

Cellules et organes du système immunitaire

IMMUNITE :

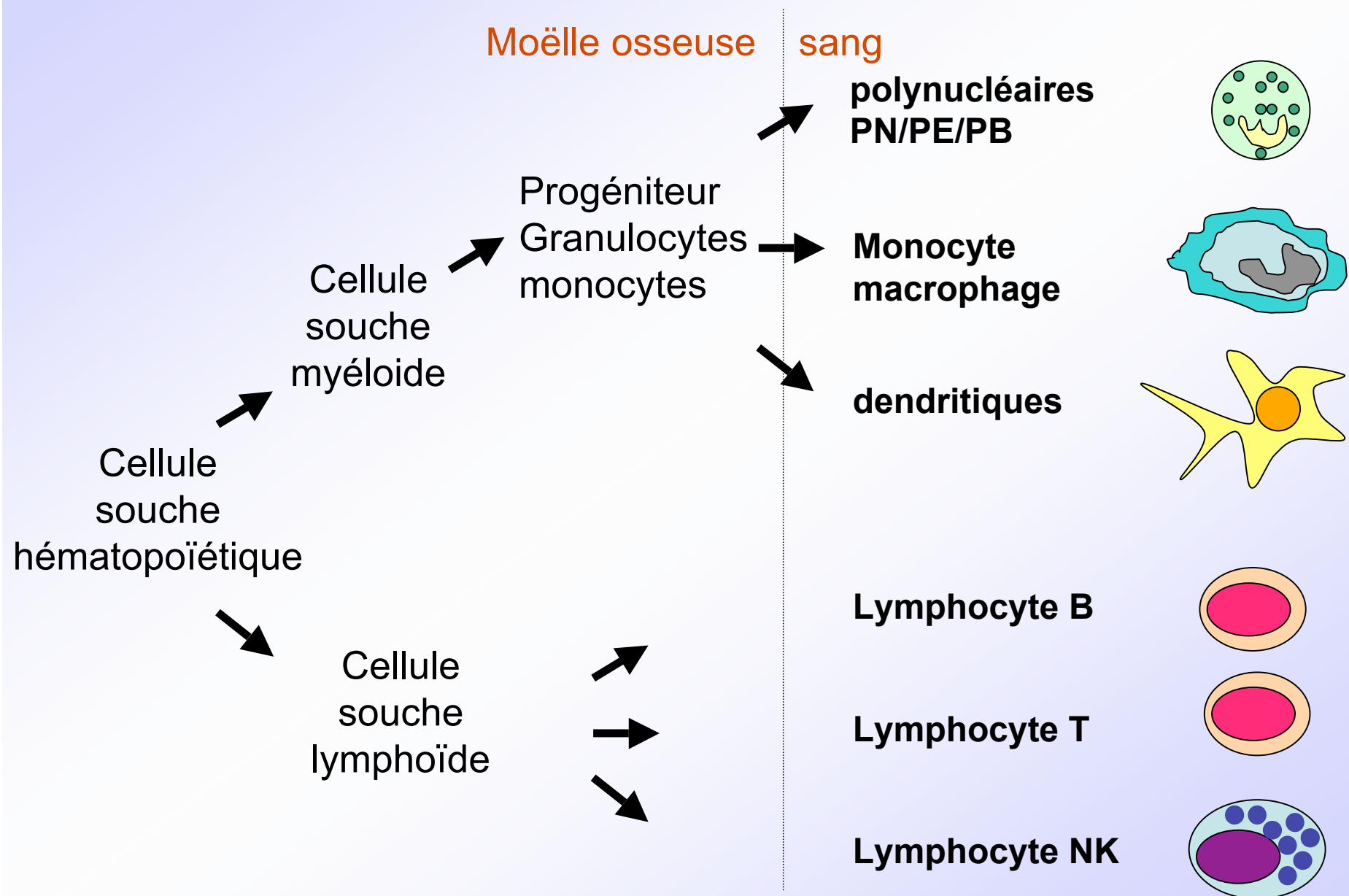
Ensemble des mécanismes biologiques permettant à un organisme de :

- **RECONNAÎTRE** et de **TOLERER** le **SOI**,
- **RECONNAÎTRE** et de **REJETER** le **NON SOI**
(substances étrangères, agents infectieux, ses propres constituants altérés...)

SYSTEME IMMUNITAIRE :

Ensemble de **cellules**, d'**organes** et de **molécules**

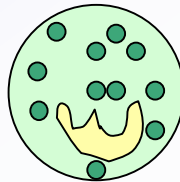
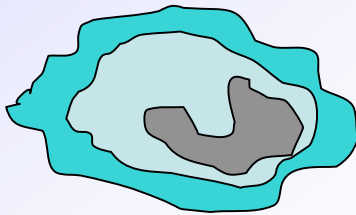
Cellules Immunocompétentes



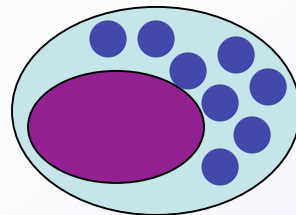
Cellules Immunocompétentes

IMMUNITE NON SPECIFIQUE

➤ Monocytes, macrophages, polynucléaires



➤ Lymphocytes NK

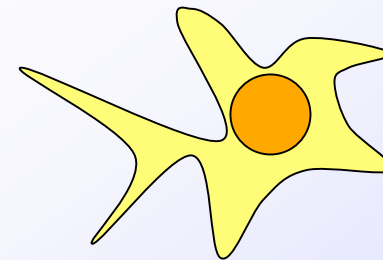


ACTION IMMEDIATE

IMMUNITE SPECIFIQUE

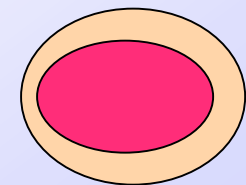
➤ Cellules présentatrices d'antigène

- macrophage
- cellules de langherans
- cellules dendritiques
- lymphocyte B



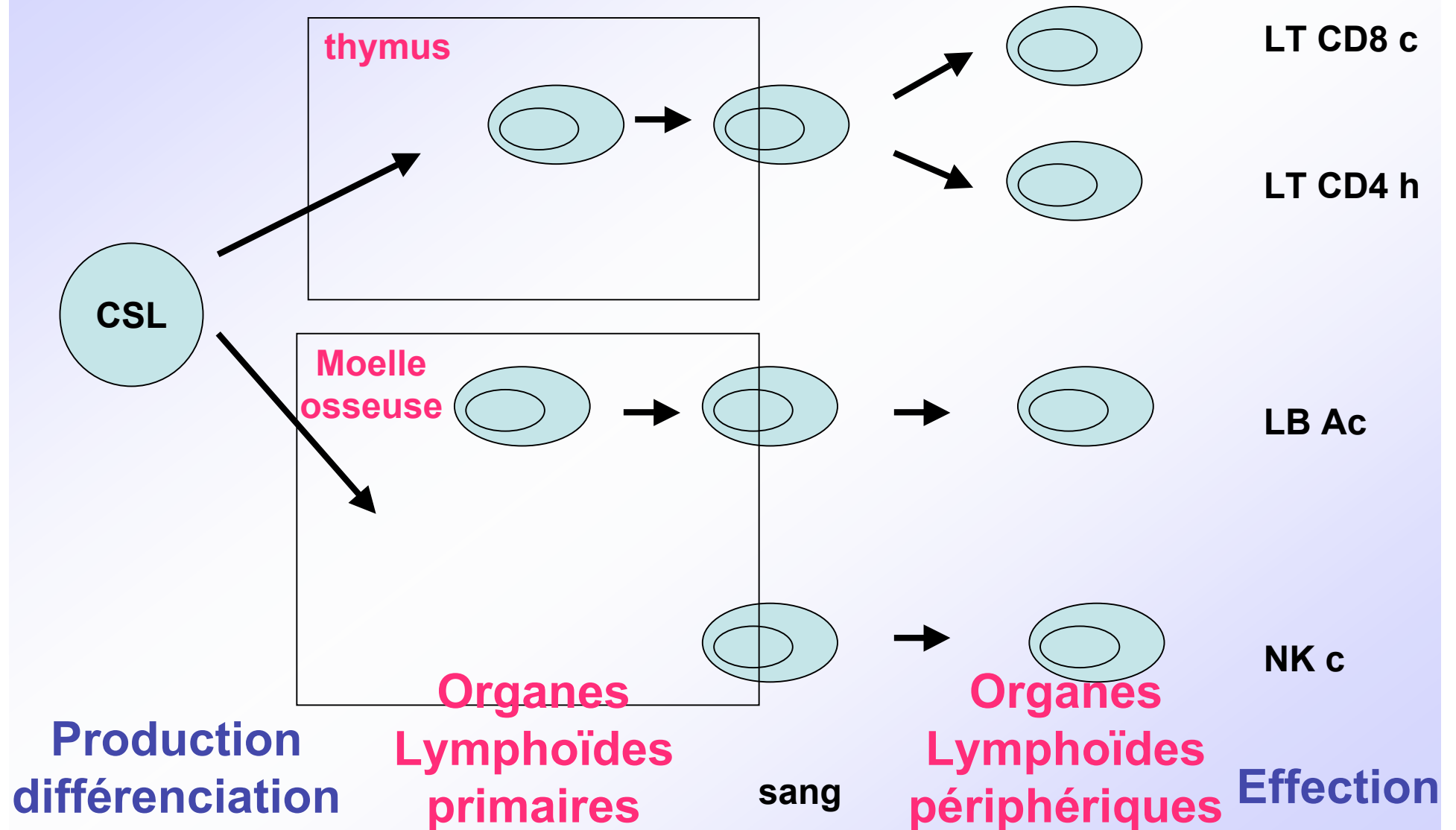
➤ Lymphocytes T

➤ Lymphocytes B



ACTION RETARDEE, MEMOIRE

Origine et Distribution des cellules lymphoïdes



Organes et tissus lymphoïdes

➤ Organes lymphoïdes primaires ou centraux

- Thymus
- Moelle Osseuse

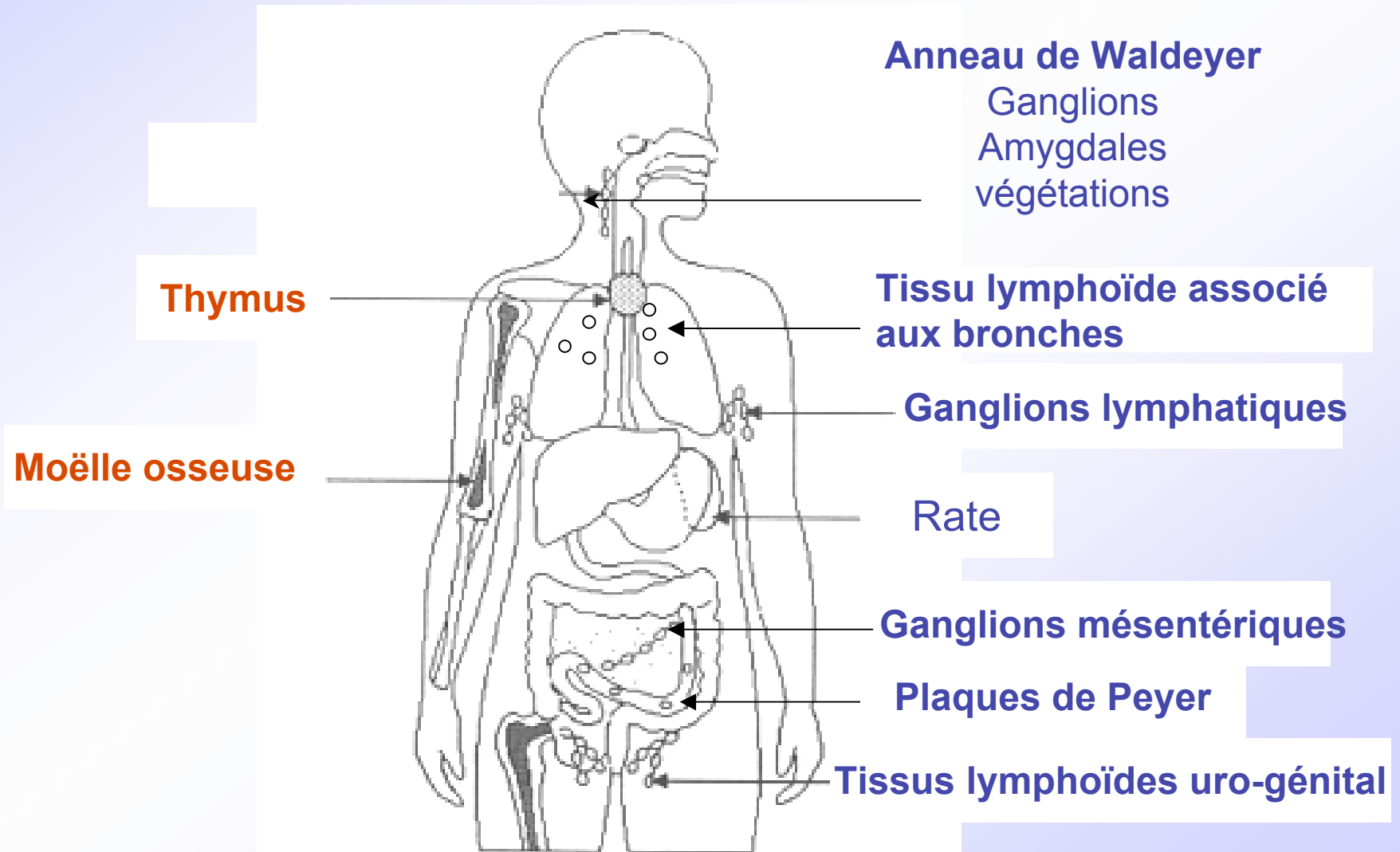
➤ Organes et tissus lymphoïdes secondaires ou périphériques

- ganglions lymphatiques
- rate
- tissu lymphoïde associé aux bronches
- amygdales végétations
- ganglions mésentériques
- plaques de peyer
- tissus lymphoïde urogénital

Organes et tissus lymphoïdes

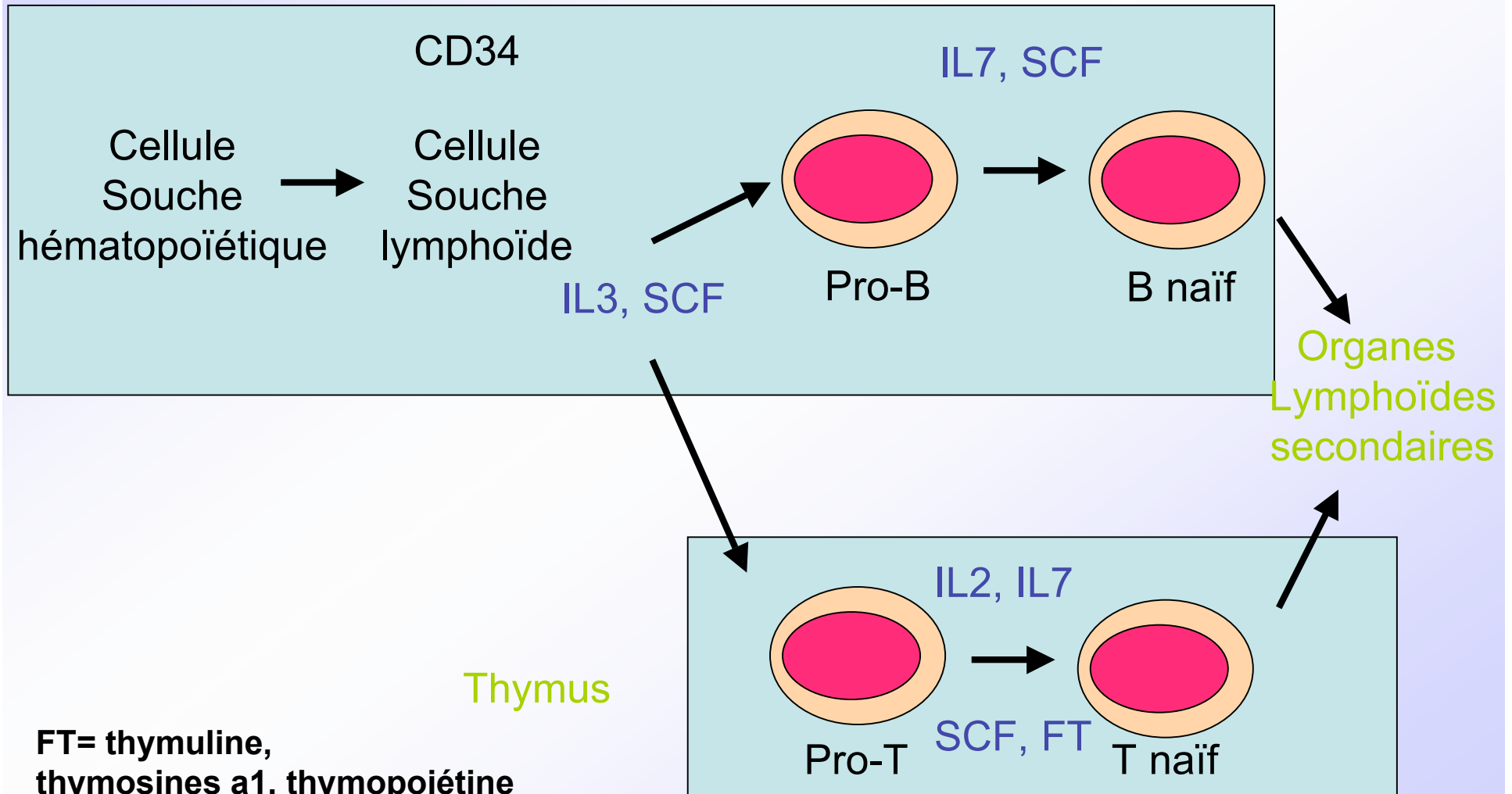
Organes lymphoïdes primaires

Organes lymphoïdes secondaires

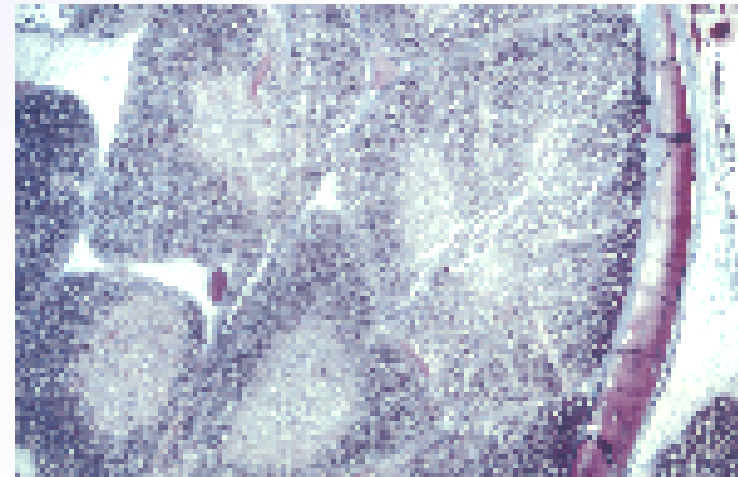
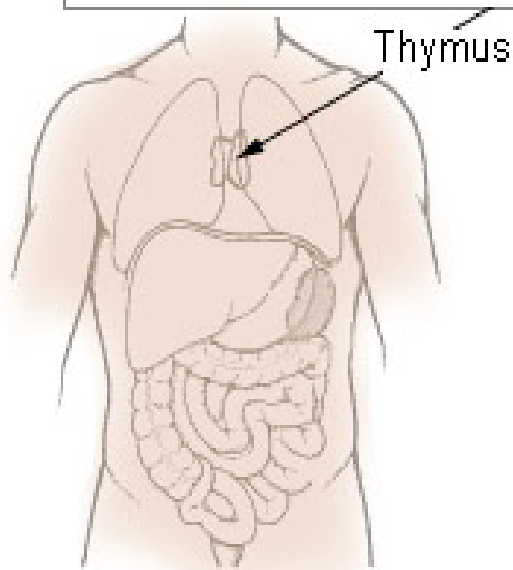
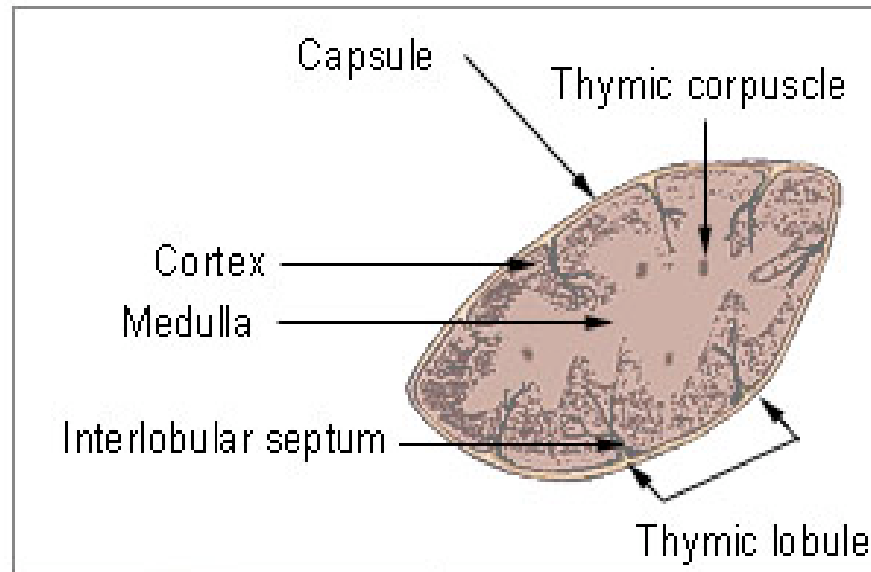


Maturation des cellules lymphoïdes : dans les organes lymphoïdes primaires

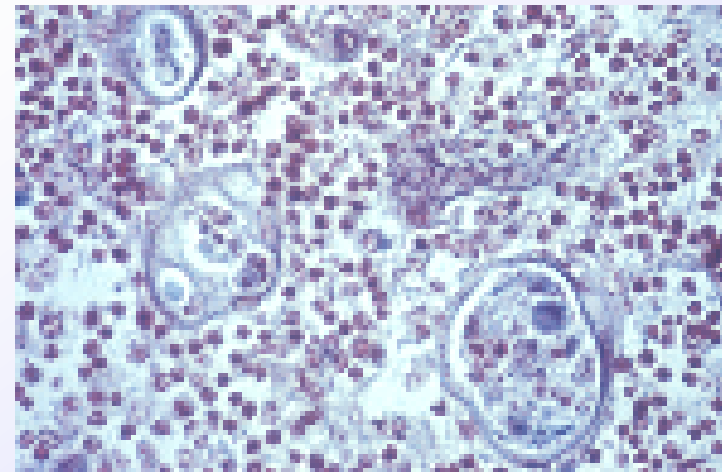
Moelle Osseuse



Localisation et composition du Thymus



Vue générale



Thymus

Médullaire (nombreux corpuscules de hassal)

