

Anatomie du système lymphoïde

M. Alessandra Rosenthal-Allieri

Laboratoire Central d'Immunologie
Hôpital de l'Archet CHU-Nice

Immunité naturelle et immunité acquise/ adaptative

Immunité : ensemble des mécanismes biologique permettant de reconnaître et de tolérer ce qui lui appartient (le soi) et de reconnaître et de rejeter ce qui lui est étranger (non soi)

Immunité naturelle = capacités de défense innées et basales

Immunité adaptative = immunité spécifique: capacités de défense induites par un premier contact

Caractérisée par

spécificité : défenses ciblées vers l'agent déclencheur

mémoire : i) réponse plus forte et plus efficace lors de contacts avec le même agent, généralisation à l'ensemble de l'organisme sous la dépendance d'un tissu spécialisé: le système lymphoïde

Immunité naturelle : défenses de barrière

- La peau et le sébum (rôle antibactérien des acides gras)
- Le mucus et « l'escalator muco-ciliaire »
- Les flores saprophytes (intestin, vagin, etc.)
- Les milieux acides
- Protéines et peptides antimicrobiens produits par de multiples types cellulaires: glandes sous-muqueuses, cellules épithéliales, polynucléaires neutrophiles, macrophages

Cellules impliquées dans la réponse immunitaire

Lymphocytes :

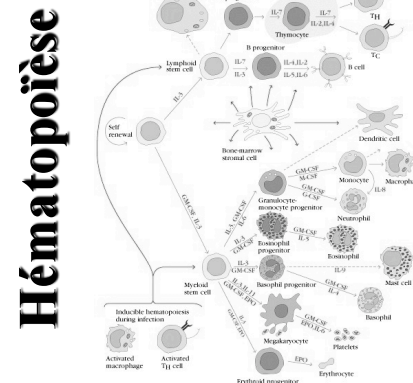
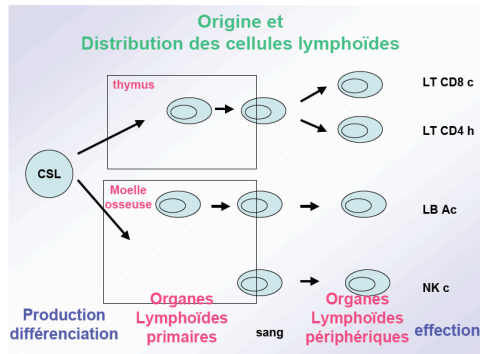
- T
- B
- NK

Phagocytes :

- monocytes / macrophages
- granulocytes polymorphonucléés : neutrophiles éosinophiles basophiles

Cellules accessoires:

- CPAG
- Cellules endothéliales
- Mast Cells
- Plaquettes



Lymphogénèse T et B : généralités

Même origine que les autres cellules hématopoïétiques (GR, granulocytes et plaquettes) à partir d'une cellule souche hématopoïétique médullaire qui se différencie

Plus de complexité, à cause de l'hétérogénéité des lymphocytes matures produits quant à :

- reconnaissance de l'Ag, libre ou en association à CMH
- fonctions développées : productions d'Ac, cytotoxicité, production de cytokines...

Dans le même temps :

- différenciation en lignée T ou B
- développement d'un répertoire (récepteurs pour l'Ag) capable de se modifier en fonction des capacités effectrices développées lors de la réponse immunitaire

Organes et tissus lymphoïdes

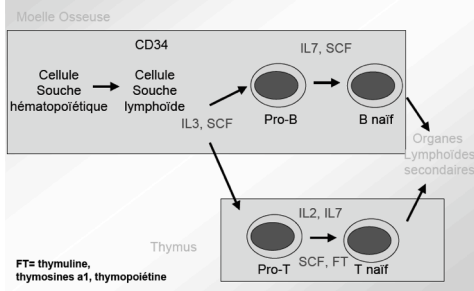
➤ Organes lymphoïdes primaires ou centraux

- Thymus
- Moelle Osseuse

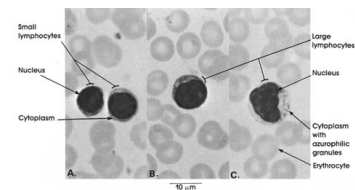
➤ Organes et tissus lymphoïdes secondaires ou périphériques

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

Maturation des cellules lymphoïdes : dans les organes lymphoïdes primaires



Lymphocytes



Petit lymphocyte : les plus communs dans le sang. Ils ont un grand noyau rond, dense et un fin cytoplasme basophile. Ils sont capables de mouvement amoïboïdes et de la production de cytokines

Grand lymphocyte : peu fréquents dans le sang. Le noyau est indented, et le cytoplasme plus abondant. Des granulations azurophiles sont fréquentes.

Lymphocytes T 40% des lymphocytes circulants

Deux populations principales :

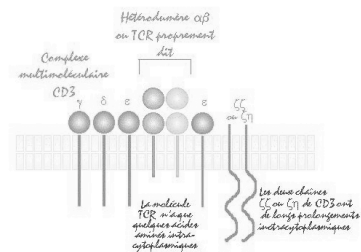
- CD4+ ou T-helper**
- induction production d'Ac par les cellules B
 - activation des cellules suppressives

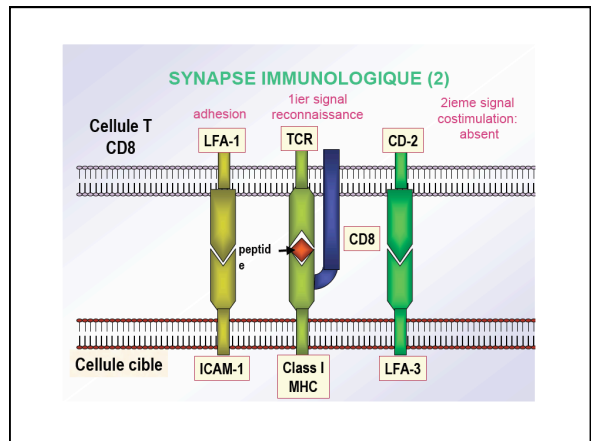
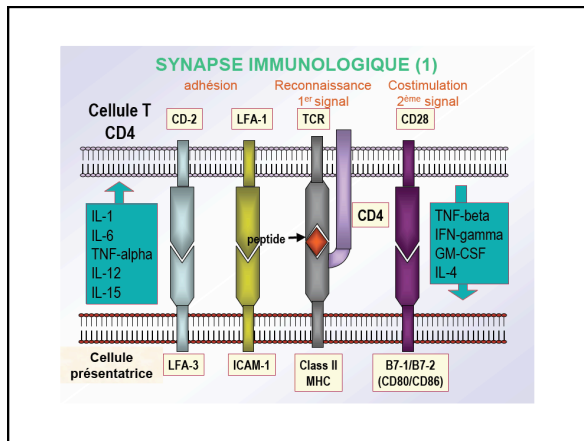
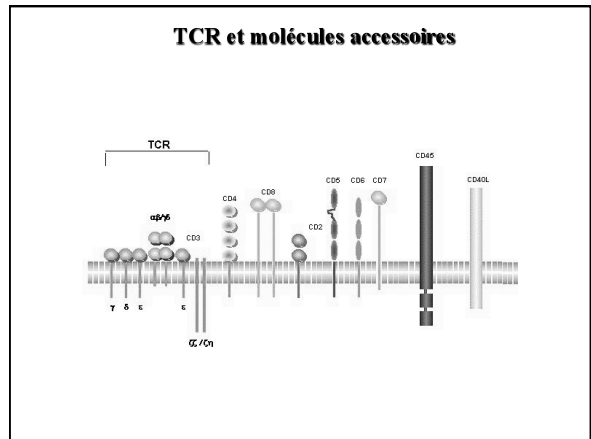
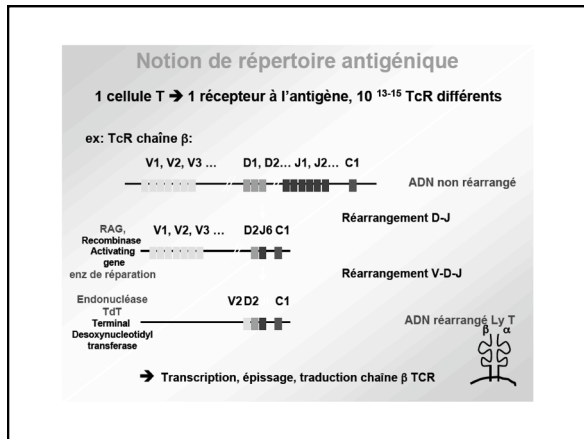
Ils reconnaissent l'Ag associé à une molécule de classe II du complexe majeur d'Histocompatibilité

