

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de L'enseignement Supérieur et de la**  
**Recherche Scientifique**

**Université Akli Mohand Oulhadj-Bouira-**  
**Faculté des sciences de la nature et de la vie**  
**Département des sciences biologiques**

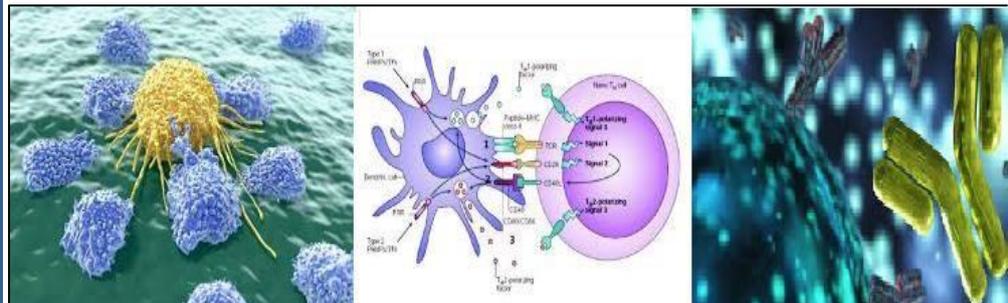
**Polycopié de cours**

# **Immunologie générale**

**Adressé aux étudiants du socle commun de 2<sup>ème</sup> année (L2)**  
**filières sciences biologiques et Biotechnologies**

**Réalisé par**

**Dr. Razika BOUTELDJA**



**2020-2021**

## **Préface**

Ce polycopié de cours d'immunologie générale présente les aspects fondamentaux et pratiques de l'immunologie et intègre les connaissances actuelles qui émergent dans ce domaine. Il présente le fonctionnement du système immunitaire, les différents acteurs de ce système qui contribuent aux réponses immunitaires, les mécanismes de l'immunité innée et adaptative ainsi que les interactions interrelationnelles et les molécules qui orchestrent les réactions immunitaires notamment les cytokines puis les dysfonctionnements du système immunitaire et leur répercussions fonctionnelles sur l'organisme et enfin les tests utilisés dans l'exploration du système immunitaire. L'objectif de ce polycopié est de guider les étudiants dans la compréhension des mécanismes de la réponse immunitaire et ses dysfonctionnements.

Il est organisé en huit chapitres, le premier chapitre décrit le rôle de l'immunité et présente les différents systèmes de l'immunité ainsi que son rapport avec la vie quotidienne puis nous relatons les grandes découvertes dans le domaine de l'immunologie. Le 2<sup>ème</sup> chapitre concerne l'ontogénèse du système immunitaire, il décrit l'organisation de ce système au niveau des organes et des tissus lymphoïdes puis la lymphopoïèse et l'éducation des cellules B et T et enfin la myélopoïèse. Le 3<sup>ème</sup> chapitre traite le complexe d'histocompatibilité majeur (CMH). Les chapitre 4, 5, et 6 décrivent la réponse immunitaire innée et adaptative, les cellules intervenantes, les molécules ainsi que les mécanismes de réponse au cours de la réaction inflammatoire et les deux types de réponse adaptative, la réponse humorale et cellulaire et la coopération entre les différents types de cellules. Le 7<sup>ème</sup> chapitre est consacré au dysfonctionnement immunitaire et enfin le dernier chapitre décrit les différents tests utilisés en immunologie notamment l'agglutination, l'immuno-précipitation, l'immunoélectrophorèse, l'immunofluorescence et les techniques Elisa).

**Dr. BOUTELDJA R.**

## **Remerciements**

Nous voudrions exprimer nos remerciements aux experts pour leurs commentaires et suggestions qui contribueront grandement à une meilleure qualité de ce polycopié.

Nous devons une reconnaissance particulière au Pr. Clive Gray fondateur du site [www.immuopaedia.org](http://www.immuopaedia.org) (2005-2020) qui nous a permis de participer et d'accéder aux données actuelles dans le domaine de l'immunologie aussi bien sur le plan fondamentale que clinique.

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

### CHAPITRE I: Introduction à l'immunologie

#### I.1. Rôle de l'immunité ..... 1

I.1.1. Introduction..... 1

I.1.2. fonctions du système immunitaire..... 1

I.1.3. Organisation générale du système immunitaire..... 1

I.1.3.1. L'anté immunité ..... 2

I.1.3.2. L'immunité innée ..... 5

I.1.3.3. L'immunité adaptative ..... 5

I.1.4. Interaction entre l'immunité innée et adaptative .....6

#### I.2. Rapport avec la vie quotidienne et grande découverte .....6

I.2.1. Rapport de l'immunité avec la vie quotidienne ..... 6

I.2.2. Grande découverte.....8

### CHAPITRE II: Ontogénèse du système immunitaire

#### II.1. Cellules B et organes lymphoïdes .....10

II.1.1. Les organes et tissus lymphoïdes .....10

II.1.1. Les organes lymphoïdes primaires..... 10

II.1.1.1. La moelle osseuse ..... 11

II.1.1.2. Le thymus... ..... 11

II.1.2. Les organes secondaires... ..... 13

II.1.2.1. La rate... ..... 13

II.1.2.2. Les ganglions lymphatiques... ..... 15

II.1.2.3. Formations lymphoïdes associées aux muqueuses... ..... 16

#### II.2. Les cellules B..... 17

II.2.1. 1. Introduction... ..... 17

II.2.1.3. Fonctions du lymphocyte B..... 18

II.2.1.4. Le complexe BCR..... 18

II.2.1.5. Autres molécules... ..... 18

II.2.1.6. Les sous -types de cellules B..... 19

#### II.2. Cellules T.....20

II.2.1. Rôles des lymphocytes T ..... 20

II.2.2. Le T cell receptor (TCR) .....	21
II.2.3. Les sous-types de lymphocytes T... ..	22
II.2.4. Activation des cellules T... ..	23
<b>II.3. Education des cellules B à l'intérieur de la moelle .....</b>	<b>24</b>
II.3.1. L'hématopoïèse .....	24
II.3.2. L'ontogenèse des lymphocytes B .....	25
II.3.3. Education du lymphocyte B... ..	27
II.3.4. Le répertoire de lymphocytes B .....	28
<b>II.4. Education des cellules T à l'intérieur du thymus .....</b>	<b>28</b>
II.4.1. Stades de différenciation des lymphocytes T .....	80
II.4.2. Les étapes de la sélection thymique .....	80
II.4.3. La migration des lymphocytes T matures naïfs hors du thymus .....	38
<b>II.5. Autres cellules (Cellules myéloïdes) .....</b>	<b>34</b>
II.5.1. Les granulocytes.....	34
II.5.2. Les monocytes.....	35
II.5.3. Les Cellules dendritiques.....	35
<b>CHAPITRE III: Le complexe d'histocompatibilité majeur (CMH)</b>	
III.1. Introduction .....	36
III.2. Définition.....	36
III.3. Les régions du CMH.....	36
III.4. Caractéristiques du CMH .....	36
III.5. Distribution des molécules du CMH .....	37
III.6. Structure des molécules du CMH .....	38
III.7. Les fonctions des molécules du CMH.....	40
III.8. L'apprêtement (ou <i>processing</i> ) des antigènes .....	41
III.9. Les molécules CD1 .....	44
<b>CHAPITRE IV: La réponse immunitaire non spécifique</b>	
<b>IV.1. Cellules intervenantes dans l'immunité innée.....</b>	<b>45</b>
IV.1.1. IV.1.1. Introduction .....	45
IV.1.2. Caractéristiques de l'immunité innée .....	45
IV.1.3. Les différents types de cellules intervenantes dans l'immunité innée .....	45
IV.1.3.1. Les phagocytes .....	46
IV.1.3.2. Les granulocytes.....	48
IV.1.3.3. Les cellules lymphoïdes.....	50

IV.1.1.3.4. Les cellules résidentes.....	52
IV.1.4. Les récepteurs cellulaires des microbes (Pathogen Recognition Receptors PRRs).....	52
IV.1.4. 1. Les motifs pathogéniques... ..	53
IV.1.4.3. 1. Localisation des PRRs .....	54
IV.1.4.3.2. Les différents types de PRRs.....	54
IV.1.4.4. Les conséquences fonctionnelles de l'activation des PRRS .....	55
IV.1.5. Rôle des cellules dans la réaction inflammatoire .....	55
IV.1.5. 2. Les médiateurs de l'inflammation.....	57
IV.1.5.3. La migration des neutrophiles (la diapédèse)... ..	61
IV.1.6. Les mécanismes effecteurs de l'immunité innée.....	63
<b>IV.2. Le complément.....</b>	<b>65</b>
IV.2.1. Introduction.....	65
IV.2.2. Définition.....	65
IV.2.3. Les voies d'activation du complément.....	66
IV.2.4. Le complexe d'attaque membranaire (CAM).....	68
IV.2.5. Les fonctions du système du complément .....	69
IV.2.6. Régulation de l'activation du complément.....	70
<b>CHAPITRE V: La réponse immunitaire spécifique</b>	
<b>V.1. La réponse immunitaire cellulaire .....</b>	<b>74</b>
V.1.1. Introduction.....	74
V.1.2. Caractéristiques des réponses immunitaires adaptatives .....	75
V.1.3. Phases des réponses immunitaires adaptatives .....	75
V.1. 4. Les étapes de la réponse immunitaire cellulaire .....	76
<b>V.2. La réponse immunitaire humorale.....</b>	<b>78</b>
V.2.1. Les différents types d'immunité humorale.....	78
V.2.2.2. Rôle des protéines du complément dans l'activation des lymphocytes B... ..	82
V.2.2.3. Fonction du centre germinatif.....	82
V.2.2.4. Conséquences de l'activation des cellules B.....	83
V.2.2.5. Les fonctions effectrices des immunoglobulines.....	84
<b>CHAPITRE VI: Coopération cellulaire et humorale</b>	
<b>VI.1. Coopération entre les différentes cellules .....</b>	<b>85</b>
VI.1.1. Coopération cellulaire .....	85
VI.1.2. Coopération humorale.....	87

<b>VI.2. Cytokines .....</b>	<b>88</b>
VI.2.1. Historique.....	88
VI.2.2. Source de production.....	88
VI.2.3. Classification des cytokines selon la fonction.....	88
VI.2.4. Action des cytokines .....	89
VI.2.5. La synthèse des cytokines.....	90
VI.2.6. Les cytokines et la réponse immunitaire innée.....	90
VI.2.7. Rôle des cytokines dans l'immunité adaptative.....	90
VI.2.8. Polarisation et fonctions des lymphocytes T CD4 + .....	92
 <b>CHAPITRE VII: Dysfonctionnement du systeme immunitaire</b>	
VII.1. Introduction... ..	94
VII.2. Les differents types de dysfoctionnements immunitaires.....	94
VII.2.1. Les déficits immunitaires... ..	94
VII.2.1.A. Les déficits immunitaires génétiques.....	94
VII.2.1.B. Déficits immunitaires acquis... ..	94
VII.2.2. Dysfonctionnement associé à un excès de la réponse immune... ..	94
VII.2.2.1. Les maladies auto-inflammatoires... ..	94
VII.2.2.2.1. Types de maladies autoimmunes .....	95
VII.2.3. Réactions d'hypersensibilité... ..	98
 <b>CHAPITRE VIII: Les principaux tests en immunologie</b>	
VIII.1. Agglutination.....	105
VIII.2. Immuno-précipitation .....	109
VIII.3. Immunoélectrophorèse .....	114
VIII.4. Immunofluorescence.....	115
VIII.5. Techniques Elisa .....	117
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>120</b>

## Liste des Abbreviations

<b>CD</b>	<i>Cluster differentiation</i>
<b>FOXP3</b>	<i>forkhead box P3</i>
<b>HSP70</b>	<i>heat shock protein</i>
<b>IL-</b>	<i>Interleukine</i>
<b>ILC</b>	<i>Innate lymphoid cells</i>
<b>LFA-1</b>	<i>Leukocyte function associated antigen</i>
<b>MCP1</b>	<i>Membrane cofactor protein</i>
<b>MIC</b>	<i>macrophage inhibitory cytokine</i>
<b>MIP-</b>	<i>Macrophage Inflammatory Proteins</i>
<b>NK</b>	<i>Natural killer</i>
<b>PRRs</b>	<i>Pattern recognition receptors</i>
<b>RANTES</b>	<i>regulated on activation, normal T cell expressed and secreted</i>
<b>SDF-1</b>	<i>Stromal cell-derived factor-1</i>
<b>TAP1</b>	<i>Transporter associated with Antigen Processing</i>
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	<i>Transforming growth factor</i>
<b>VIH</b>	<i>Virus de l'immunodéficience humaine</i>

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Organisation générale du système immunitaire ses effecteurs cellulaires et moléculaires.....	2
<b>Figure 2:</b> Le rôle du microbiote dans l'immunité .....	4
<b>Figure 3:</b> l'expérience d'Edward Jenner (1796).....	8
<b>Figure 4:</b> Distribution des organes et des tissus lymphoïdes.....	10
<b>Figure 5:</b> Localisation de la moelle osseuse au niveau de l'os.....	11
<b>Figure 6:</b> coupe histologique d'un lobule thymique .....	12
<b>Figure 7:</b> La composition cellulaire du lobule en cellules lymphoïdes et non lymphoïdes...	12
<b>Figure 8:</b> Anatomie de la rate... ..	14
<b>Figure 9:</b> les zones T et B au niveau de la rate... ..	14
<b>Figure 10:</b> Coupe longitudinale d'un ganglion lymphatique... ..	15
<b>Figure 11:</b> Organisation du Tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) .....	17
<b>Figure 12:</b> les marqueurs de surface du lymphocyte B.....	19
<b>Figure 13 :</b> Structure du récepteur du lymphocyte T (TCR).....	21
<b>Figure 14:</b> Le complexe TCR .....	21
<b>Figure 15:</b> Ontogénie du système immunitaire montrant la différenciation des cellules progénitrices en cellules lymphopoïétiques et immunocompétentes.....	24
<b>Figure 16:</b> Schéma général de l'ontogénèse des lymphocytes .....	25
<b>Figure 17:</b> les stades de maturation des lymphocytes B... ..	26
<b>Figure 18:</b> La sélection thymique.....	29
<b>Figure 19:</b> Étapes de sélection des lymphocytes T restreints par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) .....	31
<b>Figure 20:</b> La circulation des lymphocytes... ..	33
<b>Figure 21:</b> Développement des granulocytes et des monocytes.....	35
<b>Figure 22:</b> La maturation des monocytes... ..	35
<b>Figure 23:</b> Gènes du locus du CMH... ..	37
<b>Figure 24:</b> Structure des molécules du CMH de classe I.....	39
<b>Figure 25:</b> Structure des molécules du CMH de classe II .....	39
<b>Figure 26:</b> la présentation des peptides antigéniques restreinte au CMH.....	41
<b>Figure 27:</b> L'apprêtement des peptides endogènes.....	42
<b>Figure 28:</b> L'apprêtement des peptides exogènes.....	43
<b>Figure 29:</b> cellules dendritiques .....	47

<b>Figure 30:</b> morphologie du neutrophile observée au microscope optique X1500...	48
<b>Figure 31:</b> morphologie d'un éosinophile observé dans un frottis sanguin montrant un noyau bilobé (x1000) .....	49
<b>Figure 32:</b> morphologie d'un basophile observé dans un frottis sanguin montrant ses granulations (x1000) .....	49
<b>Figure 33:</b> Morphologie des mastocytes... ..	50
<b>Figure 34:</b> Récepteurs activateurs et inhibiteurs des cellules NK.....	51
<b>Figure 35:</b> Les différents types de récepteurs exprimés par les macrophages.....	53
<b>Figure 36:</b> les cellules et les médiateurs impliqués dans le processus inflammatoire .....	57
<b>Figure 37:</b> Actions respectives des cyclooxygénases 1 et 2... ..	60
<b>Figure 38:</b> Les étapes de la migration des leucocytes du sang vers le foyer infectieux .....	63
<b>Figure 39:</b> Phagocytose et destruction intracellulaire des microbes... ..	64
<b>Figure 40:</b> Structure de C1... ..	67
<b>Figures 41:</b> Les voies d'activation du complément... ..	68
<b>Figure 42:</b> Etapes finales de l'activation du complément et formation des CAM... ..	69
<b>Figure 43:</b> Les fonctions du complément... ..	70
<b>Figure 44:</b> inhibition de l'activation de la voie classique par le C1inh... ..	72
<b>Figure 45:</b> rôle des protéines DAF et CR1 sur la formation de la C3 convertase de la voie alternative .....	73
<b>Figure 46:</b> Types d'immunité adaptative... ..	75
<b>Figure 47:</b> Phases des réponses immunitaires adaptatives... ..	76
<b>Figure 48:</b> Différents mécanismes de cytotoxicité des LT CD8+ .....	78
<b>Figure 49:</b> Processus d'activation des lymphocytes B.....	81
<b>Figure 50:</b> Phases des réponses immunitaires hum orales... ..	82
<b>Figure 51:</b> Structure et fonction du centre germinatif... ..	83
<b>Figure 52:</b> Les isotypes d'immunoglobulines... ..	84
<b>Figure 53:</b> Coopération cellulaire dans la réponse cytotoxique... ..	86
<b>Figure 54:</b> Role des cytokines dans la prolifération et la commutation de classe au cours de la différenciation des cellules B en plasmocytes.....	91
<b>Figure 55:</b> Polarisation des cellules T .....	93
<b>Figure 56:</b> Types de réponses d'hypersensibilité selon Coombs et Gell en 1963.....	99
<b>Figure 57 :</b> Classification des réactions d'hypersensibilité selon .....	100
<b>Figure 58:</b> Les mécanismes de l'hypersensibilité de type 1 .....	101
<b>Figure 59:</b> Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC).....	102

<b>Figure 60</b> : Réaction d'agglutination au latex...	107
<b>Figure 61</b> : Le test d'hémagglutination.....	108
<b>Figure 62</b> : Test de l'anneau.....	109
<b>Figure 63</b> : Courbe de Heidelberg et Kendall.....	111
<b>Figure 64</b> : L'immunodiffusion double.....	112
<b>Figure 65</b> : Immunodiffusion radiale .....	113
<b>Figure 66</b> : Immunopécipitation .....	113
<b>Figure 67</b> : Immunoélectrophorèse .....	114
<b>Figure 68</b> : Technique de Laurell .....	115
<b>Figure 69</b> : L'immunofluorescence de macrophage de souris infectées par <i>Leishmania mexicana</i> au moyen d'anticorps antitubuline marqué à la rhodamine.....	116
<b>Figure 70</b> : Immunofluorescence.....	116
<b>Figure 71</b> : La technique ELISA.....	118
<b>Figure 72</b> : Différents types d'ELISA.....	118

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les différentes sécrétions au niveau des surfaces épithéliales .....	3
<b>Tableau 2:</b> Les principaux phagocytes mononucléés intra-tissulaires.....	46
<b>Tableau 3 :</b> Les principaux PRRs en fonction de leur localisation cellulaire et de la nature des ligands reconnus.....	54
<b>Tableau 4:</b> cytokines impliquées dans le processus inflammatoire .....	58
<b>Tableau 5:</b> Nature et fonction des principales protéines régulatrices du système du complément .....	71
<b>Tableau 6:</b> maladies auto-immunes spécifiques d'organes .....	95
<b>Tableau 7:</b> Les maladies auto-immunes systémiques .....	96

# *I. Introduction à l'immunologie*

### I.1. Rôle de l'immunité

#### I.1.1. Introduction

L'immunologie est une science biologique complexe qui étudie les mécanismes de défense du « **soi** » contre des entités biologiques « **non-soi** » ainsi que des facteurs mécaniques et chimiques. Le terme immunité provient du latin '*immunis*' qui signifie 'exempté de'. Elle doit son nom au fait que les premiers phénomènes immunitaires ont été observés par des bactériologistes qui constataient des effets de protection contre des infections.

Les connaissances dans ce domaine ne cessent d'évoluer et d'apporter des thérapeutiques innovantes de plus en plus développées car l'étude de système immunitaire et ses dysfonctionnements est d'un intérêt primordial pour la santé humaine. Cette discipline contribue également au développement de la recherche et des méthodes de diagnostic.

#### I.1.2. Fonctions du système immunitaire

Le système immunitaire est caractérisé par une mobilité dans la circulation sanguine lui conférant la capacité de réagir à l'infection bactérienne qui peut survenir à n'importe quel point de l'organisme. Le rôle du système immunitaire est basé sur plusieurs fonctions notamment la défense, la surveillance et l'homéostasie. Il a pour fonction de:

- Reconnaître le soi et le non-soi, de les séparer et de retirer le non-soi de l'organisme
- Défendre l'organisme des infections bactériennes
- Tolérer les molécules du soi
- répondre à la greffe et aux tumeurs

#### I.1.3. Organisation générale du système immunitaire

Le système immunitaire a pour origine la moelle osseuse. Il est composé de différents types de cellules et de tissus et d'organes entre lesquels circulent en permanence des cellules de l'immunité innée et de l'immunité adaptative via des vaisseaux sanguins et lymphatiques.

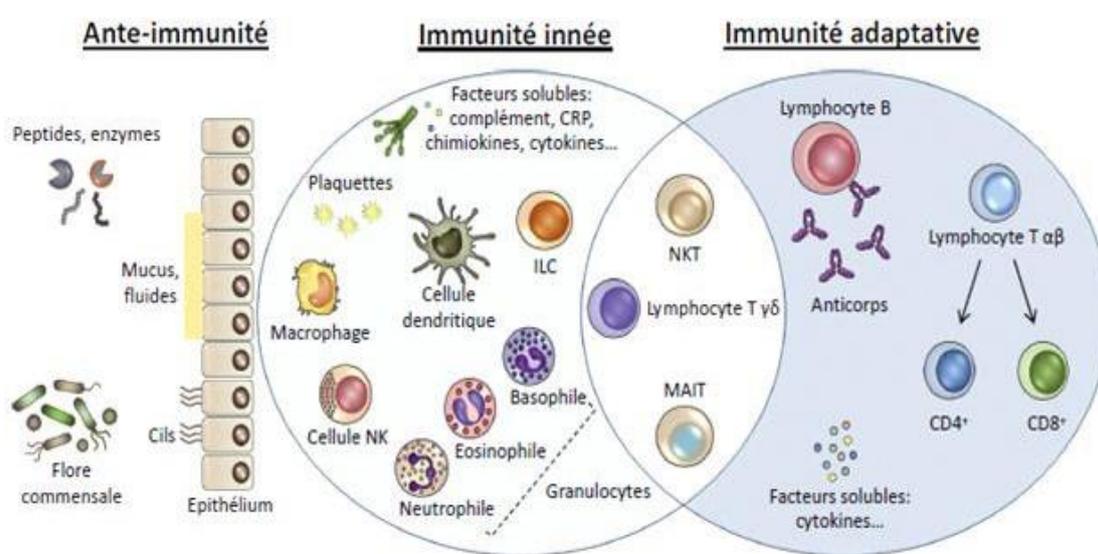
Les cellules immunitaires regroupent des cellules circulantes présentes dans le sang périphérique et de cellules localisées exclusivement dans les tissus (résidentes). Elles communiquent entre elles par **contact cellulaire** et par des **molécules qu'elles sécrètent**. La réaction de ces effecteurs conduit à la **réponse immunitaire**.

Les cellules immunitaires sont caractérisées par leurs protéines de surface qui peuvent être identifiées par différents anticorps monoclonaux '**les clusters de différenciation 'CD'**'.

Ce sont des **marqueurs diagnostiques utilisés pour l'identification d'un type cellulaire ou un stade de différenciation cellulaire particulier**. Ils ont des rôles divers au sein de l'organisme, notamment dans **la différenciation de ces cellules au niveau de la moelle osseuse**, mais encore **dans la réponse immunitaire**.

Les cellules du système immunitaire sont composées de lymphocytes, de **cellules présentatrices d'antigène (CPA)**, ce sont des cellules spécialisées situées dans les épithéliums qui capturent les antigènes et les transportent dans les tissus lymphoïdes périphériques et les présentent aux lymphocytes et de **cellules effectrices** qui éliminent les microbes.

Les mécanismes de défense de l'hôte se composent d'une immunité naturelle, responsable de la protection initiale contre les infections (**figure1**), et de l'immunité adaptative, qui met en place un mécanisme de défense qui se développe plus lentement (réponse tardive) et plus efficace contre les infections



**Figure 1 :** Organisation générale du système immunitaire ses effecteurs cellulaires et moléculaires (Visentin et *al.*, in Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018).

### I.1.3. 1. L'anté immunité (Les mécanismes de défense externes)

L'anté immunité désigne les éléments qui entrent en jeu dans la défense de l'organisme. Elle est composée d'**effecteurs mécaniques, chimiques et cellulaires**. Ces effecteurs constituent des barrières qui empêchent la pénétration des germes. Toutefois, les agents pathogènes peuvent franchir les barrières physiques telles que les couches cutanées ou les couches de cellules épithéliales. En effet, ils pénètrent dans le corps par des mécanismes actifs

ou passifs. Ils peuvent creuser à travers la peau, pénétrer à travers une plaie, être ingérés avec l'alimentation ou inhalés par les voies respiratoires.

▪ **Les effecteurs mécaniques:** Ils sont constitués de structures anatomiques et de mécanismes physiologiques. L'entrée initiale d'un agent infectieux ou de ses produits sécrétés rencontre d'abord les barrières mécaniques fournies par la peau, le plus grand revêtement extérieur protecteur du corps, et les muqueuses, qui tapissent tous les passages du corps et qui communiquent avec l'environnement extérieur.

Les sécrétions externes de la peau et des muqueuses contiennent un grand nombre de substances qui empêchent la croissance des micro-organismes (**tableau 1**). Ces substances comprennent une grande variété de métabolites, tels que des acides, des peptides et des protéines.

**Tableau 1:** Les différentes sécrétions au niveau des surfaces épithéliales.

Localisation	Source de production	Substances sécrétées
Œil	Glandes lacrymales	Lysosyme, IgA, IgG
Oreilles	Glandes sébacées	Cérumen
Bouche	Glandes salivaires	Enzymes de la digestion, lysosyme, IgA, IgG, Lactoferrine
Peau	Glandes sudoripares (sueur)	Lysosyme, NaCl, acides gras à chaîne moyenne
Estomac	Suc gastrique	Ezymes digestives (pepsine) Acide pH bas 1-2

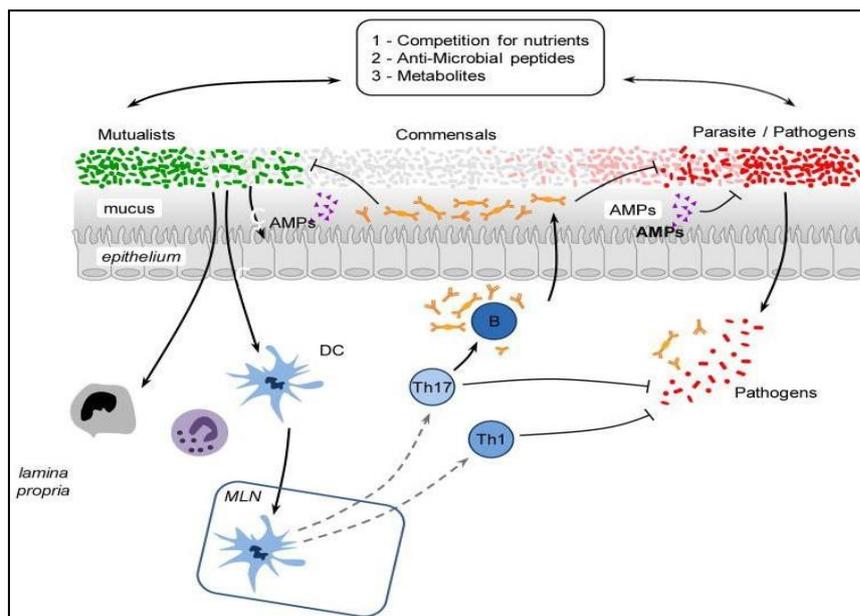
**L'activité mucco-ciliaire** au niveau de **l'épithélium des muqueuses nasales et bronchiques** jouent un rôle dans l'élimination des particules inhalées. Le mucus qui contient de la mucine sécrétée par les cellules épithéliales muqueuses enveloppent leurs surfaces et rend difficile le contact et la liaison des microbes aux cellules épithéliales qui est nécessaire à leur entrée dans l'organisme.

### ✓ **Le microbiote**

Chez l'homme, chaque population de microbes formant en quelque sorte une communauté s'appelle désormais le microbiote humain, autrefois dénommée «flore bactérienne» ou la **flore saprophyte**. Des milliards de bactéries, de virus et d'autres micro-organismes vivent à la surface et à l'intérieur du corps humain et forment le microbiome humain. Les germes commensaux (bactéries non pathogènes) aident à protéger contre

l'infection et peuvent produire **des peptides antimicrobiens** qui affectent directement la croissance et la survie des agents pathogènes (**figure 2**).

*Escherichia coli* produit des bactériocines qui inhibent spécifiquement la croissance de ou d'une espèce bactérienne pathogène similaire *E. coli* entérohémorragique. En outre, *Staphylococcus epidermidis*, le Staphylocoque commensal dominant de l'épiderme produit plusieurs protéines et protéases antimicrobiennes qui peuvent limiter la formation du biofilm par *Staphylococcus aureus*.



**Figure 2:** Le rôle du microbiote dans l'immunité (Belkaid and Hand, 2015)

### ▪ Les cellules de l'anté-immunité

✓ **les cellules épithéliales** : La première ligne de défense est fournie par **les barrières épithéliales**. Les cellules épithéliales respiratoires et gastro-intestinales, en plus de leur rôle de protection mécanique participent à la réponse immunitaire innée car elles sont capables de sécréter des peptides antimicrobiens. Ces derniers comprennent les **cécropines**, les **magainines** et les **défensines**. Ce sont de petits peptides de poids moléculaire 3-5 kDa qui possèdent des propriétés anti-bactériennes considérables. Ce sont également des cellules susceptibles de produire des cytokines et des chimiokines en présence de signaux de danger. Elles sont de plus impliquées dans la sécrétion des immunoglobulines Ig A sécrétoires.

✓ **Les cellules endothéliales** : ces cellules sont capables de produire des cytokines et des chimiokines en présence de signaux de danger afin d'initier **une réponse inflammatoire**. Elles interviennent activement dans **la diapédèse**.

✓ **Les plaquettes**: elles sont anucléées dérivant des mégacaryocytes de la moelle osseuse, elles présentent des similitudes avec les cellules endothéliales car elles contiennent des

**granules de stockage de cytokines, chimiokines et autres médiateurs solubles.** Elles peuvent ainsi avoir une action pro-inflammatoire.

### I.1.3.2. L'immunité innée (naturelle et non spécifique)

Le système immunitaire inné est présent dès la naissance et évolue au cours de la vie. Il intervient une fois que les défenses externes sont pénétrées. Il est dit **non spécifique** parce qu'une même cellule ou une même molécule peut reconnaître ou détruire des cibles différentes (large spectre). **Elle opère rapidement.** Son activation constitue la réponse inflammatoire mais ne met **pas en place de réponse mémoire.** Plusieurs cellules et molécules interviennent dans cette réponse.

On peut distinguer :

- **Effecteurs cellulaires**
  - ✓ **Phagocytes:** ces cellules assurent la **phagocytose**, le système monocytes/ macrophages les polynucléaires, les cellules dendritiques, les cellules tueuses naturelles: NK (Natural Killer).
  - ✓ **Cellules lymphoïdes non conventionnelles**, ce sont des cellules qui appartiennent à l'immunité innée et sont à l'interface entre immunité innée et adaptative.
  - ✓ **Les lymphocytes T  $\gamma/\delta$**  sont très proches des cellules NK, mais possèdent la particularité d'exprimer un récepteur **TCR** (T cell receptor) reconnaissant des ligands variés différents du CMH.
  - ✓ **Les cellules NK-T** présentes dans les épithéliums et les tissus lymphoïdes reconnaissent des lipides microbiens associés à la molécule CD1 via leur TCR semi-invariant.
  - ✓ **Les MAIT (Mucosal-Associated Invariant T cells)** sont une sous-population de lymphocytes T à TCR semi-invariant localisés dans les muqueuses et possédant des propriétés antimicrobiennes.
  - ✓ **Les cellules lymphoïdes innées (ILC)** sont des effecteurs tissulaires jouant un rôle important dans la défense contre les micro-organismes ainsi que dans l'homéostasie tissulaire.
- **Les effecteurs solubles ou humoraux :** le complément, des cytokines, les protéines de la phase aiguë de l'inflammation et les interférons.

### I.1.3.3. L'immunité adaptative

Elle est adaptative car cette réponse **s'adapte au type d'antigène**, elle est **spécifique** de l'antigène du fait que les cellules de l'immunité adaptative notamment **les lymphocytes**, portent un seul type de récepteur capable de reconnaître un **déterminant antigénique** (encore

appelé **épitope**). Cette réponse se développe tardivement, Les cellules de **l'immunité adaptative** sont les **lymphocytes B et T**. Ils participent à l'immunité **humorale et cellulaire**.

Les effecteurs sont les anticorps (l'immunité humorale) et les lymphocytes T cytotoxiques LTC (l'immunité cellulaire).

### I.1.4. Interaction entre l'immunité innée et adaptative

Au cours de la réponse immunitaire, il existe **une interaction étroite entre l'immunité innée et adaptative**. En effet, les systèmes immunitaires inné et adaptatif agissent ensemble par des interactions entre les cellules des deux systèmes et à travers des médiateurs chimiques tels que les cytokines. Plusieurs cellules et molécules du système inné sont sollicitées par le système immunitaire adaptatif.

## I.2. Rapport avec la vie quotidienne et grande découverte

### ▪ Rapport du système immunitaire avec la vie quotidienne

Le système immunitaire s'est développé au cours de l'évolution des espèces par de nombreuses interactions hôtes-agents infectieux. Ce système contribue au maintien de l'intégrité de l'organisme (le soi) en éliminant les constituants étrangers (virus, bactéries, parasites, greffes, allergènes), et les constituants du « soi » modifiés.

Le soi d'un individu est représenté par l'ensemble des molécules résultant de l'expression de son génome. L'individualité biologique de l'être vivant est surtout définie par la présence des marqueurs du soi, le système HLA (Human Leucocyte Antigen) et sont le résultat de l'expression des antigènes d'histocompatibilité.

Le non soi est l'ensemble des molécules différentes du soi dont la présence dans l'organisme déclenche des réactions immunitaires. Elles peuvent être d'origine exogène (vers, virus, bactéries, toxines...) ou être simplement des molécules du soi modifiés (cellules tumorales).

Le système immunitaire perçoit les éléments de son environnement (tels que des micro-organismes, pathogènes ou non) et reconnaît les éléments qui perturbent son homéostasie.

Il assure sa fonction en **étroite relation avec les autres systèmes physiologiques**, notamment **les systèmes nerveux et endocrinien**, avec lesquels il communique par l'intermédiaire de médiateurs solubles (neurotransmetteurs, hormones, cytokines) et de récepteurs spécifiques communs à ces systèmes.

Plusieurs études ont porté sur l'évaluation des effets de l'alimentation, l'exercice, l'âge, le stress psychologique, sur le système immunitaire et ce afin d'établir une relation entre le

mode de vie et les événements de la vie quotidienne et l'amélioration de la fonction immunitaire.

Il a été rapporté qu'une alimentation saine et riche en **vitamines notamment la vit A et C et la vitamine E** stimule le système immunitaire.

**Une bonne hydratation** est essentielle pour une immunité forte et saine. Que ce soit intentionnel ou non, ne pas boire suffisamment d'eau peut entraîner des conséquences néfastes pour la santé.

Selon une étude publiée en 2017, de mauvaises **habitudes de sommeil** affaiblissent et diminuent la fonction du système immunitaire. Cette dernière conclusion est le résultat de la comparaison d'échantillons de sang de 11 paires de jumeaux identiques qui ont des habitudes de sommeil différentes.

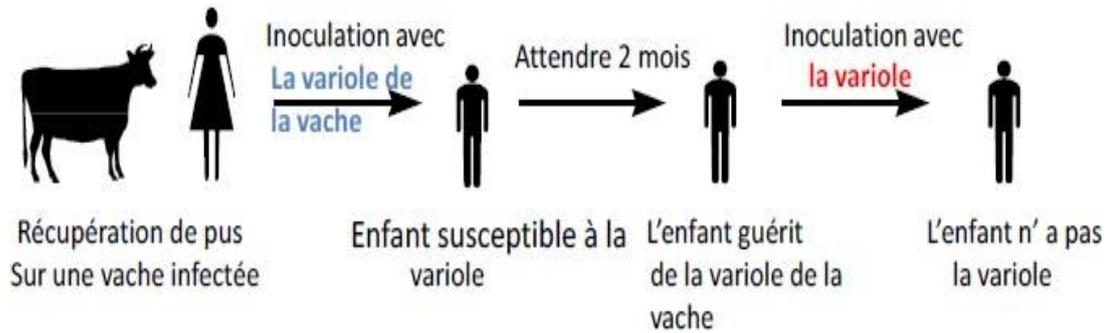
Par ailleurs, des études réalisées sur **l'impact du sport sur le système immunitaire** ont permis de montrer que le sport permet de renforcer les défenses immunitaires (Verron, 2016). À l'inverse, le surentraînement aurait un impact plutôt négatif : après une séance de sport trop intense, on observait une baisse du taux de lymphocytes, ce qui implique moins d'anticorps potentiels en cas d'agression.

D'autre part, plusieurs études ont suggéré **l'effet immunomodulateur** chez l'homme de **l'expression d'émotions** notamment sur l'augmentation du pourcentage de lymphocytes T8 supresseurs et leurs implications dans le cas de certaines pathologies autoimmunes et cancers.

### ▪ Grande découverte

L'immunologie est un domaine qui connaît une évolution à travers le temps et ne cesse d'émerger et d'apporter de nouveaux concepts mis en exergue par de grandes découvertes permettant de comprendre l'immunologie. Nous relatons ici les grandes découvertes.

L'origine de l'immunologie a été attribuée au médecin anglais **Jenner** (1749-1823) qui avait observé que les personnes ayant été atteintes par la variole bovine étaient protégées contre la variole humaine (**figure 3**). En **1796**, il a introduit le concept de la vaccination, le mot **vaccin** vient du **latin Vacca ou vache**. Edward Jenner découvre la vaccination en montrant qu'en injectant le virus de la vaccine, une maladie de la vache à des hommes étaient protégés d'une maladie mortelle appelée la variole.



**Figure 3 :** l'expérience d'Edward Jenner (1796)

Le principe d'action de **la vaccination** a été expliqué par ses collaborateurs Émile Roux et Émile Duclaux, à la suite des travaux de **Robert Koch** ayant établi le lien entre les micro-organismes et les maladies infectieuses. La première vaccination réalisée par **Louis Pasteur** fut celle d'un troupeau de moutons contre le charbon le **5 mai 1881**. Sa première vaccination humaine fut celle d'un enfant « **Joseph Meister** » contre la rage le **6 juillet 1885**. Celle-ci a pu être efficace du fait que le virus de la rage progresse lentement dans le système nerveux.

**Dès 1897, Paul Ehrlich** postulait que toute anomalie dans les mécanismes de tolérance immunitaire pouvait altérer la reconnaissance du soi et déclencher une réaction immunitaire inappropriée contre un ou plusieurs des constituants de l'organisme, entraînant sa destruction. Il venait de définir le périmètre des pathologies **autoimmunes** et le concept d'horror autotoxicus.

**En 1989, Charles Janeway** a proposé que la discrimination entre soi et non-soi pourrait être largement assurée par le système immunitaire inné, distinguant le « non-soi infectieux » grâce à des récepteurs qu'il a appelés **PRRs** (*Pattern Recognition Receptors*). Janeway a proposé que ces PRRs reconnaissent des molécules exprimées par des micro-organismes, qu'il appelle PAMPs (*Pathogen Associated Molecular Patterns*). Ces motifs moléculaires, caractérisés par la suite, n'étant pas exclusivement exprimés par des pathogènes, mais par tous les micro-organismes, le terme MAMPs est donc aujourd'hui plus approprié que le terme PAMPs.

**En 1994, Polly Matzinger** quant à elle introduit le concept de « signal de danger », qui propose que le système immunitaire ne reconnaisse pas uniquement des molécules issus de micro-organismes, mais également des molécules issus du soi en situation de stress. Ces derniers ont été appelés **DAMPs** (*Damage Associated Molecular Patterns*) ou « alarmines ». Cette « **hypothèse de danger** » a permis d'expliquer pourquoi la réponse immunitaire observée suite à une infection pouvait être similaire à celle qui apparaît suite à des lésions tissulaires stériles. En effet, il a été montré que la reconnaissance des MAMPs ou des DAMPs par les

PRRs peuvent entraîner l'activation des mêmes voies de signalisation. Il est important de noter que la détection des MAMPs et des DAMPs est la première étape de l'activation de toute réponse immunitaire, qu'elle soit innée ou adaptative.

**En 1996**, l'équipe de Jules Hoffmann (**biologiste, spécialiste du système immunitaire, lauréat du prix nobel de physiologie et de médecine 2011**) a montré que la voie de signalisation *Toll* (impliquée dans le développement embryonnaire de la drosophile, intervenait également dans la détection des agents infectieux d'origine fongique. Les applications dans la santé humaine de cette découverte sont immenses et restent pour la plupart à découvrir « Près de 75% des gènes impliqués dans des pathologies humaines ont des homologues chez les insectes », précise **Jules Hoffmann**.

À la suite de cette découverte, **Ruslan Medzhitov et Charles Janeway** ont démontré qu'un homologue humain de Toll était impliqué dans l'initiation de la réponse adaptative. Une découverte similaire a ensuite été effectuée par l'équipe de **Paul Godowsky**, puis par celle de **Bruce Beutler**, qui a montré que les homologues humains de Toll étaient capables de reconnaître des produits de micro-organismes. Ainsi, grâce à la Drosophile, une importante famille de PRRs a été identifiée chez les mammifères, les TLR (*Toll-Like Receptors*). Depuis cette découverte, d'autres familles ont été décrites.

Actuellement les chercheurs développent des vaccins qu'on pourra boire, manger, ou inhaler qui devraient améliorer la réponse immunitaire muqueuse. Les premiers résultats sont prometteurs, un vaccin contre la grippe qu'on peut inhaler est déjà disponible aux états unis et beaucoup d'autres vaccins muqueux sont en développement.

A la lumière des dernières données sur l'évolution de la pandémie COVID-19, Il est important de souligner les efforts considérables consentis par la communauté scientifique et plus particulièrement les immunologistes pour l'études de la réponse immunitaire au cours de cette infection émergente causée par le virus corona et de souligner l'urgence de développer des stratégies thérapeutiques et immuno-protectrice ainsi que des méthodes de diagnostic pertinentes pour faire face à cette pandémie et à son expansion.

## *II. Ontogénèse du système immunitaire*

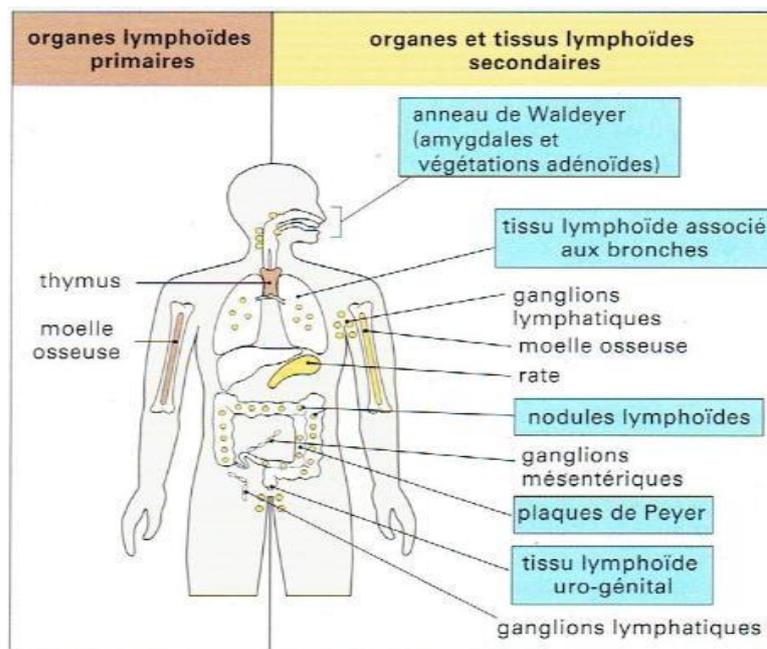
### I.1. Les cellules B et organes lymphoïdes

#### II.1.1. Les organes et tissus lymphoïdes

Les organes et les tissus lymphoïdes sont disséminés dans l'organisme (**figure 4**). Les cellules circulent dans ces organes et entre ces organes *via le sang et la lymphe*.

Le système lymphoïde est subdivisé en deux principaux compartiments:

- **Un compartiment central** dans lequel prolifèrent les cellules souches, il est composé d'organes lymphoïdes primaires (ou centraux) telque la moelle osseuse et le thymus dans lesquels les lymphocytes T et B arrivent à maturation indépendamment du contact avec l'antigène et deviennent compétents pour répondre aux antigènes (c.-à-d. différenciation indépendante de l'antigène).
- **Un compartiment périphérique** composé d'**organes lymphoïdes périphériques (ou secondaires)** tels que les ganglions lymphatiques, la rate et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT de mucosal-associated lymphoïd tissue) dans lesquels les réponses immunitaires adaptatives contre les microbes se développent.



