceux des tumeurs soient facilement reconnus. Leur action sur les lymphocytes TH est d'orienter leur différenciation vers les TH1. Ces ligands stimulent l'action des TCD8 par la facilitation de la présentation des antigènes tumoraux libérés par les cellules mortes.

5.2. Les antagonistes des TLR

La réponse immunitaire peut parfois dépasser le but et devenir néfaste. C'est le cas des maladies inflammatoires chroniques (polyarthrite rhumatoïde [PR] et du lupus érythémateux disséminé [LED]).

a- Polyarthrite rhumatoïde : l'initiation de la pathologie pourrait être due à la liaison des TLR à des ligands exogènes, mais le maintien de l'inflammation et la chronicité sont probablement le fait de l'activation des TLRs par des facteurs endogènes. Il est clair que dans l'articulation rhumatoïde il y a un déséquilibre entre les facteurs pro-inflammatoires présents en excès (TNF α , l'IL1 et l'IL6) et les facteurs anti-inflammatoires présents en quantité insuffisante et qui ne peuvent bloquer l'action des premiers (IL10, IL4, IL13), les récepteurs solubles du TNF- α et l'antagoniste du

récepteur de l'interleukine 1 [IL1-RA]. Le TNF sécrété par les synoviocytes entraîne l'inflammation et les lésions articulaires en augmentant la production d'autres cytokines.

b- Le Lupus érythémateux disséminé (LED) est caractérisé par la présence d'anticorps contre les antigènes nucléaires (ANA) incluant l'ADN double brin. Normalement après la mort cellulaire, les débris nucléaires sont phagocytés par les macrophages sans stimulation du système immunitaire. Cette tolérance vis-à-vis des débris nucléaires est perdue dans le LED. Trois TLRs sont concernés dans la pathogénie du LED : TLR7, TLR8, TLR9. Le TLR7 reconnaît l'ARN simple brin et le TLR9 l'ADN non méthylé des virus ou des bactéries. Les TLR7 et 9 sont exprimés par les cellules dendritiques plasmocytoides et les lymphocytes B au niveau de l'endosome. Le mécanisme suivant peut être envisagé pour la pathogénie du LED : les débris nucléaires (ADN ou ribonucléoprotéines) sont fixés par des autoanticorps. Le complexe se lie alors aux cellules dendritiques et aux lymphocytes B par le fragment Fc des immunoglobulines. Après la phagocytose, l'ARN active le TLR7 et l'ADN le TLR9. Cela entraîne une production importante d'INFα par les cellules dendritiques et d'immunoglobulines, de cytokines et de facteurs de costimulation par les lymphocytes B. Par ailleurs, il a été démontré que l'IRF 5 est associé au LED et que l'INFα joue un rôle primordial dans cette pathogénie. Parmi les traitements en relation avec les TLR proposés pour le LED : l'hydroxychloroquine qui inhibe les TLR endosomaux, la molécule MEDI-545 qui est un anticorps anti-IFNα et les OND inhibiteurs spécifiques de TLR 9 qui bloquent la production de l'IFNα.

المصدر الاول للطالب الجزائري



Le complexe majeur d'histocompatibilité et Réponse Adaptative

1- Définition

Le complexe majeur d'histocompatibilité est un ensemble de gènes situés sur le bras court du chromosome 6 codant pour des antigènes de surface appelé chez l'homme HLA jouant un rôle déterminant dans le rejet d'une greffe. Tous les mammifères possèdent un CMH d'organisation différente, mais ayant la même fonction. Le système HLA est le complexe génétique le plus polymorphe chez l'homme. Cette diversité, déjà importante chez chaque individu, est considérable au niveau de la population humaine.

La région HLA est subdivisée en trois classes :

- **HLA classe I (HLA CI I)** : cette classe occupe la région télomérique. Elle renferme trois gènes fonctionnels d'histocompatibilité classiques : HLA-A, B, C et d'autres gènes non classiques : HLA-E, F, G, H et I.
- **HLA classe II (HLA CI II)** : elle est la plus centromérique et les trois principaux produits de classe II sont DR, DQ, DP.
- **HLA classe III (HLA CI III)** : la région du CMH classe III est intermédiaire entre HLA CI I et HLA CI II. Elle renferme un ensemble de gènes codants pour les composants du complément : C4B, C4A, Bf, C2, qui sont polymorphes, ainsi que le gène codant pour la 21 hydroxylase (entre B et DR) et dont le déficit entraîne l'hyperplasie congénitale des surrénales.

Seuls les gènes de classe I et de classe II codent pour les antigènes d'histocompatibilité.

2- Nomenclature :

Les spécificités sont désignées sous le terme HLA, suivi d'une lettre désignant le locus (A, B, C, DQ, DR, DP), elle-même suivie d'un numéro identifiant l'allèle. On appelle **phénotype HLA** d'un individu l'ensemble des antigènes identifiés chez cet individu.

3- Les caractéristiques du HLA.

Les gènes HLA, principalement ceux de classe I et de classe II se caractérisent par trois propriétés majeures :

- ✓ **Polymorphisme** : Une caractéristique essentielle du CMH est le degré extrême du polymorphisme (variabilité structurale) des molécules codées par ce complexe. Ce polymorphisme est en grande partie du au caractère multialléliques des gènes du CMH (120 allèles HLA-A, 250 allèles HLA-B, 70 allèles HLA-C), expliquant le nombre élevé des combinaisons théoriques entre les locus. Toutefois, ces combinaisons ne sont pas toutes représentées dans la population: Il y en a qui ont disparu au cours de l'évolution

et d'autres beaucoup plus favorables à la survie de l'espèce, ont subi une forte pression de la sélection

✓ **Codominance et liaison étroite** : Les gènes du CMH sont transmis selon les lois mendéliennes et sont exprimés de façon codominante, c'est-à-dire que chacun est exprimé de façon égale de sorte que les cellules portent à leur surface à la fois les antigènes paternels et maternels. Tous les gènes sont transmis en bloc des parents aux enfants ainsi, l'ensemble des gènes d'un même CMH porté par un même chromosome constitue un haplotype. Chaque individu en possède deux, un venant de la mère l'autre du père, état hétérozygote. Les événements de recombinaison entre les deux haplotype sont très rares.

4- Propriétés Biochimie des molécules HLA

Les molécules du CMH I sont des glycoprotéines membranaires hétérodimères formées par l'association non covalente de deux chaînes polypeptidiques ; Une chaîne lourde α et une chaîne légère β_2 -microglobuline (Figure 1).

✓ **La chaîne lourde α** : polymorphe, transmembranaire de 45 KDa constituée de trois régions :

-Une région extracellulaire Nt de 273 AA, subdivisée en trois domaines α_1 , α_2 , α_3 de 90 AA chacun. Les domaines α_1 , α_2 sont très polymorphes forment le site de liaison du peptide alors que le domaine α_3 est hautement conservé comporte le site d'interaction avec le corécepteur CD8 lors de la présentation antigénique.

-Une région transmembranaire hydrophobe de 30 AA, traversant la bicouche lipidique sous forme d'hélice α .

-Une région cytoplasmique Ct hydrophile de 10-15 AA, avec un site de phosphorylation conservée (Serine 338) par la PKA.

✓ **La chaîne légère β_2 microglobuline** : polypeptide extracellulaire de 90 AA, non glycosylée monomorphe de 11-12 Kda codé par un gène localisé sur le chromosome 15. La β_2 microglobuline est hautement conservée et présente une structure similaire

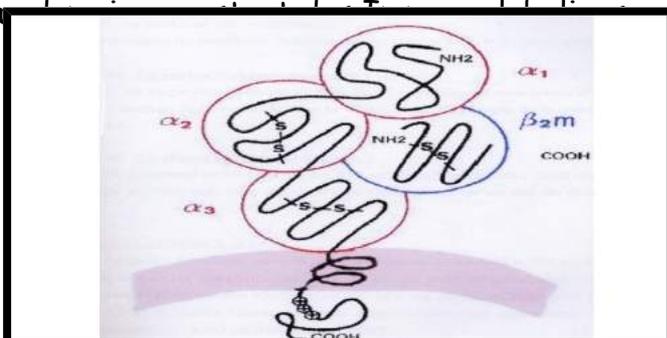


Figure 1 : Structure Biochimiques des molécules HLA de Classe I

5-Structure des molécules du CMH de classe II :

Les molécules du CMH II présentent les antigènes exogènes aux lymphocytes T CD4+. C'est des glycoprotéines, transmembranaires, hétérodimériques, constituées d'une chaînes lourde α (34 Kda) et une chaîne légère β (26-29 Kda), possédant chacune deux domaines : $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$. La molécule du CMH II est constituée de trois régions (Figure 2). La région extracellulaire de 30 AA, formée des quatres domaines : $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$. Les domaines $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ sont glycosilés, $\beta 2$ représente le site d'interaction avec le CD4 (Figure 2).

$\alpha 1, \beta 1$ sont très polymorphes, $\alpha 2, \beta 2$ ressemblent aux domaines constants des immunoglobulines, une région transmembranaire hydrophobe de 33 AA et une région intracytoplasm

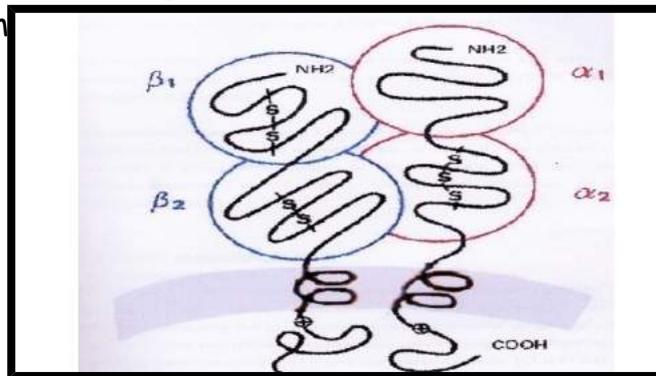


Figure 2 : Structure Biochimiques des molécules HLA de II

6-Distribution des molécules HLA

Les molécules de classe I du CMH sont exprimées de façon constitutive et ubiquitaire sur la plus part des cellules nucléées, d'où le nom d'antigène tissulaire attribué à ces molécules. Elles constituent une carte d'identité cellulaire et leur présence peut être expliquée par la fonction qu'elles assurent, puisque toutes les cellules doivent vérifier leur contenu moléculaire et le soumettre à la surveillance exercée par les cellules cytotoxiques via le CMHI.

Les molécules de classe II ont une expression plus restreinte, constitutive sur les cellules présentatrices d'antigènes: cellules dendritiques, LB, macrophages. Leur expression est inductible par l'intermédiaire de l'INF γ et du TNF dans les cellules facultatives (cellules endothéliales, épithéliales, lymphocytes T activés).

7-Interaction TCR-CMH-peptide :

Le TCR ne peut reconnaître qu'un seul épitope d'un peptide immunogène lié aux molécules du CMH (Restriction au CMH), qui sont présentes à la surface cellulaire.

L'interaction peptide-TCR se fait via des boucles de chaînes polypeptidiques ou CDR (présents au niveau du TCR) qui forment le site de liaison aux résidus polymorphes du peptide antigénique.

La complémentarité ou CDR est constitué de 3 boucles : CDR1, CDR2, CDR3. Les deux premiers CDR1 et CDR2 sont en contact avec les hélices α du CMH. Le CDR3 interagit directement avec l'antigène peptidique en s'accrochant à la chaîne latérale d'un acide aminé situé au milieu du peptide.

8- Organisation des gènes du CMH :

a- Structure génomique du CMH classe I

Les chaînes lourdes α du CMHI sont codées par des gènes situés dans la région CMH I (1800Kb) au niveau du chromosome 6. C'est la région la plus télomérique, contenant des gènes de classe I dits classiques polymorphes appelés *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*. Cette région contient également des gènes *HLA* de classe *Ib* dits non classiques qui sont moins polymorphes : *HLA-E*, *HLA-F*, *HLA-G*, *HLA-H* codant pour des molécules de classe I dont la fonction est moins connue. Un récent travail leur a attribué diverses fonctions, exemple : les produits des gènes *HLA-E* et *F* peuvent lier des peptides impliqués dans le processus de reconnaissance par le NK (inhibition des NK par les cellules saines).

b- Structure génomique du CMH classe II

Les molécules du CMH II à savoir les chaînes α et β sont codées par des gènes situés dans la région HLA-D (900 Kb) au niveau du chromosome 6. Cette région est constituée de trois locus comportant 32 gènes :

HLA-DR : comprend un seul gène α non polymorphe (DRA) et Neuf gènes β (DRB1-9) ainsi que des pseudogènes. L'organisation de la région DRB1 varie d'un haplotype à un autre, ainsi que le nombre de chaîne β exprimée. **HLA-DQ** et **HLA-DP**. Chacune d'elle comprend un gène α et un gène β fonctionnels et très polymorphes et une paire de pseudogènes.

Les chaînes α de DR, DP, DQ s'associent prioritairement avec les chaînes β de leur propre locus. La région de classe II contient aussi des gènes qui codent des protéines impliquées dans la présentation antigénique mais qui ne sont pas exprimées à la surface cellulaire, exemple : les gènes des TAP1/TAP2 et LMP2/LMP7.

c-Structure génomique du CMH III

C'est un ensemble hétérogène comportant les gènes sans relevance immunologique, exemple: gène de la stéroïde 21hydrolase et les gènes d'intérêt immunologique,

exemple: Les gènes qui codent les protéines du système du complément (C4, C2, Bf).
Les gènes qui codent certaines cytokines (TNF α , TNF β).

9-Rôle des molécules du CMH :

Les molécules du CMH possèdent trois fonctions principales:

1- L'apprêtement et la présentation des antigènes aux lymphocytes T :

La fonction de présentation des antigènes immunogènes est commune aux deux classes de CMH. C'est l'aboutissement d'un ensemble d'événements intracellulaires appelé apprêtement antigénique (Figure 3).

- La molécule de CMH classe I a pour rôle la présentation de peptides antigéniques **endogènes** aux **cellules T CD8+**. La dégradation protéique et le transport des peptides par le CMH I s'effectuent en continu. En absence d'infection, les molécules CMHI portent des peptides issus de protéines normales du soi (déficiences ou rétrotransloquées qui ont subi une ubiquitination ou pas). Les protéines antigéniques endogènes sont dégradées par le protéasome, les peptides de **5 à 15 AA** sont transloqués par la suite dans le REG par l'intermédiaire d'une protéine membranaire **TAP** (Transporter with antigen processing), formé de 2 chaînes polypeptidiques homologues **TAP1 et TAP2**, Après translocation dans le RE certains peptides longs sont encore dégradés par les enzymes ERAAP (RE protéase acide aminé). Les chaînes α des molécules du CMHI nouvellement synthétisées s'associent à la **calnexine** jusqu'à ce qu'il y ait liaison de la chaîne **β 2 microglobuline**. L'hétérodimère chaîne α - β 2 microglobuline se lie ensuite à la **calréticuline** et la **tapasine** associées à la protéine TAP en maintenant l'hétérodimère partiellement replié afin qu'il puisse réceptionner le peptide adéquat venant du cytosol. Après avoir lié le peptide, le CMHI devient mature elle est libérée de toutes les chaperonnes (calnexine, calréticuline, tapasine), quitte le RE et gagne la membrane plasmique dans une vésicule du système membranaire, après avoir parcouru les empilements de l'appareil de golgi. Les molécules du CMHI ne peuvent pas quitter le RE si elles ne sont pas liées à un peptide. La plupart des peptides transportés par les TAP n'arrivent pas à se fixer sur le CMHI et sont éliminés du RE.

- Les fragments peptidiques des bactéries ou des virus extracellulaires, ainsi que les antigènes solubles, sont internalisés par phagocytose, endocytose ou pinocytose. Toutes ces voies aboutissent à la formation d'endosomes ou de phagosomes qui fusionnent avec les lysosomes dont le pH est très acide et qui contiennent des enzymes protéolytiques (la plus connue est la cathepsine). Cette fusion permettra la génération de peptides possédant les caractéristiques structurales qui leurs permettront de se lier au CMH de classe II. Les chaînes α et β du **CMH II** sont synthétisées dans le RE, elles se lient à des molécules chaperonnes tel que la calnexine (stabilisation de la structure) mais aussi à la chaîne **Ii**, composée de trois sous unités de 30 KDa, chacune se lie à un hétérodimère α , β . Les nonamères ainsi

formés sont exportés vers un compartiment spécialisé appelé MIIC via l'appareil de golgi. La chaîne Ii est progressivement dégradée par des protéases auxquelles résistent le CMHII pour ne laisser qu'un petit fragment : Le **CLIP**. Ce dernier est échangé contre le peptide antigénique grâce à **HLA-DM**.

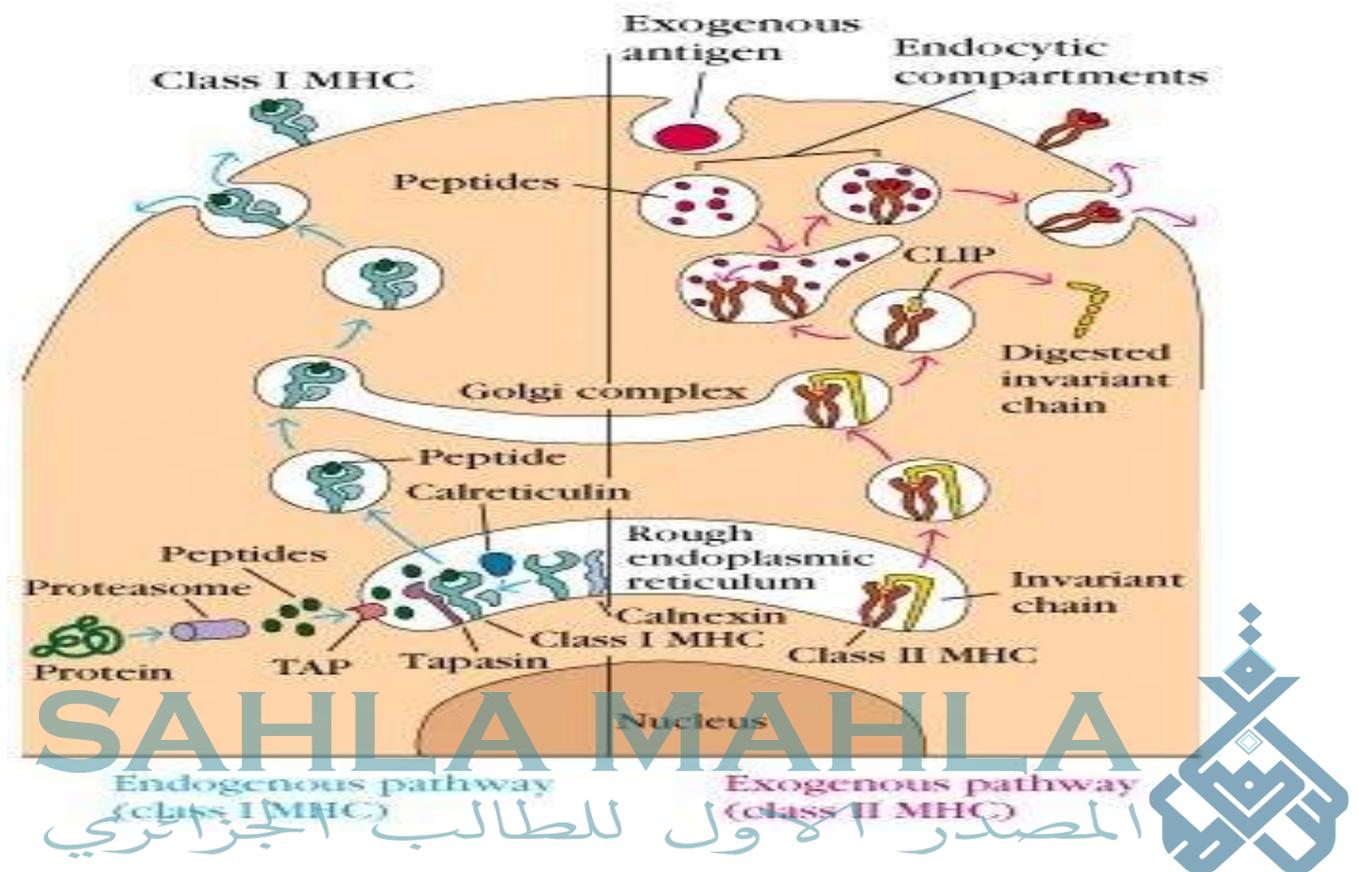


Figure 3 : Apprêtement des antigènes endogènes et exogènes

b-Activation des Lymphocytes T par le complexe CMH-peptide

Le processus d'activation des L T a lieu dans les ganglions lymphatiques les plus proches du foyer infectieux. Le complexe TCR reconnaît un peptide spécifique logé dans le site de fixation antigénique de la molécule CMH. Cette interaction détermine la spécificité immunologique. Les corécepteurs CD8 et CD4 se lient respectivement aux domaines $\alpha 3$ et $\beta 2$ des molécules du CMHI et II. Les corécepteurs CD4 et CD8 augmentent de 100 fois la sensibilité des cellules T aux molécules présentatrices. L'interaction du TCR-peptide-CMH est renforcée par le couple LFA-1/ICAM-1, ceci entraîne la transduction du premier signal pour l'activation des LT qui est toutefois insuffisant. D'autres interactions sont alors nécessaires afin de renforcer la liaison Ly T-CPA et transmettre des signaux d'activation du lymphocyte impliquant d'autres molécules de costimulation (CD2, LFA-3, CD80/CD86) (Figure 4).

