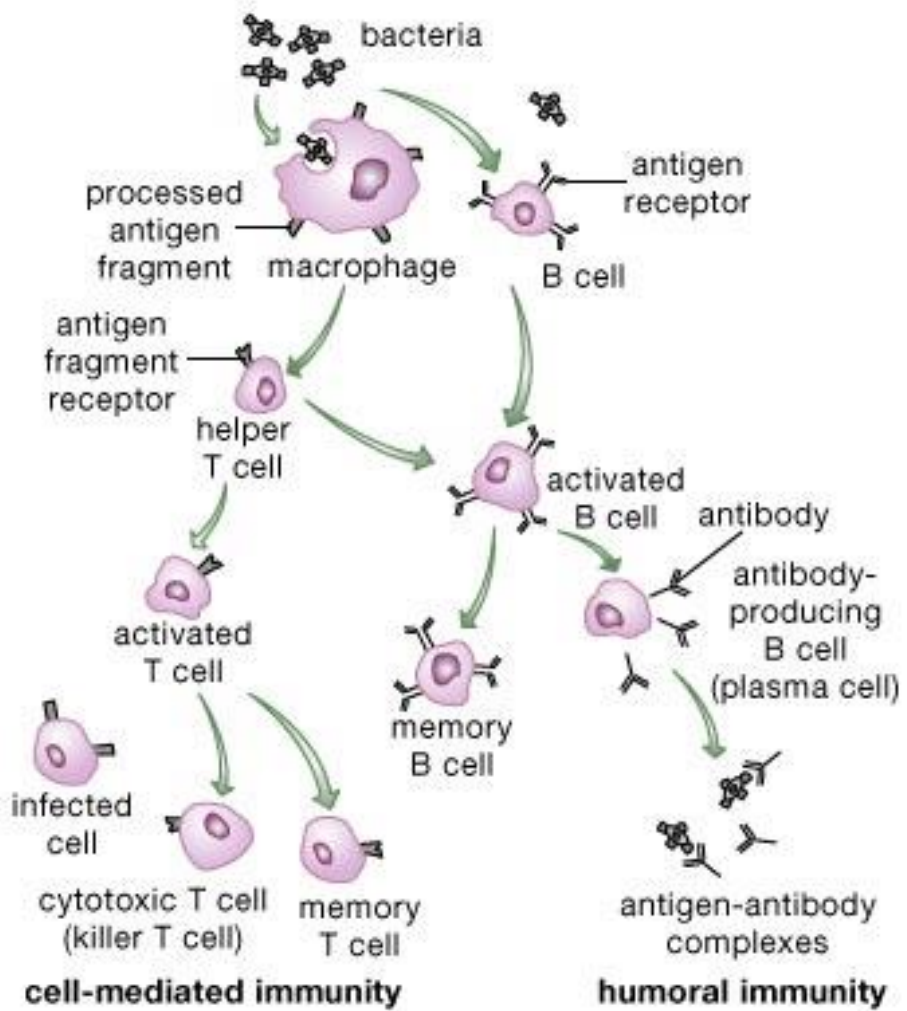


Bases fondamentales: Lymphocytes B et rupture de tolérance

Dumoitier Nicolas
30/09/2016

Immunité humorale

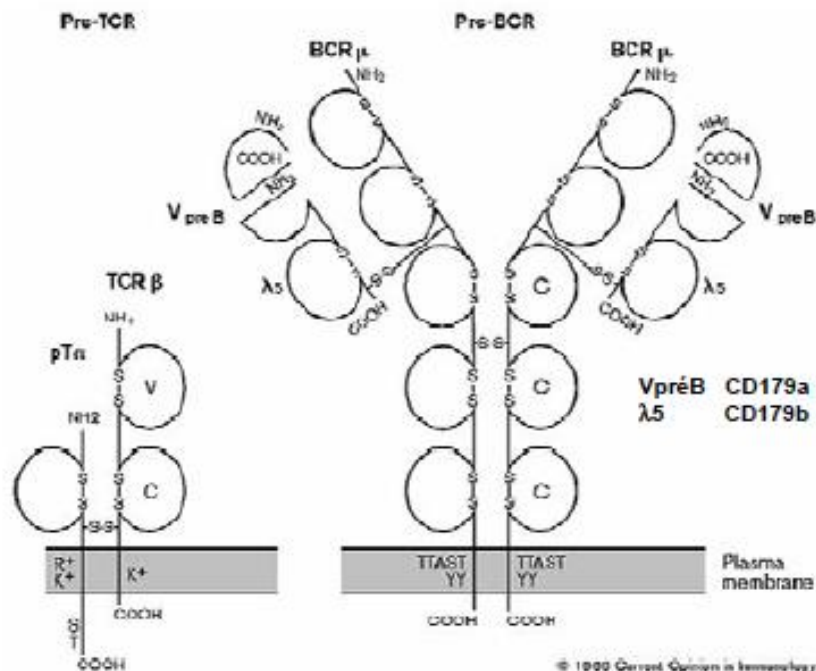
- Les lymphocytes B, stimulés spécifiquement par l'antigène, se multiplient et se différencient en plasmocytes sécréteurs d'anticorps.
- Ces anticorps, dont la structure est très proche de celle des récepteurs B, vont se lier à l'antigène.