**Figure 4:** Distribution des organes et des tissus lymphoïdes (Male et *al.*, 2007).

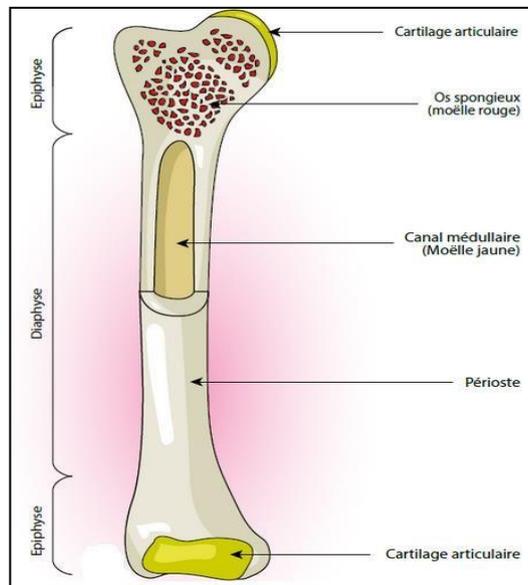
#### II.1.1. Les organes lymphoïdes primaires

Le foie fœtal est le premier organe de différenciation des cellules immunitaires, relayé à la naissance par la moelle osseuse. Les organes lymphoïdes primaires sont composés par **la moelle osseuse** et le **thymus**. Ce sont des lieux de différenciation des cellules immunitaires mais également le lieu d'apprentissage où ces cellules acquièrent la capacité de reconnaître le **non-soi** et deviennent tolérants à nos propres constituants: **le soi**.

En effet, les cellules acquièrent un récepteur propre à chaque cellule tel que le BCR: B Cell Receptor et le TCR: T Cell Receptor et des marqueurs de surface spécifiques de chaque lignée cellulaire réceptrice tel que le CD19 pour les lymphocytes B, le CD3 pour les lymphocytes T.

### II.1.1.1. La moelle osseuse

C'est le siège de l'hématopoïèse et **le lieu de maturation des lymphocytes B**. La moelle osseuse est un tissu spongieux qu'on trouve dans les parties creuses des os longs et plats comme le sternum ou les os des hanches. Il existe deux types de moelle osseuse : la moelle rouge et la moelle jaune (**figure 5**). La moelle jaune contient davantage de cellules adipeuses. La moelle rouge est une moelle active ayant des fonctions majeures dans la formation des globules rouges, des plaquettes et de cellules immunitaires.



**Figure 5:** Localisation de la moelle osseuse au niveau de l'os.

Les cellules immunitaires sont toutes issues de **cellules souches hématopoïétiques qui ont la propriété d'autorenouvellement et de pluripotence** localisées dans la **moelle osseuse**.

La moelle osseuse a pour fonctions de:

- Produire toutes les cellules du sang
- Produire des cellules B avec plusieurs récepteurs d'antigènes (Ag)
- Eliminer les cellules B avec des récepteurs à Ag auto réactifs (qui ont une grande affinité pour les antigènes du soi).

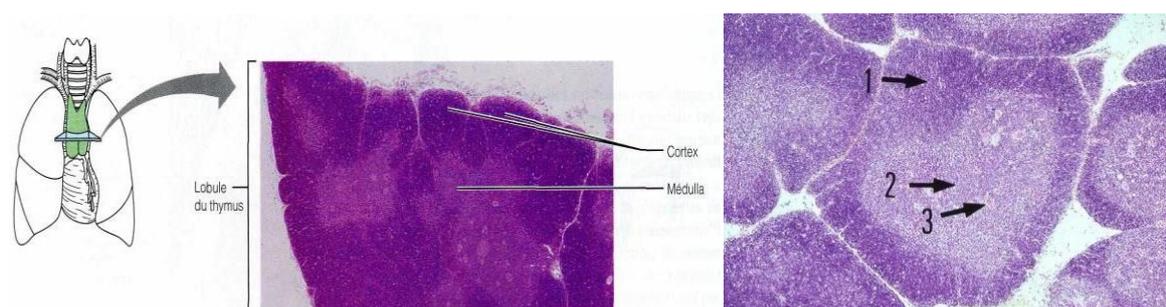
### II.1.1.2. Le thymus

C'est le site de maturation et d'éducation des lymphocytes T. Le thymus est situé au bas du cou, il s'étend, sous le sternum, jusque dans la partie supérieure du thorax. Il pèse 10 à

## Chapitre II: Ontogénèse du système immunitaire

15 g à la naissance, 30 à 40 g à la puberté. Son activité et sa taille sont maximales au cours de la puberté, avant d'involuer à l'âge adulte.

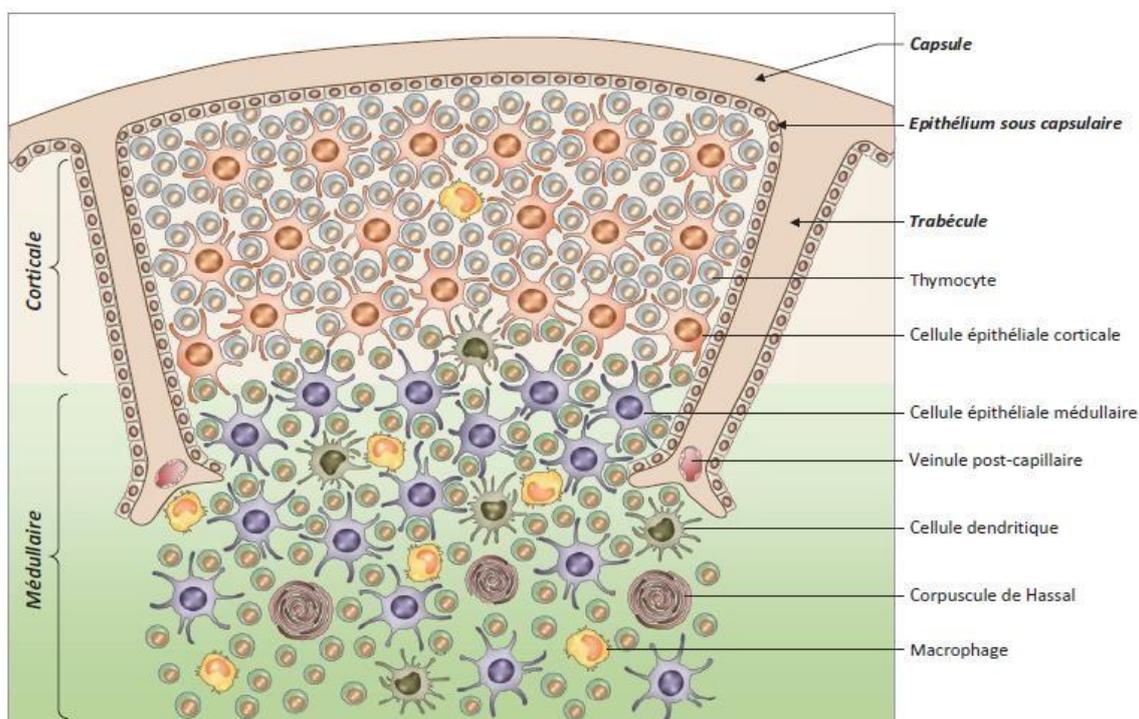
Le thymus est une glande **bilobée**, Chaque **lobe** est entouré par une capsule conjonctive qui divise la corticale en **lobules** séparés les uns des autres par du tissu conjonctif (**figure 6**). Un lobule est constitué de deux parties: la partie externe (**le cortex**) où se trouvent en général les lymphocytes immatures appelés thymocytes qui prolifèrent très vite et **la médulla** qui contient les lymphocytes matures à très faible division cellulaire.



**Figure 6 :** coupe histologique d'un lobule thymique.

**1: cortex, 2: la zone médullaire, 3: les corpuscules de Hassal.**

La complexité de la composition cellulaire (**figure 7**) du thymus rend le repertoire des cellules T et facilite leur développement.



**Figure 7:** La composition cellulaire du lobule en cellules lymphoïdes et non lymphoïdes (Lelièvre et *al.*, in Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018).

### II.1.2. Les organes secondaires ou organes périphériques

Les organes lymphoïdes périphériques sont soit encapsulés (ganglions lymphatiques, rate) réagissant aux antigènes d'origine tissulaire ou sanguine soit non encapsulés présents d'une manière diffuse dans les muqueuses de l'organisme. Ils sont répartis partout dans l'organisme. Leur développement prend lieu essentiellement après la naissance au contact des antigènes de l'environnement. Ces organes sont peuplés de cellules issues des organes lymphoïdes primaires. Ils sont dits effecteurs car ce sont des lieux d'activation de la réponse immunitaire adaptative et de la coopération cellulaire. En effet, c'est dans les **organes lymphoïdes secondaires** qu'a lieu la **rencontre entre l'antigène et les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et les lymphocytes.**

Les organes lymphoïdes périphériques sont composés de :

- **La rate** (sur la voie sanguine).
- **Les ganglions lymphatiques** (sur la lymphe),
- **Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT):** Ces tissus empêchent les agents pathogènes de franchir les muqueuses.

Ces organes sont le lieu de drainage et de concentration d'antigènes présents dans les tissus, la lymphe (**ganglions lymphatiques**), le sang (**rate**), ou les muqueuses (**tissu lymphoïde associé aux muqueuses, MALT**).

À l'intérieur des organes lymphoïdes périphériques, les lymphocytes T et les B sont répartis dans des compartiments anatomiques différents,

✓ **Les lymphocytes B** sont concentrés dans des structures portant le nom de **follicules**, situées à la périphérie (cortex) de chaque ganglion. Ce follicule peut contenir une région centrale appelée centre germinatif.

✓ **Les lymphocytes T** sont concentrés à l'extérieur des follicules, dans une région adjacente, la zone paracorticale (le paracortex) des ganglions lymphatiques de manière privilégiée.

Dans ces structures, des veinules postcapillaires spécifiques appelées '**high endothelial veinules**' (**HEV**) permettent l'entrée contrôlée des lymphocytes.

#### II.1.2.1. La rate

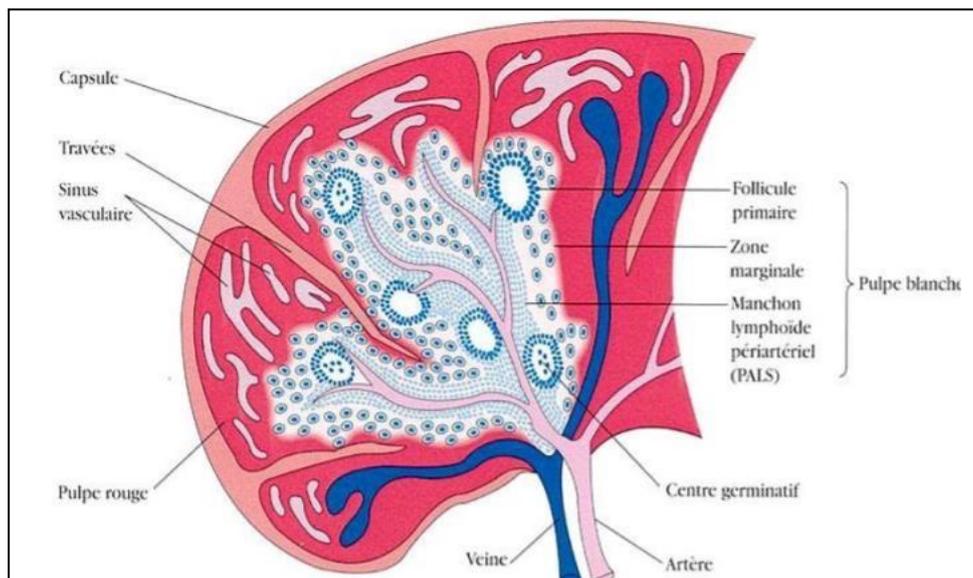
La rate est un organe encapsulé hautement vascularisé. Au cours de la vie embryonnaire, la rate est hématopoïétique. Elle est uniquement en relation avec la circulation sanguine, qu'elle filtre. En effet, elle a un rôle primordial dans l'immunosurveillance des **antigènes présents dans le sang**. Les antigènes transportés par le sang sont capturés et

## Chapitre II: Ontogénèse du système immunitaire

concentrés par les cellules dendritiques et les macrophages dans la rate. Elle assure également la destruction des vieux érythrocytes. En outre, elle accumule et libère les produits de dégradation de l'hémoglobine, emmagasine les plaquettes et produit les érythrocytes chez le fœtus.

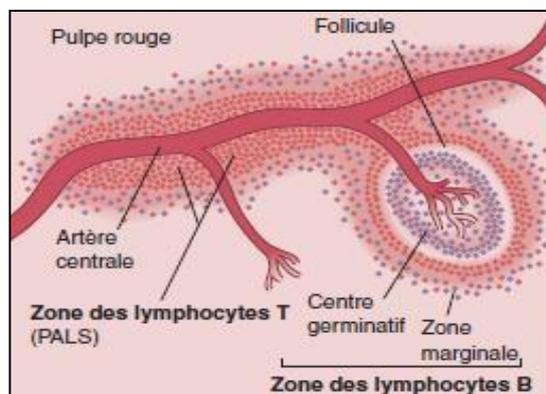
La rate comprend deux principaux tissus (**figure 8**):

- ✓ **La pulpe rouge:** c'est le lieu de destruction des vieilles hématies mais aussi le lieu de stockage des jeunes hématies.
- ✓ **La pulpe blanche** correspond au tissu **lymphoïde**. L'essentiel de ce tissu est situé autour d'une artériole centrale constituant la **gaine périartériolaire**.



**Figure 8:** Anatomie de la rate (Kindt et *al.*, 2008).

La pulpe blanche est composée essentiellement d'une zone centrale riche en lymphocytes T (**zone T**) et une zone périphérique riche en lymphocytes B (**zone B**) (**figure9**). Les cellules T sont autour de l'artériole. Les cellules B sont dans les follicules soit primaires (non stimulés) soit secondaires (stimulés) pourvu d'un centre germinatif.



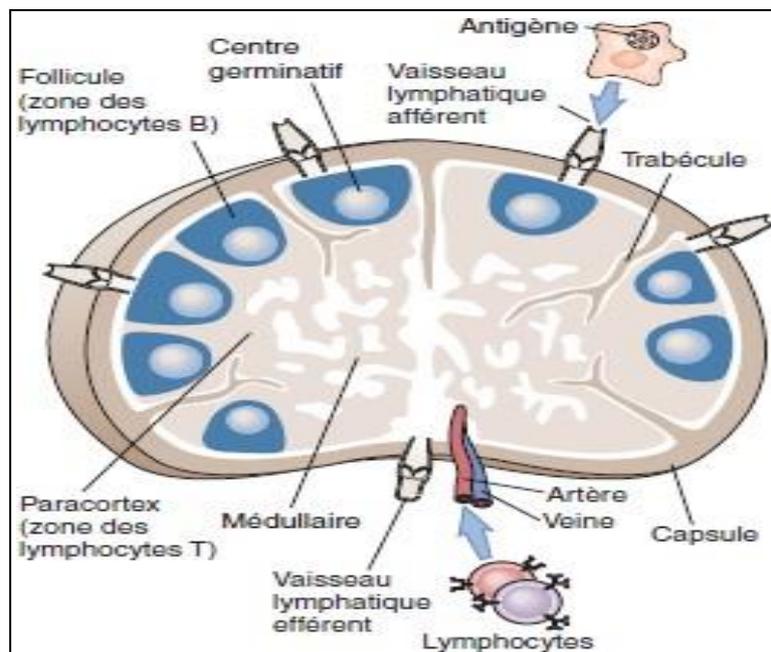
**Figure 9:** Les zones T et B au niveau de la rate (Abbas et *al.*, 2013).

### II.1.2.2. Les ganglions lymphatiques

Les ganglions sont situés le long des voies lymphatiques (à la ramification des vaisseaux lymphatiques). Ils sont entourés d'une capsule fibreuse (encapsulés). Quand ils ne sont pas activés, leur diamètre est compris entre 10 et 15mm. Ils sont au nombre de 500 à 1 000 chez l'homme. Ils jouent un rôle important dans la filtration de la lymphe et permettant la concentration des antigènes solubles.

Les ganglions lymphatiques comprennent différentes zones (**Figure 10**) :

- **La zone corticale (cortex):** c'est une zone externe **riche en lymphocytes B** appelée **zone B**, elle contient des follicules lymphoïdes riches en lymphocytes B
- **La zone paracorticale (paracortex):** La zone intermédiaire riche en **cellules T** appelée **zone T**. Elle contient essentiellement des lymphocytes T interagissant avec des cellules dendritiques présentatrice d'antigènes (CPAs).
- **La medulla:** c'est une zone centrale mixte dans laquelle on trouve des lymphocytes B et T, des plasmocytes. Elle est riche en **macrophages car ces cellules** permettent lors du passage de la lymphe **la phagocytose des antigènes particuliers**. Ainsi, Ils permettent le développement de la réponse immunitaire et servent aussi à la filtration.



**Figure 10:** Coupe longitudinale d'un ganglion lymphatique (Abbas et Lichtman, 2009).

L'organisation structurale montre un seul vaisseau lymphatique efférent qui sort du nœud au hile, alors que plusieurs vaisseaux lymphatiques **afférents** pénètrent dans le nœud ducôté convexe.

### II.1.2.3. Formations lymphoïdes associées aux muqueuses

Ces formations sont constituées de tissus lymphoïdes diffus ou de structures bien individualisées. Elles sont étroitement associées aux épithéliums de revêtement. Elles sont d'autant plus abondantes que le contact avec le milieu extérieur est facile à travers l'épithélium amenant une exposition avec les antigènes. Ces formations assurent **la protection contre les antigènes pénétrant au niveau des épithéliums muqueux** qui représentent une surface de plus de 400m<sup>2</sup> (muqueuses respiratoire, digestive, urogénitale...). On distingue:

- **Tissu lymphoïde associé au nez (NALT: *Nasal-associated lymphoid tissue*)**: Il est principalement composé de follicules B.
- **Tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT: *Gut-associated lymphoid tissue*)** qui comprend notamment les amygdales, les plaques de Peyer situées au niveau de l'iléon et l'appendice.
- **Tissu lymphoïde associé aux bronches (BALT: *Bronchus-associate lymphoid tissue*)** situé le long des principales bronches des lobes des poumons. Il est composé d'agrégats lymphoïdes et de follicules.

Des lymphocytes B et des plasmocytes sont disséminés dans le chorion des muqueuses intestinales et respiratoires

#### a) Les amygdales

Ce sont des ébauches de ganglions. On les trouve principalement au niveau du pharynx. Elles prennent pour cible les antigènes provenant de la respiration ou des aliments.

Ces amygdales sont des amas de tissus lymphoïdes avec des centres germinatifs et des Lymphocytes T.

L'être humain possède six amygdales différentes.

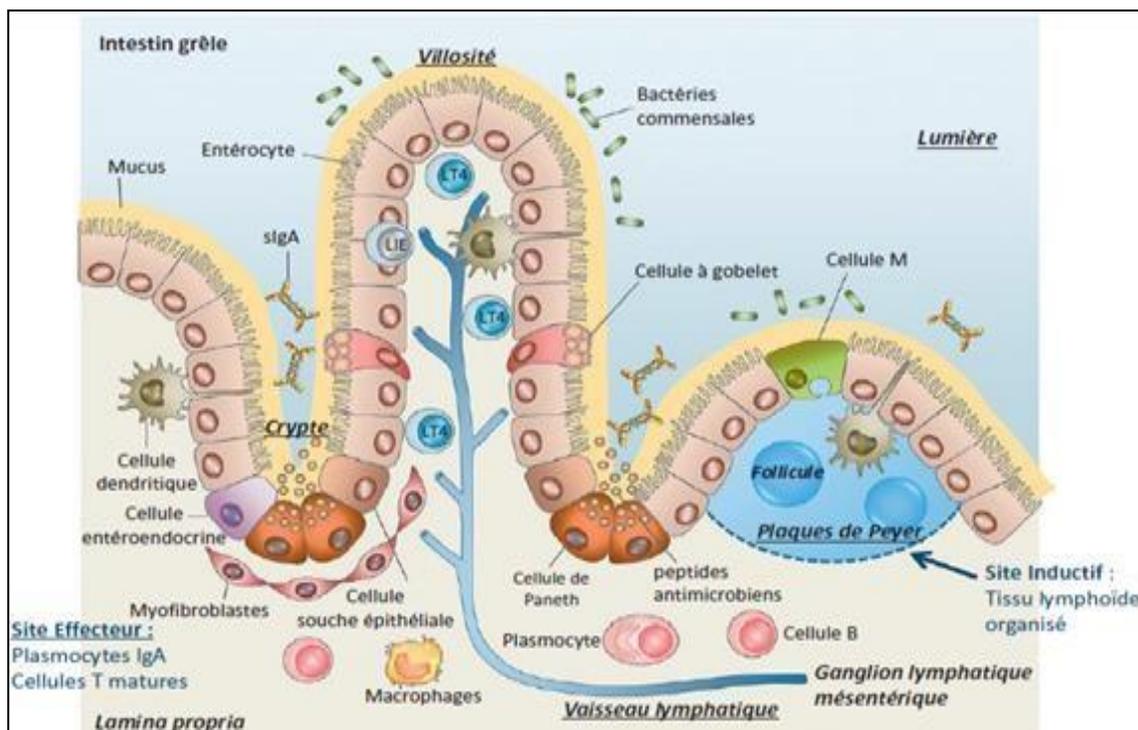
- Deux amygdales palatines situées au niveau du palais.
- Deux amygdales tubaires situées à la sortie de la trompe d'eustache.
- Une amygdale linguale (à la base de la langue).
- Une amygdale pharyngée (derrière le pharynx).

#### b) Les plaques de Peyer

Ces plaques sont beaucoup plus indifférenciées qu'une amygdale. On trouve ces plaques du duodénum à l'iléon. Les plaques de Peyer situées dans l'intestin grêle comportent un épithélium spécialisé appelé aussi épithélium associé au follicule qui comporte des cellules M

(Microfold). Ces cellules sont des cellules très fines qui permettent à l'Ag de passer mais sans le modifier (**Figure 11**).

Au sein de cet épithélium, on retrouve des cellules de Paneth qui sécrètent des peptides antimicrobiens et des cellules de Goblet (cellules calciformes) qui permettent la formation du mucus. Sous les cellules épithéliales, la *lamina propria* est constituée de cellules stromales (myofibroblastes), de cellules B (en particulier des plasmocytes producteurs d'IgA), de lymphocytes T, de macrophages et de cellules dendritiques.



**Figure 11:** Organisation du Tissu lymphoïde associé à l'intestin GALT (Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018).

### II.2.1. Les cellules B

#### II.2.1. 1. Introduction

Les lymphocytes sont des cellules arrondies de petite taille (7 à 9  $\mu$  de diamètre) avec un grand noyau à chromatine dense et un cytoplasme très réduit contenant des ribosomes mais très peu de lysosomes et de mitochondries. Les grands lymphocytes granuleux (LGL) représentent environ 5% des lymphocytes du sang. Ils ont un cytoplasme plus abondant que celui des petits lymphocytes. Cette population correspond à des cellules cytotoxiques différenciées contenant des médiateurs cytotoxiques préformés, ce sont les lymphocytes NK (Natural Killer) et les lymphocytes Tc (T cytotoxiques).

### II.2.1.2. Les lymphocytes B

Ce sont les cellules clé de l'immunité adaptative humorale car ils sont capables de produire des anticorps spécifiques de l'agent pathogène. Ils représentent environ 5 à 15 % des lymphocytes circulants. Chez les oiseaux B vient de **Bourse de Fabricius**. Ils dérivent d'un précurseur hématopoïétique commun aux lymphocytes B et aux lymphocytes T (la cellule souche hématopoïétique: CSH). La lymphopoïèse B a lieu dans le foie au cours de la vie fœtale, et dans la moelle osseuse tout au long de la vie.

### II.2.1.3. Fonctions du lymphocyte B

Les lymphocytes B jouent un rôle essentiel dans la réponse spécifique aux antigènes. Cependant il assure plusieurs fonctions :

- ✓ la reconnaissance des antigènes via un récepteur aux antigènes exprimé à leur surface le B cell receptor (BCR).
- ✓ ils sont capables de produire des anticorps spécifiques de l'agent pathogène.
- ✓ le lymphocyte B joue également le rôle de **cellule présentatrice d'antigène** et le présente en association avec les **molécules de classe II du CMH**, en plus des **molécules de classes I du CMH**.

### II.2.1.4. Le complexe BCR

D'autres molécules associées au BCR sont présentes à la surface du lymphocyte B, constituant ainsi un complexe multimoléculaire comportant :

- ✓ **Le BCR** : Le lymphocyte B naïfs exprime un récepteur 'B cell receptor' **BCR** de type immunoglobuline (Ig) constitué d'IgM et IgD de surface c'est-à-dire lié à la membrane. Ces derrières sont produits par la cellule elle-même. Il a pour fonction la reconnaissance d'un antigène spécifique.
- ✓ **Deux hétérodimères CD79a (Iga) et CD79b (Igb)**, de part et d'autre, dont chaque chaîne comporte un domaine de la superfamille des immunoglobulines extra-cellulaires et une longue portion intracytoplasmique portant un motif d'activation ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine Activating Motif*).

### II.2.1.5. Autres molécules (Figure 12)

**Les lymphocytes B exprime également des** récepteurs de cytokines, **des protéines** membranaires telles que des **intégrines (LFA-1)**, des **sélectines**, des immunoglobulines-like, les récepteurs membranaires B7 et des clusters de différenciation CD 19, CD 21 ,CD35,

CD45, CD80 (ou **B7-1** est le ligand de CD28 présent à la surface des lymphocytes T), **CD81** et **CD86** (ou **B7-2** est le ligand de CD28 présent à la surface des lymphocytes T).

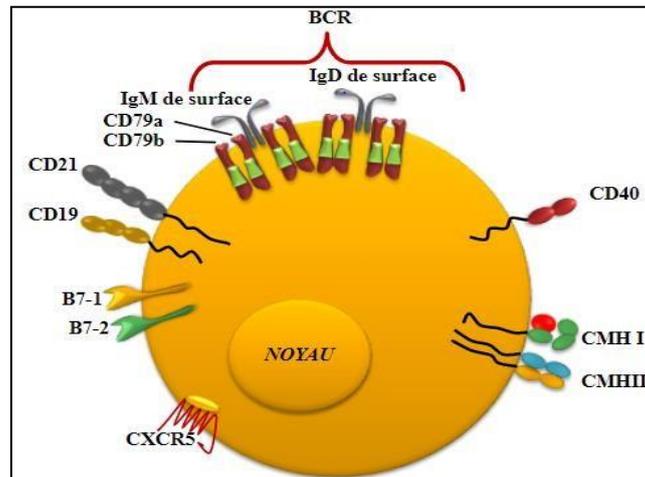


Figure 12: Les marqueurs de surface du lymphocyte B.

### II.2.1.6. Les sous -types de cellules B

#### a. Les sous -types de cellules B conventionnelles

Les cellules B conventionnelles, également appelées cellules B-2, se différencient en un des deux sous-types communs lors de leur activation ;

✓ **plasmocytes** : c'est est une cellule **non proliférante différenciée** qui sécrète de grandes quantités d'anticorps. Ces cellules ne présentent pas d'anticorps membranaires. Elles sont beaucoup plus grandes que les cellules B au repos ou même en prolifération. Les cellules plasmatiques ont un réticulum endoplasmique fortement développé.

Les plasmocytes à longue durée de vie migrent vers la moelle osseuse où leur survie est soutenue dans des niches.

▪ **Lymphocyte B mémoire** : ces cellules sont localisées **dans les centres germinaux du système lymphatique**. Elles expriment à leur surface les anticorps spécifique d'un antigène, permettant une réponse plus rapide et plu efficace lors **d'une exposition répétée**. Le **lymphocyte T auxiliaire folliculaire coopère avec la cellule mémoire et se différencie en un plasmocyte qui a une plus grande affinité à cet antigène spécifique**. Les lymphocytes B mémoire expriment des Ig liées à la membrane de type IgM, IgG ou IgA.

#### b. sous-populations de cellules B spécialisées

Elles comprennent :

▪ **Les cellules B-1** : un sous-type mineur, seulement 5% environ chez l'homme, les **cellules B1 B**, une population auto-renouvelable. Les cellules B-1 sont principalement présentes au cours de la vie fœtale et néonatale. Elles se trouvent dans les cavités péritonéale

et pleurale. Les cellules B-1 sécrètent des IgM naturelles de manière indépendante des cellules T et ont un répertoire limité. Ils se différencient rapidement en cellules plasmiques de courte durée.

- **Cellules B de la zone marginale (ZM) :** ces cellules se situent dans la région située entre la pulpe rouge et la pulpe blanche de la rate. Les cellules **BZM** résident dans la zone marginale qui entoure les follicules des organes lymphoïdes secondaires et sont directement connectée au système vasculaire. Les cellules **B M** répondent donc aux antigènes sanguins. Ils réagissent plus rapidement aux **PAMPs** et se différencient rapidement en **cellules plasmiques de courte durée**.

- **Cellules B folliculaires (FO) :** ce sont des cellules B matures, mais inactives. Cette sous-population est localisée principalement dans les follicules de la rate et les ganglions lymphatiques et **vivent longtemps**. L'activation de ces cellules nécessite l'aide des lymphocytes T. Les cellules B FO peuvent se différencier en cellules B plasmiques ou en cellules B mémoire. Les cellules FO B expriment également des IgD liées à la membrane.

- **Cellules B régulatrices (Breg):** Les cellules Breg régulent négativement de la réponse immunitaire et de l'inflammation en sécrétant des messagers chimiques appelés cytokines, comme l'IL-10. Bien que ces cellules constituent une petite partie de la population de cellules B (~0,5 % chez l'homme), on pense que la perte de cellules Breg fonctionnelles contribue aux troubles auto-immuns.

### II.2.2. Les cellules T

Le lymphocyte T est une cellule essentielle du système immunitaire, chargée d'amplifier par la production de cytokines ou de freiner la réponse immune. Le T de lymphocyte T vient du thymus, l'organe où ces cellules se développent. Les lymphocytes T comme les autres cellules hématopoïétiques sont issus d'une cellule souche totipotente présente dans la moelle osseuse. Les cellules T sont identifiées par la présence de CD3, une molécule de transduction de signal qui est exprimée avec un récepteur spécifique le T cell receptor (TCR), et les marqueurs CD4 (T helper) ou CD8 (T cytotoxiques) spécifiques de la lignée.

#### II.2.2. 1. Rôles des lymphocytes T

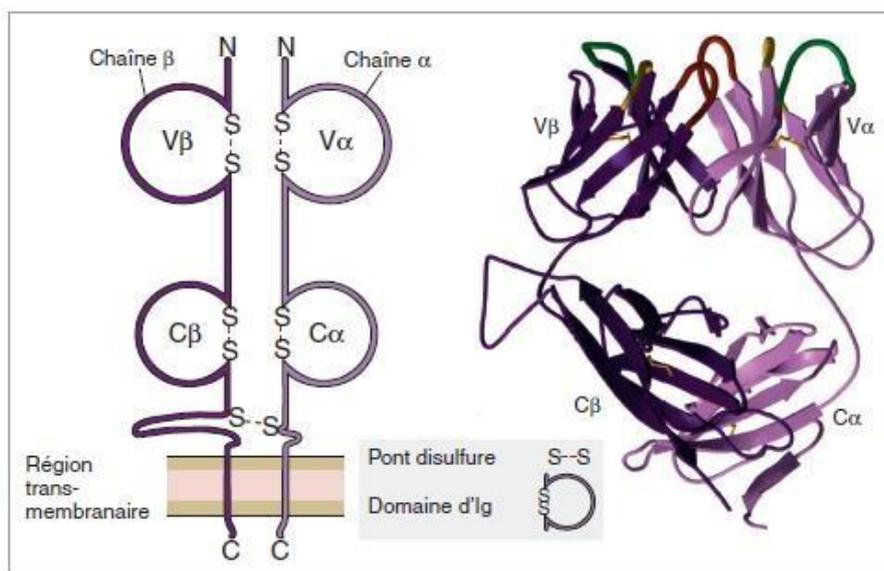
Les lymphocytes T jouent un rôle central dans l'orchestration de toutes les fonctions du système immunitaire adaptatif et accomplissent plusieurs fonctions importantes:

- ✓ la reconnaissance des antigènes via un récepteur aux antigènes exprimé à leur surface le TCR , ce dernier est directement impliqué dans la reconnaissance de l'antigène peptidique présentés par les cellules présentatrices d'Ag (CPA) les cellules dendritiques (DC), des macrophages et des cellules B dans le cotexte du CMH pour transmettre un signal d'activation à l'intérieur de la cellule.)
- ✓ régulation de l'inflammation par la production de cytokines (cellules Th1 et Th17)
- ✓ Aider les lymphocytes B (cellules Th2)
- ✓ la régulation des réponses immunosuppressives (cellules T régulatrices)
- ✓ destruction des cellules cibles (CTL)

### II.2.2.2. Le T cell receptor (TCR)

Le TCR est organisé comme une immunoglobuline car il fait partie de la superfamille des immunoglobulines. Il existe deux types de TCR,

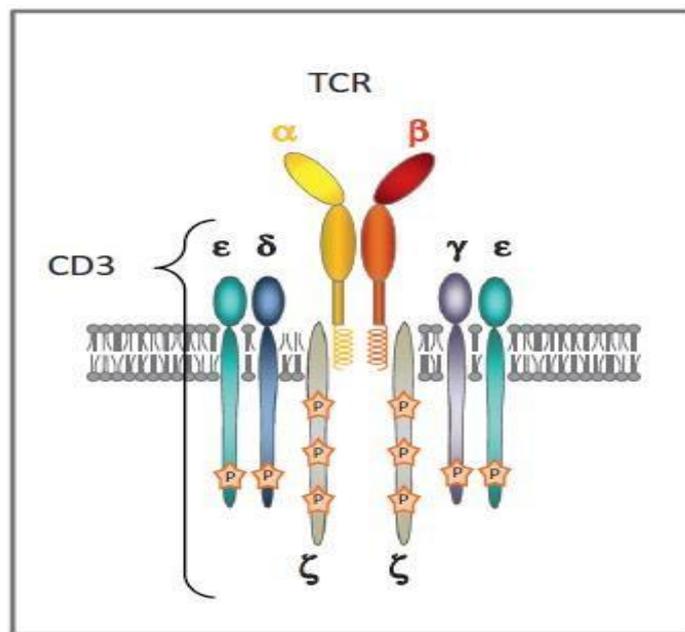
- **Le TCR $\alpha\beta$**  : La plupart des cellules T expriment ce TCR, ce sont des lymphocytes T dits conventionnels, c'est le type le plus prédominant, il est composé d'une chaîne alpha ( $\alpha$ ) et d'une chaîne bêta ( $\beta$ ), reliées par un pont disulfure rappelant la forme 'Y' des immunoglobulines. Chaque chaîne possède une région variable (V) et une région constante (C). Ce type de TCR est surtout retrouvé dans les organes lymphoïdes (**Figure 13**). La partie intracytoplasmique (COOH terminale) du TCR est courte.
- **Le TCR $\gamma\delta$**  : Une minorité de cellules T ont un TCR composé d'une chaîne gamma ( $\gamma$ ) et d'une chaîne delta ( $\delta$ ), ces cellules T sont présentes surtout au niveau des muqueuses.



**Figure 13** : Structure du récepteur du lymphocyte (TCR) (Abbas et Lichtman, 2009).

Le TCR est associé au complexe CD3 qui transmet un signal à l'intérieur de la cellule. Le complexe CD3 est formé de plusieurs peptides invariants: les chaînes  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  et  $\zeta/\eta$ . Les chaînes  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  du complexe CD3, comme les chaînes du TCR, font partie de la superfamille des immunoglobulines.

Les chaînes  $\zeta$  et leur variant la chaîne  $\eta$  comportent une longue portion intracytoplasmique avec plusieurs motifs de type ITAM (*Immuno-receptor TyrosineActivation Motif*) (**Figure 14**). Ce sont les sièges de résidus tyrosine cibles de phosphorylation par des protéines kinases activées lors de la transduction des signaux d'activation qui résulte de la rencontre du TCR avec l'antigène présenté sous forme de peptide au sein des molécules d'histocompatibilité (CMH).



**Figure 14:** Le complexe TCR (Lelièvre et *al.*, in Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018).

### II.2.2.3. Les sous-types de lymphocytes T

Les lymphocytes T sont identifiés par la molécule de surface CD3 et sont constitués de deux populations CD4 et CD8.

- **Les lymphocytes auxiliaires T helper (Th CD4 +)** exprimant la molécule CD4 sont subdivisées en sous populations **Th1**, **Th2**, **Th9**, **Th17** et **T régulateurs (Treg)**, chacun avec un profil cytokinique caractéristique (production de cytokines caractéristiques de chaque population).

- ✓ **Les cellules Th1** sécrètent l'IFN- $\gamma$  et créent un milieu dans lequel les effecteurs cytotoxiques clés tels que macrophages, cellules tueuses naturelles (NK) et lymphocytes T CD8 + cytotoxiques sont activés, générant une immunité à médiation cellulaire.
- ✓ **Les cellules Th2** sécrètent l'IL-4 et l'IL-10 (et d'autres cytokines), elles aident les lymphocytes B amorcés à l'antigène à se différencier en plasmocytes et à sécréter des anticorps, les molécules effectrices des réponses humorales.
- ✓ **Les cellules Treg**, avec le phénotype CD4 + CD25 +, expriment le facteur de transcription signature FOXP3 et sécrètent généralement l'IL-10 et le TGF- $\beta$ . On pense que les cellules avec ce phénotype reconnaissent les auto-antigènes et fonctionnent pour empêcher l'auto-immunité et sont également impliquées dans les infections virales chroniques, l'allergie, la transplantation et la malignité.
- ✓ **Les cellules Th17** ce sont des cellules récemment décrites impliquées dans l'inflammation par l'élaboration de cytokines pro-inflammatoires et interagissent avec l'IL-23. Des cellules T CD4 **Th9, Th3 et Tr1** ne sont pas encore entièrement établies comme des profils distincts. Les lymphocytes Th9 produisent de l'IL-9 et peuvent être induits à partir de cellules Th2 sous l'influence du TGF- $\beta$ . Leur rôle physiologique est encore imparfaitement caractérisé.
- **La population cytotoxique CD8** : ces lymphocytes TCD8+ ont une action cytotoxique. Car elles sont capables d'induire la mort d'une cellule par l'excrétion de perforine et de sérines protéases comme les granzymes qui sont contenus dans des granules intracellulaires. Ils sont constitués de sous-populations de **Tc1 et Tc2** avec des profils de cytokines similaires à ceux des cellules Th1 et Th2.

### II.2.2.4. Activation des cellules T

La reconnaissance d'un antigène par le lymphocyte T naïf induit une réponse immunitaire primaire. Au décours de cette rencontre, le phénotype et les fonctions du lymphocyte T vont être modifiés et deux différents types de populations lymphocytaires T vont se développer :

- **Les cellules "effectrices"** qui vont s'opposer à l'expansion de l'antigène assurent des fonctions spécialisées, telles que la sécrétion de cytokines ou encore l'aide aux lymphocytes B dans la fonction humorale (**Les lymphocytes T effecteurs "auxiliaires" de phénotype CD4**) ainsi qu'une activité cytotoxique **Les LT effecteurs "cytotoxiques" de phénotype CD8**
- **Les cellules "mémoires"** qui seront capables d'induire une réponse immunitaire rapide et efficace en cas de nouvelle rencontre avec cet antigène.

### II.3. Education des lymphocytes B

#### II.3.1. L'hématopoïèse

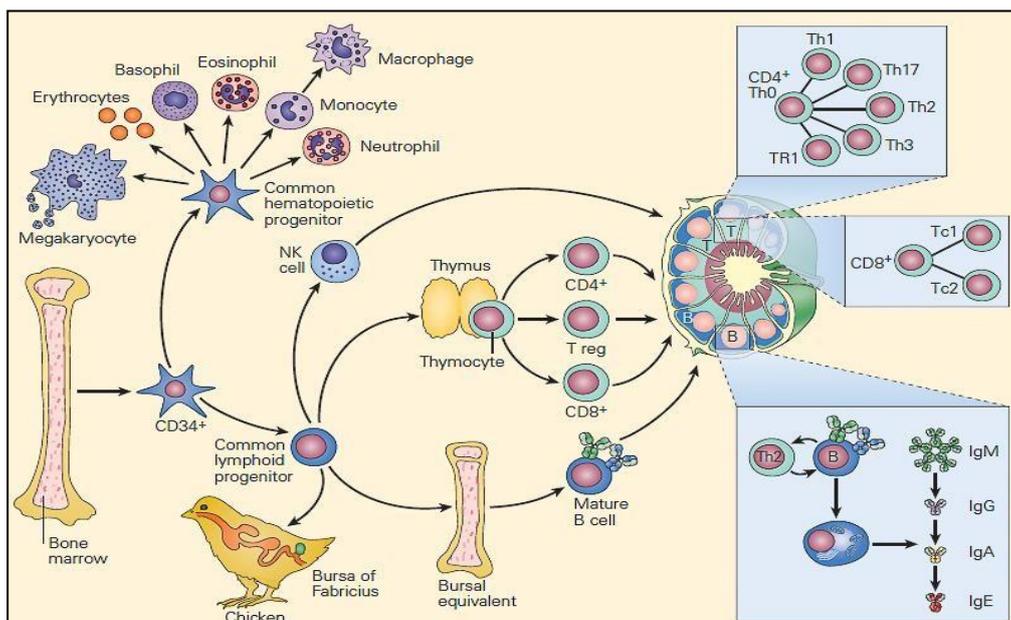
Les Cellules souches hématopoïétiques (HSC pour *Hematopoietic Stem Cells*) de la moelle osseuse sont à l'origine de toutes les cellules sanguines. Elles sont caractérisées par leur potentiel de différenciation en de multiples lignées (multipotence), leur grande capacité d'auto-renouvellement et la présence à leur surface du marqueur **CD34**.

Toutes les cellules hématopoïétiques se différencient en cellules matures à l'aide de médiateurs solubles (Cytokines) et de signaux de contact provenant de cellules stromales, à travers divers types de cellules intermédiaires qui sont définis par l'**expression d'antigènes de surface cellulaire**.

Selon le micro-environnement où se trouvent les cellules et sous l'effet de différentes cytokines, les cellules souches (CSH) vont se différencier en **précurseurs lymphoïdes** ou **précurseurs myéloïdes (figure 15)**.

- Les **précurseurs myéloïdes** vont donner naissance aux **cellules de la lignée phagocytaire** monocytes, macrophages, polynucléaires neutrophiles (PNN), cellules dendritiques. Ces cellules se retrouvent au premier rang lors d'une **réponse immunitaire** et vont **migrer par voie sanguine** jusqu'aux tissus.

- Les **précurseurs lymphoïdes** vont donner naissance aux lymphocytes B, T et « Natural killer ». Ces cellules vont gagner les organes lymphoïdes où va avoir lieu la maturation des lymphocytes.



**Figure 15:** Ontogénèse du système immunitaire montrant la différenciation des cellules progénitrices en cellules lymphopoïétiques et immunocompétentes (reproduit avec l'autorisation de Bellanti, 2012 in [www.immuopaedia.org](http://www.immuopaedia.org)).

II.3. 2. L'ontogénèse des lymphocytes B

L'ontogénèse des lymphocytes peut être subdivisée en deux phases principales, dépendantes ou non de la présence d'antigène (**figure 16**).

- La première phase de différenciation et de maturation des lymphocytes B est indépendante de l'antigène. Elle se déroule dans **la moelle osseuse** et aboutit à la génération de **lymphocytes B matures naïfs** exprimant une immunoglobuline de surface capable de reconnaître un antigène.
- La seconde phase d'activation et de différenciation finale est **dépendante des antigènes du soi** d'abord puis du non-soi en périphérie, au niveau des organes lymphoïdes secondaires. Elle aboutit à la formation de **plasmocytes et de cellules B mémoires spécifiques d'un antigène**.

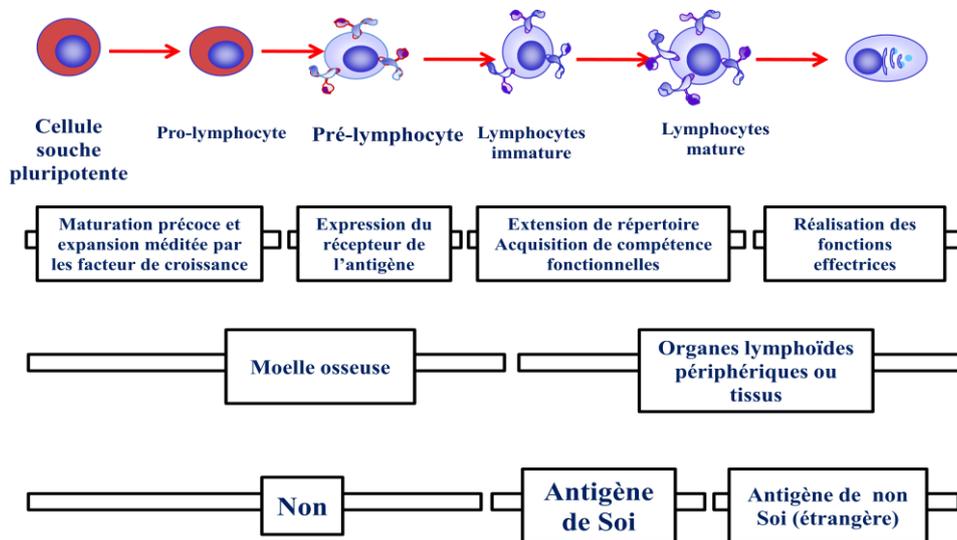


Figure 16 : Schéma général de l'ontogénèse des lymphocytes

Les stades de différenciation des lymphocytes B sont comme suit (**Figure 17**) :

- **Les progéniteurs lymphoïdes communs (CLP: Common Lymphoid Progenitor)**

Les premières étapes du développement sont strictement dépendantes du microenvironnement particulier apporté par les cellules stromales de la moelle osseuse. Ces cellules régulent la croissance, la maturation et la survie des précurseurs par l'intermédiaire de facteurs solubles (IL-7, *Stem Cell Factor* ou SCF, SDF-1). Le contact direct avec les cellules stromales de la moelle osseuse est nécessaire pour fournir les signaux environnementaux corrects pour que la **cellule pro-B se différencie davantage**.

