

## **CONTENU**

Système d'échappement au LT .....	2
I-Présentation des AG au LT.....	3
II-TCR – Récepteur des cellules T .....	4
A/Caractéristique du TCR.....	4
B/Structure du TCR.....	4
C/ TCR et cellules T - Expériences de Zinkernagel et Doherty.....	4
D/ TCR – Structure suite .....	6
E/Expérience fait avec la microscopie confocale.....	7
F/Différence entre IG et TCR.....	8
<b>IV- Le thymus</b> .....	8
A/ La structure du thymus :.....	8
B/ Sélection positives ou négatives .....	9
C/ Cellules négatives ou positives.....	9

*Pour l'examen :*

*Il y a 3 questions : une heure pour le traiter, il faudra ne pas écrire beaucoup mais montrer qu'on a compris.*

*Si on demande un tableau il faut faire un tableau, si elle veut un schéma faut faire un schéma.*

*Se focaliser sur ceux qu'il faut réviser avec la liste des questions*

*Il faut bien définir les sigles qu'on utilise*

On avait parlé de la préparation des antigènes pour être présente par les cellules T.

En fait il y a des moyens qui ont été développés par les virus pour échapper à la reconnaissance des LT.

Des exemples de protéines virales pour échapper aux reconnaissances des LT.

### **SYSTEME D'ÉCHAPPEMENT AU LT**

Certains virus "échappent" au système immunitaire en inhibant ou bloquant la présentation par le MHC classe I :

Pour bloquer ou inhiber l'expression des molécules HLA à la surface des cellules :

- **BLOQUER L'ENTRÉE OU LA SORTIE DU CMH DES PEPTIDES:** la molécule **d'évasine**, qui bloquent l'entrée des peptides.  
Les peptides vont s'accumuler et ils ne vont pas pouvoir sortir car ils n'auront pas le chargement des peptides
- Des molécules **E19** **BLOQUE PAR UNE COMPÉTITION** la fixation des molécules MHC avec la tapasine.  
La tapasine c'est la molécule qui fait le lien entre le transporteur TAP et la molécule du MHC.  
Si on a un surplus de molécule type E19, on va avoir **par compétition** la fixation de ces protéines qui empêche la fixation des protéines du MHC car ils n'arriveront pas à se placer au niveau des transporteurs TAP.
- Les **protéines de cytomégalovirus** qui s'associe aux MCH pour finalement les bloquer et faire pour qu'il soit complètement les disloquer et les faire retourner à l'intérieur de la cellule et sans pouvoir avoir chargé les peptides à la surface.
- **LE DETOURNEMENT** des molécules du MHC même s'il arrive à être chargé avec le peptide et sortir du réticulum. Même s'ils sont dans les vésicules, ils peuvent être détournés et ne plus être aptes à aller à la surface.

Ce ne sont pas des vus de l'esprit, ils existent bien des systèmes bien spécifiques qui ont pour but le détournement de ces protéines.

Il n'y a pas mal de molécules virales montrées aussi bien chez l'animal que chez l'Homme.

## I-PRESENTATION DES AG AU LT

On a vu l'autre jour la présentation des Antigènes peptidiques par les MCH.

On va voir ce qui se passe de l'autre côté : càd au niveau des récepteur T pour l'antigène.

2 récepteurs spécifiques des AG : TCR (récepteur des cellules T) et BCR (récepteur des cellules B)

Le TCR "voit" les antigènes qui étaient à l'intérieur de la cellules et qui sont "montrés" par les molécules du MHC

- MHC classe I présentent des molécules modifiées présentes dans le cytosol
- MHC classe II présentent des molécules modifiées présentes dans les endosomes.

\*Modification de protéines naïves en peptides antigéniques pour que la présentation soit possible par le MHC au TCR

Il y a une transformation –procéssing pour modifier ces protéines naïves en protéines visibles par les TCR.

- Les antigènes présentés par les molécules MHC classe I sont reconnus par les T CD8<sup>+</sup> (CTL = cytotoxic T lymphocytes).
- Les antigènes présentés par les molécules MHC classe II sont reconnus par les T CD4<sup>+</sup> (T<sub>Helper</sub>): aident à la coopération avec les cellules B pour permettre la production d'AC.

