

LYMPHOCYTES B

I / Les lymphocytes B

A – Généralités

Cellules fabriquées dans la moelle osseuse, qui sont le support de l'immunité adaptative humorale (transférable par le sérum qui contient les Ig) par production d'Ac spécifiques. Environ 5 à 15% de LB dans le sang périph.

Fonctions :

- Production d'Ig, une fois transformé en plasmocytes après activation par contact avec l'Ag
- Les LB peuvent se comporter comme des CPA : capables de fixer un antigène sous forme native (non dégradé, circulant dans le sang ou dans les ganglions), contrairement aux LT où il doit être dégradé, préparé et présenté par une CPA

La fixation de l'Ag par le LB peut se faire :

- ⇒ Soit de façon spécifique au BCR
- ⇒ Soit de façon non spécifique : fixation des complexes immuns par le récepteur du fragment constant Fc des Ig ou par les récepteurs des fragments C3 du complément

LB endocyte et dégrade l'Ag, puis l'exprime avec une molécule CMH Classe II → l'Ag peut être présenté aux LT-CD4.

B – Immunoglobulines :

(rappels)

5 isotypes définis par la nature de la chaîne lourde :

- IgM : CL μ (intra-vasculaires)
- IgG : γ (sérum)
- IgA : α (muqueuses)
- IgD : δ
- IgE : ϵ (liées aux mastocytes et PNB)

A la chaîne lourde s'ajoute une chaîne légère, qui peut être κ ou λ .

- ✓ **Extrémité C-term** = FC → fonctions effectrices (activation complément et liaison aux rc spé à la surface des \mathcal{C} immunitaires)
- ✓ **Extrémité N-term** = régions charpentes et zones hypervariables (déterminent la spécificité de l'Ac)

Gènes codant pour chaînes lourdes (IgH) : K14, q32

Gènes codant pour chaîne légère κ : K2, p12

Gènes codant pour chaîne légère λ : K22, q11

Chaque complexe de gènes se compose de 3 ou 4 régions : **V (variables ; contribue aux 100 premiers AA du domaine variable), D (diversité), J (jonction ; D et J codent pour les derniers AA) et C (constant)**

Chaque chaîne est codée selon un réarrangement aléatoire des différents gènes de chaque région.

Pour les chaînes lourdes : un gène D se rapproche d'un gène J puis V se rapproche de DJ → **VDJ** (élé essentiel de spécificité des Ig)

Pour les chaînes légères : un gène V se rapproche de J → **VJ**

Réarrangement et expression des gènes d'Ig selon une cinétique ordonnée (d'abord chaînes lourdes puis légères) et contrôlés à 3 niveaux :

- Lignée cellulaire : Ig exprimées que par LB
- Stade de différenciation cellulaire : réarrangement IgH précède les chaînes légères
- Exclusion allélique : réarrangement complet sur un allèle (produit VHDJH ou VLJL) inhibe le réarrangement sur l'autre allèle

Les recombinaisons entre les différents segments V des gènes des chaînes lourdes et légères s'effectuent à des sites spécifiques nommés **RSS (séquence signal de recombinaison)**, disposées de façon à ce que les recombinaisons ne puissent se faire qu'entre segments D et J puis V et D pour les CH, et qu'entre V et J pour les CL.

Les recombinaisons V(D)J mettent en jeu une machinerie enzymatique composée des protéines **RAG-1 et RAG-2** (pour "Recombinaison Activating Gene") exprimées exclusivement dans les LB et LT et permettent la formation du TCR au niveau des LT.

Recombinaisons en 2 phases :

- Cassure du double brin d'ADN induite dans les RSS par les RAG. Formation d'un complexe synaptique et fermeture en structure en épingle à cheveux
- Identification, ttt et réarrangement des cassures (machine ubiquitaire de réparation de l'ADN) par l'enzyme **TdT**

C - Le BCR

Les LB portent des Ig sur leur surface, ancrés à la mb (IgS = BCR, rc spé du LB).

Le BCR est synthétisé selon le réarrangement génique avant toute rencontre avec l'Ag.