Les cellules souches lymphoïdes se développent en :

▪ **Le stade pré-pro-B**

L'expression du gène codant pour  $Ig\alpha$  (CD79a) est détectée dès ce stade sous forme de protéines CD79a intracytoplasmiques, molécule importante pour la transduction du signal via le récepteur d'antigène

▪ **Le stade pro-B**

Les cellules pro-B commencent à réarranger les gènes de la partie variable des  $\mu H$  ce qui permettra la synthèse d'une chaîne lourde  $\mu$  intracytoplasmique. Ce stade se caractérise également par l'apparition du CD19 (considéré comme un marqueur très spécifique des cellules de la lignée B à l'exception des plasmocytes) et l'expression faible de CD79a et CD79b à la membrane plasmique. Les cellules pro-B expriment également à leur surface une pseudo chaîne légère.

▪ **Le stade pré-B**

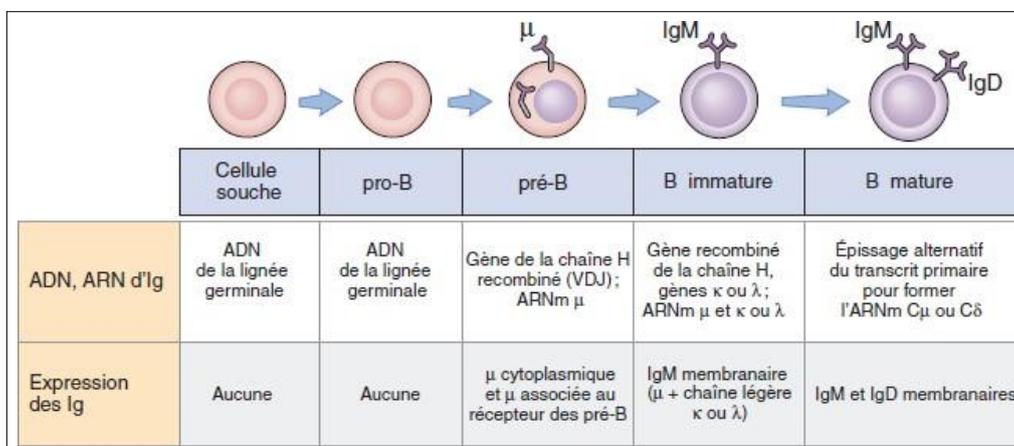
Durant ce stade, le peptide de la chaîne H s'assemble avec le substitut de la chaîne L pour former le récepteur de la cellule **pré-B**. le pré-BCR marque un point de contrôle important dans le développement des lymphocytes B.

En effet, seules les cellules pré-B qui expriment un récepteur compétent de point de vue structural sont autorisées à suivre leur maturation.

▪ **Le stade B immature**

Les gènes des régions variables des chaînes légères **kappa et lamda** se réarrangent en une classe de chaîne légère qui est traduite et transcrite en une protéine. Ceci entraîne l'apparition de l'**IgM** sur la surface de la cellule B, le récepteur de l'antigène de la cellule. L'expression de l'IgM membranaire ou de surface (IgMs) définit la **cellule B immature**.

Au cours de sa maturation, il passe du statut de **lymphocyte B immature**, à celui de **lymphocyte B mature naïf**.



**Figure 17:** Les stades de maturation des lymphocytes B (Abbas et al., 2013).

La maturation lymphocytaire B dans la moelle osseuse mène également à l'expression de marqueurs membranaires spécifiques du lymphocyte B, comme **CD79**, **CD19**, **CD21 (récepteur CR2 du complément)** et **CD81**, participant à la signalisation du récepteur lymphocytaire B, et CD20 (à partir du stade pré-B).

Ceux qui survivent se différencient en deux sous-populations:

1. une cellule B1 (CD19 + CD5 + sIgM +) qui migre dans les organes lymphoïdes périphériques en tant que cellule B1;
2. une cellule B2 (CD19 + sIgM + IgD de surface (sIgD +) qui migre dans les organes lymphoïdes périphériques en tant que cellule B2 (figure 1).

Les lymphocytes B naïfs sortent de la moelle osseuse et gagnent les organes lymphoïdes secondaires où elles pourront subir les dernières étapes de maturation. Ces cellules répondent aux antigènes par la prolifération et la différenciation en plasmocytes, cellules sécrétrices d'anticorps et lymphocyte B mémoire.

### II.3.3. Education du lymphocyte B

D'une façon générale, l'induction de la tolérance nécessite l'éducation des cellules B et T, qui se trouvent dans les organes et tissus lymphoïdes centraux (moelle osseuse, thymus) et périphériques (rate, ganglions lymphatiques). Les mécanismes d'induction et de maintien de la tolérance diffèrent entre les cellules B et T, et entre les organes lymphoïdes centraux et périphériques. Les lymphocytes deviennent alors immunocompétents ou tolérants aux antigènes rencontrés.

- **Dans la moelle osseuse (tolérance centrale)**

Les mécanismes de tolérance centrale visent à éliminer des lymphocytes B ayant une réactivité contre les antigènes du soi par sélection négative.

Les cellules B qui reconnaissent les auto-antigènes sont éliminées par apoptose ou deviennent anergiques. La moelle osseuse est donc à la fois le lieu de naissance et le cimetière de nombreux lymphocytes B non fonctionnels ou auto-réactifs.

Les cellules B autoréactives qui échappent à la sélection négative font partie du répertoire immunitaire le plus diversifié. Les cellules B sont encore immatures lorsqu'elles se déplacent de la moelle osseuse vers les zones des cellules T de la rate.

- **Éducation splénique (tolérance périphérique)**

L'étape d'éducation splénique a surtout été étudiée chez la souris. Dans la rate, les lymphocytes B passent du **stade transitionnel de type 1 (T-1)** au stade transitionnel de type 2, en fonction de l'affinité du BCR pour les antigènes du soi (sélection négative) et de l'importance des signaux de survie, comme le taux de BAFF (B cell activating factor of the

TNF family. Une population de cellules B transitionnelles a récemment été mise en évidence chez l'homme.

### II.3.4. Le répertoire de lymphocytes B

Le répertoire lymphocytaire B d'un individu comporte plusieurs millions de lymphocytes B se distinguant par la spécificité de leur immunoglobuline. La diversité du BCR résulte de recombinaisons des segments de gènes codant les chaînes lourdes et légères qui le constituent. Les régions constantes des différentes chaînes lourdes et légères sont invariables, alors que les régions variables sont différentes d'une immunoglobuline à l'autre et spécifiques chacune d'un épitope antigénique.

## II. 4. Education des lymphocytes T à l'intérieur du thymus

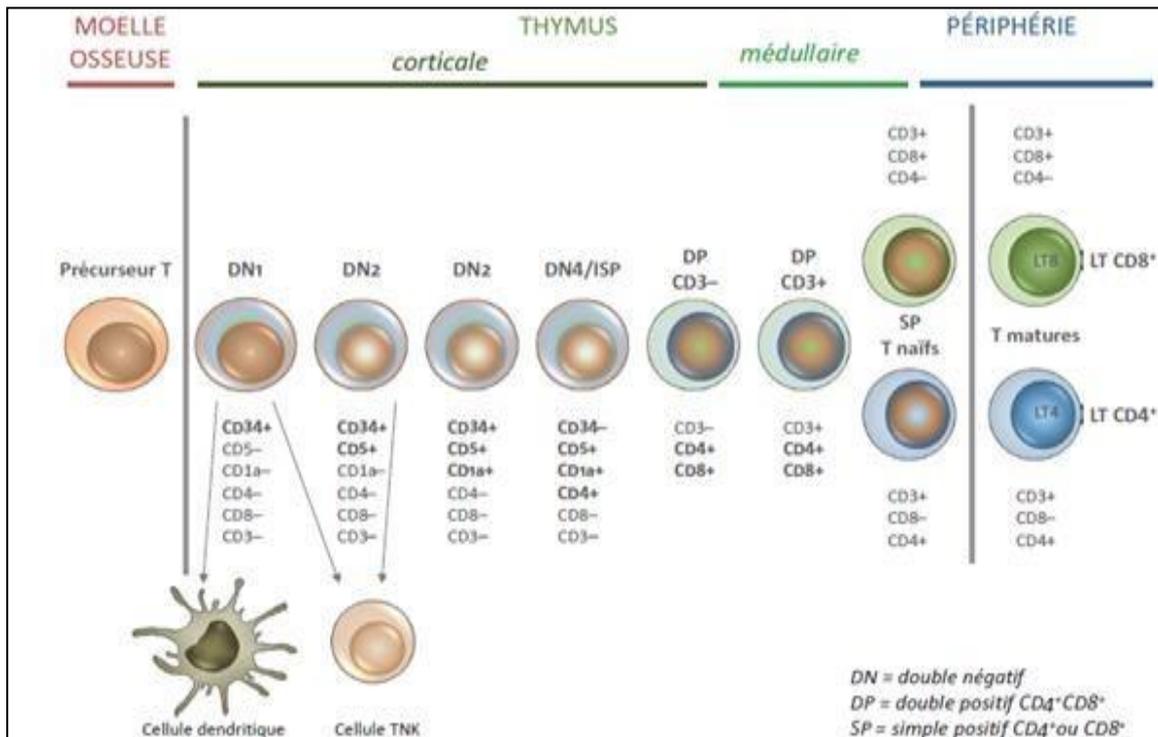
### II.4. 1. Stades de différenciation des lymphocytes T

Une fois dans le thymus, les cellules souches se différencient en lymphocytes T thymiques appelés **thymocytes** sous l'effet du micro-environnement épithélial thymique.

Au cours du processus de différenciation, les thymocytes migrent de la périphérie (**cortex**) vers le centre (**medulla**) du thymus. Ces étapes se caractérisent par l'expression séquentielle d'**antigènes de différenciation 'CD', cluster of differentiation'** (**figure 18**).

Les thymocytes passent ainsi d'un stade immature (**la cellule pro-T**) caractérisé par l'absence d'expression des marqueurs CD3, CD4 et CD8 à un stade de transition double positif (DP) pour CD4 et CD8. Cela inclut la recombinaison somatique des gènes TCR, qui aboutit à la transformation d'une cellule CD3 +, CD4 - CD8 - double négative (DN) en une population majeure de lymphocytes T CD3 + CD4 +, CD8 + double positif (DP) exprimant un TCR $\alpha\beta$  et une population mineure de cellules CD3 + CD4-, CD8- DN  $\gamma\delta$ T.

Les cellules DP migrent à travers le cortex vers la médulla; elles subissent une sélection positive deviennent des cellules simple positif (SP) CD4 ou SP (CD8) dans la médulla.



**Figure 18 :** La sélection thymique (Lelièvre et *al.*, in Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018).

La population CD3 + CD4 +, CD8 + DP se différencie encore en trois types cellulaires :

- **une cellule T CD3 +, CD4-, CD8 + simple positive (SP)** qui migre vers les tissus périphériques en tant que population cytotoxique CD8 + T (Tc);
- **une cellule T CD3 +, CD4 +, CD25 + SP** qui migre vers les tissus périphériques en tant que population T régulatrice (Treg);
- **une cellule T «CD3 +, CD4 +, CD8- SP»** qui migre vers les tissus périphériques en tant que population CD4 + T auxiliaire (Th).

La transformation de cellules précurseurs en sous-populations Tc, Treg et Th impliquent chacune des signaux fournis par des cytokines et par liaison à CMH-I ou CMH-II sur les cellules épithéliales du thymus.

Les cellules T CD4+ et CD8+ matures, mais naïves, quittent ensuite la médulla en drainant les vaisseaux sanguins dans la circulation périphérique.

Dans les tissus lymphoïdes périphériques, les cellules Tc CD8 + interagissent avec l'antigène traité par les cellules présentatrices d'Ag (CPA), par exemple les CD, par la voie endogène et présenté sur le CMH-I.

Le Tc peut en outre se différencier en sous-populations cytotoxiques T, par exemple, Tc1, Tc2, Th17 et autres en fonction de leur sécrétion de cytokines.

Les cellules CD4 + Th interagissent avec l'antigène traité par les CPA par la voie exogène et présenté sur le CMH-II. Th peut en outre se différencier en sous-populations Th1, Th2, Th17 et Treg (induite).

La cellule T CD3 +, CD4 +, CD25 + SP migre finalement vers les tissus périphériques et fonctionne comme une population naturelle de Treg «naturelle». La génération de Treg dans la médulla se fait par anergie des thymocytes recevant une signalisation intermédiaire par le TCR, pour l'auto-peptide lié au CMH présenté par les CPA.

*In fine*, les cellules naïves, CD4 ou CD8 gagnent les organes lymphoïdes secondaires où elles se différencieront en cellules mémoires après activation antigénique.

### II.4.2. Les étapes de la sélection thymique

Ces étapes visent à conserver un répertoire de lymphocytes T fonctionnelles capables de reconnaître un grand nombre d'antigènes étrangers ou du soi modifiés (antigènes tumoraux) et de survivre en périphérie, mais ne reconnaissant pas les antigènes du soi (autoantigènes)

A. **La sélection positive:** est un processus qui **se produit dans le cortex thymique au stade DP du développement des thymocytes**. Des antigènes du soi sont présentés par les cellules épithéliales corticales aux thymocytes DP. Ces auto-antigènes sont des protéines du tissu de l'hôte exprimées sur l'épithélium thymique sous la régulation du facteur de transcription régulateur auto-immun (AIRE). Les cellules T dont les TCR possèdent une affinité modérée aux complexes auto-peptide-MHC sur l'épithélium thymique reçoivent un signal de survie (sélection positive)

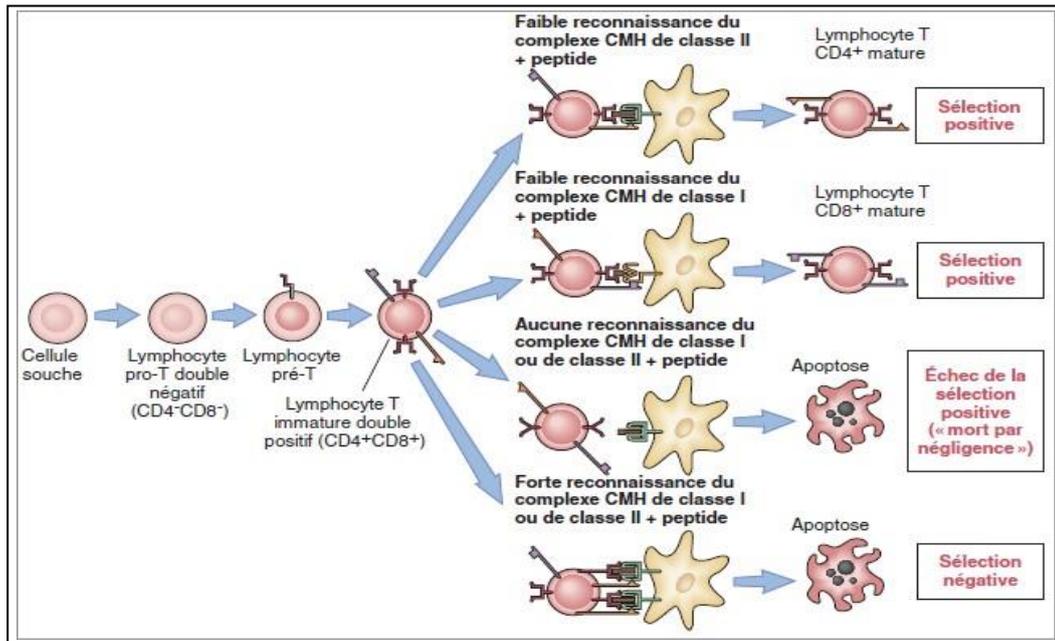
### B. Étapes de sélection des lymphocytes T restreintes par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

L'engagement vers la lignée T CD4 + ou T CD8 + dépend de la classe de molécule du CMH que rencontre la cellule T (**figure 19**).

- Si une cellule T CD4 + CD8 + reconnaît une molécule de classe I, l'expression de CD4 va être perdue et la cellule va devenir une cellule T CD8.
- Si une cellule T CD4 + CD8 + reconnaît une molécule de classe II, l'expression de CD8 va être perdue et la cellule va devenir une cellule T CD4+.

Les cellules  $\gamma\delta$ T fonctionnent finalement comme des lymphocytes intraépithéliaux (IEL) au niveau des sites muqueux.

Les thymocytes dont le TCR ne reconnaît pas le complexe CMH-peptide du soi ne reçoivent pas de signal de survie et meurent.



**Figure 19:** Étapes de sélection des lymphocytes T restreints par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (Abbas et *al.*, 2013).

### C. La sélection négative

La sélection négative se produit au **stade DP dans le cortex thymique**, ou au **stade SP dans la moelle** (compartiment médullaire). Les cellules T avec un récepteur qui se lie avec une grande avidité aux auto-antigènes sur l'épithélium thymique subissent l'apoptose. Les cellules T ayant la capacité de se lier à des molécules du CMH du soi associés aux peptides du soi exprimés par les cellules épithéliales du thymus, les cellules dendritiques ou les macrophages sont éliminées par apoptose.

Chaque cellule T qui survit à une sélection positive et négative dans le thymus est libérée dans la périphérie conserve son récepteur T spécifique.

### D. Sélection des cellules T périphériques

La tolérance centrale et la tolérance périphérique se produisent en tandem, dans le cas où la tolérance centrale n'est pas complètement efficace ; en partie parce que tous les auto-antigènes ne sont pas exprimés dans le thymus. Plusieurs clones autoréactifs se trouvent dans le sang périphérique. Les clones autoréactifs peuvent potentiellement s'activer et proliférer. Les mécanismes périphériques de tolérance éliminent ou suppriment les clones autoréactifs qui s'échappent à la périphérie. Ces mécanismes comprennent :

- a. **Suppression clonale :** le mécanisme engagé pour éliminer les clones de lymphocytes T activés est la mort cellulaire induite.

- b. **Ignorance** : On pense que les cellules T ignorent certains auto-antigènes parce qu'elles sont situées dans des sites immunitaires privilégiés ou parce qu'elles ont une faible immunogénicité.
- c. **Anergie** : l'activation des cellules T est bloquée.
- d. **la régulation immunitaire** par les Treg, ces cellules sont importantes pour le maintien de la tolérance périphérique.

### II.4.3. La migration des lymphocytes T matures naïfs hors du thymus

Les thymocytes se différencient en **lymphocytes T matures CD4+ ou CD8+** qui sortent du thymus pour circuler dans le système périphérique (sang, organes lymphoïdes).

Ces lymphocytes T sortant du thymus sont dans un état dit "**naïf**" car ils n'ont pas encore rencontré leur antigène spécifique et ils se caractérisent par l'expression du marqueur **CD45RA**. C'est à l'extérieur du thymus que les lymphocytes T sont capables de reconnaître plus d'un milliard d'antigènes différents.

### II.4.4. La circulation des Lymphocytes B et des Lymphocytes T

Les lymphocytes sont des cellules mobiles, ils circulent pour rencontrer l'antigène afin d'assurer leurs fonctions dans les organes lymphoïdes secondaires. Cette circulation se fait des organes lymphoïdes primaires (la moelle osseuse et le thymus) vers les organes lymphoïdes secondaires (rate, ganglions et muqueuses) via **la circulation sanguine** en passant par des veinules postcapillaires spécifiques appelées **high endothelial veinules (HEV)** et des organes lymphoïdes secondaires vers le sang via les vaisseaux lymphatiques. (**Figure 20**).

En effet, ces cellules lorsqu'elles n'ont pas rencontré leur antigène, elles sont appelées des cellules naïves, elles ne s'établissent pas dans un organe lymphoïde secondaire mais continuent à circuler jusqu'à ce qu'elles rencontrent leur antigène spécifique, elles pénètrent alors dans les ganglions lymphatiques.

Les **lymphocytes naïfs peuvent recirculer à travers les tissus lymphoïdes**. Ces tissus sont des structures dynamiques du fait que les lymphocytes T et B circulent continuellement dans leurs territoires. Les lymphocytes circulent également vers le MALT. **Les lymphocytes effecteurs migrent vers les sites d'infection, où les microbes sont éliminés.**

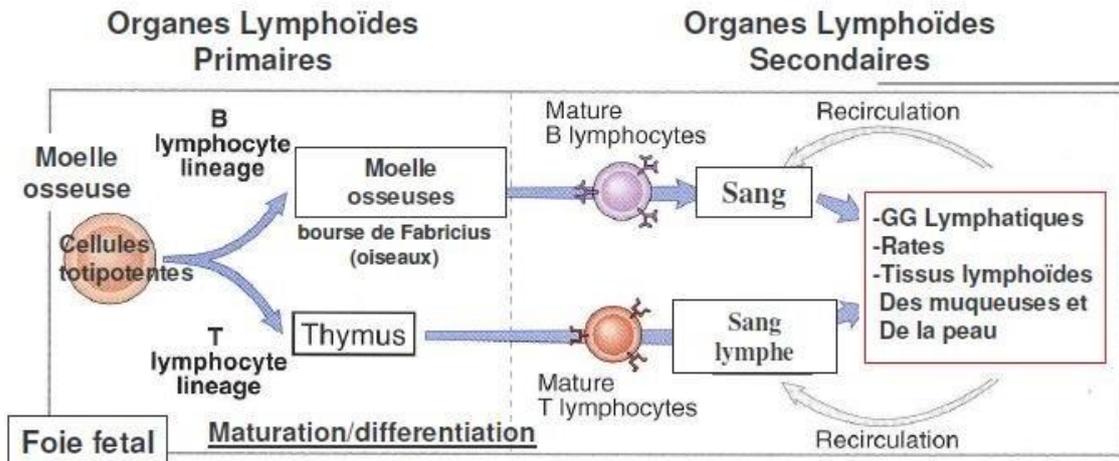


Figure 20: La circulation des lymphocytes (Abbas et Lichtman, 2009).

Les autres cellules sanguines circulent également. Les monocytes, qui se différencient en macrophages dans les tissus, et les cellules dendritiques « immatures ». Ces dernières captent l'antigène puis circulent, mais ne présentent pas l'antigène (alors que les cellules dendritiques « matures » ne circulent pas mais présentent l'antigène associé au CMH). Les lymphocytes B formés dans l'intestin reviennent vers leur muqueuse d'origine: c'est le phénomène de « homing ».

### II.5. Les cellules myéloïdes

Dans la moelle osseuse se trouvent des cellules souches pluripotentes capables de s'auto-entretenir par division cellulaire et différenciation. Chacune de ces cellules souches pluripotentes donne naissance à deux principaux progéniteurs: la cellule myéloïde et la cellule lymphoïde. Chez l'homme, la myélopoïèse commence dans le foie fœtal à environ 6 semaines de gestation. La myélopoïèse est le processus de génération, de développement et de maturation des composants myéloïdes du sang. Le processus de maturation, chez l'animal adulte, commence et se termine dans la moelle osseuse. Ce processus dépend de l'action des facteurs stimulant les colonies (CSF) et de plusieurs interleukines et des facteurs dérivés des cellules stromales de la moelle osseuse (Figure 21).

Le premier précurseur dérivait des cellules souches hématopoïétiques (CSH) appelées unités de formation des colonies (CFU) se différenciait en granulocytes, érythrocytes, monocytes, ou mégacaryocytes (CFU-GEMM).

Les cellules progénitrices myéloïdes peuvent se différencier dans la moelle osseuse en **granulocytes** (neutrophiles, éosinophiles ou basophiles), **monocytes** matures, en **mastocytes** ou en **cellules dendritiques myéloïdes** du système immunitaire inné.

Les cellules myéloïdes peuvent également se différencier **en érythrocytes, aux mégacaryocytes.**

### II.5. 1. Les granulocytes

Les granulocytes appelés polynucléaires sont des cellules à noyau polylobé appartenant à la lignée granuleuse possédant de nombreuses granulations dans leur cytoplasme. Selon l'aspect cytologique de leurs granulations spécifiques, on distingue **les polynucléaires neutrophiles, les polynucléaires éosinophiles et les polynucléaires basophiles.** Leurs fonctions dans les réactions immunitaires et inflammatoires sont très différentes.

La maturation des granulocytes est désignée par le terme **granulopoïèse.** Elle aboutit aux trois types de granulocytes matures : neutrophiles, basophiles, et éosinophiles.

La cellule souche hématopoïétique forme un progéniteur myéloïde commun (CFU-GEMM) qui va ensuite donner des progéniteurs plus spécifiques (mais non distinguables morphologiquement). Un progéniteur précoce : le **CFU-GM (granulocyte/monocyte).** L'UFC-GM peut être dirigé vers la **monopoïèse** ou vers la **granulopoïèse,** par action du facteur CSF (facteur de stimulation de la colonie). Le **CFU-GM (granulocyte/monocyte)** lui-même donnera un progéniteur tardif : **le CFU-G.** Le CFU-G se différencie ensuite en précurseurs : **le myéloblaste.** Le myéloblaste se différencie ensuite en **promyélocyte** qui se différencie en **myélocyte.** Ces trois étapes durent environ 5 jours. Le granulocyte achève sa maturation par la différenciation **du myélocyte en métamyélocyte** puis enfin **en granulocyte.** Cette dernière phase se déroule sur environ 7 jours.

Les étapes de la granulopoïèse éosinophile et basophiles sont identiques à l'exception des progéniteurs précoces (CFU-Eo et CFU-BAS). L'UFC-Eo semble être le propre précurseur des éosinophiles, indépendant du reste des cellules granulocytaires. Ce précurseur commence son chemin vers la maturation par l'action du facteur stimulant spécifique CSF-Eo. Le contrôle de la granulopoïèse est sous la dépendance de nombreux facteurs, parmi lesquels :

- Le G-CSF contrôle l'engagement dans la lignée granuleuse ;
- Le GM-CSF à un effet plus large, il stimule la lignée granuleuse et monocyttaire ;
- La lactoferrine induit quant à elle l'inhibition de la lignée granuleuse.

L'UFC-EM érythrocyte-mégacaryocyte peut être dirigé vers la ligne érythroïde (UFC-E) par stimulation de l'érythropoïèse par l'érythropoïétine, ou vers la lignée mégacaryocytaire (CFU-Meg), par l'action principale de la thrombopoïétine (thrombopoïèse).

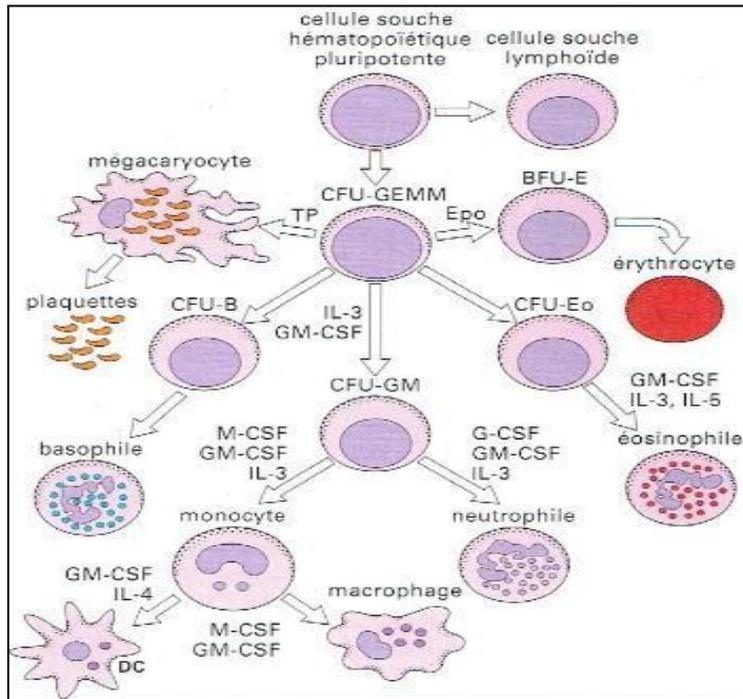


Figure 21: Développement des granulocytes et des monocytes (Male et al., 2007)

### II.5. 2. Les monocytes

Les macrophages descendent d'ancêtres monoblastes qui se différencient en promonocytes puis en monocytes (figure 22). Les monocytes résultants passent de la circulation sanguine aux tissus et deviennent des macrophages des tissus résidents matures.

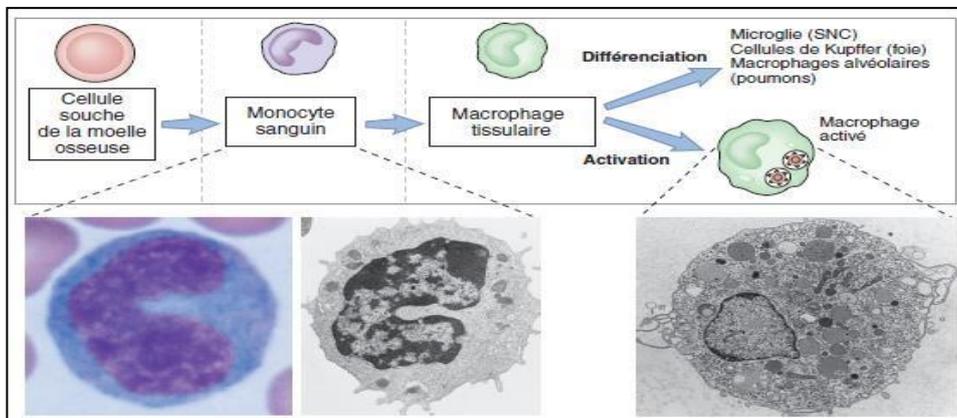


Figure 22: La maturation des monocytes. (D'après Fawcett DW. Bloom & Fawcett text book of histology, 12<sup>e</sup> éd. Philadelphie : WB Saunders ; 1994.in Abbas et Lichtman ,2009).

### II.5.3. Les cellules dendritiques : Ces cellules dérivent d'un progéniteur hématopoïétique.

Au cours de la différenciation dans la moelle osseuse, les précurseurs s'orientent soit vers la lignée monocytaire, soit vers la lignée dendritique. Le progéniteur des cellules dendritiques, appelé DCP (*common-Dendritic Cell Progenitor*), génère les cellules dendritiques myéloïdes (mDC) et des cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC).

*III. Le complexe d'histocompatibilité  
majeur*

### III.1. Introduction

Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH), joue un rôle majeur dans l'immunité. Il a été découvert comme le principal locus génique déterminant la prise ou le rejet de greffons tissulaires entre des individus. Il a été découvert par Jean Dausset en 1958 pour sa capacité à induire le rejet de greffe allogénique.

### III.2. Définition

Les molécules du CMH sont des glycoprotéines codées par un grand groupe de gènes situés sur le bras court du chromosome 6 (6p21.31) chez l'homme et le chromosome 17 chez la souris. Chez l'homme, il contient plus de 200 gènes (figure 1). Pour cette raison, le complexe génique a été appelé «complexe majeur d'histocompatibilité». Le CMH (appelé complexe **H-2 chez la souris**) a été reconnu pour la première fois en 1937. Les protéines du CMH rencontrées chez l'homme portent le nom d'**antigènes leucocytaires humains** (Human Leukocyte Antigen (**HLA**)), car ces protéines ont été découvertes comme des antigènes leucocytaires (des différences antigéniques entre les globules blancs de différents individus) identifiés par des anticorps

### III.3. Les régions du CMH

Le CMH se compose de trois sous-régions du centromère au télomère : celles de classe II, de classe III et de classe I (par ordre de découverte) (**Figure 23**).

- **Les gènes de classe II** (la plus centromérique) comprennent des gènes principaux codant pour les **molécules HLA-DR, HLA-DQ et HLA-DP** ainsi que d'autres gènes codant pour des molécules intervenant dans la présentation des antigènes, comme TAP1 et TAP2.
- **Les gènes de classe III** (intermédiaire) contiennent **des éléments du complément (C4A, C4B, C2 et FB)**, des molécules de l'inflammation (**TNF $\alpha$**  et  $\beta$ ) et des protéines de choc thermique (HSP70).
- **Les gènes de classe I** (la plus télomérique) comportent les gènes majeurs d'histocompatibilité codant pour les molécules **HLA-A, HLA-B et HLA-C** (**molécules HLA dites « classiques »**), ainsi que des gènes HLA mineurs tels que HLA-E, HLA-F, HLA-G et MIC (molécules dites « non classiques »).

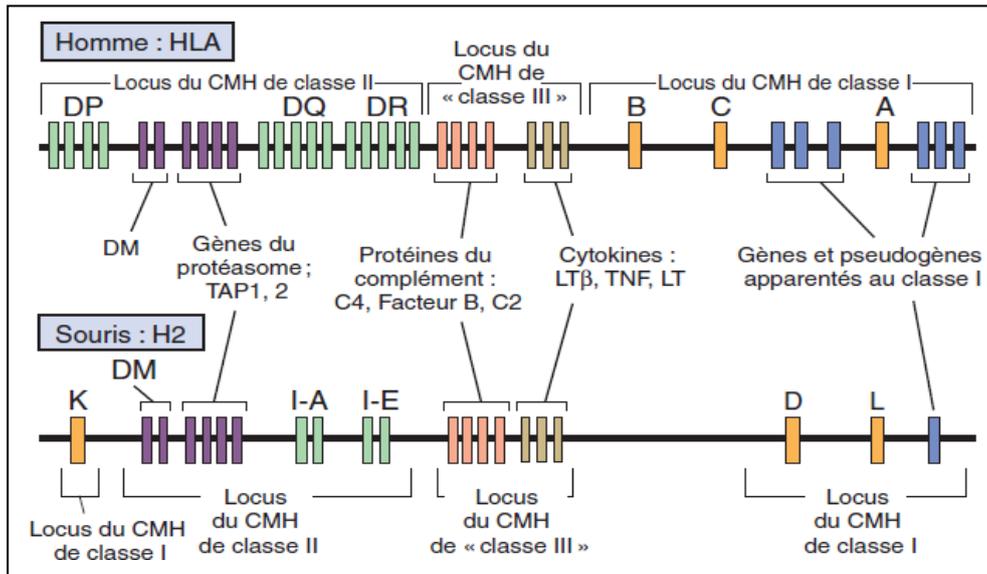


Figure 23: Gènes du locus du CMH (Abbas et *al.*, 2013).

### III.4. Caractéristiques du CMH

- **La polygénie** : Le CMH est polygénique, présence de plusieurs gènes exprimés de manière simultanée avec des fonctions similaires.
- **Le polymorphisme** : le CMH est extrêmement polymorphique, un grand nombre de formes alléliques à chaque locus.
- **Transmission « en bloc »** : L'ensemble des gènes HLA de l'un des chromosomes 6 paternels et de l'un des chromosomes 6 maternels est donc transmis sous forme d'haplotype (« bloc ») aux enfants, selon les lois de Mendel. Pour la même raison, il existe un déséquilibre de liaison positif entre les allèles de gènes HLA différents. Par exemple, dans la population caucasienne HLA-A1 est très souvent associé à HLA-B8 et HLA-DR17. Ceci signifie que la probabilité de trouver associés deux allèles particuliers est supérieure au simple hasard.
- **La codominance**: les deux allèles parentaux de chaque gène du CMH sont exprimés (chaque allèle exprimé est en général exprimé de la même façon: pas de gène dominant ou récessif). Ces gènes sont considérés comme co-dominants (leurs allèles sont toujours exprimés quand ils sont présents) et fortement polyalléliques (2 128 allèles pour l'ensemble des gènes de classe I et 954 allèles pour l'ensemble des gènes de classe II)

## III. 5. Localisation des molécules du CMH

### III.5.1. Les molécules du CMH de classe I

Elles sont **ubiquitaires** car elles sont exprimées par toutes les cellules nucléées de l'organisme (Absentes au niveau des globules rouges, moins bien exprimées au niveau des

cellules de la spermatogénèse et du cerveau, ni au niveau de la cornée). Des variations quantitatives sont notables : les lymphocytes T et B, les cellules dendritiques (CD) et les macrophages sont parmi les plus riches en molécules HLA de classe I.

### III.5.2. Les molécules du CMH de classe II

Les molécules de classe II sont exprimées sur les cellules épithéliales thymiques et les cellules endothéliales. Elles peuvent être induites sur d'autres types cellulaires par une cytokine, l'interféron- $\gamma$ . Elles ne sont exprimées constitutivement que par les cellules présentatrices d'antigènes professionnelles (cellules dendritiques, monocytes/macrophages et lymphocytes B).

### III.6. Structure des molécules du CMH

Bien que la composition des sous-unités des molécules de classe I et de classe II soit différente, **leur structure générale est extrêmement similaire.**

#### III.6.1. Molécule de CMH classe I

LA molécule de CMH I est composée d'une chaîne  $\alpha$  liée de manière non covalente à une protéine appelée  $\beta$ 2-microglobuline.

- La **chaîne  $\alpha$**  (ou chaîne lourde) est codée par les gènes HLA-A, HLA-B et HLA-C. Elle est **polymorphique**. Elles présentent trois domaines « immunoglobuline-like »  **$\alpha$ 1**,  **$\alpha$ 2** et  **$\alpha$ 3**. Les domaines  **$\alpha$ 1** et  **$\alpha$ 2 amino-terminaux** de la molécule de classe I du CMH forment un site de liaison au peptide en forme de sillon, qui est suffisamment large pour accueillir des **peptides de 8 à 11 acides aminés** pour les présenter aux lymphocytes T (**figure 24**). Le **domaine  $\alpha$ 3** est constant, il contient le site de liaison **au corécepteur CD8** des lymphocytes T.

- La **chaîne  $\beta$**  (ou chaîne légère) qui est **non-polymorphique** (elle est invariable). Elle est codée par un autre **gène non présent dans le CMH** et assure un maintien de la conformation. Cette chaîne est dite  **$\beta$ 2-microglobuline** et possède un domaine « immunoglobuline-like »:  **$\beta$ 2m**.

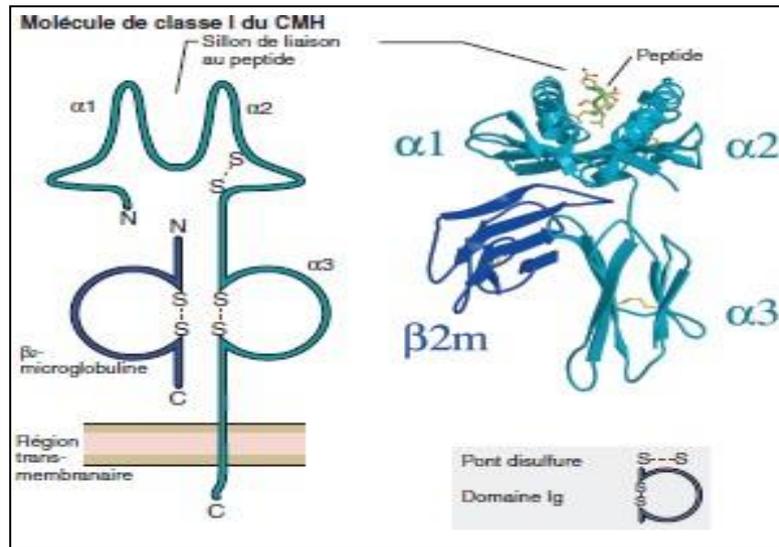
Les molécules du CMH-I sont constituées de **4 parties** caractéristiques :

- **La région de liaison au peptide antigénique** ou **région PBR** (pour *Peptide Binding Region*) est formée par les domaines  **$\alpha$ 1** et  **$\alpha$ 2** qui forment une cavité dans laquelle ira se loger le peptide antigénique.

- **La région immunoglobuline-like** est formée par les domaines  **$\beta$ 2m** et  **$\alpha$ 3** et est la région qui fixe le **CD8**.

- **La région transmembranaire** qui est unique, la chaîne  $\beta$ 2m ne présentant pas de segment transmembranaire.

- **La région intra-cytoplasmique** qui également unique pour les mêmes raisons que pour la région transmembranaire

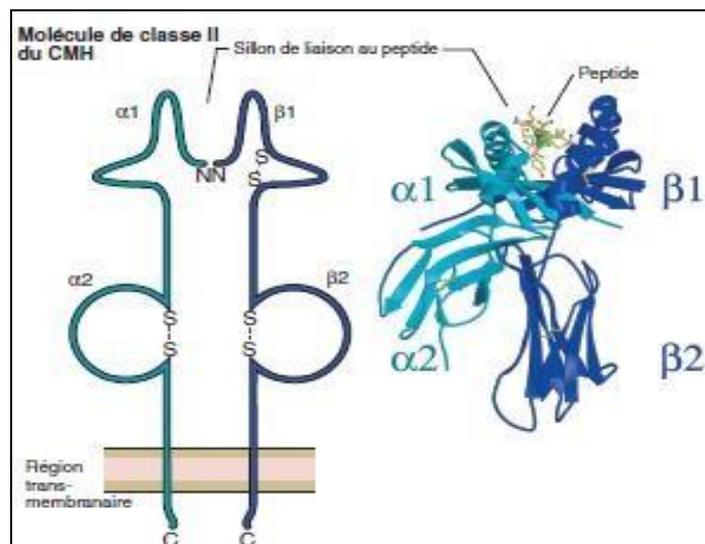


**Figure 24 :** Structure des molécules du CMH de classe I. Les modèles (à droite) des structures cristallines des molécules du CMH de classe I (Abbas et Lichtman, 2009).

### III.6.2. Les molécules du CMH de classe II

Ces molécules sont composées de deux chaînes polypeptidiques  $\alpha$  et  $\beta$ , qui présentent toutes deux des domaines « immunoglobuline-like » codées toutes les deux par le CMH. Elles sont associées de manière non covalente :

- La chaîne  $\alpha$  présente deux domaines « immunoglobuline-like » :  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$ .
- La chaîne  $\beta$  présente deux domaines « immunoglobuline-like » :  $\beta 1$  et  $\beta 2$ .



**Figure 25:** Structure des molécules du CMH de classe II. Les modèles (à droite) des structures cristallines des molécules du CMH de classe II. Abbas et Lichtman, 2009).

Les molécules du CMH-II sont constituées de **quatre régions** caractéristiques :

- **La région de liaison au peptide antigénique** ou **région PBR** (pour *Peptide Binding Region*) est formée par les domaines  $\alpha 1$  et  $\beta 1$  qui forment une cavité dans laquelle ira se loger le peptide antigénique.
- **La région immunoglobuline like** est formée par les domaines  $\alpha 2$  et  $\beta 2$  est la région qui fixe le corécepteur CD4 des lymphocytes T.
- **La région transmembranaire** constituée de deux segments, un provenant de la chaîne  $\alpha$  et l'autre de la chaîne  $\beta$ .
- **La région intra-cytoplasmique** est également constituée de deux segments pour les mêmes raisons que la région transmembranaire.
- Les régions aminotermiales des deux chaînes, portant le nom de **domaine  $\alpha 1$  et  $\beta 1$** , contiennent une gouttière suffisamment large pour recevoir des **peptides de 10 à 30 résidus**. **Le domaine  $\beta 2$**  contient le site de liaison au corécepteur CD4 des lymphocytes T (**figure1**).

**Les sillons de liaison au peptide** des molécules du CMH fixent les peptides dérivés des **antigènes protéiques** et présentent ces peptides aux **lymphocytes T**.

Les deux types de molécules du CMH contiennent des sillons de liaison au peptide et des parties invariantes qui se lient au CD8 (domaine  $\alpha 3$  de classe I) ou au CD4 (domaine  $\beta 2$  de classe II).

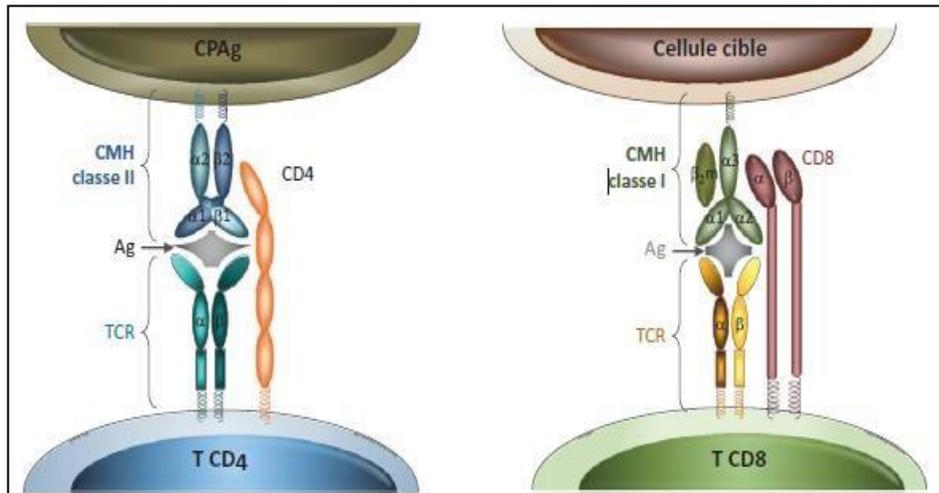
### III.7. Les fonctions des molécules du CMH

La principale fonction du CMH est de présenter des antigènes peptidiques aux lymphocytes T spécifiques de ces antigènes afin de distinguer le soi du non soi.

La reconnaissance de l'antigène est restreinte au CMH :

- ✓ Les lymphocytes T CD4 + reconnaissent un peptide antigénique présenté par une molécule de classe II. Les molécules de classe II sont présentes sur les CPA permettant l'initiation de la réponse des lymphocytes T CD4 +.
- ✓ Les lymphocytes T CD8 + reconnaissent un peptide antigénique présenté par une molécule de classe I.

Chaque molécule du CMH ne peut présenter qu'un peptide à la fois, car elle ne possède qu'un sillon, mais chaque molécule du CMH est capable de présenter de nombreux peptides différents.



**Figure 26 :** la présentation des peptides antigéniques restreinte au CMH (Labalette *et al.* in immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018).

Les molécules du CMH se chargent en peptide au cours de leur biosynthèse et de leur assemblage à l'intérieur des cellules. De plus, **les molécules du CMH de classe I fixent des peptides provenant de protéines cytosoliques.** Mais, **les molécules de classe II les acquièrent à partir de protéines se trouvant dans des vésicules intracellulaires.**

### III.8. L'apprêtement des antigènes (*processing*)

L'apprêtement correspond à l'ensemble des étapes préalables à l'enchâssement d'un peptide dans la poche à peptide.

#### III.8.1. L'apprêtement des fragments de protéines endogènes

Les antigènes intracellulaires sont présentés aux cellules T par des cellules nucléées parce que l'expression du CMH -I est ubiquitaire. Les molécules du CMH-I présentent les peptides antigéniques produits dans la cellule, correspondant soit aux

- antigènes du soi (protéines du « soi » en « fin de vie » ou défectueuses,
- les protéines mal repliées (protéines qui n'acquièrent pas leur conformation
- les protéines qui peuvent être présentes dans le cytosol après transformation maligne (protéines tumorales),
- les antigènes codés par un génome viral (provenant de **virus** mais synthétisé par la cellule).