Rôle du Thymus

- **multiplication intense** (plusieurs millions de cellules produites par jour): les précurseurs CD 34+44+ issus de la MO entrent par voie sanguine et se multiplient au niveau du **cortex superficiel**. (cellules doubles négatives).
- **maturation, différenciation**: les cellules acquièrent progressivement:
le récepteur à l'antigène **TcR** (réarrangement des gènes du TcR)
les marqueurs de cellules matures (**CD2, CD3, CD4, CD8**)
(cellules doubles positives au niveau du **cortex profond**)
- **sélection des lymphocytes**: double. Permet la tolérance au soi

Positive

survie des thymocytes
qui reconnaissent le CMH

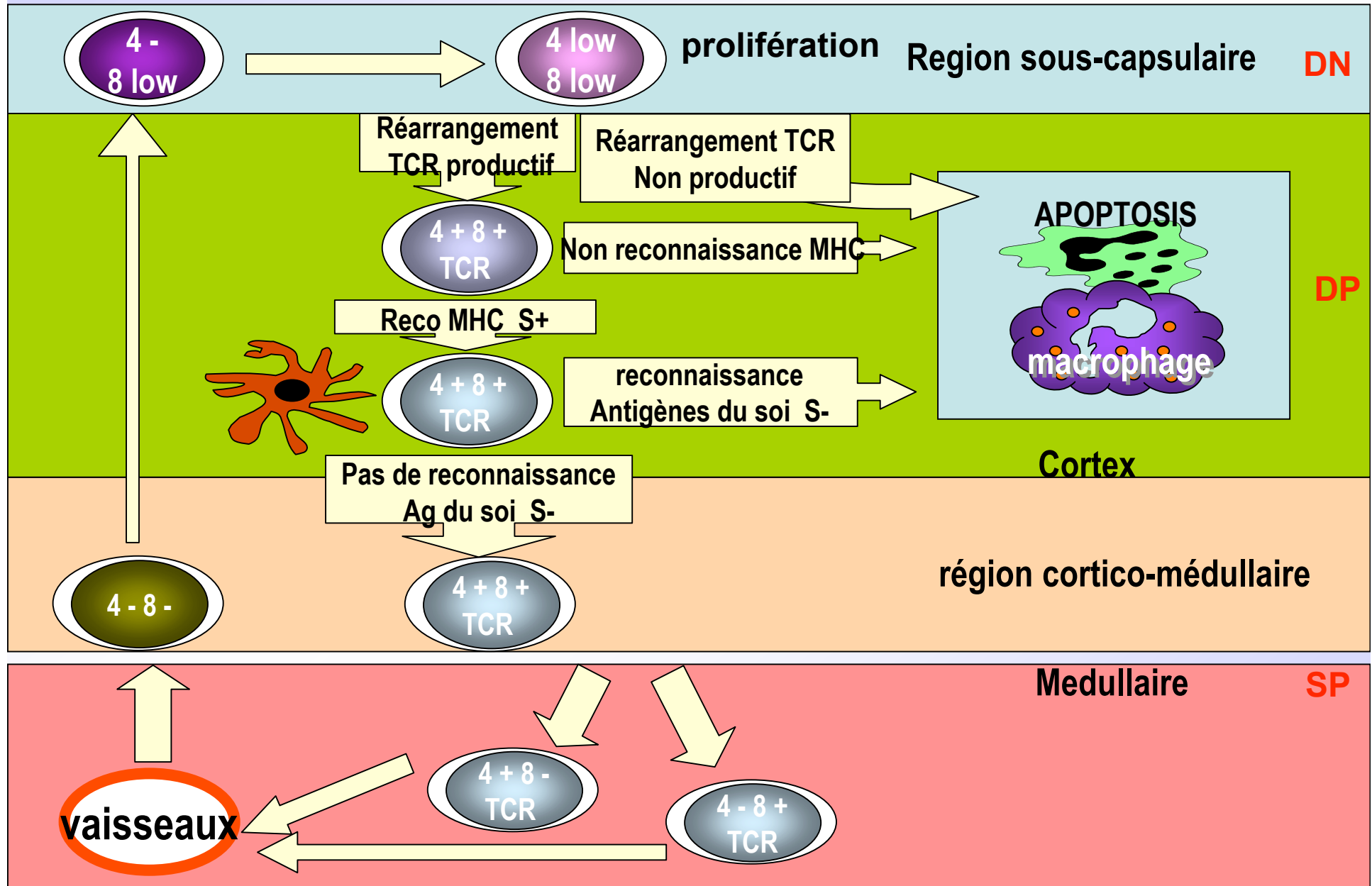
Cellules simples positives

Négative

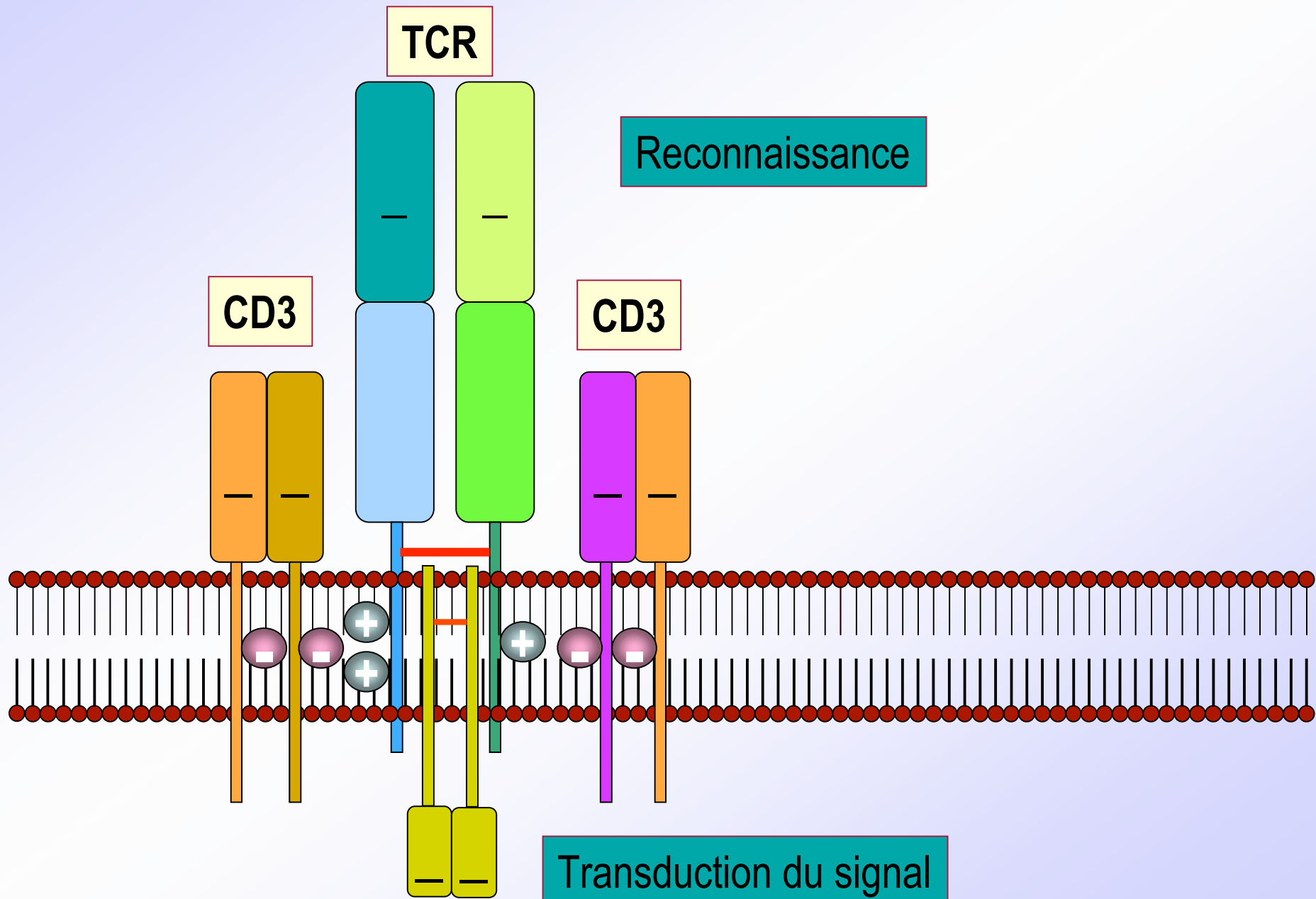
destruction des thymocytes qui
reconnaissent trop fortement le soi

(**médullaire**)

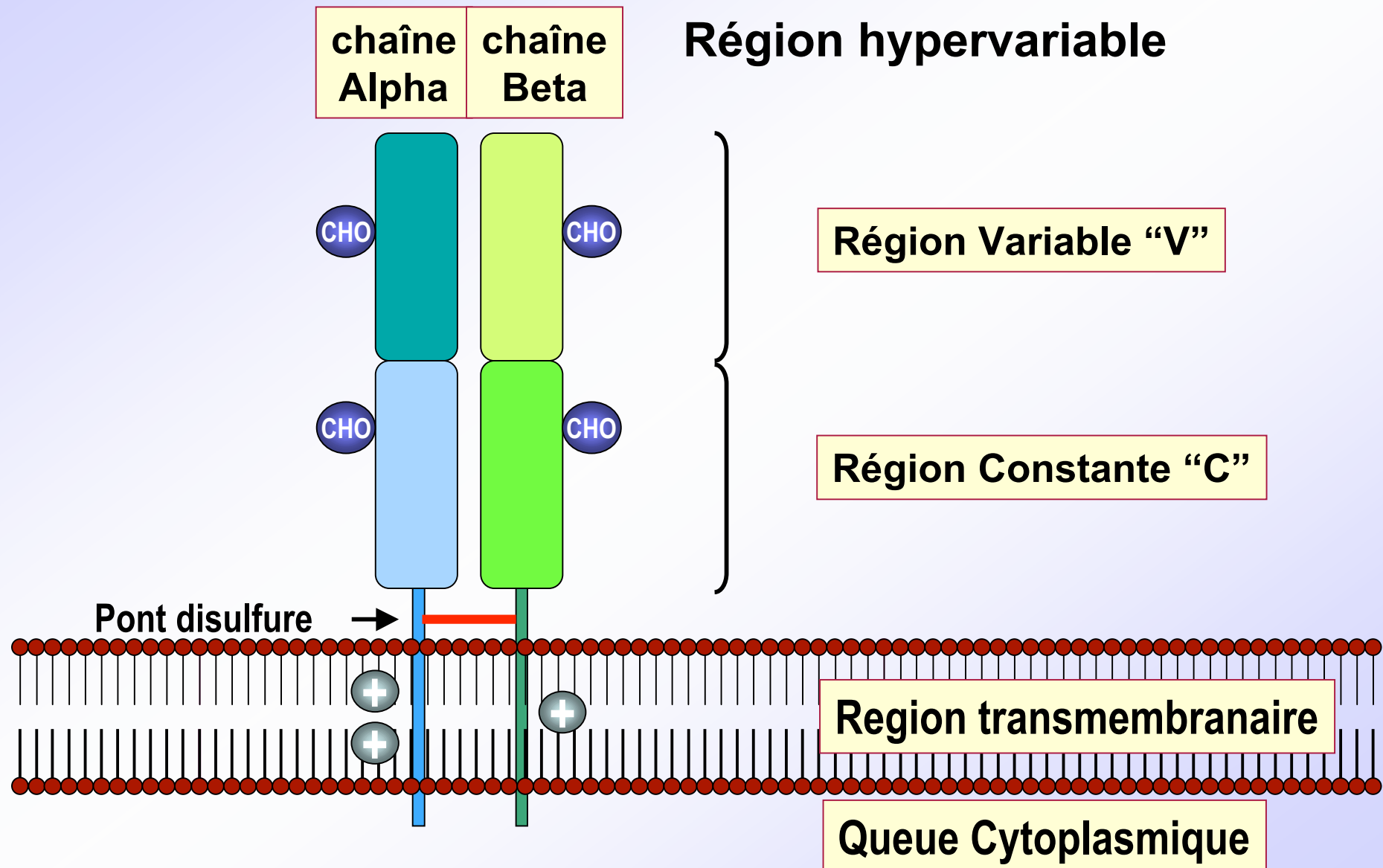
Maturation thymique des lymphocytes T



Complexe CD3



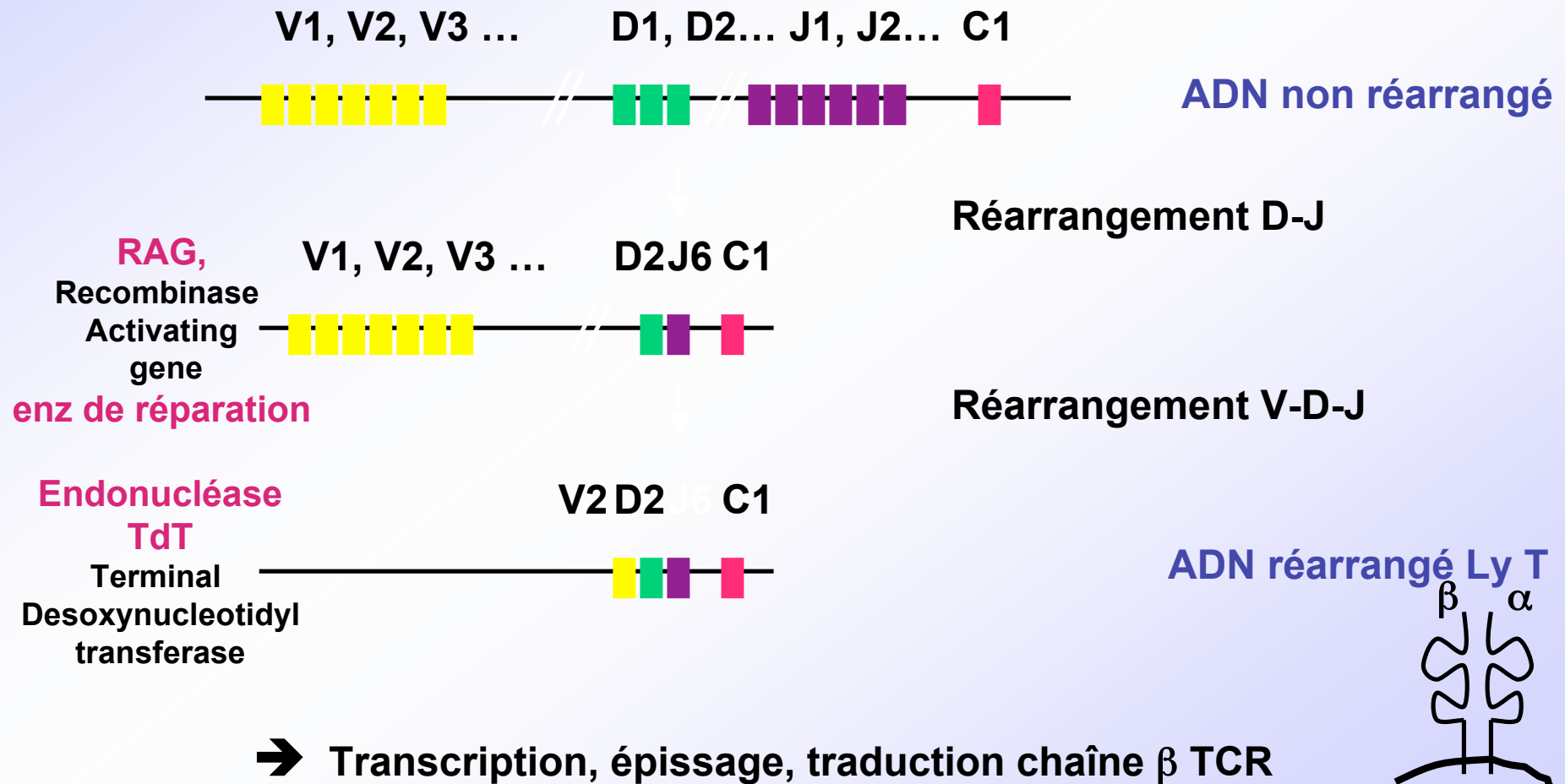
LYMPHOCYTES T – Structure du TCR



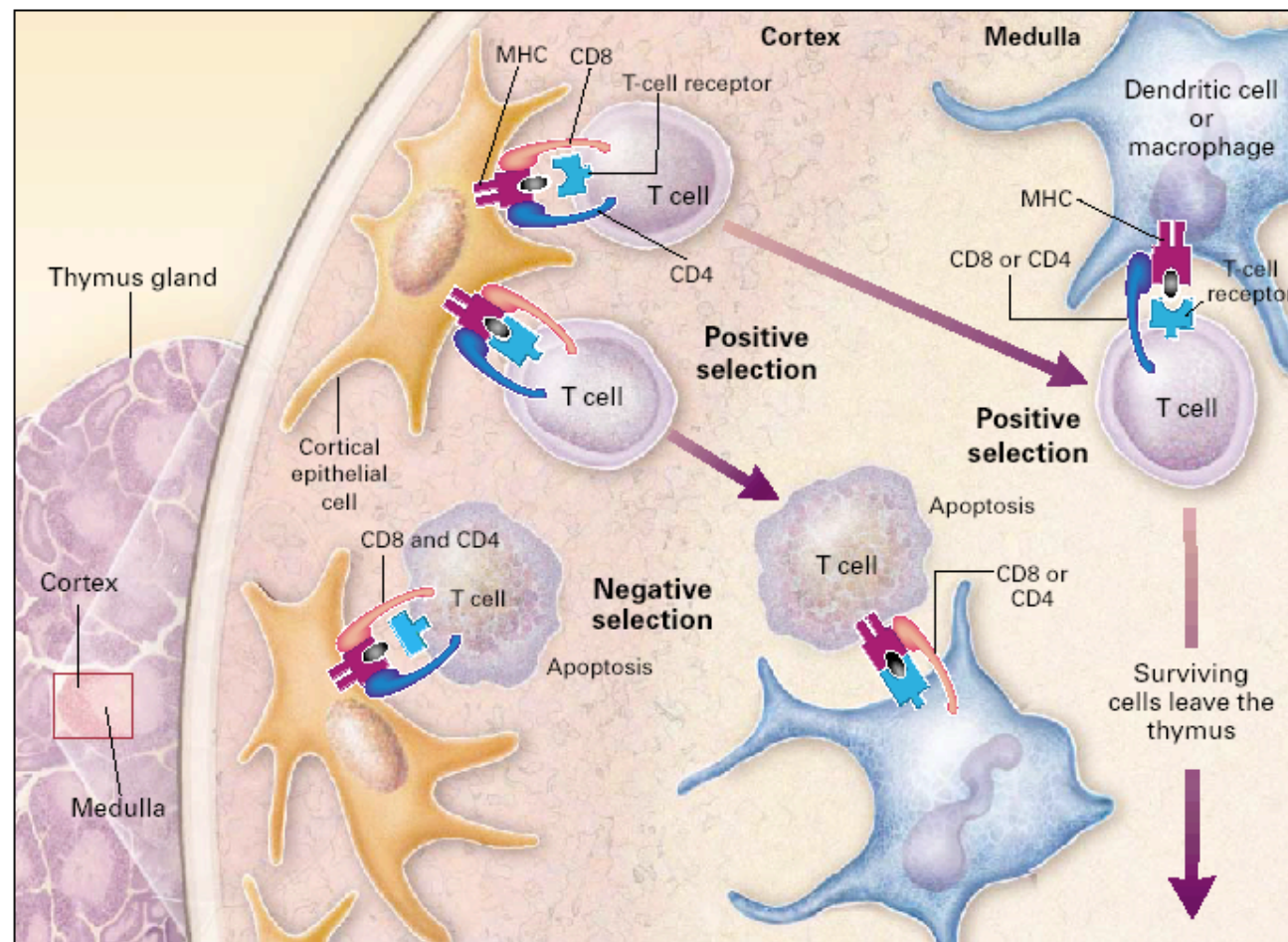
Notion de répertoire antigénique

1 cellule T → 1 récepteur à l'antigène, 10^{13-15} TcR différents

ex: TcR chaîne β :



Sélection positive et négative dans le thymus



Positive and Negative Selection in the Thymus.

T cells need to detect foreign antigens presented by self major-histocompatibility-complex (MHC) molecules. Part of the T-cell receptor recognizes the foreign peptide, and part of it recognizes the self MHC molecule. The random nature of T-cell-receptor gene rearrangements means that only a minority of T cells are capable of performing this task. Many of the immature CD4 and CD8 double-positive T cells are useless because their T-cell receptors do not recognize self MHC molecules at all. These T cells eventually undergo apoptosis. Cells whose T-cell receptors have various affinities for binding self MHC molecules (usually containing a self peptide) are positively selected on cortical epithelial cells. However, many of these cells are potentially harmful because their T-cell receptors have a high affinity for a complex of self peptide and a self MHC molecule (or even an MHC molecule alone). These autoimmune T cells are eliminated by the induction of apoptosis when they interact with dendritic cells and macrophages in the thymic medulla (negative selection). This leaves T cells with only a weak affinity for self MHC molecules. These cells form the pool of T cells that are exported from the thymus as single-positive (CD4 or CD8) cells. In the periphery they have the potential to recognize a complex of foreign peptide plus self MHC molecules and to become activated if the affinity of the interaction exceeds a certain threshold.