- CD8+ = T-suppressifs**
- régulation des réponses immunitaires
 - lyse des cellules infectées par un virus, tumorales ou allogéniques

Ils reconnaissent l'Ag associé à une molécule de classe I du complexe majeur d'Histocompatibilité

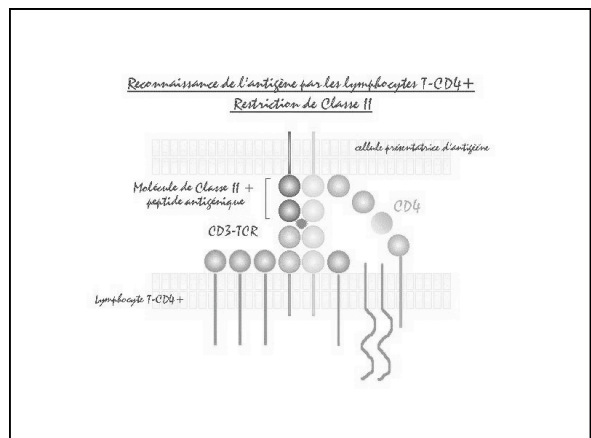
Recepteur pour l'antigène des lymphocytes T : TCR (T Cell Receptor)

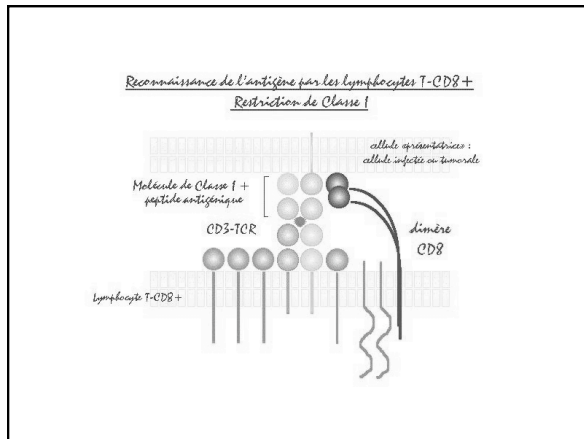




Marqueurs des cellules T

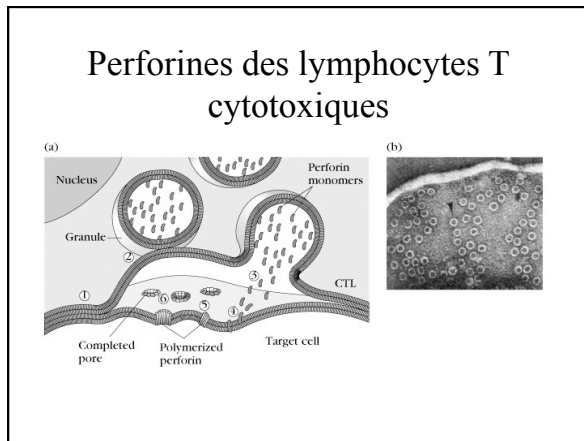
TCR	récepteur à l'antigène
CD2, CD5, CD7	marqueurs de lignée T
CD3	transduction du signal
CD4	liaison MHC CI II
CD8	liaison MHC CI I
CD28	co-activation / B7
CD40L	co-activation / CD40
IL2R	récepteur à l'IL2
LFA1, ICAM-1	molécules d'adhésion
CD45 RA / RO	marqueur de différenciation





Lymphocyte T cytotoxique

- Il entre en contact avec sa cible
- La reconnaissance spécifique de l'antigène + MHC I déclenche un accroissement du calcium intracellulaire
- Les granules se polarisent puis se vident à l'interface avec la cellule cible
- Les monomères de perforine se polymérisent et forment des trous dans la cellule cible
- Les sérines protéases (granzymes) entrent par ces trous et en synergie avec l'interactions Fas/Fas ligand déclenchent l'apoptose de la cellule cible



Lymphocytes B

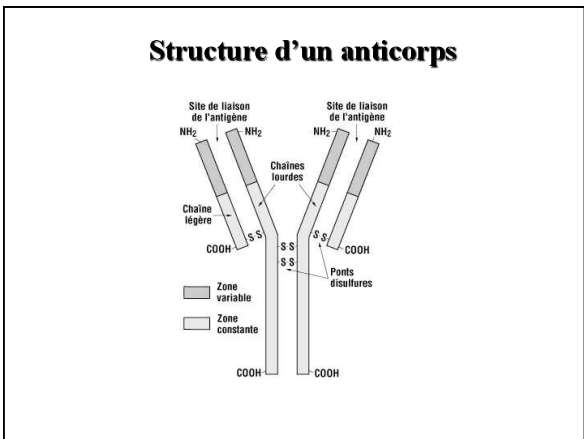
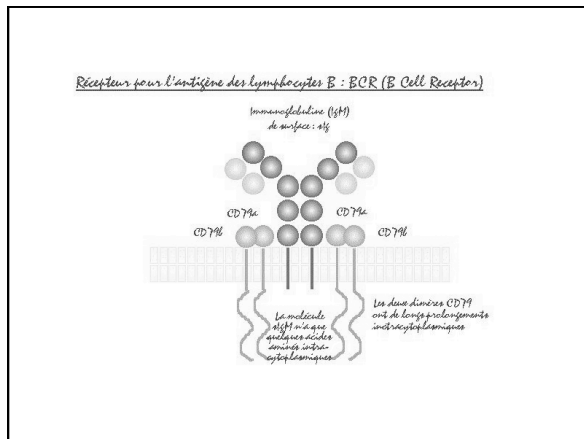
Cellules qui produisent des immunoglobulines (Ig) et qui expriment sur leur membrane les Ig qu'elles ont elles-même fabriquées : IgS Immunoglobulines de surface