- **Les étapes de l'apprêtement**

Les peptides endogènes **provenant du cytoplasme** sont apprêtés selon plusieurs étapes (**figure 27**) :

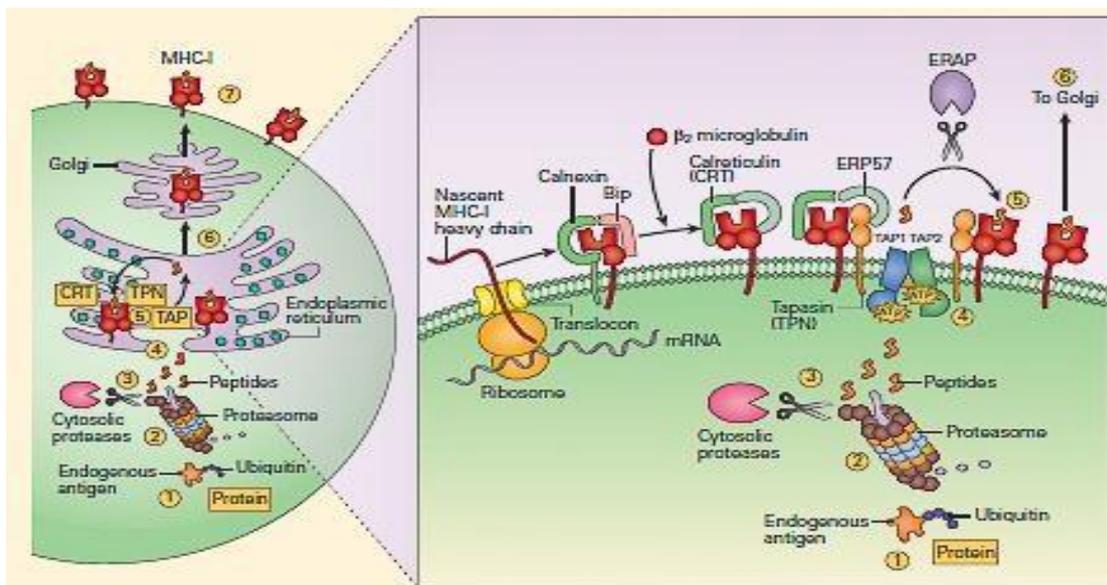
**1. La fragmentation:** après « étiquetage » des protéines à éliminer par la fixation d'ubiquitine, **Les molécules antigéniques sont dégradées par le protéasome en peptides** de taille bien définie (**9 acides aminés**). Le protéasome est un tunnel multienzymatique qui assure la dégradation de protéines en libérant des peptides de longueur variable.

**2. Translocation des peptides issus du protéasome vers le Réticulum endoplasmique :** le passage de peptides antigéniques formés dans le cytoplasme lors de la digestion préalable par le protéasome est assuré par un transporteur, ce sont les molécules **TAP-1** et **TAP-2**.

**3. La fixation du peptide antigénique dans la région de liaison au peptide antigénique :** l'un des peptides injectés dans le réticulum pourra alors s'enchaîner dans le sillon béant d'une **molécule de classe I** en cours de formation.

En effet, la chaîne lourde  $\alpha$  et la chaîne légère  $\beta$  vont être synthétisées de manière indépendante dans le réticulum endoplasmique de la cellule nucléée. Le complexe formé de la chaîne  $\alpha$  et de la chaîne  $\beta$ -microglobuline nécessitera une association avec des **protéines chaperonnes (la calréticuline, la calnexine et la tapasine)** qui serviront à maintenir la conformation.

Une fois dans la lumière du réticulum un peptide antigénique se fixera dans la région de liaison au peptide antigénique, les protéines chaperonnes se détacheront du complexe qui pourra ainsi migrer vers la membrane plasmique via l'appareil de Golgi puis vers la surface cellulaire.



**Figure 27:**L'apprêtement des peptides endogènes (Bellanti, 2012 in Immunopaedia.org).

### III.8.1. L'apprêtement des fragments de protéines exogènes

Les molécules du CMH-II vont présenter les peptides antigéniques produits à l'extérieur de la cellule, correspondant à des agents pathogènes ou à des corps apoptotiques.

Les **peptides exogènes** provenant du **milieu extracellulaire** sont internalisés par **endocytose (phagocytose)**. L'antigène sera dégradé par le **système endo-lysosomal** en **peptide de taille variable** (entre 12 et 25 acides aminés). Cette dégradation est assurée par les cathepsines et d'autres protéases acides.

○ les molécules du CMH-II synthétisées de manière indépendante dans le réticulum endoplasmique de la **cellule présentatrice d'antigène** avec l'aide du chaperon **Calnexine** vont former un complexe avec la **chaîne invariante**. Cette chaîne invariante possède un segment transmembranaire et un fragment appelé **fragment CLIP** qui s'associera avec la région **de liaison au peptide antigénique (figure 28)**.

○ Ce complexe migrera vers l'appareil de Golgi qui formera une vésicule d'endocytose caractéristique, la **vésicule de classe II (CIIV)**. Cette vésicule sera responsable de la dégradation de la chaîne invariante par des cathepsines, mais **sans dégrader le fragment CLIP** qui bloquera alors la cavité.

○ Le complexe est ensuite fusionné avec le HLA-DM (DM). Le HLA-DM facilite l'insertion du peptide dans la cavité du CMH-II remplaçant le CLIP. Une molécule du CMH chargée de peptide est transportée puis exprimée sur la surface de la **cellule présentatrice d'antigène**

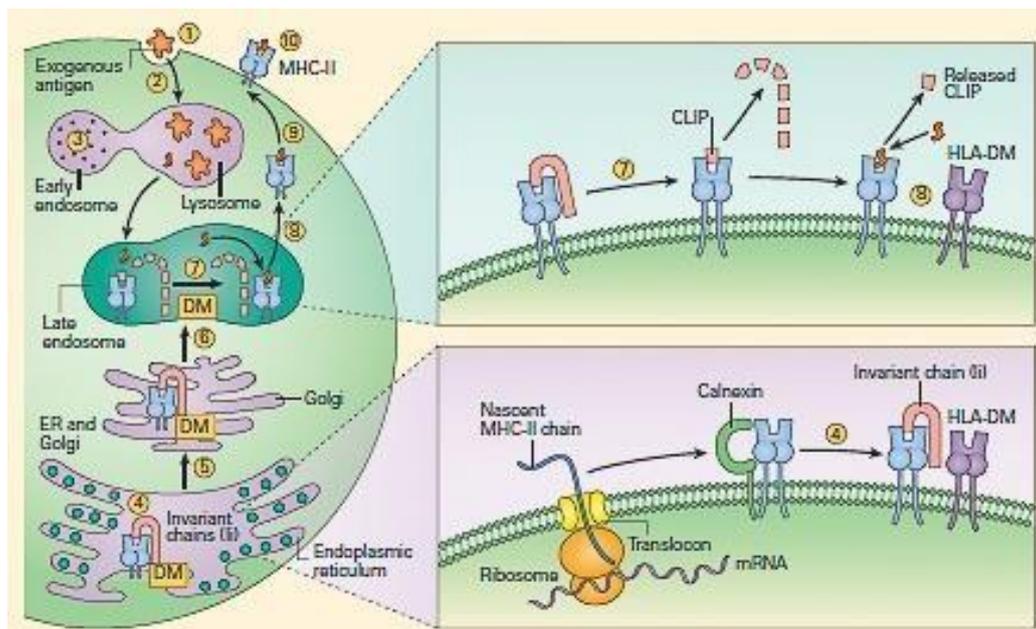


Figure 28: L'apprêtement des peptides exogènes (Bellanti, 2012 in Immunopaedia.org).

### III.9. Les molécules CD1

A côté des molécules de classe 1 et de classe 2 du CMH, il existe d'autres molécules ayant la capacité de présenter des antigènes, ce sont les **molécules CD1**. Ces molécules sont structurellement proches des molécules de classe 1 du CMH mais elles sont **invariantes**, bien qu'il en existe plusieurs isotypes. Elles ont la caractéristique de présenter des **lipides** et des **glycolipides** qui seront reconnus par le TCR présenté par les **cellules NKT** et les lymphocytes présentant un **TCR- $\gamma\delta$** . Parmi les lipides reconnus on compte les glycosphingolipides d'origine bactérienne, ou d'origine endogène produit lors de l'interaction avec des bactéries.

## *IV. La réponse immunitaire non spécifique*

### IV.1. Les cellules intervenantes dans l'immunité innée

#### IV.1.1. Introduction

La réponse immunitaire innée est la première réponse mise en place par l'organisme suite à une agression (invasion microbienne, lésion tissulaire, brûlure physique ou chimique...). Elle fournit non seulement les défenses initiales contre les infections, mais également informe le système immunitaire adaptatif afin qu'il réponde aux différents microbes par des mécanismes efficaces pour les éliminer. À l'inverse, la réponse immunitaire adaptative utilise souvent les mécanismes de l'immunité innée pour éliminer les agents infectieux. Il existe par conséquent un échange **bidirectionnel** constant entre **l'immunité innée et l'immunité adaptative**.

#### IV.1.2. Caractéristiques de l'immunité innée

Elle est basée sur les mécanismes de défense présents dès **la naissance et génétiquement héritée**. Elle joue un rôle majeur dans la mise en place des réponses immunitaires adaptatives et les processus de réparation tissulaire/cicatrisation.

- Elle fournit une réponse **immédiate**. Elle permet une réponse rapide et prend place immédiatement au lieu de l'agression aussi bien dans les tissus que dans le sang pour une efficacité optimale.
- Contrairement à l'immunité adaptative, Elle est **non spécifique** pour une structure microbienne particulière (efficace sur un grand nombre de pathogènes),
- Elle **n'est pas douée de mémoire**.
- Non augmentée par une seconde exposition

#### IV.1.3. Les différents types de cellules intervenantes dans l'immunité innée

L'immunité innée repose sur des mécanismes humoraux solubles et cellulaires. Ces éléments jouent des rôles différents mais complémentaires dans le blocage de l'entrée des microbes et dans l'élimination de ceux qui ont réussi à pénétrer dans les tissus de l'hôte. L'activation de l'immunité innée constitue la réponse **inflammatoire**.

La majorité des cellules de l'immunité innée sont **d'origine myéloïde**. Il s'agit des phagocytes mononucléés (monocytes/macrophages, cellules dendritiques et polynucléaires ou granulocytes). Il existe également des cellules **d'origine lymphoïde** comme les cellules *Natural Killer* (NK), les *Innate Lymphoid Cells* (ILC) ou les cellules dendritiques plasmacytoïdes. Les cellules de l'immunité innée ne sont pas uniquement impliquées dans l'élimination du non soi mais jouent également un rôle crucial dans la régulation des réponses immunitaires, ainsi que dans le remodelage tissulaire.

### IV.1.3. 1. Les phagocytes

Les deux types de phagocytes circulants, les **monocytes** et les **neutrophiles** sont des cellules sanguines qui sont **recrutées** au niveau des sites d'infection, où ils reconnaissent et ingèrent les microbes afin de les détruire à l'intérieur de la cellule.

- **Les phagocytes mononuclés (Les monocytes/macrophages)**

**Les monocytes dérivent de la moelle osseuse et** sont continuellement libérés dans le sang. Les monocytes sont moins nombreux que les neutrophiles, leur nombre étant compris entre 500 et 1000 cellules par  $\mu\text{l}$  de sang.

**Les monocytes sont recrutées par des molécules chimiotactiques**, elles quittent la circulation et **s'activent et se différencient en macrophages dans les tissus**. Les monocytes circulants et les macrophages tissulaires sont deux stades d'une même lignée cellulaire, ils sont souvent appelé **le système monocyte/macrophage**. Ils constituent le système des phagocytes **mononuclés**. Contrairement aux neutrophiles, les monocytes qui pénètrent dans les tissus extravasculaires prolifèrent *in situ et* survivent dans ces sites pendant des périodes prolongées.

**Tableau 2:** principaux phagocytes mononuclées intra-tissulaires.

Localisation	Dénomination
Foie	Cellules de Küpfer
Cartilage	chondroclasts
Os	Ostéoclastes
Système nerveux	Cellules microgliales
Poumons	Macrophages alvéolaires
Reins	Cellules mesangiales
Organes lymphoïdes	Macrophages, Cellules dendritiques
Séreuses	Macrophages pleuraux, péritonéaux...
Tissu conjonctif	Histiocytes
Foyers inflammatoires	Macrophages mobiles, cellules géantes, cellules épithélioïdes
Membrane synoviale	Synoviocytes ou cellules bordantes A

✓ **Fonction des macrophages**

Les macrophages résidents dans les tissus conjonctifs et dans tous les organes du corps, exercent la même fonction que les phagocytes mononucléaires nouvellement recrutés à partir de la circulation.

- Les deux principales fonctions effectrices des macrophages dans la réponse immunitaire innée est la phagocytose et la production de cytokine /chimokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) .
  - Elles participent également par leur fonction de « nettoyage » des débris et des cellules mortes aux mécanismes de **résolution de l'inflammation** et à l'homéostasie tissulaire.
  - Malgré ses fonctions effectrices, le macrophage joue également un rôle important dans l'immunité adaptative car ce sont **des cellules présentatrices d'antigènes**.
- **Les cellules dendritiques (CD)** : sont des « **cellules sentinelles** » des tissus qui constituent un pont essentiel entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Elles ont été décrites par Paul Langerhans en 1868, puis les cellules dendritiques ont été identifiées dans leurs fonctions par Ralph Steinman et Zanvil Cohn en 1973. En effet, ce sont les principales CPAs aux lymphocytes T. Elles produisent de très nombreuses cytokines de la réponse inflammatoire.

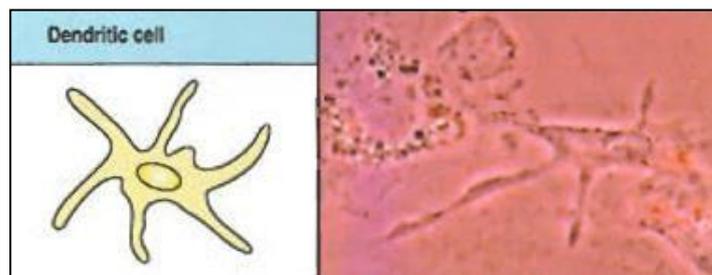


Figure 29: les cellules dendritiques (Janeway et *al.*, 2009)

### ✓ Sous types de cellules dendritiques

Il existe différents sous-types de **cellules dendritiques**, que l'on trouve le plus souvent dans la circulation systémique :

#### 1. Cellules dendritiques plasmacytoïdes (CDp), dérivés de précurseurs lymphoïdes :

Une caractéristique distinctive des CDp est leur capacité à produire de grandes quantités d'interférons de type I, IFN- $\gamma$ , **au cours d'une infection virale** provoquée par l'activation via le **système endosomal**.

#### 2. Cellules dendritiques myéloïde (CDm), dérivé de précurseurs myéloïdes : Les CDm réagissent mieux aux **infections bactériennes**, en reconnaissant ensemble le **LPS via la TLR4** de la surface cellulaire avec la production d'IL-12 et de TNF- $\alpha$ .

Les deux types de cellules dendritiques circulent dans le sang avant de migrer vers les sites épithéliaux de la peau et les tissus muqueux, où ils restent comme des **cellules dendritiques immatures**.

Ces cellules utilisent deux mécanismes :

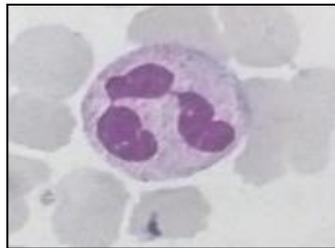
- **La pinocytose** une forme d'**endocytose** (les petites gouttelettes de liquide sont amenées dans la cellule en suspension dans de petites vésicules)
- **LA phagocytose** pour l'absorption d'une grande variété de protéines étrangères et d'agents infectieux.

L'activation des CD au cours de laquelle la maturation des cellules est favorisée par l'expression **du récepteur de chimiokine CCR7** permettant aux cellules de migrer depuis la périphérie aux organes lymphoïdes secondaires. Lors de la migration, les molécules capturées sont transformées en petits peptides, liés aux sillons des molécules du CMH-II, et exprimée à la surface cellulaire des CD. Au moment où les CD atteignent des organes lymphoïdes secondaires, ils sont capables de **présenter des antigènes aux populations de lymphocytes T naïfs et les cellules T mémoire.**

### IV.1.3.2. Les granulocytes

#### ▪ *Les neutrophiles*

Les polynucléaires neutrophiles représentent la majorité des globules blancs circulants. Leur production est stimulée par des **cytokines**. L'infection active les cytokines qui stimule la moelle osseuse pour produire jusqu'à 20 million de neutrophiles par ml de sang. Les neutrophiles sont le **premier type cellulaire** à répondre à la plupart des infections, en particulier les infections **bactériennes**.



**Figure 30:** Morphologie du neutrophile observée au microscope optique X1500 (Male et *al.*, 2007).

Ils ingèrent les microbes dans la circulation, et ils pénètrent rapidement dans les tissus extravasculaires au niveau des sites d'infection, où ils ingèrent également les microbes et meurent après quelques heures. Les activités microbicides et cytotoxiques des polynucléaires neutrophiles dépendent de mécanismes comprenant la phagocytose, la libération d'enzymes protéolytiques, la production rapide de formes réactives de l'oxygène et de l'azote.

#### ▪ **Les polynucléaires éosinophiles**

Ils sont beaucoup moins nombreux dans le sang et représentent respectivement 2 %. Ils peuvent également migrer du sang vers les tissus pour y exercer leurs fonctions. Ce sont

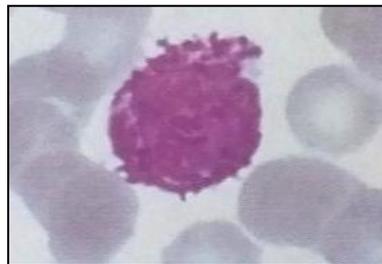
essentiellement des cellules pro-inflammatoires qui peuvent libérer une variété de protéines cationiques contenues dans leurs granulations spécifiques : la protéine basique principale (MBP), la protéine cationique éosinophile (ECP), la neurotoxine dérivée des éosinophiles (EDN) et la peroxydase éosinophile et la peroxydase éosinophile (OEB) cytotoxiques ou en contribuent également à des pathologies allergiques.



**Figure 31:** morphologie d'un éosinophile observé dans un frottis sanguin montrant un noyau bilobé (x1000) (Male et *al.*, 2007)

Au cours des réponses immunitaires innées et induites par la phagocytose des particules opsonisées, le contenu des granules d'éosinophiles est libéré, agissant principalement sur les **parasites helminthiques extracellulaires** et contribuant aux dommages tissulaires dans les maladies inflammatoires.

- **Les polynucléaires basophiles** Ils sont beaucoup moins nombreux dans le sang et représentent 1 % des globules blancs. Ils ont un noyau bilobé et un cytoplasme riche en granulations (**figure 32**). Ils deviennent matures dans la moelle osseuse puis migrent dans le sang. Ils peuvent également migrer du sang vers les tissus pour y exercer leurs fonctions. Ils migrent vers les tissus dans certaines conditions pathologiques comme les allergies et les parasitoses.



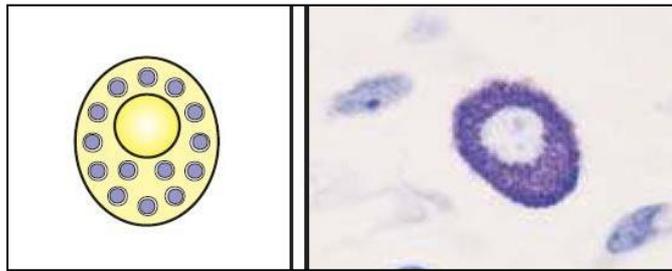
**Figure 32:** morphologie d'un basophile observé dans un frottis sanguin montrant ses granulations (x1000) (Male et *al.*, 2008)

- **Les mastocytes**

Les mastocytes proviennent de la moelle osseuse et circulent sous forme de cellules progénitrices CD34+. Elles se différencient en mastocytes matures sous l'influence de

cytokines seulement après leur entrée dans tissus. Elles terminent leur maturation dans les tissus où elles peuvent se multiplier et séjourner plusieurs mois.

Les mastocytes sont des cellules **exclusivement tissulaires très riches en granulations (figure 33)**. Elles sont particulièrement nombreuses dans la peau et les muqueuses. Elles ont la particularité de pouvoir libérer par dégranulation très rapidement de grandes quantités de médiateurs inflammatoires en particulier l'histamine.



**Figure 33:** Morphologie des mastocytes (Abbas et Lichtman, 2009)

Elles participent également à la réponse immunitaire adaptative. Elles sont au centre des mécanismes de l'hypersensibilité immédiate et des réponses antiparasitaires.

### IV.1.3.3. Les cellules lymphoïdes

#### ✓ Les lymphocytes *Natural Killer* (NK)

Les cellules NK se trouvent principalement dans la circulation périphérique (5 à 20 % du total des lymphocytes), la rate, le foie et la moelle osseuse. Elles ont une morphologie similaire à celle des lymphocytes cytotoxiques activés (une grande taille, un réticulum endoplasmique (RE) abondant, et la présence de granules préformés contenant les perforines et les granzymes. **Ces lymphocytes font partie de l'immunité innée** car ils n'expriment pas de récepteur à l'antigène comme le TCR ou le BCR.

Certaines cellules NK ont des récepteurs génériquement **appelés récepteurs inhibiteurs tueurs (KIR)** qui reconnaissent les molécules du CMH-I sur les cellules normales. Cependant, des **récepteurs activateurs (killer activating receptors (KARs))** reconnaissent les cellules infectées en particulier par **les virus** ou **les cellules modifiées** (les cellules tumorales). Ils libèrent des cytokines comme l'**IFN $\gamma$**  ou des protéines cytotoxiques contenues dans leurs granulations. Les mécanismes **cytolytiques** des **cellules NK** sont les mêmes que ceux que les lymphocytes cytotoxiques (**LTC**) utilisent pour tuer les cellules infectées, ils induisent directement l'apoptose dans les cellules infectées par un virus en faisant pénétrer des protéases à travers des pores qu'elles font dans les cellules cibles.

Les cellules NK sont les principaux médiateurs de la **cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps** (ADCC: antibody-dependent cellular cytotoxicity).

- De nombreux **virus disposent** de mécanismes qui bloquent l'**expression** des molécules de **classe I** dans les cellules **infectées**, ce qui leur permet **d'échapper** à la destruction par des lymphocytes T **CD8+cytotoxiques (LTc)**, Quand cela arrive, **les cellules NK deviennent activées et éliminent les cellules infectées par le virus.**

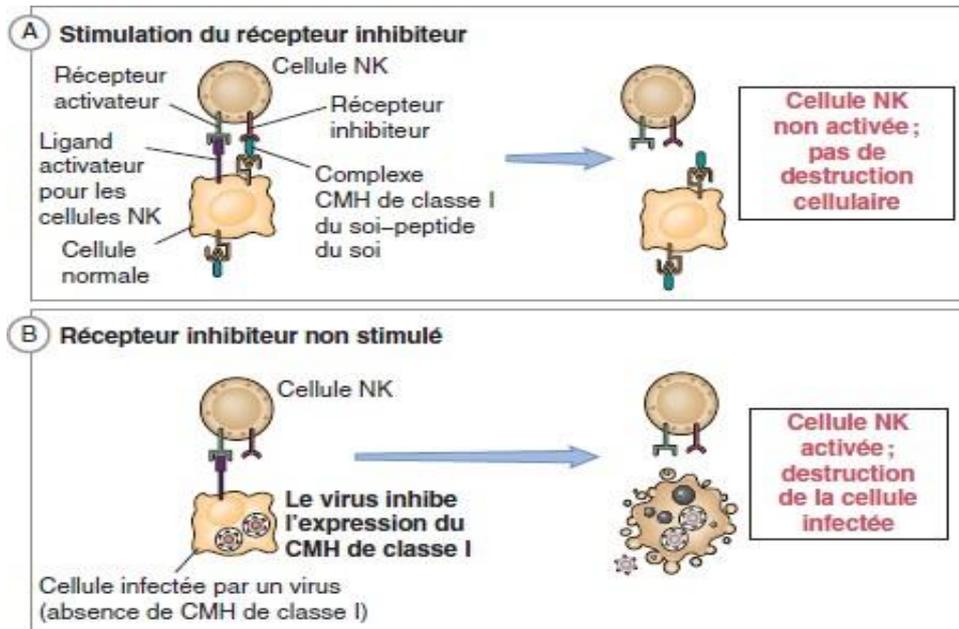


Figure 34: Récepteurs activateurs et inhibiteurs des cellules NK (Abbas et *al.*, 2013).

### ✓ Les cellules Natural killer T cells (NKT)

Elles sont caractérisées par la co-expression des marqueurs des cellules T (**complexe CD3/TCR**) avec la caractéristique des récepteurs de surface des cellules NK (CD56, CD58 et CD161), ce qui indique une **double nature** de ce sous-type.

La cellule NKT dérive de thymocytes au niveau du thymus, où elle acquiert son TCR  $\alpha$ - $\beta$ , ainsi que le CD3 lors de l'ontogénie des LT, mais se distingue du LT  $\alpha$ - $\beta$  car elle ne présente ni CD4, ni CD8.

Le TCR présenté par les cellules NKT est caractéristique dans le sens où il **reconnait les lipides** et les **glycolipides** présentés par des molécules structurellement proches des molécules de classe 1 du CMH, les **CD1d** qui sont également **invariant**.

### ✓ Les cellules lymphoïdes innées (ILC)

Elles sont de découverte récente, ont des propriétés de sécrétion cytokinique proches des lymphocytes T, mais n'expriment pas de récepteur de type TCR. Elles sont réparties en

trois groupes selon les cytokines produites, les ILC1, IL2 et ILC3. Leur rôle est probablement précoce et important lors des réponses tissulaires.

### ✓ Le lymphocyte T $\gamma$ - $\delta$

Les **LT- $\gamma\delta$**  sont des lymphocytes T particuliers caractérisés par l'expression d'un **TCR-1** associé à un CD3 mais ne présentant ni CD4, ni CD8. Il est beaucoup plus rare que les LT présentent un TCR-2.

✓ **Les MAIT (*Mucosal-Associated Invariant T cells*)** sont une sous-population de lymphocytes T à TCR semi-invariant localisés dans les muqueuses et possédant des propriétés antimicrobiennes.

#### IV.1.3.4. Les cellules "résidentes" tissulaires

**Ce sont aussi des cellules fondamentales de l'immunité innée.** Dans les tissus, l'immunité innée repose sur des cellules "résidentes", c'est-à-dire faisant partie des tissus. Ainsi, les cellules épithéliales, les fibroblastes et les cellules endothéliales sont des cellules de l'immunité innée qui ont différentes fonctions :

- elles peuvent reconnaître les PAMPs microbiens par des récepteurs spécifiques, notamment de type TLR,
- elles produisent, comme les cellules myéloïdes, des cytokines, des chémokines, des molécules anti-microbiennes,
- elles peuvent servir de cellules présentatrices "accessoires" permettant le lien avec l'immunité adaptative.

Les épithéliums contiennent également un type de lymphocytes appelés **intraepithelial lymphocytes (IEL)**, qui appartiennent à la lignée des cellules T exprimant des récepteurs à l'antigène de diversité limitée.

#### IV.1.4. Les récepteurs cellulaires des microbes (Pathogen Recognition Receptor PRRs)

L'immunité innée a longtemps été définie comme étant non spécifique toutefois elle présente une certaine spécificité à l'égard d'un groupe de microbes. Le système immunitaire inné utilise des récepteurs appelés Pathogen Recognition Receptor (PRRs) capables de reconnaître des motifs moléculaires conservés associés aux pathogènes (Microbe Associated Molecular Patterns ou MAMPs) ou des signaux de danger (Danger Associated Molecular Patterns ou DAMPS) délivrés par des molécules produites par les cellules endommagées. (Le soi altéré, ex : cellules cancéreuses) ou des irritants chimiques (ex : polluants) ou même

des perturbations physiques (ex : forces mécaniques). **L'inflammation induite ainsi est nommée inflammation "stérile"**

### IV.1.4. 1. Les motifs pathogéniques (Les motifs moléculaires associés aux micro-organismes (MAMPs)- PAMPs

Les MAMPs correspondent à des structures exprimées à la surface des micro-organismes relativement conservées qui sont partagées par différentes classes de micro-organismes, qui ne sont pas présentes sur les cellules de l'hôte (tous les pathogènes d'un même taxon.

### IV.1.4. 2. Les motifs moléculaires associés aux dommages (DAMPs ou alarmine

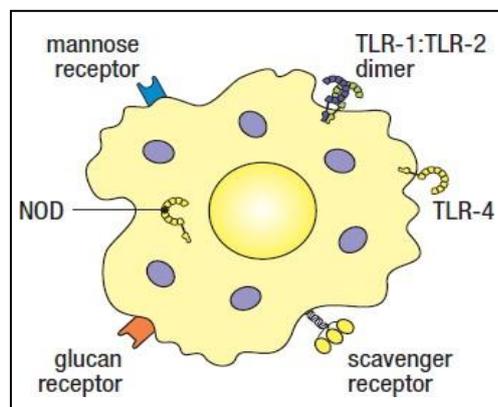
Les DAMPs correspondent à des molécules endogènes qui sont détectées en situation de stress cellulaire.

Des molécules normalement intra-cellulaires peuvent être libérées dans le milieu extra-cellulaire, passivement à partir de cellules mortes, ou activement en réponse à un stress Cellulaire. Les protéines S100, les acides nucléiques, l'ATP ou l'acide urique se retrouvent dans le milieu extra-cellulaire, elles deviennent alors des DAMPs détectables par des PRRs.

Lorsque l'intégrité de la membrane plasmique est affectée, comme par exemple suite à l'action de certaines toxines bactériennes, certains ions normalement concentrés dans la cellule peuvent s'échapper. Ainsi, l'efflux de potassium représente une autre forme de DAMP, détectée par un PRR intra-cellulaire.

### IV.1.4.3. Les récepteurs (Pathogen Recognition Receptor PRRs)

Le terme de PRR fut proposé par l'immunologiste Charles Janeway en 1989, **les PRRs sont** exprimés sur les **phagocytes (figure 35)**, les **cellules dendritiques** et de nombreux autres types de **cellules** (les cellules endothéliales et épithéliales) pour réagir contre les microbes.



**Figure 35** : Les différents types de récepteurs exprimés par les macrophages (Murphy et Weaver, 2017).

**IV.1.4.3. 1. Localisation des PRRs**

Ces récepteurs sont localisés dans différents compartiments cellulaires correspondant en général au **compartiment cellulaire dans lequel se trouvent les pathogènes reconnus** (selon les modalités d'invasion des pathogènes). Ils sont exprimés au niveau de la membrane plasmique, à la membrane des endosomes ou encore dans le cytosol) ou sécrétée.

En effet, dans le milieu extra-cellulaire, on trouve **des PRRs solubles**, également capables de détecter les micro-organismes. Ces PRRs font partie des protéines de phase aiguë de l'inflammation, comme la CRP (*C-reactive protein*) et la MBP (*Mannose-Binding Protein*). Cette dernière est impliquée dans l'activation du système du complément par la voie des lectines.

**IV.1.4.3.2. Les différents types de PRRs**

Dans la détection des signaux pathogènes externes et internes, le système immunitaire inné utilise cinq types de PRR:

1. Tool like receptor (TLR)
2. Récepteurs de lectine de type C (CLR)
3. Oligomérisation de liaison aux nucléotides domanis (NOD)-like récepteurs (NLR),
4. Hélicases de type RIG (RLH) et
5. Capteurs d'ADN absents dans le mélanome 2 (AIM2) et (activateur dépendant de

l'ADN des facteurs de régulation de l'IFN (DAI))

**Tableau 3 :** Les principaux PRRs en fonction de leur localisation cellulaire et de la nature des ligands reconnus.

<b>Les récepteurs (PRRs)</b>	<b>PAMPs</b>	<b>Localisation</b>
Récepteur scavenger	LDL, LPS (bactéries)	Membrane plasmique
Mannose récepteur	Mannose (levures, bactéries)	Membrane plasmique ou plasmique
TLR2	Peptidoglycanes (Gram+)	Membrane plasmique
TLR4	Lipopolysaccharides (Gram-)	Membrane plasmique
TLR3	ARN double brin (virus)	Endosome
TLR7, 8	ARN simple brin (virus)	Endosome
RLRs RIG-1 like helicase	ARN double brin (virus)	Cytosol

receptor		
Nod-like receptor (NLR)	Parois bactérienne ou motifs bactériens (flagelline, toxine), signaux de danger endogènes (DAMPs).	Cytosol

### IV.1.4.4. Les conséquences fonctionnelles de l'activation des PRRS

Les PRRs jouent un rôle crucial dans l'initiation des réponses immunitaires adaptatives, le concept actuel est que le type de PRR recruté par un pathogène donné va conditionner, du moins en partie, la nature de la réponse immunitaire générée qui sera adaptée à la nature du microbe rencontré.

- ✓ La reconnaissance d'un **PAMP** par un **PRR** peut en particulier déclencher la phagocytose et le relargage des cytokines et des médiateurs pour la mise en place d'un état inflammatoire.
- ✓ Induction de l'expression des molécules de costimulation sur les CPA (cellules présentatrices d'antigène) permettant de déclencher la réponse immune adaptative.
- ✓ Déclenchement de l'activation de la cellule et la mise en place de mécanismes effecteurs.

L'activation des PRR sécrétés, présents dans le plasma, permet d'activer la cascade du complément. Ces PRRs jouent également un rôle d'opsonine favorisant ainsi la phagocytose.

### IV.1.5. Rôle des cellules dans la réaction inflammatoire

Le système immunitaire inné assure une fonction de protection critique pendant la phase initiale de l'invasion microbienne et une protection homéostatique pour l'élimination des composants cellulaires altérés pendant l'état physiologique sain.

Les portes d'entrée les plus fréquentes des microbes, à savoir la **peau**, le **tractus gastro-intestinal** et le **tractus respiratoire**, sont protégées par des **épithéliums** continus qui constituent des barrières physiques et chimiques contre les infections. Quand ces barrières sont compromises et en réponse à des signaux de danger, d'origine infectieuse comme les **PAMPs**, ou venant de l'organisme lui-même comme les **DAMPs**, mais aussi à la présence de substances inflammatoires, un ensemble de mécanismes de reconnaissance active le précurseur de **l'interleukine-1 $\beta$**  et le convertit en IL-1 $\beta$ , **chef d'orchestre de la réponse inflammatoire**.

Ces **signaux** vont **activer les cellules résidentes des tissus, notamment les mastocytes et les macrophages et vont déclencher la réaction inflammatoire. Les cellules activées**

vont sécréter des substances (histamine, TNF $\alpha$ ...) qui vont activer les cellules endothéliales (expression de molécules d'adhérence), augmenter la perméabilité vasculaire et provoquer une vasodilatation. Ce processus permet de faciliter le recrutement des cellules immunitaires circulantes depuis le sang vers les tissus (**diapédèse**).

Le concept de **chimiotactisme** a été proposé et identifié dès 1884 par Wilhelm Pfeffer (1845-1920), tandis qu'il observait le mouvement ordonné de bactéries attirées par des substances nutritives

### IV.1.5. 1. Les symptômes de l'inflammation (Latin, *inflammatio*, to set on fire)

Cliniquement, cette activation va se traduire par les 4 signes cliniques

- rougeur (*rubor*)
- chaleur (*calor*)
- douleur (*dolor*)
- tuméfaction (œdème).

Et l'impotence fonctionnelle (*functiolaesa*), l'impotence fonctionnelle a été rajoutée à sa définition par Rudolf Virchow en 1858.

Le gonflement local des vaisseaux sanguins provoque la rougeur et la sensation de chaleur, ainsi qu'un épanchement de l'eau du plasma sanguin vers les tissus d'où l'œdème. L'œdème comprime les nerfs aux alentours et provoque la sensation douloureuse et les démangeaisons. Lorsqu'il y a destruction tissulaire, les débris doivent être éliminés puis il y aura la phase de réparation des tissus, et de cicatrisation. .

#### La réaction inflammatoire peut être

- **aiguë**, voire suraiguë (quelques minutes à quelques jours). On peut citer l'exemple du syndrome inflammatoire aigu systémique (choc septique, brûlures).
- **chronique** (semaines, années). Elle peut toucher des tissus cibles : articulations, tissus nerveux, muqueuse digestive, respiratoire...).

#### La réaction inflammatoire peut être

- **locale** (vasodilatation locale, exsudation plasmatique et afflux local de cellules inflammatoires au niveau cutané à la suite d'une plaie ou au niveau de la muqueuse bronchique dans l'asthme allergique par exemple)
- **générale** (signes généraux comme la fièvre, production hépatique des protéines de la phase aiguë ; exemple du syndrome inflammatoire aigu systémique).

IV.1.5. 2. Les médiateurs de l'inflammation

Plusieurs médiateurs sont produits au cours de l'inflammation. Ces médiateurs (enzymes, cytokines) sont libérés par différents types cellulaires (les mastocytes, les plaquettes, les neutrophiles et le système monocyte/macrophage, les éosinophiles, les basophiles et les lymphocytes) (figure 36). En plus des cellules, le plasma contient des médiateurs tels que le système des kinines, le système de la coagulation, le système fibrinolytique et le système du complément.

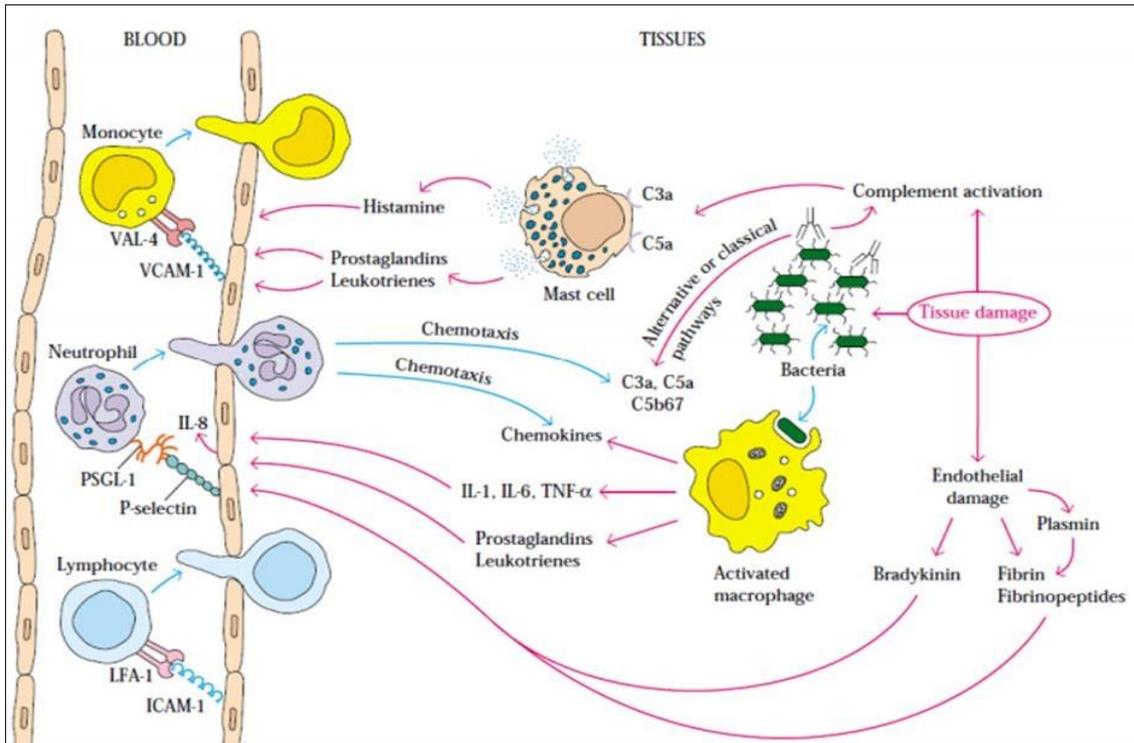


Figure 36: les cellules et les médiateurs impliqués dans le processus inflammatoire (Kindt et al., 2008).

✓ Les cytokines

De nombreuses cytokines jouent un rôle important dans le développement d'une réponse inflammatoire aigue ou chronique tels que l'IL-1, IL-6, IL-12 et le TNF  $\alpha$  et de nombreuses chémokines .

La réaction inflammatoire débute par l'activation des macrophages, cellules importantes de l'inflammation. Les macrophages activés sécrètent **des cytokines activatrices, comme l'IL-1 et le TNF**, qui agissent sur un très grand nombre de tissus différents en déclenchant localement l'inflammation (tableau 4). Celle-ci est amplifiée et entretenue par de nombreuses cytokines pro-inflammatoires tandis que le contrôle de l'intensité de la réponse est réalisé par des cytokines inhibitrices anti-inflammatoires, les protéines de la phase

## Chapitre IV: La réponse immunitaire non spécifique

aiguë produites surtout par le foie et les glucocorticoïdes produites par les glandes cortico-surrénales.

✓ **Les amines vaso-actives:** L’histamine, la sérotonine et les kinines (bradykinines) sont vasodilatatrices, elles augmentent la perméabilité capillaire et facilitent la contraction des muscles lisses.

**Tableau 4 :** cytokines impliquées dans le processus inflammatoire

Cytokine	source de production	fonctions
<b>IL-1</b>	les cellules du système des phagocytes, les lymphocytes, les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les kératinocytes, les fibroblastes.	stimule la production des protéines de l’inflammation par les hépatocytes : fibrinogène, composants du complément, protéine C-réactive. active l’expression de nombreux gènes qui interviennent dans la synthèse des médiateurs de l’inflammation : gène de la phospholipase A2, gène de la COX2, gène de différentes cytokines et chimiokines, gène des molécules d’adhésion, gène des NO-synthase agit sur le système nerveux central : fièvre.
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	macrophages, monocytes, lymphocytes T et B, kératinocytes, cellules mésangiales, épithéliales, endothéliales, basophiles et mastocytes, polynucléaires neutrophiles, et éosinophiles, fibroblastes	- Induit le chimiotactisme et la transmigration -Induit la synthèse de cytokines et de prostaglandines - Augmente la perméabilité - Induit la NO synthase. - Augmente la capacité de phagocytose. -Augmente la production de superoxyde
<b>l’IL6</b>	monocytes, fibroblastes, synoviocytes, ostéoblastes	stimulant la production hépatocytaire des <b>protéines de la phase aiguë de l’inflammation</b> : CRP, SAA, haptoglobine, C3, fibrinogène, $\alpha$ 1-antitrypsine, $\alpha$ 2-macroglobuline... Cependant diminue la production d’IL1 et stimule la production de molécules intervenant dans les processus de réparation tissulaire :
<b>L’IL8</b>	monocytes, macrophages, fibroblastes, cellules endothéliales, hépatocytes	l’IL8-R. <b>induit le chimiotactisme</b> et l’activation des polynucléaires avec induction de cyclooxygénase, de lipooxygénase et de NO-synthase.
<b>IL-10</b>	les lymphocytes T de type Th2 et par les monocytes	une cytokine régulatrice produite à la fois par. Elle inhibe la présentation de l’antigène par les cellules présentatrices d’antigène (macrophages, monocytes) et freine la production de différentes cytokines : TNF , IL1, IL6, IL8

✓ **Les protéines du complément:** les voies classiques et alternes du complément sont activées permettant la synthèse de fragments opsonisants (C3bi) ou des anaphylatoxines (**C3a**, **C5a**) induisant la libération d'histamine.

✓ **Les protéines de la coagulation :** le facteur XII (facteur Hageman) active la kallikréine qui transforme le kininogène en bradykinine (amine vaso-active). Le facteur de Hageman activé (FHa) stimule l'agrégation et la dégranulation des polynucléaires neutrophiles. La kallikréine active le chimiotactisme.

✓ **Les médiateurs lipidiques :** différentes substances sont libérées par le métabolisme des phospholipides (PL) membranaires.

**-Les Eicosanoïdes :** Ce sont des composés à 20 atomes de carbone qui dérivent de l'acide arachidonique. L'acide arachidonique est libéré à partir des phospholipides membranaires des cellules inflammatoires sous l'action des phospholipases A2.

Deux grandes variétés d'enzyme interviennent sur le métabolisme de l'acide arachidoniques (**Figure 37**) :

-Les lipooxygénases induisent la formation des leucotriènes : LTB4, LTC4, LTD4 et LTE4.

-Les cyclooxygénases génèrent la formation des prostaglandines (PGI2 ou prostacycline, PGE2, PGD2) et des thromboxanes (TXA2 et TXB2).

Il a été récemment mis en évidence l'existence de 2 types de cyclooxygénases : la COX1 et la COX2.

**La COX1 est dite constitutive.** Elle fonctionne en permanence et assure des fonctions physiologiques : agrégabilité plaquettaire, protection de la muqueuse gastro-duodénale, régulation du flux sanguin rénal. A l'inverse, **la COX2 est dite inductible.** Elle n'est active que lorsque les phagocytes sont exposés à un processus inflammatoire.

Les eicosanoïdes possèdent de nombreuses propriétés biologiques :

➤ La PGE2 et la PGI2 agissent sur les fibres musculaires lisses des vaisseaux : vasodilatation, augmentation de la perméabilité, œdème.

➤ La PGE2 facilite l'action des médiateurs de la douleur. Elle inhibe l'activité des lymphocytes T suppresseurs, augmente la production d'immunoglobulines, diminue la production d'IL2 par les lymphocytes.

**Le leucotriène B4** est le plus important des leucotriènes. Il est **l'agent chimiotactique des polynucléaires le plus puissant. Il active les phagocytes.**

Le thromboxane A2 entraîne une vasoconstriction et favorise l'agrégabilité des plaquettes.