Anatomie du Thymus

Thymocytes
précoces DN

Thymocytes
corticaux DP

Thymocytes
médullaires SP

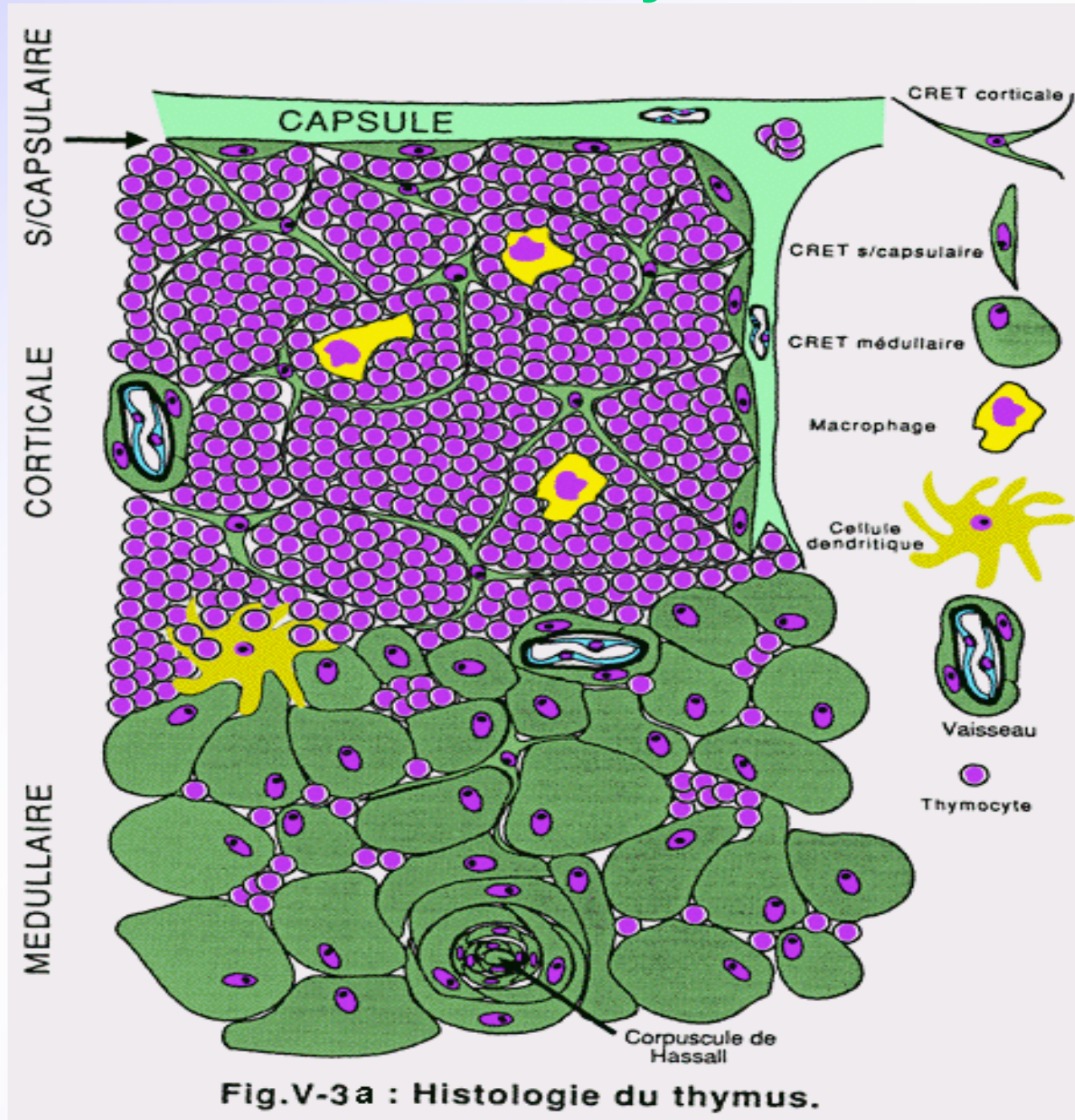
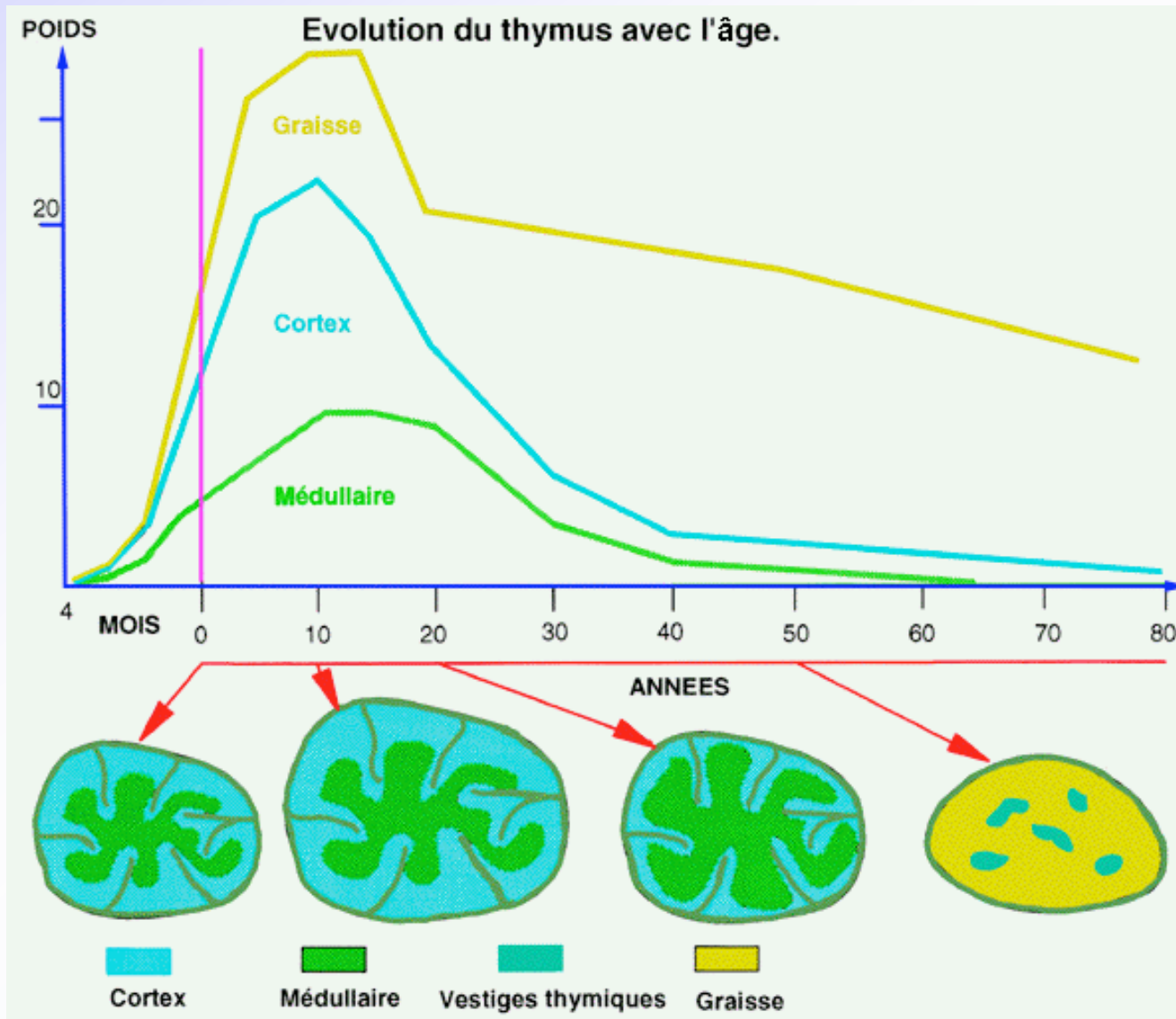


Fig.V-3a : Histologie du thymus.

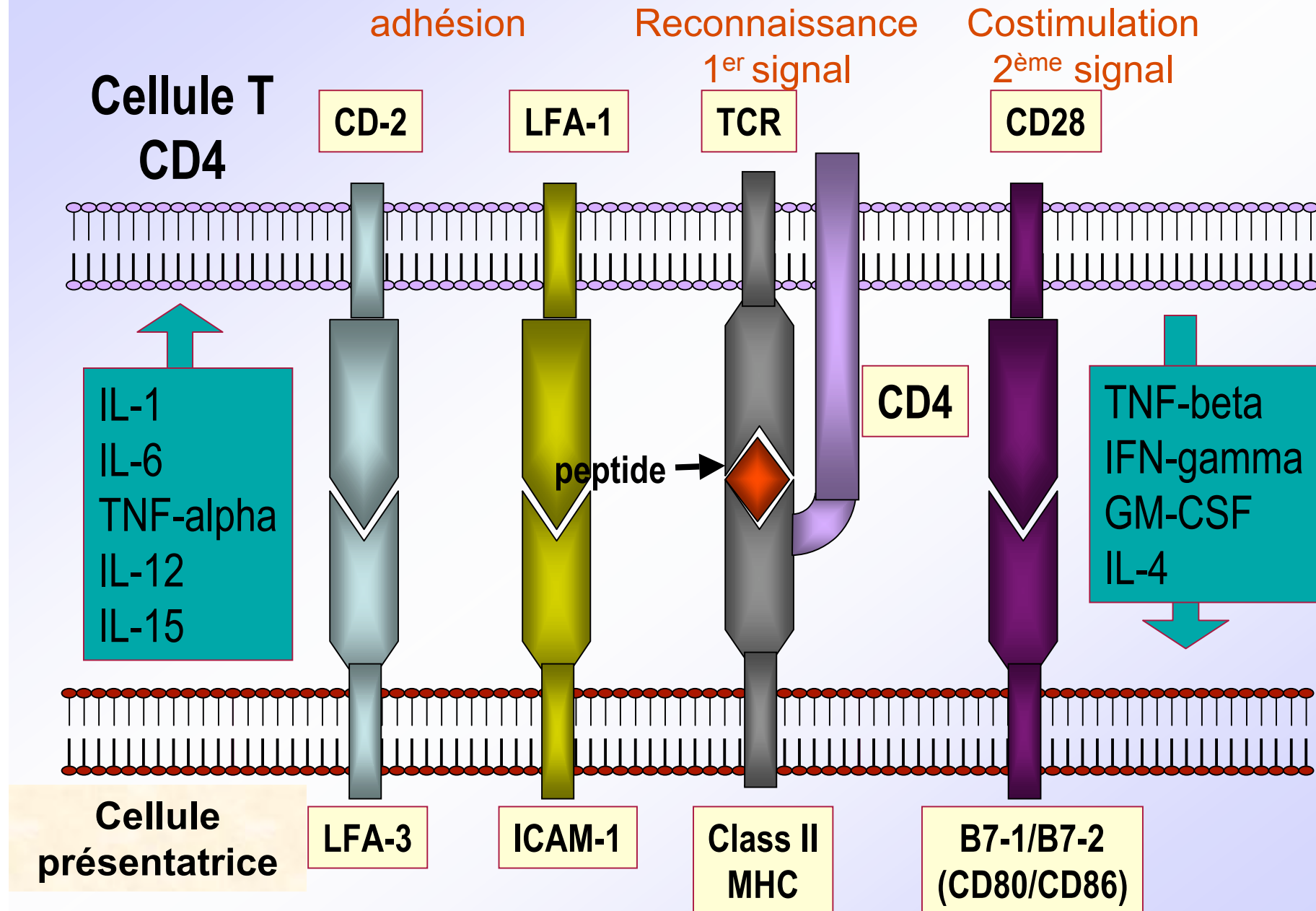
Evolution du Thymus avec l'âge



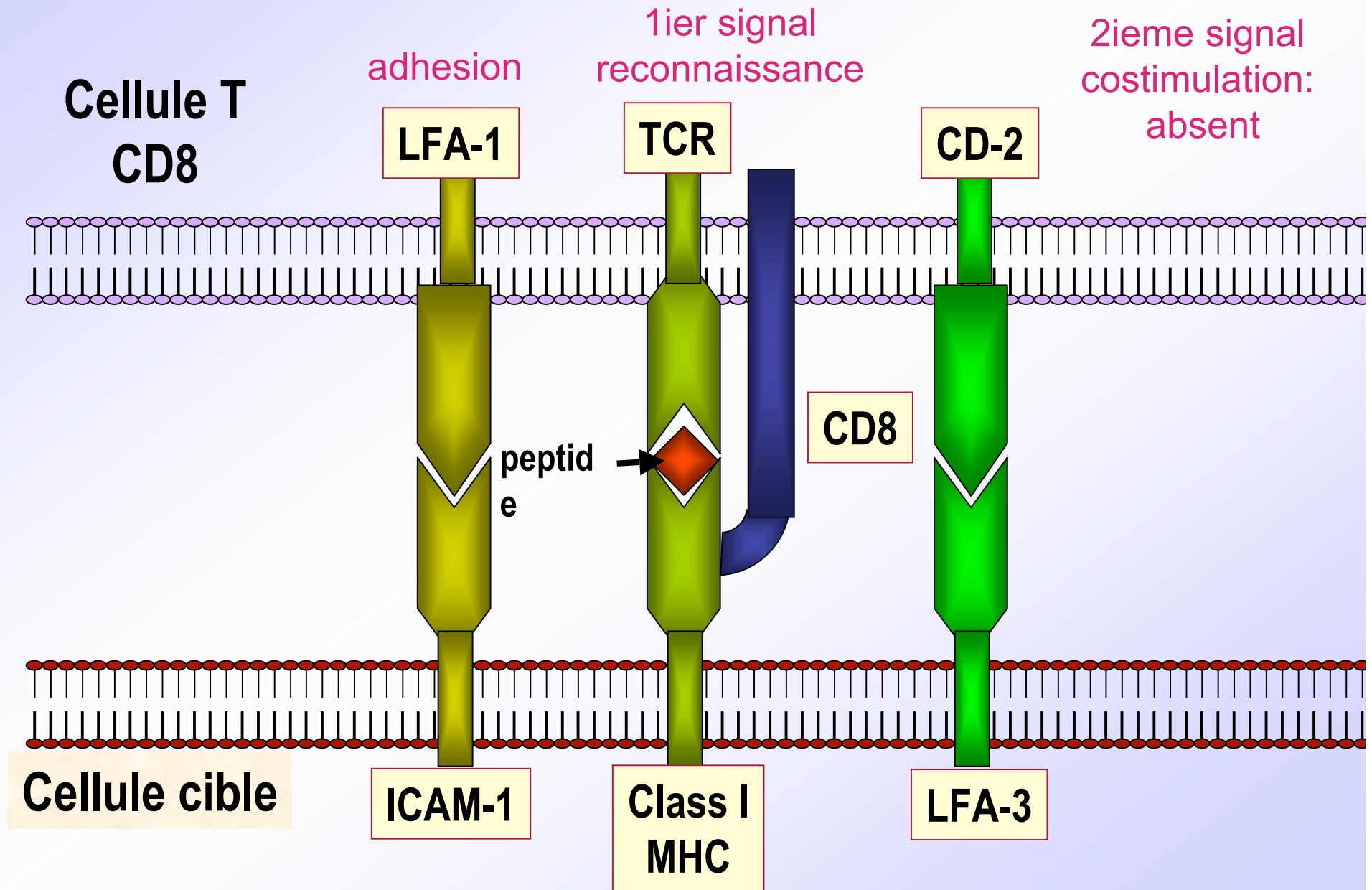
Marqueurs des cellules T

TCR	récepteur à l'antigène
CD2, CD5, CD7	marqueurs de lignée T
CD3	transduction du signal
CD4	liaison MHC CI II
CD8	liaison MHC CI I
CD28	co-activation / B7
CD40L	co-activation / CD40
IL2R	récepteur à l'IL2
LFA1, ICAM-1	molécules d'adhésion
CD45 RA / RO	marqueur de différenciation

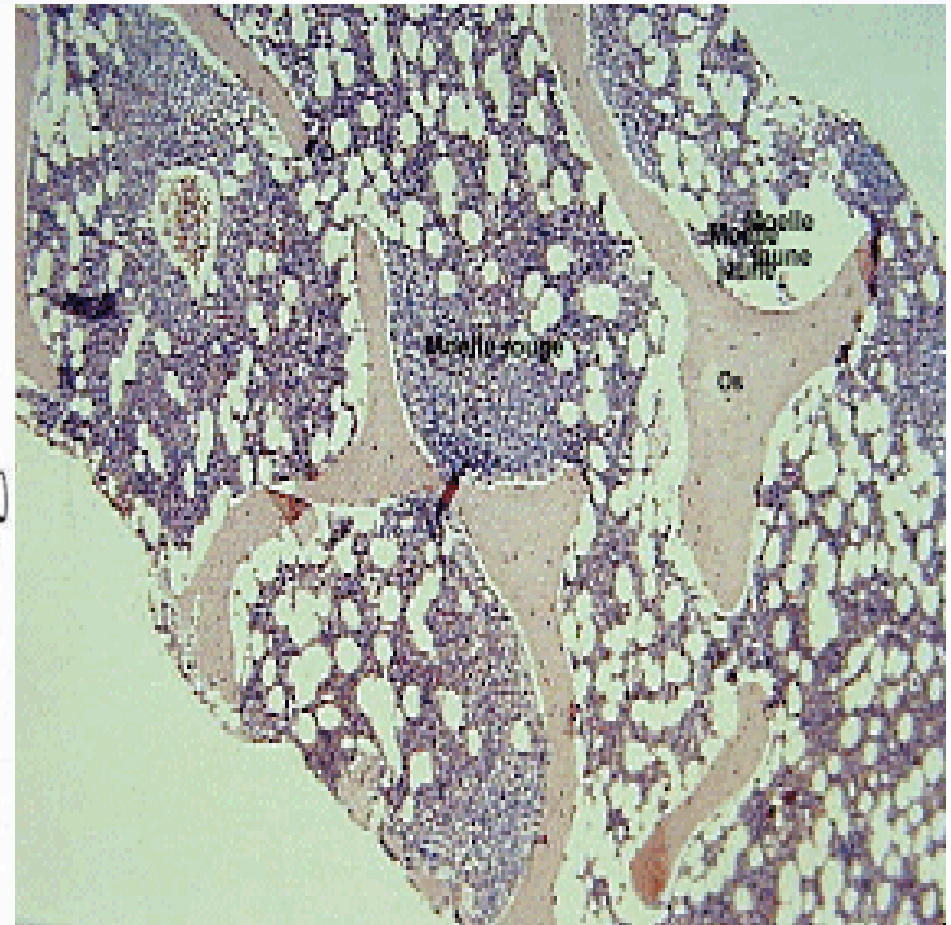
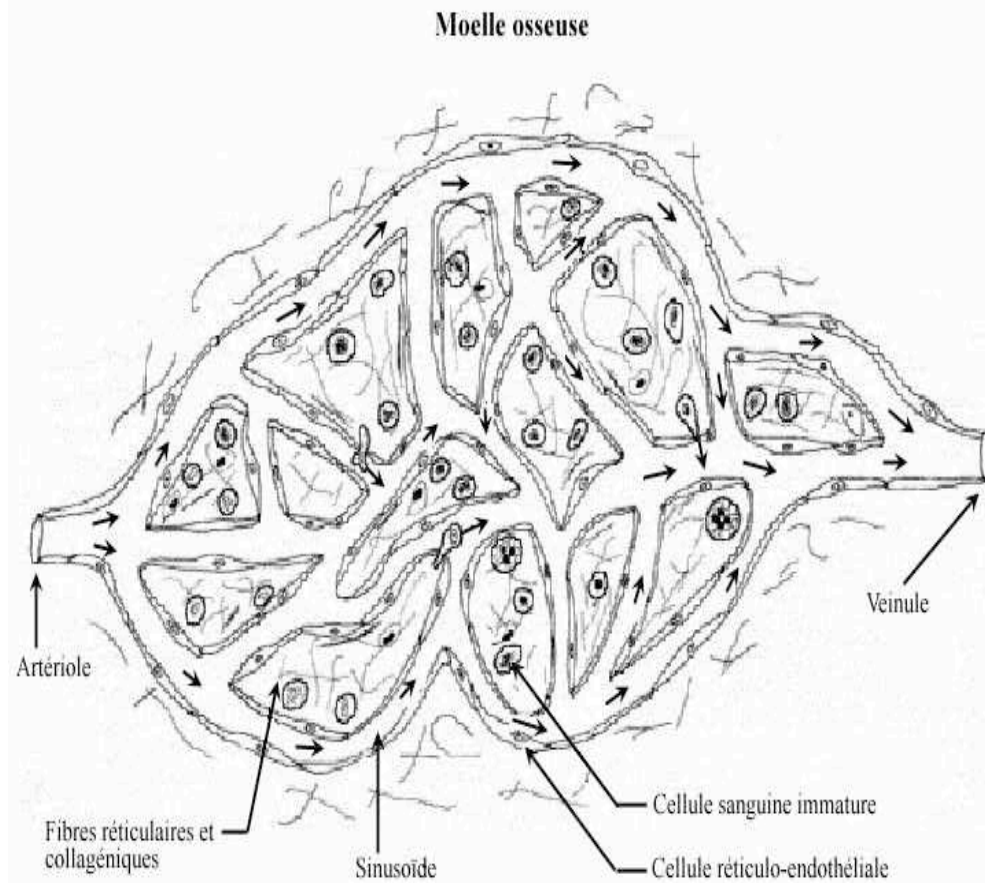
SYNAPSE IMMUNOLOGIQUE (1)



SYNAPSE IMMUNOLOGIQUE (2)



Anatomie de la moëlle osseuse



fonctions de la moëlle osseuse

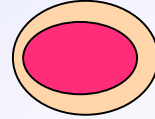
MO assure 3 fonctions:

- Maintien d 'un contingent de **cellules souches**
- **Maturation et différenciation** des prolymphocytes B en lymphocytes B matures aptes à coloniser les organes lymphoïdes secondaires
- L '**hébergement des B activés** par l 'antigène en provenance des organes secondaires et qui se transforment en plasmocytes sécréteurs d 'anticorps