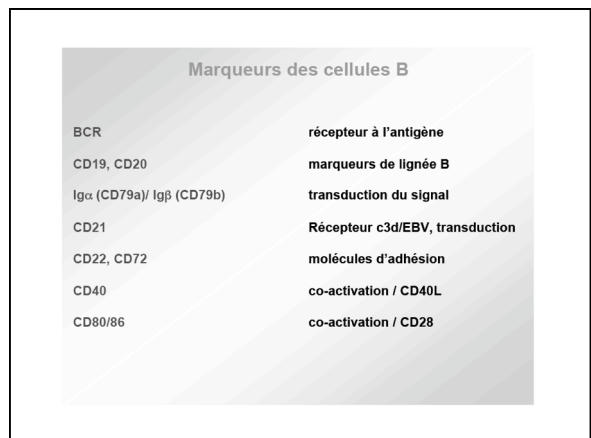
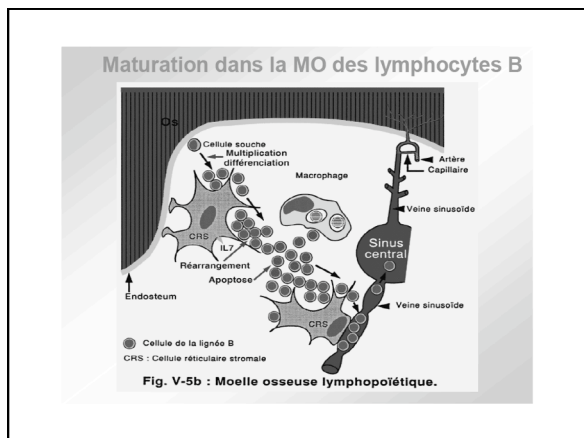
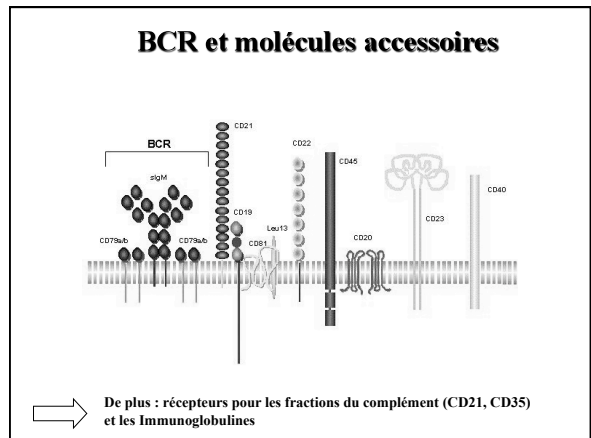
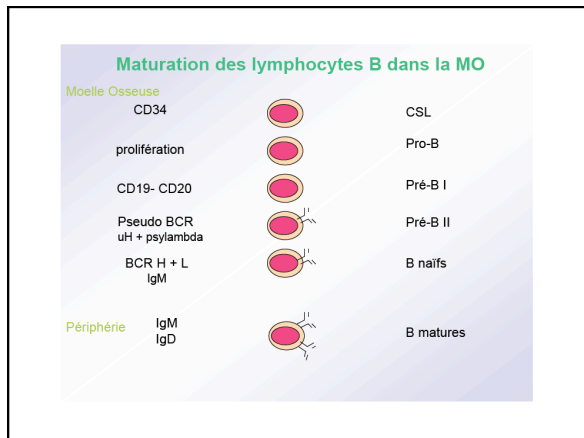
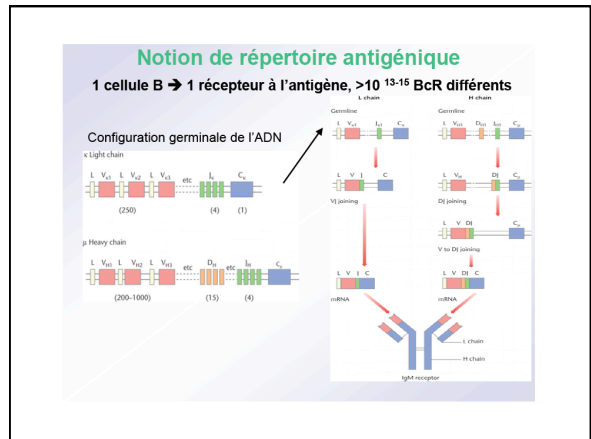
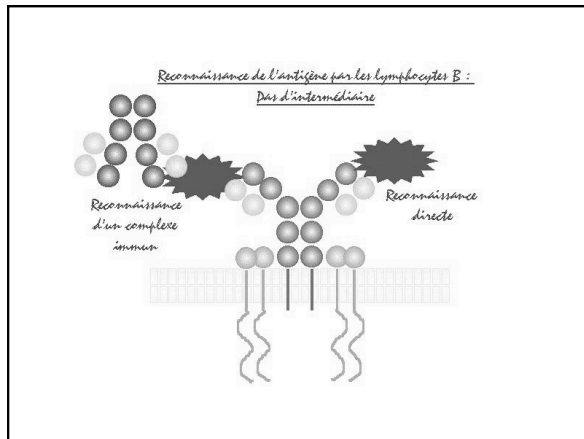
B = moëlle osseuse chez les mammifères (bone marrow)
Bourse de Fabricius

5-15 % des cellules mononucléées du sang

Rôle : Secrètent les anticorps :
 • spécificité antigénique différente
 • spécificité antigénique unique par cellules
 • défense de l'individu contre les agents infectieux

Pathologie :
 Immunodéficiences B
 Maladie auto-immunes (LED, PR)
 Lymphoproliférations malignes



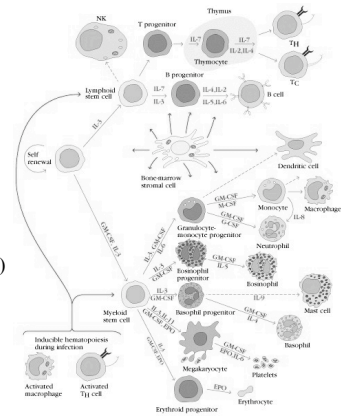


Cellules Natural Killer

- 10 à 15% des lymphocytes
 - Aspect de grands lymphocytes granuleux (LGC)
 - Différenciation au contact du microenvironnement médullaire. Progénéiteurs communs avec les lymphocytes T, expriment certains marqueurs T (ex. CD2)
 - Phénotype : CD3-
CD16+ (FcγRIIIA)
CD56+
 - Rôle : élimination des cellules tumorales et des cellules infectées par des virus
 - Actions : K (Killer) : ADCC
NK (Natural Killer)
- Par libération des perforines contenues dans leurs granules (osmose) et par apoptose

Cellules NK

- Cellules de la lignée lymphoïde mais qui ne sont
 - ni B (pas d'Ig de membrane ou cytoplasmique)
 - ni T (pas de TCR)



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+	

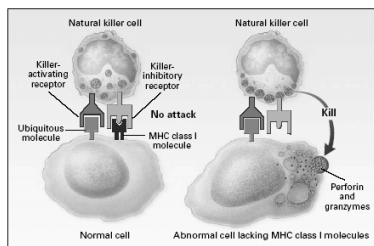


Figure 2. A System Used by Natural Killer Cells to Recognize Normal Cells and Cells That Lack Major-Histocompatibility-Complex Class I Surface Molecules. Killer-activating receptors recognize a number of molecules present on the surface of normal, nucleated cells, and in the absence of an inhibitory signal from killer-inhibitory receptors, which recognize major-histocompatibility-complex (MHC) class I molecules, the receptors issue an order to the natural killer cells to attack and kill the other cell. The cytotoxic granules of the natural killer cells, which contain perforin and granzymes, become polarized at the interface with the target cell and are then released into the cell.