Ce qui a été déterminants pour la compréhension des interactions entre une molécule qui est sensé reconnaître les Ag et les molécules qui présentaient les peptides c'est :

- LES EXPERIENCES DE ZINGERNAGEL ET DOHERTY montrent que la cytotoxicité des cellules T n'est pas seulement spécifique de l'AG, mais aussi elle est spécifique pour les antigènes du MHC de l'individu. En fonction des individus et des allèles MHC tout le monde ne va présenter les même peptides. On aura pas tous la même capacité dans nos poches peptidiques à fixer les memes vesicules d'AA
- D'autres expériences ont permis de MONTRER LA RESTRICTION DES MHC Classe 1/CD8 et MHC Classe 2 T Helper.

Donc, les **TCRs sont spécifiques pour l' antigène ET pour les déterminants du MHC classe I ou classe II** (i.e., MHC restricted-recognition of antigen)

On reconnaît l'AG aussi par l'intermédiaire du MCH.

Le polymorphisme du MHC détermine quels antigènes peuvent être présentés, on choisit l'AG va être présentés et quelles peptides et quelle cellule T peut reconnaître l'antigène car on aussi la restriction du MHC.

Les déterminant du MHC vont conditionnés la reconnaissance des AG qui pourra être reconnu par le bon TCR de l'AG.

## II-TCR – RECEPTEUR DES CELLULES T

### A/CARACTERISTIQUE DU TCR

- Ce récepteur T pour l'AG d'une part à **une expression membranaire**
- Pas de forme soluble = le TCR ne se balade jamais seul, il est toujours lié aux LT, contrairement au BCR qui existe lié et sous forme soluble
- Interaction Ag/ récepteur est de **très faible affinité** : donc si jamais on avait que ces 2 molécules sans tous les autres acteurs l'interactivité est très faible (= chance de rencontre - - -)
- TCR spécifique pour AG + CMH
- Codé par les gènes différents des Ig :

### B/STRUCTURE DU TCR

- C'est un hétérodimère qu'on qualifie en fonction de leurs chaînes:  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$  : ces deux spécifications donnent naissance aux deux types majeurs de cellules T qu'on connaît  $\phi$  T  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$ .
- Ce TCR est associé au complexe CD3 pour permettre la transmission du signal à l'intérieur de la cellule. Le récepteur T s'il n'avait pas ses molécules ne pourrait transmettre aucun signal dans la cellule)

### C/TCR ET CELLULES T - EXPERIENCES DE ZINKERNAGEL ET DOHERTY

Au début des années 70, il y a développement de clones (=deux individus génétiquement identique) de Cellules T cytotoxiques CTL dans les modèles murins.

Ils ont permis différentes observations :

- Les souris infectées par virus de la chorioméningite (LCM=leucocytic choriomeningitis) produisent **des cellules capables de lyser des cellules infectées *in vitro***,
- Si on changeait les virus et mettait en place des LT qui sont censés reconnaître d'autres virus ça ne marchait plus du tout,  
⇒ *Il y a bien une reconnaissance spécifique*
- Ces cellules sont incapables de se fixer sur le virus libre c'est-à-dire un virus qui présente tous les Ag, ça laisse penser que  $\phi$  T ne reconnaît pas tout l'Ag : seulement une partie Ag  
⇒ Processus de reconnaissance des Ag par cellules T différent de celui des Ac
- **Expériences de Zinkernagel et Doherty 1974** (Prix Nobel 1996) ont permis de définir **LA RESTRICTION AU SOI** : une  $\phi$  T va reconnaître un Ag étranger seulement dans le contexte de son propre MHC.  
⇒ Paradoxe avec la reconnaissance d'Ag étranger non pas viraux mais bactérien mais d'un tissu qui porte un MHC  $\neq$ .
- On se demandait si y avait un modèle double récepteur ou soi modifié  
⇒ Mais la conclusion c'est que y avait un seul récepteur qui pouvait permettre de faire cette reconnaissance.