Maturation des lymphocytes B dans la MO

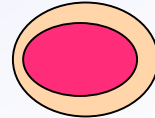
Moelle Osseuse

CD34



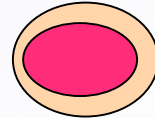
CSL

prolifération



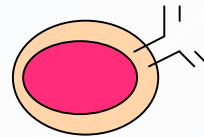
Pro-B

CD19- CD20



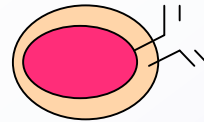
Pré-B I

Pseudo BCR
uH + psylambda



Pré-B II

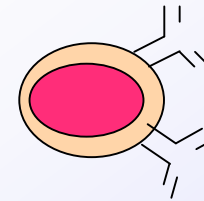
BCR H + L
IgM



B naïfs

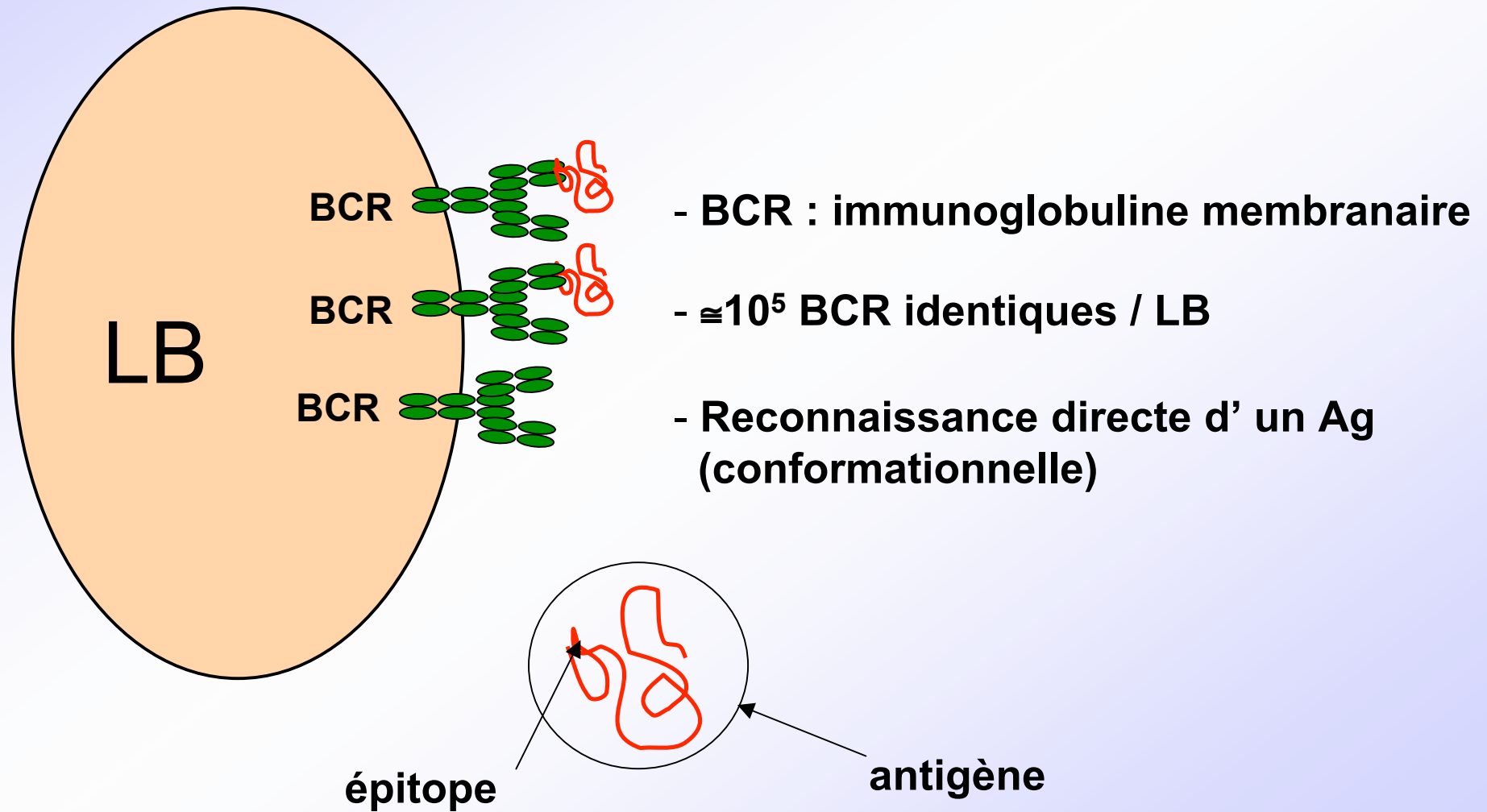
Périphérie

IgM
IgD

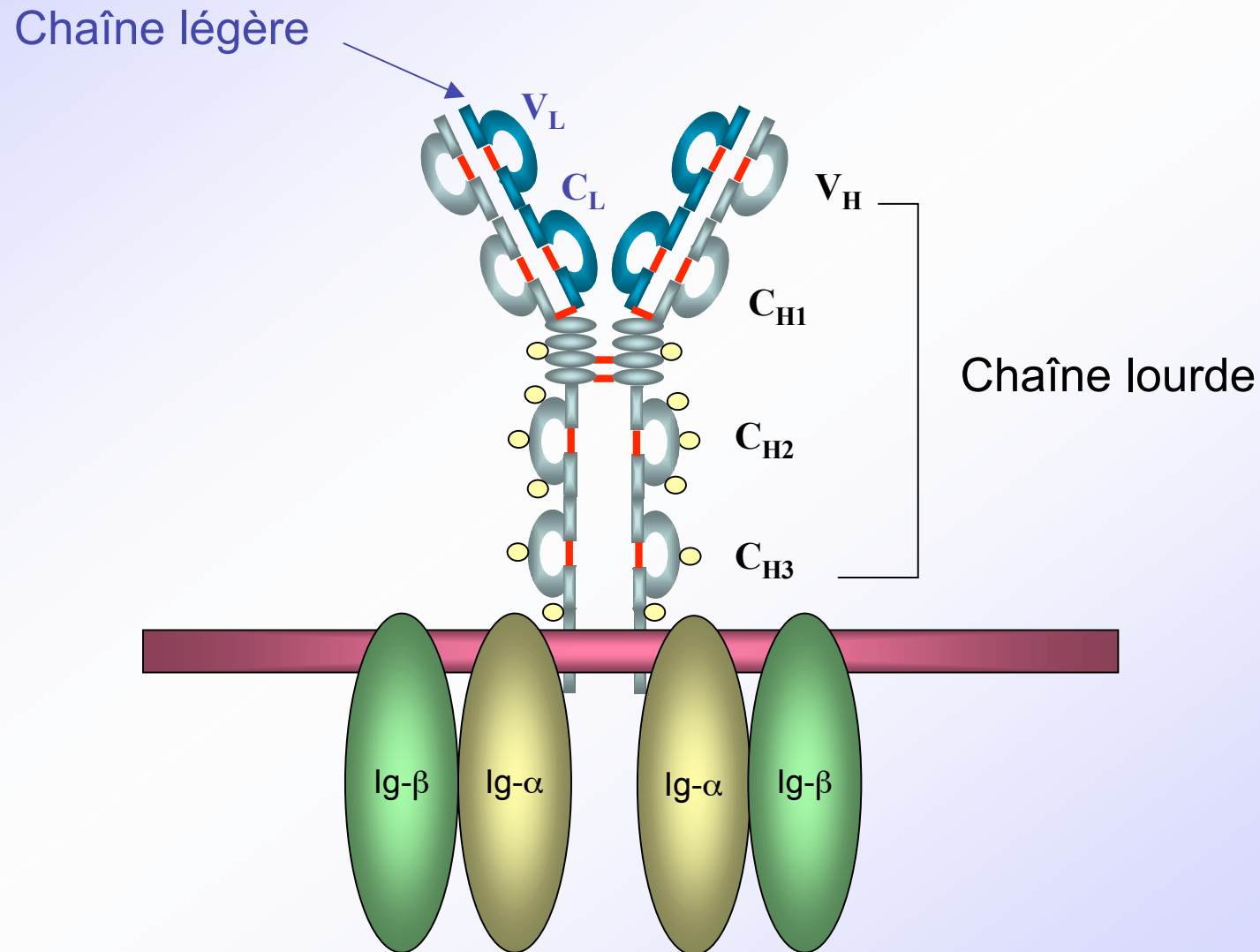


B matures

LES LYMPHOCYTES B



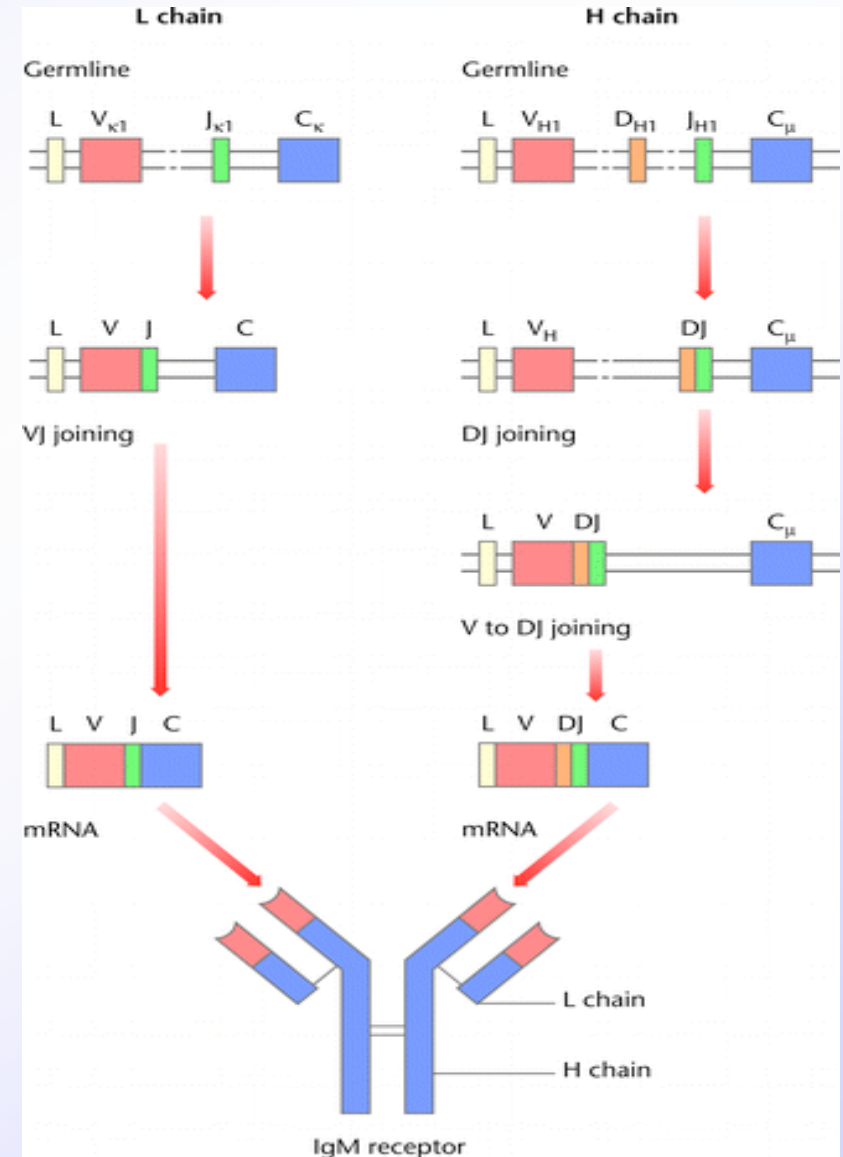
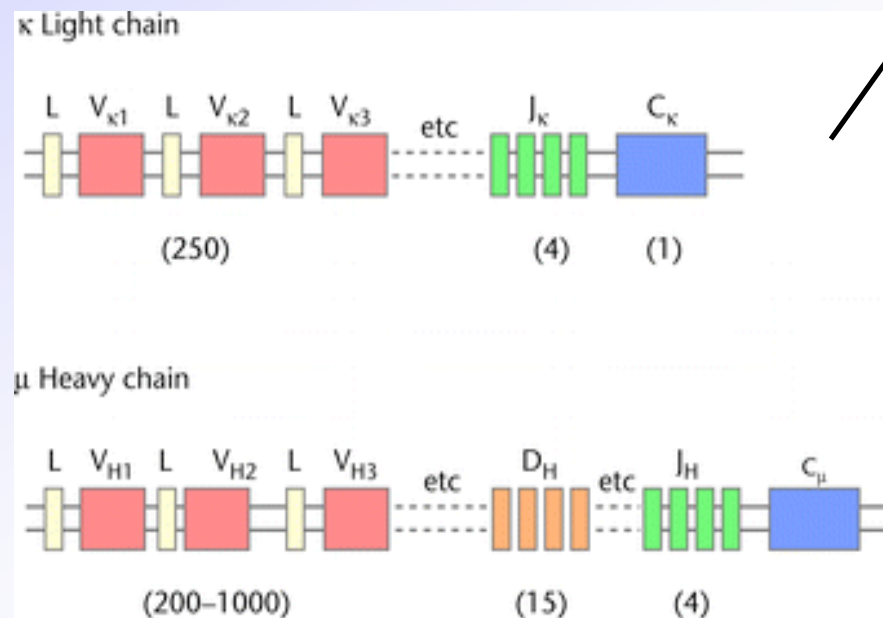
LYMPHOCYTES B – Structure du BCR



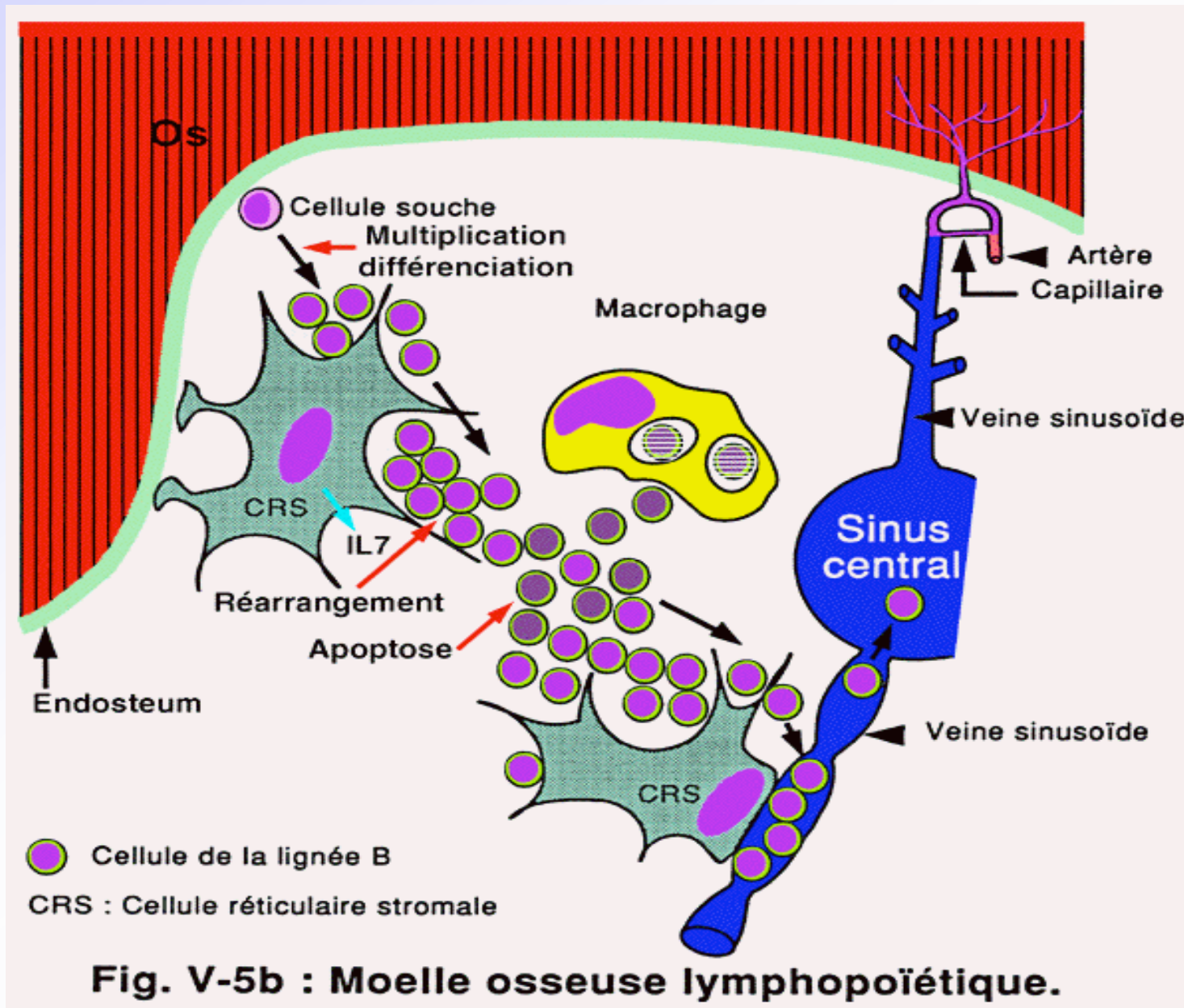
Notion de répertoire antigénique

1 cellule B \rightarrow 1 récepteur à l'antigène, $>10^{13-15}$ BcR différents

Configuration germinale de l'ADN



Maturation dans la MO des lymphocytes B



Marqueurs des cellules B

BCR

récepteur à l'antigène

CD19, CD20

marqueurs de lignée B

Ig α (CD79a)/ Ig β (CD79b)

transduction du signal

CD21

Récepteur c3d/EBV, transduction

CD22, CD72

molécules d'adhésion

CD40

co-activation / CD40L

CD80/86

co-activation / CD28

Les cellules NK

- Population hétérogène de cellules lymphoïdes, **Cytotoxicité +++**
- répartition tissulaire:
 - représentent 10-15 % des lymphocytes du sang périphérique (Grands lymphocytes granuleux avec granules lytiques: perforine, granzymes)
 - foie, rate +++
 - tissus inflammés
- Différenciation au contact du micro-environnement médullaire
Progéniteur commun avec les LT, expriment certains marqueurs des T (CD2 par ex)

Les cellules NK

Cellules de l'immunité innée : Pas de récepteur spécifique de l'Ag

fonctions

- élimination des cellules infectées (bactéries, virus, parasites)(phase précoce de l'infection)
- surveillance des tumeurs (diminution de l'expression HLA-1 dans les tumeurs pour échapper aux LT cytotoxiques)
- participation à la régulation d'une réponse spécifique: par la synthèse de nombreuses cytokines (IFN- γ , TNF- α)

NK activées par:

- des cellules allogéniques ou xénogéniques (CMH différent)
- des cellules du soi avec un défaut d'expression du CMH classe 1 (HLA-E protège les cellules normales de la lyse par NK)
- les cytokines produites lors d'une réaction inflammatoire

NK, à l'interface de l'immunité innée et de l'immunité adaptative

Marqueurs des cellules NK

KIR, LIR, CD94

NK récepteurs / CMH CI I

NKp44, 46, 30, NKG2D

Récepteurs de cytotoxicité naturelle

CD16

Récepteur Fc IgG

LFA-1, CD18/11, CD56

molécules d'adhésion

CD2

co-activation

RIL2, RIL12, RIL15 ...