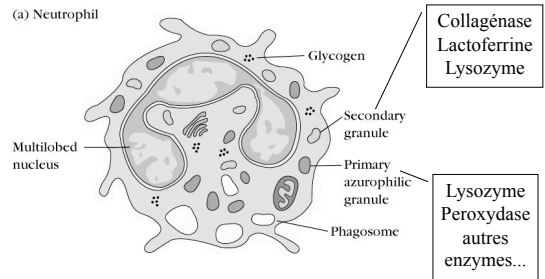
Les phagocytes

- Polynucléaires neutrophiles (et dans une moindre mesure les polynucléaires éosinophiles)
- Monocytes & macrophages
- Cellules dendritiques

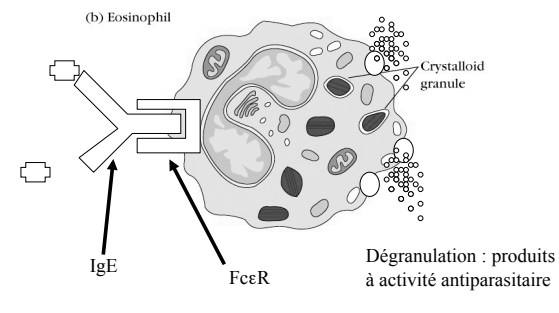
Granulocytes polymorphonucléés

	Caractéristiques	Granulations	Fonctions
Neutrophiles	- 60% des GB circulants - Noyau plurilobé - Courte durée de vie (36h) : meurent dans les tissus	- Azurophiles (primaires) : myéloperoxydase, enzymes hydrolytiques - Spécifiques (secondaires) : lactoferrine, lysozyme	- Phagocytose
Eosinophiles	- 2 à 5 % des GB circulants - Noyau bilobé	- Éosinophiles : noyau cristalloïde de nature inconnue, peroxydases, phosphatase acide	- Phagocytose (moins) - Allergie - Maladies parasitaires
Basophiles	- <1 % des GB circulants - Noyau volumineux - Migration dans tissus : mastocytes	- Basophiles : histamine, héparine	- Phagocytose (moins) - Inflammation - Réaction hypersensibilité immédiate par libération d'histamine

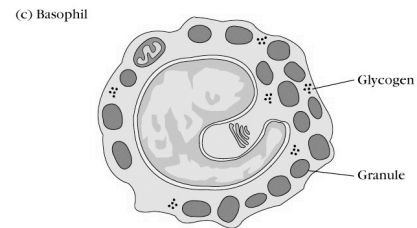
Polynucléaires neutrophiles



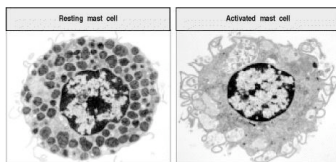
Polynucléaires éosinophiles



Polynucléaires basophiles



Mastocytes



- Cellules associées aux muqueuses, aux épithéliums et aux endothéliums (notamment veinules postcapillaires)
- Participent à la première ligne de défense
 - directement
 - soit par attraction d'autres phagocytes (chimiotactisme)

Monocytes / macrophages

- Taille 15μ
- Noyau volumineux
- Fines granulations, lysosomes

- Capables de :
- phagocyter
 - circuler dans le réseau lymphatique
 - transporter les Ag de la périphérie jusqu'aux ganglions loco-régionaux

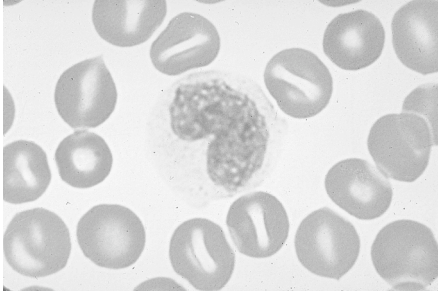
Caractéristiques

- FeR
- Récepteurs du complément
- HLA-DR
- Hydrolases lysosomiales
- Lysozyme
- TNF
- IL-1

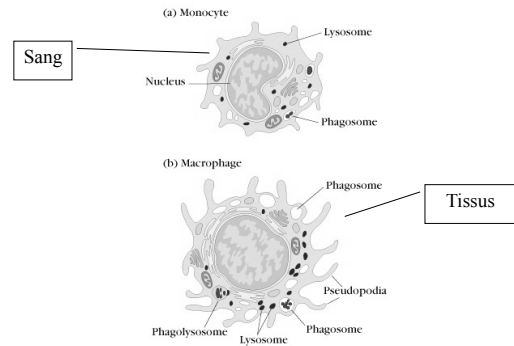
Effets biologiques

- Phagocytose et ADCC
- Présentation de l'Ag aux T
- Activité bactéricide et cytotoxique
- Digestion enzymatique des parois bactériennes
- Effet cytotoxique sur les cellules tumorales
- Activation des cellules T
- Facteur pyrogène
- Induction des protéines de phase aiguë

Monocyte



Monocytes et macrophages



Macrophages

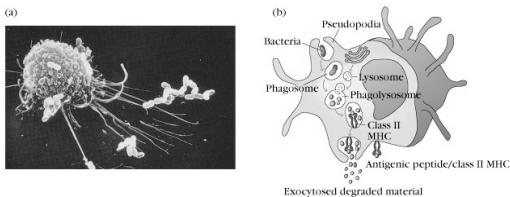
- Poumon : macrophages alvéolaires
- Tissus conjonctifs : histiocytes
- Rein : cellules mésangiales
- Foie : cellules de Kupfer
- Cerveau : microglie
- Os : ostéoclastes

Le processus de phagocytose

- Quatre étapes
 - chémotactisme
 - adhésion
 - phagocytose (sensu stricto)
 - microbicidie
 - oxydative
 - non-oxydative

Phagocytose

- Phénomène actif et consommateur d'énergie
- Efficacité accrue par l'opsonisation



Systemes de perception des microorganismes pathogènes

- « Signatures » (stéréotypes) moléculaires sur les microbes : PAMP (pathogen associated molecular patterns)
- Ne sont pas présents chez l'hôte
 - Sont partagés par de grands groupes d'agents pathogènes
 - Sont relativement peu variables (à la différence de l'hémagglutinine et de la neuraminidase p.ex.)