Source de CTLs		Cible utilisée dans test de cytotoxicité in vitro			
		MHC <sup>a</sup> 0 virus	MHC <sup>a</sup> infectée par virus X	MHC <sup>b</sup> 0 virus	MHC <sup>b</sup> infectée par virus X
MHC murin	Immune pour virus X ?	CTL cytotoxicité de la cible in vitro?			
MHC <sup>a</sup>	non	Non	Non	Non	Non
MHC <sup>a</sup>	oui	Non	oui	Non	Non
MHC <sup>b</sup>	non	Non	Non	Non	Non
MHC <sup>b</sup>	oui	Non	Non	Non	oui

CTLs sont spécifiques pour l'antigène et MHC<sup>a</sup> (classe I pour CTLs)

CTLs sont spécifiques pour l'antigène et MHC<sup>b</sup> (classe I pour CTLs)

Zinkernagel and Doherty, Nature, 1974

**Explication de l'expérience de Zinkernagel et Doherty:**

**PROTOCOLE EXPERIMENTALE : IN VITRO**

**Dans les cellules cytotoxiques** (colonne gauche verticale)

Ils ont utilisé de sources CTLs qui provenaient soit de souris qui ont le MHCa ou MHCb donc deux souches d'individus différents.

Ces CD8 soit ils ont été dopées pour reconnaître un virus X soit non dopées (non spécifique pour un virus) pour les 2 sous populations.

**On a les cibles** utilisées pour les tests de cytotoxicité in vitro (ligne haut horizontal)

Soit on a des MHCa non infectées, soit un MHCa infectées par un virus X, soit un MHCb sans virus, soit des MHCb infectées par virus.

**QUESTIONS ?**

**QUEL EST LA CELLULE T CYTOTOXIQUES QUI VA ETRE CAPABLE DE LYSER LES CELLULES QU'ON LUI PRESENTE(CIBLE) ?**

**RESULTATS :**

Si on s'intéresse aux premiers types de MHCa :

- 1) Quand on a une cellule présentatrice non infectées par le virus : qu'on ait un TCR dopée ou pas il n'y aura pas de lyse cellulaire, rien n'est reconnu dans la cible.
- 2) Quand on a la cellule type A infectées par la virus X si on la met en présence par les TCR non dopées il n'y a pas de lyse
- 3) Quand on utilise de CTL cytotoxique dopées/actif il y a une lyse importante des cellules infectées par le virus
- 4) Si on s'adresse à des molécules qui présentent le MHCb ( l'autre souche) : qu'il y ait CTL dopées ou pas contre le virus, il n'y a pas de réponse spécifique.

La surprise c'est qu'on utilise des CTL de type A alors que la cellule possède un MHCb il n'y a pas de lyse cellulaire.

C'est inversé pour le CTL type B ☺

### CONCLUSION

Pour qu'il y ait une reconnaissance il faut qu'il y ait une compatibilité entre les 2 systèmes : les CTL doit être compatible avec les MCH sinon ils ne pourront pas collaborer.

LES CTL sont donc SPECIFIQUES à l'AG et au MHC pour pouvoir fonctionner

REPROCHE A L'EXPERIENCE qui peut conduire à des biais (non démontrer mais suggérer ☺GILSON POWA)

On est dans un système binaire et y a pas le microenvironnement in vivo n maîtrise tous les paramètres, sans que d'autres cellules puissent intervenir  
On élimine les interactions moléculaires et cellulaires

ATTENTION : des questions peuvent être posées sur le tableau, il faudra redonner les résultats et l'expliquer et donner la bonne conclusion

Moment lèche cul/histoire : Elle aime bien cette expérience, car ils sont partis de concepts très compliquées surtout en 1974 où ils n'avaient aucune idée de la fonction HLA. Ils ont posé la 1<sup>e</sup> pierre. Il a fallu attendre 1987 est la cristallisation des molécules HLA pour comprendre comme étaient présenter le peptide viral. Ces expériences sont les fondements de la compréhension de la réponse immunitaire. Concept particulièrement important !! C'était une conclusion révolutionnaire pour l'époque.