Chaque lymphocyte ne porte qu'un seul isotype κ ou λ (synthèse de λ lorsque la chaîne κ n'est pas fonctionnelle). Les IgS sont principalement des IgM qui peuvent être associées aux chaînes δ : la \mathcal{C} mature est donc IgM+ IgD+. L'IgS ne peut être que de type G ou M car les autres types ne sont pas exprimés à la surface des LB.

L'IgS a la même structure que les autres Ig sauf au niveau de l'extrémité C' des CH, qui est modifiée pour s'ancrer à la membrane, où elle peut se présenter sous forme mono ou dimérique, contrairement aux IgM du sérum qui sont forcément sous forme dimérique.

BCR assure la transduction du signal d'activation en collaboration avec des dimères CD79a et CD79b (partie cytosolique importante ++)

D - Molécules de surface du LB

1) Marqueurs de lignée B (*panB*) :

CD19, **CD20** (molécule du canal calcique, que sur \mathcal{C} matures), **CD22** (impliqué dans signal de transduction du BCR), **CD24**, **CD10** (molécule précoce de la maturation des LB, appelé aussi CALLA ; rôle important dans le diagnostic de la LAL)

2) Complexe *CD19-CD21-CD81*

Stabilise l'activation du BCR à tous les stades précédant le stade du plasmocyte.

Favorise la co-activation des LB et la signalisation en plus du BCR.

CD21 récepteur du fragment C3d du complément, co-stimule le BCR.

3) *CD32 (RFc γ IIA ou B)*

Récepteur du fragment constant γ (IgG) d'affinité intermédiaire (II). Codé par 2 gènes donc 2 formes possibles :

- RFc γ IIA sur phagocytes : déclenche l'endocytose, séquence ITAM activatrice de la phagocytose et sécrétion de cytokines inflammatoires
- RFc γ IIB sur phagocytes, mastocytes et LB : rétrocontrôle de la synthèse d'Ac, séquence ITIM inhibitrice

Un complexe Ag-Ac qui provoque un co-engagement des BCR et RFc γ -II B potentialise l'activation lymphocytaire mais exerce un rétrocontrôle sur la synthèse d'Ac de même spécificité → évite des recrutements cellulaires disproportionnés.

4) *CD40*

Rôle de communication entre T et B par liaison au CD40L.

BCR reconnaît un Ag → internalisation → ré-expression avec HLA II → présentation aux LT qui expriment alors le CD40 ligand

Activation de CD40 par CD40L induit la synthèse de CD86 et CD80 qui se lient au CD28 du LT → amplification de la réponse cytokinique du LT favorisant la différenciation des LB et la sécrétion d'Ac.

L'interaction entre CD40 et CD40L est un puissant signal de prolifération (production de clones), de prévention de l'apoptose et de commutation isotypique (switch isotypique)

II / Différenciation des lymphocytes B

Deux grandes phases :

Phase antigène-indépendante : Différenciation et maturation dans l'organe lymphoïde primaire (moelle osseuse). Passage de la cellule souche à la cellule lymphocytaire B mature naïve. Cette phase élimine les LB auto-réactifs pour établir la tolérance.

Phase antigène-dépendante : Production d'Anticorps et de LB mémoire dans les organes lymphoïdes secondaires (ganglions ou rate).