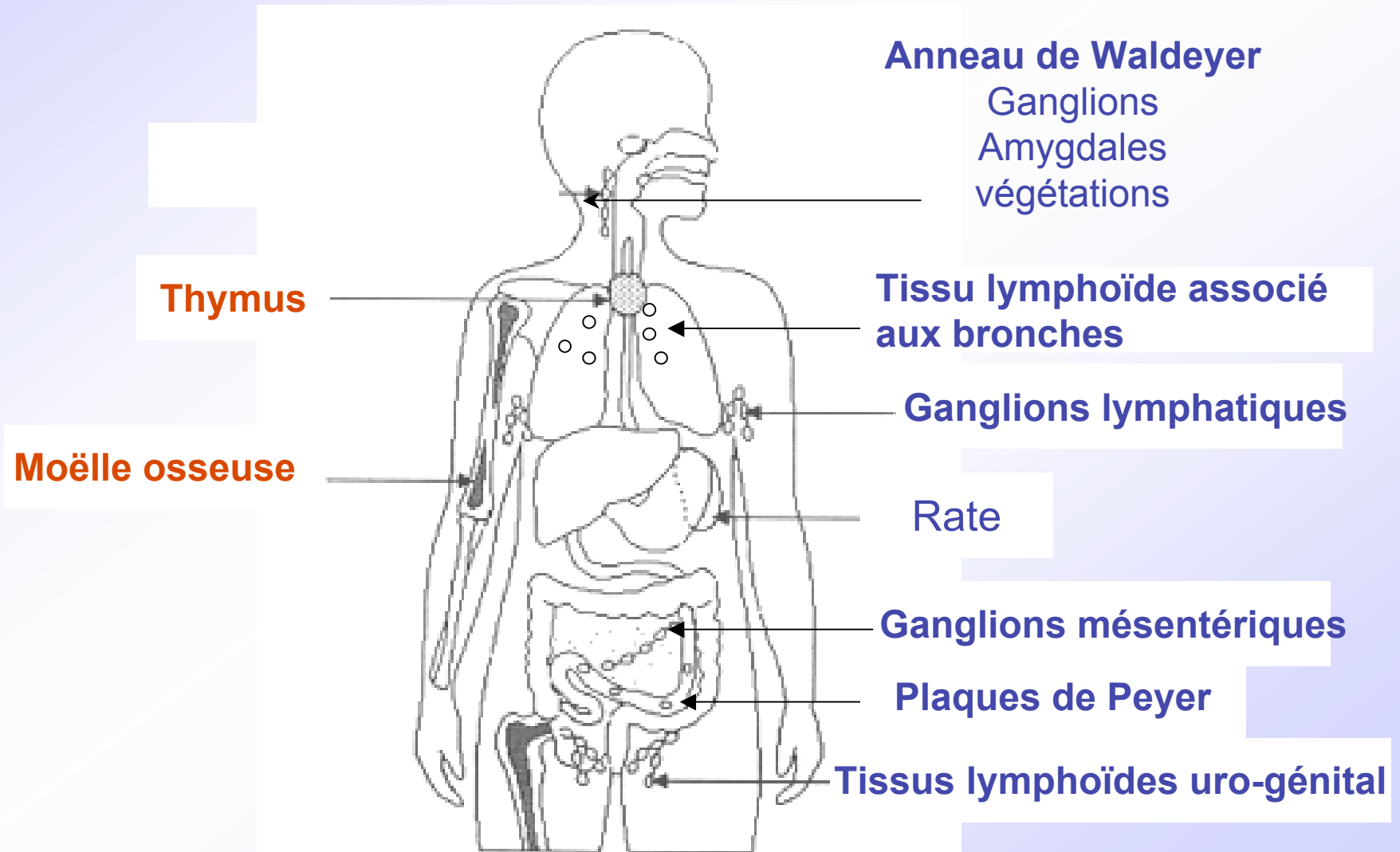
récepteurs de cytokines

→ CD3-, CD56+ et/ ou CD16+

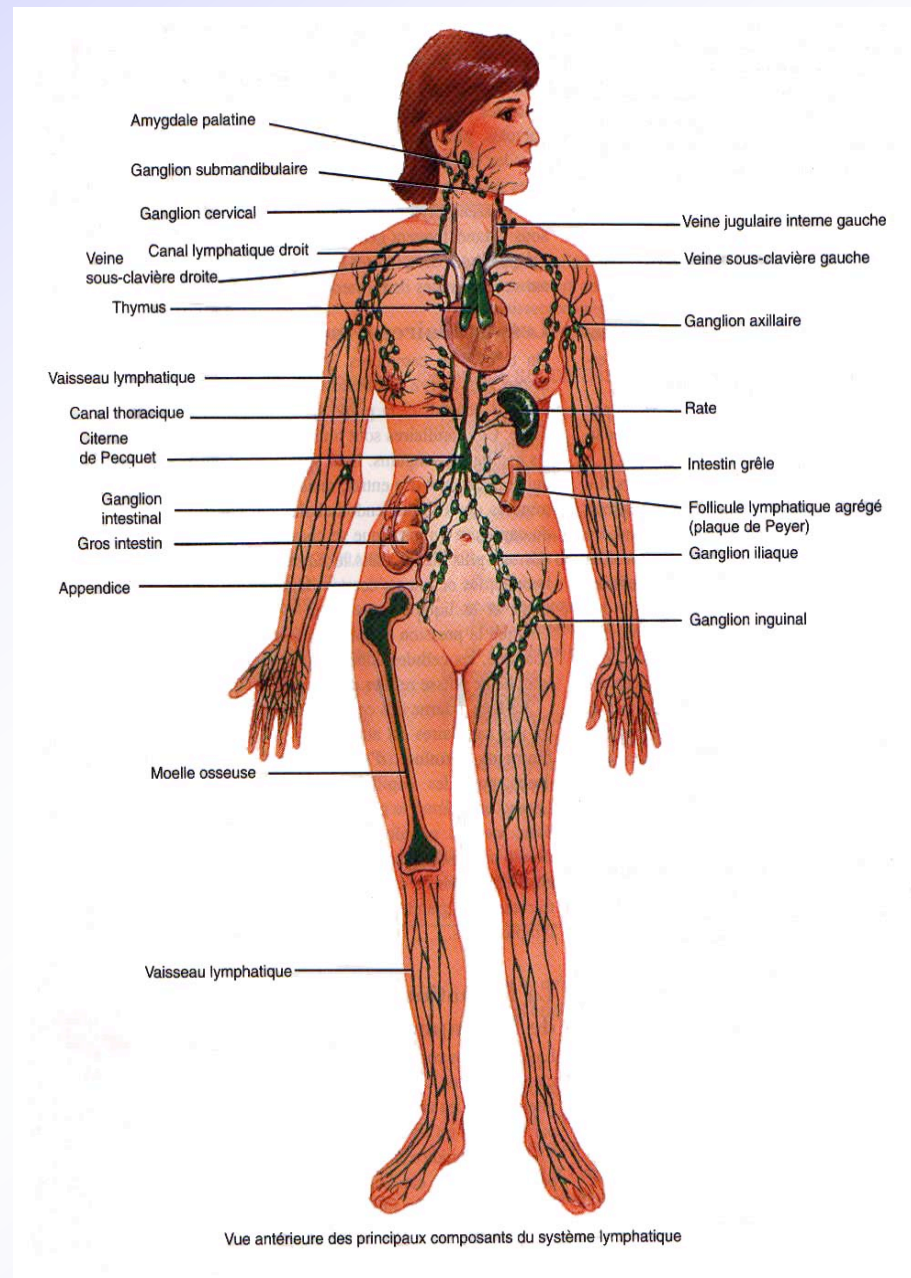
Organes et tissus lymphoïdes

Organes lymphoïdes primaires

Organes lymphoïdes secondaires



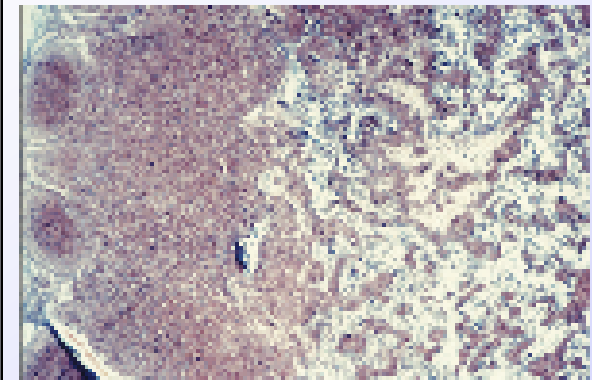
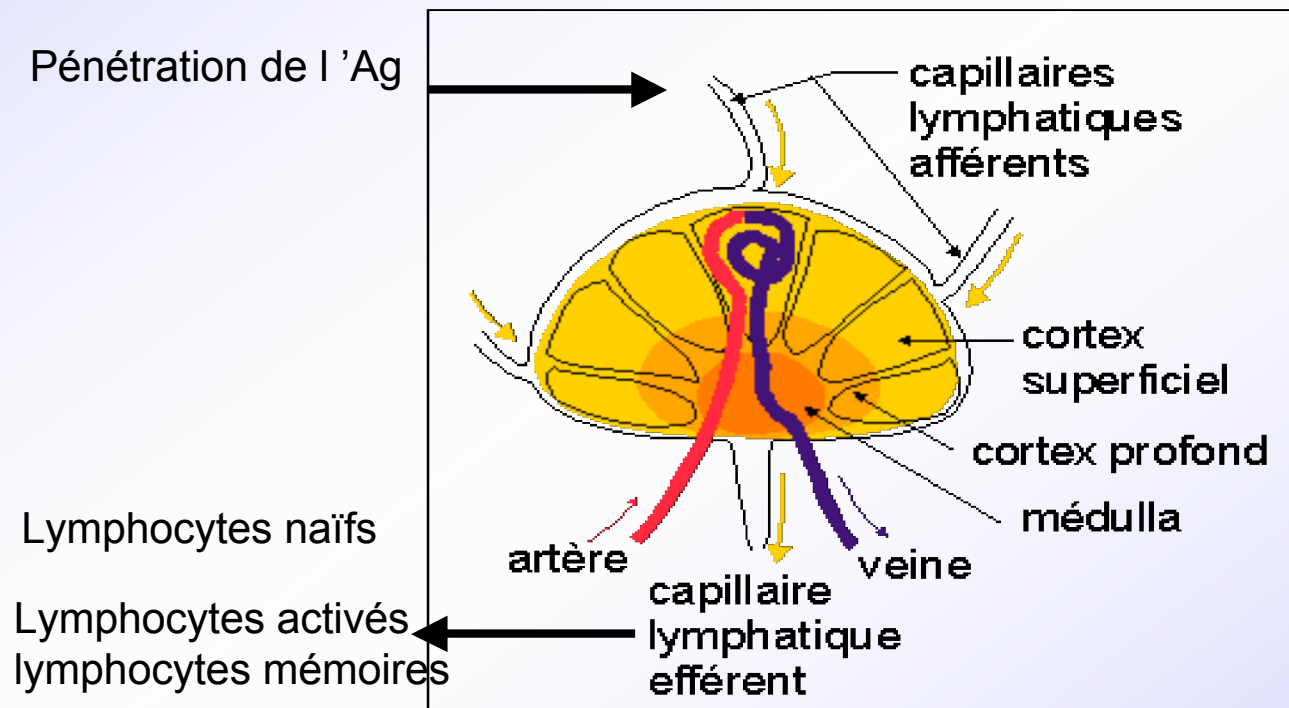
Le réseau lymphatique



Les ganglions lymphatiques

- environ 1000 dans tout l'organisme : surveillance de nombreux territoires
- petit organe réniforme, de 1 à 15 mm de diamètre
- disposés sur le trajet des voies lymphatiques

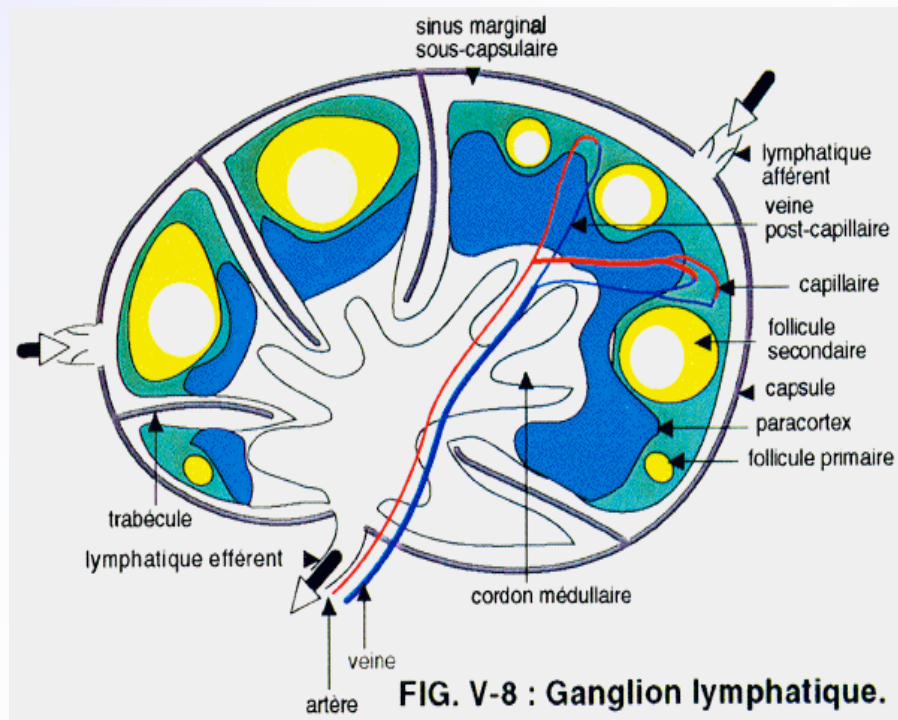
La circulation lymphatique s'effectue dans un seul sens :
tissus \Rightarrow ganglions \Rightarrow sang






Vue générale

Structure d'un ganglion lymphatique

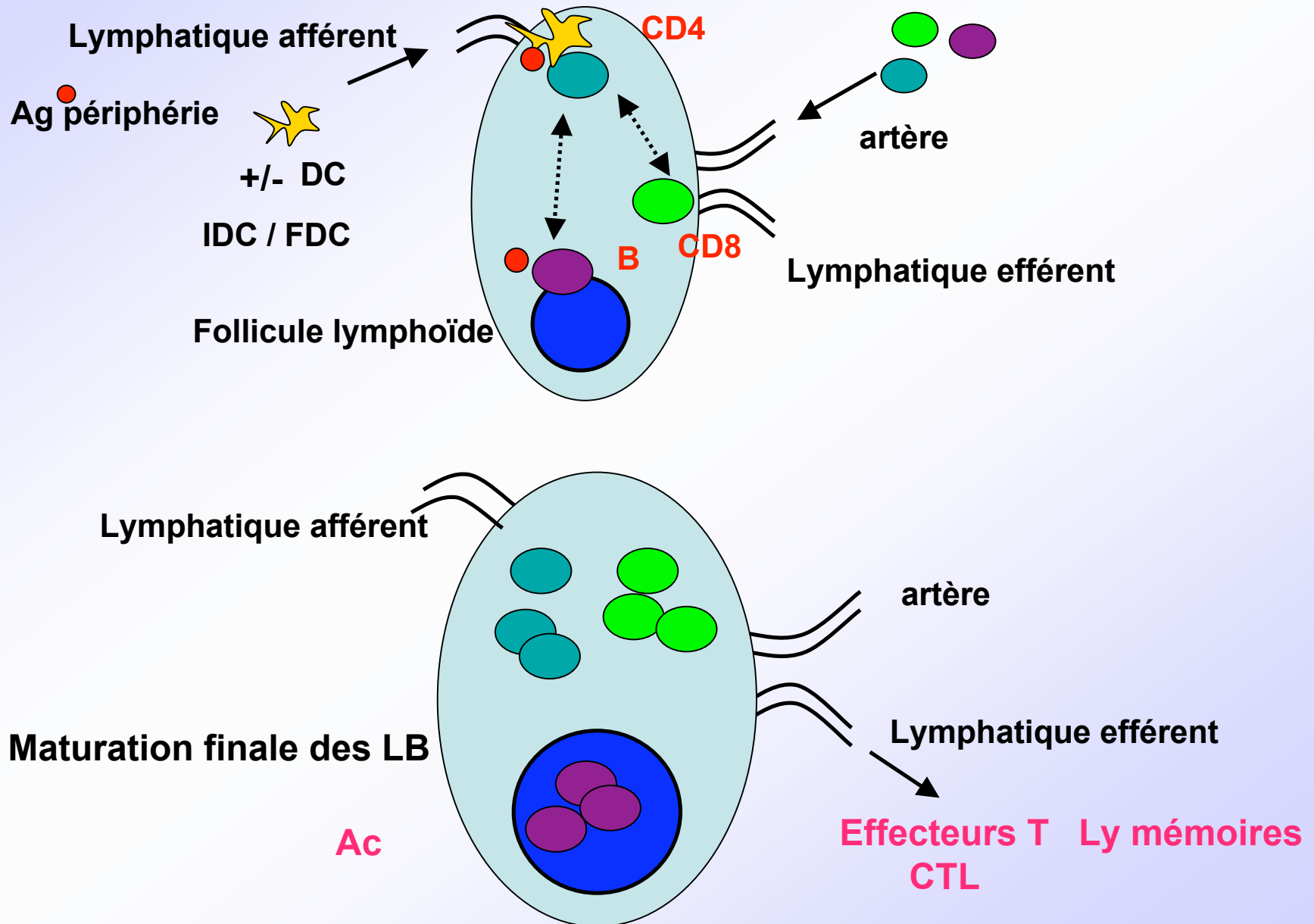
- zone **CORTICALE** : amas ovalaires de lymphocytes B
 - avant stimulation antigénique : follicule **PRIMAIRE**
 - 3 à 5 j après avoir rencontré l'Ag : follicule **SECONDAIRE**
- zone **PARACORTICALE** : aire thymo-dépendante riche en lymphocytes T et en CPA
- zone **MEDULLAIRE** : zone mixte comprenant des lymphocytes B et T, plasmocytes et macrophages



-  Zone corticale
-  Zone paracorticale
-  Zone médullaire

La Réponse Immune Spécifique

Schéma général / ganglion

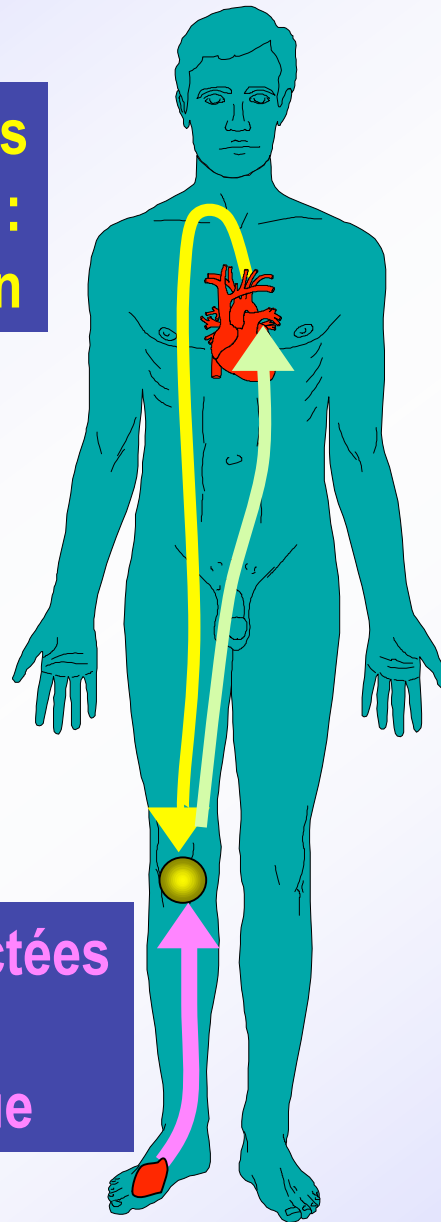


Recirculation des lymphocytes

**Lymphocytes naïfs dans
la circulation sanguine :
arrivée dans le ganglion**

**Chimiokines/ R de chimiokines
+++**

**Les antigènes des aires infectées
vont dans les ganglions
via le système lymphatique**



**Retour des lymphocytes
dans le sang par
le canal thoracique**

La rate

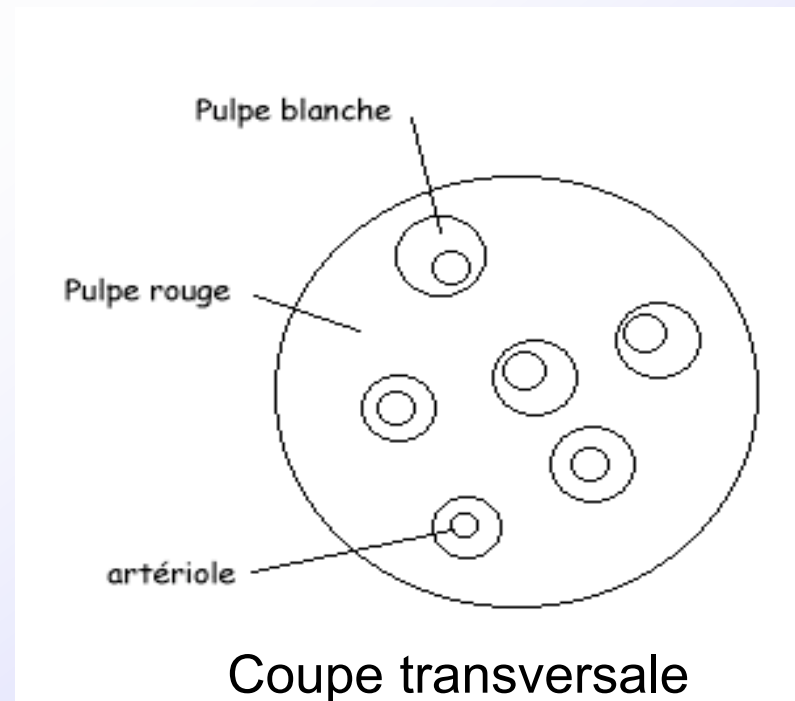
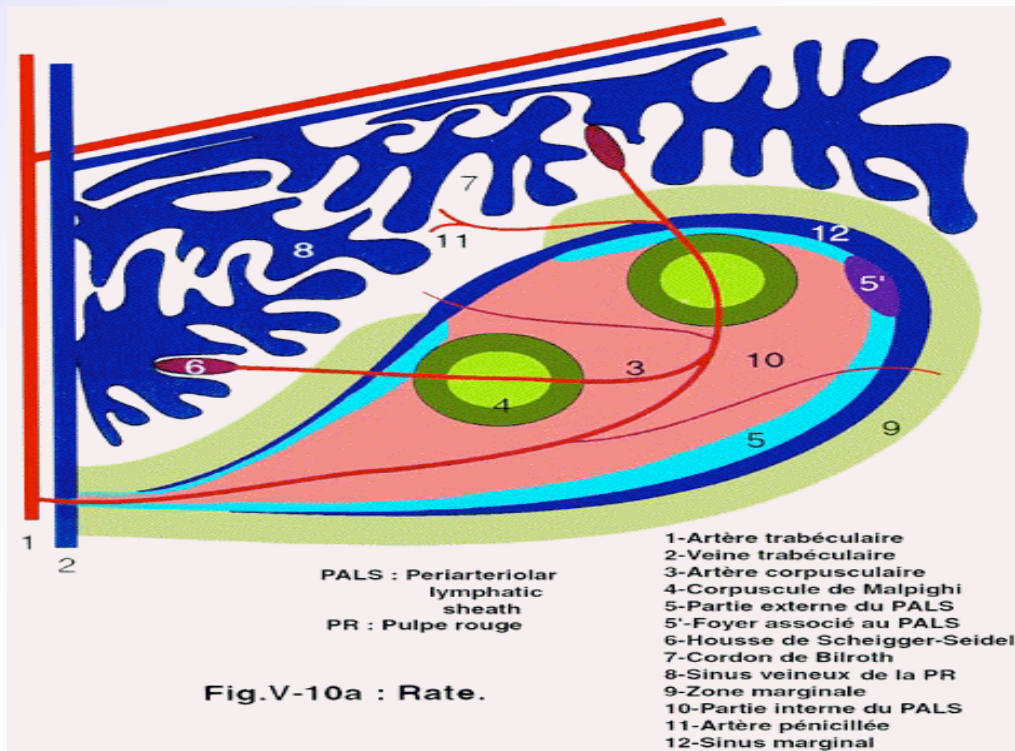
- forme ovale, organe lymphoïde le plus volumineux (≈ 12 cm de L)
- située dans l'hypochondre gauche
- branchée sur la circulation sanguine :
 - rôle +++ épuration du sang** (100 à 200 ml/mn) : capture des Ag injectés dans la circulation sanguine
 - organe PHAGOCYTAIRE principal** : macrophages +++
- ex : patients splénectomisés : susceptibilité particulière aux infections bactériennes à germes capsulés
- pas de drainage par une circulation lymphatique

Structure de la rate : pulpe blanche et pulpe rouge

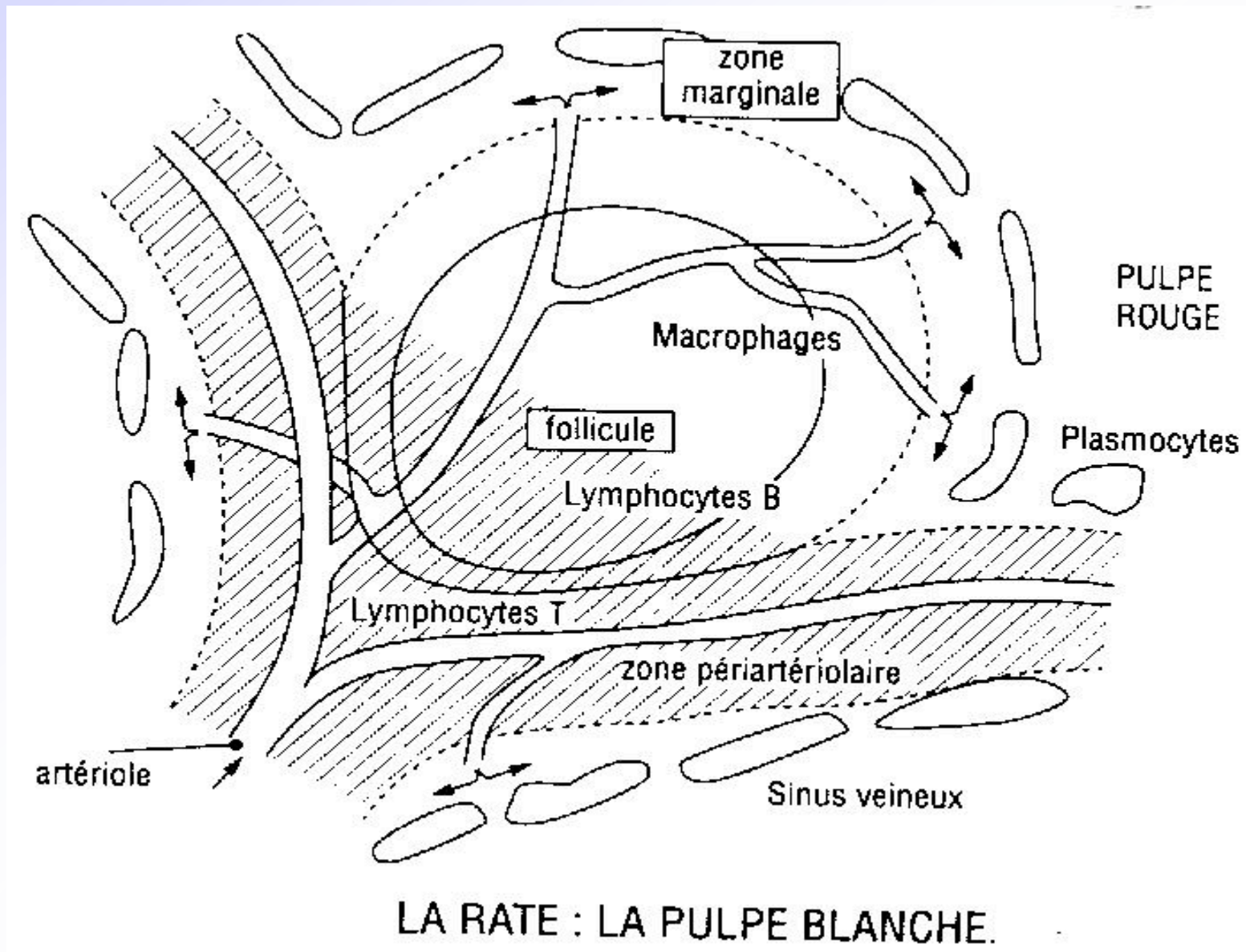
- la pulpe rouge : occupe le plus grand espace, réseau de sinus veineux et de cordons cellulaires (cordons de Billroth) ≈ **FILTRE A ANTIGENES**