### D/ TCR – STRUCTURE SUITE

Les TCRs appartiennent à la SUPERFAMILLES des IG MAIS CE NE SONT PAS DES IMMUNOGLOBULINES : ce sont des Ig-LIKE (☺ Gabriel Glory Time on arrête se la jouer Mr le professeur polyglotte « it's terrible » tu émoustilles la prof).

Ce sont des hétéros dimères :

- La région cytoplasmique COURTE fait que ça ne permet pas de transmettre entre cette molécule à la surface et à l'intérieur de la  $\phi$  : un signal directement efficace de différenciation ou de prolifération aux cellules T.
  - ⇒ Ce récepteur T pour l'Ag est un récepteur de reconnaissance.
  - ⇒ Si on n'a pas le complexe de CD3 qui permet l'activation de la cellule B il n'y a pas non plus d'activation de la cellule T

Ce récepteur est monovalent, il y a un domaine variable sur chaque chaîne et quatre régions hypervariable.

### AC MONOCLONAUX

Comment on a découvert les TCR ?

On a produit un grand nombre d'AC monoclonaux dirigés contre divers clones de  $\phi$  T, puis on a fait un criblage dirigé contre tous les clones jusqu'à sélectionner un AC spécifique d'un seul clone = AC clonotypique.

C'est un AC qui ne reconnaît qu'UN seul clone de cellule T) ce qui a permis d'isoler le récepteur T pour l'AG.

Le fait d'avoir ces AC monoclonaux a permis de connaître la forme moléculaire du TCR puis ensuite sa structure.

⇒ Il a donc fallu avoir le bon outil pour identifier le TCR et connaître sa structure

Difficulté : Quand on produit des AC monoclonaux on va avoir beaucoup d'AC qui reconnaît des régions constantes, il est donc important d'avoir un très grand nombre de clones  $\phi$  T.

### E/EXPERIENCE FAIT AVEC LA MICROSCOPIE CONFOCALE

Il permet d'analyser les coupes de la cellule pour réellement voir comment se passe dans la molécule à un moment donné, par exemple si on fait une stimulation.

On a :

- APC ( cellule presentatrice de l'AG) ,
- TC ( cellule T cytotoxiques)
- On a le marquage :
  - du TCR avec l'ag
  - de l'actine (molécule du cytosquelette)
  - le marquage de l'ezrin qui s'associe au cytosquelette d'actine).

On doit comprendre la dynamique qu'il y a et pourquoi c'est nécessaire de voir qu'il y a des interactions fortes entre le TCR et la cellule présentatrice d'ag

Lorsqu'il y a une activation,

- on voit que la CTL qui reconnaît une Ag sur la cellule présentatrice va complètement modifier sa forme et se mettre en contact maximum avec la  $\phi$  présentatrice.
- Il y a une relocalisation importante de ???
- De façon très active on va avoir une **relocalisation et une polymérisation** très importante des molécules du cytosquelette d'actine : c'est fondamental
  - ⇒ Il faut comprendre que tout ça bouge et qu'y a beaucoup de mouvement dans la cellule et que ce mouvement lié à la présence d'un cytosquelette efficace.

**Ex :** Si dans nos cellules, affectées par un virus et tuées par CTL, c'est les CTL qui se mobilisent pour modifier son actine .Si on n'a pas cette relocalisation, cette activation & cette polymérisation on ne pourra pas avoir une cytotoxicité efficace.

Sur la photo on voit qu'il y a les molécules d'ezrin se sont associées avec l'actine et qu'il y a une amplification et modification de la molécule d'ezrin.

On va pas trouver comme dans tous les AC de non attaché dans la cellule, sous une forme qui n'est pas attaché à une cellule, il est compris dans la cellule T. Il ne peut pas être sous une forme libre de la cellule il est toujours intégré dans les cellules T. Alors que pour les Ac il y a des molécules.

Les IG en générale c'est quand on parle d'ac spécifique d'un ag.