Exemples de PAMP (signatures)

- Flagelline des flagelles bactériens
- Peptidoglycan des bactéries à G⁺
- Lipopolysaccharide (endotoxine) des bactéries à GRAM⁻
- RNA double brin
- DNA non méthylé

Récepteurs aux PAMP = PRR

- Pattern recognition receptors
 - Trois types
 - « senseurs » membranaires ou intracellulaires
 - Rôle dans la reconnaissance du microbe et le déclenchement de la réponse immunitaire (récepteur d'alarme) ex. Récepteurs TOLL (TLR)
 - Sont présents sur la plupart des cellules de l'organisme
 - « effecteurs membranaires »
 - Déclenchent la phagocytose du microbe
 - Uniquement présent sur les cellules « spécialisées » de l'immunité naturelle
 - Solubles
 - Interagissent directement avec le microbe

Protéines Toll

- Protéines identifiées initialement chez les insectes (drosophiles) et impliquées à la fois dans le développement et dans la résistance à certaines infections
- Equivalent des protéines Toll chez les mammifères (*toll like receptors*)
- Les souris TLR₄ KO ne font jamais de choc septique après injection de LPS!

Famille de TLR

- TLR-2 : protéoglycans des Gram⁺
- TLR-3 : dsRNA
- TLR-4 : LPS
- TLR-5 : flagelline
- TLR-7 : ssRNA viral
- TLR-8 : ssRNA viral
- TLR-9 : CpG non méthylés du DNA
- Etc.

Cellules présentatrices de l'Ag

Issues des cellules souches hématopoïétiques
Porteuses des molécules CMH I et II
Augmentation nette de CMH II après activation

Système des phagocytes mononucléés : monocytes, macrophages, histiocytes du tissu conjonctif, cellules de Kupffer du foie, macrophages alvéolaires, astrocytes du SNC

Cellules dendritiques: dans la zone T des tissus lymphoïdes (zone para-corticale T des ganglions, cellules interdigitées dans le thymus), cellule de Langerhans de la peau

Lymphocytes B

Cellules dendritiques folliculaires des Gn et de la rate (FcR et C3R pour fixer les Ag/Ac aus B, mémoire)

Cellules endothéliales ou épithéliales



Présentent l'Ag aux lymphocytes

Les cellules dendritiques

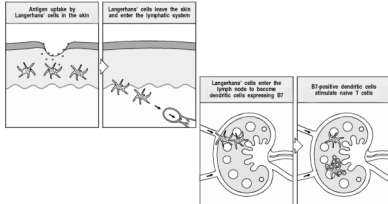
Différents dénominations selon le site et la l'état de différenciation/activation

- peau et muqueuses : cellules de Langerhans
- organes : cellules dendritiques interstitielles
- organes lymphoïdes : cellules dendritiques interdigitantes
- sang : cellules dendritiques circulantes (veiled cells)

Cellules dendritiques

« Patrouillent » dans les tissus

Fonctions différentes selon le site



Compartiments du système Immunitaire

Organes lymphoïdes primaires : moelle osseuse et thymus

Contiennent le microenvironnement nécessaire à la production de cellules matures « naïves » :

- capacité de reconnaître l'Ag
- développement de molécules de surface et intracellulaires nécessaire aux interactions avec les cellules ad.
- capacité de « homing » : recirculer et se localiser dans le micro environnement spécifique en périphérie

Organes lymphoïdes secondaires : ganglions, plaques de Peyer, rate

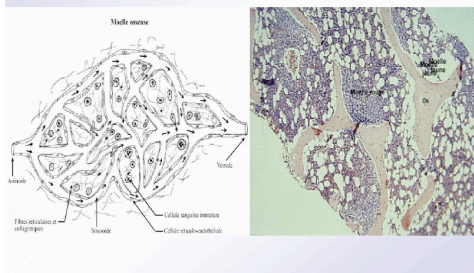
Sites où les lymphocytes « naïfs » et les Ag se rencontrent pour la première fois, et où se développe l'expansion clonale et la maturation de ces lymphocytes en cellules « mémoire » et « effectrices »

Organes lymphoïdes tertiaires : peau, lamina propria, muqueuses

Sites « effecteurs » où les lymphocytes mémoire ou effecteurs développent leur fonction immunitaire :

- secretion d'Ac
- cytotoxicité
- hypersensibilité retardée
- immunorégulation

Anatomie de la moëlle osseuse

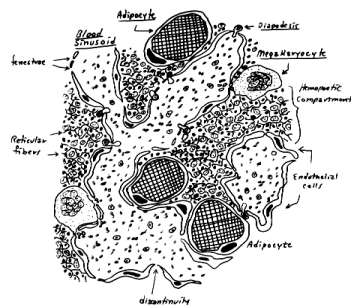


fonctions de la moëlle osseuse

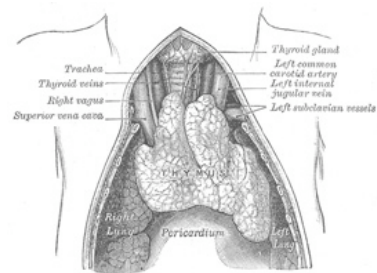
MO assure 3 fonctions:

- Maintenance 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

Bone Marrow



Thymus : Localisation



Thymus

Thyméctomie néonatale (Miller – 1961)

Site majeur de la lymphopoïèse T :

- reçoit les progéniteurs T issus de la MO
- fait la maturation (TCR spécifique)
- coordonne le rélarguage des cellules T compétentes à la périphérie



Cellules T matures vierges, avec TCR spécifique et non auto réactives

Thymus : architecture et fonctions

Trois compartiments distincts au plan phénotypique et de la maturation

Zone sub-capsulaire :

- arrivée des progéniteurs médullaires
- localisation des premiers lymphoblastes

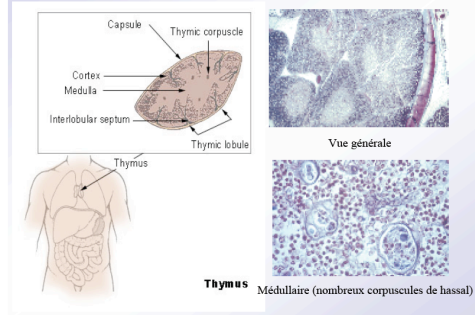
Zone corticale :

- lymphoblastes évoluant en petits lymphocytes
- interactions avec épithélium corticale pour la sélection CMH dépendante

Zone médullaire :

- maturation terminale des lymphocytes
- phase finale de la sélection

Localisation et composition du Thymus



Rôle du Thymus

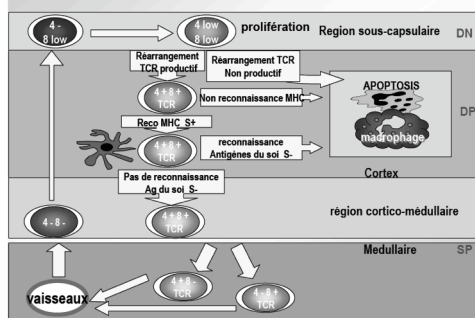
-multiplication intense (plusieurs millions de cellules produites par jour): les précurseurs CD 34+44+ issus de la MO entrent par voie sanguine et se multiplient au niveau du cortex superficiel. (cellules doubles négatives).