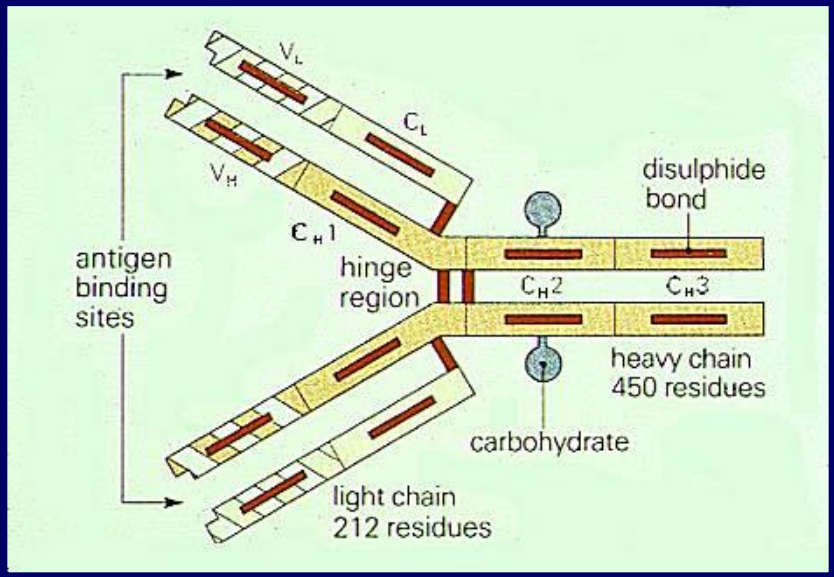
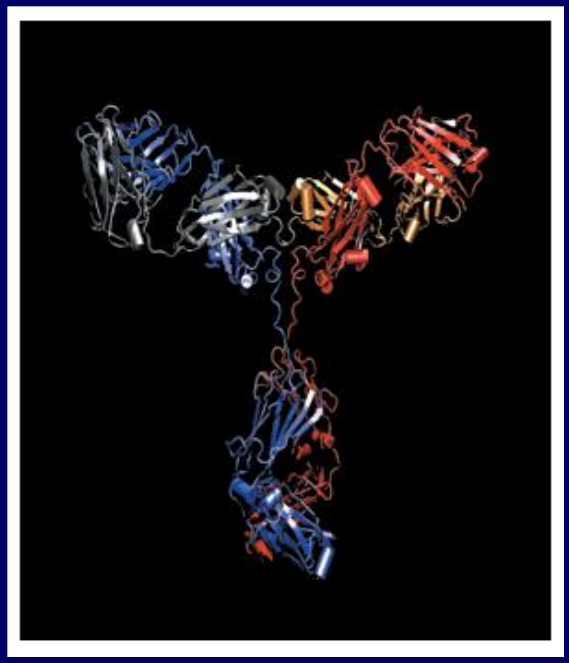
cell-mediated immunity