Une signalisation impliquant le TCR et CD28 induit alors l'expression de **CD40-Ligand** (CD154) à la surface du lymphocyte T. La liaison à CD40, exprimé sur les cellules

dendritiques, induit une augmentation de l'expression de CD80/CD86, qui à son tour renforce le signal induit par CD28. Une boucle positive d'activation s'établit et induit une forte prolifération des lymphocytes T spécifiques de l'antigène initialement reconnu. Cependant, un rétrocontrôle est nécessaire afin d'empêcher une prolifération incontrôlée. La signalisation TCR/CD28 induit ainsi également l'expression de **CTLA4** (« cytotoxic T lymphocyte antigen », CD152), molécule que se lie aussi à CD80/CD86 mais avec une plus forte affinité que CD28 et ne transmet pas de signal activateur. La résultante est un signal d'inhibition de la boucle positive d'activation. Plusieurs autres molécules interviennent après cette « première vague » de costimulation et jouent un rôle dans la différenciation fonctionnelle des lymphocytes T. Par exemple, ICOS (« Inducible costimulator ») et OX40 sont exprimés par les lymphocytes T et leurs ligands respectifs ICOSL et OX40L sont exprimés par les cellules présentatrices. Ces molécules sont importantes pour l'aide (« help ») des lymphocytes T CD4+ aux lymphocytes B qui expriment également ces ligands et pour la survie des lymphocytes T CD4+ mémoire. Une molécule inhibitrice intervient plus tardivement dans cette interaction lymphocyteT/cellule dendritique. La molécule **PD1** (« programmed cell death-1 ») est exprimée après CTLA-4 et reconnue par deux ligands (PDL-1 et PDL-2). L'activation des lymphocytes conduit à deux processus partiellement concurrents : la prolifération des cellules et leur différenciation en effecteurs (Th ou LT cytotoxiques).

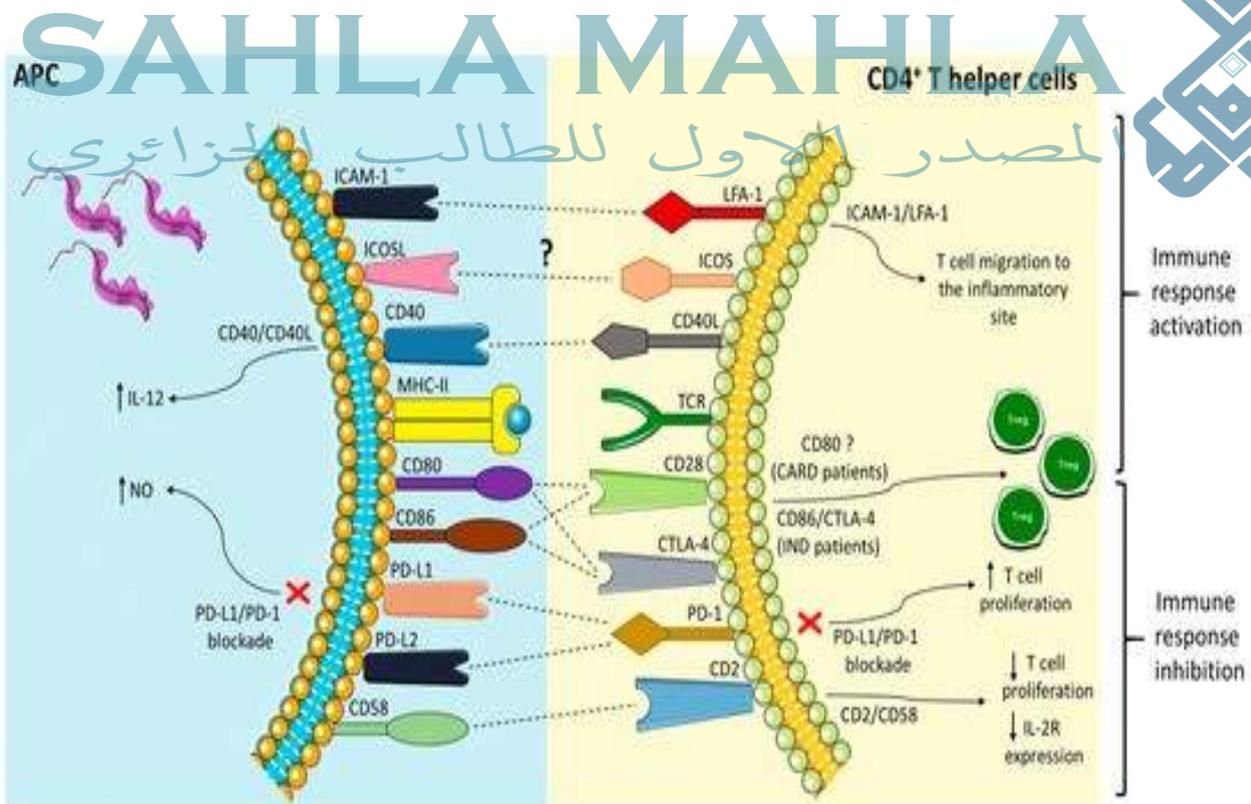


Figure 4 : Synapse immunologique : Activation et Inhibition de la réponse adaptative

C-Régulation de la cytotoxicité des cellules NK :

Les cellules Natural Killer ou NK des mammifères se situent à l'interface entre l'immunité innée et adaptative, assurant une protection non spécifique contre des cellules cibles défectueuses en CMH I (cellules tumorales). Les cellules NK possèdent à leur surface des récepteurs d'activation KAR et d'inhibition KIR. Lorsque les NK entrent en contact avec une cellule cible potentielle, les récepteurs d'activation des NK en se liant à leur ligands respectifs exprimés à la surface de ces cellules entraîne un signal d'activation de la cytotoxicité qui peut potentiellement mener à la destruction des cellules cibles.

Cependant l'engagement simultané des KIR par fixation des molécules du CMH I délivre un signal inhibiteur lors de l'activation des NK. Cette déphosphorylation est à l'origine de l'inhibition de la cytotoxicité des NK. C'est de cette manière que les cellules tumorales qui expriment peu de CMHI sont détruites par les cellules NK.

10 - Les molécules CD1

Les molécules CD1, codées sur le chromosome 1, constituent une autre famille moléculaire apparentée aux deux précédentes. Leur structure est comparable à celle des molécules de classe I avec une chaîne alpha associée à la bêta-2-microglobuline mais elles ne présentent pas ou peu de polyallélisme et leur site de présentation antigénique est très particulier. Le réceptacle destiné à lier le fragment antigénique est en effet constitué d'une poche profonde, dépourvue de multiples prolongements latéraux, s'ouvrant en une fente très étroite et, surtout, bordée d'AA hydrophobes ou non polaires. Il s'ensuit que ces molécules CD1 sont aptes à présenter des fragments comportant un pôle hydrophile, qui pointera vers l'extérieur, et un pôle hydrophobe qui sera enfoui dans la poche, et notamment divers composants lipidiques ou glycolipidiques des enveloppes bactériennes. *Ce type de présentation sera reconnu par des lymphocytes T particuliers.*

11-Applications cliniques :

a- Transplantation d'organes ou greffe :

En clinique la transplantation permet de palier un déficit d'une fonction vitale. Elle se heurte à certaines barrières définies par la disparité génétique entre donneur et receveur. L'allogreffe qui se fait entre deux individus différents mais de même espèce, est la situation la plus habituelle de transplantation clinique. Lors d'une allogreffe d'organe, les Ag du greffon stimulent les différents mécanismes effecteurs, humoraux et cellulaires de l'immunité spécifique ou non spécifique. Ces réactions sont mises en jeu à la suite de la reconnaissance par les LT du receveur, d'un grand nombre de peptides étrangers et du nouveau soi associé aux molécules de CMH du donneur, ceci est la cause principale du rejet de greffe.

b- HLA et transfusion:

Les transfusions sanguines sont génératrices d'immunisation anti-HLA, éventuellement responsables de réactions transfusionnelles et de l'élimination accélérée des plaquettes et des granulocytes transfusés dans un but thérapeutique. Afin d'éviter ces réactions un maximum d'identité HLA entre donneur et receveur est nécessaire (transfusion des GR et des plaquettes sont filtrées pour éliminer les GB). Enfin les transfusions faites à un receveur immunodéprimé risquent d'induire une maladie du greffon contre l'hôte aiguë mortelle, prévu par irradiation du sang transfusé.

c- HLA et maladies :

Dans les maladies liées au HLA, le gène responsable de la maladie est hébergé dans le complexe HLA, alors qu'il n'appartient pas fonctionnellement au complexe. La maladie se transmet dans la famille en même temps qu'un certain haplotype HLA exemple: déficit en fraction C2 du complément, les sujets malades possèdent l'haplotype **A10.B8.DW2**. Dans les maladies associées au HLA, il y a un risque d'être atteint d'une maladie lorsque on possède un antigène, par apport au risque si on ne le possède pas.



ROLE DES CYTOKINES DANS LA POLARISATION Des lymphocytes T

I- Introduction :

L'immunité possède deux composantes:

- **innée** qui met en jeu des mécanismes non spécifiques,
- et **acquise**, qui met en jeu des effecteurs spécifiques de l'agresseur : les Ly T assurant les réponses cellulaires dirigées contre les germes à parasitisme intracellulaires et les Ly B assurant la réponse humorale contre les germes à parasitisme extracellulaire.

La réponse aux antigènes T-dépendants nécessite l'intervention du LT helper véritable chef d'orchestre de la réponse immunitaire adaptative par le biais des cytokines qu'il secrète.

Les cellules T CD4+ peuvent être divisées en 2 sous-populations désignées TH1 et TH2. Cette dichotomie a été proposée pour la première fois en 1983 chez le rat par **Don Masson et al.** Ce groupe a décrit 2 sous-populations de LT CD4+ à partir de la lymphe du canal thoracique. En 1986, il a été décrit 2 sous-populations de Ly T CD4+ (TH1 et TH2) chez la souris. Ainsi grâce à l'étude de clones lymphocytaires T CD4+ de souris, cultivés à long terme, ces auteurs ont rapporté l'existence de deux sous-populations majeures que l'on peut distinguer grâce à leur profil de sécrétion de cytokines à savoir les cellules TH1 (pour T helper de type 1) et les cellules TH2 (pour T helper de type 2).

1* Les TH1 produisent l'**IL-2** et l'**IFN γ** et ont sous leur dépendance les réponses T à médiation cellulaire. Ils sont impliqués dans l'activation des macrophages et les réactions d'HSR.

2* Les TH2 produisent l'**IL-4** et l'**IL-10** et sont surtout impliquées dans la production d'anticorps

1) FONCTION DES CELLULES TH1 ET TH2

Ces fonctions sont assez bien définies :

a) Les cellules TH1

Elles sont à l'origine des réactions à médiation cellulaires : génération de CTL grâce à l'**IL-2** qu'elles produisent et de réactions d'HSR sous l'influence de l'**IFN γ** qui active les macrophages. Elles collaborent avec les lymphocytes B pour la production de certains isotypes d'Ig. Les 2 cytokines principalement produites sont : **IL-2** et **IFN γ** , à côté de l'**IL-3** et du **TNF** Les cellules TH2

Elles produisent les cytokines **IL-4**, **IL-5**, **IL-6**, **IL-10** et **IL-13**. Elles ont donc sous leur influence la production des anticorps (immunité humorale). La stimulation de

TLR3, 4, 5 ou 9 induit une forte production d'IL12p70 et donc favorisent la réponse Th1.

C Fonctions régulatrices

Ces cellules ont également une fonction de contrôle réciproque : l'**IL-10** régule négativement les cellules de type Th1 et l'**IFN γ** régule négativement les cellules Th2. Il est donc possible de considérer chacune de ces 2 sous-populations comme une cellule T ayant une fonction suppressive, l'une vis-à-vis de l'autre.

2. Rôle des cytokines dans la régulation

L'obtention d'une réponse de type **Th1** ou **Th2**, dépend du type de cytokine produite au début de la réponse immunitaire.

- Si l'environnement est riche en IL-2 (produite par les macrophages activés) et en IFN γ (produit surtout par les cellules NK) la différenciation se fera vers le type Th1 et donc vers une réponse à médiation cellulaire.
- Si l'environnement est riche en IL-4, la différenciation se fera dans le sens Th2 et donc une réponse humorale.

3. Origine des Th1/Th2 :

Plusieurs études ont permis de démontrer qu'un seul précurseur TCD4+ naïf peut donner naissance aux deux sous-populations effectrices Th1/Th2, leur phénotype fonctionnel étant fixé 48 h après le priming.

IV- Définition phénotypique et fonctionnelle des Th1/Th2:

Définition fonctionnelle :

Les lymphocytes T activés produisent initialement de l'**IL2**, qu'ils utilisent comme facteur de croissance autocrine. Puis très rapidement ils acquièrent la capacité de synthétiser d'autres cytokines : celles qui définiront leur profil et leur aptitude à coopérer avec d'autres types cellulaires.

- Les **Th1** secrètent principalement l'**IL2**, **IFN γ** et **TNF α** , qui sont impliqués dans la coopération entre le Ly TCD4+ activé et les précurseurs des lymphocytes T cytotoxiques, dans l'activation des cellules NK et dans l'amplification des fonctions des macrophages. Elles favorisent également, par le biais de l'IFN γ , la production d'anticorps opsonisants : des IgG (IgG2a chez la souris, IgG2 et 3 chez l'Homme).
- Les **Th2** par contre produisent de l'**IL4**, **IL5**, **IL13**, **IL9** et **IL10** et aident le LB à proliférer et à se différencier ; et sont donc associés aux réponses immunes humorales (production d' IgE et IgG1 chez la souris ; IgE et IgA chez l'Homme).

Les deux sous-populations Th ont des interactions inhibitrices réciproques : chacune inhibe le développement de l'autre à partir du précurseur TCD4+ naïf (IL4 et IFN γ)

et inhibe aussi les fonctions effectrices de la population Th opposée; ceci par le biais des cytokines Th1 ou Th2. Plusieurs molécules de surface permettent de les différencier : Th1 (IL12R β 2, IL18R, CXCR3 (IP10, Mig, TARC) CCR5 (MIP1a et b, MCP), ICOS+ /-

4. Facteurs influençant la dichotomie Th1 /Th2 :

En dépit des différences phénotypiques et fonctionnelles, les sous-populations de lymphocytes Thelper dérivent d'un même précurseur : le pro-géniteur Th(Thp)=TCD4+naïf sous l'influence de multiples facteurs.

L'antigène :

L'antigène est l'initiateur de la réponse immune son impact sur le type de réponse est évalué par plusieurs paramètres.

a)- Affinité :

APL s:= altered peptide ligand : Ce sont des analogues de peptides immunogéniques dans lesquels les sites de contact avec le TCR ont été modifiés. Bien qu'ils ne stimulent pas la prolifération cellulaire, ils ont la capacité d'activer les fonctions effectrices médiées par le TCR . Les APLs induisent une activation partielle du TCR car incapables d'induire la phosphorylation de la ZAP-70.

C'est en évaluant l'affinité de $\alpha 2$ pour les deux molécules CMH II, qu'on a découvert qu'une forte affinité pour CMHII favorisait une réponse de type Th1 alors qu'une faible affinité favorisait la réponse de type Th2. Ceci a été confirmé par la génération d'APLs de $\alpha 2$ par des substitutions ponctuelles d'aa.

b)- Nature et dose :

Les faibles doses de pathogènes entiers tendent à orienter vers une réponse Th1, les faibles doses de protéines solubles favoriseraient plutôt les réponses Th2. Ceci pourrait être expliqué par les faits suivants :

- la capture du pathogène par le macrophage induit la sécrétion d'IL12
- l'initiation des réponses aux parasites entiers fait intervenir des lymphocytes non TCD4+ (CD8+ et NK) : environnement cytokinique particulier que les faibles doses de protéines solubles ne peuvent induire.
- le nombre d'épitopes reconnus par le TCR : l'antigène doit d'abord être capturé, transformé puis présenté via CMH II. Les pathogènes entiers sont mieux captés donc seront mieux représentés à la surface de la CPA.

Interaction entre la CPA et LT CD4+ :

L'activation du LT et la polarisation des TCD4+ résulte de l'intégration de 3 signaux distincts (figure 1):

- interaction TCR-peptide/CMHII=1^{er} signal,

- costimulation = 2^{ème} signal,
- signal polarisant (cytokines+++)= 3^{ème} signal.

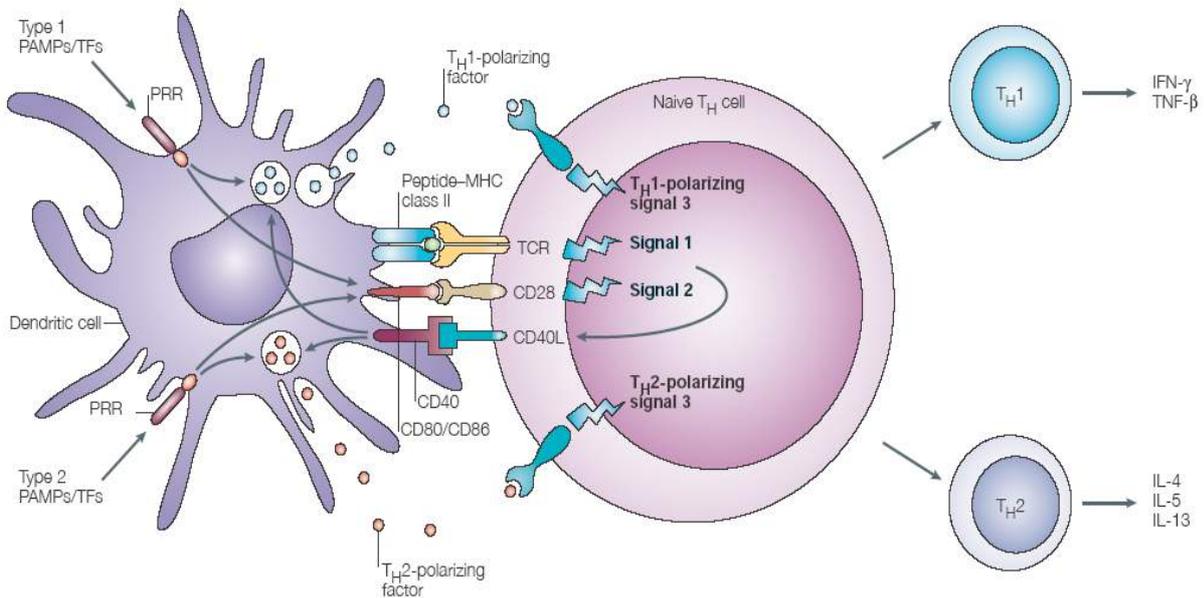


Figure 1 | T-cell stimulation and T helper 1 (T_H1)/T_H2-cell polarization require three dendritic cell-derived signals.

Figure 1 : Interphase réponse innée-réponse adaptative

a)- Nature de la CPA :

La cellule dendritique est la CPA professionnelle par excellence : c'est la seule capable d'activer un lymphocyte T naïf. Plusieurs sous populations de cellules dendritiques existent chez l'Homme dont les mieux caractérisées sont les CD_s plasmacytoides ou DC₂ originaire du lymphoïde et sécrète IFN α/b et les CD_s myéloïdes ou DC₁ origine myéloïde synth TNFα, IL6, IL12 (figure 2).