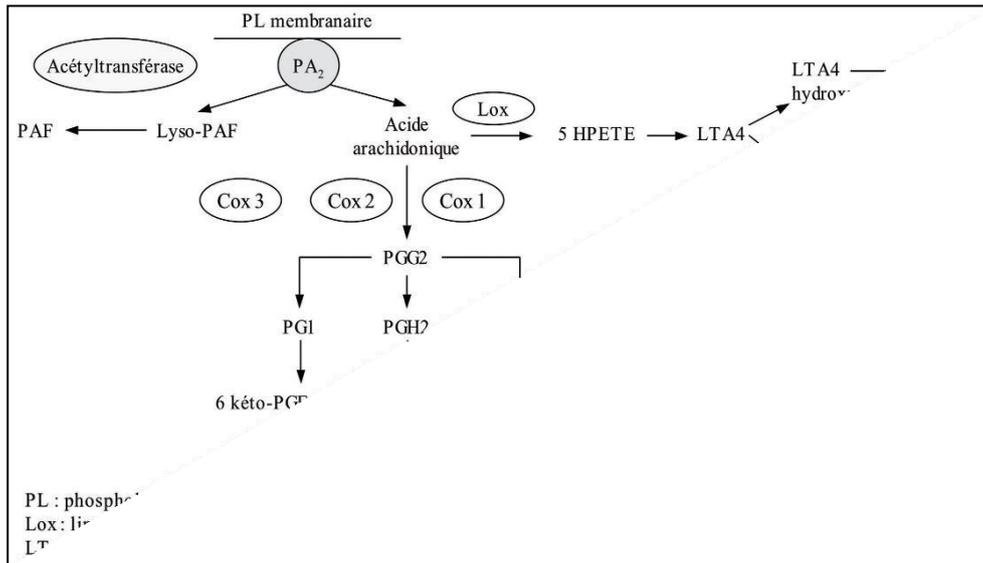


Figure 37 : Actions respectives des cyclooxygénases 1 et 2.

✓ **Les radicaux libres** Les radicaux libres dérivés de l'oxygène : Anions superoxydes ( $O_2^-$ ).

✓ **Le monoxyde d'azote (NO) : La production de monoxyde d'azote (NO) par une NO-synthétase constitutive** permet la régulation de certains phénomènes physiologiques cellulaires. En cas d'agression, de plus grandes quantités de NO sont synthétisées grâce à une **NO-synthétase inductible (iNos)**. Le NO va alors augmenter les phénomènes de **vasodilatation et de perméabilité capillaire** et exercer des **effets toxiques cellulaires** importants dont l'objectif principal est d'éliminer les agents exogènes agresseurs.

✓ **Les enzymes cellulaires**

Les polynucléaires activés et d'autres cellules macrophages (synoviocytes, chondrocytes...) libèrent de nombreuses enzymes (collagénase, élastase, phosphatase, hydrolase, cathepsine, myéloperoxydase) qui ont un rôle physiologique dans la phagocytose lysosomiale.

✓ **Les protéines de l'inflammation d'origine hépatique**

(protéine C réactive, sérum amyloïde A, alpha1-antitrypsine, haptoglobine, fibrinogène, céruloplasmines...). Ces protéines produites à la phase aiguë de l'inflammation sont essentiellement anti-inflammatoires car elles ont un rôle anti-protéase et peuvent faciliter l'épuration des débris cellulaires.

✓ **Les protéines du choc thermique (heat shock proteins)**

Ces protéines sont des chaperons induits par différents stress pro-inflammatoires. Elles exercent surtout **un rôle inhibiteur sur l'inflammation**, mais participent aussi à d'autres

phénomènes immunologiques notamment dans **la présentation des antigènes aux lymphocytes et la synthèse d'immunoglobulines.**

### ✓ **Les peptides anti-bactériens naturels (defensine)**

Ce nouveau groupe de médiateurs très conservés (de l'insecte à l'homme) est un groupe original, participant à l'immunité innée. Leur rôle dans les défenses et leur éventuelle implication dans les maladies inflammatoires est en cours d'étude.

### ✓ **Les corticoïdes endogènes**

Ces molécules sont de puissants anti-inflammatoires qui exercent leur action par différents mécanismes, notamment l'inhibition des cytokines pro-inflammatoires.

### **IV.1.5.3. La migration des neutrophiles (la diapédèse)**

Le recrutement de cellules circulantes est crucial pour la réponse immunitaire. Le nombre **de cellules immunitaires résidentes au sein des tissus est limité.** Le processus inflammatoire implique donc le recrutement des cellules présentes dans la circulation sanguine.

Les polynucléaires neutrophiles et les monocytes/ macrophages sont des cellules mobiles capables de migrer de façon orientée vers un site infectieux ou inflammatoire, grâce en particulier à des chimiokines (les polynucléaires neutrophiles sont les premières cellules recrutées qui migrent vers les tissus, suivis des monocytes qui se différencient alors en macrophages. Ces cellules circulantes peuvent adhérer aux cellules endothéliales des vaisseaux, se glisser entre celles-ci par **diapédèse.** Cette migration dépend de **molécules d'adhérence exprimées** d'une part par **les cellules circulantes, et d'autre part par les cellules endothéliales.**

Les macrophages reconnaissent le microbe et répondent en produisant des **cytokines** qui portent le nom de **facteur de nécrose des tumeurs alpha (TNF- $\alpha$ )** et d'interleukine-1 (**IL-1**) qui stimulent la production des sélectines, des ligands des intégrines et des chimiokines par les cellules endothéliales.

#### ▪ **Les étapes de la diapédèse**

La migration du neutrophile des vaisseaux sanguins vers les tissus peut être décrite en quatre étapes (**figure 38**).

**1-L'attachement :** en condition normale, les neutrophiles s'attachent **faiblement aux cellules endothéliales** qui forment la paroi interne du vaisseau sanguin. Ceci est dû à des molécules d'adhésion de faible affinité, **les sélectines et les « mucine-like »**, exprimées à la surface des cellules endothéliales et des neutrophiles (respectivement, **la P-sélectine et le P-sélectine ligand (PSGL-1).**

**2-Le roulement** : emportés par le flux sanguin, les neutrophiles roulent littéralement sur la paroi du vaisseau: on appelle cette étape le **roulement** ou «**rolling**». Ce dernier assuré par les **sélectines**, fait intervenir une adhérence réversible aux cellules endothéliales par l'intermédiaire de molécules de la famille des sélectines, principalement les **E- et P-sélectines à la surface des cellules endothéliales activées et la L-sélectine à la surface des polynucléaires neutrophiles**. Ceci induit un ralentissement du flux des polynucléaires neutrophiles et initie la phase dite de roulement à la surface de l'endothélium activé

**3-l'activation** : Si, durant cette première étape, le leucocyte est en contact avec des produits bactériens (ex: peptides formylés (fMLP), lipopolysaccharides (LPS) ou tout autre produit proinflammatoire (leucotriène (LT) B<sub>4</sub>, IL-8, fragments du complément), il entre alors dans la deuxième étape: **l'activation**.

Une fois la cellule activée, elle exprime de nouvelles molécules à sa surface: des molécules d'adhésion de forte affinité telles que **les intégrines**.

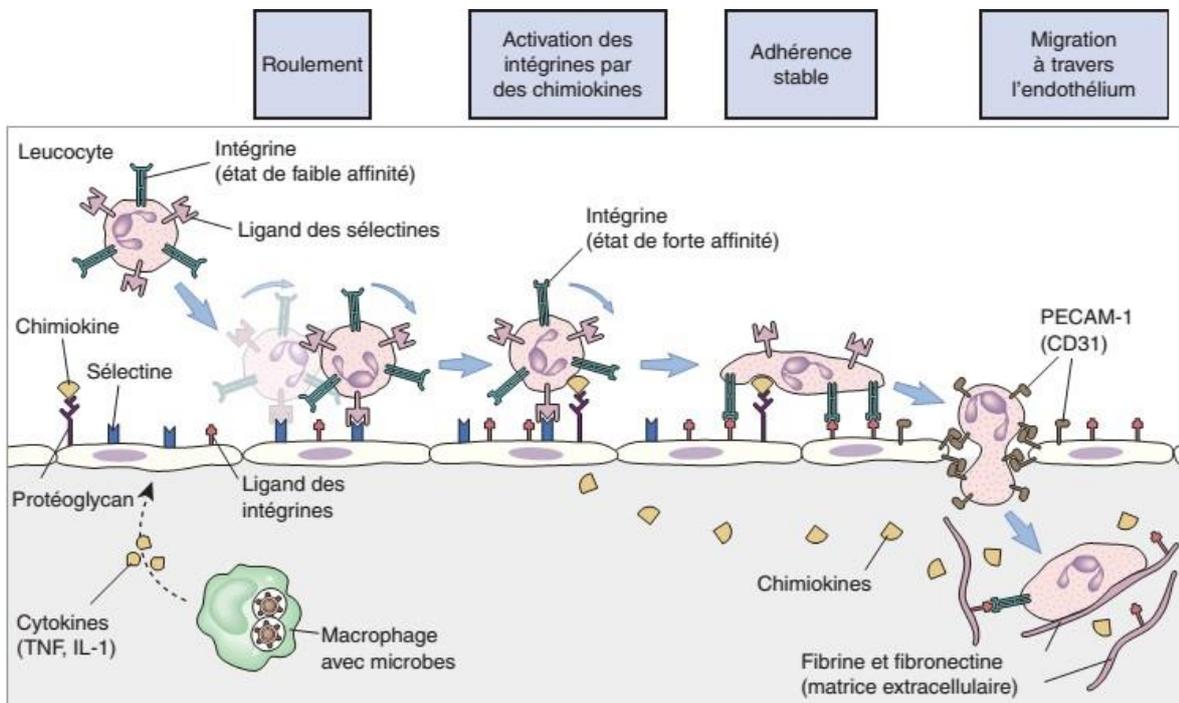
**4-L'adhésion** : le leucocyte se fixe fermement à la paroi du vaisseau sanguin: **c'est l'adhésion ferme**, cette forte adhérence est assurée par les **intégrines**. L'activation **des intégrines de surface du polynucléaire**, en particulier la **β2-intégrine CD11b/CD18**. Les β2-intégrines se lient **aux molécules d'adhérence ICAM 'Inter-Cellular Adhesion Molecules' exprimées à la surface des cellules endothéliales**.

Finalement, le neutrophile réorganise son cytosquelette pour se faufiler à travers la couche de cellules endothéliales, habituellement guidé par un gradient de concentration de chimioattractant (LTB<sub>4</sub>, C5a, IL-8, fMLP): **c'est la migration transendothéliale ou la diapédèse**.

Cette motilité est assurée par les **chimiokines**, les cellules immobilisées peuvent ensuite traverser la paroi vasculaire vers le foyer inflammatoire (diapédèse). Cette diapédèse est active et fait intervenir en particulier la contraction réversible des cellules endothéliales et un grand nombre de molécules d'adhérence, comme les PECAMs (*Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecules*). Elle conduit à la **migration des leucocytes sanguins** vers un site d'infection extravasculaire quelques minutes après son début.

**Les sélectines assurent la formation d'une liaison faible et le roulement des neutrophiles sanguins** sur l'endothélium. **Les intégrines** sont responsables **d'une adhérence forte des neutrophiles**. **Les chimiokines** activent les neutrophiles et stimulent **leur migration à travers l'endothélium** vers le site de l'infection.

Les monocytes sanguins et les lymphocytes T activés utilisent les mêmes mécanismes pour migrer dans les foyers infectieux.



**Figure 38:** Les étapes de la migration des leucocytes du sang vers le foyer infectieux (Abbas et Lichtman, 2009).

### IV.1.6. Les mécanismes effecteurs de l'immunité innée

#### 1-La phagocytose

La phagocytose joue un rôle central dans le système immunitaire. La phagocytose a été découverte en 1883 par le scientifique russe Élie Metchnikoff qui fut lauréat du prix Nobel de médecine ou physiologie en 1908. C'est un mode de défense réalisé par certaines cellules spécialisées du système immunitaire : appelés des phagocytes (les neutrophiles et les macrophages). Elle est facilitée par l'opsonisation principalement C3b des cibles par les anticorps et le complément.

##### ▪ Les étapes de la phagocytose

La phagocytose se réalise en plusieurs étapes :

**-La reconnaissance et l'adhésion** d'une bactérie aux polynucléaires neutrophiles et des monocytes/ macrophages. Les particules adhèrent à la membrane cellulaire grâce à **des récepteurs non spécifiques** ou à des **récepteurs** pour les **opsonines**. Il s'agit de l'opsonisation qui est un processus au cours duquel les cellules se fixent à leur cible si cette dernière est opsonisée par des immunoglobulines (particulièrement IgG1 et IgG3) ou des protéines du complément (principalement C3b et C3bi).

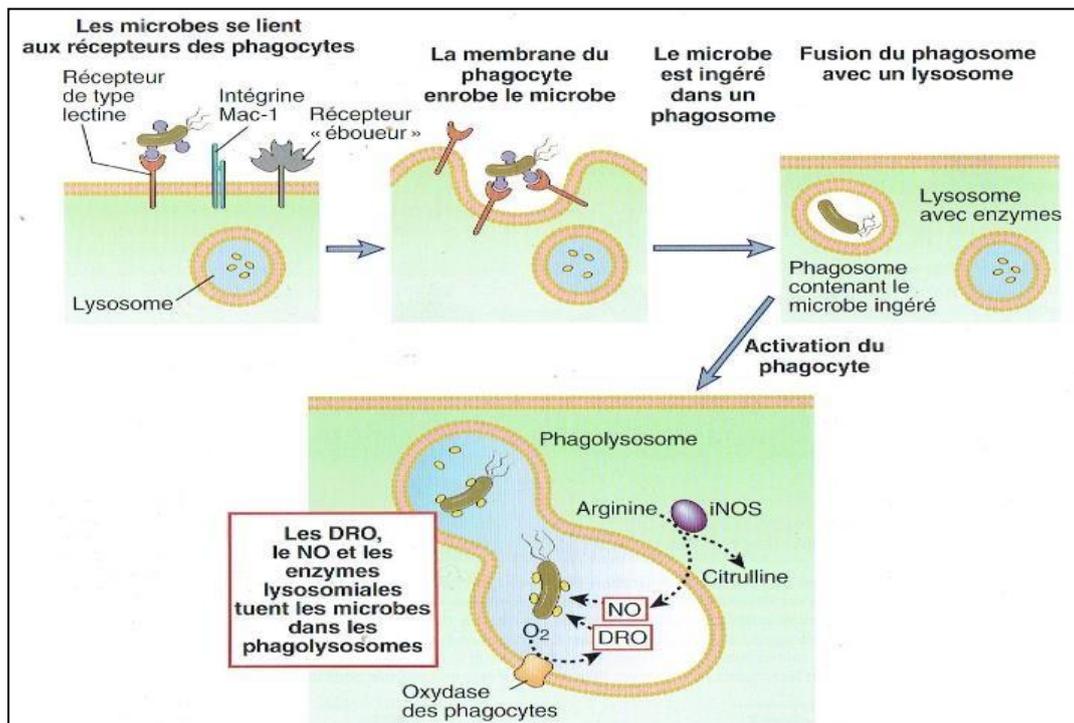
Les immunoglobulines se fixent sur les récepteurs cellulaires aux immunoglobulines par leur fragment Fc (RF<sub>γ</sub>) présent sur un phagocyte favorisant ainsi la **phagocytose**.

Pour les particules opsonisées par les fragments du complément (C3b et C3bi), ces **opsonines** se lient aux récepteurs liant ces fragments présents sur le phagocyte. (se lient aux récepteurs **CR1 (CD35), CR2 (CD21), CR3 (CD11b/CD18) et CR4 (CD11c/CD18) des cellules immunitaires**).

➤ **Ingestion:** la cellule développe des pseudopodes autour de la particule pour l'internaliser dans une vésicule appelée phagosome (**figure 39**). L'internalisation de la particule est l'endocytose.

➤ **La digestion:** Des lysosomes, c'est-à-dire des vésicules contenant des enzymes, fusionnent avec le phagosome formant ainsi un phagolysosome. Les enzymes des lysosomes (elastase) digèrent la particule. Un autre processus favorise la destruction des bactéries : la formation de radicaux libres par une enzyme de la membrane du phagosome.

➤ Finalement, le **macrophage rejette les déchets**. Les produits de la digestion de la particule sont excrétés.



**Figure 39:** Phagocytose et destruction intracellulaire des microbes (Abbas et al., 2013)

### 2. L'explosion oxydative

L'explosion oxydative, correspondant à la production de formes réactives de l'oxygène (FRO) par activation du système enzymatique de la NADPH oxydase de type 2 ou la Nosynthase

NOS-2 inductible, Les principaux producteurs de FRO sont les polynucléaires neutrophiles et les monocytes. Ces radicaux altèrent la structure des protéines, des lipides et des acides nucléiques, participant ainsi à la destruction des microorganismes infectieux.

### 3. La nétose

La production de *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) est un mécanisme appelé nétose, correspondant à la libération de filaments d'ADN issus du noyau ou des mitochondries, recouverts de nombreux composants microbicides provenant des granulations ou du cytoplasme. Ces NETs constituent des pièges physiques pour capter, en particulier, les micro-organismes de grande taille comme les champignons.

### 4. La réparation tissulaire et la régulation de la réponse inflammatoire

Les cellules jouent un rôle important au cours du processus inflammatoire, elles agissent sur l'agent pathogène mais elles agissent également sur les tissus endommagés. Après élimination de l'agent pathogène, la réponse inflammatoire s'autolimité afin de réduire les dommages tissulaires. Des mécanismes de contrôle négatif existent, qui permettent la résolution de l'inflammation. Lors de la résolution de l'inflammation, les macrophages jouent un rôle majeur dans l'élimination des cellules mortes et des débris cellulaires, favorisant ainsi le retour à l'homéostasie. En effet, une fois leur action microbicide effectuée, les polynucléaires neutrophiles rentrent en apoptose. La phagocytose des neutrophiles apoptotiques par les macrophages est appelée l'efférocytose (c'est-à-dire emmener les cellules à la tombe).

## IV.2. Le complément

### IV.2.1. Introduction

De très nombreux médiateurs circulants issus des cellules immunitaires et des cellules tissulaires environnantes participent à l'initiation, la pérennisation puis la régulation de la réponse inflammatoire et de l'immunité innée. Les principaux sont les suivants.

1. Le système du complément
2. Les cytokines
3. Les enzymes et peptides antimicrobiens
4. Les autres médiateurs solubles

### IV.2.2. Définition

Le complément est un ensemble de protéines majoritairement circulantes faisant partie du système immunitaire, constitué de plus d'une 30aine de protéines solubles ( $\approx 5\%$  des protéines plasmatiques) et membranaires (récepteurs et protéines régulatrices) qui interagissent entre elles avec certaines membranes biologiques. Les protéines qui composent le système du complément sont soit étiquetées de 1 à 9 avec le préfixe "C", soit désignées par

des lettres de l'alphabet (par exemple, B, D ou P). Le complément est synthétisé au niveau du foie, des cellules intestinales, des monocytes ou des macrophages.

L'activation en cascade de ces différents composés est à l'origine de la réaction inflammatoire, la phagocytose, neutralisation des virus, élimination du complexe Ag-Ac, présentation de l'Ag et régulation de la réponse immunitaire.

### IV.2.3. Les voies d'activation du complément

Le système du complément peut être activé par **trois voies d'activation** complémentaires convergeant vers la formation **d'un complexe d'attaque membranaire** responsable de la lyse des micro-organismes infectieux. Plusieurs composants du complément sont clivés lors de l'activation du système, et les fragments résultants sont désignés par des suffixes minuscules, par exemple C3a et C3b. Normalement, le plus grand fragment est désigné par " b " et le plus petit par " a ", à la seule exception notable des produits de clivage de C2, où le plus grand fragment est désigné par C2a et le plus petit par C2b.

**L'activation du complément se déroule en cascade**, le 1er composé acquiert, par liaison à une autre protéine, **une activité protéolytique** et clive alors le 2<sup>ème</sup> composé en 2 fragments dont l'un acquiert lui-même la même activité lytique pour le complexe suivant. Il existe trois grandes voies par lesquelles le système du complément peut être activé :

1. La voie classique,
2. La voie de liaison du mannose ou de la lectine,
3. La voie alternative.

Toutes les trois aboutissent à la formation du **complexe d'attaque membranaire : CAM**.

#### IV.2.3.1. La voie classique

Cette voie a été la première à être découverte, elle "complétait" la fonction des anticorps pour tuer les bactéries. **Cette voie est activée essentiellement par le complexe Ag-Ac** où l'Ac est une IgM ou 2 molécules d'IgG : IgG1 et IgG3 (ou IgG2 mais elle est moins efficace). Cette voie est activée lorsqu'une partie du composant C1 du complément, appelée **C1q, se lie à la région Fc d'un anticorps IgM ou IgG lié à un antigène à la surface d'une cellule cible**.

Cette activation fait intervenir un complexe macromoléculaire composé de trois protéines: la protéine de reconnaissance, **C1q**, qui est associée à deux sérines estérases **C1r et C1s (figure40)**. La molécule de c1q a une structure évoquant un bouquet de g + un pont central fibrillaire et 6 sous unités périphériques globulaires se liant aux régions fc des IgG et IgM, et en présence de  $Ca^{2+}$  le C1q active le C1r et C1s pour former la **cr-cs estérase** qui à son tour

active le **c4** puis **c2** aboutissant en présence de  $Mg^{2+}$  à la **c3 convertase classique (c4b2a)** et ceci après libération du **c4a** qui est l'**anaphylatoxine** et de **c2b** qui est le complément kinine.

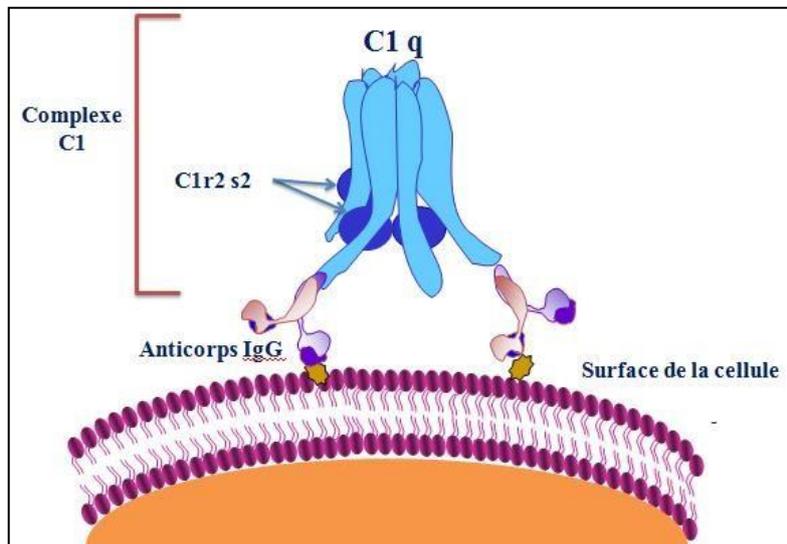


Figure 40: Structure de C1 (Abbas et Lichtma, 2009).

- La **c4b2a** active **c3** et le clive en **c3a** et **c3b** pour que ce dernier (**c3b**) se fixe sur **c4b2a** pour former **c4b2a3b** ou **c5 convertase classique** qui aura la propriété de cliver **c5** avec libération de **c5a** et fixation de **c5b** pour former le **CAM**.

### IV.2.3.2. La voie alterne

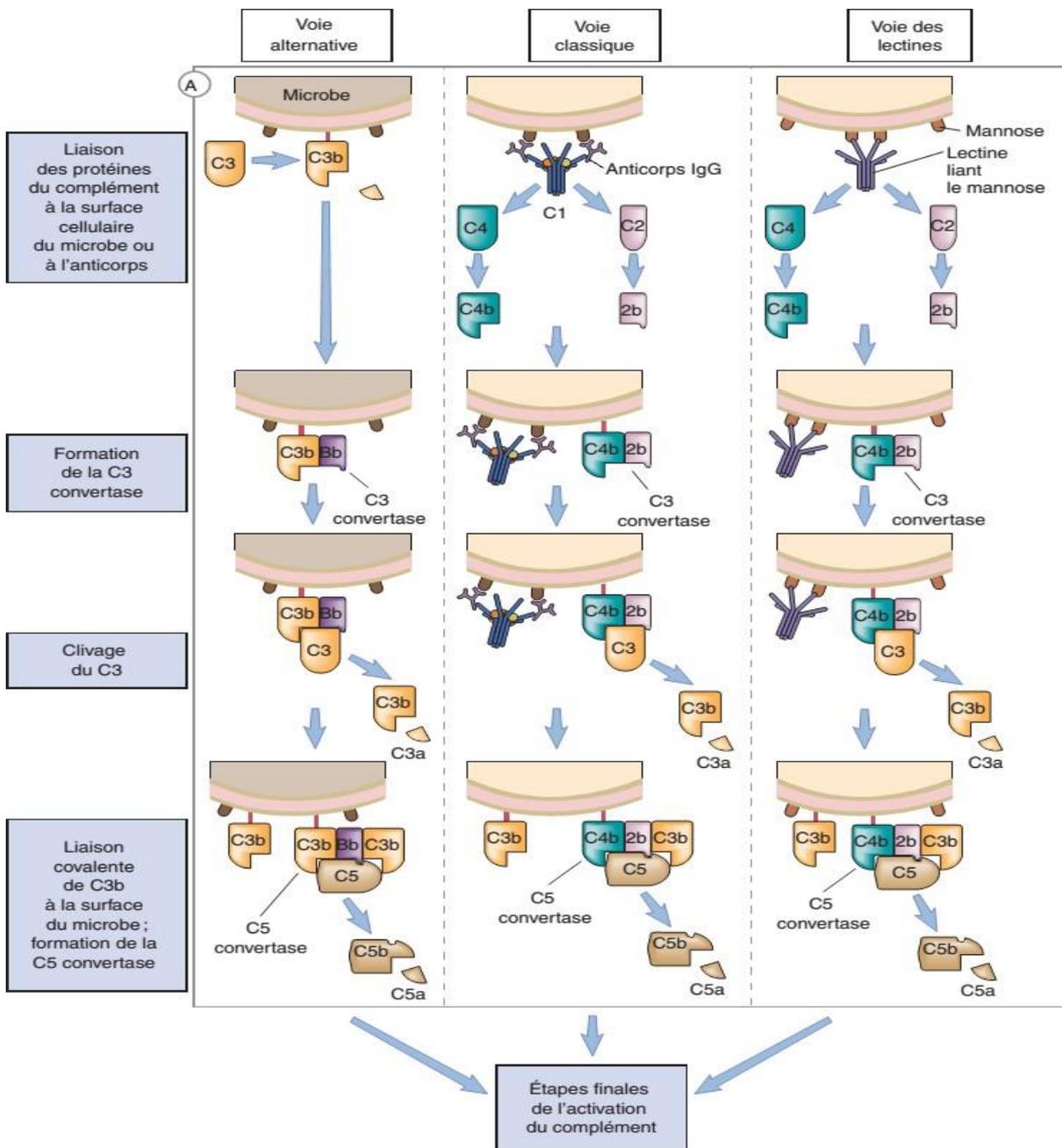
C'est une voie qui utilise la **c3b** (formé constamment de petite quantité dans le plasma), le **facteur B** (**c3proactivateur**), le **facteur D** (**c3 proactivateur convertase**), et le **facteur P** (**properdine** qui **stabilise** la **c3 convertase** alterne). Une fois activée, la voie alterne est accélérée par une boucle d'amplification qui aboutit à la formation d'une **c3 convertase** stabilisée par la **properdine**.

En présence de  $Mg^{2+}$ , **c3b** et **B** forment un complexe de **c3bB**, l'enzyme **D** clive le facteur **B** au sein de ce complexe (**c3Bb**) en **Ba** soluble et **Bb** ce qui conduit à la formation de la **c3 convertase** de la voie alterne : **c3bBb** qui aura comme rôle de cliver **c3** formant de nouvelles molécules de **c3B** capables à leur tour de former, après réaction avec **B** et **D**, de nouvelles **convertases** alternes jusqu'à obtenir  $(c3b)_n Bb = c5$  **convertase**.

### IV.2.3.3. Voie de la lectine liant le mannose

Elle est déclenchée en absence d'anticorps par la fixation de la lectine liant le mannose (**MBL**) aux microbes. **MBL** qui a une structure similaire à celle du composant du **C1** de la **voie classique** et son rôle est d'activer le **C4**. Les étapes sont pratiquement **identiques** à celles

de la voie classique (figure 41). Le résultat de ces étapes initiales de l'activation du complément est la fixation covalente de C3b en forte densité sur les microbes.

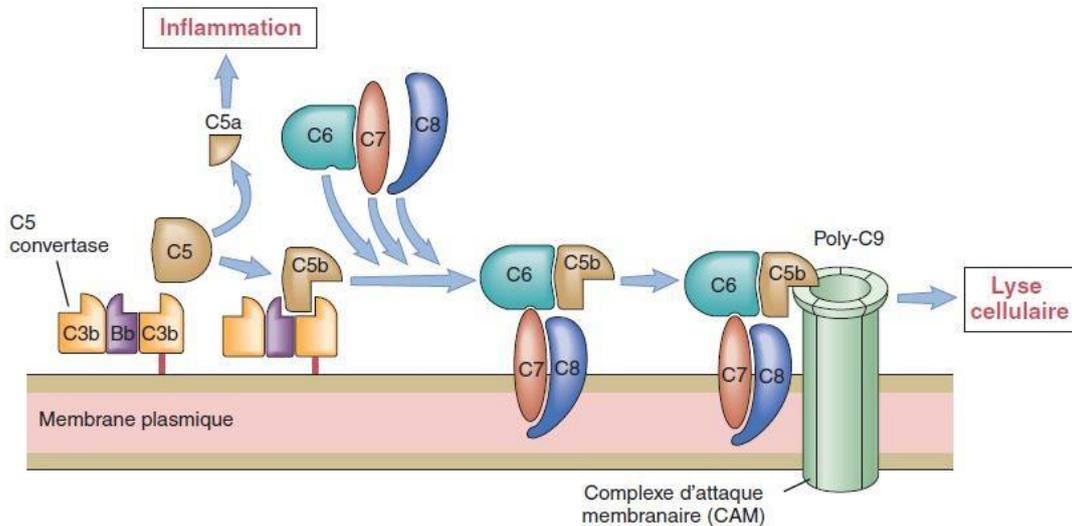


Figures 41 : Les voies d'activation du complément (Abbas et Lichtman, 2009)

#### IV.2.4. Le complexe d'attaque membranaire (CAM)

La formation du complexe d'attaque membranaire (CAM) constitue la phase effectrice de l'activation du complément soit par la voie classique ou alterne. **Le clivage de c5** par l'une ou l'autre des convertases classique ou alterne permet la formation d'un complexe moléculaire **C5b, 6, 7, 8, 9** très stable (figure 42).

Le **C5b** se fixe sur la membrane cellulaire et entraîne la fixation de **C6, C7, C8**, puis **C9** le tout se polymérise sous forme de complexe d'attaque membranaire qui, en s'insérant à la membrane, crée des pores d'où la cytolyse et la mort de la cellule cible.



**Figure 42 :** Etapes finales de l'activation du complément et formation des CAM (Abbas et Lichtman, 2009)

### IV.2.5. Les fonctions du système du complément

Le système du complément assure plusieurs fonctions, car il joue un rôle important dans les réponses immunitaires innées et adaptatives (**figure 43**). Ces principales fonctions sont :

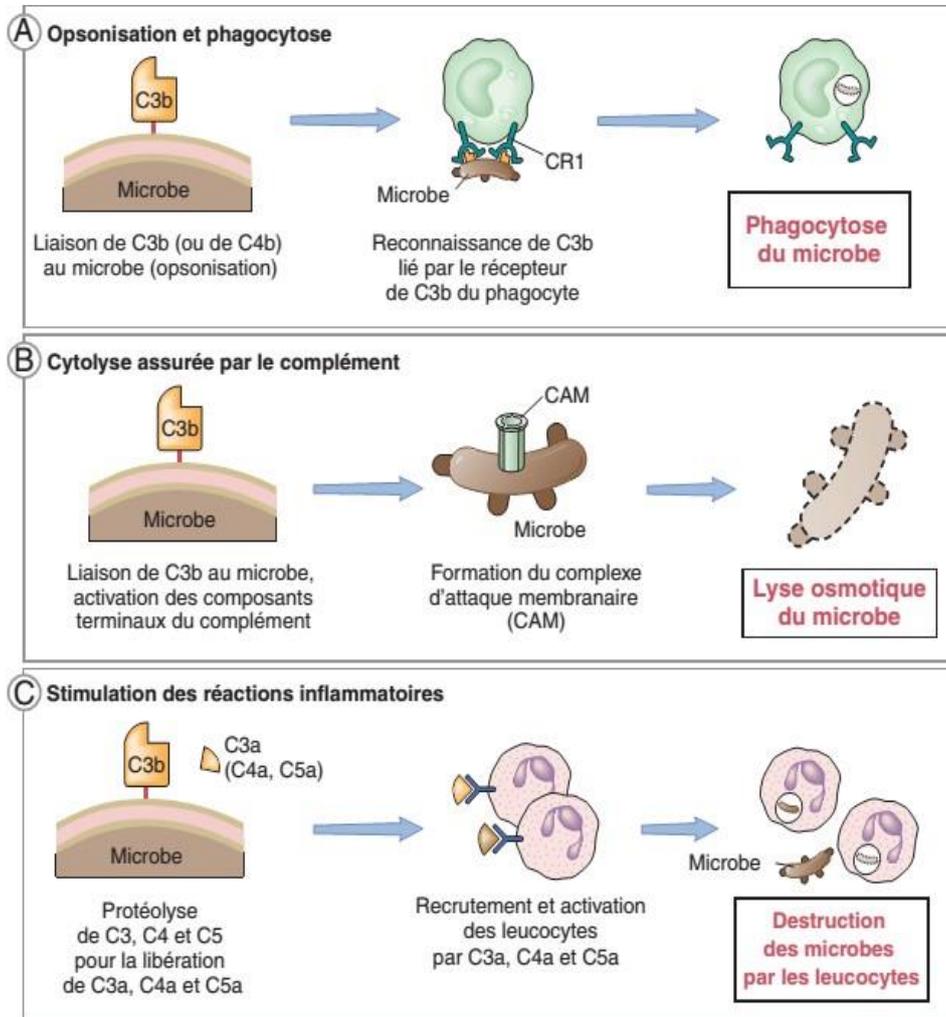
- **L'opsonisation** est probablement la fonction la plus importante du complément dans la défense contre les microbes. Les microbes recouverts de **C3b** sont **phagocytés**. Le C3b est une **opsonine** reconnue par le récepteur du complément du type 1 (CR1 ou CD35) exprimé sur les phagocytes.

- **La destruction des agents infectieux par le complexe d'attaque membranaire (CAM)** qui induit une lyse osmotique des cellules, notamment des microbes.

- **Le contrôle des réponses inflammatoires** : Les petits fragments peptidiques des protéines C3, C4 et C5, produits par protéolyse, sont chimiotactiques et induisent des réactions inflammatoires qui contribuent à l'élimination des microbes. De plus, de nombreux produits de clivage des protéines du complément sont actifs dans l'immunité innée (l'opsonine C3b, les anaphylatoxines C3a et C5a).

- **La modulation des réponses immunitaires adaptatives** via l'interaction des fragments du complément avec les récepteurs membranaires. L'un de ses produits de

dégradation, C3d, est reconnu par les lymphocytes B via le récepteur CR2 ou CD21 . Les signaux transmis par ce récepteur stimulent les réponses des lymphocytes B contre le microbe. ainsi le complément contribue à la stimulation des réponses immunitaires humorales



**Figure 43:** Les fonctions du complément (Abbas et Lichtman, 2009)

### IV.2.6. Régulation de l'activation du complément

L'activation du système du complément est soumise à différents mécanismes régulateurs faisant intervenir des protéines plasmatiques et membranaires (**tableau 5**). Elles agissent à un différent niveau d'activation des différentes voies de ce système.

**Tableau 5:** Nature et fonction des principales protéines régulatrices du système du complément.

Protéines plasmatiques		
Protéine	Distribution	Fonction
Inhibiteur du C1 (C1 INH)	Plasma ; concentration 200 µg/ml	Inhibe l'activité sérine protéase de C1r et de C1s
Facteur I	Plasma ; concentration 35 µg/ml	Effectue un clivage protéolytique de C3b et C4b
Facteur H	Plasma ; concentration 480 µg/ml	Provoque la dissociation des sous-unités de la C3 convertase de la voie alterne Cofacteur du clivage de C3b effectué par le facteur I
Protéine liant C4 (C4BP, C4 binding protein)	Plasma ; concentration 300 µg/ml	Provoque la dissociation des sous-unités de la C3 convertase de la voie classique Cofacteur du clivage de C4b effectué par le facteur I

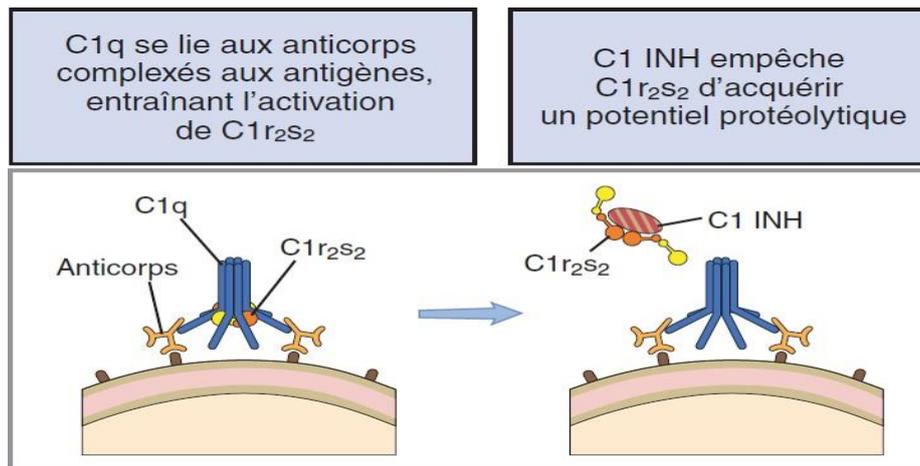
Protéines membranaires		
Protéine	Distribution	Fonction
Protéine cofacteur de membrane (MCP, CD46)	Leucocytes, cellules épithéliales, cellules endothéliales	Cofacteur pour le clivage de C3b et de C4b par le facteur I
Facteur accélérant la dissociation (DAF)	Cellules sanguines, cellules endothéliales, cellules épithéliales	Provoque la dissociation des sous-unités de la C3 convertase
CD59	Cellules sanguines, cellules endothéliales, cellules épithéliales	Bloque la liaison de C9 et empêche la formation du CAM
Récepteur du complément de type 1 (CR1, CD35)	Phagocytes mononucléés, neutrophiles, lymphocytes B et T, érythrocytes, éosinophiles, cellules folliculaires dendritiques	Provoque la dissociation des sous-unités de la C3 convertase Cofacteur pour le clivage de C3b et de C4b par le facteur I

#### IV.2.6. 1. Régulation de la voie classique

Le premier niveau de régulation physiologique repose sur la dissociation spontanée (le *decay*) des convertases. La seconde est l'inactivation de C4b et C3b les rendant inaptes à se lier à C2 et le facteur B.

L'activation de la voie classique est régulée par deux protéines circulantes spécifiques soumise à différents mécanismes régulateurs :

➤ **Le C1-Inhibiteur (C1inh)** : L'activation de C1 est contrôlée par l'inhibiteur de C1 (C1inh), une protéine **présente dans le plasma** sous forme active. Il empêche l'assemblage du complexe C1 qui est composé des protéines C1q, C1r et C1s, et par conséquent bloque l'activation du complément par la voie classique (**figure 44**). Il **dissocie le C1 de l'activateur de la voie classique** en se combinant à C1r et à C1s pour former un complexe C1r-C1s-(C1inh)<sub>2</sub>.



**Figure 44:** Inhibition de l'activation de la voie classique par le C1inh

L'activité enzymatique de la C3 convertase classique est contrôlée par plusieurs mécanismes.

- Le **complexe C4b2a** a une tendance spontanée à se dissocier, ce qui limite la durée de vie de l'enzyme à la surface de l'activateur. Plusieurs protéines plasmatiques ou membranaires ont une activité inhibitrice de la C3 convertase classique dans le plasma.

➤ **La C4 binding protein (C4bp):** la C4 binding-protein ("C4bp") du fait de son affinité pour C4b, dissocie le complexe C4b2a et facilite le clivage de C4b par l'enzyme I ce qui aboutit à l'inactivation de C4b en C4bi.

➤ **c1q inh :** inhibiteur de c1q, inhibe l'activation de la voie classique par interaction avec le c1q. Protéines de surfaces : qui sont présentes à la surface de la plupart des cellules qui contrôlent la **convertase C4b2a** et qui sont :

➤ **La protéine DAF (Decay Accelerating Factor ou CD55):** protéine membranaire présente sur toutes les cellules sanguines, endothéliales et épithéliales, elle dissocie les C3 convertases de manière très efficace (**figure 45**).

➤ **Les MCP (membrane cofactor proteins CD46) :** présentes sur les membranes des cellules autres que les hématies, elles fixent c3b et c4b et favorisent leur inactivation. Ce sont aussi des cofacteurs de I dont le rôle s'ajoute à celui de DAF.

#### IV.2.6.2. Régulation de la voie alterne

La boucle d'amplification de c3b est contrôlée par 2 protéines : **H** et **I**, le facteur H se lie à c3b de façon compétitive avec B, ce qui entraîne une dissociation accélérée de la c3 convertase alterne c3Bb qui perd son activité, et de plus, tout lié à c3b joue le rôle de cofacteur pour I permettant au facteur I de cliver c3b en c3bi, molécule incapable de se lier à B pour former la c3 convertase alterne. Le facteur I et ses cofacteurs pour la dégradation de C3b (facteur H, CR1 et MCP) sont également considérés comme des régulateurs de la voie alterne.

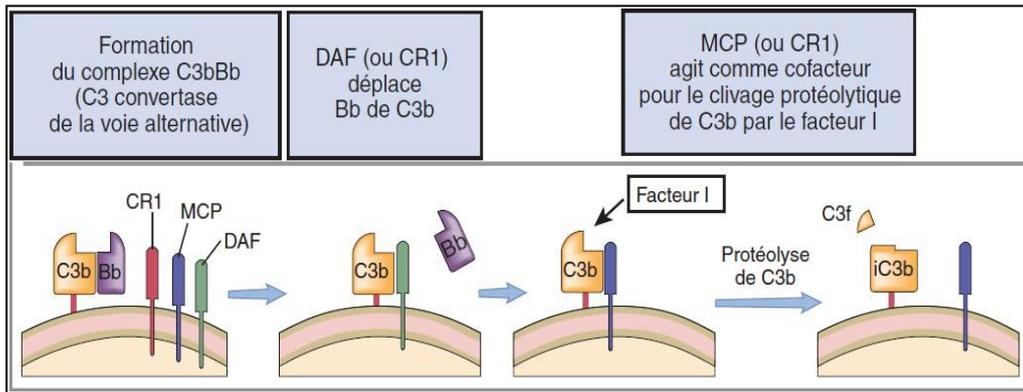


Figure 45: Rôle des protéines DAF et CR1 sur la formation de la C3 convertase de la voie alternative

#### IV.2.6.3. Régulation du CAM

Le complexe d'attaque membranaire est sous le contrôle de deux protéines, **une plasmatisque, la protéine S**, et **une membranaire, CD59**, qui empêchent la formation sur les membranes, respectivement des complexes C5b-7 et C5b-8, et la polymérisation de C9.

## *V. La réponse immunitaire spécifique*

V.1. L'immunité cellulaire

V.1.1. Introduction

L'immunité adaptative est la seconde ligne de défense de l'organisme. Sa mise en place est retardée puisqu'elle survient seulement **4 jours après le contact avec l'agent pathogène**. Elle se déroule dans les **organes lymphoïdes secondaires**. Elle fait intervenir les **lymphocytes B et T** qui jouent un rôle central dans la réponse immune.

V.1.1. Types d'immunité adaptative

Les **lymphocytes B produisent des anticorps** ; ils sont responsables de la **réponse immunitaire adaptative humorale**. Les **lymphocytes T** sont responsables de la **réponse cellulaire (Figure 46)**.

La nature de l'antigène (Ag) est déterminante dans le type de réponse immunitaire à initier:

- ✓ les Ag à parasitisme intra-cellulaire nécessitent une réponse cellulaire
- ✓ les Ag à parasitisme extracellulaire et qui sont thymo-dépendants nécessitent une réponse humorale avec l'intervention des lymphocytes T (LT).
- ✓ les Ag à parasitisme extracellulaire et qui sont thymo-indépendants nécessitent une réponse humorale sans l'intervention des lymphocytes T.

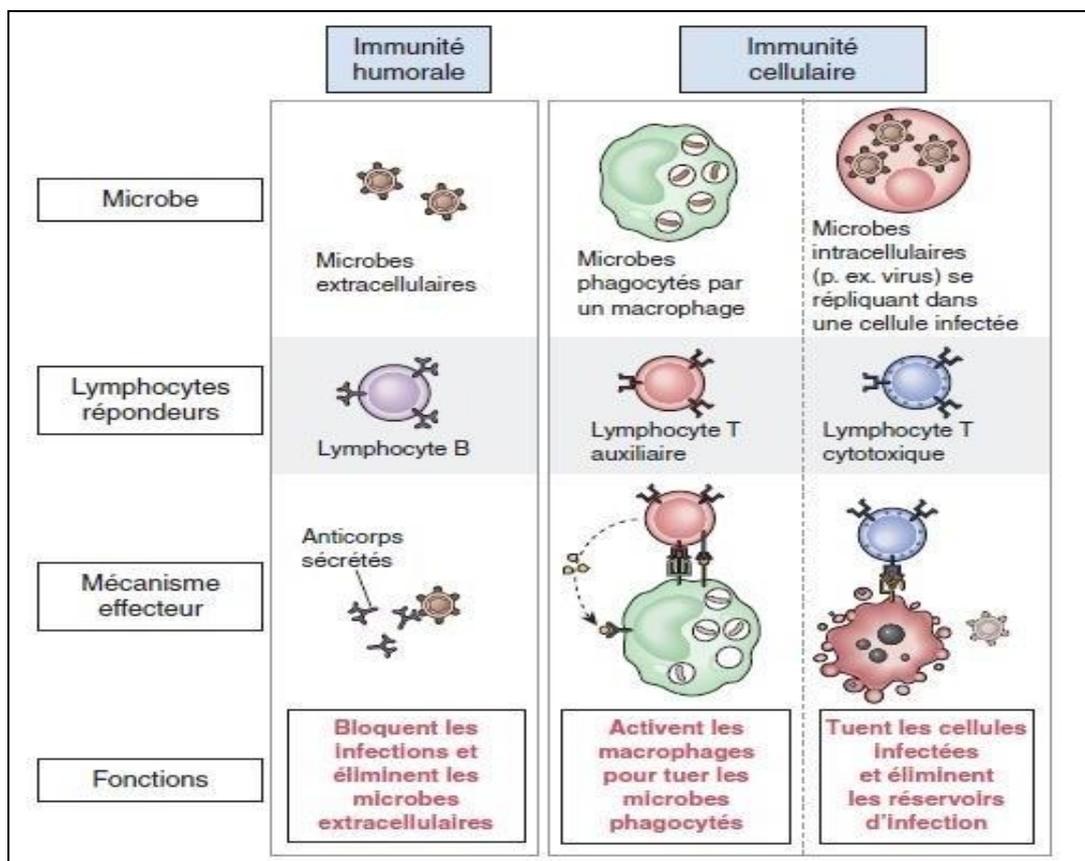


Figure 46: Types d'immunité adaptative (Abbas et Lichtman, 2009).