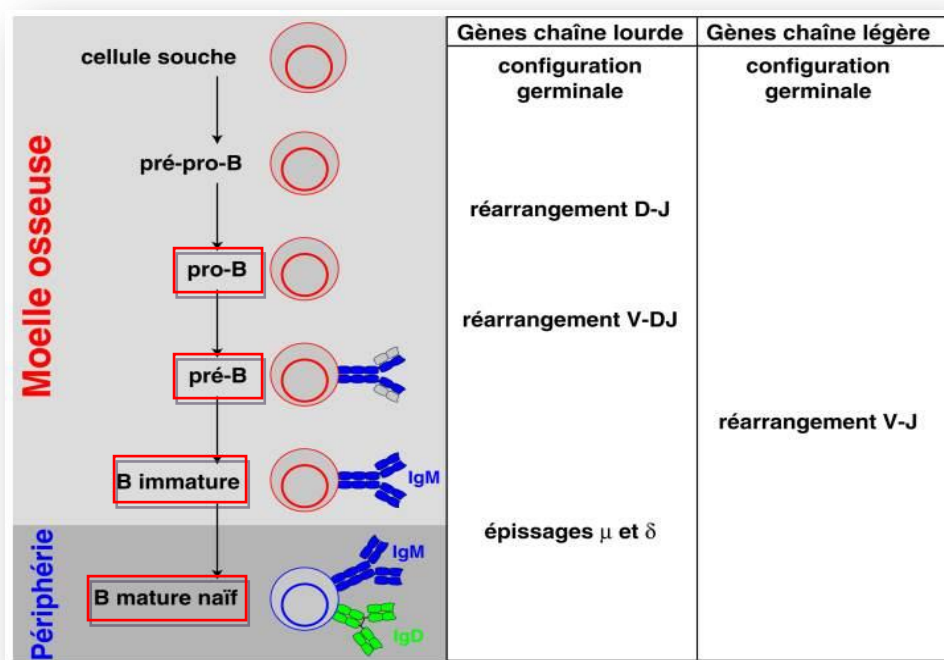
Rencontre avec l'Ag en périphérie ; stade de maturation terminale : formation de cellules effectrices, les plasmocytes.

A - Maturation antigène-indépendante

= La cellule souche (CD34+) peut s'engager vers la lignée B pour donner des LB (CD10+ (stade transitoire), CD19+ CD20+ CD22+ CD24+)

Orientation vers la lignée B par la δ° de cytokines par la cellule souche et sous l'influence de IL-7.

Pendant la maturation Ag-indépendante, il y a **4 stades de maturation** en fonction de l'expression des molécules de surface et réarrangements des gènes d'Ig. Ces stades sont peu visibles au plan morpho, mais visibles au plan génétique.



Pro = progéniteur Pré = précurseur

1- Stade pro-B

Réarrangements VDJ de type μ ;

Les molécules de surface suivantes apparaissent : CD19, CD22, CD79b.

2- Stade pré-B

Apparition transitoire de CD10

Expression du BCR sous forme de pré-récepteur

3- Cellule B immature

Epissages μ et δ .

Apparition des chaînes μ cytoplasmiques.

4- Cellule B mature naïve

Perte de l'expression de CD10

Acquisition des Ag de surface

Les LB matures circulent vers les organes lymphoïdes périphériques, et y circulent en attendant la rencontre avec un Ag spécifique.

- ⇒ Si pas de rencontre avec un Ag : ½ vie de 3 jours
- ⇒ Si rencontre avec un Ag : la différenciation a lieu → transformation pour la réponse immunitaire secondaire (*phase Ag-dépendante*) en :
 - **Plasmocyte**
 - OU
 - **LB mémoire**

B - Maturation antigène-dépendante

Elle a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires (gg°, rate, MALT) qui possèdent des zones B, zones T et follicules. Dans ces zones ont lieu :

- ⊙ **La rencontre entre LB et Ag spécifique**
- ⊙ **La commutation isotypique** : le LB, sous l'effet de cytokines, produit des Ig qui sont de même spécificité antigénique, mais **pas nécessairement du même isotype** (dépend du lieu de la réaction).
- ⊙ Les **hypermutations somatiques** : le LB, sous l'effet de cytokines, produit des \mathcal{C} filles qui ont un BCR identique au BCR initial, mais avec une **très forte affinité pour l'Ag** (sélection positive)

Les LB deviennent des cellules actives dans les follicules lymphoïdes.

Activation du LB (avec BCR spé à un Ag du non-soi) dans la zone para-corticale en 2 temps :

- ⇒ **1^{er} signal** : reconnaissance de l'Ag par le BCR (ne suffit pas à l'activer)
- **2^{ème} signal** : collaboration LB-LT CD4+ Th2 spécifique du même Ag : permet de recruter et d'activer les LT, et de différencier et d'activer les LB. Cette coopération fait intervenir :
 - Des molécules de surface CD40 (LB) – CD40L (LT)
 - Des cytokines IL4, IL5, IL6, IL10 (\$° par le LT) stimulent la production d'Ig et orientent le switch isotypique.