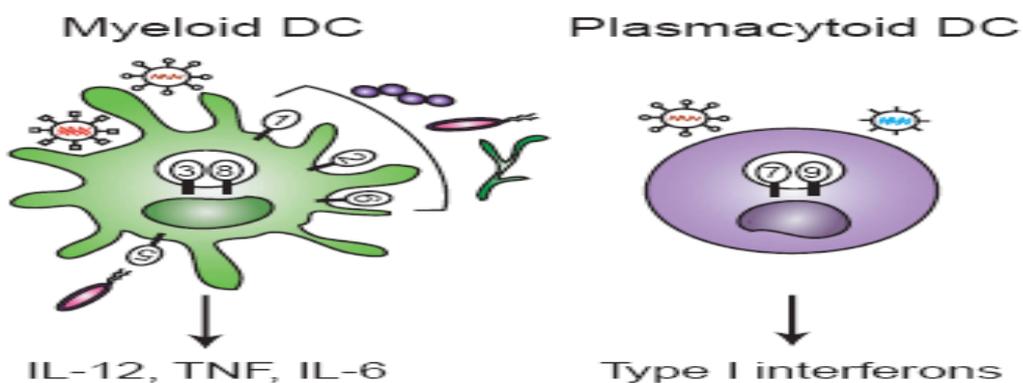


Figure 2 : Implication des cellules dendritiques dans l'orientation TH1/TH2

Les DC₁ favorisent le développement Th1 et ceci serait lié à une forte production d'IL12, alors que les Th2 favorisent les réponses Th2 mais indépendamment des

cytokines (ne produisent pas d'IL4) plutôt via une co-stimulation particulière. De même chez la souris, les DCs myéloïdes CD8a⁺ favorisent la réponse Th1 (par le biais des cytokines : IL12, IL18, IFN γ , et les DCs CD8a⁻ plasmacytoïdes favorisent les réponses Th2.

TLRs : Les TLRs reconnaissent les produits microbiens et initient les réponses immunes adaptatives en activant les DCs (qui expriment le répertoire le plus large de TLRs). Chaque sous-population de DCs exprime une combinaison. La capture antigénique via les TLRs par les DCs induit la maturation des DCs avec induction de la production de cytokines principalement IL12p70, IL18 et IFN α . La stimulation de TLR3,4,5 ou 9 induit une forte production d'IL12p70 et donc favorisent la réponse Th1, par contre la stimulation de TLR2 induit peu ou pas de production d'IL12p70 et favoriserait la réponse Th2. Un pathogène a une mosaïque de PAMPs qui serait à l'origine de l'activation de combinaisons particulières de TLRs, lesquelles favoriseraient les réponses Th1 ou Th2. Toutefois, les DCs plasmacytoïdes principales sources d'IFN de type I, importants dans la défense anti-virale, semblent être associées aux réponses de type 2 inefficaces dans la lutte anti-virale mais plutôt requises pour la lutte contre des pathogènes à développement extracellulaire. Un autre effet important de l'activation des TLRs est l'induction du ligand Notch Delta 4-like qui favorise les réponses Th1.

Voie des Notch :

Les récepteurs Notch sont impliqués dans de nombreux processus développementaux, incluant la thymopoïèse. Chacun des récepteurs lie indifféremment les ligands Notchs. La liaison récepteur-ligand Notch libère le domaine intracellulaire de Notch (ICD : intra cellular domain) par clivage protéolytique, ceci permet la translocation nucléaire du domaine ICD et la transactivation de gènes via son association avec le facteur de transcription RBPjk (recombination binding protein JK) et les co-activateurs de la famille MAML (mastermind -like). RBPjk agit comme répresseur transcriptionnel au niveau des gènes T-bet, GATA3 et IL4 .

Les récepteurs et ligands Notch semblent être impliqués dans les phénomènes de polarisation T car :

- Le TCD4⁺ naïf exprime Notch 1 et Notch 2,
 - Les DCs expriment les ligands jagged 1 et jagged 2,
 - L'activation des DCs via les TLRs augmente l'expression du Jagged1, et induit des niveaux élevés d'expression de DL-4.
-
- Les macrophages vont adopter différentes propriétés fonctionnelles selon le microenvironnement. Ils peuvent être polarisés M1 (voie classique) pour participer à l'activité microbicide et pro-inflammatoire, être polarisés M2a pour participer aux phénomènes de réparation et de cicatrisation du tissu et enfin, s'activer en phénotype

M2b et M2c pour une action régulatrice et anti-inflammatoire permettant le retour à l'homéostasie (voie alternative) (figure 3).

Les macrophages M2b sont impliqués dans le processus de régulation de l'inflammation

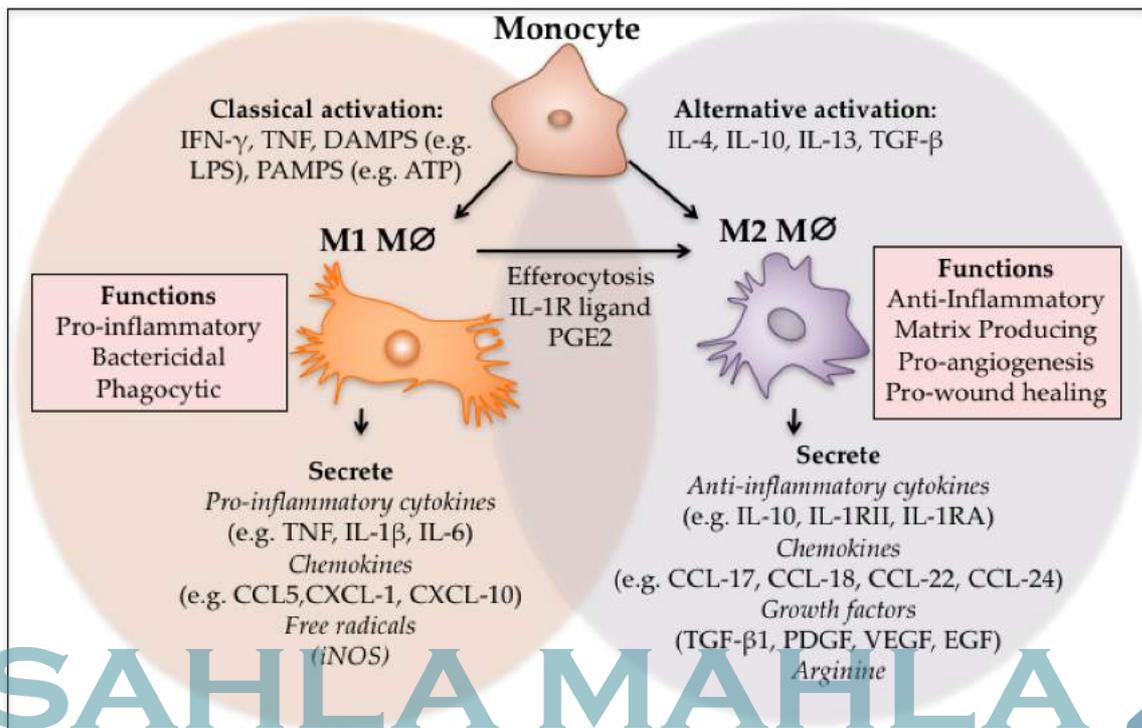


Figure 3 : Implication des Macrophages M1/M2 dans la polarisation de la réponse immune

L'expression des récepteurs à la surface des macrophages diffère selon la polarisation M1 ou M2.

Les macrophages de type M1 par le LPS et/ou l'IFN- γ expriment majoritairement les récepteurs TLRs comme le TLR4 et son co-récepteur le CD14 ainsi que les récepteurs Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) et Fc γ RIII (CD16) favorisant la clairance des pathogènes opsonisés par les IgG.

L'activation de ces récepteurs conduit majoritairement à une réponse pro-inflammatoire et à la production d'agents cytotoxiques permettant la destruction des agents pathogènes intracellulaires. L'expression du récepteur du mannose (MRC1) est fortement induite en présence des cytokines Th2 que sont l'IL-4 et l'IL-13 mais également l'IL-10. Ce récepteur est impliqué dans la reconnaissance et la phagocytose de certains pathogènes exprimant à leur surface des résidus mannose, fucose et N-acétylglucosamine.

L'activation de ce récepteur induit un signal inhibiteur sur la réponse pro-inflammatoire de type M1 via l'augmentation de la sécrétion de l'antagoniste à l'IL-1R (IL-1Ra) et la production d'IL-10 (figure 4).

d)-Signalisation TCR et co-stimulation :

1) Signalisation par le TCR :

L'interaction CMH-II /peptide-TCR induit initialement le recrutement de kinases dont Fyn et ZAP70 qui favoriseraient les réponses Th1 car leur invalidation abolit la différenciation Th1. La ZAP70 est lié dans les Th2 à une molécule inhibitrice : SLAT (Swap70-like adapter of T-cells). La kinase Lck favoriserait plutôt les réponses Th2, son absence affecte la différenciation Th2.

L'activation de ces kinases entraîne l'activation de molécules de signalisation intracellulaires :

- **Voie des MAPKinases** : renferme :

- ERK (extracellular signal related protein kinase): activée par Ras (activée par ZAP70) et favoriserait la différenciation Th2

- JNK (c-Jun N-terminal kinase) : activée par Rac (activée par costimulation CD28-B7), compte deux membres JNK1 et JNK2 qui favorisent la différenciation Th1 respectivement en inhibant la translocation nucléaire du NFATc1 et en transactivant le gène IFN γ .

- p38MAPk : intervient après activation du TCR et après fixation d'IL12 à son récepteur. Elle favorise les réponses Th1 en activant la transcription du gène *IFN γ* . De plus, l'activation de ces voies de signalisation entraîne des modifications intracellulaires particulièrement le flux calcique (par IP3). Il a été remarqué qu'un flux calcique important était associé à une différenciation Th1 résultant de l'activation des kinases (ZAP70), alors qu'un flux calcique intracellulaire faible et transitoire était suffisant pour une différenciation Th2.

- **NFATs** : NFAT1 (NFATc2), NFAT2(NFATc1) et NFAT4(NFATc3) ne sont exprimés que par les cellules du système immunitaire. Ce sont des facteurs de transcription des gènes de cytokines : IL2, IL4, IFN γ , TNF α . NFATc1 favorise la différenciation Th2, il possède des sites de liaison au niveau du gène IL4 (promoteur et 3'enhancer).

2)- Co-stimulation et dichotomie Th1/Th2 :

Le rôle des molécules de costimulation dans la polarisation Th1/Th2 n'est pas clair. Mais certaines sont associées aux réponses Th1 alors que d'autres aux réponses Th2.

Un modèle de la force du signal de costimulation CD28 a été proposé, dans lequel une très faible costimulation CD28 induit une anergie, un faible signal induit une réponse Th1, une forte costimulation par contre induit une réponse Th2. Alors qu'une très forte costimulation CD28 induit une tolérance. Le CTLA-4 est important dans le

développement Th1, en son absence le STAT6 (activé par l'IL4) n'est plus requis pour l'initiation de réponses Th2 (cellules CTLA-4-/-STAT6-/- → NFATc1, GATA3, c-maf → Th2) .

3- Environnement cytokinique :

Cytokines et facteurs de transcription associés aux récepteurs de cytokines impliqués dans la polarisation Th1/Th2 :

Les cytokines sont les principaux signaux inducteurs de différenciation Th1 ou Th2. Leur implication dans la polarisation T est assez bien établie.

Cytokines et polarisation Th1 :

- Interleukine 12 /STAT4:

L'IL12 agit via son récepteur : après liaison à son récepteur, elle active STAT4 qui après phosphorylation dimérisation et translocation nucléaire va agir sur ses cibles géniques : *INFγ*, *IL18R* ...

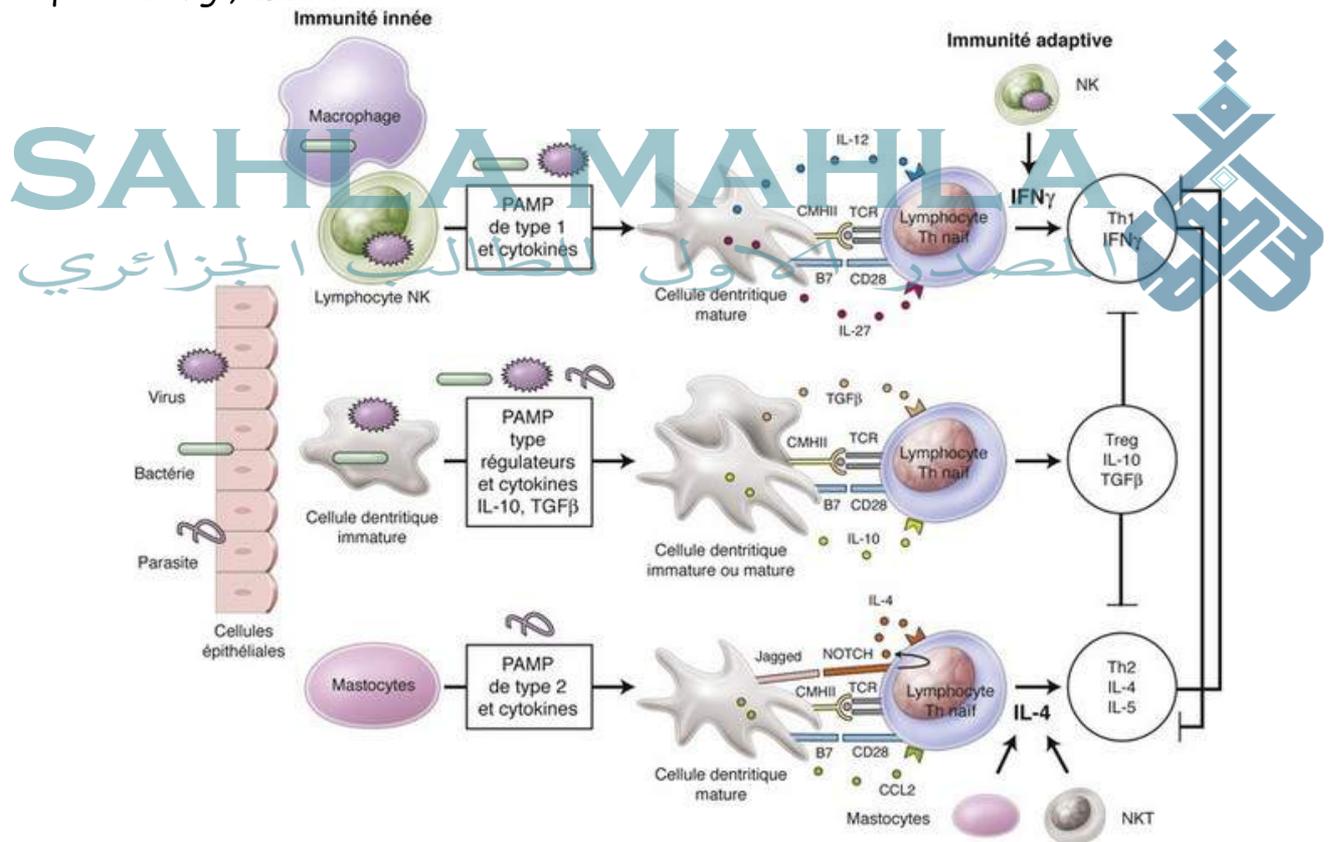


Figure 4 : Les TLRs et la polarisation TH1/TH2

- **IFN γ :**

L'IFNγ promeut les réponses cellulaires, il induit :

- l'activation des macrophages : induction de la iNOS (inducible NO synthetase)
- l'expression des molécules CMHI et CMHII sur les macrophages et d'autres cellules
- Favorise la différenciation Th1 :
- induction de l'IL12R β 2
- induction du facteur de transcription Th1 spécifique :T-bet

- Effet anti-prolifératif sur les Th2

La liaison du récepteur à l' IFN γ recrute la molécule STAT1. L'IFN γ induit avec l'IL12 le développement de réponses Th1 car il rend sensible le TCD4+ à l'action polarisante de l'IL12.

Chez l'Homme, la mutation de l'un des composants de la voie de signalisation IFN γ (IFN γ R1 ou R2 ou STAT1) ou IL12 est associée à des infections mycobactériennes récurrentes (figure 5).

• **Interleukine 18 : ou IGIF (IFN γ inducing factor)**

L'IL18R est induit sur les Th1 par l'IL12. IL est absent sur les Th2. L'IL18 n'induit pas la différenciation Th1 mais agit sur les Th1 déjà différenciés. Il existe une synergie d'action entre IL12 et IL18 : chacune induit l'expression du récepteur de l'autre cytokine et les deux cytokines suivent une voie commune pour induire la production d'IFN γ . De plus, le Th1 différencié peut produire l'IFN γ après stimulation via le TCR ou par l'IL12+IL18 (figure).

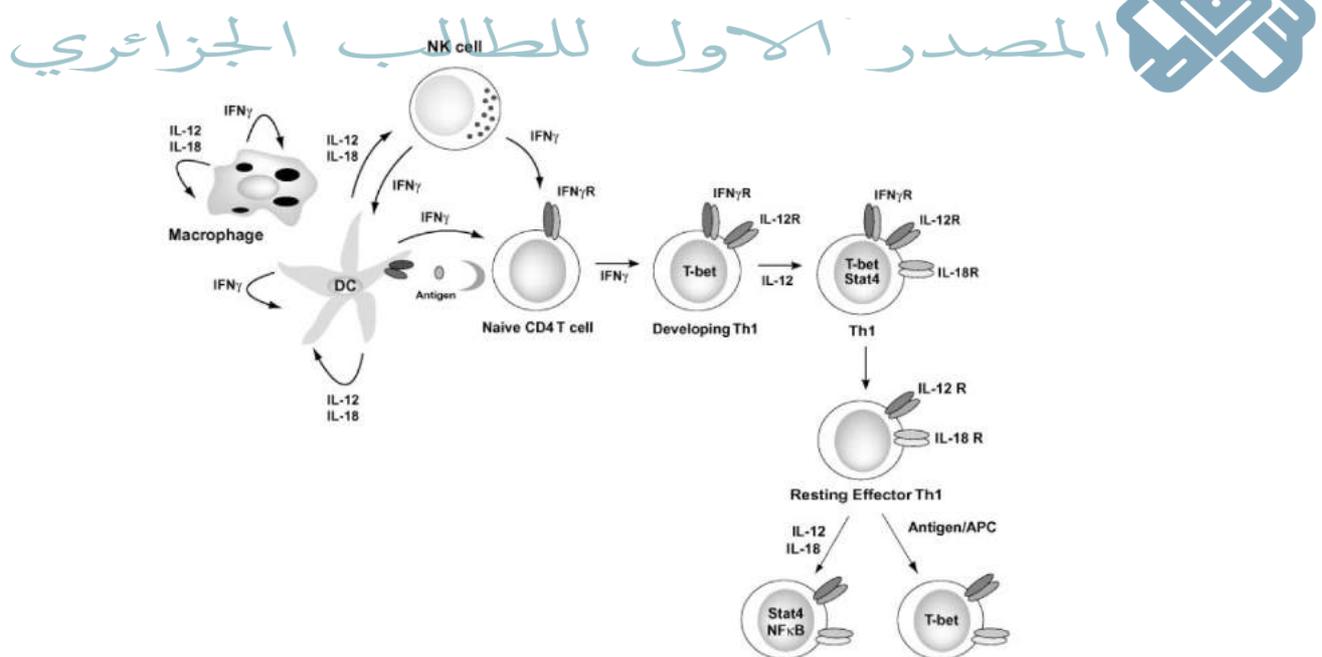


Figure 5 : Polarisation LTh naif vers la réponse Th1.

Interleukine 27 :

Le TCD4+ naïf exprime le récepteur de l'IL27. L'IL27 peut activer STAT1 et induire l'expression de T-bet et IL12R β 2 ainsi que la production d'IFN γ .

- Cytokines et polarisation Th2 :

• L'interleukine 4/STAT6 :

L'IL4 joue un rôle primordial dans la différenciation du TCD4+ naïf en effecteur Th2 qui promeut l'immunité humorale et fournit une protection contre les helminthes intestinaux. Principalement produite par les mastocytes, basophiles, NKT et Th2. La liaison IL4-IL4R induit l'activation de Jak1 et Jak3 et la phosphorylation de l'IL4Ra induisant le recrutement de STAT6, puis sa phosphorylation, dimérisation et translocation nucléaire puis liaison aux gènes cibles: GATA3 (facteur de transcription Th2 spécifique), CD23, IL4Ra, CMHII. Le facteur STAT6 possède deux sites de liaison au niveau du locus IL4 (promoteur et 3'enhancDe plus, l'IL4Ra recrute d'autres molécules :

- **SOCS 5** (suppressor of cytokine signaling 5) : il entre en compétition avec JAK1 et donc inhibe la signalisation IL4

- **SOCS1** : inhibe la signalisation IFN γ par un mécanisme mal connu.