Quand on parle d'un AC c'est un Ig qui est SPECIFIQUE à un antigène.

Quand on fait un dosage d'Ig on ne demande pas de dosage d'Ac.

Les Ac font partie des Ig mais pas l'inverse !

### F/DIFFERENCE ENTRE IG ET TCR

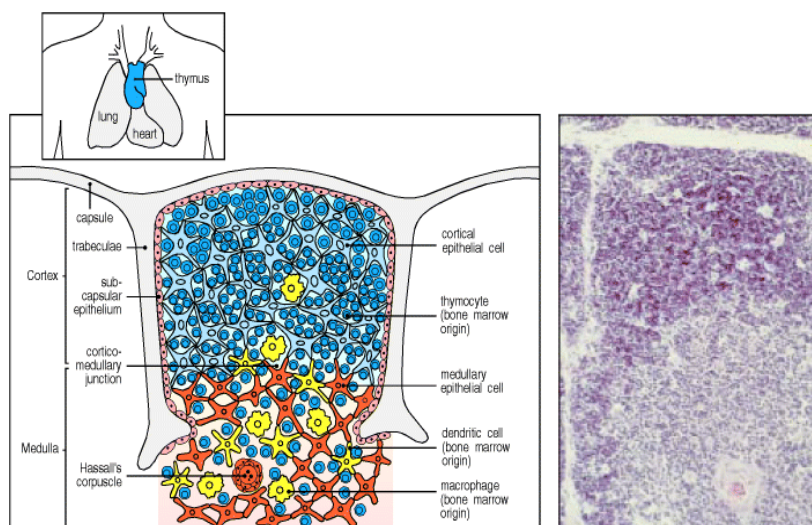
Ig	TCR
Dimère	Monovalent
Deux sites de reconnaissance	Un site de reconnaissance
Reconnait un Ag en entière	Reconnait les Ag présenté par les MHC
	Reconnait un Ag modifiée/processé
	Codé par des gènes ≠ mais avec des recombinaisons

Commun :

- Nécessite une transmission du signal par d'autre facteur.
- Présence de plusieurs chaînes

Les marqueurs CD3 ou CD2 permet de connaitre le nombre total de LT. Mais on détermine toujours le ratio entre CD8 et CD4.

## IV- LE THYMUS



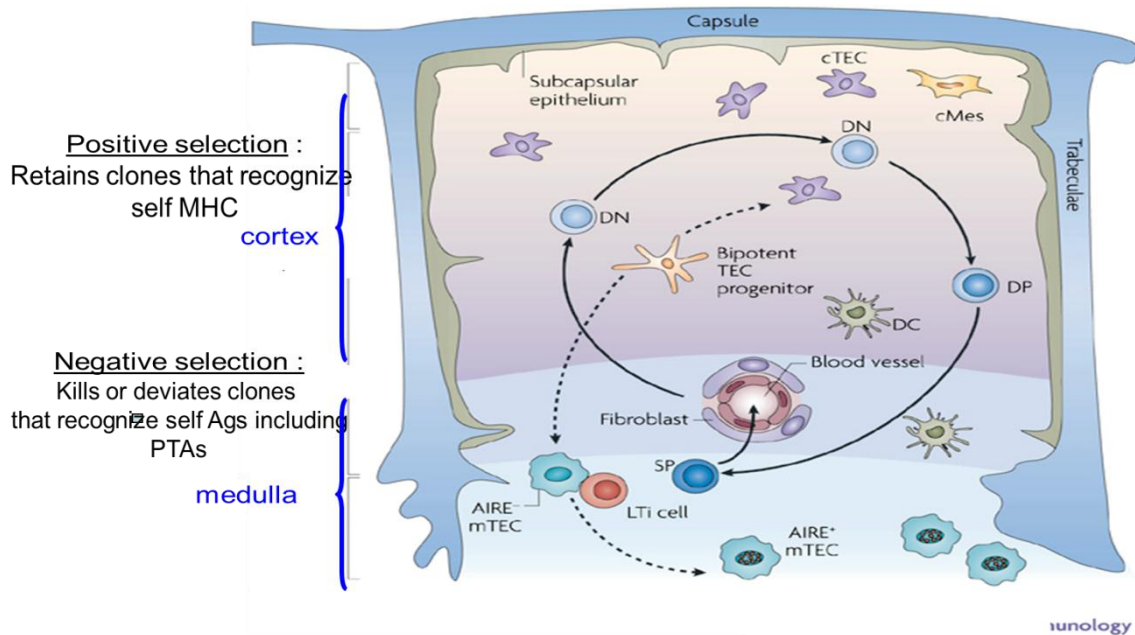
### A/ LA STRUCTURE DU THYMUS :