La **collaboration T-B** déclenche la **division de la cellule B** :

- ✓ une petite partie se différencie en plasmocytes sécréteurs d'Ac de faible affinité
- ✓ la majeure partie des cellules B colonise un follicule lymphoïde primaire dans la zone corticale et forme alors le **centre germinatif** de ce follicule. Il se produit alors la **commutation (= switch) isotypique** (change la classe de l'Ig, orienté par les cytokines et CDF) et les **hypermutations somatiques** (↗ l'affinité à l'Ag par mutations ponctuelles dans les régions V).

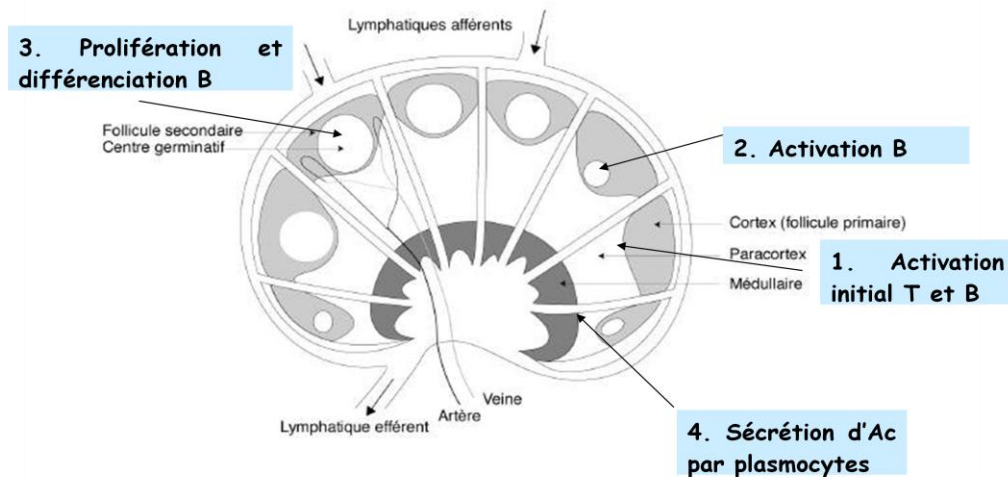
→ **Sélection positive** des LB dont le BCR a subi une maturation d'affinité pour l'Ag. Transfo en plasmocytes, et en LB mémoire qui a donc un BCR de forte affinité et qui reste dans les organes lymphoïdes secondaires, prêt à répondre de nouveau au même Ag.

1) Structure du ganglion :

Entrée par les lymphatiques afférents, sortie par les efférents.

Zone para-corticale	Zone corticale	Zone médullaire
Activation initiale du LB	- Follicule primaire si pas de réaction immunitaire - Follicule secondaire (apparition d'un centre germinatif) si RI (prolif des \mathcal{C})	- cellule lympho-plasmocytaire (intermédiaire entre plasmocyte et petit LB) - Relargage des \mathcal{C} dans la circulation, ainsi que les Ig, qui vont aller former les complexes immuns.

Localisation histologique des lymphocytes B



2) Sélection

Les follicules lymphoïdes sont un lieu de prolifération intense (LB deviennent matures) et d'apoptose intense (mort des LB en l'absence d'Ag).