Les voies de signalisation induites par l'IL4R

- aboutissent à l'activation de facteurs de transcription Th2 spécifiques : STAT6 et GATA3 (via STAT6)

- et délivrent des signaux de prolifération et de survie pour les Th2 , Tous ces mécanismes sont soumis à une double régulation : positive via l'induction d'IL4Ra et négative par SOCS.

• Autres cytokines pro-Th2 :

L'IL4 est hautement efficace dans l'initiation et le développement de réponses Th2 efficaces in vitro et in vivo.

- L'interleukine 2 :

Les signaux IL2 transmis via STAT5 stabilisent l'expression d'IL 4 dans les cellules en cours de différenciation Th2 indépendamment des effets de cette cytokine sur la croissance et la survie. Même en présence de conditions Th2 optimales, le blocage d'IL2 ou la déficience en STAT5 diminue le taux d'expression d'IL 4. En l'absence de STAT6, STAT5 semble indispensable pour la différenciation Th2 in vitro et in vivo.

La signalisation IL2/STAT5 favorise aussi la différenciation Th2 en augmentant l'expression de SOCS3 (inhibiteur de l'activation STAT4- IL12 induite).

-L'interleukine 6 :

L'interleukine 6 est considérée comme cytokine initiatrice des réponses Th2. La production d'IL6 par les CPAs fait pencher la balance de différenciation vers Th2 en augmentant la production d'IL4 alors qu'elle inhibe le développement Th1 en interférant avec l'activation STAT1 via IFN γ .

- Facteurs de transcription spécifiques de sous-populations :

Les cytokines initiatrices de réponse Th1 (IFN γ) ou Th2 (IL4) exercent leurs effets via le contrôle de l'expression de facteurs de transcription spécifiques de sous-population dans une boucle de feed back positif bidirectionnel.

-Facteurs de transcription Th2-spécifiques

T-bet (Tbx21) : Membre de la famille des facteurs de transcription T-box contenant un domaine de 200 aa liant l'ADN.

L'expression de T-bet est spécifique de la lignée lymphoïde et est restreinte à la rate, thymus, ganglions et poumons.

T-bet est rapidement et spécifiquement induit dans les Th1 par l'IFN γ mais pas dans les Th2. Son expression paraît être contrôlée par la signalisation du TCR et par la signalisation de IFN γ /STAT1 mais pas par la voie IL12/STAT4. Le T bet induit un remodelage de la chromatine au niveau du locus IFN γ et sa transactivation (3 sites de liaison potentiels pour T-bet) (figure 6) :

- induit l'expression de l'IL12R β 2 \rightarrow optimisant la production d' IFN γ
- réprime les cytokines Th2 même dans des Th2 différenciés.
- induirait sa propre expression.
- L'expression de T-bet et GATA3 est mutuellement exclusive durant le priming des TCD4+, il y aurait donc une régulation négative réciproque.

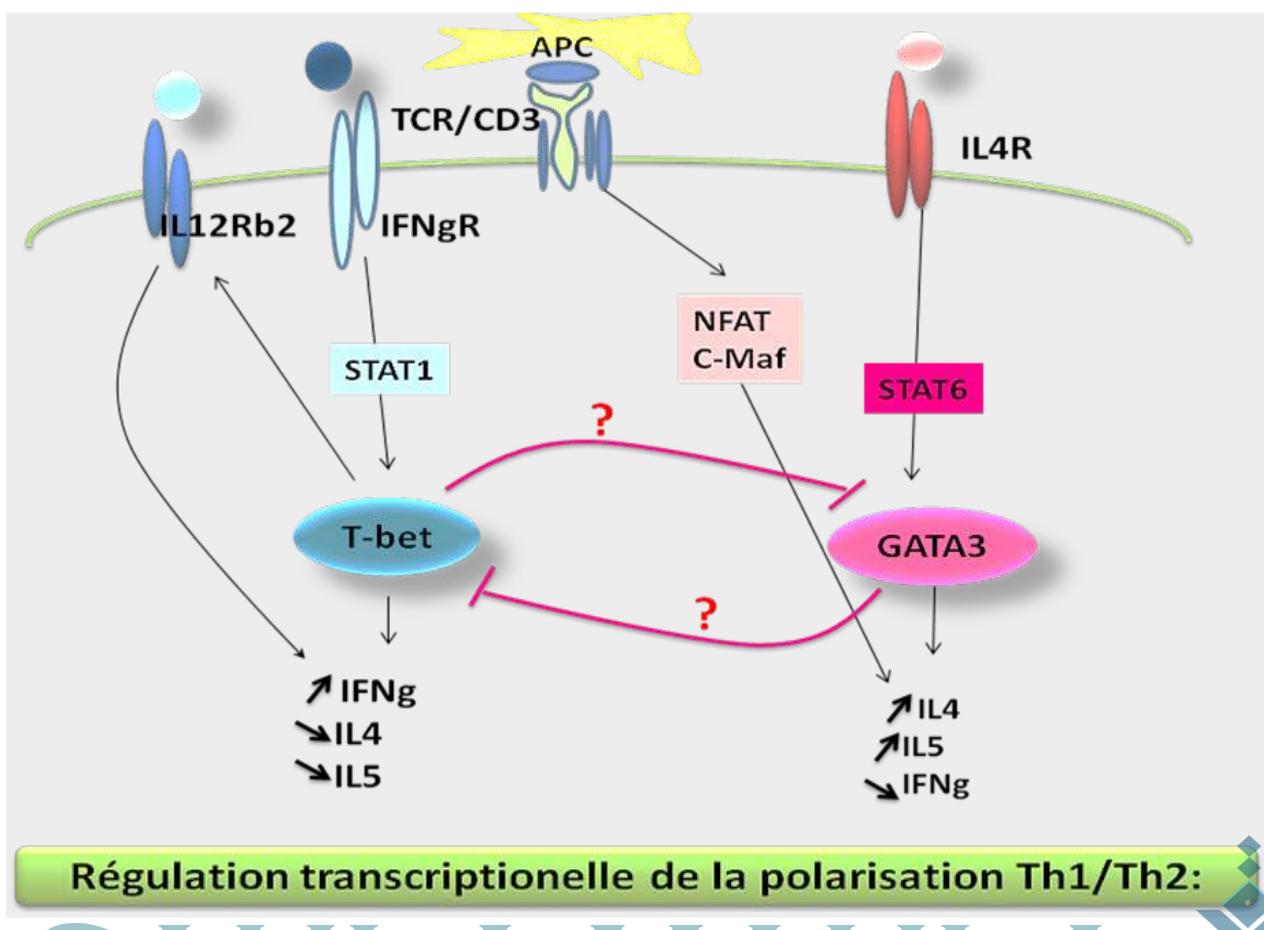


Figure 6: Régulation transcriptionnelle de la Polarisation Th1/Th2.

المصدر الاول للطالب الجزائري

• Hlx :

Gène homeobox spécifique de Th1, interagit avec les facteurs de transcription T-box spécifiquement T-bet. Il est présent dans les Th1 dans les 3 jours après stimulation. Hlx est un gène cible de T-bet (induit par T-bet) qui à son tour induit T-bet de façon directe ou indirecte :

- En synergie avec T-bet augmente le nombre de cellules productrices d' IFN γ et le taux d' IFN γ par cellule
- augmente aussi la capacité de T-bet à induire l'expression d'IL12R β

- Facteurs de transcription Th2-spécifiques :

• **GATA3** : Protéine en doigts de zinc, essentielle pour le développement T (étapes précoces) l'invalidation de son gène est incompatible avec la vie. Il est exprimé à des taux négligeable dans le TCD4⁺ naif et est spécifiquement exprimé dans les Th2 matures. Dans les Th2, GATA3 est induit par la voie IL4/STAT6 et inhibe le développement Th1 en inhibant l'expression d'IL12R β 2. Dans les Th1, l'expression de GATA3 est éteinte, car inhibée par la voie IL12/STAT4. Une fois induit, GATA3 entreprend un processus d'auto-activation pour augmenter son expression de manière

STAT6-indépendante. régule directement l'expression *dIL15* et *IL13* car se lient à leurs promoteurs, il augmente l'expression du gène *il4* en se liant à des sites spécifiques (1^{er} intron et 3'enhancer) mais pas au promoteur. L'activité de *GATA3* est modulée par des interactions physiques avec d'autres protéines nucléaires exemple, le *FOG1* : « freind of *GATA* » fortement exprimé dans les cellules hématopoiétiques, il réprime l'activité transcriptionnelle de *GATA3* et la production de cytokines Th2 (figure 7).

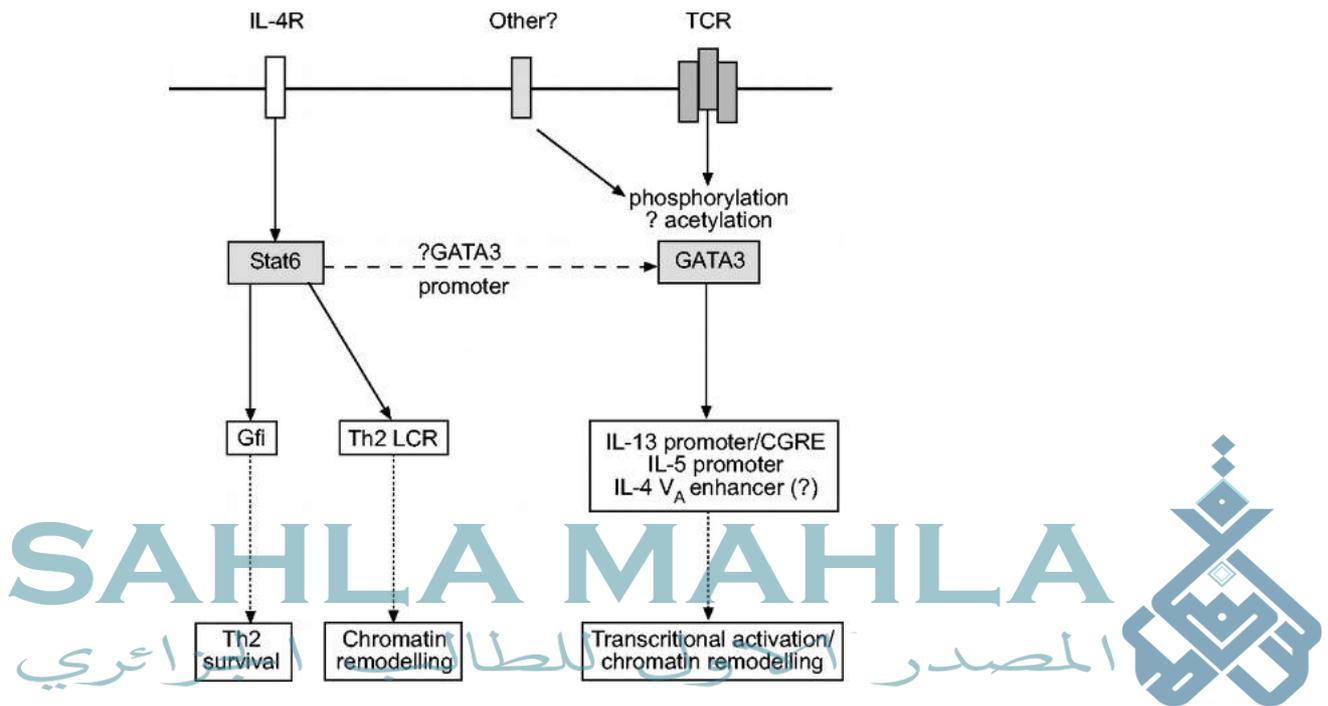


Figure 7: Amplification de la voie TH2

Les Th1/Th2 dérivent d'un même précurseur : le TCD4⁺ naïf qui se différencie en l'une des deux sous-populations sous l'influence de plusieurs facteurs. La réponse de type 1 serait initiée par un pathogène portant des motifs moléculaires de type1 qui stimulent les cellules de l'immunité innée « dont les NK » à produire l' IFN γ qui va sensibiliser le TCD4⁺ à l'action polarisante de l'IL12 (produite par les DCs et Macrophages stimulées via les TLRs).

L'IL27 (CPAs) peut aussi agir de la même manière. Le Th1 va produire des taux importants d' IFN γ rapidement sous l'action combinée d'IL12 et d'IL18.

Par contre une réponse de type 2 est initiée par un pathogène portant des motifs antigéniques de type 2 mais la source initiale d'IL-4 est peu connue, et l'initiation de réponses de type2 se ferait par d'autres signaux (costimulation CD28 importante, IL6 ?...) qui permettent la différenciation des Th2 sous l'action polarisante d'IL4 via STAT6 et du GATA3.

II. Autres sous population Thelper :

1. T régulateurs :

Ces Th jouent un rôle important dans la régulation des réponses immunitaires et la prévention des maladies auto-immunes. Les lymphocytes Treg renferment :

a- nTreg : naturally occurring Treg dérivent du thymus, expriment fortement et de

façon constitutive CD25. Ils expriment également CTLA-4, CD62L, CD134(OX40), GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor), TGF- β membranaire, CD95, PD-L1 (programmed cell death ligand 1) et les intégrines $\alpha 4\beta 7/\alpha 4\beta 1$. Toutes ces molécules sont exprimées par d'autres types cellulaires et ne permettent pas d'identifier les cellules nTreg. Les Treg expriment un facteur de transcription spécifique **FOXP3** (CD4+CD25+, CTLA4, FOXP3, TGF- β et/ou IL10).

2. iTreg : peripherally induced Treg.

- Différenciation des iTreg :

Les cellules TCD4+CD25-FOXP3- murines après stimulation antigénique et en présence de TGF- β expriment FOXP3, et acquièrent des propriétés régulatrices. Les éléments nécessaires pour la différenciation des iTreg à partir d'un lymphocyte TCD4+ naïf ne sont pas complètement élucidés ; mais les signaux provenant du :

- TCR : 1^{er} signal (signal de reconnaissance), CTLA4 : 2^{eme} signal (signal de costimulation) et TGF- β : 3^{eme} signal (signal de différenciation) semblent être impliqués.

• Le TGF- β

Appartient à la superfamille du TGF, il existe trois isomères chez les mammifères TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 2$, TGF- $\beta 3$. TGF- $\beta 1$ possède l'action la plus puissante sur le système immunitaire. TGF- β est une cytokine anti-inflammatoire mais dans certains cas, elle joue un rôle paradoxal dans l'exacerbation des réponses inflammatoires. Cette action différentielle du TGF- β dépend :

- De l'expression locale ou systémique.

- De la concentration.

-Du temps écoulé entre les signaux délivrés par le TCR et ceux délivrés par TGF- β R.

TGF- β R : est formé par deux sous unités ;

-une unité de reconnaissance : TGF- β R

-une unité de transduction du signal : ALK5.

Après fixation du TGF- β à son récepteur, ALK5 phosphoryle des facteurs de transcription : Smad qui sont transloqués vers le noyau et permettent donc la transcription des gènes cibles.

- **Facteur de transcription spécifique: FOXP3** (Winged helix-forkhead DNA-binding domain).

C'est le facteur de transcription spécifique des Treg, présent uniquement dans les cellules Treg chez la souris, alors que chez l'homme on le retrouve également dans les cellules CD8+ et CD4+ non régulatrices.

Il agit comme activateur et inhibiteur de la transcription. Son rôle dans la cellule Treg est d'inhiber la transcription des gènes impliqués dans l'activation de la cellule.

- Il se lie aux promoteurs des gènes d'IL2, IL4 pour les réprimer.
- Et se lie aux promoteurs des gènes CD25, GITR, CTLA-4 pour les activer.

Le FOXP3 se lie à ses gènes cibles sous forme d'un complexe FOXP3-NFAT.

NFAT et AP-1 sont deux facteurs de transcription recrutés suite à l'engagement du TCR et CD28. Ces deux molécules forment un complexe qui contribue à la transcription des gènes d'activation.

Dans les cellules Treg ; les signaux de costimulation sont absents, et le complexe NFAT-AP1 n'est pas formé. Il y a plutôt formation du complexe NFAT- FOXP3 qui participe à l'acquisition du phénotype d'anergie.

Le TH17: المصدر الأول للطالب للجزء

C'est une nouvelle sous population de lymphocytes TCD4+, à l'origine de la sécrétion de membres de la famille d'IL17 et qui joue un rôle notable dans l'immunité anti-infectieuse et la pathogénie des maladies auto-immunes telle que : EAE, diabète, arthritis collagen induced.

C'est une sous population de cellules TCD4+ qui expriment préférentiellement l'IL23R et les $\alpha 3$ intégrines. Elle secrète les membres de la famille d'IL17 : IL17 (IL17A, IL17F).

Cette famille renferme 6 membres : IL17A, IL17B, IL17C, IL17D, IL17E(IL25), IL17F. IL17 est une cytokine pro-inflammatoire qui induit la sécrétion de cytokines pro inflammatoires (IL6 et TNFa) et de chimiokines (MCP-1, MIP-2). Elle joue de ce fait, un rôle important dans la prolifération, la maturation et la chimiotaxie des neutrophiles.

Après interaction entre la CPA et un lymphocyte TCD4+ naïf, les signaux délivrés par : Le TCR

- La Co stimulation ICOS
- La combinaison TGF- β R+IL6R

Permettent la différenciation en cellule Th17 productrice d'IL17.

TGF- β en présence d'IL6 conduit à l'expression d'un facteur de transcription spécifique des Th17 : ROR γ t (chez la souris) et RORC2 (chez l'homme), et à l'expression membranaire de l'IL23R qui rend la cellule sensible à l'IL23. Cette cytokine assure la prolifération et l'expansion des cellules Th17.

- **IL23** : cytokine hétérodimérique appartenant à la famille de l'IL12. Elle est sécrétée par les cellules dendritiques et les cellules phagocytaires en réponse à différents stimuli.

Les molécules ROR γ t et ROR γ sont codées par le gène RORc et diffèrent par leur séquence terminale (via l'activation de promoteurs différents) et par leur expression qui est ubiquitaire pour ROR γ et restreinte aux cellules hématopoïétiques pour ROR γ t. ROR γ t est exprimé par les cellules Th17 différenciées et les cellules productrices d'IL17 de la lamina propria. L'expression rétrovirale du ROR γ t dans des cellules TCD4+ naïves conduit à la production d'IL17.

Ce facteur de transcription entraîne le remodelage de chromatine du locus IL17 qui code pour IL17A et IL17F permettant de ce fait la fixation des autres facteurs de transcription au promoteur du locus IL17 (figure 8).