Il y a une perte cellulaire entre le cortex et la médullaire :

➤ Dans la corticale : il y a **les  $\epsilon$  épithéliale du cortex** sont très importants. Ce sont elles qui vont donner les signaux de sélection des LT

- Les  $\epsilon$  épithéliale de

la médullaire, il y en a beaucoup moins.



### B/ SELECTION POSITIVES OU NEGATIVES

Les précurseur des LT arrivent dans la corticale, qui vont avoir la plupart des signaux de mort car ils n'ont pas les compétences pour devenir des LT, il va y avoir une élimination très importante des thymocytes au niveau du cortex mais aussi au niveau de la médullaire.

Ces éliminations ont des causes différentes, on différencie la sélection positive & négative:

- Au niveau du cortex : c'est la **SELECTION POSITIVE**: Cette sélection élimine les cellules qui ne reconnaissent PAS ASSEZ les MCH
- Au niveau de la médullaire c'est la **SELECTION NEGATIVE**: Cette sélection élimine les cellules qui reconnaissent TROP le MCH → risque de réaction auto-immune

/!\ ≠ entre la sélection négatives et positives & les cellules négatives ou positives

### C/ CELLULES NEGATIVES OU POSITIVES

**!** Les cellules positives et négatives fait référence à la présence ou non de marqueur CD4 et CD8.

Une fois que le précurseur entre dans le thymus et dans qu'il est dans le thymus on les appelle les thymocytes : ils possèdent des marqueurs de surface.

- Au départ ce sont des cellules doubles négatives qui n'expriment pas de marqueurs
- au cours de la différenciation ils vont exprimer dans un premiers temps à la fois le marqueur CD4 et CD8
- Au cours de la maturation quand ils vont passer du cortex à la médullaire, il y a des changements importants pour le TCR et des marqueurs de surface.
  - La cellule double positive va passer en simple positive soit CD4 soit CD8

Ces événements ont lieu dans le thymus : il y a donc un environnement cellulaire, moléculaire et cytokiniques qui permet cette différenciation.

Il y a beaucoup d'étapes qui sont pas très clair notamment quels sont les initiateurs où persiste des désaccords.

« L'immunologie c'est intéressant et qui y a beaucoup d'avenir »

Au cours de la différenciation il y a des molécules : a des molécules particulières qui changent de formes.

Au stade précoce il y a deux chaînes de ces fameuses molécules qui sont exprimées,

Au stade tardif : il n'y a plus qu'une seule forme

Il y a des changements extrêmement importants qu'on ne connaît pas tous : il y a beaucoup de molécules qui sont modifiées et qui déterminent la différenciation en CD4 ou CD8 mais pour l'instant on n'a pas tous les clés.

Double négative : pas de marqueur CD4 ni CD8

Double positive : acquiert les marqueurs CD4 et CD8 : pas encore un LT mature mais ne connaît pas encore dans quel voie il va se diriger.

Simple positive : ne garde plus qu'un seul marqueur CD4 ou CD8

Les CD4 et CD8 sont reliés au TCR ce sont des corécepteurs fondamentales pour l'interaction entre le TCR et le MCH :

- Ils vont interagir avec des parties constantes du MHC au moment du contact entre la cellule présentatrice et le TCR. & permettent de renforcer la liaison forte entre le MHC et le TCR.
- Permet le recrutement de molécule ≠ lors de l'activation en fonction du type de CD4 ou CD8

**Question-Reponses**

Quand est ce que les CD3 arrivent ?