### V.1.2. Caractéristiques des réponses immunitaires adaptatives

- **Spécificité** : elle repose sur **la reconnaissance de la substance étrangère (c'est-à-dire l'antigène ou l'immunogène) par des récepteurs d'antigène** à la surface des lymphocytes de manière très précise et sélective.
- **Diversité** : les cellules et les produits cellulaires qui composent le système immunitaire adaptatif sont de types différents.
- **Mémoire** : Capacité à reconnaître un antigène lors de rencontres ultérieures avec une substance étrangère, de manière plus rapide et plus intense. La réponse immunitaire adaptative est déclenchée lors de la **première** rencontre entre les **lymphocytes naïfs** et l'antigène: c'est **la réponse primaire**. Une **réponse secondaire** se produit lors d'expositions ultérieures avec le même antigène. Cette réponse est plus **rapide**, plus **intense** et plus durable, et plus efficace pour éliminer l'antigène. La réponse secondaire résulte de l'activation des **lymphocytes mémoires** qui sont des cellules à longue vie induites au cours de la réponse immunitaire primaire. La mémoire concerne aussi bien les lymphocytes B que les lymphocytes T.

### V.1.3. Phases des réponses immunitaires adaptatives

Les réponses immunitaires adaptatives se composent de phases consécutives (**Figure 47**) :

- **La reconnaissance** de l'antigène par les lymphocytes spécifiques
- **L'activation des lymphocytes** (qui consiste en leur prolifération et en leur différenciation en cellules effectrices), appelé **expansion clonale**, elle permet à l'immunité adaptative de faire face à la prolifération rapide des microbes.
- **La phase effectrice** (élimination de l'antigène).
- **La réponse décline** lorsque l'antigène est éliminé, et la plupart des lymphocytes stimulés par l'antigène meurent par apoptose.

Les cellules spécifiques des antigènes qui survivent sont responsables de la mémoire immunitaire. La durée de chaque phase peut varier en fonction des différentes réponses immunitaires. Ces principes s'appliquent à l'immunité humorale (assurée par les lymphocytes B) et à l'immunité cellulaire (assurée par les lymphocytes T).

L'axe des ordonnées représente une mesure arbitraire de l'amplitude de la réponse.

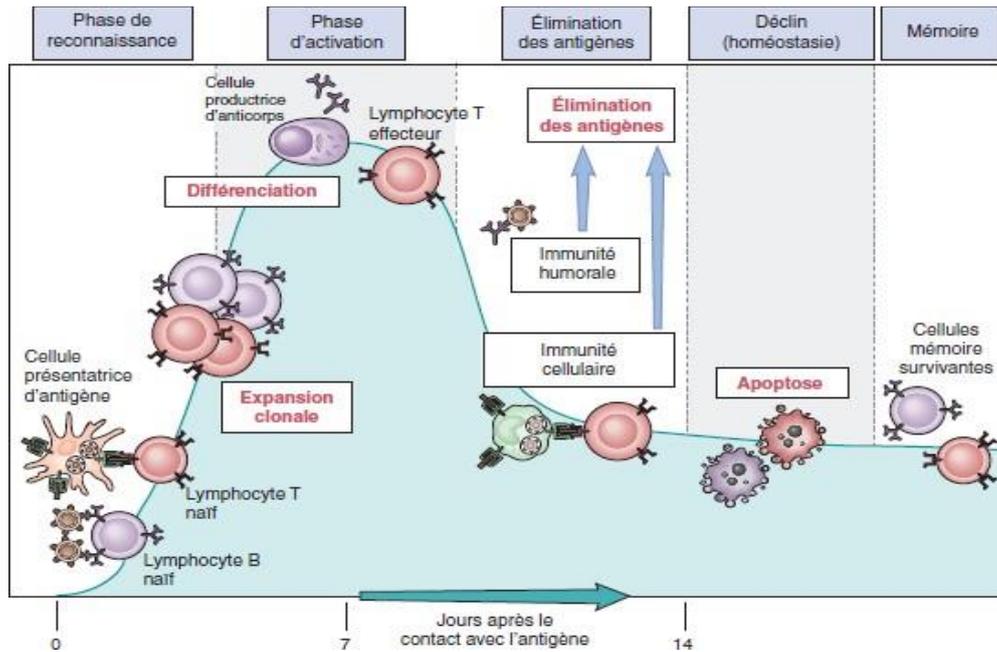


Figure 47: Phases des réponses immunitaires adaptatives (Abbas et Lichtman ,2009).

#### V.1. 4. Les étapes de la réponse immunitaire cellulaire

L'immunité cellulaire fait intervenir les lymphocytes T CD8 + qui présentent des fonctions cytotoxiques (lymphocytes T CD8 + cytotoxiques, CTL) vis-à-vis des cellules cibles exprimant des complexes « peptides (viraux ou tumoraux)/CMH I ». Les mécanismes effecteurs conduisent à la mort de la cellule cible.

##### a. La reconnaissance de l'antigène

La reconnaissance spécifique de l'antigène se fait *via* leur TCR qui reconnaît les **peptides antigéniques associés aux molécules du CMH de classe I** et présentés par les cellules dendritiques au niveau des organes lymphoïdes secondaires. Cette reconnaissance constitue le **premier signal** de reconnaissance.

##### b. Etape d'activation

Un **second signal d'activation dit de costimulation** est déclenché par l'engagement entre les deux molécules de **costimulation B7 (CD80 ou CD86) et CD28**. En l'absence de ce second signal, les LT CD8 + naïfs ayant engagé leur TCR entrent en anergie ou en apoptose.

L'activation des LT CD8 + naïfs nécessite également **un troisième signal médié par les cytokines** sécrétées par les **LT CD4 + auxiliaires de type Th1**, en particulier **l'IL-2 et l'IFN- $\gamma$** . En effet, la reconnaissance par les LT CD4 + spécifiques de leurs antigènes sur les DC et l'engagement des molécules **de costimulation CD40 et CD40L** induit la synthèse de ces cytokines qui vont participer à la prolifération et à la différenciation des LT CD8 + naïfs en LT CD8 + effecteurs cytotoxiques (CTL).

### c. La phase d'expansion clonale

Cette coopération LT/LT induit tout d'abord, grâce à l'IL-2, une prolifération des LT CD8 + c'est l'**expansion clonale** qui permet d'obtenir une grande quantité de LT CD8 + spécifiques de l'antigène. Cette étape est cruciale pour que la réponse immune T CD8 + spécifique soit mise en place plus rapidement que la dissémination du virus ou de la tumeur.

L'IFN- $\gamma$  permet quant à lui la différenciation optimale des LT CD8 + en CTL, c'est-à-dire favorise la production intracellulaire de différentes protéines capables d'induire après leur relargage par le LT CD8 + l'apoptose des cellules cibles dans les tissus en périphérie.

Au cours de leur différenciation, les CTL acquièrent des molécules d'adhésion et des r récepteurs de chimiokines particuliers qui leur confère les capacités de quitter les organes lymphoïdes secondaires et de migrer dans le sang vers les foyers d'infection ou le site tumoral.

### d. La phase effectrice

Les CTL effecteurs exercent leur action cytotoxique par plusieurs mécanismes:

- l'exocytose de molécules toxiques pour la cible, contenues dans des granules cytoplasmiques du CTL. On parle de dégranulation du CTL. Parmi les molécules libérées, la perforine qui forme un pore dans la membrane de la cible. Cette lyse membranaire permet la pénétration dans le cytoplasme des Granzymes A et B qui déclenchent l'apoptose de la cible de façon dépendante ou indépendante des caspases (**Figure 48**).

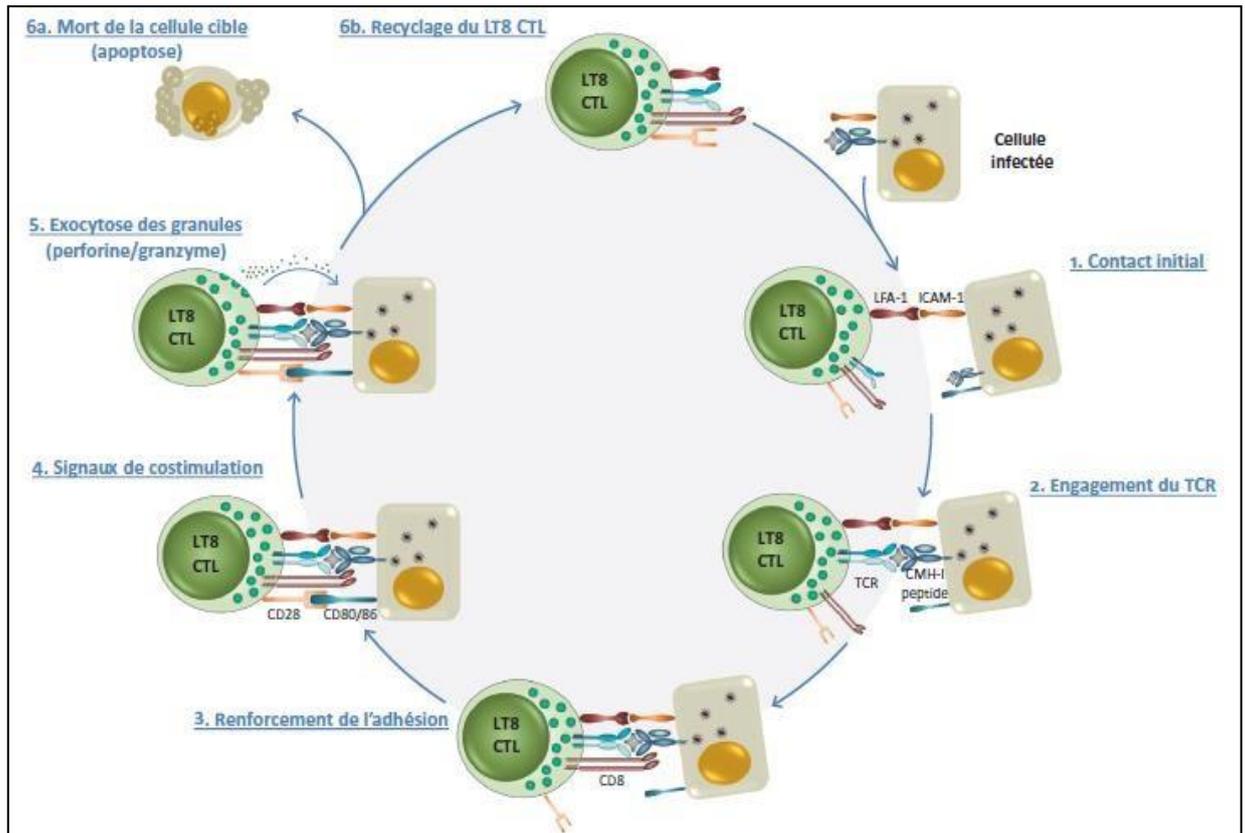
- deuxième mécanisme de cytotoxicité passe par l'engagement de récepteurs à domaines de mort tels que FAS (expression de FasL, encore appelé CD95, par les CTL) ou le TNF-R (synthèse de TNF $\alpha$  par les CTL), ce qui entraîne la mort des cellules cibles par déclenchement de l'apoptose intra-cellulaire *via* la voie des caspases.

- Les CTL participent également à la lutte contre les virus en produisant des chimiokines et cytokines, notamment l'IFN- $\gamma$ . L'IFN- $\gamma$  possède des effets antiviraux directs, c'est -à-dire diminue la permissivité des cellules cibles au virus, et indirects, *via* le recrutement et l'activation des macrophages et des cellules NK pouvant aussi détruire et éliminer les cellules infectées, ou encore en augmentant la transcription et l'expression membranaire des molécules du CMH.

### e. La contraction clonale et mise en place de la mémoire T CD8 +

La contraction clonale, environ 90 % des CTL meurent par apoptose. La réponse immunitaire donne également lieu à la mise en place d'un compartiment de LT CD8 mémoires. Celles-ci vont persister dans l'organisme au long cours et seront capables de

répondre et proliférer puis se différencier plus rapidement en CTL effectrices lors de la réintroduction de l'antigène cible (réponse dite secondaire).



**Figure 48:** Différents mécanismes de cytototoxicité des LT CD8+ (Rosenzweig et al. in immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018)

### V.2. L'immunité humorale

L'immunité **humorale** est **médiée par les anticorps** et qui constitue la branche du système immunitaire **adaptatif** dont la fonction est de **neutraliser** et **d'éliminer les microbes extracellulaires et les toxines microbiennes**. L'immunité humorale joue un rôle plus important dans les défenses contre les **microbes** possédant des **capsules** riches en **polysaccharides** et en **lipides**.

#### V.2.1. Les différents types d'immunité humorale

Les réponses humorales (à **anticorps**) dirigées contre différents antigènes sont classées en **T-dépendantes** ou **T-indépendantes** selon qu'elles nécessitent ou non la **collaboration** des **lymphocytes T**.

Les lymphocytes B sont essentiellement impliqués dans :

- **Les réponses humorales dépendantes des lymphocytes T (thymo-dépendante) qui nécessite l'intervention des Lymphocytes T** et une coopération entre Ly TCD4+ et ly B au sein du centre germinatif.
- **Les réponses humorales indépendantes des lymphocytes T (thymo-indépendante)** impliquent les lymphocytes B de la zone marginale.

Les réponses immunitaires humorales sont induites lorsque, les lymphocytes **B** spécifiques d'un antigène se trouvant dans les follicules lymphoïdes de la **rate, des ganglions lymphatiques et des tissus lymphoïdes des muqueuses reconnaissent les antigènes.**

Dans les **ganglions lymphatiques**, les **macrophages** peuvent capter les antigènes et les présenter aux **cellules B** dans les **follicules**.

### V.2.1. Réponse aux antigènes T indépendants

Il existe une minorité d'antigènes dits thymo-indépendants (TI) qui ne nécessitent pas une coopération des lymphocytes T CD4+. Ils sont capables d'activer les cellules B sans la coopération des cellules T.

De nombreux antigènes non protéiques tels que les polysaccharides et les lipides ne peuvent pas être reconnus par les lymphocytes T auxiliaires car ils sont résistants à la dégradation c'est-à-dire ils ne sont pas traités et présentés avec les protéines du CMH ; ils sont reconnus sans être "découpés" en épitopes (sans apprêtement). Ils stimulent la production d'anticorps sans la participation des **lymphocytes T auxiliaires**. Ils sont de deux types

-**Type TI-1** : sont essentiellement des composants des parois bactériennes comme le lipopolysaccharide (LPS) des parois des bactéries Gram négatives.

-**Type TI-2** : ce sont de grandes molécules polysaccharidiques avec des déterminants antigéniques répétitifs comme le ficoll, le dextran, la flagelline bactérienne.

Le processus d'activation, de prolifération et de différenciation des cellules B est alors engagé directement sans la participation des lymphocytes T auxiliaires. La réponse immunitaire T-Indépendante est une réponse humorale faible, il n'y a pas de formation de centre germinatif, et donc les anticorps produits sont de classe IgM (pas de commutation isotypique), l'induction de la mémoire aux est relativement faible.

### V.2.2. Réponse aux antigènes T dépendants

La majorité des antigènes induisant une réponse immunitaire humorale sont d'origine **protéique et sont thymo-dépendants.**

#### V.2.2.1. les phases de réponse aux antigènes thymo-dépendants

- a. la phase de reconnaissance de l'antigène

La reconnaissance de l'antigène s'effectue par le récepteur spécifique d'un **antigène** du lymphocyte B (BCR) qui est une immunoglobuline transmembranaire **IgM** et **IgD**. Cette interaction entre l'antigène à l'état natif et le BCR n'est pas suffisante pour activer le lymphocyte B et déclencher la synthèse d'anticorps. La fixation de l'antigène est suivie de l'internalisation du complexe BCR-antigène et formation de vésicules d'endocytose où l'antigène sera dégradé en des peptides qui s'associent aux molécules du CMH de type II exprimées par le lymphocyte B. **Les peptides seront alors ainsi exposés sur la membrane du lymphocyte B et présentés au lymphocyte T folliculaire auxiliaire CD4 préalablement activé ainsi le lymphocyte B se comporte en cellule présentatrice de l'antigène.** Cette reconnaissance constitue le **premier signal d'activation des lymphocytes B** qui **déclenche** des voies de **signalisation**. Les cellules B et T vont s'activer mutuellement et vont chacune commencer leur cycle de division cellulaire.

### b. L'activation des lymphocytes B

Comme pour les lymphocytes T, l'activation d'un lymphocyte B nécessite la combinaison de deux seconds signaux. L'activation des lymphocytes B dépend de la coopération avec le lymphocyte T qui s'effectue dans les follicules des organes lymphoïdes périphériques. **Cette coopération repose sur l'augmentation de l'expression, de nouvelles molécules (CD80/CD86) appartenant à la famille des récepteurs B7. Ces dernières se lient au CD28 présent sur le lymphocyte T induisant un signal de co-stimulation qui va activer ce lymphocyte T et induire l'expression du CD40 ligand (CD40L) qui se lie au CD40 présent sur le lymphocyte B, et lui délivre à son tour un signal de co-stimulation (Figure 49).** D'autre part, des récepteurs de cytokines, qui sont les médiateurs sécrétés par les lymphocytes T auxiliaires. Les lymphocytes B activés migrent à l'extérieur des follicules, et se dirigent vers le compartiment dans lequel les lymphocytes T auxiliaires sont concentrés.

L'interaction CD40/CD40 ligand est indispensable à la prolifération des lymphocytes B, à la formation des centres germinatifs et à la commutation isotypique.

Il résulte de cette **signalisation** induite par les **récepteurs** des **lymphocytes B** une activation de facteurs de transcription spécifiques de gènes codant les protéines impliquées dans la **prolifération et la différenciation des lymphocytes B.**

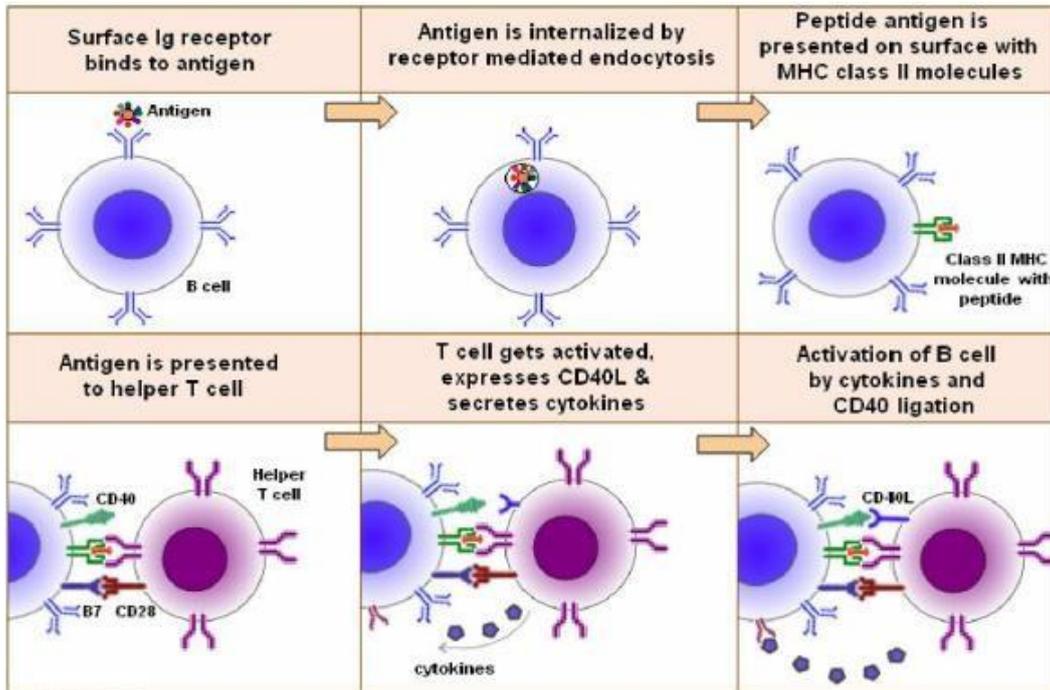


Figure 49 : Processus d'activation des lymphocytes B.

c. La phase d'expansion clonale

L'activation des lymphocytes B entraîne la **prolifération** de cellules **spécifiques** de l'antigène, appelée **expansion clonale**, ainsi que leur **différenciation** en cellules **effectrices**, les **plasmocytes**, qui sécrètent activement des **anticorps** (Figure 50).

d. La phase effectrice

Les **anticorps** sécrétés présentent la même **spécificité** que les récepteurs membranaires des **lymphocytes B** naïfs qui ont reconnu l'**antigène** déclencheur de la réponse.

Les plasmocytes qui se développent à la suite de cette interaction résident dans les organes lymphoïdes, généralement à l'extérieur des follicules riches en lymphocytes B, et les anticorps sécrétés passent dans la circulation sanguine. **Les plasmocytes migrent vers la moelle osseuse, où ils peuvent vivre plusieurs années,**

Une fraction des lymphocytes B activés, qui est souvent constituée par les cellules filles de lymphocytes B ne **se différencie** pas en cellules **plasmocytaire** sécrétant des anticorps, mais évolue en **cellules mémoire**. Les lymphocytes **B mémoire** ne sécrètent pas d'anticorps, mais circulent dans le sang et survivent plusieurs mois ou **plusieurs années** en l'absence de **nouvelle exposition** à l'antigène, prêts à **répondre rapidement** si l'antigène est réintroduit.

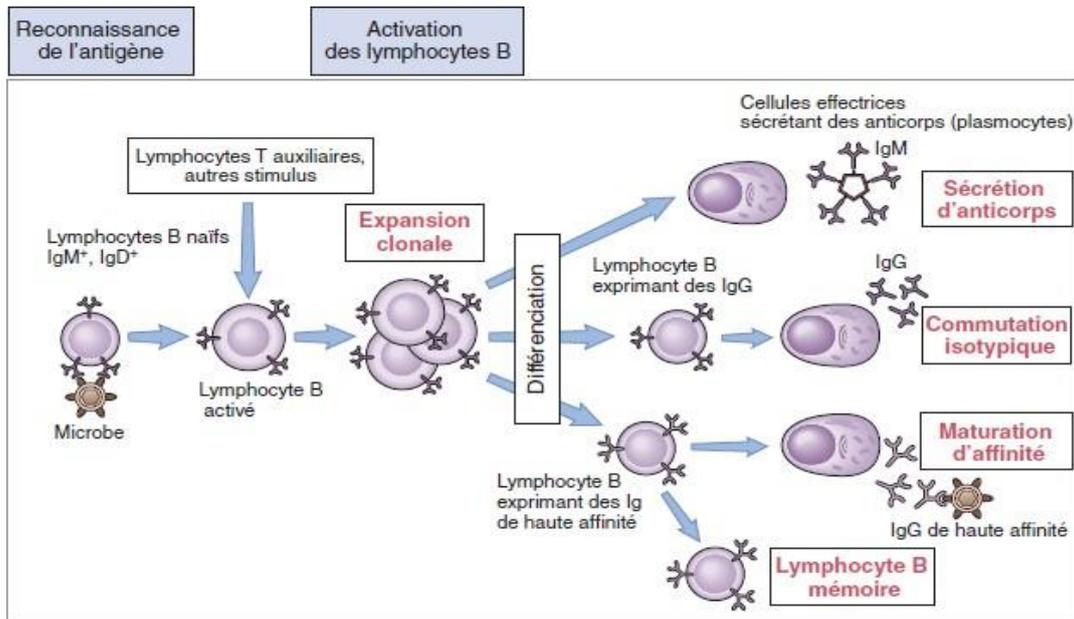


Figure 50: Phases des réponses immunitaires humorales (Abbas et Lichtman, 2009).

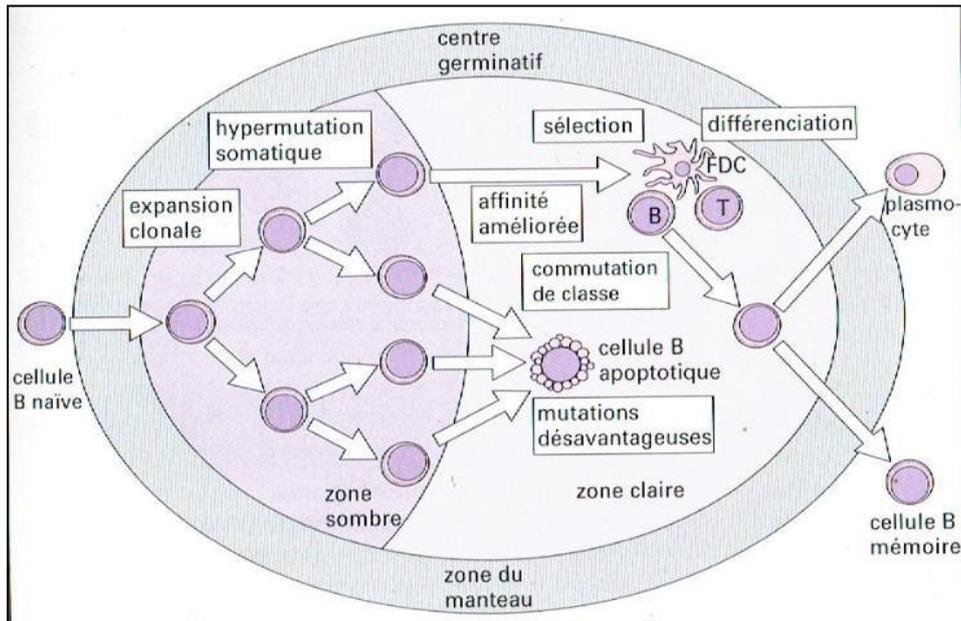
#### V.2.2.2. Rôle des protéines du complément dans l'activation des lymphocytes B

Les lymphocytes B expriment un récepteur pour une protéine du système du complément (C3) qui fournit des signaux d'activation aux lymphocytes. L'un de ces produits de dégradation est un fragment appelé C3d. Les lymphocytes B expriment un récepteur, dit récepteur du complément de type 2 (CR2), qui se lie à C3d constituant ainsi le **second signal** pour les lymphocytes B.

#### V.2.2.3. Fonction du centre germinatif

L'activation des lymphocytes B par les cellules T folliculaires conduit à la différenciation des lymphocytes B en **plasmablastes de demi-vie courte qui vont produire des IgM** spécifiques de l'antigène de faible affinité et seront responsables de la réponse primaire.

Une petite proportion des lymphocytes B activés, dits fondateurs, vont, quant à eux, migrer dans un follicule primaire pour y former un centre germinatif qui caractérise le follicule lymphoïde secondaire (**figure 51**). **Dans le centre germinatif**, les gènes des immunoglobulines subissent des hypermutations somatiques améliorant l'affinité des lymphocytes pour leur antigène et la commutation de classe. **Les hypermutations somatiques sont induites dans la zone sombre des centres germinatifs** des organes lymphoïdes secondaires, à un stade où le lymphocyte B est appelé **centroblaste**.



**Figure 51:** Structure et fonction du centre germinatif (Male et *al.*, 2007)

### V.2.2.4. Conséquences de l'activation des cellules B

Les lymphocytes B activés migrent dans un follicule secondaire et forment des centres germinatifs dans lesquels ils prolifèrent et se différencient en plasmocytes à longue durée de vie sécrétant d'immunoglobulines de classe **IgG, IgA et IgE, ou en cellules B mémoire.**

**Les IgM sont majoritairement produites au cours de la réponse primaire,** et sont efficaces pour activer le complément. **Les IgG, IgA ou IgE sont majoritairement produites au cours d'une réponse secondaire** ou tertiaire (Figure 52). Ces immunoglobulines interagissent avec différentes cellules immunitaires (macrophages, cellules dendritiques, mastocytes...) renforçant les capacités de lutte de l'organisme. L'isotype de l'immunoglobuline sécrétée dépend de la nature de l'antigène activateur et de l'environnement cytokinique.

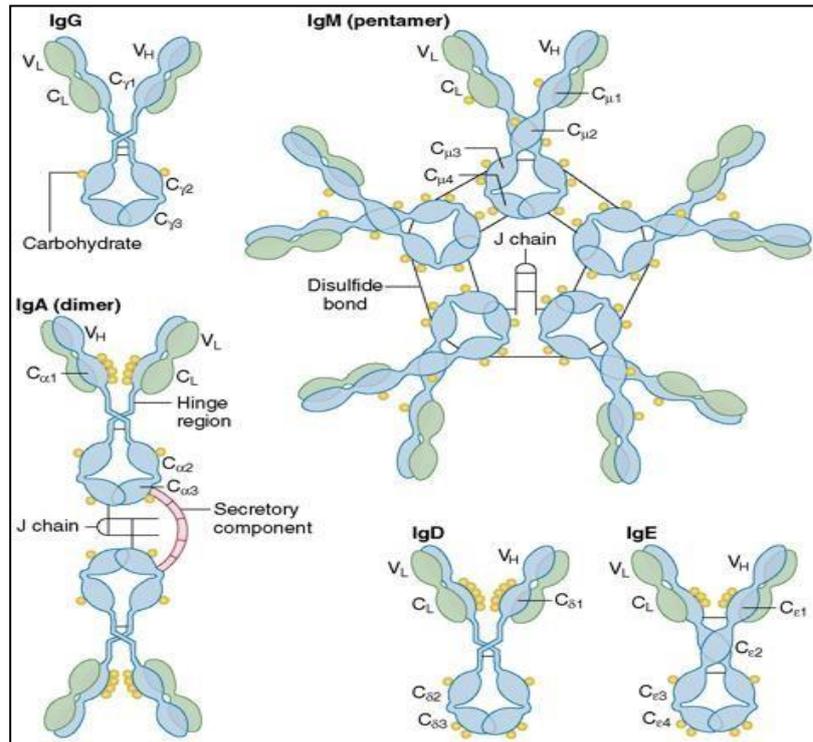


Figure 52: Les isotypes d'immunoglobulines (Male et al., 2007).

Les anticorps utilisent leurs régions de liaison à l'antigène (Fab) pour se lier aux microbes et aux toxines et ainsi bloquer leurs effets nocifs. Ils utilisent leurs **régions Fc** pour activer **différents mécanismes effecteurs** destinés à éliminer ces microbes et ces toxines

#### V.2.2.5. Les fonctions effectrices des immunoglobulines

##### a. Neutralisation des microbes et des toxines microbiennes

Les anticorps, en se liant aux microbes et aux toxines, bloquent ou neutralisent le pouvoir infectieux des microbes et les interactions des toxines microbiennes avec les cellules de l'hôte

**b. Opsonisation et phagocytose** : Les anticorps recouvrent les microbes et favorisent leur ingestion par les phagocytes.

**c. Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps** : les cellules *natural killer* (NK) et les autres leucocytes peuvent se lier à des cellules recouvertes d'anticorps et les éliminer tuer. Ce processus est dit de cytotoxicité **cellulaire dépendante des anticorps** (ADCC, *antibody-dependent cellular cytotoxicity*).

**d. Réactions dépendantes de l'IgE des mastocytes et des éosinophiles** : les anticorps IgE activent les **mastocytes** et les **éosinophiles** qui jouent un rôle important dans les défenses contre les **infections à parasite** et qui sont impliqués dans les maladies **allergiques**.

**e. activation de la voie classique du complément.**

*VI. Coopération cellulaire et  
humorale*

### VI.1. Coopération entre les différentes cellules

Le développement de la réponse immunitaire à un antigène nécessite la coopération des différents types cellulaires du système immunitaire. Les cellules T doivent interagir à la fois avec les cellules B et d'autres cellules présentatrices d'antigènes (APC) pour le développement de réponses immunitaires spécifiques. Bien que les réponses immunitaires à la plupart des antigènes (en particulier les protéines) nécessitent une coopération cellulaire, certains antigènes (T -indépendants) sont capables d'initier une réponse en l'absence de lymphocytes. De plus, des sous-populations de cellules T aident (cellules Th) ou suppriment (cellules Treg) les réponses immunitaires.

Au cours de cette coopération, il s'établit des contacts étroits entre deux types cellulaires, ces interactions cellulaires sont organisées en **synapses immunitaires**.

Ces interactions se font :

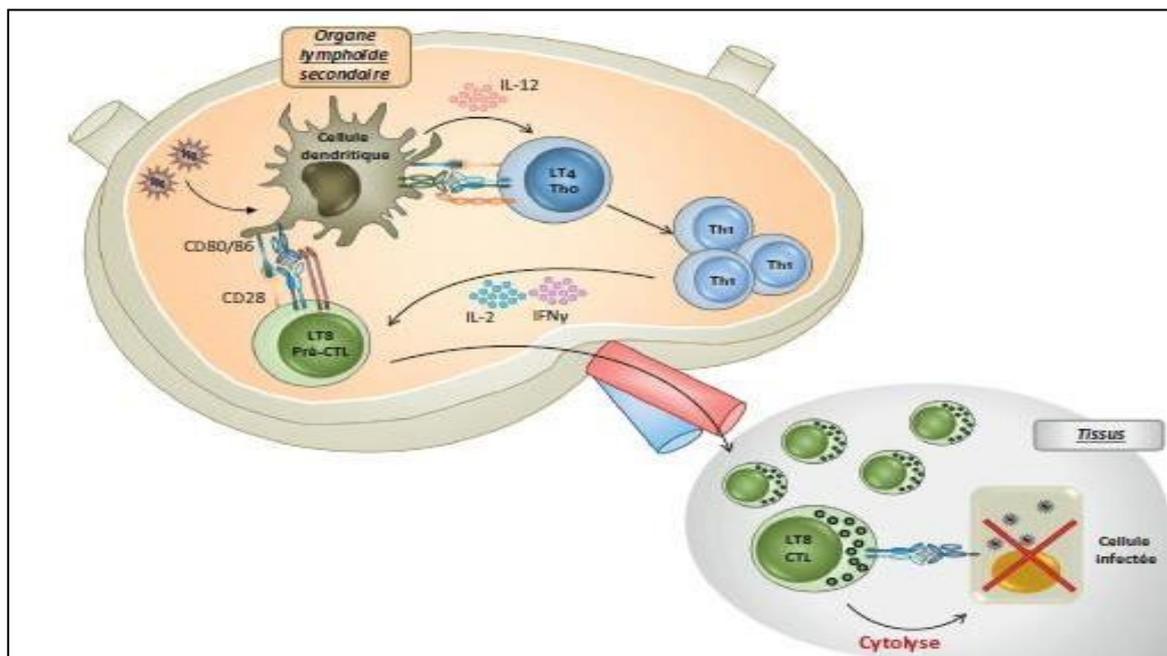
- par l'établissement de la « **synapse immunologique** » dans laquelle les molécules d'adhésion (ex : LFA1-ICAM1) tiennent une place importante,
- via des facteurs solubles tels que les cytokines et les chimiokines. Les **cytokines** vont servir de **médiateurs** entre ces différents lymphocytes et permettre la **coordination de la réponse immunitaire** qui est **spécifique de l'agent infectieux**.

#### VI.1.1. Coopération cellulaire

Cette réponse résulte de l'activation des LT CD8+ impliqués dans l'immunité anti-tumorale et anti-virale. Les LT CD8 + naïfs doivent être activés pour se différencier en LT CD8 + cytotoxiques (CTL) qui posséderont les molécules nécessaires à la mort par apoptose des cellules cibles.

La coopération s'effectue entre différentes cellules (**figure 53**) :

- ✓ Coopération entre LTCD4+ et CPA.
- ✓ LTCD8+, CPA, LT helper et cellules cibles. La coopération entre LT CD8+ et CPA se fait selon le modèle LT CD4-CPA sauf que le TCR reconnaît le peptide en association avec la molécule HLA de classe I. La coopération entre LT CD8+ et LT helper se fait via la sécrétion de cytokines par le LT helper



**Figure 53** : La réponse cytotoxique (Rosenzweig et *al.* in immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018)

L'activation des LT CD8 + naïfs est déclenchée par la reconnaissance spécifique, *via* leur TCR, de **peptides antigéniques** (viraux ou tumoraux) **associés aux molécules du CMH de classe I** et présentés par les cellules dendritiques (CD) au niveau des organes lymphoïdes secondaires c'est le **premier signal**. L'activation dépend également de signaux reçus de deux partenaires cellulaires : les **cellules dendritiques (DC)** et les **LT CD4 + Th1**. Ces cellules auront été générés suite à l'activation de **LT CD4 + naïfs ayant reconnu par leur TCR des complexes CMH II/peptide** à la surface des cellules dendritiques.

Les CD acquièrent les antigènes au niveau des tissus par infection directe (virus par exemple) puis présentation par la voie endogène, ou après capture (antigènes viraux ou tumoraux exogènes) puis présentation par une voie alternative dite de « présentation croisée ».

**Un second signal d'activation** est déclenché par engagement entre les deux partenaires des molécules de **costimulation B7 (CD80 ou CD86) et CD28**. L'activation des LT CD8 + naïfs nécessite également **un troisième signal** médié par les **cytokines** sécrétées par les LT CD4 + auxiliaires de type Th1, en particulier **l'IL-2 et l'IFN- $\gamma$** . Ces cytokines vont participer à la prolifération et à la différenciation des LT CD8 + naïfs en LT CD8 + effecteurs cytotoxiques (CTL).

Cette coopération LT/LT induit tout d'abord, grâce à l'IL-2, une prolifération des LT CD8 + (expansion clonale) permettant d'obtenir une grande quantité de LT CD8 + spécifiques de l'antigène. Cette étape est cruciale pour la mise en place d'une réponse rapide pour faire face à la dissémination du virus ou de la tumeur.

Enfin le L TCD8+ qui a proliféré et qui s'est différencié en cellule cytotoxique (CTL), se lie via sa molécule de surface **Fas Ligand** à la molécule « Fas » sur la cellule cible, cette liaison va induire la fragmentation de l'ADN et la mort de la cellule cible par apoptose. D'autre part le CTL libère des molécules telles que les perforines et les granzymes conduisant à la lyse cellulaire.

### VI.1.2. Coopération humorale

La réponse humorale **Ag thymo-dépendants** nécessite l'intervention des L T et une coopération entre L TCD4+ et L B au sein du centre germinatif.

Les LT et B reconnaissent des déterminants distincts sur l'Ag. Le LB active le L T en jouant le rôle de CPA, en effet le LB reconnaît l'Ag via son BCR, il va l'internaliser et l'apprêter pour le présenter sous forme de peptide associé aux molécules HLA II au L T helper. Cette reconnaissance constitue le premier signal d'activation qui nécessite des signaux de co-stimulation issus d'interactions récepteurs/ligands membranaires ou solubles (cytokines) apportés par les lymphocytes T folliculaires.

**Au décours de leur activation, les lymphocytes B vont également exprimer des molécules (CD80/CD86) appartenant à la famille des récepteurs B7. Ces dernières se lient au CD28 présent sur le lymphocyte T.** Cette interaction va induire **un signal de co-stimulation** qui va activer ce lymphocyte T et induire l'expression du **CD40 ligand (CD40 L)** qui se lie au **CD40** présent sur le lymphocyte B et lui délivre à son tour un signal de co-stimulation.

L'interaction CD40/CD40 ligand est indispensable à la prolifération des lymphocytes B, à la formation des centres germinatifs et à la commutation isotypique des Ig (**voir figure**).

Les cytokines sécrétées par le LT induisent la différenciation des LB en plasmocytes sécréteurs d'Ig.

D'autres interactions membranaires sont aussi impliquées dans la coopération B- T en particulier l'interaction ICOS/ICOS ligand qui joue un rôle majeur dans la différenciation, la migration des lymphocytes T folliculaires et leur production de cytokines.

### VI.2. Cytokines

#### VI.2.1. Définition

Les cytokines (du grec cyto-, cellule ; et -kinos, mouvement) sont une catégorie de molécules de signalisation qui sont largement impliquées dans la communication cellulaire. Ce sont des protéines, des peptides ou des glycoprotéines. Il s'agit d'une vaste catégorie de petites protéines (~5 à 20 kDa) qui sont importantes dans la communication cellulaire.

**Ils agissent par l'intermédiaire de récepteurs**, et sont particulièrement importants dans le système immunitaire, les cytokines modulent l'équilibre entre le système immunitaire humoral et cellulaire, ils régulent la maturation, la croissance et la réactivité de certaines cellules populations. Certaines cytokines interagissent entre elles pour **induire ou inhiber leur production et moduler leurs effets**, Elles jouent un rôle clé dans l'établissement et la régulation de la réponse immunitaire.

#### VI.2.2. Historique

L'interféron-alpha, un interféron de type I, a été identifié en 1957 comme une protéine qui interfère avec réplication virale. L'activité de l'interféron- $\gamma$  (le seul membre de l'interféron de type II) a été décrite en 1965 ; il s'agit du premier médiateur identifié dérivé des lymphocytes. Le facteur inhibiteur de la migration des macrophages (MIF) a été identifié simultanément en 1966 par Bloom et Bennett . En 1969, Dudley Dumonde a proposé le terme "lymphokine" à décrire les protéines sécrétées par les lymphocytes et, plus tard, les protéines dérivées des macrophages et les monocytes en culture étaient appelés "monokines". Il était entendu que ces protéines et d'autres faisaient partie d'une classe plus large de protéines impliquées dans l'autodéfense, et devraient être appelés "cytokines».

#### VI.2.3. Source de production

Les cytokines sont produites par de nombreux types de cellules y compris les cellules immunitaires comme les macrophages, les lymphocytes B, les lymphocytes T et les mastocytes, en plus des cellules endothéliales, des fibroblastes et de diverses cellules stromales, une cytokine donnée peut être produite par plus d'un type de cellules.

#### VI.2.4. Classification des cytokines selon la fonction

Une classification qui s'avère plus utile dans la pratique clinique et expérimentale divise cytokines en celles qui renforcent les réponses immunitaires cellulaires, de type 1 (IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ , etc.), et de type 2 (TGF- $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-13, etc.), qui favorisent les réponses des anticorps.

Les cytokines impliquées dans l'immunité innée et adaptative sont classées en grands groupes:

1) **Les interleukines (IL -)** : Un groupe large et hétérogène de cytokines avec une grande fonction et effet sur les leucocytes. Jusqu'à 2017, ils ont été découverts et numérotés 38 interleukines.

2) **Facteur de nécrose tumorale (TNF-)** : ce sont deux cytokines apparentées, une produite principalement par les macrophages (TNF- $\alpha$ ) et l'autre par les lymphocytes T (TNF- $\beta$ ). Leur nom provient de leur capacité à induire l'apoptose (mort programmée des cellules) dans les cellules cancéreuses, cependant, le TNF- $\alpha$  a de nombreuses fonctions pro- inflammatoires et immunitaires.

3) **Les interférons (IFN)** sont divisés en IFN de type I (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ) et IFN de type II (**IFN- $\gamma$** ). Ce sont des protéines synthétisées lors de **la réponse innée contre les virus** (IFN de type I) et par les cellules immunitaires lors de la réponse des **Th1 (IFN- $\gamma$ )**.

4) **Les facteurs de croissance**: de nombreuses cytokines ont des effets importants sur la prolifération des cellules immunitaires, telles que IL-2, IL-3, IL-5, IL-7 et aussi certains CSF ("Colony Stimulating Factor") comme G-CSF , M- CSF et GM - CSF. TGF  $\beta$  a un effet immunorégulateur / inhibiteur.

5) **Les chimiokines** sont une grande famille de polypeptides qui ont un rôle dans le recrutement et **la chimiotaxie** des leucocytes et des lymphocytes au cours de l'inflammation et de la réponse immunitaire. Les principales chimiokines sont:

- 1) L'IL-8 est une chimiokine spécifique pour les neutrophiles
- 2) MCP1 recrute et active les monocytes;
- 3) MIP-1 recrute des monocytes, des cellules T et NK;
- 4) RANTES recrute des monocytes, des lymphocytes T et des cellules NK, des basophiles et des éosinophiles;
- 5) Eotaxine, recrute des éosinophiles.

### VI.2.5. Action des cytokines

Les cytokines peuvent avoir

- une action **autocrine**, quand elles interagissent avec les récepteurs de la même cellule qui les produit, ou
- une action **paracrine** lorsqu'elles agissent sur les cellules voisines; elles peuvent également avoir
- une action **endocrine** similaire aux hormones « classiques» lorsqu'elles passent dans la circulation sanguine et peuvent atteindre et agir sur des cellules et des tissus éloignés.

Les cytokines agissent rarement seules, mais souvent elles sont sécrétées avec d'autres cytokines qui s'influencent mutuellement.

Les cytokines peuvent agir sur différents types de cellules (**pléiotropisme**) et déterminer, selon les cas, des réponses semblables ou différentes; d'autre part, il est également possible que différentes cytokines puissent agir sur la même cellule en déterminant des effets similaires (**effet redondant**).

Certaines cytokines peuvent coopérer (**effet synergique**) ou, au contraire, peut se contrarier (**effet antagoniste**).