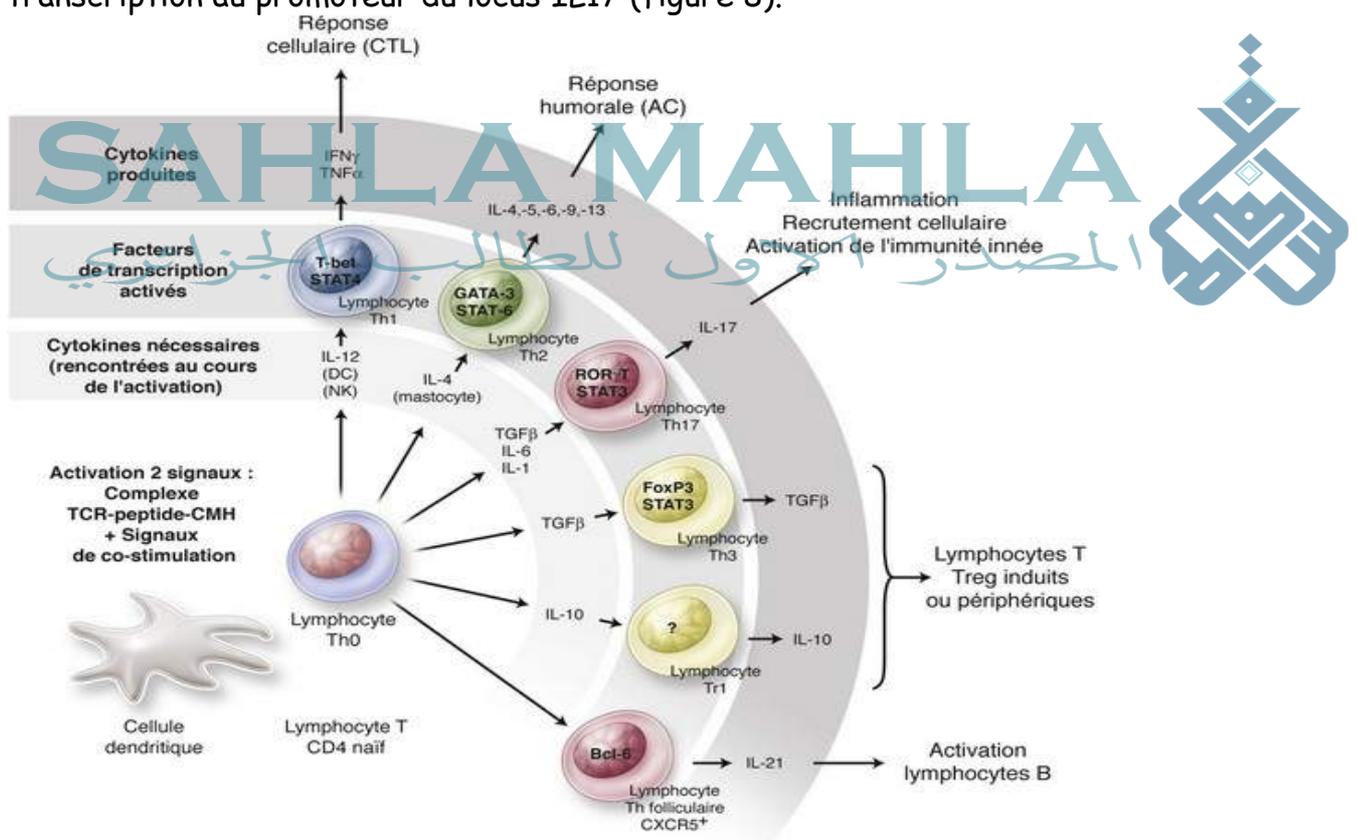


Figure 8 : Rôle de l'environnement cytokinique dans Polarisation des LT vers les voies effectrices et régulatrices

STRUCTURE ET FONCTIONS DES CYTOKINES

I. DEFINITION

Les réponses immunitaires sont la résultante d'interactions complexes entre plusieurs types de cellules (Lymphocytes T, lymphocytes B, macrophages, polynucléaires etc...) qui communiquent entre elles par l'intermédiaire de facteurs solubles appelés cytokines.

Les cytokines représentent un groupe complexe de molécules sécrétées par les cellules immunitaires et qui jouent un rôle de messenger, soit localement, soit à distance. Ce sont de puissants agents pharmacologiques, impliqués à la fois dans les réactions immunitaires et inflammatoires, agissant sur les cibles cellulaires par l'intermédiaire de récepteurs membranaires. Contrôlant l'activation, la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules T et B. Elles jouent également un rôle essentiel au cours de réactions inflammatoires et dans les phénomènes de résorption osseuse, de fibrose et de chimiotactisme. Elles interviennent aussi dans le contrôle de l'hématopoïèse. Chaque cytokine peut être produite dans de nombreuses circonstances physiologiques et peut exercer des fonctions diverses. A l'inverse, plusieurs cytokines peuvent exercer le même effet. Elles peuvent modifier, induire ou supprimer les fonctions de nombreux types cellulaires.

II Classification :

Initialement, à cause de leur origine lymphocytaire, ces médiateurs ont été regroupés sous le terme de *lymphokines*. Parallèlement la dénomination « *monokine* » a été utilisée pour désigner les facteurs produits par les macrophages ou les monocytes. Le terme « *interleukine* » a été par la suite proposé pour regrouper les lymphokines et les monokines ayant pour cibles d'autres leucocytes. Ce sont des facteurs de communication entre les cellules de l'organisme

Tableaux I: Classification des cytokines

Groupes	Famille	Cytokines
1	IL2 Interféron IL10	IL-2, 3, 4, 5,6, 7, 9, 11, 13, 15 et 30 ; G-CSF, GM-CSF, FGH, leptine IFN- α , IFN- β IL-10, 19, 20, 22, 24, 26
2		TNFs, IL-1, TGF- β
3		Chémokines
4		IL-12
Molécules uniques		IL-17, IL-14, IL-17

III. Caractéristiques communes aux différentes cytokines

Une des principales caractéristiques des cytokines est leur **double ubiquité**.

0* *Au niveau des cellules productrices*, une même cytokine peut être produite par différents types cellulaires, et une cellule donnée peut produire des cytokines différentes.

1* *Au niveau des cellules ciblées*, une même cytokine peut exercer des activités biologiques variées sur des types cellulaires distincts (**pléiotropie**) et une activité biologique donnée peut résulter de l'effet de cytokines distinctes (**redondance**).

- Ce sont des glycoprotéines de **15 et 60 kDa**. Elles ne possèdent pas de structure de base identique. Elles sont toutes synthétisées de-novo et sécrétées le plus souvent sous forme glycosylée. On ne les trouve généralement pas dans les cellules au repos et elles ne sont produites que lors d'une activation par l'antigène ou des substances mitogènes.

- Produites de façon transitoire et locale, elles agissent de façon **autocrine et paracrine**. Elles **agissent à faibles doses** et de façon non spécifique de l'antigène. Elles induisent mutuellement leur synthèse et agissent sur leurs cibles cellulaires grâce à des **récepteurs membranaires** dont certains possèdent une sous-unité en commun. Elles ont également la propriété d'induire l'expression de leur récepteur spécifique : elles transmodulent leur récepteur. Elles peuvent avoir des effets synergiques entre elles. Il n'existe qu'une seule copie du gène de la plupart des cytokines dans le génome. Les gènes sont organisés de façon similaire avec 4-5 exons séparés par des introns en fonction de la cytokine considérée.

- Généralement, la régulation de la synthèse des cytokines se fait au niveau transcriptionnel. La production d'une cytokine donnée peut être modulée de façon positive ou négative par de nombreux facteurs (physiologiques ou pharmacologiques) et en particulier par la présence d'autres cytokines dans l'environnement. Certaines cytokines sont exprimées non seulement sous forme soluble, mais également sous forme membranaire et agissent comme de vrais et propres récepteurs de surface capables de transmoduler des signaux intracellulaires.

IV. Propriétés principales des diverses cytokines

1/ L'Interleukine-1 (IL-1)

a- **Structure** : C'est la cytokine qui illustre le mieux les concepts de pléiotropisme et de redondance. Initialement dénommée **LAF** (Lymphocyte activating factor), produite essentiellement par les monocytes/macrophages en réponse à une multitude de stimuli. Elle est douée de multiples activités biologiques qui en font un médiateur central non seulement de la **régulation de la réponse immunitaire** mais également de la **pathogénèse de l'inflammation**.

Deux gènes différents sur le chromosome 2 codent pour des formes deux formes de 26% d'homologie

- L'IL-1 α est un peptide (159 aa, 17,5 Kda, pHi =5),
- L'IL-1 β est un peptide (153 aa, 17,3 Kda, pHi = 7)

b- Le récepteur de l'IL-1 (IL1-R):

L'IL-1 a une multiplicité de cibles cellulaires. Les 2 formes ont le même récepteur membranaire. L'IL-1R lie les formes matures mais également et seulement le pro-peptide de l'IL-1 α . Deux types de récepteurs à l'IL-1 sont décrits : l'IL-1R type I de 80 Kda et l'IL-1R type II de 68 Kda. Les deux types de récepteurs appartiennent à la superfamille des Ig.

Les sources et Les cibles cellulaires de l'IL-1:

- On y retrouve les **monocytes** (sang, placenta), **macrophages de divers tissus**, cellules **T** et **B activées** et cellules NK ; les cellules endothéliales ; les astrocytes, les cellules microgliales et les cellules gliomateuses du SNC ; les kératinocytes et les cellules de Langerhans de la peau ; les cellules dendritiques et les cellules mésangiales rénales ; les polynucléaires neutrophiles ; les fibroblastes ; les chondrocytes ; l'épithélium cornéen ; les cellules épithéliales thymiques.
- Elle agit sur l'activation des cellules lymphocytaires (T, B et NK), des monocytaires/macrophagiques, l'activation des cellules endothéliales en augmentant leur capacité procoagulante, la prolifération de divers autres types cellulaires (fibroblastes, cellules musculaires, kératinocytes...), les hépatocytes en favorisant la production des protéines de la phase aiguë de l'inflammation, le système nerveux central (l'IL-1 est un facteur pyrogène) et la résorption osseuse.
- L'IL-1 est également un puissant inducteur de la production de diverses cytokines par différentes cellules et de ce fait un certain nombre de ses propriétés biologiques sont vraisemblablement indirectes et résultent de l'effet de ces autres cytokines qui sont induites.
- Les glucocorticoïdes et les prostaglandines inhibent la synthèse de l'IL-1
- **Rôle de l'IL-1 dans la R.I :**
- a/ Signal d'activation des T_H en déclenchant la synthèse de l'IL-2 et de son récepteur.
- b/ Favorise la coopération entre lymphocytes T et macrophages en augmentant la synthèse d'une adhésine, l'ICAM-1
- c/ Induit la prolifération et la différenciation des lymphocytes B
- d/ Joue un rôle très important dans l'inflammation ; c'est un puissant médiateur de l'inflammation en synergie avec l'IL-6 et le TNF.

Cytokines

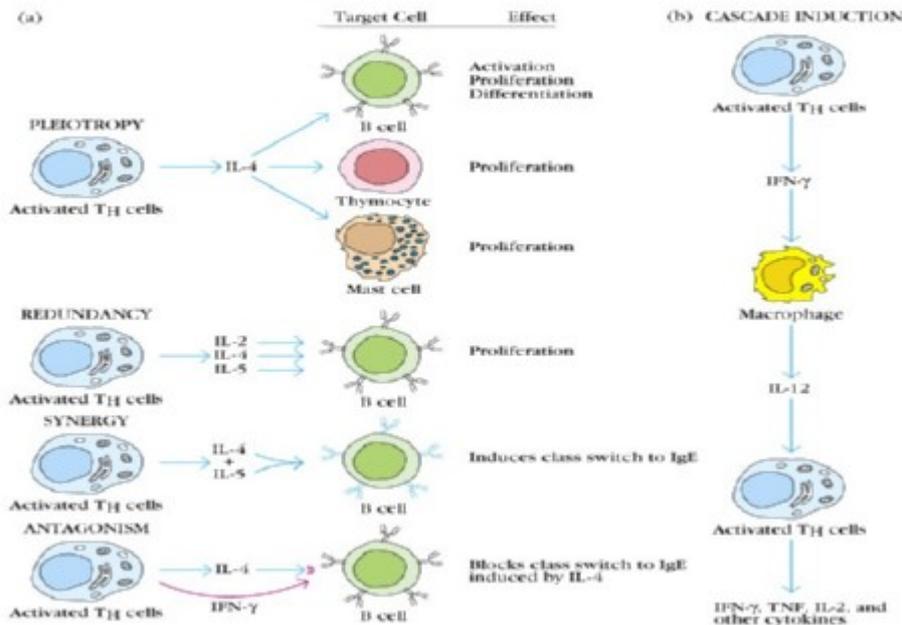


Figure 1 : Activités biologiques des cytokines

2. L'Interleukine 2 (IL-2)

Elle constitue un élément primordial de la cascade des cytokines produites au cours des réponses immunitaires à médiation cellulaire. A l'opposé de l'IL-1, la production de l'IL-2 est restreinte aux cellules lymphocytaires et notamment les lymphocytes T.

a- Structure : L'IL-2 humaine est constituée d'une seule chaîne polypeptidique unique (133 aa 15 Kda) comportant un seul pont disulfure (reliant les cystéines 58 et 105) qui est indispensable à l'expression de l'activité biologique de la molécule. Le gène codant pour l'IL-2, est situé sur le chromosome 4 chez l'homme.

b- Récepteur à l'IL-2

Le récepteur membranaire de forte affinité est constitué de 3 chaînes glycoprotéine (α , β , γ) distinctes. IL-2R β et IL-2R γ appartiennent à la superfamille des récepteurs des hématopoïétines.

- La chaîne α (IL-2R α), est une glycoprotéine (55 Kda, 251 AA) avec un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique. Elle est exprimée que par les cellules T activées. Elle est également exprimée par les cellules anormales de patients leucémiques, au cours de maladies auto-immunes et au cours de l'infection HIV.

- La chaîne β (IL-2R β) est une glycoprotéine (70-75 Kda, 525 AA) avec un seul domaine transmembranaire et un grand domaine cytoplasmique. Il existe une forme soluble de l'IL-2r β dont la fonction n'est pas encore clairement déterminée. Sa

présence reflète cependant l'activation des cellules T. Il est exprimé par les cellules T CD8+ cytotoxiques.

- La chaîne γ (IL-2R γ) est une glycoprotéine comportant 347 AA avec un seul domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique. C'est une chaîne partagée par les récepteurs de l'IL-2, l'IL-4, l'IL-7, l'IL-9 et l'IL-15. Elle est exprimée sur les cellules lymphoïdes. *L'IL-2R de haute affinité est constitué par l'association des 3 sous-unités.*

- les glucocorticoïdes inhibent la synthèse de l'IL-1 par les prostaglandines PGE2.

Certaines de ces cytokines peuvent partager la chaîne β en plus de la chaîne γ commune. C'est le cas de l'IL-2 et l'IL-15, ce qui explique la forte redondance entre elles dans la prolifération et la différenciation des lymphocytes T (figure ci-dessous).

Activités biologiques

- Expansion clonale des lymphocytes T: Th, Tc, Ts et Prolifération des LB
- Augmentation de l'activité cytotoxique des cellules N.K. et L.A.K
- Amplification de l'activation des monocytes (cytotoxique, anti-tumorale, bactéricidie)
- Induction de la production d'autres cytokines comme IFN γ .

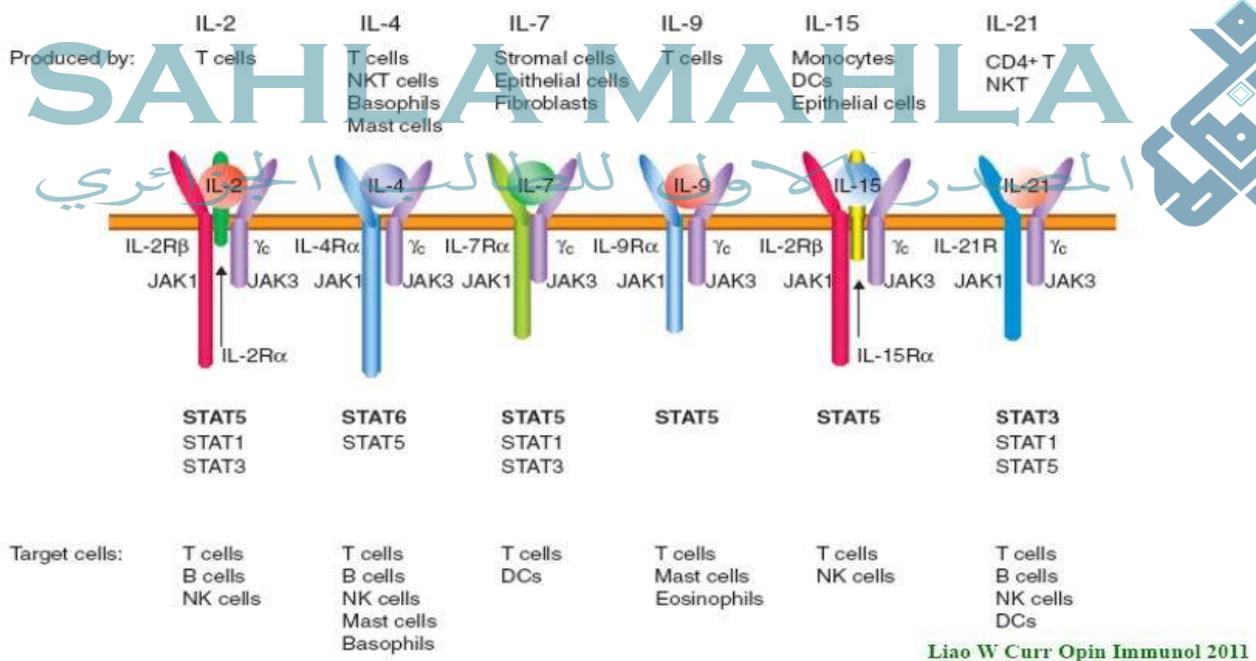


Figure 2 : Structures des récepteurs de certaines cytokines

3. L'interleukine 4 (IL-4)

a- **Structure**

Initialement dénommée BCGF-I (B Cell Growth Factor), elle est synthétisée par les lymphocytes TH2, les basophiles, les lymphocytes B ainsi que les cellules stromales de la moelle osseuse. Le gène codant pour l'IL-4 se trouve sur le chromosome 5. L'IL-4 humaine mature est un polypeptide de 129 AA, 15 à 19 Kda, et possédant 2 sites de glycosylation.

b- **Récepteur de l'IL-4 (IL-4R)**

Il comprend 2 sous-unités :

- Une sous-unité α qui lie l'IL-4
- Une sous-unité β , nécessaire pour avoir un récepteur de haute affinité
- Une sous-unité γ qui est un composant fonctionnel du récepteur. Sur certaines cellules. Une forme soluble de l'IL-4R a été mise en évidence et jouerait le rôle d'antagoniste de l'IL4.

c- **Activités biologiques**

3* Augmente la prolifération des lymphocytes B activés et Stimule la prolifération des cellules T activées

4* Stimule la production d'IgE et IgG4

5* Accroît l'expression du CD23 membranaire et Augmente l'expression du CD23 soluble

6* Agit en synergie avec les CSFs dans la génération des neutrophiles et des basophiles

7* L'IL-4 est une cytokine **anti-inflammatoire** en inhibant la production des cytokines pro-inflammatoires

8* Favorise l'interaction entre les TH2 et les LB en augmentant l'expression des molécules du CMH de classe II à la surface des LB.

9* Active également la prolifération des lymphocytes NK

Tout comme l'IL-2, l'IL-4 est produite par les lymphocytes T, les lymphocytes T NK, les basophiles et les mastocytes.

4- **l'Interleukine 5 (IL-5)**

Structure : l'IL-5 est une cytokine produite par les lymphocytes TH2, les basophiles et les mastocytes activés. Le gène codant pour l'IL-5 se trouve sur le chromosome 5. L'IL-5 mature est un polypeptide de 115 AA, de 20 et 45 Kda. Elle existe et agit le plus souvent sous forme de dimère.

b- **Récepteur de l'IL-5 (IL-5R)**

Il est constitué de 2 sous-unités :

10* Une sous-unité α de 60 KD qui lie l'IL-5

11* Une sous-unité β de 120 KD qui ne lie pas l'IL-5

Ces 2 sous-unités appartiennent à la superfamille des récepteurs des hématopoïétines. La sous-unité α lie l'IL-5 avec une faible affinité. Elle ne joue pas de rôle dans la transduction du signal. La formation d'un récepteur de haute affinité et la transduction du signal nécessite l'interaction entre les sous-unités α et β . Une forme soluble du récepteur IL-5 (IL-5R α) jouerait le rôle d'antagoniste de l'IL-5.

a- Activités biologiques

Cette cytokine possède deux activités biologiques principales :

12* une action sur la prolifération des cellules B et leur sécrétion d'IgM, d'IgG et d'IgA (souris)

13* l'induction de colonies d'éosinophiles à partir de précurseurs médullaires. Elle agit en synergie avec l'IL-4 pour la production d'IgE.