Destruction des hématies

- la pulpe blanche : tissus lymphoïdes sous forme de manchons autour des rameaux artériels, entourés de la zone marginale ≈ **LIEU DE LA REPONSE IMMUNITAIRE**

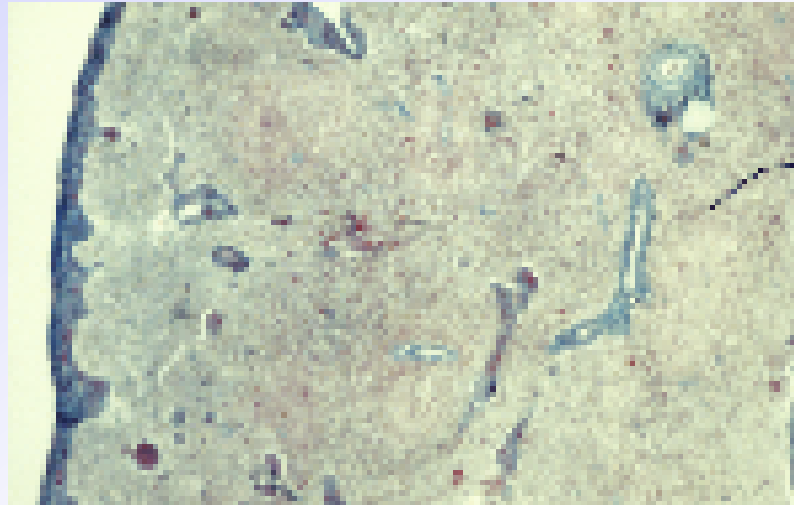


Structure de la rate : pulpe blanche



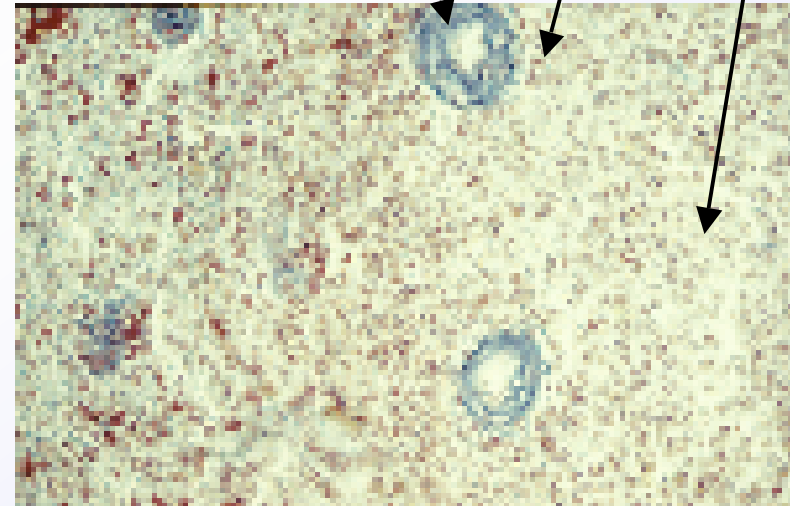
Structure de la rate

Capsule fibreuse



Vue générale

Zone T
artériole
Zone B



Pulpe rouge / pulpe blanche

Tissu lymphoïde annexé aux muqueuses : MALT (Mucosal Associated Lymphoid Tissue)

- assure la protection de **plus de 400 m² de muqueuses** (respiratoire, digestive, urogénitale, oculaire...)
- comporte du **tissu lymphoïde diffus** (qui infiltre toutes les muqueuses) et **des structures individualisées** (plaque de Peyer, appendice, amygdales)
- **prépondérance de la réponse humorale avec IgA sécrétoires +++** (capables de traverser les muqueuses et donc d'en assurer leur protection) fonction importante dans les **réactions immunitaires locales**
- **développement tardif** système lié à l'environnement et capable de s'adapter en permanence

Tissu lymphoïde annexé aux muqueuses : MALT (Mucosal Associated Lymphoïd Tissue)

- on peut individualiser différents systèmes:

- nasopharynx:

NALT (Nasopharyns Associated Lymphoïd Tissue)

- Voies aériennes supérieures :

BALT (Bronchus Associated Lymphoïd Tissue)

- Tube digestif :

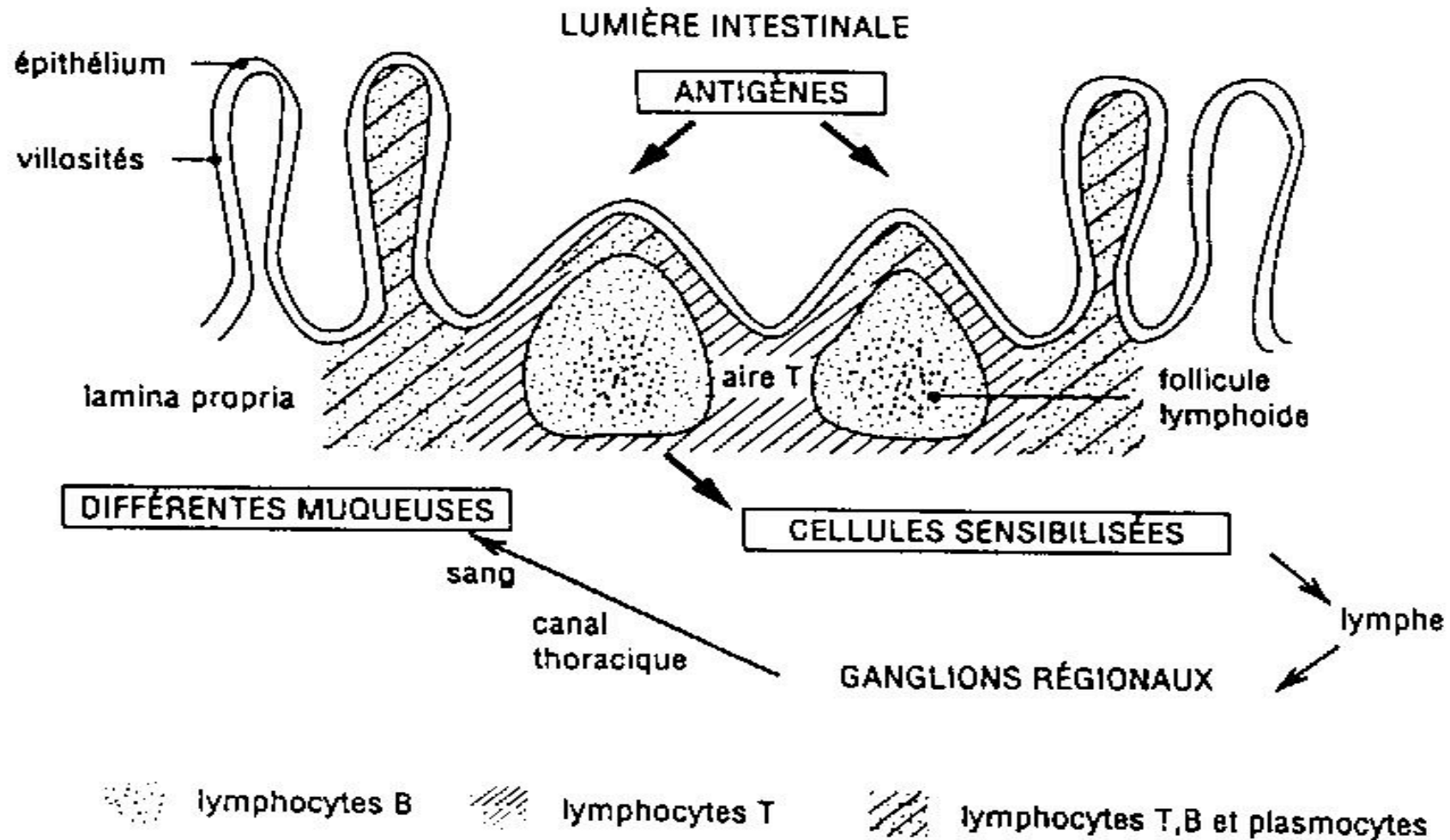
GALT (Gut Associated Lymphoïd Tissue) :

contient à lui seul plus de cellules immunitaires que le reste de l'organisme

- glande mammaire: synthétisent les IgA sécrétoires du lait maternel pour la protection du tube digestif du nouveau-né

Système lymphoïde du tube digestif – GALT

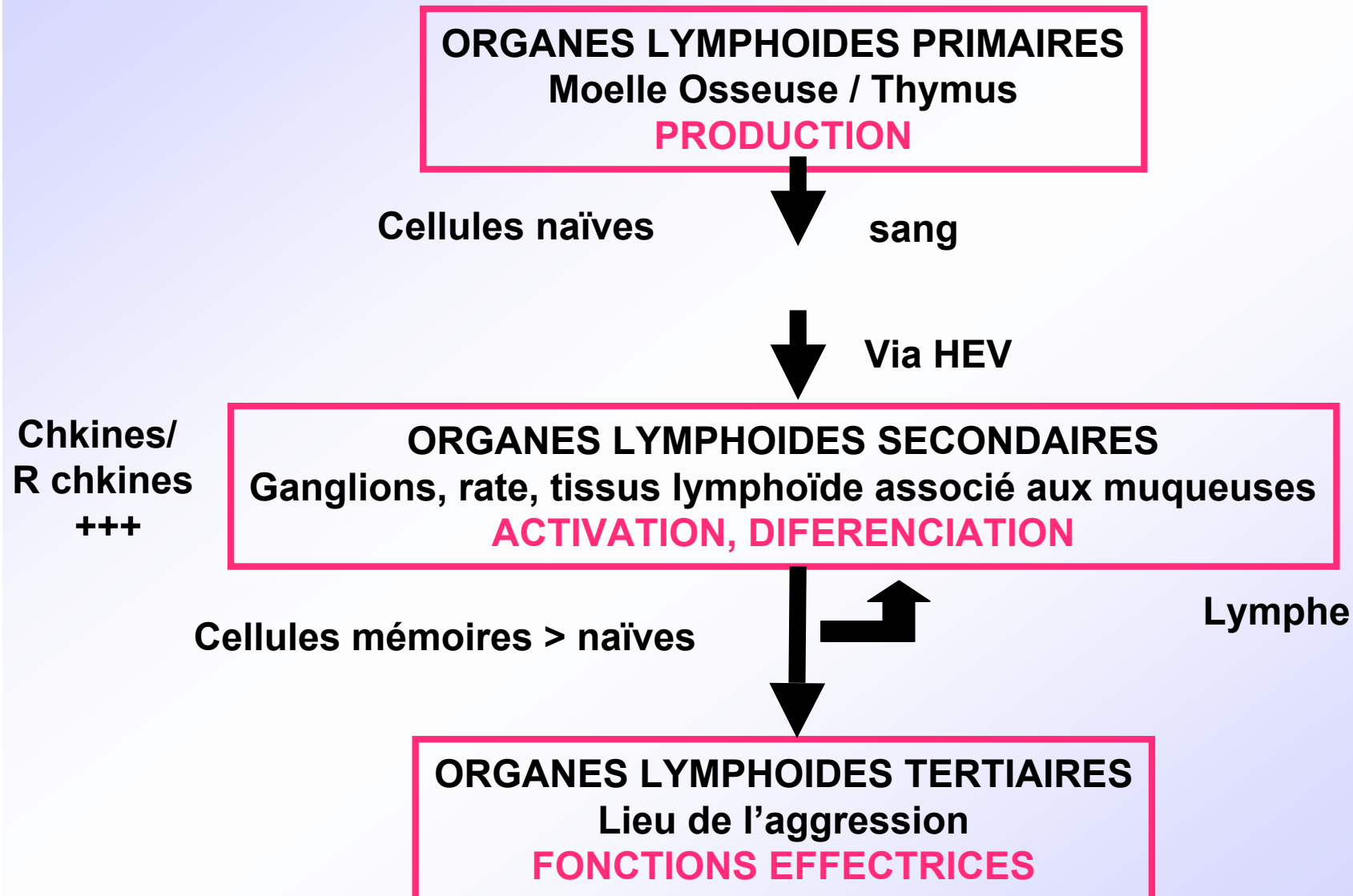
Plaques de Peyer



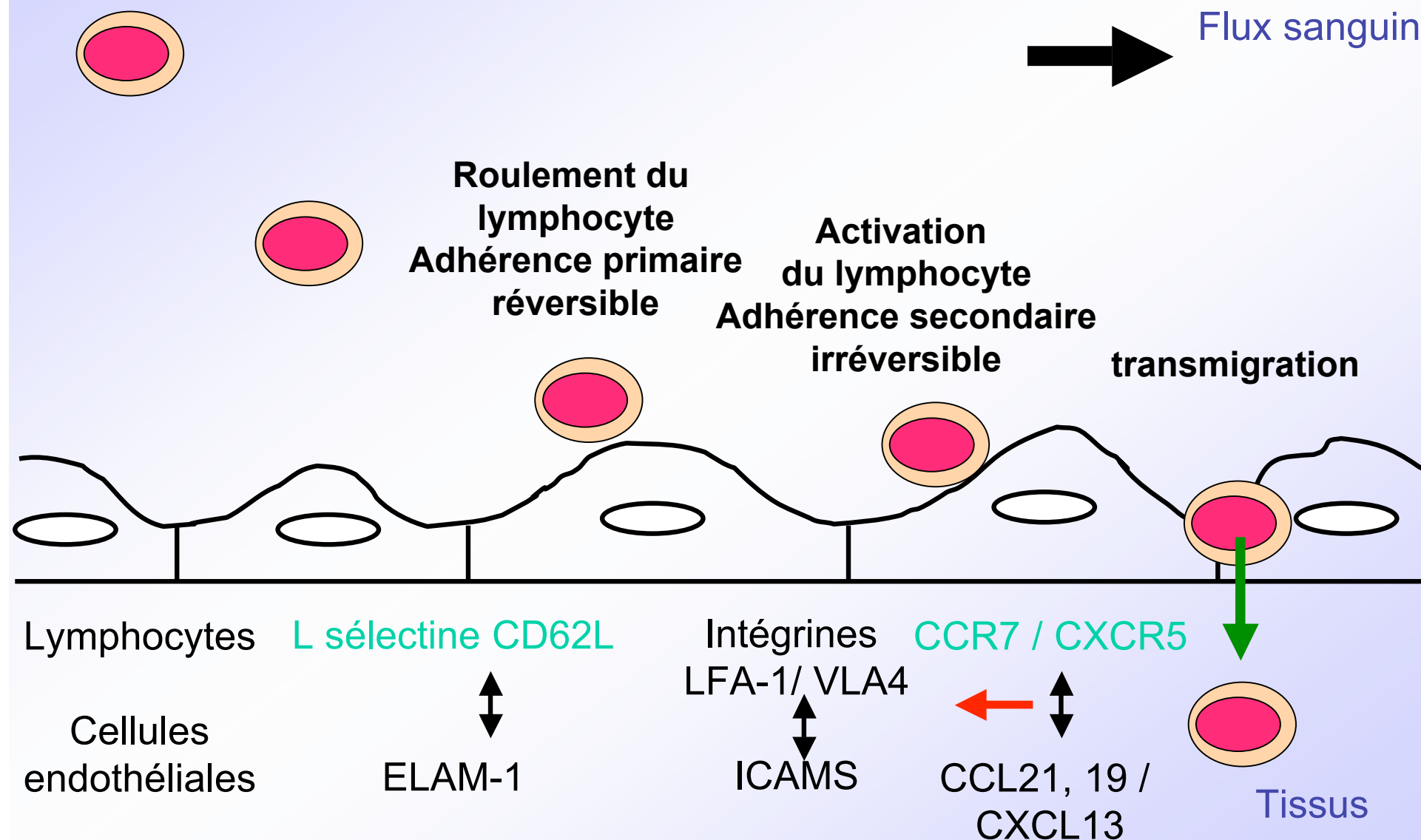
Répartition tissulaire des populations lymphocytaires

	Lymphocytes T	Lymphocytes B	Lymphocytes NK
Sang périphérique	70-80 %	10-15 %	10-15 %
Moelle osseuse	5-10 %	80-90 %	5-10 %
Thymus	99 %	<1 %	<1%
Ganglions	70-80 %	20-30 %	<1 %
Rate	30-40 %	50-60 %	1-5 %

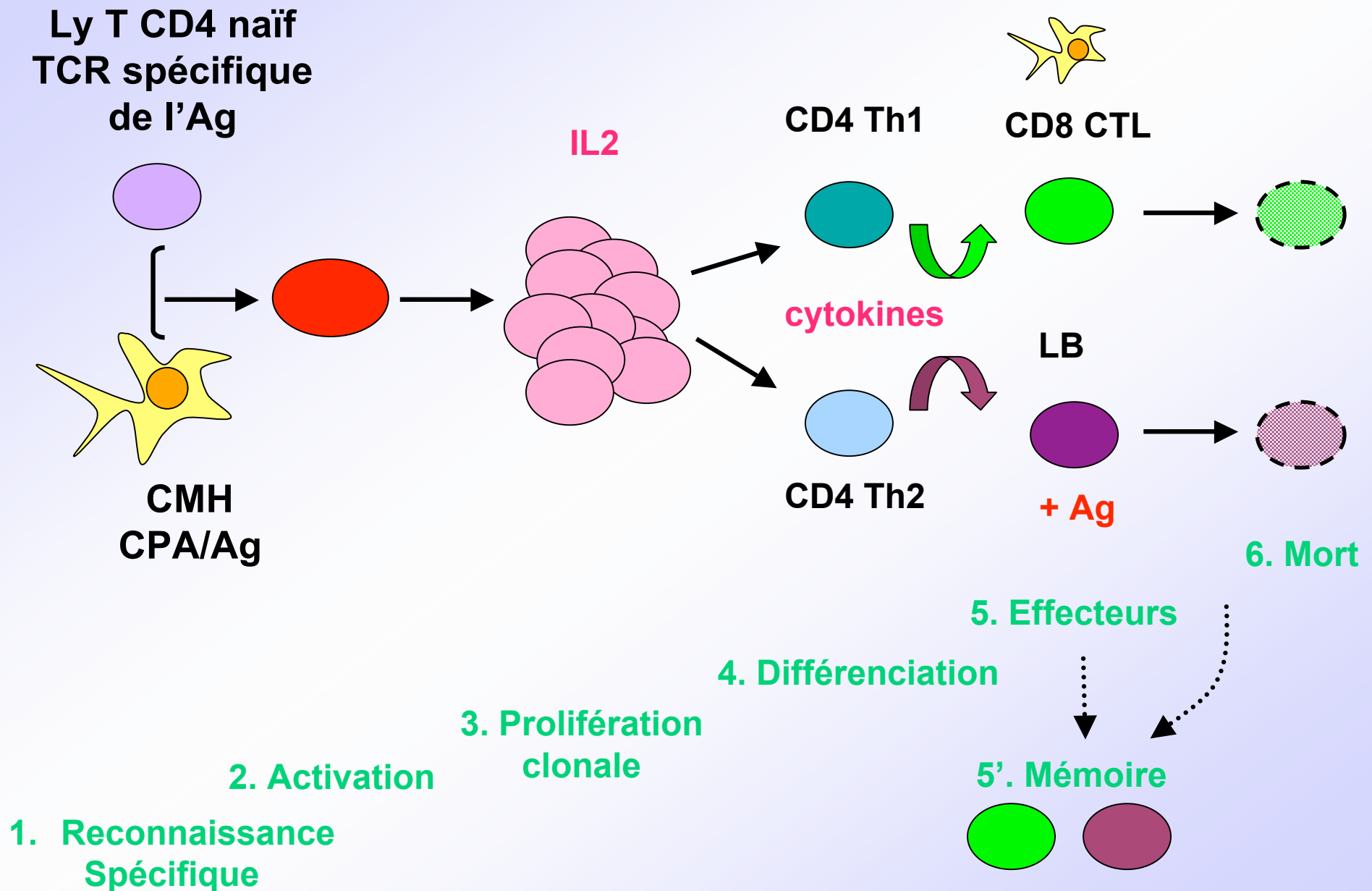
Circulation des Lymphocytes



Passage trans-endothélial des Lymphocytes



Etapes de la réponse immune Spécifique



Les lymphocytes : caractérisation dans le sang périphérique

Morphologie :

- Haut rapport nucléo-cytoplasmique, noyau à chromatine mottée
- 7 – 12 micromètres
- cytoplasme petit, basophile, quelques (peu) granulations azurophiles