La capacité d'une cytokine à augmenter ou supprimer l'activation d'autres cytokines est d'une importance fondamentale dans la régulation positive ou négative des mécanismes de la réponse immunitaire ou inflammatoire.

### VI.2.6. La synthèse des cytokines

La synthèse des cytokines est un phénomène de courte durée, étroitement contrôlé et strictement dépendant de la présence d'un agent ou d'une stimulation extérieure; une fois synthétisées, elles sont rapidement sécrétées, agissent et sont utilisées sans s'accumuler. En outre, compte tenu de la forte affinité de leurs récepteurs, une dose minime de cytokines est nécessaire d'avoir un effet biologique.

### VI.2.7. Role des cytokines dans la réponse immunitaire

#### VI.2.7.1. Role des cytokines dans la réponse immunitaire innée

En réponse aux microbes, les cellules dendritiques, les macrophages et d'autres cellules secrètent des cytokines stimulant des réactions immunitaires. Au cours de la réponse innée, toutes les cellules immunitaires ainsi que les cellules épithéliales et endothéliales peuvent produire des cytokines. Les cibles de ces cytokines de l'immunité innée sont les cellules de l'immunité innée elles-mêmes mais aussi des organes comme le foie (synthèse des protéines de la phase aiguë comme la CRP), l'hypothalamus (induction de la fièvre) ou les cellules endothéliales (activation de la coagulation). Récepteur, qui se lie à des cytokines à l'extérieur de la cellule;

#### VI.2.7.2. Rôle des cytokines dans l'immunité adaptative

Les lymphocytes T CD4 activés secrètent des profils de cytokines différents ; recrutent et activent certaines cellules de l'immunité innée ; peuvent favoriser l'activation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques et des lymphocytes B spécifiques de l'antigène. **Ces profils** fonctionnels différents leur confèrent des rôles spécifiques dans l'élimination des différents types de micro-organismes infectieux.

### A. Immunité cellulaire

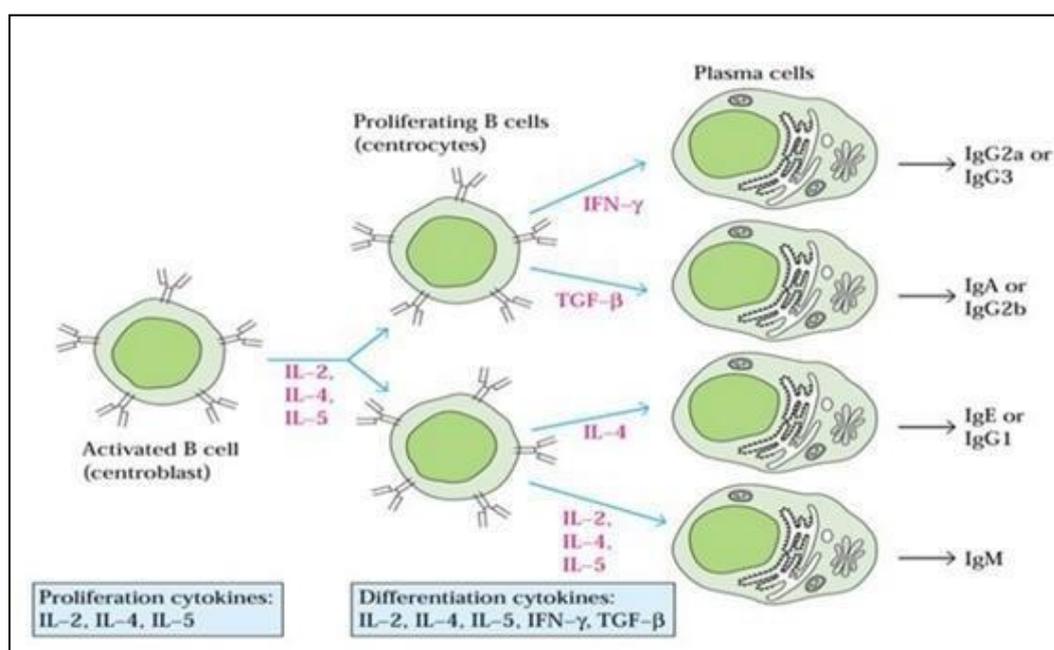
L'immunité cellulaire est assurée par deux principales cellules T8 et NK. Les cellules T8 agissent d'une façon spécifique, alors que les cellules NK sont non spécifiques à l'antigène. Pour que ces cellules puissent assurer leurs fonctions, elles nécessitent des coopérations cellulaires régies par des cytokines qui sont nécessaires à la genèse et l'activation de ces effecteurs immunitaires.

L'activation des LT CD8 + naïfs nécessite un troisième signal médié par les cytokines sécrétées par les LT CD4 + auxiliaires de type Th1, en particulier l'IL-2 et l'IFN- $\gamma$ . Grâce à l'IL-2, une prolifération des LT CD8 + (expansion clonale). L'IFN- $\gamma$  permet quant à lui la différenciation optimale des LT CD8 + en CTL, c'est-à-dire favorise l'apoptose des cellules

Au cours d'infection virale, l'aide cytokinique apportée par les LT CD4 + peut être remplacée par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL12 et l'IFN- $\alpha/\beta$  par les cellules de l'immunité innée (DC, macrophages, granulocytes).

### B. Immunité humorale

L'activation de lymphocytes B et leur différenciation en plasmocytes nécessite plusieurs signaux. Les principaux sont trois : l'interaction Ag - BCR, le contact direct LT4/LB via CD40-CD40L et les cytokines. Ces dernières jouent un rôle multiple dans la réponse immunitaire à médiation humorale : l'activation et la différenciation de lymphocytes B et la commutation isotypique.



**Figure 54:** Role des cytokines dans la prolifération et la commutation de classe au cours de la différenciation des cellules B en plasmocytes (Kindt et *al.*, 2008)

### VI.2.8. Polarisation et fonctions des lymphocytes T CD4 +.

Les lymphocytes T CD4 activés sécrètent des profils de production de cytokines différents ; recrutent et activent certaines cellules de l'immunité innée ; peuvent favoriser l'activation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques et des lymphocytes B spécifiques de l'antigène. Ces profils fonctionnels différents conduisent à des réponses immunitaires engagées dans l'élimination des différents types de micro-organismes infectieux

**1. Les lymphocytes Th1 :** elles sécrètent majoritairement de l'IFN- $\gamma$ , du TNF- $\alpha$  et de IL-2 ont été appelés Th1. Ces lymphocytes induisent les réponses immunes cellulaires les plus efficaces contre les virus et bactéries. Ces lymphocytes induisent les réponses immunes cellulaires les plus efficaces contre les virus et bactéries.

**2. Les lymphocytes Th2 :** elle produit un autre profil de production cytokinique, avec une sécrétion majoritaire d'IL-4, IL-5 et IL-13, a été nommé Th2. Les lymphocytes Th2 induisent la production d'IgE et stimulent l'action des éosinophiles, favorisant l'élimination des parasites extra-cellulaires comme les helminthes. Cependant, les Th2 favorisent aussi les maladies allergiques.

Il a été démontré que le développement des sous-populations Th1 et Th2 était mutuellement antagoniste : l'IFN- $\gamma$  (la « signature » des Th1) bloque le développement des Th2 *via* l'inhibition de la production d'IL-4 (« signature » des Th2) et réciproquement

Une amplification positive s'établit pour une des deux sous-populations, résultant en une polarisation fonctionnelle de la réponse immune en fonction des cytokines présentes dans le microenvironnement cellulaire.

#### **3. Les lymphocytes Th17**

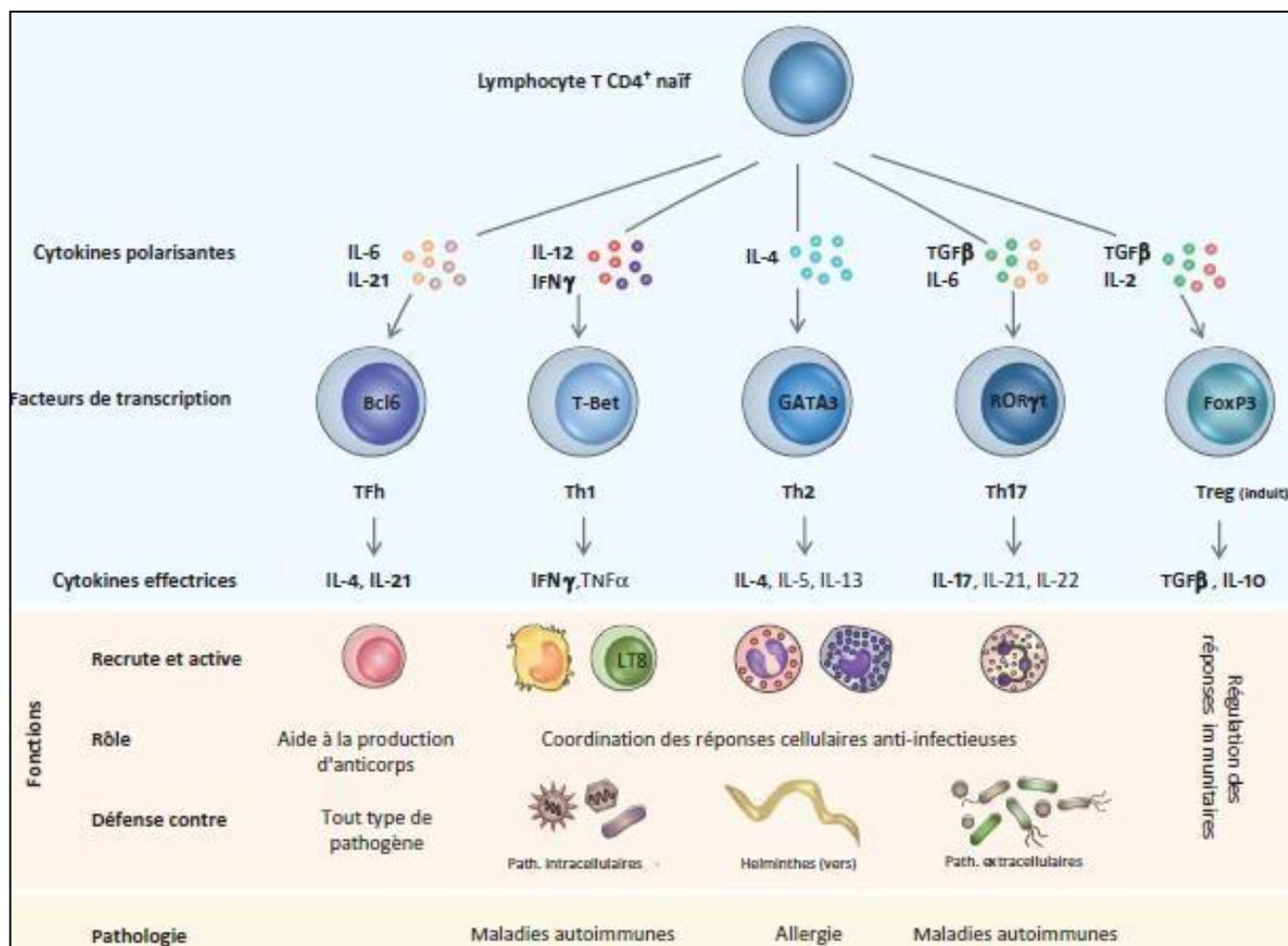
Plus récemment, d'autres profils de sécrétion des lymphocytes T CD4 effecteurs ont été Décrits. Les cellules Th17 produisent de l'IL-17, de l'IL-22 (« signatures » des Th17) et de l'IL-21. Ces cellules sont importantes pour le contrôle des infections bactériennes extra-cellulaires et fongiques. Elles facilitent le recrutement et l'activation des cellules phagocytaires, en particulier les polynucléaires neutrophiles. Les lymphocytes Th17 peuvent aussi être impliqués dans plusieurs maladies auto-immunes et inflammatoires.

#### **4. Autres profils cytokiniques**

Des cellules T CD4 **Th9, Th3 et Tr1** ne sont pas encore entièrement établies comme des profils distincts. Les lymphocytes Th9 produisent de l'IL-9 et peuvent être induits à partir de cellules Th2 sous l'influence du TGF- $\beta$ . Leur rôle physiologique est encore imparfaitement caractérisé. Les lymphocytes Th3 et Tr1 sont des cellules suppressives associées à la tolérance muqueuse *via* la sécrétion de TGF- $\beta$  et d'IL-10, respectivement.

## Chapitre VI : Coopération cellulaire

Le rôle des **iTreg** (T régulatrices induites) est différent de celui des Th, puisqu'ils freinent les réponses immunitaires inopportunes, telles que les réponses dirigées contre le soi et dérèglent l'intensité et la durée des réponses immunitaires.



**Figure 55:** polarisation des cellules T (Bittencourt et *al.*, in immunologie fondamentale et immunopathologie, 2018).

***VII. Dysfonctionnement du système  
immunitaire***

### VII.1. Introduction

Une dérégulation du système immunitaire est un des éléments-clefs de la pathogénie de nombreuses affections. Ainsi, des maladies chroniques peuvent s'installer favorisant la survenue d'infections.

### VII.2. Les différents types de dysfonctionnements immunitaires

**VII.2.1. Les déficits immunitaires:** ils sont caractérisés par un défaut de fonctionnement du système immunitaire, ils peuvent être génétiques ou acquis.

#### VII.2.1.A. Les déficits immunitaires génétiques

Ils sont dus à des anomalies génétiques qui entraînent le blocage de la maturation ou des fonctions du système immunitaires.

i. **déficits de l'immunité innée**, en particulier des **anomalies de la phagocytose et des déficits en complément**. Il a aussi été décrit récemment des déficits plus spécifiques de certaines molécules de l'immunité innée comme des **déficits en interféron gamma** et de ses récepteurs ou même de certains éléments très précis **des voies de signalisation**. Ces déficits sont surtout responsables d'infections répétées dont le type est déterminé par l'anomalie du système immunitaire (Ex : infections répétées à mycobactérie en cas de déficit de la voie de l'interféron gamma).

ii. **déficit de l'immunité adaptative**, en particulier une **absence totale de lymphocytes t et b** (déficit immunitaire combiné sévère) ou l'absence plus spécifique d'une catégorie de lymphocytes comme les déficits humoraux (agammaglobulinémie de bruton) marqués par l'absence de lymphocytes B.

**VII.2.1.B. Déficits immunitaires acquis** dont l'exemple le plus connu est le **SIDA Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise**. Il est causé par un rétrovirus (VIH). Il pénètre dans le corps par voie sexuelle, sanguine ou est transmis de la mère à l'enfant. Ce virus va envahir certaines cellules du système immunitaire de l'organisme : les lymphocytes T CD4, qui jouent un rôle fondamental dans la défense de l'organisme contre les microbes. Le VIH se développe et se multiplie à l'intérieur de ces cellules, entraînant leur destruction. La destruction des lymphocytes T CD4 conduit à une déficience de l'immunité.

**VII.2.2. Dysfonctionnement associé à un excès de la réponse immune.** Dans ce contexte, il existe trois grands groupes d'affections de fréquence très différente :

**VII.2.2.1. Les maladies auto-inflammatoires:** ce sont principalement **des troubles du système immunitaire inné**, elles ont été identifiées récemment. Elles sont caractérisées par une dérégulation de l'inflammation d'origine génétique. C'est l'anomalie d'un seul gène qui va

produire une réaction inflammatoire qui peut avoir de nombreuses conséquences systémiques. Il existe schématiquement deux groupes de maladies auto-inflammatoires :

- **les fièvres récurrentes héréditaires qui comprennent la fièvre méditerranéenne familiale** (ou maladie périodique), le syndrome hyper IgD et d'autres affections comme les syndromes périodiques associés à la cryopyrine (appelée CAPS pour cryopyrine-associated periodic syndrom) qui sont le syndrome de Muckle-Wells, l'urticaire au froid et le CINCA) ou le TRAPS syndrome (syndrome lié à des mutations du récepteur du TNF).

- l'autre groupe de maladies inflammatoires comprend certaines formes de maladie de Crohn, le syndrome de Blau (appelé aussi sarcoïdose familiale)

**VII.2.2.2. Les maladies auto-immunes:** désignent des troubles caractérisés principalement par une réaction immunitaire acquise aux antigènes du soi. La diminution ou la rupture des mécanismes de la tolérance vis-à-vis des antigènes du soi et l'apparition des processus d'auto agression immunologique.

### VII.2.2.2.1. Types de maladies autoimmunes

ces maladies peuvent toucher un seul organe ou plusieurs organes (**tableaux 6,7**).

**Auto-immunité spécifique d'organe :** c'est une réaction immunitaire dirigée contre des déterminants antigéniques d'un seul organe.

**Tableau 6:** Maladies auto-immunes spécifiques d'organes

Maladie	Organes affectés	auto-antigènes	symptômes
<b>Sclérose Multiple</b>	système nerveux central	Myelin basic protein, myelin oligodendrocyte protein	cécité, faiblesse des membres, anomalies sensorielles, incontinence
<b>Ophthalmie Sympathetic</b>	yeux	Différents antigènes uvéaux	Douleurs oculaires, perte de vision, sensibilité à la lumière
<b>maladie de Gravis</b>	thyroïde	récepteur de la thyrotropie	hyperthyroïdisme (perte de poids, nervosité, palpitations, diarrhée), exophtalmie
<b>Thyroidite de Hachimoto</b>	thyroïde	Thyroperoxidase, thyroglobuline	Hypothyroïdisme (prise de poids, constipation, altérations cutanées, démence myxœdémateuse)
<b>le syndrome de Goodpasture</b>	poumons, rein	Membrane basale glomérulaire (collagène de type IV)	Insuffisance rénale et respiratoire
<b>anémie pernicieuse</b>	estomac	facteur intrinsèque	Anémie, gastrite
<b>Maladie de Crohn</b>	intestin	antigènes microbien	Diarrhée hémorragique, douleurs abdominales, fistules drainantes
<b>colite ulcéreuse</b>	gros intestin	antigènes microbiens ?	Diarrhée hémorragique, douleurs abdominales,
<b>Diabète mellitus type I</b>	pancréas	Cellule d'îlot, insuline, acide glutamique décarboxylase	Polyphagie, polyurie, polydipsie, perte de poids

## Chapitre VII : Dysfonctionnement du système immunitaire

		(GAD)	
<b>thrombocytopénie immunitaire</b>	plaquettes	Glycoprotéines de la surface des plaquettes	Contusions et hémorragies faciles
<b>Myasthenia gravis</b>	muscle	récepteur de l'acétylcholine	Faiblesse musculaire, fatigue
<b>anémie Hémolytique</b>	globules rouges	antigène I	Anémie

**2. Auto-immunité systémique:** Réaction immunitaire dirigée contre des déterminants antigéniques de différents organes (plusieurs organes sont atteints).

**Tableau 7:** Les maladies auto-immunes systémiques

Maladie systémique	organes affectés	auto-antigène	symptômes cliniques
<b>le syndrome de Sjögren</b>	Glandes salivaires et lacrymales	antigènes nucléaires (SSA, SSB)	Yeux secs, bouche sèche, maladies des poumons et des reins
<b>arthrite rhumatoïde</b>	Articulations, poumons, nerfs	Peptides citrullinés dans l'articulation, IgG	Arthrite déformante, nodules cutanés, atteinte occasionnelle des poumons et des nerfs
<b>granulomatose de Wegener's</b>	Poumon, rein	Protéinase 3 (c-ANCA)	Sinusite, essoufflement, insuffisance rénale
<b>lupus érythémateux systémiques</b>	Reins, peau, articulations, système nerveux central	ADN, histones, ribonucleoprotéines	Arthrite, éruptions cutanées, insuffisance rénale, lésions nerveuses

### VII.2.2.2.2. Les facteurs contribuant au développement de la maladie auto-immune:

- L'âge: Elles sont fréquentes chez le sujet âgé.
- Le sexe: les femmes sont plus exposées
- Facteurs génétiques : plusieurs maladies auto-immunes sont associées aux gènes HLA).
- Facteurs environnementaux: la relation de cause à effet entre les facteurs environnementaux et les maladies auto-immunes n'a pas encore été fermement établie

Les dommages causés aux tissus par les microbes, les traumatismes et les rayons UV peuvent également entraîner l'exposition d'auto-antigènes préalablement séquestrés.

- Les infections (mycoplasma, streptocoques), l'infection par certains streptocoques entraîne la formation d'anticorps réagissant de manière croisée avec les antigènes des bactéries et de l'hôte, et donc une endocardite auto-immune

-La lésion des barrières biologiques avec la libération des antigènes sequestrés: les Ags de certaines zones (yeux, testicules, follicule thyroïdien) sont séparés des cellules immunocompétentes par des barrières biologiques. La lésion des barrières pendant les traumatismes, les infections entraîne la libération des Ag qui vont réagir avec les lymphocytes B et T et vont déclencher une réponse auto-immunitaire (**Exemple: L'ophtalmie sympathique, l'infertilité**).

**VII.2.2.2.3. La nature de l'auto-antigène:** Les antigènes cible sont souvent des protéines conservées, nous pouvons citer:

- Les protéines du choc thermique,
- Les enzymes et leurs substrats
- Les protéines du stress,

**VII.2.2.2.4. Les mécanismes de développement des maladies autoimmunes**

**1. Le mimétisme moléculaire:**

La réponse immunitaire peut être déclenchée contre un épitope identique.

**2. La disponibilité du soi normalement séquestré:** L'induction de la tolérance survient principalement au cours du développement embryonnaire, les **antigènes absents** ou les antigènes anatomiquement séparés du système immunitaire: au cours de cette période ne sont pas reconnus (Exp: les protéines du cristallin de l'œil,

**3. Modification des surfaces de la cellule par des microbes et des médicaments:**

-Les antigènes étrangers (virus, médicaments)

**4. Régulation défectueuse médiée par les cellules T:**

L'infection microbienne provoque soit la réponse Th1 soit Th2.

Durant la **grossesse** les **cytokines Th2** prédominent, la maladie auto-immune telle que la polyarthrite rhumatoïde est diminuée alors que la maladie auto-immune telle que le lupus érythémateux, **la voie Th2** est exacerbée.

**VII.2.2.2.5. Les mécanismes effecteurs de la réponse auto-immune**

**1. Les réactions d'altération des tissus:** La persistance des auto-antigènes conduit à la persistance des autoanticorps,

**2. Les autoanticorps peuvent directement médier la destruction des cellules:** les autoanticorps peuvent se lier aux cellules du soi entraînant la phagocytose des cellules du soi  
**Exemple: La fixation des IgG au globule rouge dans l'anémie hémolytique auto-immune,**

**3. Les auto-anticorps peuvent former des complexes immuns altérants** par activation du complément et le déclenchement de la libération de médiateurs produits par les cellules portant le récepteurs Fc.

**4-Modulation de la fonction cellulaire par les auto-anticorps :** Les anticorps de certaines molécules de surfaces (récepteurs) peuvent interférer avec l'activité fonctionnelle de la cellule.

**Exemple:** Dans la maladie de Basedow, les anticorps du récepteur de la TSH stimulent excessivement la thyroïde.

**VII.3. Les lymphoproliférations sont aussi la conséquence d'un fonctionnement par "excès" du système immunitaire.** Cet excès peut être lié à la dérégulation d'un mécanisme élémentaire, comme l'apoptose, mais aussi à des phénomènes de stimulation chronique.

**VII.2.3. Réactions d'hypersensibilité:** Les réponses immunitaires excessives sont généralement appelées réactions d'hypersensibilité.

**VII.2.3. 1. Définition :** Le terme d'hypersensibilité (HS) est utilisé pour décrire des symptômes ou des signes objectivement reproductibles déclenchés par l'exposition à un stimulus défini à une dose tolérée par les personnes normales.

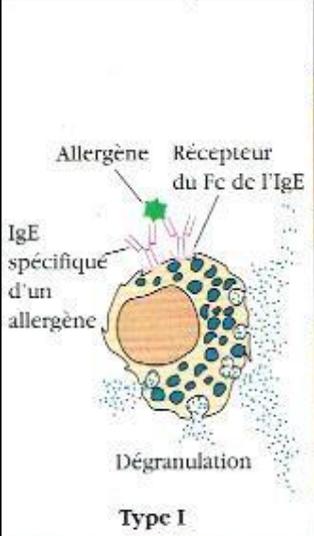
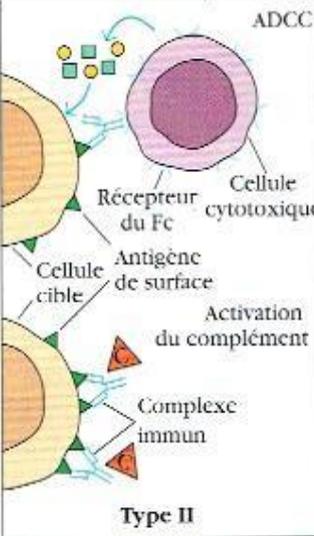
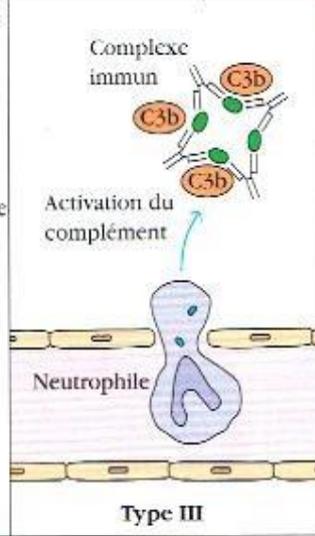
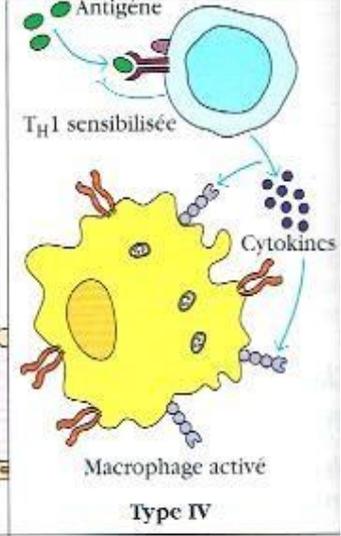
### **VII.2.3.2. Classification de l'hypersensibilité**

Selon le mécanisme, on distingue l'hypersensibilité allergique (immunologique) et l'hypersensibilité non allergique (réaction anaphylactoïde, intolérance).

Selon la classification de Coombs et Gell en 1963, il existe 4 types principaux de réactions d'hypersensibilité allergique (**figure 56**), et un sous-type, à savoir :

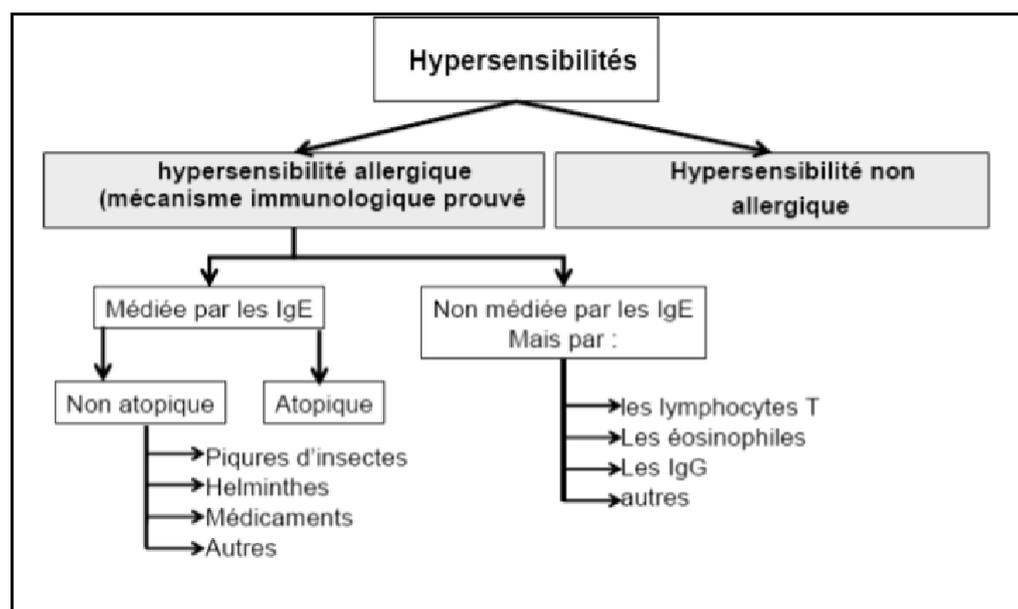
- **Type 1:** immédiate (ou atopique, ou anaphylactique)
- **Type 2:** dépendant des anticorps
- **Type 3:** complexe immunitaire
- **Type 4:** à médiation cellulaire (hypersensibilité retardée)
- **Type 5:** stimulant (utilisé pour distinguer du type 2)

Les types I, II et III sont médiés par des anticorps, tandis que le type IV implique des lymphocytes T et des réponses immunitaires à médiation cellulaire.

 <p><b>Type I</b></p>	 <p><b>Type II</b></p>	 <p><b>Type III</b></p>	 <p><b>Type IV</b></p>
<p>Hypersensibilité induite par l'IgE</p>	<p>Hypersensibilité cytotoxique induite par l'IgG</p>	<p>Hypersensibilité médiée par un complexe immun</p>	<p>Hypersensibilité à médiation cellulaire</p>
<p>L'Ag induit la formation de liaisons croisées entre les IgE liées aux mastocytes ou aux basophiles avec libération de médiateurs vasoactifs</p>	<p>L'Ac dirigé contre les antigènes de surface de la cellule médie la destruction des cellules par l'activation du complément ou l'ADCC</p>	<p>Les complexes Ag-Ac déposés dans divers tissus induisent l'activation du complément, puis une réponse inflammatoire médiée par l'infiltration massive de neutrophiles</p>	<p>Les cellules TH1 sensibilisées libèrent des cytokines qui activent les macrophages ou les cellules TC provoquant une lésion cellulaire directe</p>
<p>Les manifestations typiques incluent celles de l'anaphylaxie systémique et celles de l'anaphylaxie localisée, telles que le rhume des foins, l'asthme, l'urticaire, les allergies alimentaires et l'eczéma</p>	<p>Les manifestations typiques incluent les réactions transfusionnelles, l'érythroblastose fœtale et l'anémie hémolytique auto-immune</p>	<p>Les manifestations typiques incluent la réaction d'Arthus localisée et des réactions généralisées, telles que la maladie sérique, la vascularite nécrosante, la glomérulonéphrite, la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé</p>	<p>Les manifestations typiques incluent la dermatite de contact, les lésions tuberculeuses et le rejet des greffes</p>

**Figure 56:** Types de réponses d'hypersensibilité selon Coombs et Gell en 1963 (Kindt et *al.*, 2008).

La classification de l'hypersensibilité a été révisée et publiée en septembre 2001 (**figure 57**). En effet, l'Académie Européenne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique (European Academy of Allergy and Clinical Immunology, EAACI) a réalisé l'importance d'une utilisation non ambiguë des termes. A la fin des années 1990, l'EAACI a créé un comité chargé de proposer une nomenclature révisée pour les réactions allergiques et apparentées quel que soit le type de maladie allergique ou l'organe concerné.



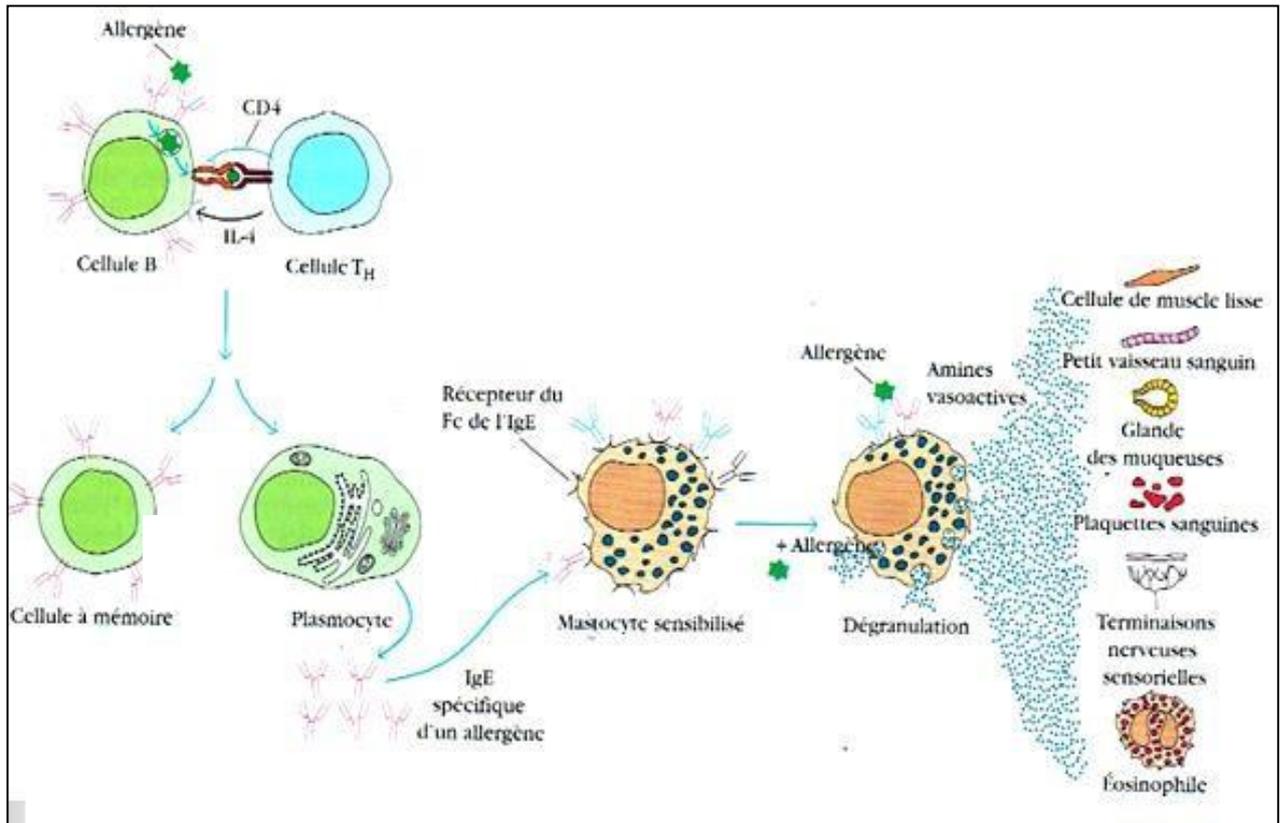
**Figure 57:** Classification des réactions d'hypersensibilité selon Johansson (Johansson et *al.*, 2001; 2008).

### ▪ L'hypersensibilité de type I :

**Appelée également allergie à médiation IgE ou allergie de type immédiat. Elle est provoquée par une réexposition à un type spécifique d'antigène appelé allergène.**

Les allergènes les plus fréquemment impliqués dans des réactions immédiates sont les **médicaments, les aliments, le venin et le latex**. L'exposition peut se faire **par ingestion, inhalation, injection ou contact direct**.

Elle est médiée principalement par **les mastocytes et les basophiles**. Les plasmocytes sécrètent des IgE. Ces anticorps se lient **aux récepteurs Fc** à la surface des mastocytes des tissus et des basophiles du sang. Les mastocytes et les basophiles recouverts d'IgE sont alors "sensibilisés". L'exposition ultérieure au même allergène provoque la libération de médiateurs tels que l'histamine, les métabolites lipidiques (leucotriène et prostaglandine) et les cytokines. Les principaux effets de ces produits sont la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et la contraction des muscles lisses qui peuvent agir localement ou systématiquement (**figure 58**). Les symptômes varient d'une légère irritation à un choc anaphylactique (exemples : l'asthme allergique, la conjonctivite allergique, rhinite allergique ("rhume des foins"), Dermatite atopique (eczéma).



**Figure 58:** Les mécanismes de l'hypersensibilité de type 1 (Kindt et *al.*, 2008).

▪ **Les réactions d'hypersensibilité de type II**

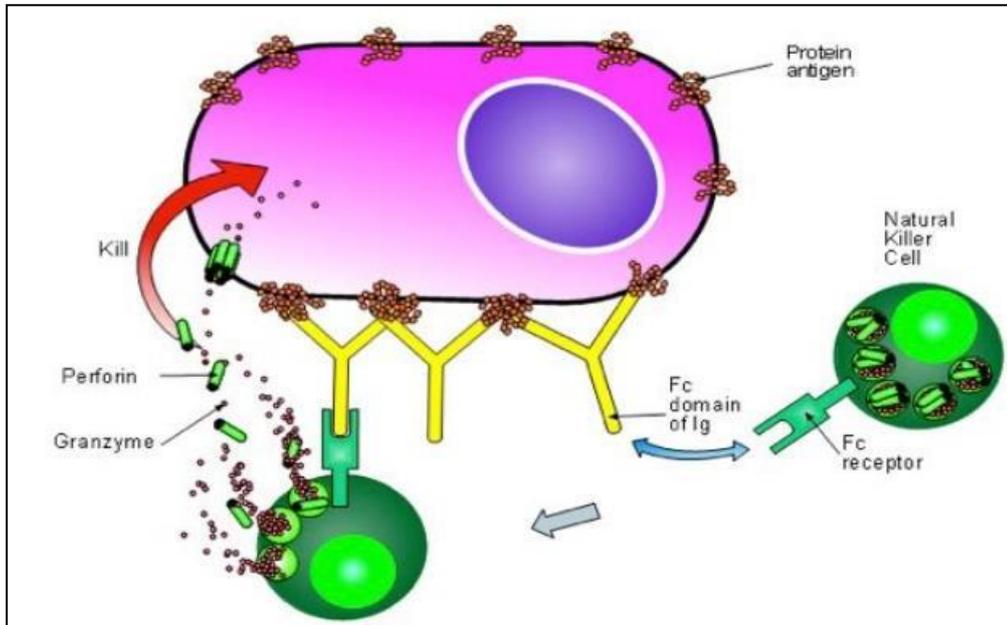
Elles résultent de la **formation d'anticorps de type IgG et IgM** qui sont généralement dirigés contre des antigènes cellulaires ou de la matrice extracellulaire conduisant à une maladie localisée. Ces antigènes peuvent être intrinsèques ou extrinsèques.

Ces cellules sont reconnues par des macrophages ou des cellules dendritiques qui agissent comme **cellules présentatrices d'antigènes**. Il en résulte alors une réponse des cellules B où des anticorps sont produits contre l'antigène étranger. **Les anticorps IgG et IgM se lient à ces antigènes pour former des complexes qui activent la voie classique** de l'activation du complément qui conduit à l'assemblage du complexe d'attaque membranaire (CAM) du complément C5-C9 et à la lyse ultérieure des cellules. Cela se produit en quelques heures.

**Exemple:** la réaction à la pénicilline où le médicament se lie aux globules rouges.

Une autre forme d'hypersensibilité de type II est appelée **cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC)** (Figure 59). Les cellules présentant un antigène étranger sont marquées avec des anticorps IgG ou IgM qui sont ensuite reconnus par les **cellules Natural Killer (NK) et les macrophages** et sont détruits.

▪ **Exemples:** Syndrome du Good Pasture : dans cette maladie, des anticorps sont produits contre le collagène de type IV qui se trouve sur la membrane basale du poumon et du glomérule. La liaison des anticorps au collagène induit une inflammation et une altération ultérieure de la membrane basale, la rendant non fonctionnelle.



**Figure 59:** Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) ([www.immunopaedia.org.za](http://www.immunopaedia.org.za)).

Anémie hémolytique auto-immune, Erythroblastose fœtale, les réactions transfusionnelles, la thyroïdite de Hashimoto, Rhumatisme articulaire aigu.

### ▪ Les réactions de type III

Elles résultent du dépôt de **complexes antigènes-anticorps** qui activent la voie du complément, puis recrutent et activent les neutrophiles et provoquent des lésions tissulaires.

Dans l'hypersensibilité de type III, **des complexes immuns solubles (agrégats d'antigènes et d'anticorps IgG et IgM) se forment dans le sang et se déposent dans divers tissus** tels que la peau, les reins et les articulations. Les zones affectées par la précipitation des complexes immuns sont généralement des sites de filtration tels que les glomérules, la synovie et la membrane basale de l'épiderme. Ainsi, ils déclenchent alors une réponse immunitaire selon la voie classique de l'activation du complément, provoquant des lésions tissulaires.

Chez les individus en bonne santé, les complexes antigènes-anticorps sont maintenus dans le sang sous forme de complexes immuns solubles par les protéines du complément C2

et C4. Ces complexes immunitaires se lient aux récepteurs du complément sur les globules rouges, permettant leur transport vers la rate où les complexes sont éliminés et détruits.

**Exemples :** Glomérulonéphrite complexe immunitaire, Arthrite rhumatoïde, Maladie du sérum, Lupus érythémateux disséminé, Réaction d'Arthus, Poumon du fermier (réaction de type Arthus).

### ▪ L'hypersensibilité de type IV

Elle est également appelée **hypersensibilité retardée** car la réaction met deux à trois jours à se développer. **Elle fait intervenir des cellules auxiliaires T (CD4+) ou des cellules T cytotoxiques (CTL CD8+) plutôt que des anticorps.** Il s'agit d'un événement à médiation cellulaire dirigé contre les antigènes libérés chez un individu sensibilisé.

Les cellules T cytotoxiques CD8+ et les cellules T auxiliaires CD4+ reconnaissent l'antigène dans un complexe avec un complexe majeur d'histocompatibilité de type 1 ou 2. Les cellules présentatrices d'antigènes sont dans ce cas des macrophages qui sécrètent de l'IL-1, ce qui stimule la prolifération d'autres cellules T CD4+. Les cellules T CD4+ sécrètent de l'IL-2 et de l'IFN- $\gamma$ , ce qui induit la libération d'autres cytokines de type 1, et donc la médiation de la réponse immunitaire. **Les cellules T CD8+ activées détruisent les cellules cibles** au contact tandis que les macrophages activés produisent des enzymes hydrolytiques et, en présence de certains pathogènes intracellulaires, se transforment en cellules géantes multinucléées.

Le dénombrement des sous-populations de cellules T a permis une catégorisation plus poussée des réponses immunitaires de type IV. Cette catégorisation en quatre sous-types, elle est basée sur le profil des cytokines, les types de cellules impliquées et la pathogénèse.

- **Les réactions réponse de type IVa :** implique des cellules Th1 qui activent les macrophages en sécrétant de grandes quantités de cytokines telles que l'IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$   
exemple : la dermatite de contact due à l'antigène Rhus du sumac vénéneux
- **Les réactions de type IVb:** c'est une réponse immunitaire de **type Th2**. Les cellules Th2 produisent de l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13, qui **favorisent la production d'IgE** à partir de cellules B, la désactivation des réponses des macrophages, des mastocytes et des éosinophiles. Les réactions de type IVb peuvent être impliquées dans les **inflammations allergiques** tardives des bronches ou de la muqueuse nasale (c'est-à-dire l'asthme et la rhinite allergique).
- **Les réactions de type IVc** sont principalement **médiées par les cellules T CD8 cytotoxiques**. Les réactions de type IVc semblent être le principal mécanisme des réactions cutanées bulleuses telles que le syndrome de Stevens Johnson et la nécrolyse épidermique

toxique où les cellules **T CD8 activées induisent l'apoptose ou la nécrose des kératinocytes.**

- **Les réactions de type IVd:** sont des inflammations à neutrophiles via les lymphocytes T. L'inflammation neutrophile stérile de la peau dans le cas d'une pustulose exanthématique aiguë généralisée en est un exemple typique.

Symptômes de la lèpre, Symptômes de la tuberculose, Rejet de la greffe, La maladie coéliqua  
Des maladies telles que la tuberculose, la lèpre et la sarcoïdose, ainsi que la dermatite de contact, sont autant d'exemples cliniques où les lésions tissulaires sont principalement dues à la réponse immunitaire aux antigènes libérés, plutôt qu'à des dommages dus à l'agent pathogène incitateur lui-même.

- **Hypersensibilité de type V :** Elle est utilisée pour la distinguer de la réaction de type II. Ce type d'hypersensibilité a été classé d'après la classification de Coombs et Gell, pour décrire la **stimulation du système endocrinien** par les réponses immunitaires dans certaines maladies auto-immunes. Ces réactions se produisent lorsque **des anticorps IgG** dirigés contre des **antigènes de surface cellulaire ont un effet stimulant sur leur cible**. Au lieu de se lier aux composants de la surface cellulaire, **les anticorps reconnaissent et se lient aux récepteurs de surface cellulaire**, ce qui soit empêche le ligand de se lier au récepteur, soit imite les effets du ligand, ce qui entrave la signalisation cellulaire.

**Exemples :** Maladie de Basedow, Myasthénie grave.

## *VIII. Les principaux tests en immunologie*

### III.1. Agglutination

#### VIII.1. 1. Introduction

La réaction antigène - anticorps (Ag-Ac) est due à l'interaction entre les **épitopes** de l'antigène et les **paratopes** de l'anticorps. Elle fait intervenir quatre types de liaisons non covalentes (des liaisons hydrogènes, des liaisons électrostatiques, des liaisons hydrophobes et les forces de Van der Waals). La réaction Ag-Ac a deux grands types d'applications, elle permet la **détection** et le **dosage des antigènes** (par des méthodes dont il faut vérifier la spécificité, la reproductibilité et la sensibilité) et la **détection** et le **titrage des anticorps** (vis-à-vis d'un Ag ou d'un mélange d'Ag).

#### VIII.1.2. Principe de l'agglutination

L'agglutination correspond à la formation d'un complexe immun entre **des antigènes particuliers** (bactéries, virus, hématies,...) ou rendus particuliers (par fixation à des hématies, à des particules de latex,...) **et des anticorps spécifiques**.

Le terme d'agglutinine est utilisé pour décrire les anticorps qui agglutinent les antigènes particuliers. Quand l'antigène est un érythrocyte, on utilise le terme d'**hémagglutination**

Le réseau tridimensionnel obtenu est **visible à l'œil nu sous forme d'agglutinats**.

#### VIII.1.3. Facteurs influençant les réactions d'agglutination

L'agglutination dépend :

- de l'antigène (accessibilité à la surface de la particule, nombre de sites antigéniques)
- du milieu dans lequel la réaction a lieu.