-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)

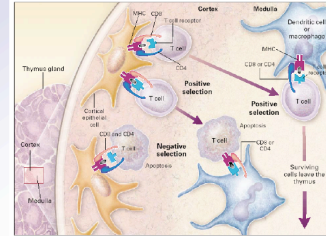
-sélection des lymphocytes: double. Permet la tolérance au soi

Positive	Négative
survie des thymocytes qui reconnaissent le CMH	destruction des thymocytes qui reconnaissent trop fortement le soi
Cellules simples positives	(médullaire)

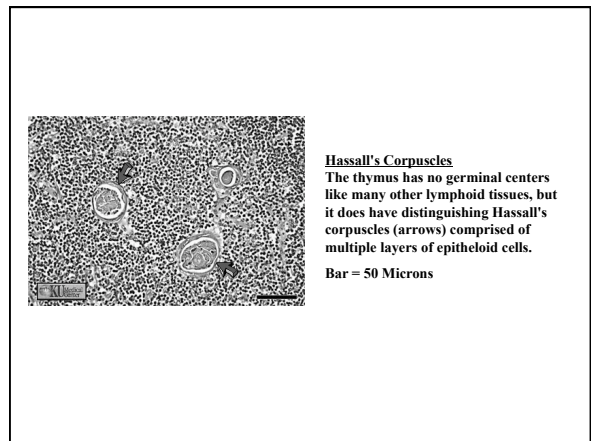
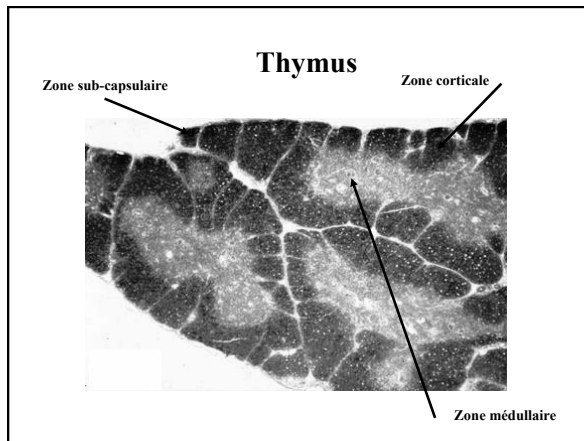
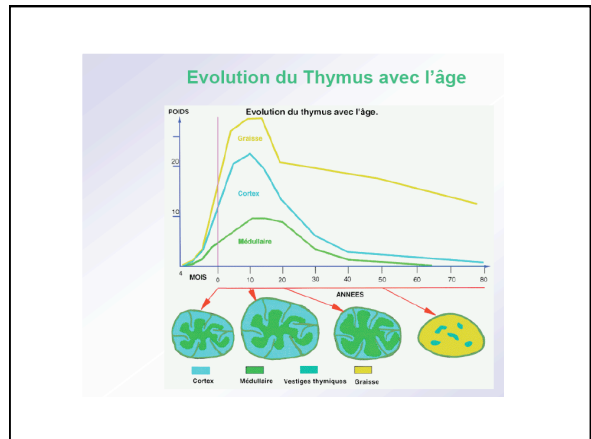
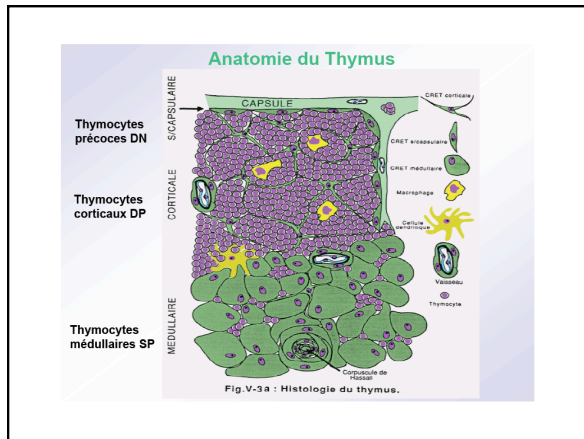
Maturation thymique des lymphocytes T



Sélection positive et négative dans le thymus



Positive and Negative Selection in the Thymus.
T cells need to interact with self-antigen presented by self major histocompatibility complex (MHC) molecules. Part of the T cell receptor recognizes the foreign peptide, the part of it recognizes the self MHC molecule. The selection event of T cell receptor gene rearrangement means that only a minority of T cells are capable of performing this task. Most of the anterior CD4 and CD8 double-positive T cells are produced by the cortex. However, many of these cells are produced by the cortex and the only foreign peptide. Cells whose T cell receptors have access (off-on) to self MHC molecules (usually self-antigen) and produce an extremely weak or no signal are deleted. However, many of these cells are produced by the cortex and the only foreign peptide. Cells whose T cell receptors have access (off-on) to self MHC molecules (usually self-antigen) and produce an extremely weak or no signal are deleted. These cells are deleted by the induction of apoptosis which may proceed with double-strand breakage in the genome, and by negative selection. This means T cells are only kept if they are able to interact with self MHC molecules. These cells enter the part of the thymus that is the medulla. In the medulla, T cells are selected by their ability to interact with self MHC molecules. These cells are selected by their ability to interact with self MHC molecules and to produce a signal that is not too strong.



Thymus : sélection positive et négative

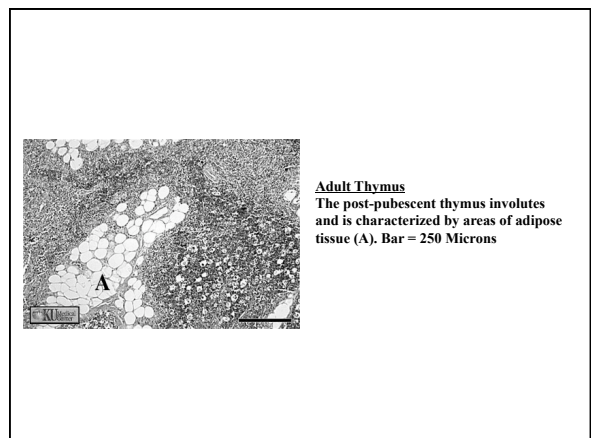
Production d'un répertoire de TCRs capable de reconnaître un nombre très important d'Ag étrangers, mais pas autologues

Sélection positive :

- à partir du pool initial de TCRs, sélection des cellules exprimant des récepteurs reconnaissant le soi
- les peptides sont présentés en association à CMH I ou II par les cellules épithéliales corticales

Sélection négative :

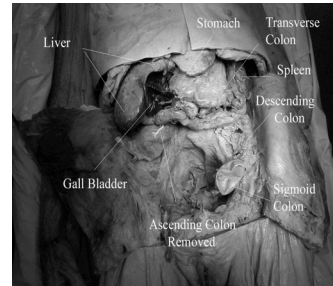
- élimination de ces cellules auto réactives qui, en cas de passage en périphérie, seraient responsables de phénomènes d'auto-immunité
- rôle des cellules réticulaires interdites dans ce phénomène