Tableau I.- Origine et cibles des principales cytokines

NOM	PRINCIPALES SOURCES CELLULAIRES	PRINCIPALES CIBLES	PRINCIPAUX EFFETS
IL-1 α et β	CPA	Multiples	Inflammation, fièvre, activation T et B
IL-2	Lymph. T	Lymph. T, B et NK	Activation
IL-3	Lymph. T	Cell. souches	Hématopoïèse
IL-4	Lymph. TH2	Lymph. TH2 et B	Induction TH2, réponse humorale, IgE
IL-6	CPA, lymph. TH2	Lymph. B, Hépatocytes	Différenciation plasmocytaire, inflammation
IL-8	Monocytes, cell. endothéliales	Lymph. Neutrophiles,	Chimiotactisme
IL-10	Lymph. TH2	CPA, Lymph. TH1	Anti-inflammatoire
IL-12	CPA	TH1	Induction TH1
IFN- α	Lymph., Macrophages	Macrophages, lymph. T et B	Antiviral
IFN- γ	Lymph. T, NK	CPA, lymph. B	Expression HLA/II, art-TH2
CSF	Lymph. T, Macrophages	Cell. souches	Hématopoïèse
TNF- α	CPA, NK, cell. endoth.	Multiples	Inflammation

5. L'Interleukine 6 (IL-6)

a- Structure cette cytokine est constituée de 184 AA et comporte 2 sites de glycosylation. Le gène codant pour l'IL-6 se trouve sur le chromosome 7. L'IL-6 est produite par différents types cellulaires : Lymphocytes TH2 et les lymphocytes B activés, Polynucléaires neutrophiles et fibroblastes, Ostéoblastes et ostéoclastes, Cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, Cellules mésangiales rénales, Chondrocytes, Kératinocytes, Cellules microgliales, Cellules infectées par un virus à ARN (HIV par exemple)

b-Récepteur de l'IL-6 (IL-6R). Il est constitué de 2 sous-unités La gp 80 qui lie l'IL-6 avec une faible affinité et la gp 130. L'association des 2 sous-unités est nécessaire pour avoir un complexe récepteur de haute affinité et une transduction du signal. Une forme soluble de l'IL-6R (gp 80) a été décrite. Elle est capable de lier l'IL-

6 et de la présenter à la gp 130 entraînant une réponse des cellules à l'IL-6. une forme soluble de gp 130 a été rapportée pouvant inhiber l'activité du complexe soluble IL-6 / IL-6R.

b- Activités biologiques de l'IL-6

- activités pro-inflammatoires
- Prolifération et différenciation des lymphocytes B activés
- Prolifération des TH et (L'IL-6 agit comme cofacteur de l'IL-2)

Activation, différenciation des lymphocytes Tc et des cellules NK pour la production de perforines

- Stimule la mégacaryopoïèse et amplifie fortement l'activité des facteurs de croissance hématopoïétique (GM-CSF, G-CSF, M-CSF et IL-3)
- Rôle dans l'induction de la fièvre,
- Induit la production de l'IL-2 et de l'expression du récepteur à l'IL-2.

6. L'Interleukine 10 (IL-10)

a- Structure Initialement désignée CSIF (facteur inhibant la synthèse des cytokines), L'IL-10 est un peptide de 18 Kda , non glycosilé, Le gène codant pour l'IL-10 se trouve sur le chromosome 1.

b- Sources cellulaires

L'IL-10 humaine est synthétisée par les cellules T CD4+ de type TH2. Elle est également produite par les cellules B normales, les lymphomes B et les macrophages sur lesquels elle joue un rôle autocrine de régulation de la production de cytokines. Les cellules T CD8+ et les kératinocytes en produisent également

c-Activités biologiques

L'IL-10 inhibe la synthèse de cytokines par les clones TH1 activés en présence de CPA (IL-2 ; IFN γ), l'IL-10 inhibe la prolifération des cellules T humaines, la CPA, cette action est expliquée par la régulation directe qu'exerce l'IL-10 sur l'IFN γ avec comme conséquence une diminution de l'expression des Ag du CMH classe II et une suppression d'activation. Elle représente également un facteur de prolifération et de différenciation des LB ; elle favorise dans certaines conditions la production d'IgM, d'IgG et d'IgA.

7. L'Interleukine 12 (IL-12)

a- Structure : L'IL-12 est composée de deux chaînes différentes (p35 et p40) associées par des ponts disulfures, codées par des ARN messagers distincts, qui sont inactives quand elles sont exprimées seules. Cette structure hétérodimérique est inhabituelle pour les cytokines puisque la majorité est monomérique, homodimérique (IL-5, GM-CSF) ou homotrimérique (TNF).

b-Activités biologiques : L'IL-12 est produite par les cellules présentatrices de l'antigène : CD, mo/mφ et ly B. L'IL-12 induit la sécrétion d'IFN γ par les lymphocytes T et joue un rôle important dans la *polarisation TH1/TH2*, induit également la sécrétion d'IFN γ par les lymphocytes NK et T NK, la prolifération de cellules T activées par différents mitogènes et augmente de manière très significative les capacités cytotoxiques des lymphocytes.

8. L'Interleukine 13 (IL-13)

Cette cytokine est principalement produite par les lymphocytes TH2. Le cDNA de l'IL-13 code pour une protéine de 132 AA avec 4 résidus cystéines (donnant 2 ponts S-S) et 4 sites de glycosylation. Le gène codant pour l'IL-13 est localisé sur le bras long du chromosome 5

-Récepteur de l'IL-13 (IL-13R) Sa structure n'est pas encore bien définie.

d-Activités biologiques

- Anti-inflammatoires

- Action sur les monocytes et les macrophages, peut inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1, IL-6, IL-8..) par les monocytes stimulés par le LPS. Cette inhibition s'accompagne d'une production d'antagonistes du récepteur de l'IL-1 (IL-1ra).

L'IL-13 induit une augmentation de l'expression de certains marqueurs de surface des LB (CD23, CMH II, IgMs, CD71, CD72), la prolifération, la différenciation des LB et la production d'AC.

9. L'interleukine 15 (IL-15):

C'est une cytokine dont le spectre d'action est largement redondant avec celui de l'IL-2. Elle agit donc de manière privilégiée sur les lymphocytes T. Tout comme l'IL-2, son action s'étend également aux lymphocytes B et NK. Cette redondance trouve son explication moléculaire dans le fait que les mêmes chaînes β et γ sont partagées par les récepteurs de l'IL-2 et l'IL-15. Le récepteur de l'IL-15 possède une troisième chaîne α qui lui est spécifique.

10. L'Interleukine 9 (IL-9)

L'IL-9 est une cytokine synthétisée par les lymphocytes T CD4+ activés. Elle est surtout active sur les thymocytes, et favorise également la prolifération de progéniteurs érythrocytaires soit directement, soit par l'intermédiaire des cellules du stroma médullaire.

11. Interférons (IFN)

Les interférons sont des protéines douées d'activité antivirale et de propriétés immunomodulatrices et antitumorales. C'est sur la base de leur origine, de leurs caractéristiques biochimiques et de leurs déterminants antigéniques que les interférons humains ont été groupés en trois types : l'IFN α est produit par les leucocytes (macrophages, cellules B...); l'IFN β est produit par les fibroblastes et enfin l'IFN γ est produit principalement, sinon uniquement, par les lymphocytes T activés. La présence de récepteurs membranaires de l'IFN γ , différents de ceux de l'IFN α et β a été démontrée.

L'IFN γ a une activité antivirale qui se distingue de celle des IFN α et β par sa restriction d'espèce, ses variations d'efficacité en fonction du type de virus et sa cinétique d'induction plus lente (plusieurs heures au lieu de 10-30 minutes). L'IFN γ inhibe la division cellulaire de cellules normales ou transformées avec une efficacité de 10 à 100 fois supérieure à celle des autres interférons.

L'IFN γ active les capacités cytotoxiques de macrophages vis-à-vis de cibles tumorales. Cette activité biologique est due à l'activation de la NO synthétase macrophagique par l'IFN γ qui induit la production de monoxyde d'azote (NO). L'IFN γ active également les capacités cytotoxiques des lymphocytes T et des lymphocytes NK. L'IFN γ accroît l'expression des récepteurs Fc à haute affinité pour les IgG monomériques sur les cellules myélomonocytaires. Il augmente l'expression des antigènes du CMH sur de nombreux types cellulaires : l'expression des antigènes de classe I est augmentée sur toutes les cellules testées alors que les antigènes de classe II ne sont induits que sur un nombre limité de cellules telles que les macrophages, les cellules B et les mastocytes T dépendants. Enfin comme il l'a été précisé plus haut, l'IFN γ joue un rôle important dans la polarisation TH1/TH2. L'IFN γ produit par les lymphocytes de type TH1, est un puissant inhibiteur de la prolifération et de la différenciation des cellules TH2.

Tableau II : Combinaisons des Janus Kinases et des STATs utilisés par les différents récepteurs de cytokines.

	jaK Kinase				STATs					
	TYK2	JAK1	JAK2	JAK3	1	2	3	4	5	6
Récepteurs Homodimériques.										
EPO		*	*						*	
TPO	*	*	*		*		*		*	
G-CSF		*	*		*		*		*	
Récepteurs à chaînes β										
IL-3 /IL- 5/GM-CSF			*						*	
Récepteur à gp 130										
IL6/LIF /OSM/CNTF	*	*	*		*		*			
IL-2		*		*					*	
IL-4		*		*						*
IL-7		*		*					*	
IL-9	*	*					*			
IL-15		*		*					*	
IL-12	*		*		*		*	*		
IL-13	*	*	*		*		*	*		*
M-CSF					*				*	
EGF		*			*		*		*	
PDGF	*	*	*		*		*			
IFNβ/α	*	*	*		*	*	*			
IFNγ		*	*		*		*			
IL-10	*	*			*		*			

12. L'interleukine 8 et la famille des chémokines

De nombreuses cellules (monocytes/macrophages, cellules endothéliales et épithéliales, fibroblastes et hépatocytes) vont produire en réponse à une stimulation par l'IL-1 ou du TNF, un peptide chimiotactique, l'IL-8, qui est en mesure de recruter les cellules circulantes dans les sites inflammatoires en exerçant une activité chimiotactique (figure 3 et 4).

La famille des chémokines peut être divisée en deux groupes sur la base de la présence de deux résidus cystéine conservés qui sont adjacents (**C-C ; ce sont les β chémokines**) ou séparées par un acide aminé (**C-X-C ; ce sont les α chémokines**).

Plus de 50 chimiokines répertoriées et classées en 4 familles selon la disposition des deux 1^{ères} cystéines de l'hélice α :

- La classe des β chémokines (C-C) comprend les protéines inflammatoires des macrophages MIP-1 α et β, la protéine chimiotactique des monocytes MCP-1 et la molécule RANTES.
- L'IL-8 appartient au groupe des α chémokines (C-X-C) tout comme le MGSA (*pour melanoma growth stimulating activity*), une protéine induite par l'interféron γ (*γIP-10*), le facteur 4 des plaquettes humaines (*PF-4*) et la protéine basique des plaquettes (*PBP*) qui génère par clivage protéolytique successifs d'autres substances chimiotactiques que sont la CTAP III (*pour connective tissue activating peptide III*), la thromboglobuline β (β-TG) et le NAP-2 (*neutrophil activating protein 2*).

Deux types de récepteurs pour l'IL-8 ont été identifiés l'IL-8-RA et RB. Leur séquence en acides aminés partage plusieurs caractéristiques communes à la famille des récepteurs de membrane couplés à une protéine G, incluant sept domaines hydrophobes transmembranaires.

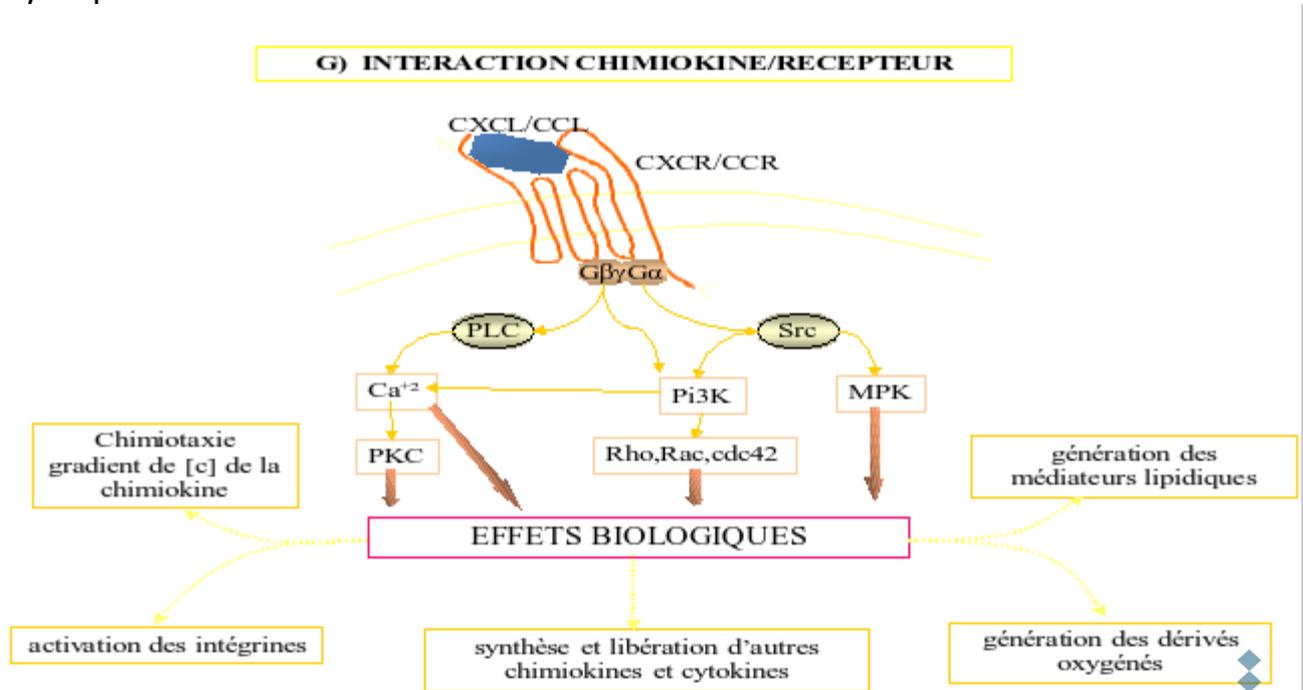


Figure 3 : Interaction Chimiokine-Récepteur

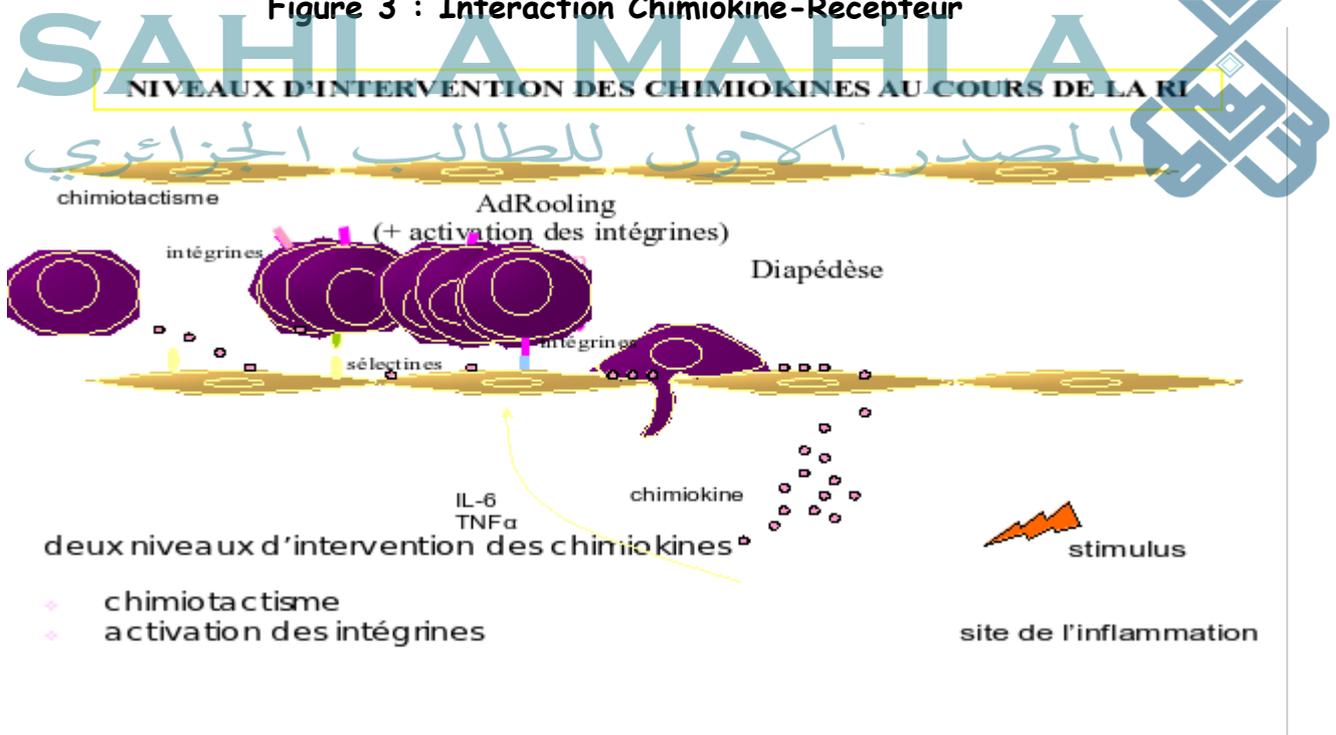


Figure 4 : Rôle des chimiokines dans la migration cellulaire

13. CYTOKINES ACTIVES SUR LES CELLULES SOUCHES HEMATOPOIETIQUES

1. **GM-CSF (granulocyte/macrophage colony stimulating factor)**

Le GM-CSF est une glycoprotéine principalement produite par les lymphocytes T, les macrophages et les cellules endothéliales et possède un large spectre d'activité biologique. Il induit la prolifération et la différenciation des macrophages, des neutrophiles et des éosinophiles à partir des précurseurs médullaires et augmente la synthèse d'histamine par les cellules hématopoïétiques. De plus, il active les polynucléaires et les macrophages matures.

Le GM-CSF induit une cytotoxicité macrophagique contre les cellules tumorales et les parasites, augmente la phagocytose et induit la production d'IL-1 par les neutrophiles. Le récepteur du GM-CSF possède deux chaînes α et β . Cette dernière étant partagée avec l'IL-3 et l'IL-5.

2. **G-CSF (granulocyte colony stimulating factor)**

Bien qu'il n'existe qu'une copie du gène du G-CSF, l'existence de deux ARNm codant pour deux protéines G-CSF α et G-CSF β a été démontrée. Le G-CSF est produit par différents types cellulaires excepté les lymphocytes. Les monocytes et les macrophages le produisent après stimulation par des endotoxines, des esters de phorbols ou l'IFN γ .

Le G-CSF est essentiellement actif sur la différenciation des granulocytes et plus particulièrement des neutrophiles. D'autres activités biologiques du G-CSF sur les cellules hématopoïétiques, telles que son effet sur les précurseurs des érythrocytes et sur les cellules multipotentes ont été décrites.

3. **M-CSF (macrophage colony stimulating factor)**

Le M-CSF est une glycoprotéine composée de deux sous-unités identiques liées par des ponts disulfures, dont la glycosylation varie considérablement, expliquant l'étalement de leurs poids moléculaires apparents de 45 à 90 KDa. Il est produit par un très grand nombre de types cellulaires : monocytes, fibroblastes, cellules endothéliales, et cellules épithéliales. On en retrouve des quantités importantes dans le placenta et dans l'urine. Contrairement aux autres facteurs de croissance hématopoïétiques, il semble que la production de M-CSF par certains types cellulaires puisse être constitutive.

L'Interleukine 3 (IL-3)

a- **Structure** : C'est une glycoprotéine de 28 Kda, 134 résidus AA. Elle possède 4 sites de glycosylation expliquant l'existence de plusieurs types de molécules qui se différencient par leur PM et leur pHi. Le gène codant pour l'IL-3 est situé, chez l'homme, sur le chromosome 5.

b- **Récepteur de l'IL-3 (IL-3R)**

Il est constitué de deux chaînes : une chaîne α et une chaîne β . Ces deux chaînes appartiennent à la superfamille des récepteurs des hématopoïétines. La formation d'un complexe récepteur de haute affinité et la transduction du signal nécessite une interaction entre les sous-unité α et β .

c- Activités biologiques

C'est une cytokine produite par les lymphocytes T activés : TH1 et T cytotoxiques, mais aussi par les basophiles, les mastocytes stimulés.

- L'IL-3 joue un rôle très important dans la survie et la prolifération des cellules souches multipotentes
- Rôle dans la protection des lymphocytes T jeunes contre la toxicité de la progestérone
- Action sur la lignée mastocytaire en induisant la prolifération et la différenciation, surtout des mastocytes muqueux
- Induction de la synthèse de l'histamine par les précurseurs des mastocytes.
- Stimule la prolifération des cellules souches multipotentes (CFU-S)
- Participe à la différenciation précoce des lymphocytes B.

-L'Interleukine 7 (IL-7)

L'IL-7 est une cytokine produite par les cellules stromales de la MO et par les cellules du foie foetal. Le gène codant pour l'IL-7 se trouve sur le chromosome 8. L'IL-7 est un polypeptide de 20 à 28 Kda comportant 177 AA.