En effet, la liaison Ag-Ac et la formation du réseau tridimensionnel sont influencées par :

- la température (en général, l'agglutination apparaît plus rapidement à 37°C jusqu'à 4°C)
- le pH (pH optimum entre 6 et 8)
- la force ionique (modification des interactions Ag-Ac)
- de la structure moléculaire de l'Ac

Les anticorps non agglutinants utilisés sont, le plus souvent, des IgG.

#### VIII.1.4. Caractéristiques des réactions d'agglutination

Les réactions d'agglutination sont très sensibles et faciles à mettre en œuvre.

Par contre, elles sont peu précises. En présence d'un excès d'antigènes ou d'anticorps (phénomène de zone), il y a absence de visualisation des complexes immuns sous forme d'agglutinants

### VIII.1.5. Types d'agglutination

Les réactions d'agglutination sont classées en réactions d'agglutination directes, indirectes (passives) et passives inversées.

#### VIII.1.5. 1. Agglutination active

Si l'antigène est **particulaire ou cellulaire**, on qualifie l'agglutination d'« active ».

#### VIII.1.5.2. Agglutination active directe

L'agglutination active directe désigne le test dans lequel l'antigène s'agglutine directement avec l'anticorps. Ainsi, il se forme un complexe immun entre un antigène particulaire (ou cellulaire) et un anticorps agglutinant. Ces réactions peuvent être réalisées en tubes, en microplaques, ou sur lames. Ces réactions peuvent être **qualitatives ou quantitatives**, la dernière dilution du sérum donnant encore une agglutination nette permet de déterminer le titre du sérum. **Exemple** : groupage ABO.

#### VIII.1.5. 3. Agglutination active indirecte ou artificielle

L'agglutination active indirecte ou artificielle résulte de la formation d'un complexe immun entre un antigène particulaire (ou cellulaire) et un anticorps non agglutinant.

Il faut donc avoir recours à des artifices pour obtenir une agglutination :

##### a. Grâce à des pontages entre les anticorps (macromolécules ou anticorps anti-anticorps)

Cet artifice consiste à ajouter dans le milieu réactionnel des macromolécules telle que la sérum albumine bovine (BSA), Dextran, Ficoll,...) ou des anticorps anti-anticorps qui créent des ponts entre les molécules d'anticorps fixés sur des particules voisines.

##### b. Grâce à un traitement enzymatique

Cet artifice consiste à hydrolyser les glycoprotéines présentes à la surface des cellules par un traitement enzymatique (exemples: la papaïne, enzyme d'extraction dans le cas du sérogroupage des streptocoques) rendant plus accessible les sites antigéniques.

#### VIII.1.5.4. Agglutination passive

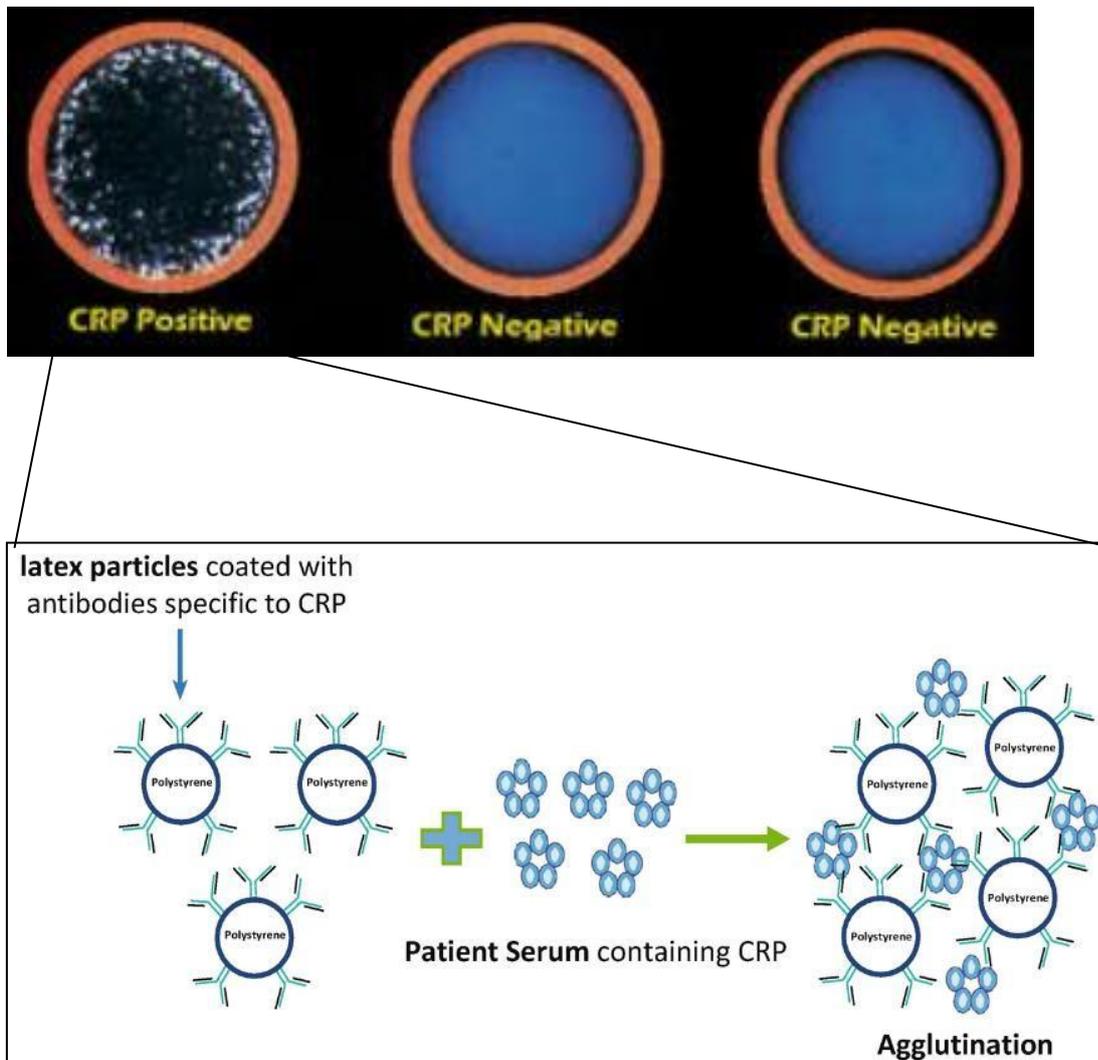
L'agglutination passive résulte de la formation d'un complexe immun entre un antigène normalement soluble mais rendu particulaire par fixation sur un support figuré et un anticorps agglutinant. L'antigène est adsorbé à la surface d'une molécule de support (par exemple, globules rouges, latex), de telle sorte que l'anticorps se lie à l'antigène et que l'agglutination ait lieu à la surface de la molécule de support. Ils sont également appelés "test d'agglutination des particules

**2.2.1. Particules de latex:** ce sont des particules de forme sphérique le plus souvent de 0,81 µm de diamètre. L'Ag est fixée par simple contact (**figure 60**).

Pour éviter toute agglutination spontanée, on travaille à pH fixe et égal à 8,2.

**Avantages des particules de latex** : elles sont antigéniquement neutres et peu fragiles.

**Exemple** : diagnostic de la syphilis (VDRL latex).



**Figure 60:** Réaction d'agglutination au latex (<https://microbenotes.com>).

### 2.2.2. Hématies

Les hématies sont des cellules fragiles qui s'hémo lysent en 3 semaines environ. Toutefois, un traitement au formol diminue cette fragilité. Elles sont utilisées dans un test d'héماغglutination passive. Elles portent à leur surface de nombreux Ag risquant d'agglutiner avec des anticorps différents de ceux recherchés. Pour pallier à ces problèmes, on utilise:

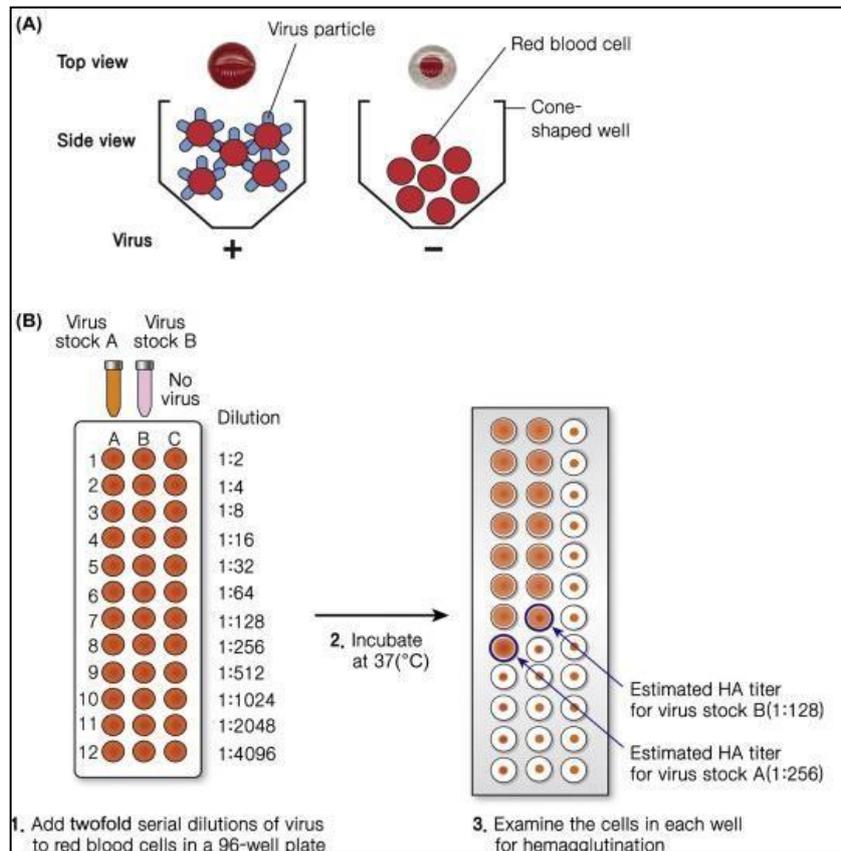
- Des hématies humaines du groupe O Rh-
- Des hématies d'une autre espèce animale (mouton, dinde, poulet).

Toutefois, il est souvent nécessaire d'éliminer les Acs hétérologues des sérums en les adsorbant avec des érythrocytes de la même espèce. On réalise toujours un témoin sérum pour limiter les fausses agglutinations. La fixation des Ag à la surface des hématies peut être réalisée de plusieurs façons :

- par simple contact (ex : antigène Vi de *Salmonella*)
- par fixation chimique (ex : glutaraldéhyde)
- par fixation immunologique (ex : IgG anti-hématie de mouton)

**Avantages** des hématies : lecture facile, grande sensibilité

**Exemples** : sérologie de la syphilis par recherche des anticorps anti-polyosides d'enveloppe de *Treponema pallidum* (réaction du TPHA)



**Figure 61:** Le test d'hémagglutination. Dans une réaction positive, les globules rouges sont agglutinés par les particules virales, ce qui montre la formation d'un réseau. Dans une réaction négative, le RBC précipite au fond du puits, formant un point rouge distinct dans un fond conique. (B) Titration des stocks de virus par le test d'hémagglutination. Les puits indiqués par des flèches représentent la dilution la plus élevée qui présente une hémagglutination. Cette dilution correspond au titre d'HA (1 HA unit corresponds to  $10^4$  particles per mL).

Le **test d'agglutination passive inverse** est un type spécial de test d'agglutination de particules dans lequel l'anticorps est déposé sur une molécule porteuse qui détecte l'antigène dans le sérum du patient.

### VIII.1.6. Applications

Les tests d'agglutination sont utilisés pour détecter les infections microbiennes et virales, les maladies auto-immunes, les hormones, les médicaments ou les protéines sériques par réaction d'agglutination d'un antigène-anticorps.

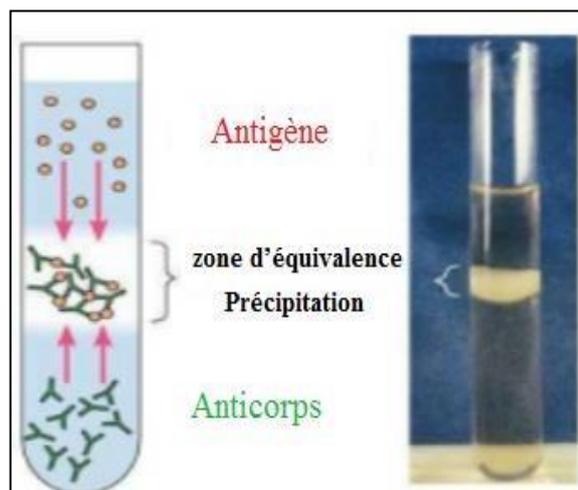
### VIII.2. Immuno-précipitation

#### VIII.2. I. Précipitation en milieu liquide

L'interaction entre un Ac et un Ag soluble forme un réseau qui se développe en précipité visible sous forme d'un anneau (**figure 62**). L'expérience consiste à répartir des quantités égales d'une solution d'un Ag multivalent avec des dilutions croissantes d'un sérum immun. On observe dans un premier temps une corrélation directe entre la quantité d'antigène apportée et la quantité de précipité

La réaction de précipitation dépend intimement du nombre de sites de fixation que chaque anticorps possède pour l'antigène et par le nombre maximum d'anticorps qui peuvent se fixer sur l'antigène.

**La valence** d'un anticorps dépend de sa classe et varie de deux (IgA, IgG, IgE et IgD) à dix (IgM). L'antigène ne sera précipité que s'il possède au moins deux sites de fixation pour l'anticorps.



**Figure 62:** Test de l'anneau.

#### VIII.2. Réaction de précipitation en milieu gélifié.

Lorsqu'un antigène et un anticorps sont introduits dans un milieu gélifié en des points différents, ils **diffusent** et des **précipités** peuvent se former au point de rencontre si le rapport

des concentrations d'antigène et d'anticorps s'y prête. On distingue, selon **le type de support sur lequel le gel est appliqué, l'immunodiffusion en tubes ou en plaques.**

Les méthodes de précipitation en milieu gélifié sont appliquées à l'analyse qualitative d'un mélange d'Ag dans une solution

### VIII.2. 1. Immunodiffusion en tube

C'est historiquement la première des techniques d'immunoprécipitation en gel puisqu'elle a été décrite par Oudin en 1946. Le principe de la technique consiste à remplir un tube de verre avec un gel d'agar dans lequel un anticorps a été préalablement incorporé, puis à appliquer une solution d'antigène dans le tube. L'antigène diffuse progressivement par simple diffusion dans le gel en créant un gradient de concentration. Si la concentration initiale d'antigène est suffisante, un précipité se forme au niveau du front de progression de l'antigène.

### VIII.2.2. Immunodiffusion sur plaque (technique d'Ouchterlony)

Cette technique est nommée d'après **Örjan Ouchterlony**, un physicien suédois qui a inventé le test en 1948.

- **Principe**

Les solutions d'Ag et d'Ac sont déposées dans des puits creusés à distance les uns des autres dans un gel d'agarose. Les molécules diffusent librement dans le gel en fonction de leur taille et forment des lignes de précipitation à **la zone d'équivalence** pour chaque système d'Ag et d'Ac.

**La zone d'équivalence** correspond à la formation d'un réseau Ag-Ac (qui est le point où la courbe atteint son maximum) (**figure 63**).

La réaction de précipitation peut être inhibée par un excès d'Ac ou d'Ag, le réseau est alors incomplet: c'est le **phénomène de zone** (source : technique d'immunologie, CRDP édition Aquitaine).

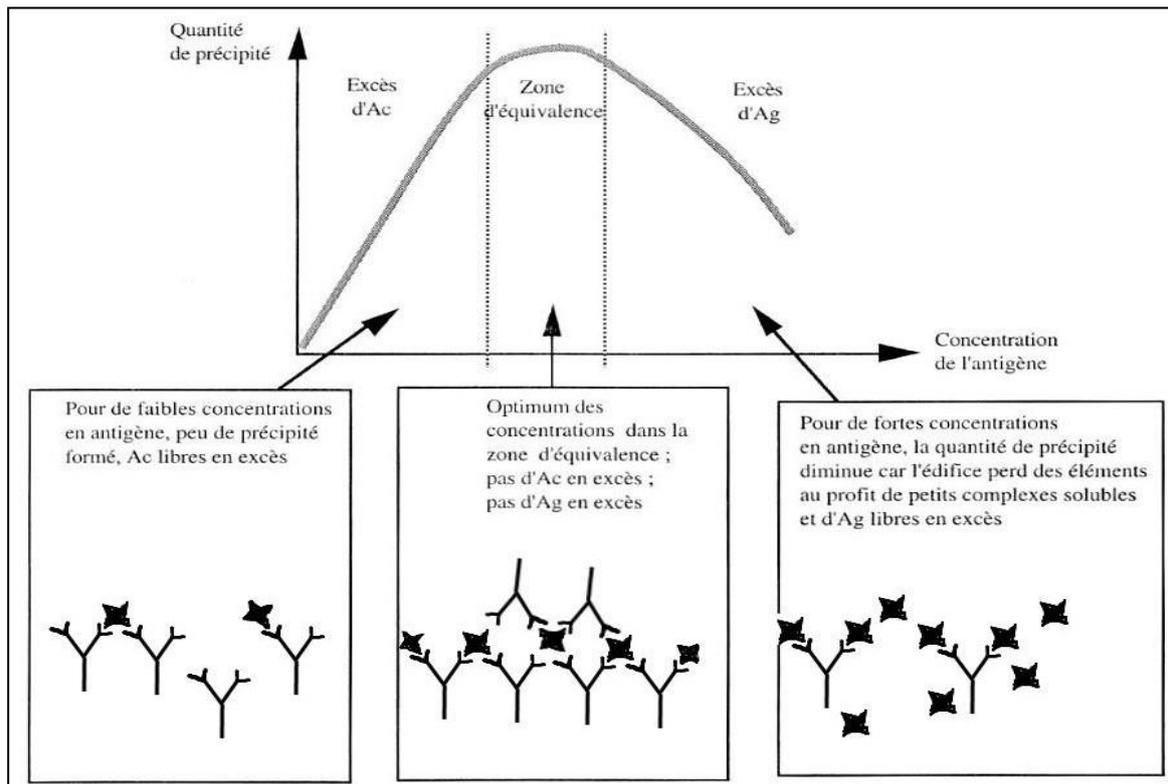


Figure 63: Courbe de Heidelberg et Kendall.

Cette technique a surtout l'avantage de permettre la comparaison directe de différentes préparations d'antigènes. Il suffit pour cela de placer les diverses préparations antigéniques dans différents puits disposés sur un cercle dont le centre est creusé d'un puits où la solution d'anticorps est introduite.

La méthode d'Ouchterlony peut être utilisée notamment pour détecter la présence d'anticorps spécifiques dans un sérum, pour mettre en évidence un antigène donné dans un liquide biologique, pour déterminer la zone d'équivalence ou pour évaluer le degré d'identité (nul, total ou partiel) entre différents antigènes (Figure 64). En effet, des antigènes possédant une identité partielle avec celui contre lequel ont été produits les anticorps sont susceptibles de donner une réaction croisée conduisant à des arcs de précipitation d'aspect particulier. On peut ainsi identifier des relations de parenté entre les organismes dont proviennent les antigènes et celui ayant fourni les anticorps.

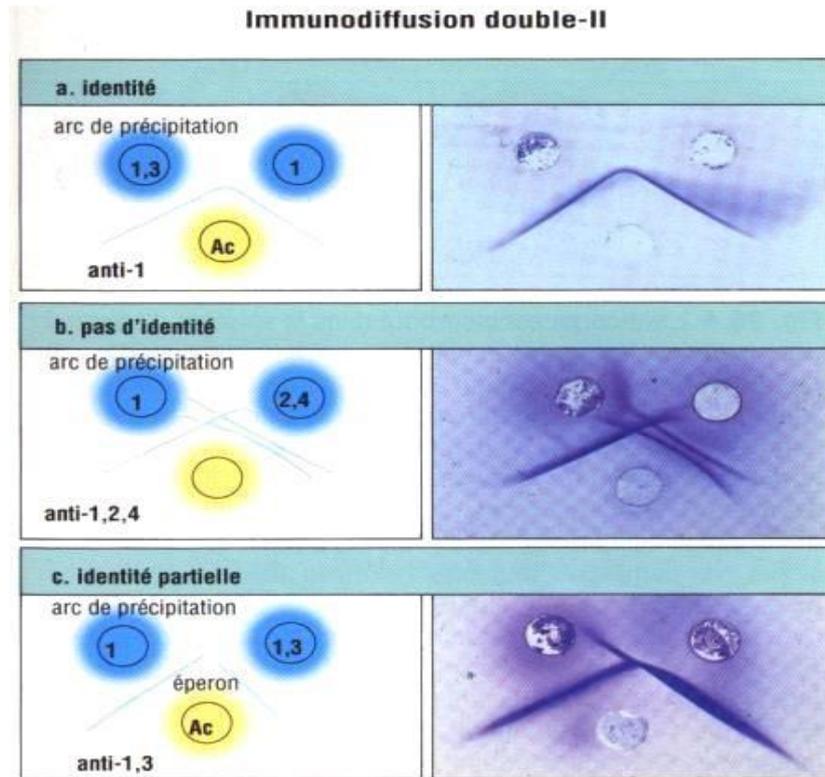


Figure 64 : L'immunodiffusion double.

### VIII.2. 3. Immunodiffusion radiale (Technique de Mancini)

Cette méthode consiste à incorporer un antisérum spécifique dans la gélose et à déposer la solution d'Ag dans des puits. A l'équilibre il se forme **un anneau de précipitation** dont le carré du diamètre est proportionnel à la concentration de l'Ag (Figure 65). La concentration est exprimée par référence à une courbe standard avec un Ag de concentration connue.

Un gel d'agar dans lequel un anticorps a été préalablement incorporé est déposé sur une lame de verre. La solution d'antigène qui est déposée dans un puits diffuse dans l'agar et donne lieu à la formation d'un **halo** de précipitation dont le **diamètre extérieur est proportionnel à la concentration initiale d'antigène**. Cette technique a été proposée par Mancini pour doser certains antigènes. Il suffit en effet de calibrer la méthode en utilisant des quantités connues d'antigène purifié.

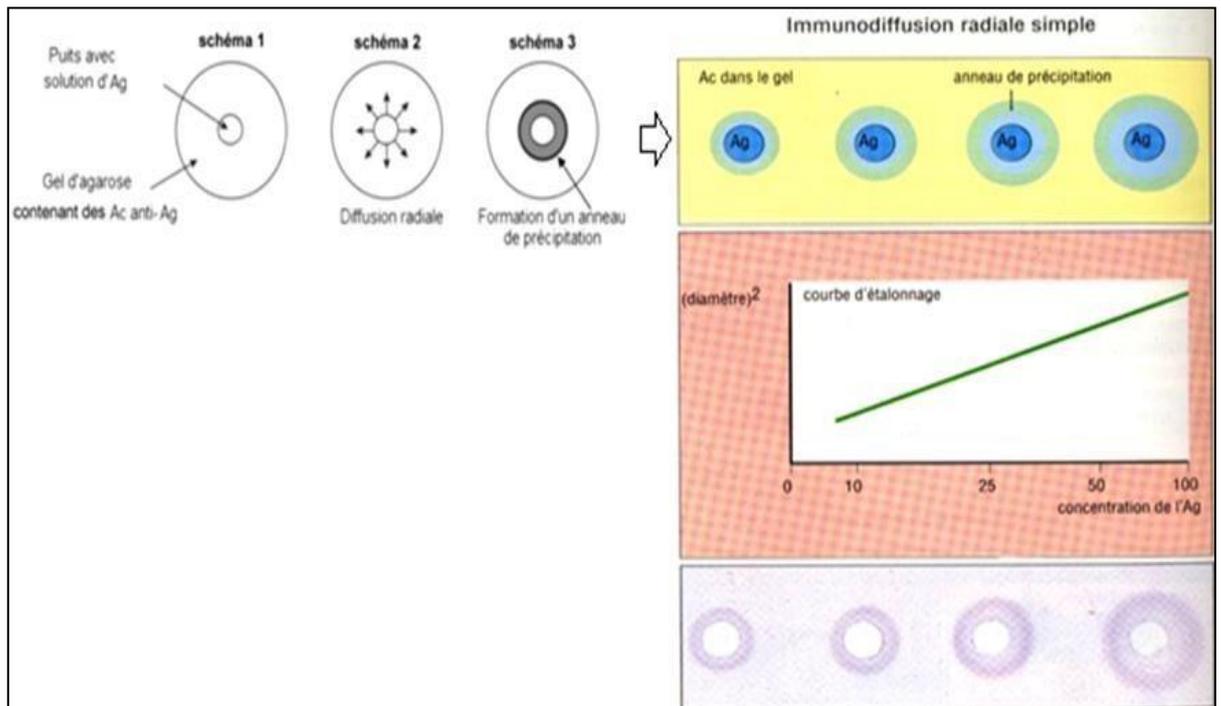


Figure 65: Immunodiffusion radiale (Technique de Mancini).

### VIII.2.2. Immuno-précipitation pour la caractérisation d'un antigène

C'est une technique qui permet la **précipitation d'un antigène (protéine) en solution par un anticorps** qui agglutine spécifiquement une protéine particulière (figure 66). On l'utilise pour isoler et concentrer une protéine précise parmi d'autres. Cette technique est appliquée à des études de surface des cellules.

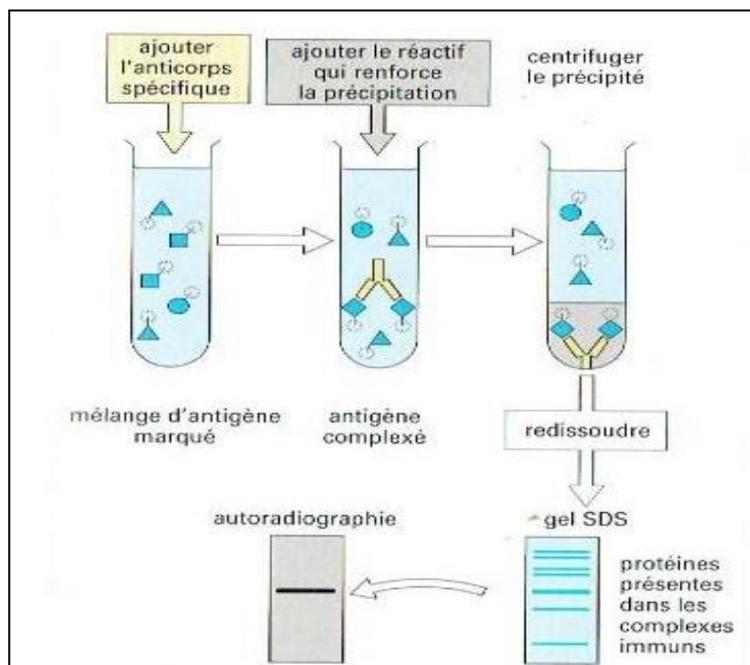


Figure 66: Immuno-précipitation (Male et al., 2007).

### VIII.3. Immunoélectrophorèse

Elle a été développée par **Grabar et Williams en 1953**. Elle combine l'électrophorèse en gel d'agarose et l'immunodiffusion.

#### VIII.3. 1.Principe

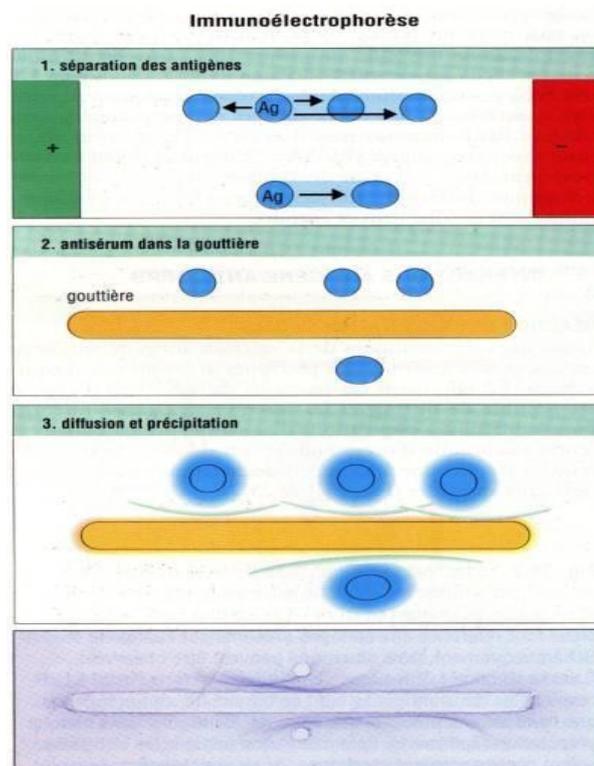
Il repose sur une séparation des protéines par électrophorèse dans un gel d'agarose suivie d'une double diffusion contre des Ac spécifiques selon une direction perpendiculaire à l'axe de migration électrophorétique.

Chaque zone d'équivalence correspond à un précipité Ag-Ac qui se traduit par un arc de précipitation.

La technique consiste à introduire un mélange d'antigènes dans un puits creusé dans une plaque d'agar et à appliquer un champ électrique pendant une à deux heures afin de séparer les molécules d'antigène selon leur mobilité électrophorétique (**Figure 67**).

Le champ électrique est alors coupé et un antisérum polyspécifique est introduit dans une rigole parallèle au champ de migration de la préparation d'antigène. Les anticorps et les antigènes diffusent alors librement les uns vers les autres et donnent lieu à des précipités analogues à ceux décrits dans la méthode d'Ouchterlony.

L'immunoélectrophorèse s'est révélée particulièrement importante pour l'analyse des protéines du sérum, permettant d'objectiver plus de 30 molécules différentes.

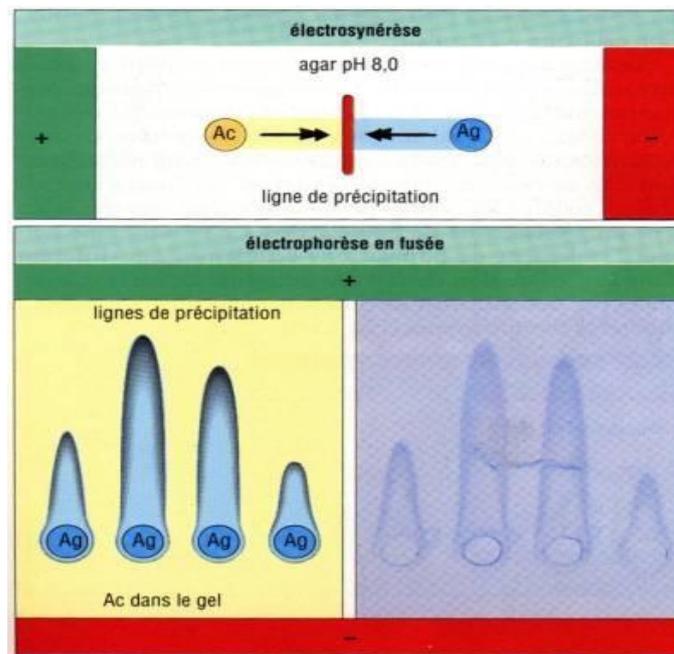


**Figure 67:** Immunoélectrophorèse.

### VIII.3. 2. Immunoélectrophorèse en fusée rocket (electrophoresis) (Technique de Laurell)

L'Ac incorporé dans le gel d'agarose est immobile (grâce au pH du gel), Différentes dilutions de la préparation antigénique à doser sont réparties dans des puits alignés. L'Ag chargé négativement migre dans un champ électrique **appliqué perpendiculairement à la ligne** des puits. Un **halo en forme en fusée** se forme et progresse tant que l'antigène est en excès (**Figure 68**). La hauteur de **L'arc de précipitation résultant a la forme d'une fusée** est proportionnelle à la concentration de l'Ag.

Cette technique pour un dosage très précis et très sensible des antigènes.



**Figure 68:** Technique de Laurell.

### VIII.3. 3. Contre-Immunoélectrophorèse (ou électrosynérèse)

C'est une technique proche de la précédente, où l'anticorps est distribué dans une ligne de puits parallèle à celle des puits contenant les antigènes. **Un courant est appliqué perpendiculairement aux lignes des puits**. Lorsque l'anticorps et l'antigène se rencontrent, **il se forme un arc de précipitation**.

### VIII.4. Immunofluorescence

#### VIII.4. 1. Principe

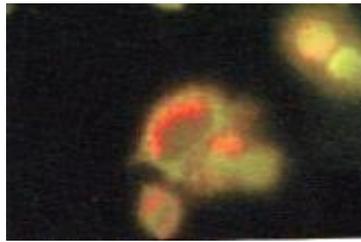
L'immunofluorescence (IF) est une technique qui utilise **des fluorophores** pour visualiser divers antigènes cellulaires tels que des protéines.

**Les fluorochromes** sont des composés qui émettent de la lumière lorsqu'ils sont exposés à une certaine longueur d'onde de lumière, ils sont essentiels pour l'immunofluorescence

- **FITC**: dérivé de la fluorescéine (émission = 520 nm, couleur verte).

- **Rhodamine** et ses dérivés : utilisée en général pour le double marquage, donne une fluorescence rouge-orangée (**figure 69**).

L'immunofluorescence offre la possibilité de révéler des molécules dans leur état «natif», minimisant les perturbations potentielles de la conformation, de la localisation et / ou de la fonction des protéines, qui peuvent survenir lors de l'utilisation du marquage des protéines par fluorescence. Les protéines ou antigènes peuvent ensuite être visualisés par examen au microscope fluorescent ou au microscope confocal selon la question biologique abordée par cette méthode.

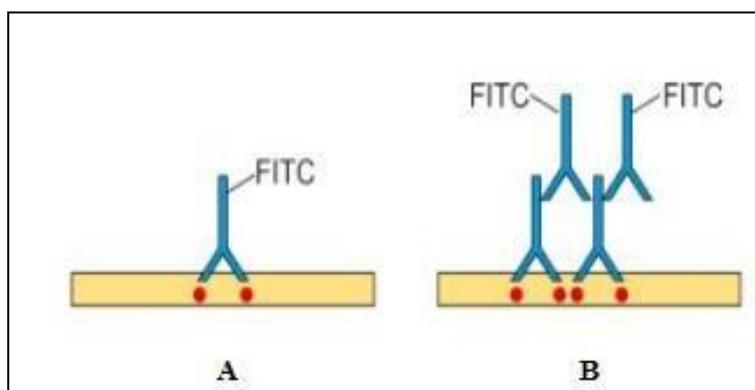


**Figure 69:** L'immunofluorescence de macrophage de souris infectées par *Leishmania mexicana* au moyen d'anticorps antitubuline marqué à la rhodamine (Par Dr. D. Russel in Male et al.,2007).

### VIII.4. 2. Les types de l'immunofluorescence

Elle peut être directe ou indirecte.

**1- Directe:** l'anticorps peut être couplé à un fluorophore. L'Ag est recherché directement par l'Ac spécifique marqué. Elle est moins sensible. Elle permet de rechercher des dépôts d'Ig ou de complément dans les tissus.



**Figure 70:** Immunofluorescence. A : Méthode directe. B: Méthode indirecte (Fenner's Veterinary Virology, 2016).

#### **1- Indirecte:**

La protéine d'intérêt peut être détectée par un anticorps **secondaire** conjugué à un fluorophore (fluorescence indirecte).

### VIII.4. 3. Applications de l'immunofluorescence

Cette technique est couramment utilisée dans la pratique clinique ainsi que dans les applications de recherche pour déterminer l'expression des protéines et pour localiser de manière fiable des molécules sur des cellules ou de tissus fixés.

Cette technique peut être utilisée dans :

- Auto-immunité: détection des Ac antinucléaire, anti-organites ou Ac spécifiques d'organe.
- Microbiologie : bactériologie, virologie (cinétique de multiplication de virus, détection de virus responsables d'infection respiratoire).

### VIII.5. Techniques enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa)

C'est un test immuno-enzymatique **qualitatif ou quantitatif**. Il a été décrit à l'origine par Engvall et Perlmann (1971). Il utilise des anticorps pour détecter et quantifier une molécule d'intérêt comme les substances solubles telles que **les peptides, les protéines, les anticorps et les cytokines, les hormones**.

- ✓ elle permet de doser n'importe quel antigène pour lequel on dispose d'Ac spécifiques
- ✓ Très grande sensibilité

#### VIII.5. 1. Principe

Elle repose sur l'utilisation d'une enzyme pour déceler les complexes immuns. L'antigène (macromolécule cible) est immobilisé sur une surface solide (microplaque) puis complexé avec un anticorps qui est lié à une enzyme. La détection est effectuée en mesurant l'activité de l'enzyme via une incubation avec le substrat approprié pour obtenir un produit mesurable. L'élément le plus crucial d'un ELISA est une interaction anticorps-antigène hautement spécifique.

#### VIII.5. 2. Les étapes d'un ELISA

La réalisation d'un test ELISA suit plusieurs étapes (**Figure71**) :

- **Le coating/capture** direct or indirect, il s'agit de **l'immobilisation de l'antigène d'intérêt sur une surface solide**. Cela se fait généralement dans une plaque à 96 puits qui lie passivement les protéines.
- **Blocage de la plaque** - ajout d'une protéine non pertinente ou d'une autre molécule pour couvrir tous les sites de liaison de surface non saturés des puits de la microplaque.
- **Détection** : se fait par incubation avec des anticorps spécifiques de l'antigène qui se lient par affinité aux antigènes. L'anticorps approprié est préparé par **conjugaison à une enzyme**. Ce conjugué est ajouté à l'échantillon permettant à l'anticorps de se lier à l'antigène. Le matériel lié qui n'est pas spécifique à l'antigène d'intérêt peut ensuite être éliminé en utilisant des étapes de lavage. Le substrat pour l'enzyme est ensuite ajouté,

- **La lecture** : une réaction enzymatique se produit entre le substrat dans la solution et l'enzyme liée à l'anticorps produisant soit un changement de couleur, de fluorescence ou de luminescence qui est utilisé pour la lecture afin de déterminer la quantité de l'analyte cible dans chaque échantillon.

Les marqueurs enzymatiques les plus couramment utilisés sont la horseradish peroxidase (HRP) et la phosphatase alcaline (AP).

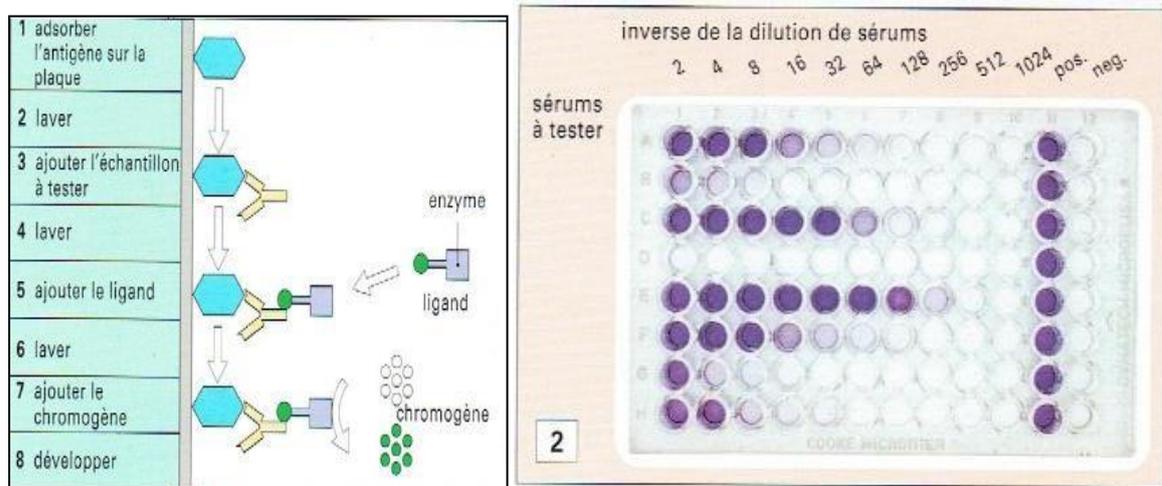


Figure 71: La technique ELISA. A droite la microplaque ELISA (Male et al., 2008)

### VIII.5. 3. Les types d'ELISA

Plusieurs types de méthodes couramment utilisées pour l'ELISA (Figure 72), il existe l'ELISA direct, indirect et ELISA sandwich.

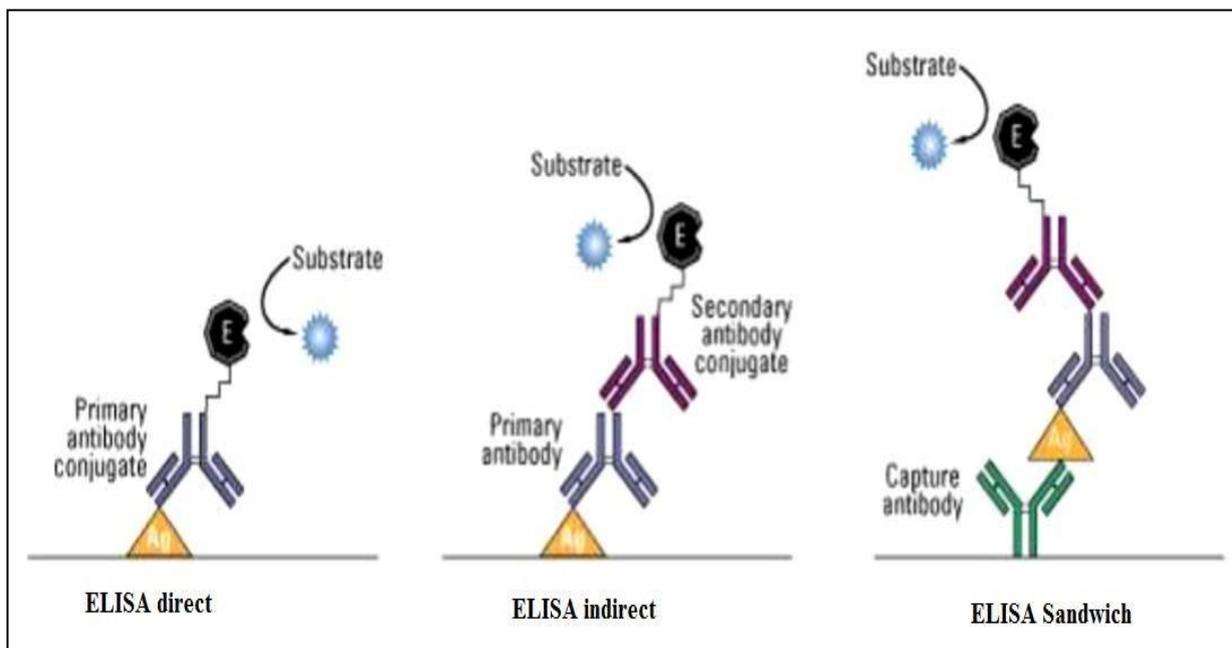


Figure 72: Différents types d'ELISA.

### 1. ELISA direct

L'antigène est détecté directement par un anticorps primaire conjugué à une Enzyme (qui se lie à un antigène sur une surface).

Il convient à la détection d'antigènes protéiniques.

### 2. ELISA Sandwich

ELISA sandwich est très utilisée en raison de sa sensibilité et de sa spécificité. L'Ag possédant au moins deux épitopes (identiques ou non). 100 fois plus sensible que la méthode par compétition. Surtout en recherche

L'antigène est reconnu par deux anticorps, formant un complexe comme un sandwich. Un anticorps est utilisé pour la capture et un pour la détection. La détection peut être directe ou indirecte.

### 3. ELISA par compétition / inhibition

Elle est Similaire à un ELISA direct, mais la quantification est effectuée en faisant concurrence ou en inhibant la liaison de l'anticorps avec une quantité mesurée d'antigène.

La compétition vis à vis d'Ac présents en quantité limitée, et fixés sur un support, il y a compétition entre l'Ag à doser et l'Ag marqué (de même spécificité) ajouté en quantité définie dans le même temps

#### VIII.5.4. Détection et capture

La méthode de détection **directe** utilise un **anticorps primaire marqué** avec une enzyme rapporteur ou une étiquette qui réagit directement avec l'antigène.

La méthode de **détection indirecte** utilise un **anticorps secondaire marqué ou un complexe biotine-streptavidine**, un substrat pour ces enzymes est ajouté qui formera un signal chromogène, fluorescent ou chimioluminescent.

#### VIII.5.5. Applications

Le test ELISA est couramment utilisé da le diagnostic des maladies infectieuses (SIDA, grippe aviaire, rhume, choléra) et des maladies auto-immunes. Il est également utilisé dans la détection des allergènes alimentaires potentiels (lait, cacahuètes, noix, amandes et œufs), et la détection des antigènes (par ex. Hormones de gestation, médicaments).

## Références

- Abbas A. K., Lichtman A. H. Basic immunology : functions and disorders of immune system. (2009). 3<sup>e</sup> édition. Sunders- Elsevier.312p.
- Abbas A. K., Lichtman A. H. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. (2013). 4<sup>e</sup> édition Elsevier Masson, 290p.
- Bellanti, J.A. Immunology IV: Clinical Applications in Health and Disease. (2012). I Care Press, Bethesda, MD.
- Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2e édition, de l'ASSIM : Collège des Enseignants d'Immunologie. 2018, Elsevier Masson SAS. 322p.
- Lydyard, P.M., Whelan, A., Fager, M.W. (2001). L'essentiel en immunologie. BERTI édition. p355.
- Male , D., Brostoff, J., Roth, D. B., Roitt, Y., Immunologie. (2007), traduction de la 7<sup>e</sup> édition anglaise, Édition Elsevier Masson. 600 pages.
- Murphy K., Weaver, C. Janeways Immuobiologie.9eme Edition Garland science (NY).904p.
- Kindt, T.J., Goldsby, R.A., Osborne,B. A. Immuologie, le cours de Janis Kuby avec questions de révision. (2014). 6<sup>e</sup> édition. 683p.
- Ryu, W.S. (2017), Molecular Virology of Human Pathogenic Viruses, Elsevier Inc .440p.
- Touil-Boukoffa, C , Mezioug D, Amri M, Belguendouz H, Messaoudene D, Rafa H., Cytokines, immunité et immunopathologie. (2016). Edition: OPU. 88p.
- Vuitton D. A. Immunologie: Simplissime. (2008). Édition Pradel. 210 p.

## Site internet

<https://www.immunopaedia.org> (2005-2020).

<https://microbenotes.com>.