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

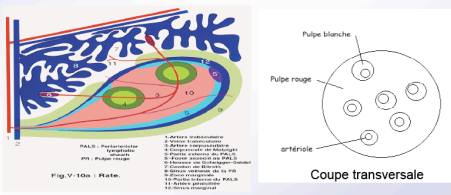
Rate



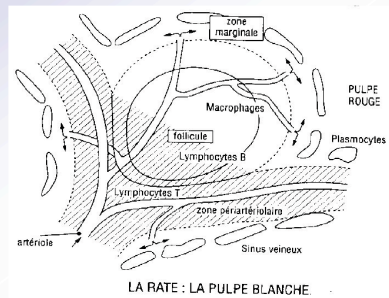
Structure de la rate : pulpe blanche et pulpe rouge

- 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** : tissu lymphoïde sous forme de manchons autour des rameaux artériels, entourés de la zone marginale
⇒ **LIEU DE LA REONSE IMMUNITAIRE**



Structure de la rate : pulpe blanche



Rate - anatomie

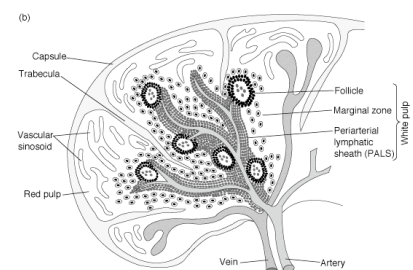
Le parenchyme est divisé en trois zones :

Pulpe rouge :
sinus sanguins
cordons de Billroth

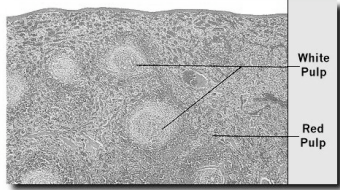
Pulpe blanche :
tissu lymphoïde (corpuscules de Malpighi)
follicules lymphoïdes primaires et secondaires

Zone marginale :
à la jonction de la pulpe rouge et blanche (sinus marginal)
riche en lymphocytes, macrophages et CPAg

Rate - structure

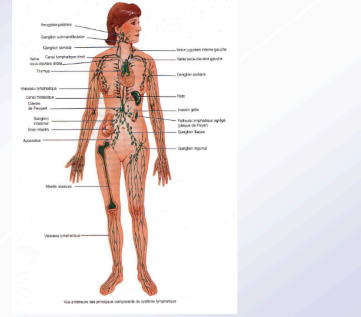


Histological Cross Section of the Spleen

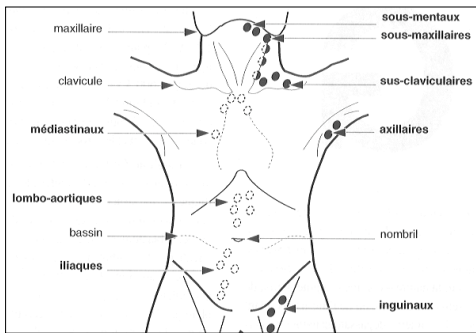


Red Pulp: Clusters of Macrophages and Red Blood Cells
White Pulp: Lymphocytes suspended on reticular fibers

Le réseau lymphatique

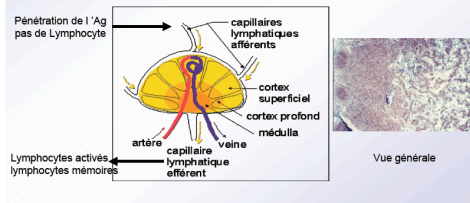


Ganglions : localisation



Les ganglions lymphatiques

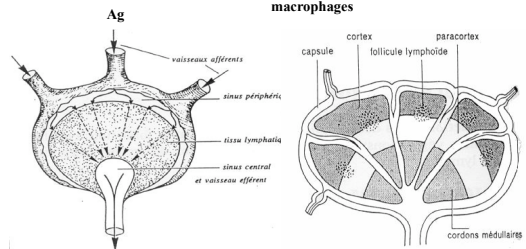
- environ 1000 dans tout l'organisme : surveillance de nombreux territoires
 - petit organe réniforme, de 1 à 15 mm de diamètre
 - disposés sur le trajet des voies lymphatiques
- La circulation lymphatique s'effectue dans un seul sens :
 tissu ⇒ ganglions ⇒ sang



Lymph Node
 The lymph node filters both lymph and blood. Lymph enters the subcapsular sinuses (SS) and exits the hilar region whereas blood both enters and exits.

Ganglions

- Cortex :** follicules lymphoïdes Cellules B, quelques T, cellules dendritiques
- Paracortex :** zone thymo-dépendante Lymphocytes T et macrophages
- Région médullaire :** zone mixte Cellules B et plasmocytes, cellules T, macrophages



Cellules effectrices

Structure d'un ganglion lymphatique

- zone **CORTICALE** : amas ovales 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

FIG. V.8 : Ganglion lymphatique.

La Réponse Immune Spécifique Schéma général / ganglion

Figure 4. The Germinal Center.
 During the initiation of the acquired immune response, germinal centers form in the secondary lymphoid tissues in order to create a microenvironment where all the necessary antigen-specific and innate antigen-presenting cells can interact. Several cytokines, such as interleukin-2, 4, 6, and 10 and transforming growth factor β , and various cell-surface molecules, including CD40, CD70, CD71, and B7, are critically important for these interactions. Antigen-stimulated proliferation of B cells occurs in the dark zone and is accompanied by the fine-tuning of specificity resulting from somatic hypermutation of the immunoglobulin variable-region genes. On reaching the basal light zone, high-affinity antigen-specific B cells are positively selected as a result of their interaction with antigen-antibody complexes on the surface of follicular dendritic cells. B cells that are not positively selected undergo apoptosis and are phagocytosed by tinged-body macrophages. The positively selected cells migrate to the apical light zone, where proliferation continues, class switching occurs, and memory cells and plasma-cell precursors are generated.

Recirculation des lymphocytes

Lymphocytes naîfs dans la circulation sanguine : arrivée dans le ganglion

Retour des lymphocytes dans le sang par le canal thoracique

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

Circulation des Lymphocytes

ORGANES LYMPHOIDES PRIMAIRES
 Moelle Osseuse / Thymus
 PRODUCTION

Cellules naïves → sang

Via HEV

ORGANES LYMPHOIDES SECONDAIRES
 Ganglions, rate, tissu lymphoïde associé aux muqueuses
 ACTIVATION, DIFFERENCIATION

Cellules mémoires > naïves → Lymphes

ORGANES LYMPHOIDES TERTIAIRES
 Lieu de l'agression
 FONCTIONS EFFECTRICES

Tissu Lymphoïde associée aux muqueuses

Structuré : plaques de Peyer amygdales

Disséminé : lymphocytes et plasmocytes de la lamina propria LIE de l'intestin

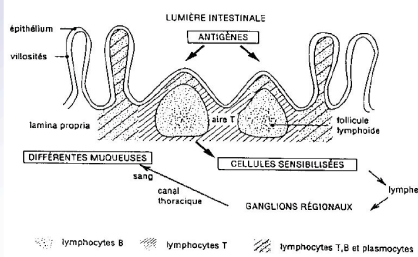
Tissu lymphoïde annexé aux muqueuses : MALT (Mucosal Associated Lymphoid Tissue)