Récepteur de l'IL-7

Il est constitué de 2 sous-unités : Une sous-unité qui lie l'IL-7 : IL-7R et Une sous-unité γ qui est nécessaire pour la transduction du signal (qui ne lie pas l'IL-7)

Activités biologiques

- 14* Cytokine indispensable pour la lymphopoïèse, une des rares cytokines produites spontanément
- 15* Prolifération des cellules pro-B et pré-B
- 16* Prolifération des thymocytes (cellules $CD4^- / CD8^-$ du thymus)
- 17* Stimulation de la prolifération et de l'activité cytotoxique des cellules T matures $CD4^+$ ou $CD8^+$
- 18* Implication éventuelle dans la prolifération et la différenciation des cellules NK en synergie avec l'IL-2.

14. CYTOKINES ACTIVES SUR LES MACROPHAGES

- **Le M.I.F.** Facteur inhibant la migration des macrophages. Première cytokine mise en évidence
- **Le M.A.F.** Facteur activant les macrophages. Cytokine qui a des retentissements importants sur l'activité fonctionnelle des macrophages. Le MAF ne serait autre que l'IFN γ .
- **Le M.C.F.** Facteur induisant la migration des monocytes

15. LES AUTRES CYTOKINES

Le T.N.F. (Tumeur Necrosis Factor) Décrit à l'origine comme étant un facteur de nécrose tumorale, le TNF est une cytokine *pléiotropique* ayant un large spectre d'activités biologiques. On reconnaît deux types de TNF :

- **Le TNF α** ou cachectine, sécrété par le système des phagocytes mononucléés (de 17 Kda et 157 AA). Il existe sous-forme glycosylée pHi est 5,6
- **Le TNF β** ou lymphotoxine, sécrété par les LT, les lignées lymphoblastoïdes B en réponse à des stimuli antigéniques spécifiques ou à des stimuli mitogéniques (20-25 kD et 171 AA). Les gènes codant pour les TNF α et β sont étroitement liés sur le chromosome 6 entre les gènes du CMH et les gènes codant pour les composants du complément.

Deux récepteurs du TNF ont été clonés chez l'homme et la souris. Ils fixent le TNF α et β avec la même affinité. Le TNF-R1 (55 kD) et TNF-R2 (75 kD). Certaines cellules portent les 2 récepteurs (cellules endothéliales et cellules NK). Le récepteur du TNF appartient à la superfamille des récepteurs du TNF caractérisée par la présence de multiples cystéines dans leur domaine extracellulaire. L'IFN γ augmente l'expression du récepteur du TNF.

Activités biologiques :

1) **Activités anti-tumorales**

- a) nécrose semble être due à un effet indirect du TNF sur les cellules endothéliales. In- In-vivo le TNF est capable d'induire la nécrose de tumeurs transplantables. La vitro le TNF accroît leur activité procoagulante ainsi que leur adhérence aux neutrophiles, induisant ainsi la thrombose de la néovascularisation.
- b) In-vitro, le TNF possède des propriétés cytotoxiques et cytostatiques contre certaines lignées tumorales humaines et murines.
- c) Le TNF joue un rôle dans l'immunosurveillance anti-tumorale :
 - 19* En augmentant l'activité cytotoxique des cellules NK vis-à-vis de leurs cellules cibles tumorales,
 - 20* En induisant la formation des lymphocytes T cytotoxiques alloréactifs,

- 21* En synergie avec l'IL-2, il intervient dans la génération des lymphocytes CD8+ infiltrant des tumeurs ovariennes chez la femme.
- 22* Le TNF est le médiateur essentiel de la phase effectrice de la R.I.
- 23* Il augmente l'expression de la chaîne α (Ag Tac) du récepteur de l'IL-2 sur les lymphocytes T
- 24* Il exerce un effet différenciateur sur les lymphocytes B
- 25* Il stimule l'expression des Ag du CMH de classe I et II
- 26* Il stimule la production d'autres cytokines comme l'IL-1, l'IL-2 et l'IL-7.
- 27* Avec l'IFN γ , il favorise les interactions entre les cellules épithéliales thymiques et les thymocytes.

2) **Le TNF en physiopathologie :**

Son rôle bénéfique dans différentes pathogénèses est essentiellement dû à son implication dans les phénomènes inflammatoires. Ce puissant médiateur de l'inflammation, peut jouer un rôle pivot dans le choc septique du fait de sa surproduction.

3) **Activité antivirale et antiparasitaire :**

Le TNF est un agent antiviral et antiparasitaire. De ce fait il est capable d'inhiber la réplication de virus à ADN et à ARN et d'induire un état de résistance antivirale dans les cellules non infectées. Par ailleurs, l'infection virale peut conférer un état de sensibilité aux propriétés cytotoxiques du TNF in-vitro. Cette activité cytotoxique vis-à-vis des cellules infectées est renforcée par l'addition d'IFN γ .

L'activité antiparasitaire du TNF peut se manifester à différents niveaux et se traduire soit par une activation de l'activité cytotatique des neutrophiles dans le cas d'infection à *Candida albicans* ou d'une activité cytotoxique des éosinophiles dans le cas de schistosomiasis.

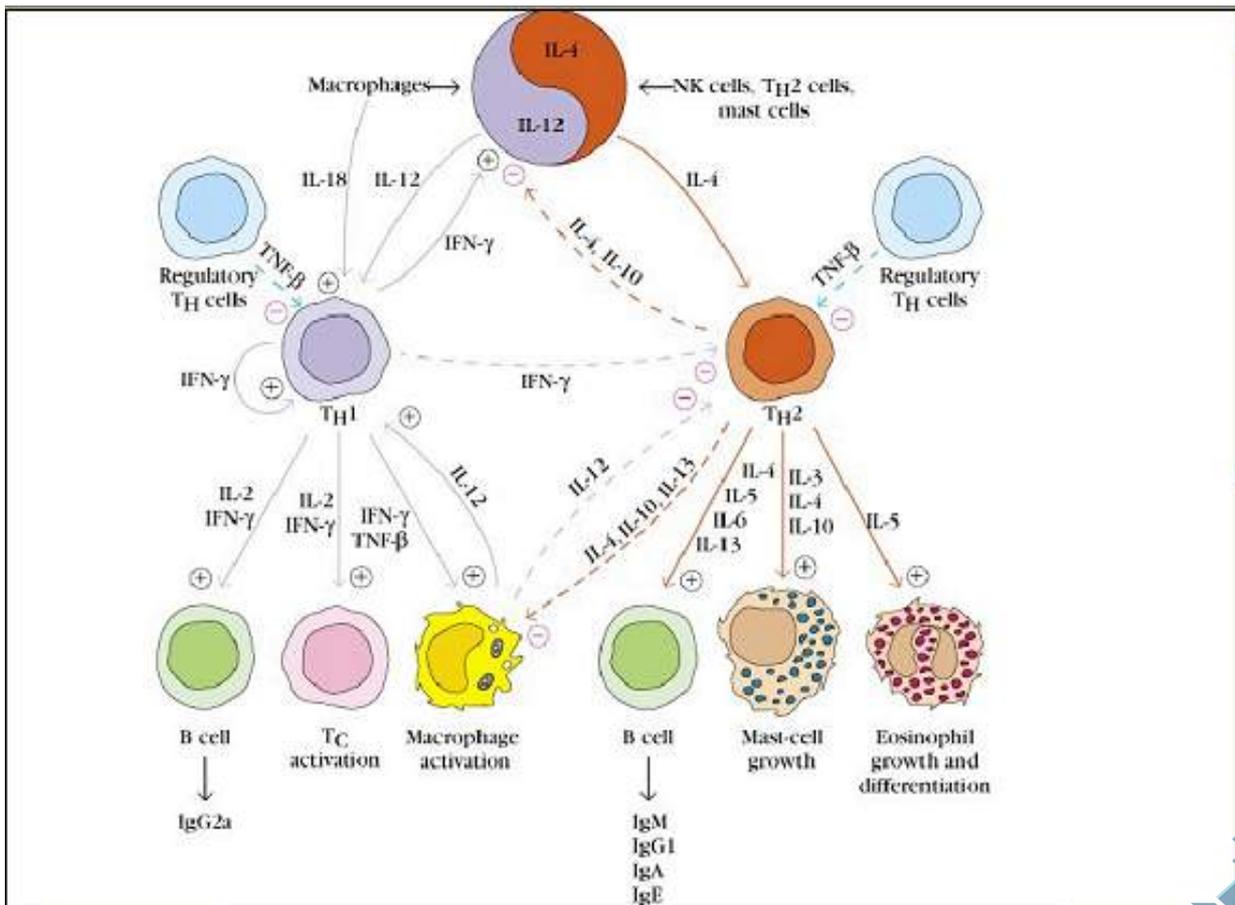
III. Régulation de la production des cytokines

Il existe d'importants mécanismes de régulation dans la production des cytokines et dans la sensibilité des cellules aux cytokines (expression inductible des récepteurs).

1) **Régulation par les cytokines elles mêmes.**

La production d'une cytokine donnée est transitoire (figure 5).

- Les cytokines agissent en synergie ou de manière antagoniste.
- Elles induisent ou inhibent la production d'autres cytokines.
- Dans la dichotomie Th1-Th2.



SAHILA MAHLA
Figure 5: Le réseau de cytokine et régulation

2 - Régulation par les récepteurs solubles des cytokines.

Les récepteurs solubles correspondent aux fragments extra-membranaires du récepteur. Ces récepteurs conservent la capacité de fixer leurs cytokines, les empêchant ainsi de se fixer sur leurs récepteurs membranaires. Ils inhibent donc l'action des cytokines.

D'autres fonctions peuvent être attribuées à ces récepteurs solubles :

- Ils peuvent servir de molécule de transport, permettant à la cytokine d'agir à distance et /ou de la protéger de la protéolyse, augmentant alors sa durée de vie
- Ils peuvent faciliter l'action d'une cytokine.

3- Les antagonistes compétitifs des récepteurs des cytokines

- l'IL1Ra bloque l'activité de l'IL1 en se fixant sur l'IL1R. L'IL1Ra est sécrétée par les mêmes cellules que l'IL1 mais de façon retardée, exerçant ainsi un rétrocontrôle négatif sur l'action de l'IL1.

- Ils s'opposent à la fixation de la cytokine sur son récepteur membranaire.

Les cytokines de l'hématopoïèse sont responsables de la prolifération et de la différenciation des cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse.

En effet elles contrôlent la différenciation des cellules sanguines c'est le cas de MC-CSF, GM-CSF, IL-1, IL-6.

-Dans l'inflammation :

Les principales cytokines impliquées dans la réaction inflammatoire sont : INF, TNF, IL-6 et IL-8. Ces cytokines exercent des effets pro-inflammatoires en stimulant l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules effectrices et en exerçant des effets chimiotactiques et co-activateurs sur ses cellules.

• **Dans la réponse immunitaire :**

Les cytokines interviennent à tous les niveaux de la réponse immunitaire : ontogenèse, activation, prolifération et différenciation des cellules immunes. Elles interviennent également dans : les phases effectrices de la réponse immunitaire, dans les phénomènes de la réparation tissulaire et l'apparition de fibrose.

• **Dans la présentation de l'antigène :**

Les cytokines interviennent au niveau de l'expression des molécules de CMH classe I et classe II. C'est le cas notamment de IFN γ qui augmente l'expression de ces molécules à la surface des macrophages. IL-4 et IL-10 augmentent l'expression des molécules de CMH classe II à la surface des lymphocytes B ce qui favorise la présentation de l'antigène par ce type cellulaire.

SAHLA MAHLA



Les cytokines en thérapie

IFN α : est utilisé dans le traitement de l'hépatite B et C,

IFN β : a été utilisé comme agent thérapeutique dans certaines leucémies et il est efficace dans le contrôle de la sclérose en plaque

IFN γ : a un effet antiparasitaire, utilisé dans le traitement de la leishmaniose viscérale et cutanée et la lèpre.

IL-2 : utilisé en association avec IFN α ou le cyclophosphamide lors du traitement du cancer du rein et du mélanome.

IL-4 : réduit la sévérité des maladies auto-immunes (diabète, thyroïdite). Il intervient aussi comme inhibiteur des cytokines pro-inflammatoires.

IL-10 : réduit le taux de TNF lors du choc septique, diminue la réplication du HIV in vitro, a une action anti-inflammatoire ce qui permet de l'utiliser dans la maladie de Crohn.

TGF β : utilisé dans la reconstitution tissulaire (cicatrisation) lors d'une brûlure ou de fracture

Mécanismes d'apoptose et auto-immunité

I/ Définition :

L'apoptose a été décrite par *Ker* en 1972, dont le terme dérive du grec, évoquant la chute des feuilles des arbres en automne. L'apoptose est une mort cellulaire programmée qui est la destinée finale de toute cellule lorsqu'elle a rempli ses fonctions pour laisser place à d'autres cellules, et qui a pour caractéristique majeure l'absence de réaction inflammatoire. L'apoptose est un processus physiologique qui intervient dans :

- Le développement des tissus.
- Au cours de l'embryogenèse.
- Le renouvellement et le maintien de l'homéostasie.
- Induction de phénomène de tolérance.

Tout dérèglement de l'apoptose induit la genèse de pathologies comme les maladies auto-immune, neuro-dégénératives et tumorales.

II/ Aspects cytologiques de l'apoptose :

Les cellules apoptotiques présentent une morphologie particulière caractérisée par :

- Condensation de la chromatine qui fait suite à la rupture de l'ADN des chromosomes en tronçon de 200 paires de bases correspondant à l'intervalle entre les nucléosomes par clivage inter-nucléosomique.
- Préservation des membranes cellulaires et les membranes des organites.
- Formation de corps apoptotiques : corpuscules entourés d'une membrane cytoplasmique contenant des éléments cytoplasmiques et nucléaires qui seront relargués et phagocytés par les macrophages voisinant sans aucune réaction inflammatoire.

Par opposition à l'apoptose, la nécrose est une mort cellulaire désordonnée entraînant des dommages avec perte de l'intégrité des membranes cytoplasmiques, nucléaires et celles des organites, le contenu cytoplasmique et les enzymes lysosomiaux sont libérés dans le milieu environnant ce qui est à l'origine d'une agression tissulaire et d'une réponse inflammatoire.

III/ Les voies d'activation de l'apoptose

Au cours de la phase de signalisation, la cellule reçoit un ensemble de signaux qui peuvent générer différentes réponses. Ces signaux sont alors intégrés par la cellule qui va répondre en fonction de son contexte génétique et de son environnement.

Le processus décisionnel est influencé par une série de médiateurs intracellulaires, la phase de dégradation aboutit aux manifestations visibles de l'apoptose, dont la condensation et la dégradation de la chromatine.

Il existe plusieurs voies d'apoptose, Voie intrinsèque et la voie extrinsèque.

III-1 Voie intrinsèque :

Cette voie est encore appelée voie du stress, activée en réponse à des signaux intracellulaires tels que des dommages d'ADN, hypoxie, privation en facteurs sériques et en cytokines, l'irradiation et les stimulations oncogéniques. Ces signaux activent l'AKT qui déphosphorylent les protéines cytoplasmiques pro-apoptotiques membres de la famille Bcl2 (Figure 1).

a- Les protéines de la famille Bcl2 :

Ces protéines régulent des voies de signalisation de mort cellulaire. Cette famille comprend les protéines **pro-apoptotiques** et **anti-apoptotiques**. L'alignement de leurs séquences protéiques a permis de définir 4 régions de haute conservation appelées domaines BH (Bcl2-homologie) 1 à 4. Certaines molécules pro-apoptotiques contiennent les domaines BH1, 2,3, d'autres ne contiennent qu'un seul domaine BH3 (Bid, Bim, Bad), Le domaine **BH4** est spécifique des protéines anti-apoptotiques.

- Les molécules anti-apoptotiques siègent au niveau mitochondrial alors que les protéines pro-apoptotiques possèdent une localisation cytoplasmique, à la suite d'un signal apoptotique, les protéines interagissent entre elles formant des homo ou des hétéro dimères.

- Le niveau relatif de chaque type de protéine dans la cellule déterminera sa sensibilité ou pas à un signal de mort, les protéines **Bcl2** et **Bax**, ont des fonctions antagonistes, se lient et se neutralisent, l'excès de Bcl2 détermine la survie, l'excès de Bax détermine la mort.

- Les protéines pro-apoptotiques s'insèrent au niveau de la membrane mitochondriale et induisent sa perméabilisation, cette capacité d'insertion est liée à leur similitude de structure avec certaines toxines bactériennes leur permettant de former des canaux /pores induisant ainsi la libération de protéines pro-apoptotiques mitochondriales (cytochrome c, smac diablo) et du calcium.

- Le cytochrome C est une protéine mitochondriale qui agit comme intermédiaire dans le transport des électrons, se fixe au facteur Apaf-1 (apoptosis protéine activating factor) formant un complexe « l'apoptosome » qui recrute la procaspase 9, qui a été libérée de son inhibiteur IAPS (inhibiteurs des protéines apoptotiques) grâce à smac diablo.

- L'apoptosome ainsi formé active la procaspase 9 en caspase 9, qui déclenche la cascade des caspases dont la caspase 3 qui coupe certaines protéines essentielles à la survie.

b-Famille des caspases et mécanisme d'activation :

Les caspases jouent un rôle dans l'apoptose et l'inflammation. Dans l'apoptose, les caspases sont responsables des coupures protéolytiques au niveau des résidus **aspartate** (Asp), aboutissant à la destruction de protéines impliquées soit dans l'organisation structurale, soit dans le métabolisme de la cellule.

- L'ensemble des membres de cette famille d'endoprotéases possède un site catalytique comprenant un résidu cystéine.

- Ces protéases à cystéine sont synthétisées sous forme de zymogènes appelées procaspases dont l'activité est en général nulle. Ces enzymes sont présentes dans le cytoplasme sous une forme inactive, leur protéolyse (par d'autres caspases ou auto-catalytique) provoque la dimérisation des formes zymogènes conduisant à leur clivage. Un premier clivage libère une première sous unité, tandis qu'un second clivage engendrera une sous unité de taille plus importante portant le site catalytique.

L'enzyme active ainsi formée est composée de deux hétérodimères composés chacun de l'association des deux sous unités.

- Les procaspases à long pro-domaine dites caspases d'amont ou initiatrices : contiennent des motifs d'interactions tels que les domaines DED (death effector domain) pour les caspases 8 et 10 ou CARD (caspase recruitment Domain) pour les caspases 1, 2, 4 et 9 par l'intermédiaire desquels, elles sont recrutées au niveau de complexe de signalisation puis auto-activées.

- Les caspases 3, 6, 7, 14 possèdent quant à elles un pro-domaine plus court, sont dites caspases d'aval ou effectrices. Elles sont activées par d'autres caspases aboutissant à un fonctionnement dit en cascades. Leur activation conduit au clivage de diverses protéines substrats à l'origine de la plupart des événements biochimiques, structuraux ou morphologiques de l'apoptose (Figure 2).