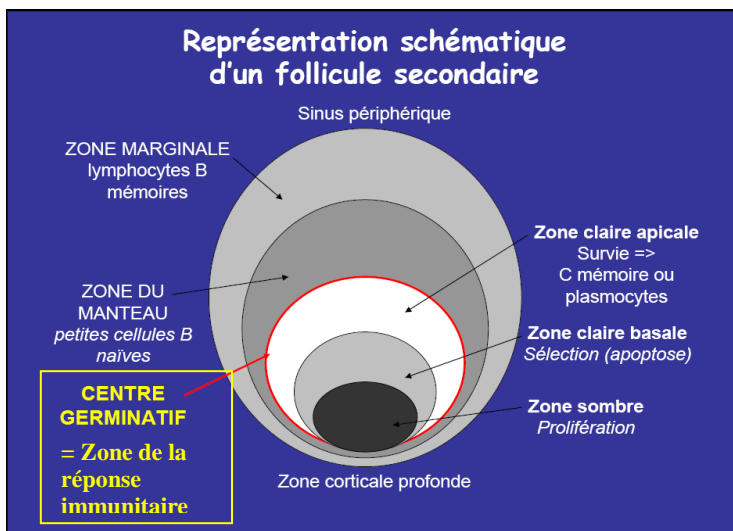
A la sortie de l'organe lymphoïde primaire (MO) les LB sont poly-réactifs et auto-réactifs ; la sélection a lieu dans le follicule lymphoïde secondaire (centre germinatif) avec mise en place d'un répertoire spécifique et sans auto-réactivité.

Les follicules primaires sont constitués de nombreuses cellules dendritiques folliculaires (CPA). Les LB auto-réactifs sont supprimés, ceux dirigés contre un Ac spé subissent une phase d'expansion clonale et se différencient en plasmocytes.

L'accès à l'organe lymphoïde secondaire (= « niche de survie ») n'est possible qu'aux LB dirigés contre un Ag étranger (apoptose des auto-réactifs). Initiation de la réponse dans la zone T, puis migration de quelques LB dans les follicules primaires, pour créer les centres germinatifs, où ont lieu :

- Expansion clonale
- Hypermutations somatiques
- Sélection positive des LB spé de l'Ag
- Différenciation en plasmocytes et LB mémoires (maturation BCR)

3) Le follicule secondaire (= possède un centre germinatif)



→ Les LB activés entrent dans le follicule, se multiplient, et migrent dans la

Zone sombre du CG = PROLIFERATION

Ils sont alors appelés **Centroblastes** (IgM-, CD5- et CD38+).

Zone du manteau = petits LB naïfs recirculants : IgM+, IdD+, CD5+

→ Les centroblastes se divisent, mutations somatiques et modif de la spé isotypique ;

Zone claire CG = transfo en centrocytes (ZC basale puis apicale (LB mémoire y restent))
Maturation finale du LB : Plasmocyte et LB mémoire

III / Lymphocytes B mémoires

- ✓ Quiescents (phase G0) ; Ils diffèrent des LB naïfs par leur durée de vie plus longue et leur nombre d'IgS plus faible mais de meilleure affinité pour l'Ag.
- ✓ L'Ag spécifique (même à faible concentration) peut se fixer au LB mémoire pour le réactiver (→ réponse immunitaire secondaire).
- ✓ LB mémoire présente un CMH II (+++) et CD27 +

IV / Sous-populations des LB

On étudie l'évolution de la maturation des LB grâce à des marquages.

IgD+ CD38-	IgM+ CD27-	LB naïfs ; arrivent dans gg^o , se dirigent vers follicules.
IgD+ CD38+	IgM+ CD27-	LB pré-centre germinatif, dans le follicule
IgD- CD38-	IgM+ CD27+	LB mémoire. Seuls à porter le CD27 (sert en clinique à étudier les déficits immunitaires en LB mémoire)
IgD- CD38++	IgM+ CD27+	Plasmoblastes : futurs plasmocytes, dans le centre germinatif.

V / Pathologies

- **Leucémies lymphoblastiques** (touchent progéniteurs dans la MO)
- **Leucémies chromiques B** (touchent cellules qui quittent la MO et pré-centre germinatif)
- **Lymphomes du centre germinatif** (avant le CG : pathologies SANS réarrangements des gènes des Ig, après le CG : pathologies AVEC réarrangements)
- **Lymphomes du manteau**
- **Lymphomes de la zone marginale**
- D'autres types d'**hémopathies** touchant les cellules sorties du follicule, etc...