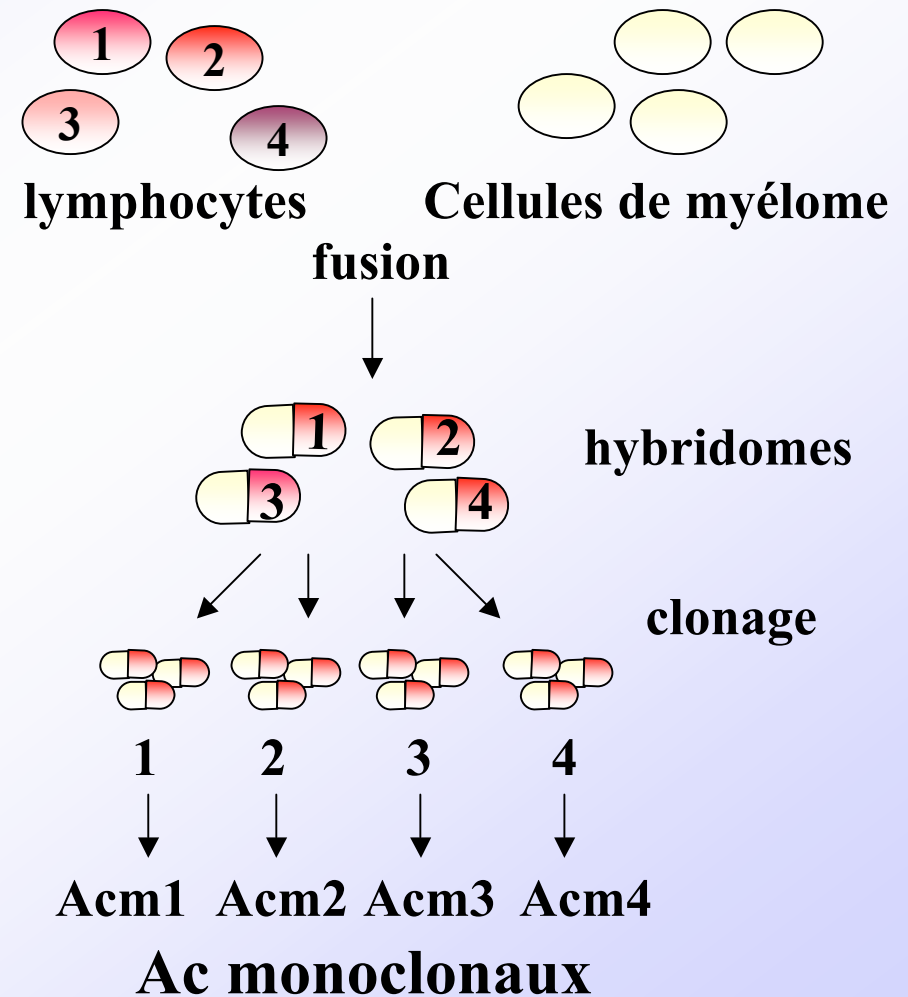
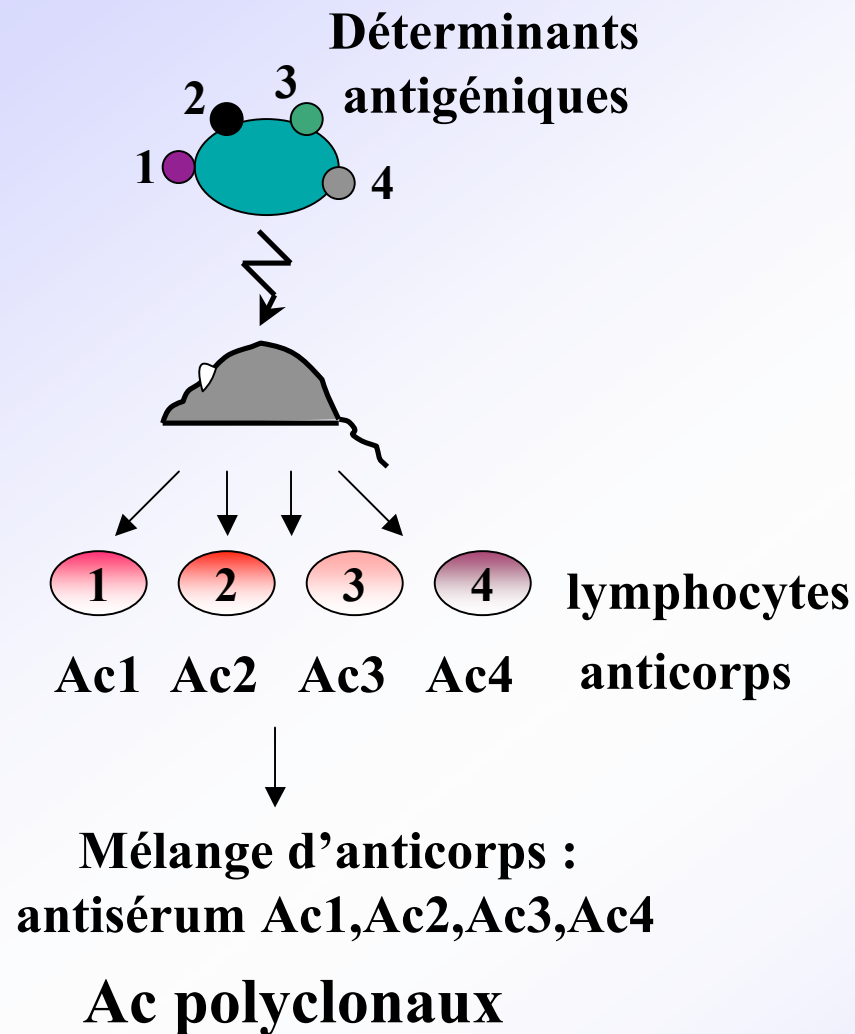
Petit lymphocyte



Lymphocyte à grains

ANTICORPS MONOCLONAUX

comparaison Ac polyclonaux/monoclonaux



ANTICORPS MONOCLONAUX

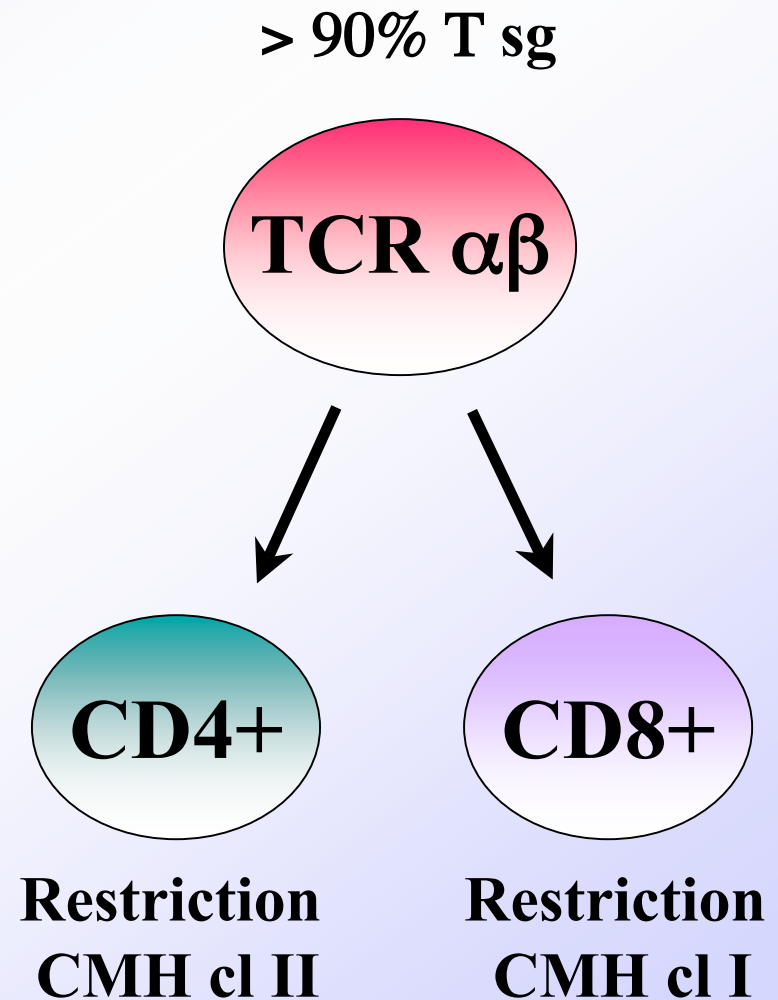
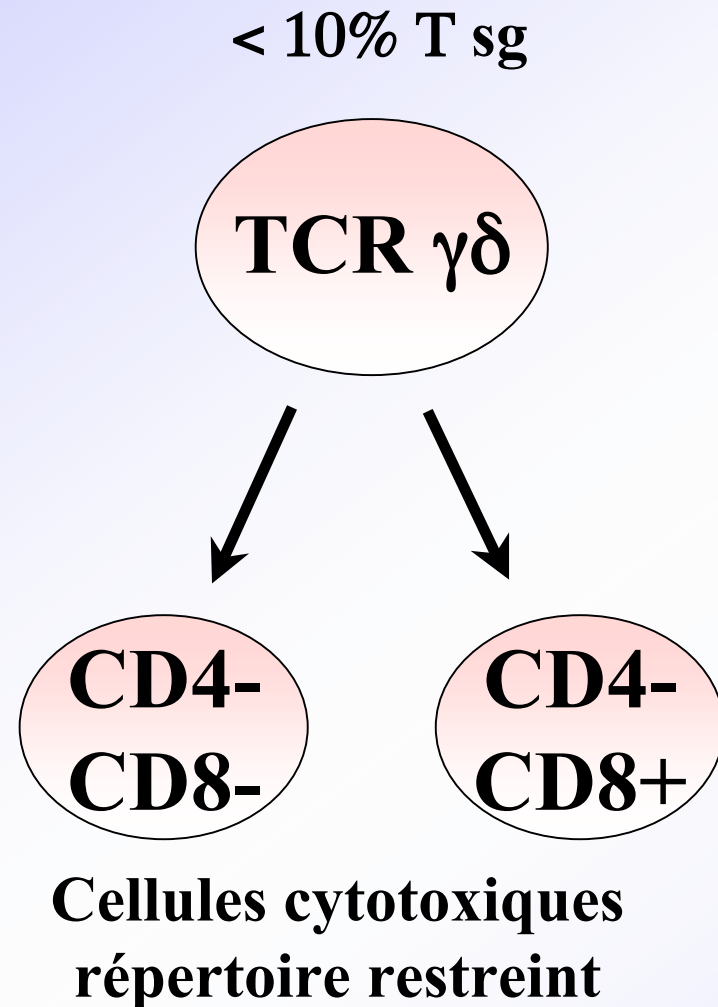
■ Molécules de surface propres à des lignées cellulaires

antigènes de différenciation
ou classes de différenciation (CD)

■ Ateliers Internationaux (Workshops)

comparaison de plusieurs Acm
provenant de laboratoires ≠
caractérisant 1 ou des épitopes ≠ d'une même molécule

PRINCIPALES SOUS POPULATIONS DE LYMPHOCYTES T



NUMERATION DES LT CD4+/CD8+

Immunofluorescence à l'aide d'Acm anti-CD4 ou CD8

2 phases

1) marquage

sang total

10-20 min

Ac anti-CD4, Anti-CD8
couplés à des fluorochromes
anti-CD4-FITC, anti-CD8-PE

10-20 min

lyse des hématies

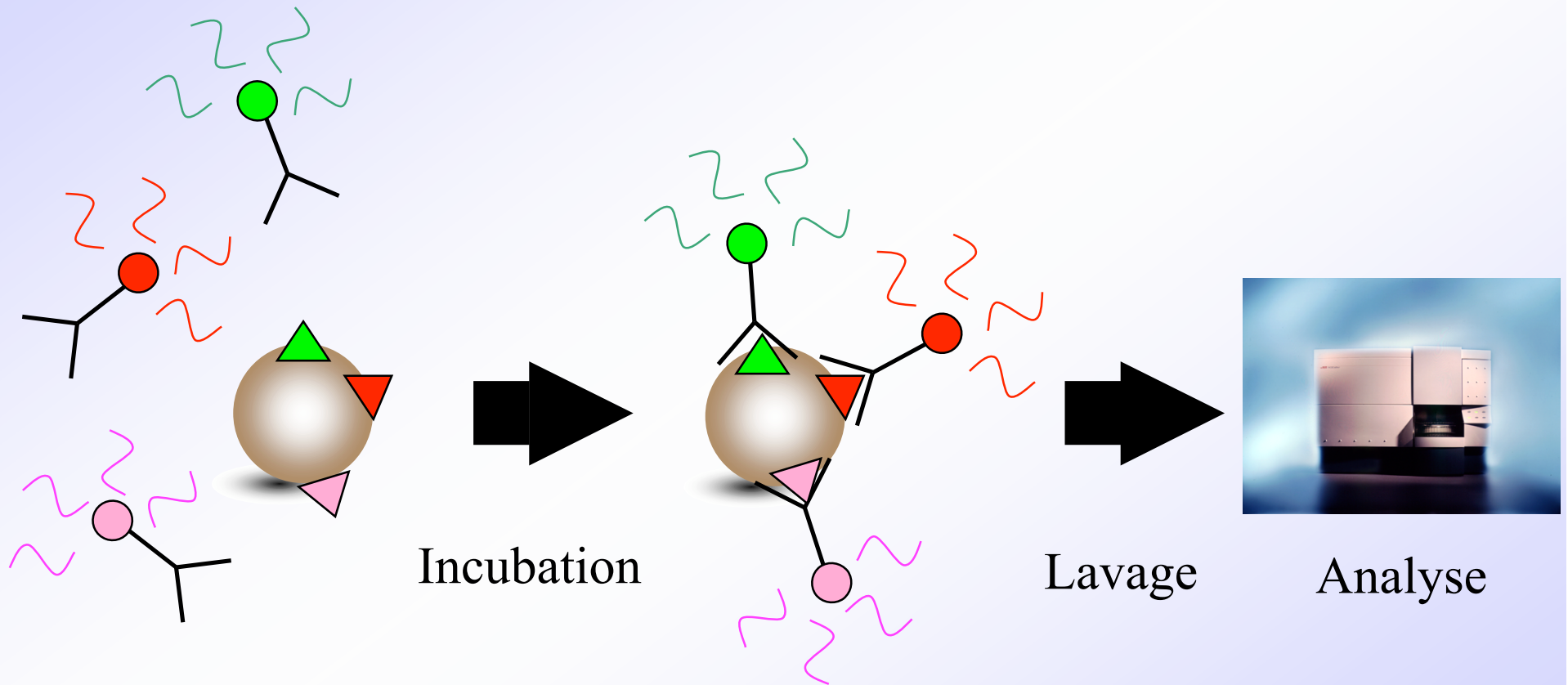
2) analyse

cytomètre sur 10,000 cellules
1 à 3 min/prélèvement

30 min-1 heure

40-50 prélèvements/j

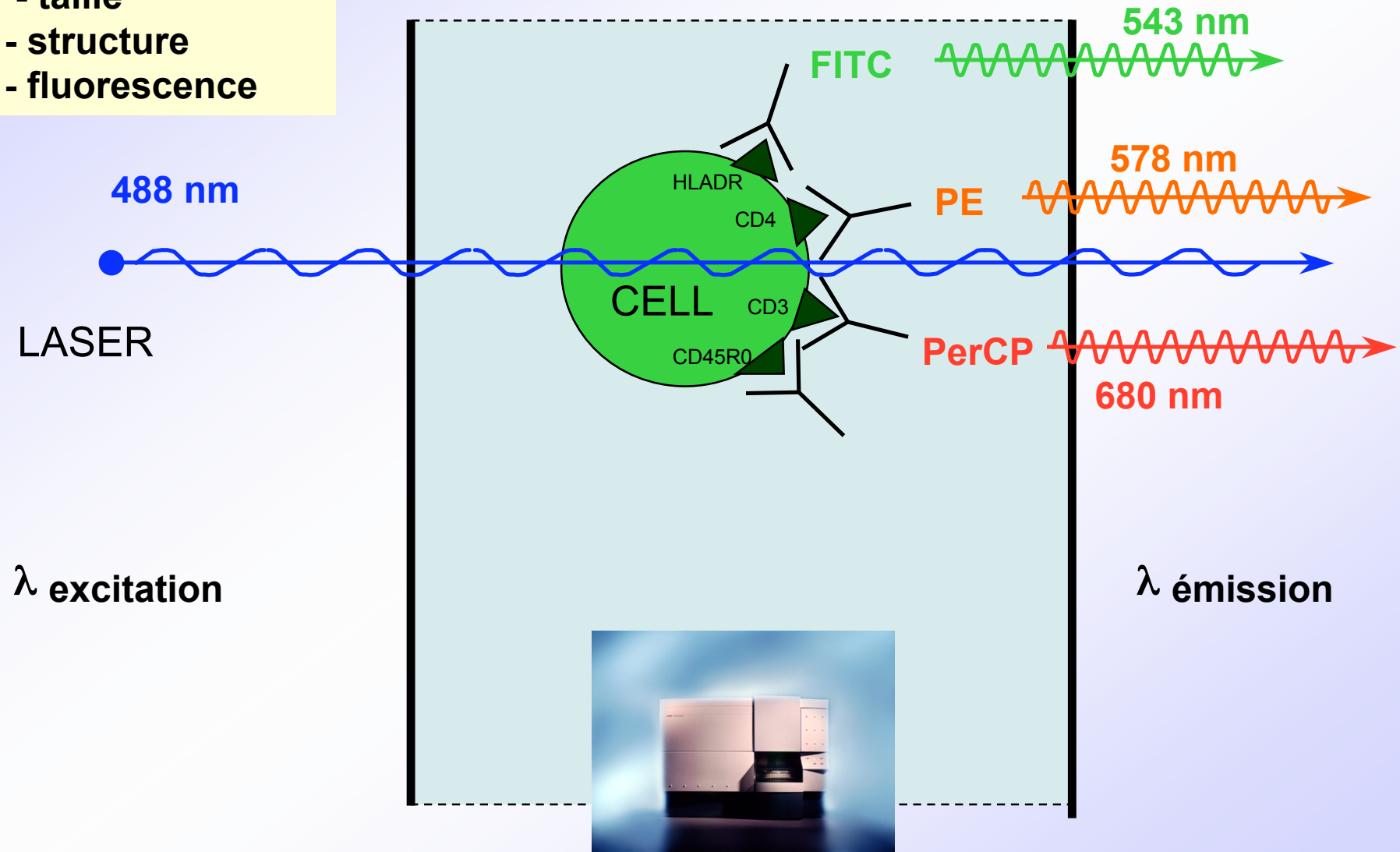
Triple marquage pour cytométrie en flux



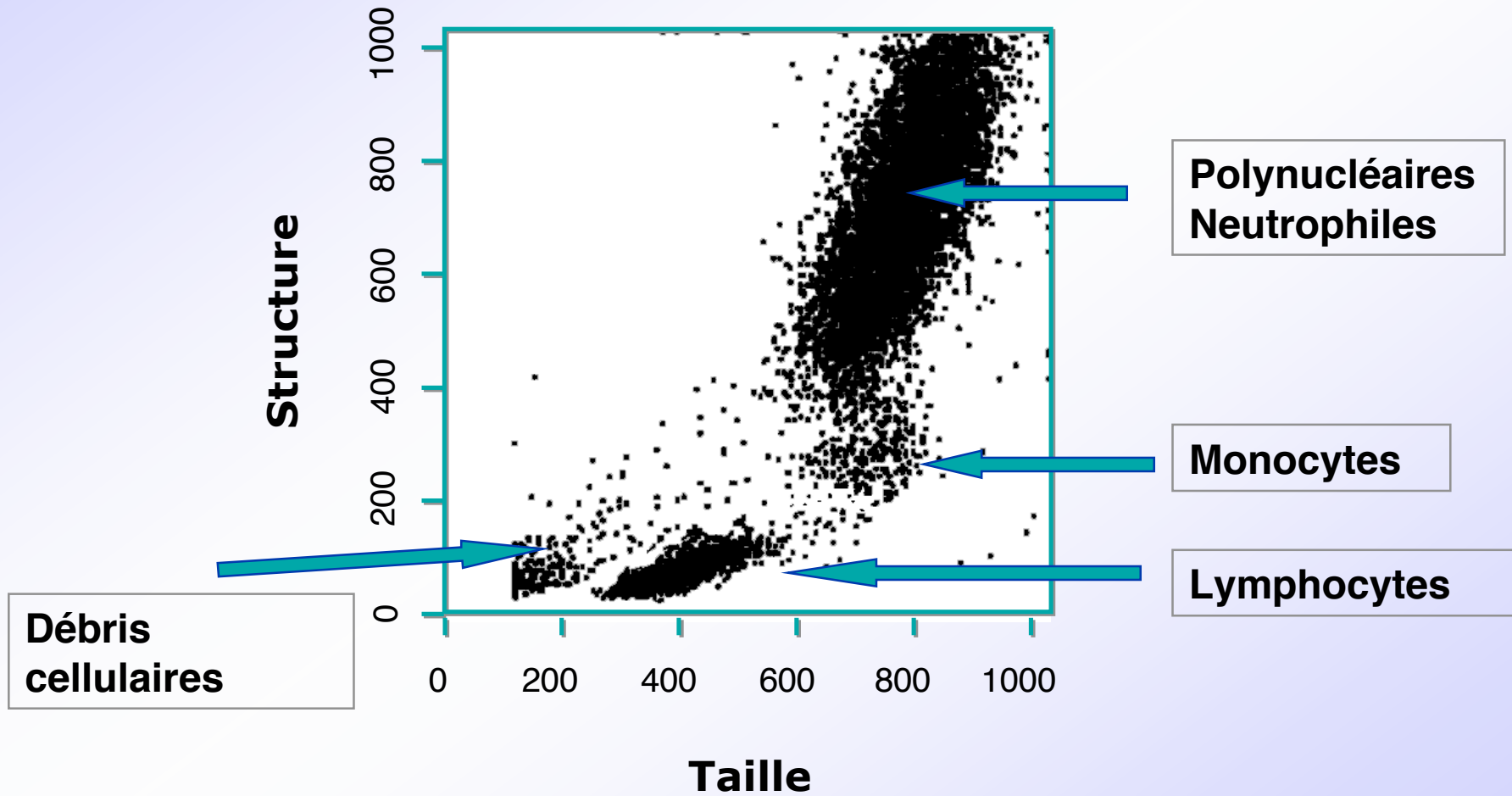
Principe de la cytométrie en flux

Informations sur:

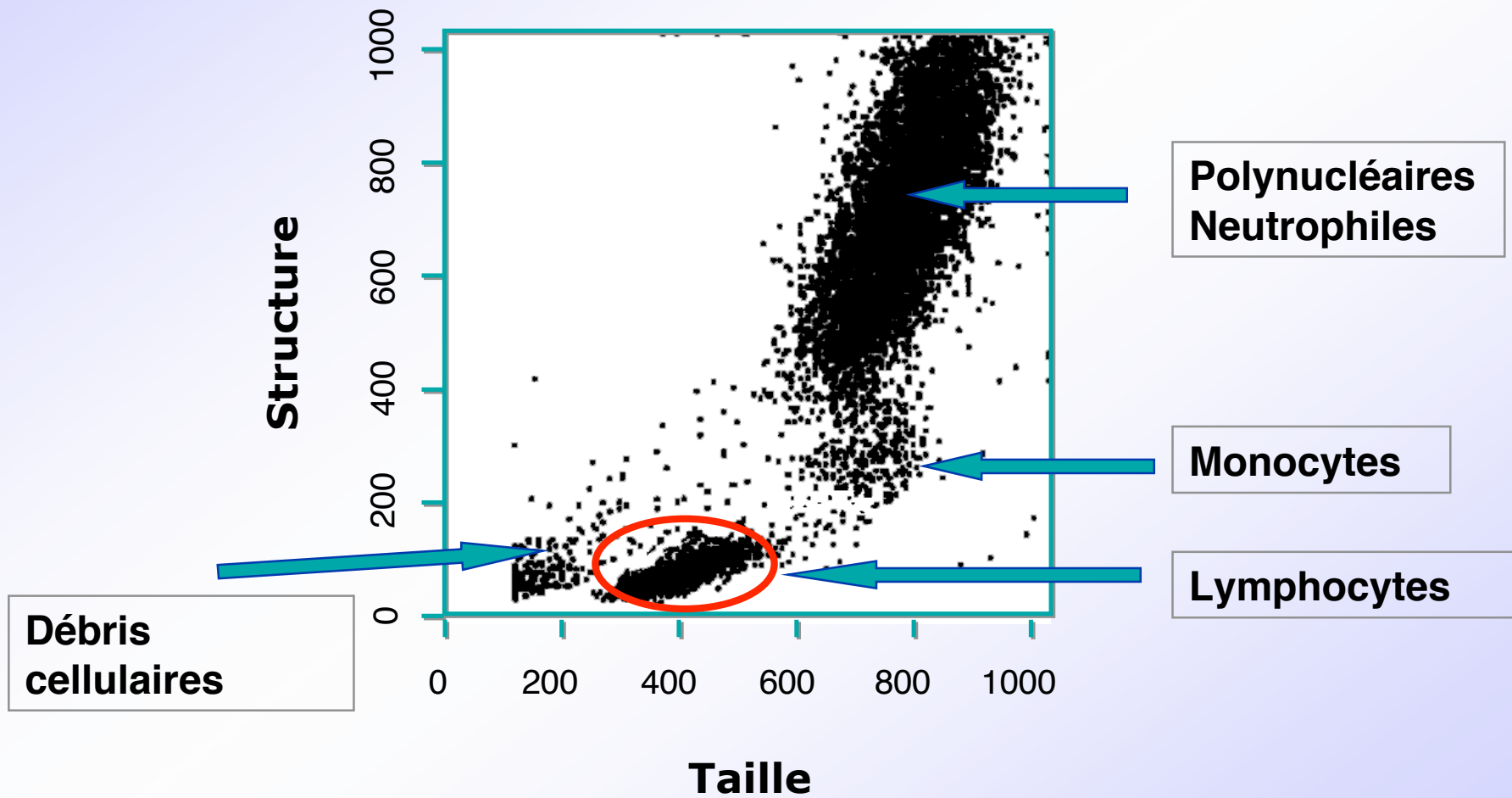
- taille
- structure
- fluorescence



Exemple sur sang total lysé

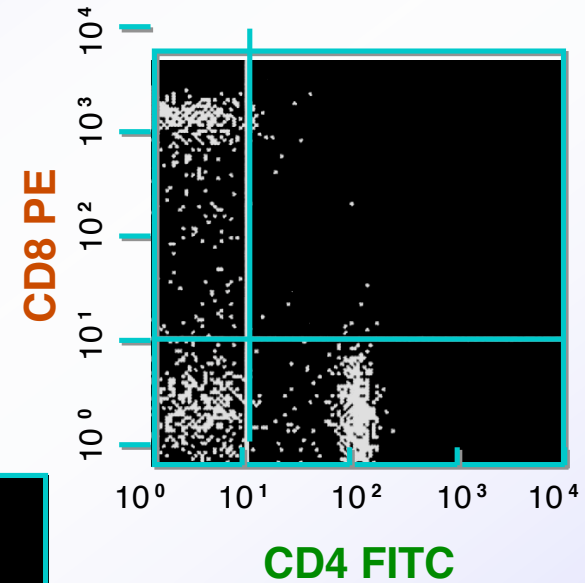
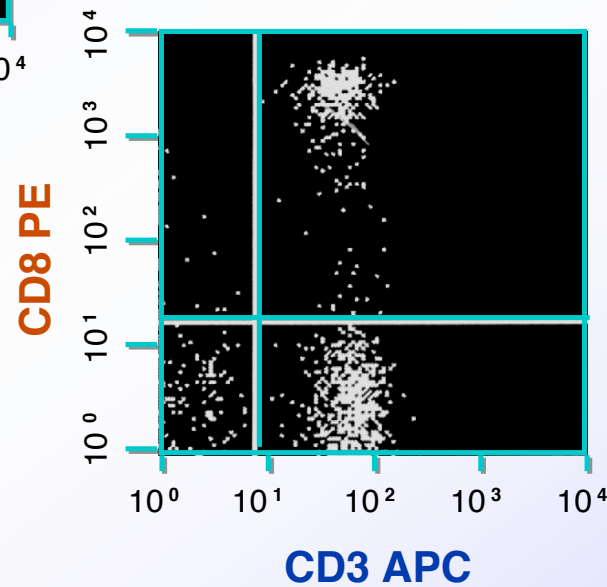
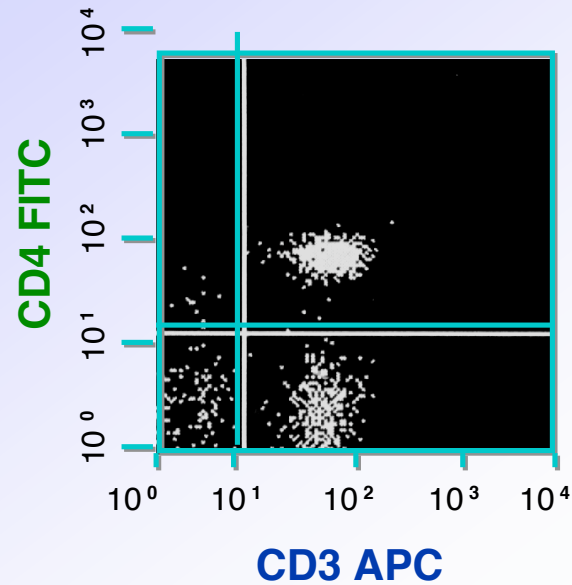


Exemple sur sang total lysé



Exemple sur sang total lysé

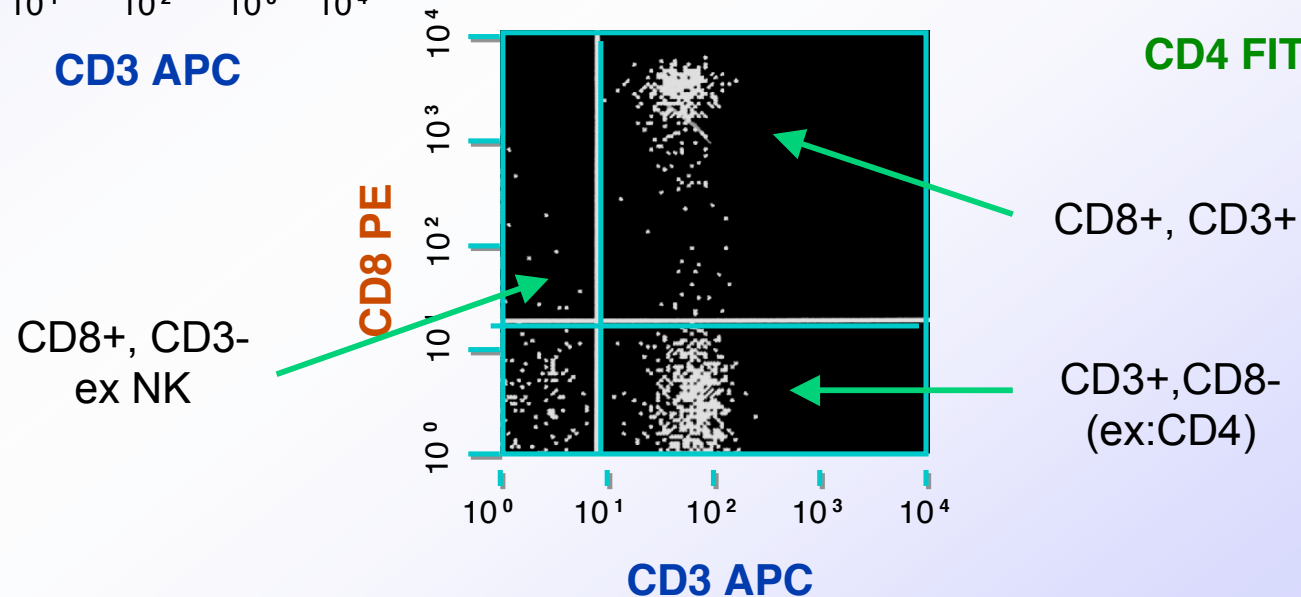
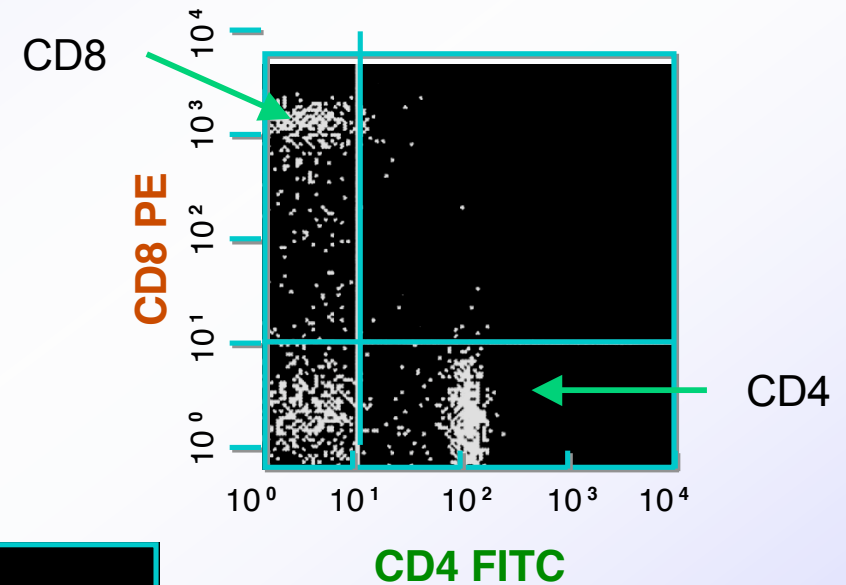
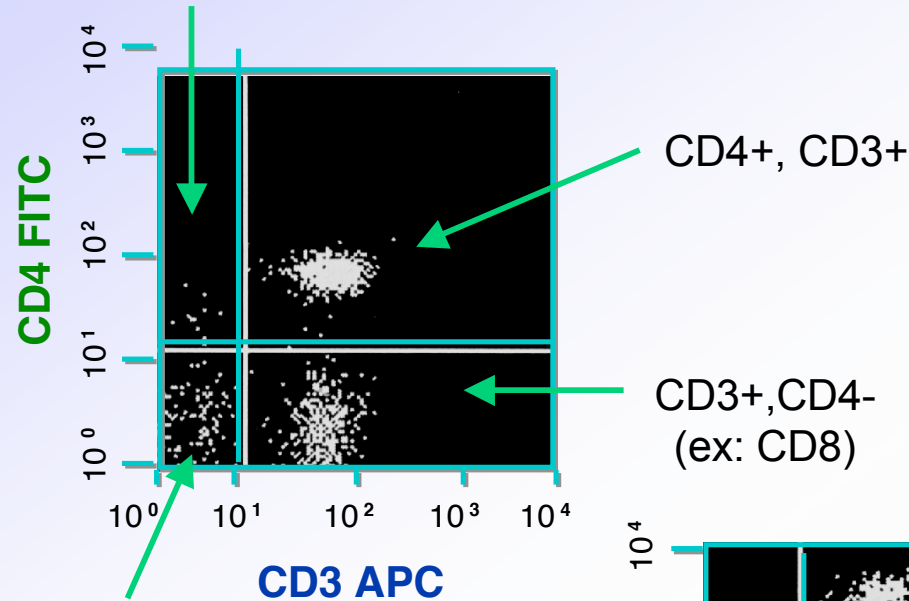
Analyse en « 3 couleurs »



Exemple sur sang total lysé

Analyse en « 3 couleurs »

CD4+, CD3-,
(ex monocyte)



NUMERATION DES LT CD4+/CD8+

résultats

- Expression en % des lymphocytes circulants
et en valeurs absolues
- Normes établies chez le sujet « normal »
(Laboratoire d 'Immunologie Cellulaire et Tissulaire GH.P.S.)

CD4

CD8

CD4/CD8

- Contrôle de qualité inter-laboratoires
 - pour les CD4 différences faibles $\approx 1.2\%$
 - pour les CD8 différences + grandes $\approx 3\%$

Valeurs normales de l'adulte

Laboratoire d'Immunologie cellulaire de la Pitié-Salpêtrière

CD4+ CD3+

46,6% (SD = 8)

858/mm³ (SD = 260)
et > 450/mm³

CD8+ CD3+

26% (SD = 5)

482/mm³ (SD = 164)

CD8+ totaux

30,1% (SD = 6)

555/mm³ (SD = 165)

Ratio

CD4+ CD3+ / CD8+CD3+

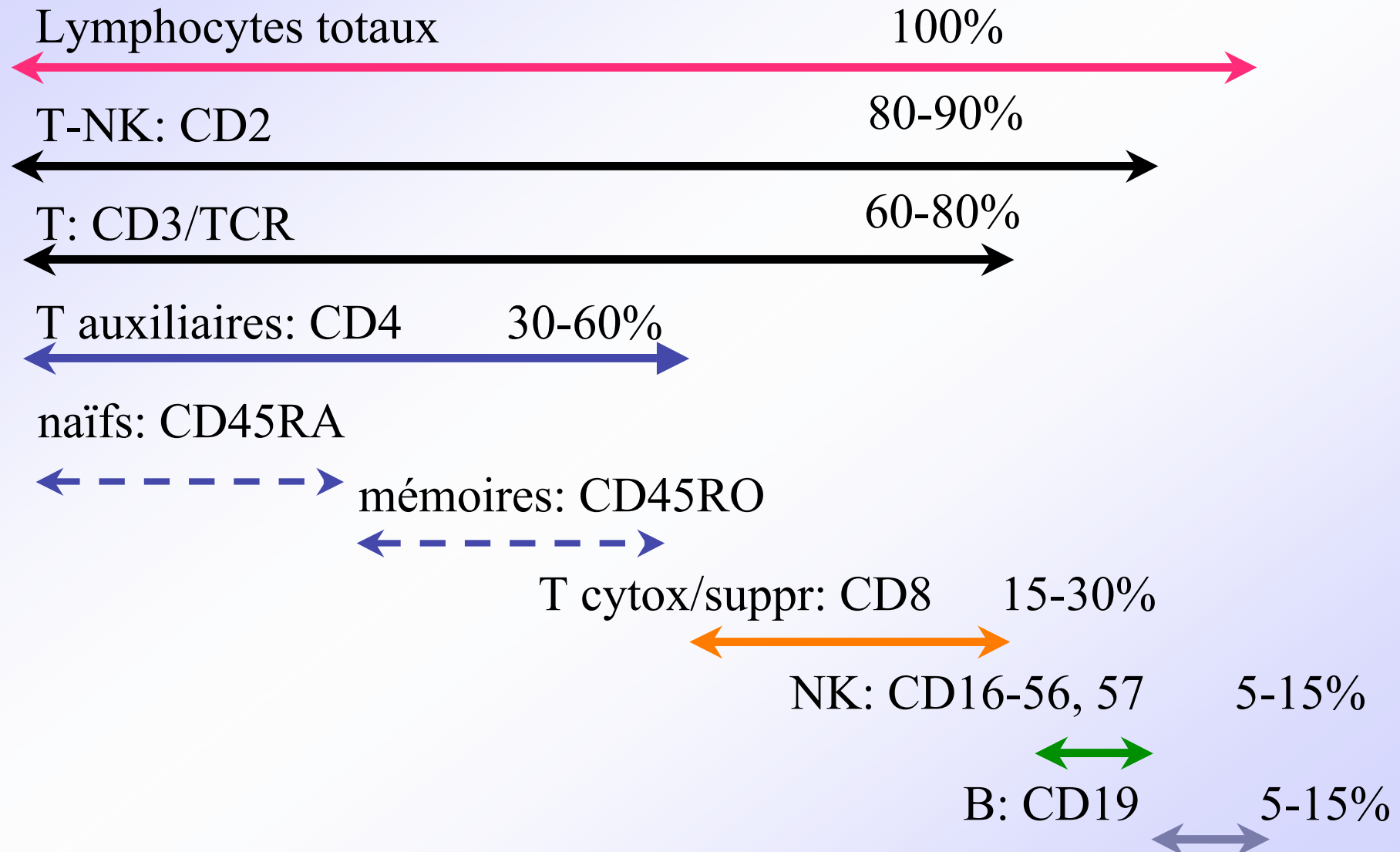
> 0.68

VARIATION DES SOUS POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES AVEC L'AGE

	Sang de cordon	J1-11 mois	1-6 ans	7-17 ans	18-70 ans
Lymphocytes					
%	41	47	46	40	32
.10 ³ /mm ³	5.4	4	3.5	2.5	2
Cellules T CD3+					
%	55	64	64	70	72
.10 ³ /mm ³	3	2.5	2.5	1.8	1.4
Cellules T CD4+					
%	35	41	37	37	42
.10 ³ /mm ³	2	2	1.6	0.8	0.8
Cellules T CD8+					
%	29	21	29	30	21
.10 ³ /mm ³	1.5	0.9	0.9	0.8	0.7
CD4/CD8	1.2	1.9	1.3	1.3	1.2
	(0.8-1.8)	(1.5-2.9)	(1-1.6)	(1-1.4)	(1-1.5)

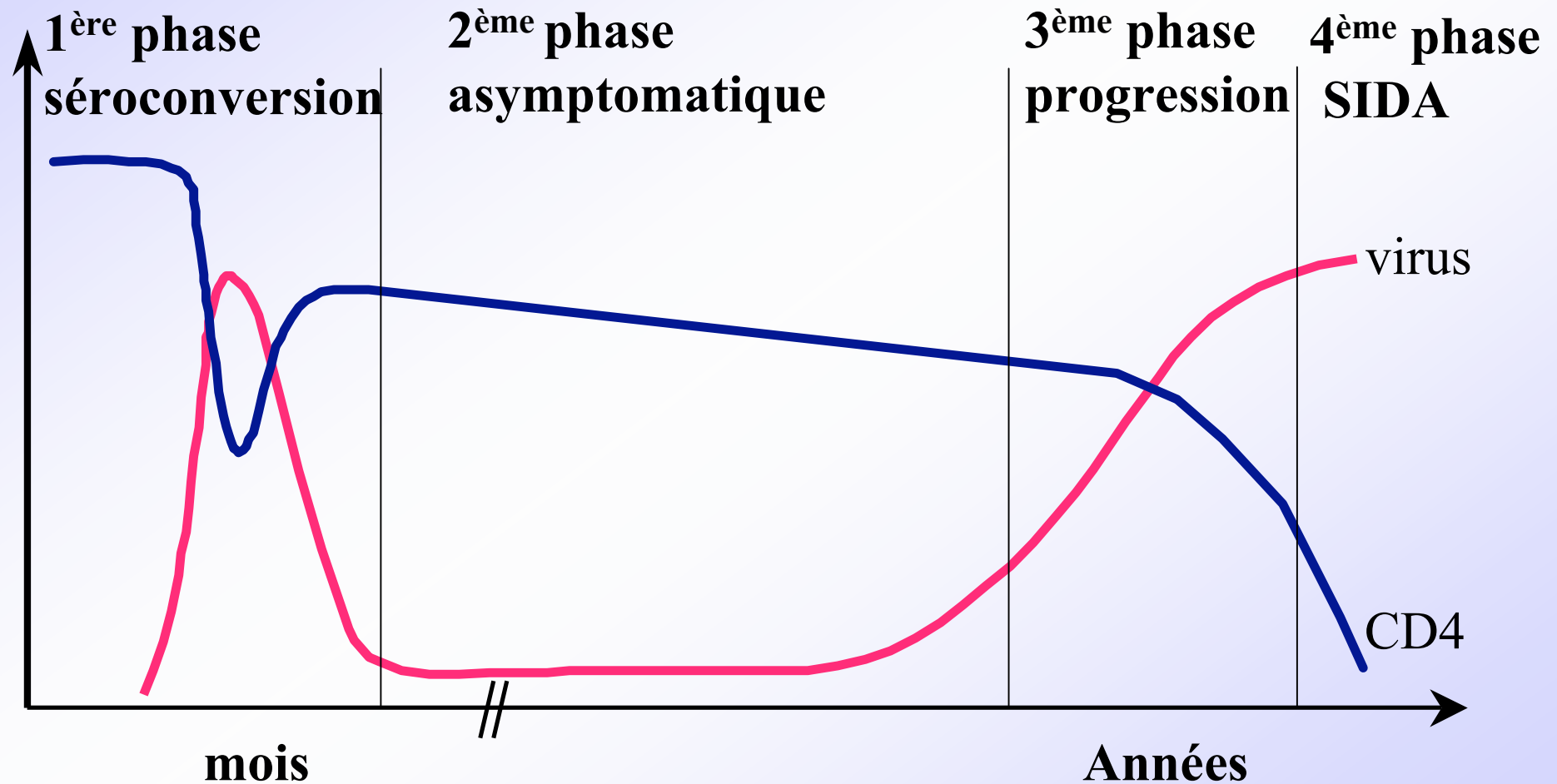
LYMPHOCYTES SANGUINS PERIPHERIQUES

sous populations



LA LYMPHOPENIE CD4 PATIENTS VIH

Marqueur simple du déficit immunitaire T



RESTAURATION IMMUNITAIRE

augmentation des CD4