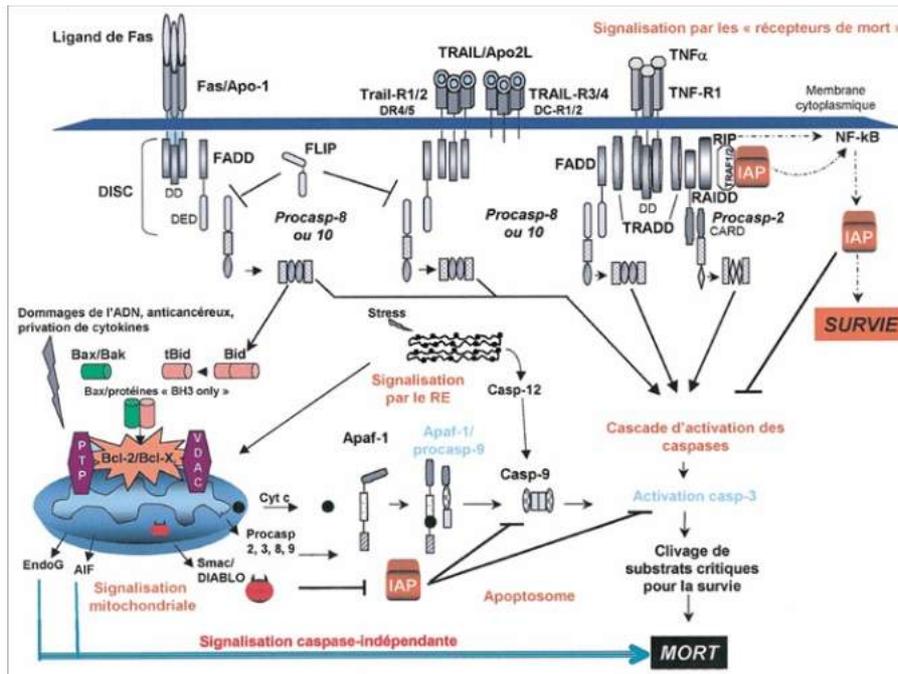
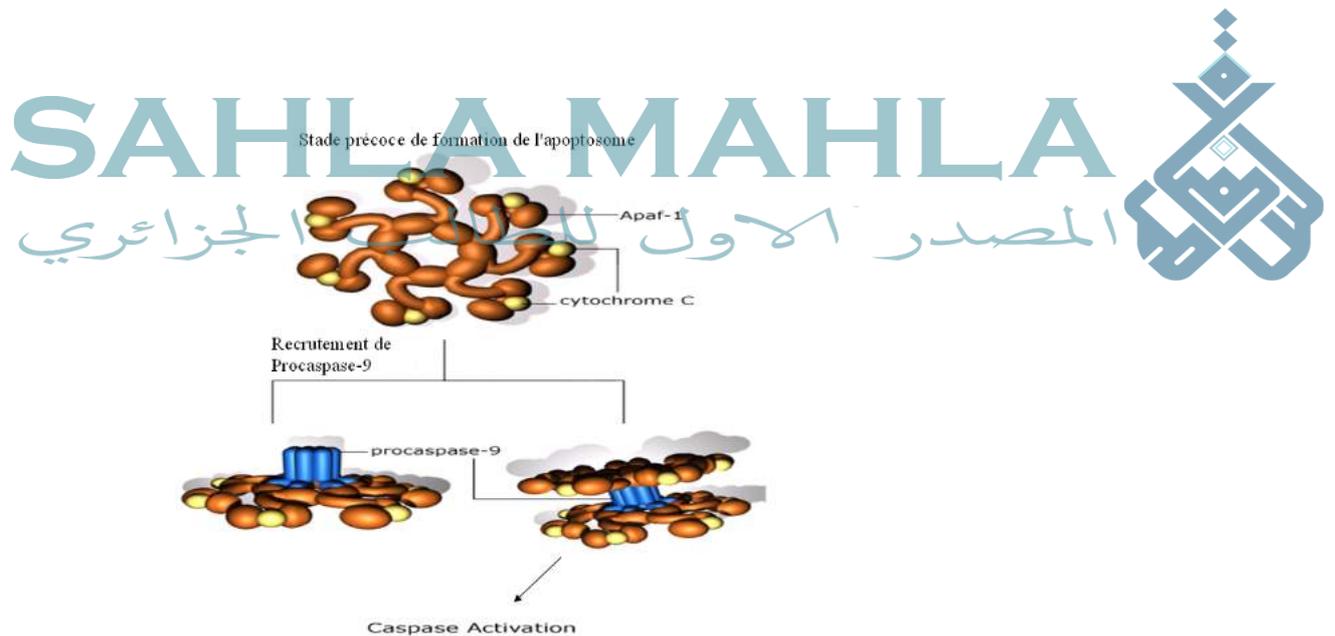


Figure 1: Voies extrinsèque (récepteurs de mort cellulaire) et intrinsèque (mitochondriale) d'induction de l'apoptose



Activation des caspases

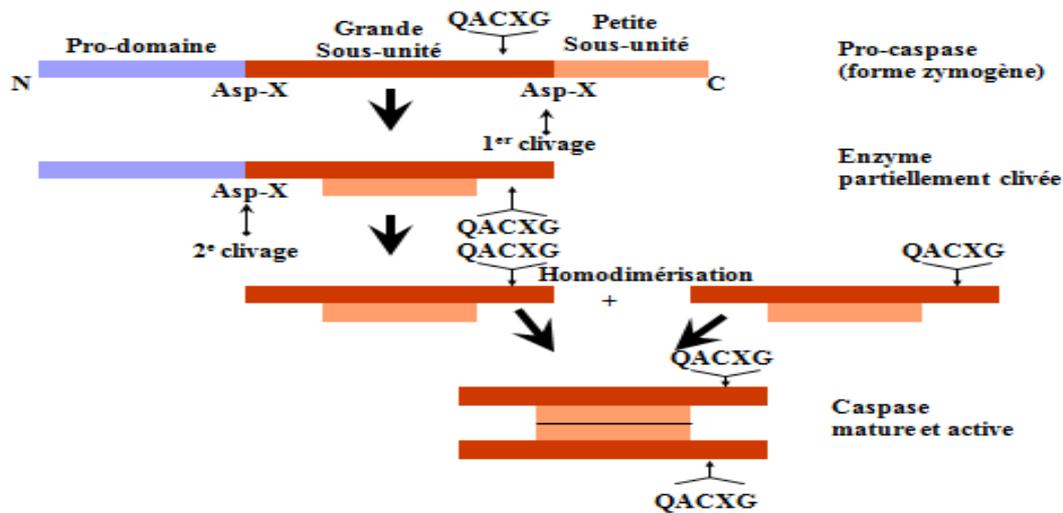


Figure 2 : Activation des Caspases

III-2 Voie extrinsèque: engagement des récepteurs de mort

Les récepteurs de mort et leurs ligands sont des protéines transmembranaires appartenant à la superfamille des TNFR. Ils induisent l'apoptose suite à leur activation par des ligands spécifiques. L'apoptose est déclenchée par des signaux provenant de l'environnement de la cellule.

- Transduction du signal par les récepteurs de mort : cas du CD 95 /Fas :

Les récepteurs de mort ont la particularité de posséder dans leur partie intracellulaire une région conservée appelée domaine de mort (DD death domain), un motif protéique d'environ 80 AA nécessaire à la transmission du signal de mort par ces récepteurs.

Le Fas est exprimé de façon ubiquitaire, il est plus important au niveau du thymus et des ganglions, contrairement au Fas L dont l'expression est induite après l'activation cellulaire.

La liaison de l'homotrimer Fas-L à son récepteur Fas entraîne son oligomérisation et permet le recrutement de FADD protéine cytoplasmique ubiquitaire contenant un domaine de mort, dans sa partie N terminale un autre domaine appelé domaine effecteur de mort (DED), grâce auquel FADD attire à son tour la pro-caspase 8 (la forme zymogène de la caspase 8). Le complexe multiprotéique formé à la membrane par le complexe Fas, FADD et la caspase 8, suite à la multimérisation du récepteur Fas par son ligand est appelé DISC (death inducing signaling complex). Le rapprochement des procaspases 8 dans le DISC permet leur clivage réciproque et la libération des formes actives de la caspase 8 dans le cytosol, qui vont à leur tour

cliver un certain nombre de caspases effectrices telles que les caspases 3, 6, 7, dont l'aboutissement est le même que celui de la voie interne.

- Régulation du DISC :

FLIP (FADD like inhibitory proteine) sont des isomorphes de la caspase 8, mais ne possèdent pas de site actif, ils fonctionnent comme FADD mais inhibent l'activité du DISC (Figure 3).

- Lien étroit entre la voie du récepteur et la voie mitochondriale :

En réponse à l'activation des Rc de mort, la protéine Bid (protéine pro apoptotique) est clivée par la caspase 8 et la forme tronquée de Bid peut être ainsi transloquée dans la mitochondrie pour interagir avec d'autres membres de la famille Bcl2.

Transduction du signal de mort par DR

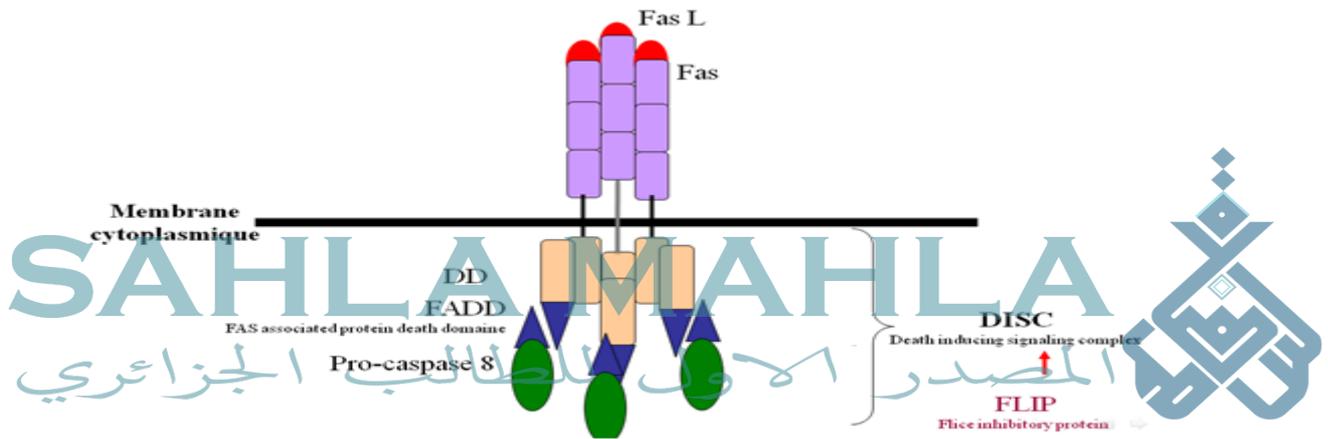


Figure 3 : Transduction du signal de mort cellulaire

IV- Devenir des cellules apoptotiques :

- La reconnaissance précoce des cellules apoptotiques par les cellules phagocytaires voisines est facilitée par le changement membranaire et l'asymétrie des phospholipides transloqués au feuillet externe, lesquels sont normalement confinés au feuillet interne. Ceci est le résultat de l'inhibition d'une enzyme « Amino phospholipide scramblase » par l'hypercalcémie induite par le processus apoptotique. Ces phospholipides sont directement reconnus par les Rc scavenger sur les macrophages. Ceci constitue le principal signal d'élimination des corps apoptotiques.

- les modifications au niveau des molécules de surface déjà existantes par oxydation (probablement par les enzymes activées par les caspases), ainsi que des altérations des chaînes polysaccharidiques.

- Ces changements membranaires permettent une interaction directe avec les Rc des macrophages ou la liaison des opsonines servant de lien entre les cellules apoptotiques et les macrophages, les principaux opsonines impliquées sont : C1q, MBL, MFGE8.

VI- Suppression de la réponse inflammatoire :

La caractéristique majeure de l'apoptose est l'absence de réponse inflammatoire, ceci est dû à l'augmentation de l'IL10 et le TGF β , dont la sécrétion par les macrophages est induite par la liaison des phospholipides externalisés avec leurs récepteurs. Une hypothèse suppose qu'il existe une libération de l'IL10 et du TGF β par les cellules apoptotiques elles mêmes, amplifiant ainsi la suppression de la réponse inflammatoire (Figure 5).

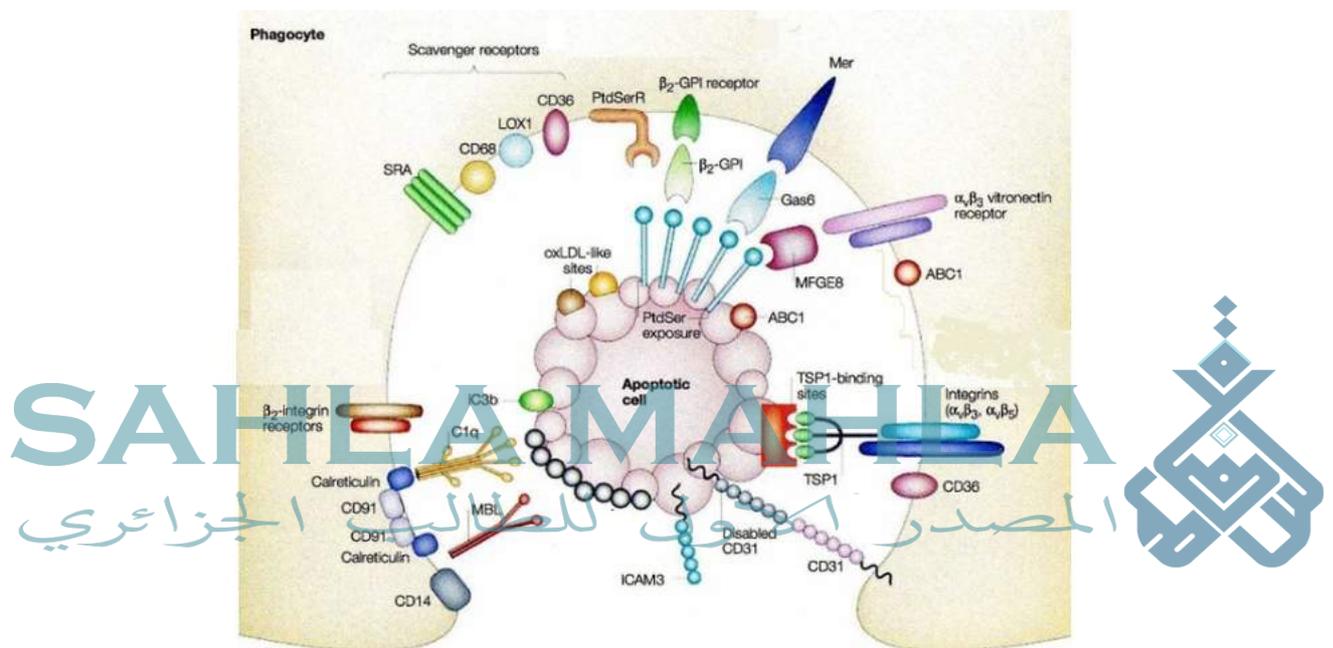


Figure 5 : mécanisme de phagocytose du corps apoptotiques

Apoptose et Auto-immunité :

- L'apoptose joue un rôle important dans la régulation du système immunitaire et le maintien de l'homéostasie de ses cellules. Impliquée dans l'élimination des clones auto-réactifs au niveau central et périphérique, et donc toute anomalie de l'apoptose causera une rupture de la tolérance et la genèse de pathologies auto-immunes.

1/Apoptose et tolérance centrale :

- Au niveau thymique les thymocytes subissent une sélection négative pour éliminer les cellules auto-réactives par un processus apoptotique, on parle d'une délétion clonale par la mort cellulaire induite par activation (AICD). La molécule Bim est un médiateur critique de la sélection négative, mais sans l'implication des protéines de l'apoptosome.

2/Apoptose et tolérance périphérique :

Parce que tous les Ag du soi ne sont pas présents au niveau thymique, certains LT échappent à la sélection négative intacte, mais seront éliminés par l'un des mécanismes de la tolérance périphérique dont la délétion clonale par l'AICD.

- L'IL2 est un facteur de croissance et de différenciation des lymphocytes, mais constitue un facteur de rétrocontrôle, car si la stimulation antigénique persiste (cas des auto-Ag) ou dans les cas où les concentrations en IL2 sont élevées, cette cytokine potentialisera l'AICD.

- Dans l'AICD c'est l'engagement du récepteur de mort Fas qui déclenche la machinerie apoptotique, l'observation de réponses vaccinales et anti-infectieuses normales, et parallèlement de manifestations auto-immunes chez des sujets avec anomalies de la voie Fas/FasL, suppose que cette voie est essentielle pour réguler les proliférations induites par des Ag du soi.

- En effet, le programme de mort apoptotique est déclenché au moment même où la cellule est activée. Un modèle hypothétique a été conçu se basant sur plusieurs expériences ayant prouvé le rôle de l'IL2 dans l'induction de l'expression de FasL, et dans l'activation de la transcription des autres constituants de la voie Fas /FasL.

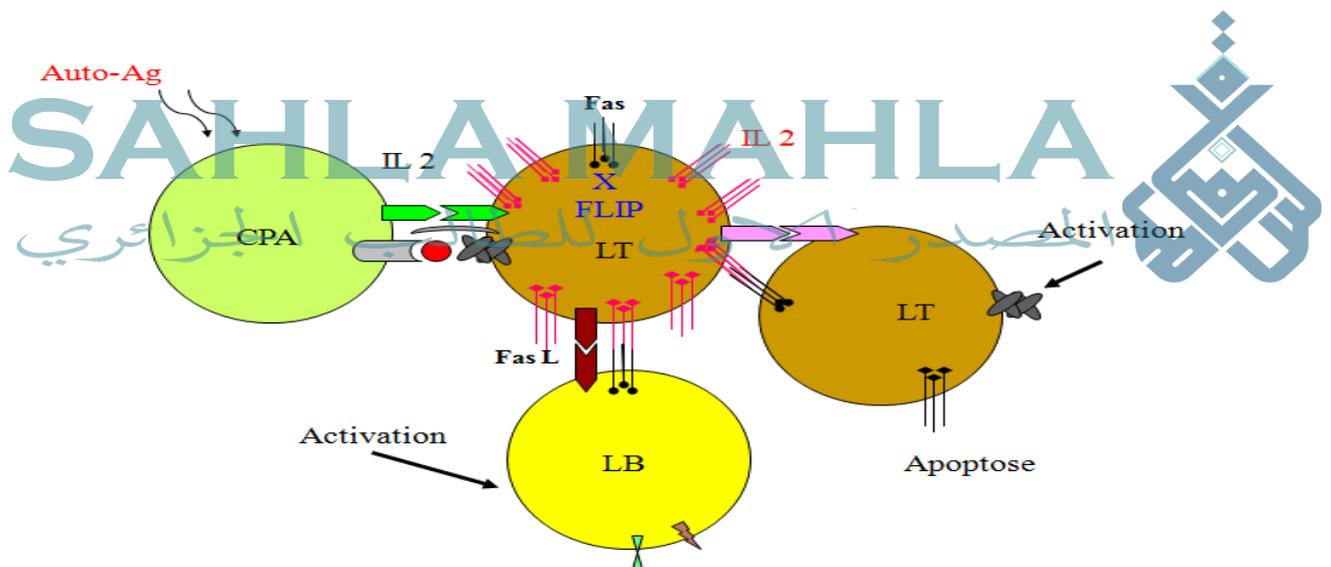


Figure 6 : Rôle de L'IL-2 dans l'activation de la voie apoptotique Fas/FasL

VIII/ Exemples de pathologies auto-immunes par défaut d'apoptose :

1/ Syndrome lympho-prolifératif auto-immun (ALPS) :

Appelé également Canal and Smith syndrome, il s'agit d'un syndrome tumoral bénin d'apparition précoce généralement avant 5 ans, son incidence n'est pas encore estimée et le diagnostic est souvent tardif par ignorance. L'étiopathogénie de ce syndrome est liée à une anomalie dans la transduction du signal par la voie Fas /FasL,

ou des caspases 8 ou 10. ce qui explique le polymorphisme génétique retrouvé, et qui est à l'origine de la classification ALPS.

Les LT recevant deux signaux d'activation (via le TCR et les molécules de co-stimulation, sont insensibles à l'apoptose induite par Fas, lorsque la stimulation persiste ou les concentrations en IL2 sont élevées, la voie Fas est active, le FasL est exprimé et entraîne l'élimination des LT ou B exprimant Fas. dans un contexte de déficience en Fas, le LT qui attend un signal d'apoptose module son récepteur CD4 /CD8 après extinction génique et devient double négatif. Les LT activés stimulent la différenciation des LB en plasmocytes, entraînant la sécrétion d'une grande quantité d'Ac dans le sérum l'hypergammaglobulinémie à IgG ou IgA.

Les cellules entamant le processus apoptotique, sont rapidement prises en charge par les phagocytes avoisinants, ou le C1q joue un rôle important dans leur opsonisation, pour faciliter leur élimination précoce.

- Les cellules apoptotiques ne peuvent garder l'intégrité de leur membrane cytoplasmique que pour un temps très limité. Dans le cas d'un déficit en opsonines, surtout le C1q, la cellule apoptotique ne sera pas phagocytée et passera à un stade de nécrose secondaire caractérisé par la rupture de la membrane cytoplasmique et la libération des constituants intracellulaire.

- A cause d'une clearance défectueuse de ces éléments intracellulaires, une réponse inflammatoire s'installe, avec une génération de pathologies auto-immunes dont les cibles antigéniques sont ceux libérés par les cellules non éliminées.

- L'importance des propriétés immuno-modulatrices des cellules apoptotiques permet de les utiliser dans plusieurs stratégies thérapeutiques, notamment dans le domaine de la transplantation, ou ils peuvent constituer un produit de thérapie cellulaire substituant les produits sanguins, et même dans le domaine de l'auto-immunité ou l'apoptose tient une place importante dans la physiopathologie.