Ils vont l'acquérir au moment où ils deviennent simple positive en même temps que la maturation.

Les lymphocytes T  $\gamma\delta$  ne subit pas la même différenciation que les  $LT\alpha\beta$  (qu'on voit depuis ta l'heure).

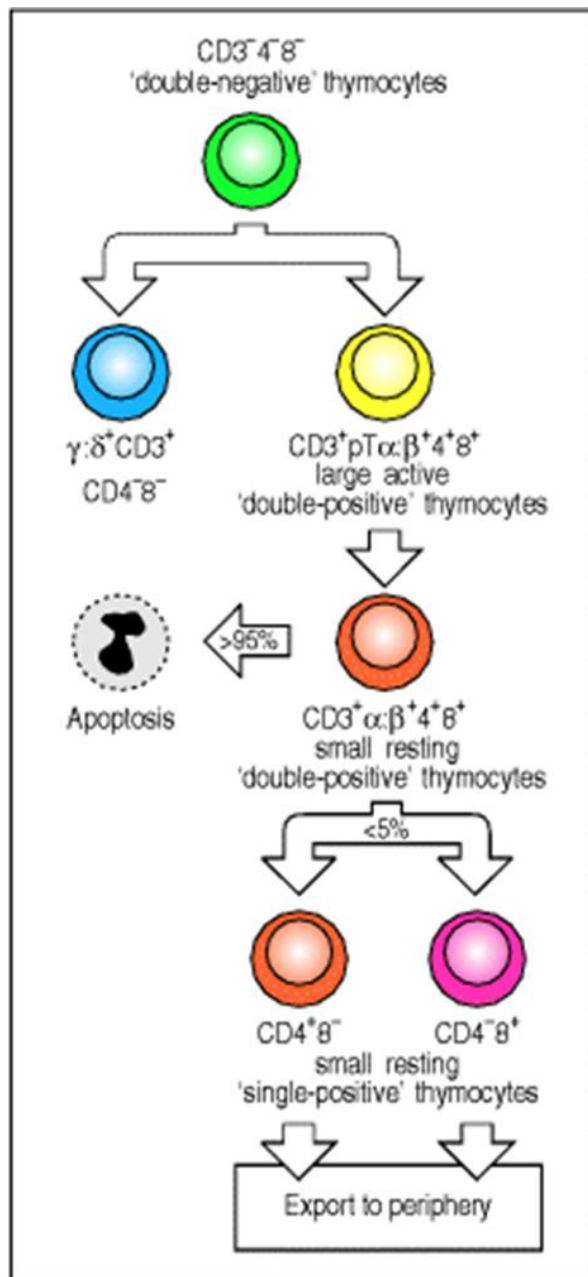
Au cours de la maturation on va avoir le stade où on a des doubles positives qui comment à exprimer des CD3 et un pré récepteur  $T\alpha\beta$ , pas encore prêt à reconnaître un antigène, il a encore besoin d'être modifier. C'est là que y a la sélection positive où il y a 95% des  $\phi$  qui meurent par apoptose.

A ce moment-là il reste des  $\phi$  qui ont des CD3, qui ont un vrai TCR et qui deviennent des petits thymocytes double positifs : y a un changement de taille

Ces changements moléculaires sont concomitants.

Sur les 5 % qui restent, il va y avoir des simples positives. On obtient donc des LT naïves qui n'ont jamais été en contact avec un Ag et qui seront exportées vers la périphérie.

On oublie trop qu'en fait tout ce fait se passe dans **un contexte d'interaction cellulaire** avec les  $\phi$  épithéliaux thymiques, avec un vrai stroma  $\phi R$ , si on n'a pas de cellules thymiques capable de monter les Ag du CMH les sélections ne peuvent pas se faire.



Il ne faut pas oublier que c'est dans le thymus que va se générer la diversité du TCR pour l'Ag. Si on peut reconnaître autant d'Ag  $\neq$  c'est parce que il y a des réarrangements des gènes. Des réarrangements de la chaîne  $\beta$  et de la chaîne  $\delta$  après.