- 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 Lymphoid Tissue)

- on peut individualiser différents systèmes:
- nasopharynx: **NALT** (Nasopharynx Associated Lymphoid Tissue)
- Voies aériennes supérieures : **BALT** (Bronchus Associated Lymphoid Tissue)
- Tube digestif : **GALT** (Gut Associated Lymphoid 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

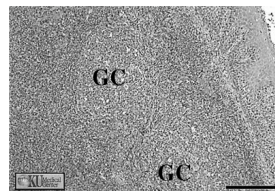
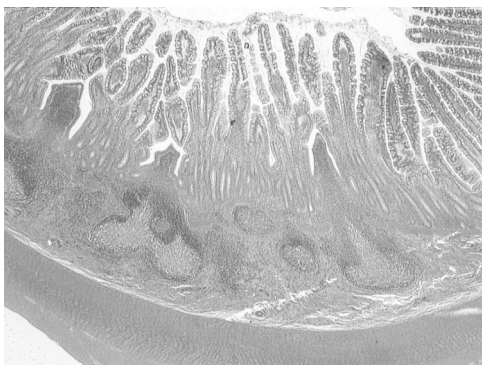
Système lymphoïde du tube digestif – GALT Plaques de Peyer



Répartition tissulaire des populations lymphocytaires

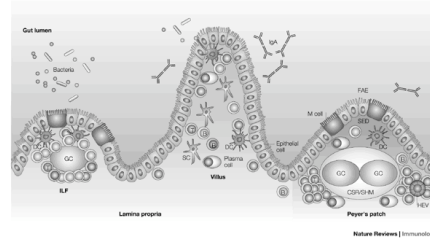
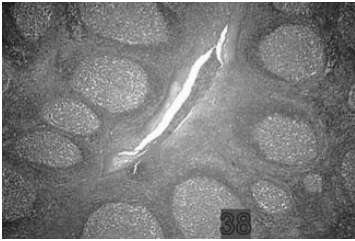
	Lymphocytes T	Lymphocytes B	Lymphocytes NK
Sang périphérique	70-80 %	10-15 %	10-15 %
Moelle osseuse	5-10 %	80-90 %	5-10 %
Thymus	99 %	<1 %	<1%
Ganglions	70-80 %	20-30 %	<1 %
Rate	30-40 %	50-60 %	1-5 %

Plaques de Peyer



Palatine Tonsil
The palatine tonsil is partially encapsulated in connective tissue. Look for the lighter-stained germinal centers (GC).
Bar = 250 Microns

Amygdale



Tissu lymphoïde associé à la muqueuse intestinale (Gut-associated lymphoid tissue : GALT), avec des structures lymphoïdes organisées (Plaques de Peyer), des follicules lymphoïdes (ILF) isolés et des lymphocytes diffus dans l'épithélium de la lamina propria.

Les **plaques de Peyer** : follicules associés à l'épithélium et contiennent des cellules M, un dôme sousépithélial riche en cellules dendritiques, follicules B avec centres germinatifs. La migration des cellule B dans la muqueuse a lieu dans les vénules à épithélium haut, localisées dans les régions interfolliculaires des plaques de Peyer qui contiennent aussi des cellules T.

Tissu diffus de la lamina propria : contient un grand nombre de plasmocytes sécrétant des IgA, des T, B macrophages et cellules dendritiques.

Les cellules dendritiques de la lamina propria captent les Ag du lumen intestinal et les présentent directement aux lymphocytes T ou B, qui effectuent le changement de classe d'Ig *in situ*. Les IgA sécrétées à travers l'épithélium, représentent la première ligne de défense contre les agents infectieux intestinaux.

NUMERATION DES LT CD4+/CD8+

Immunofluorescence à l'aide d'Ac 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

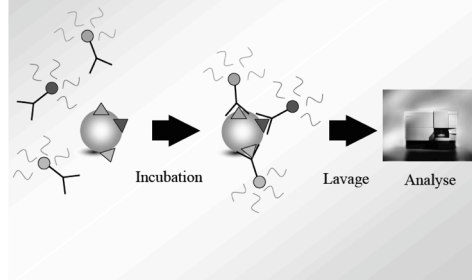
2) **analyse**

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

30 min-1 heure

40-50 prélèvements/]

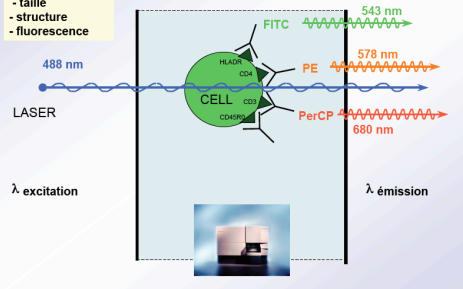
Triple marquage pour cytométrie en flux



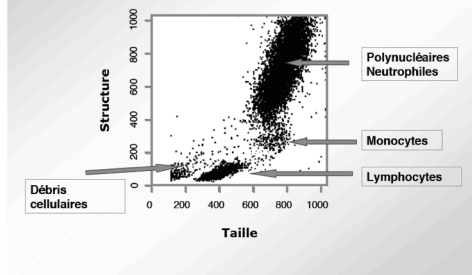
Principe de la cytométrie en flux

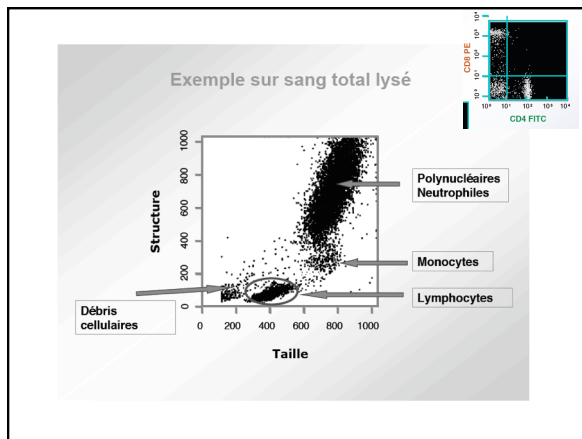
Informations sur:

- taille
- structure
- fluorescence



Exemple sur sang total lysé





Qu'est ce qu'un CD?

CD : cluster of designation

- nom initialement donné à l'ensemble des anticorps monoclonaux dirigés contre les épitopes ou les antigènes d'une même protéine présente à la surface cellulaire
- par extension, le CDn désigne la protéine elle-même; les anticorps étant dénommés anti-CDn

Utilisation des anticorps monoclonaux pour caractériser les sous-populations de leukocytes

- Inoculation de leukocytes humains à des souris
- Génération d'anticorps monoclonaux dirigés contre les protéines de membrane
- Utilisation conjointe du westernblot et du Facs pour définir
 - La nature de la protéine reconnue
 - Les sous-populations sur laquelle elle est présente