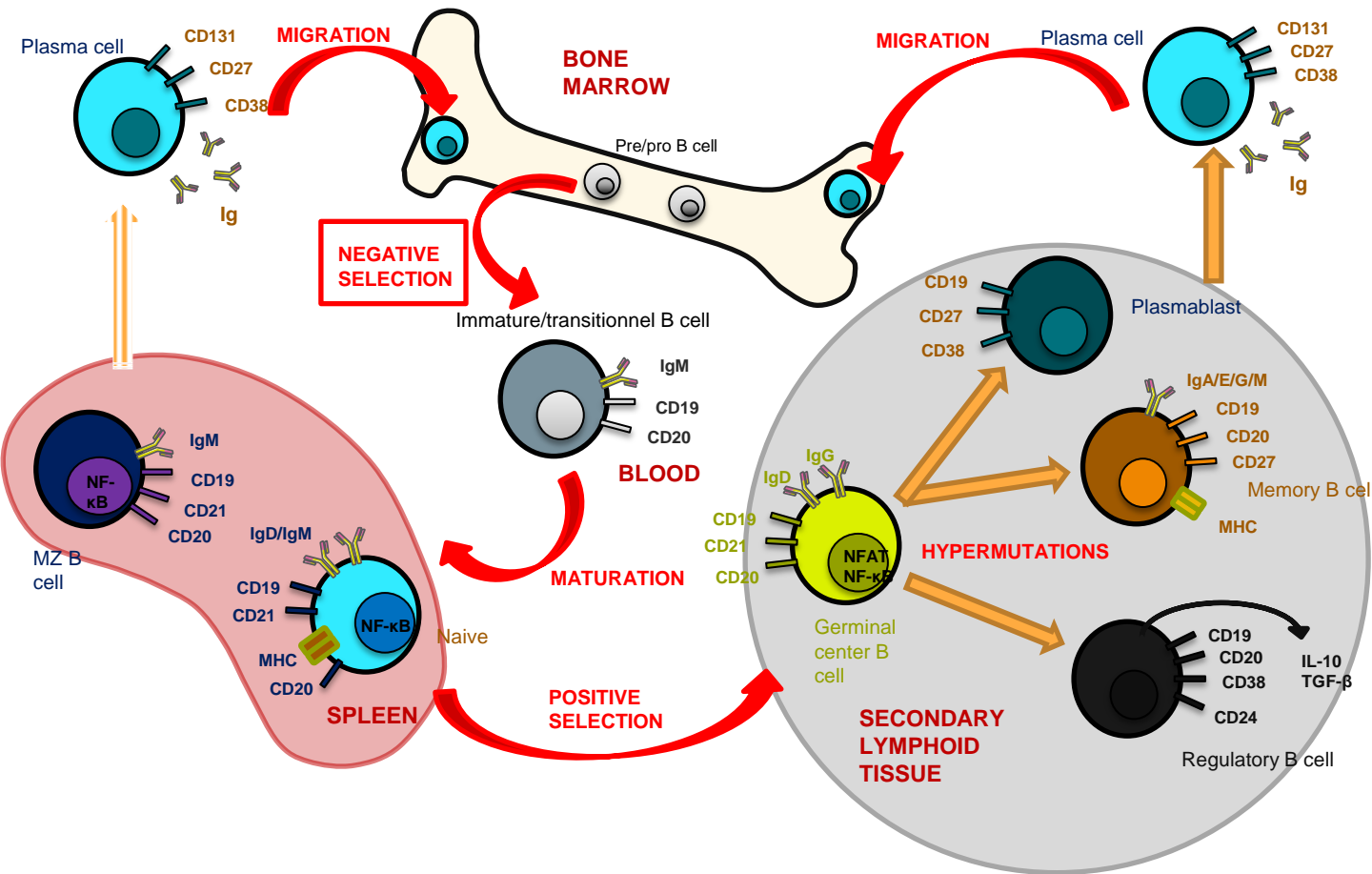
humoral immunity

Caractérisation du pré-BCR



Immunoglobuline G

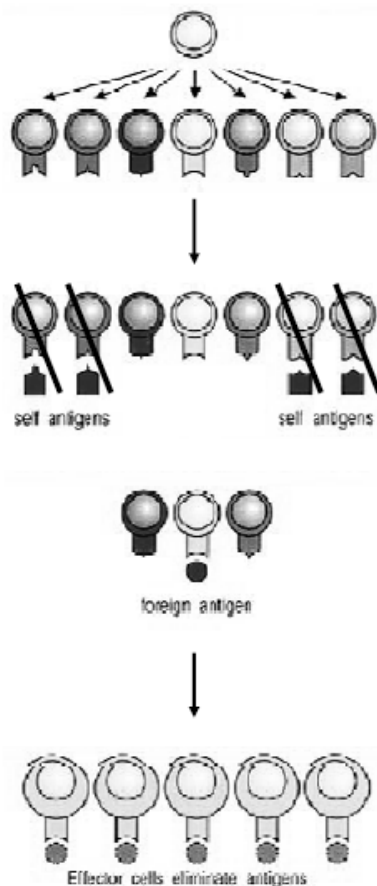




Théorie de la sélection clonale

Burnet (1899–1985)

- Chaque lymphocyte exprime un type unique de récepteur spécifique d'antigène
- Les lymphocytes exprimant un récepteur dirigé contre un antigène du soi sont éliminés lors de la différenciation
- La liaison avec une bonne affinité d'une molécule étrangère et d'un récepteur entraîne l'activation du lymphocyte
- Les cellules effectrices différenciées à partir d'un lymphocyte activé donné expriment des récepteurs de même spécificité



Un paradoxe génétique

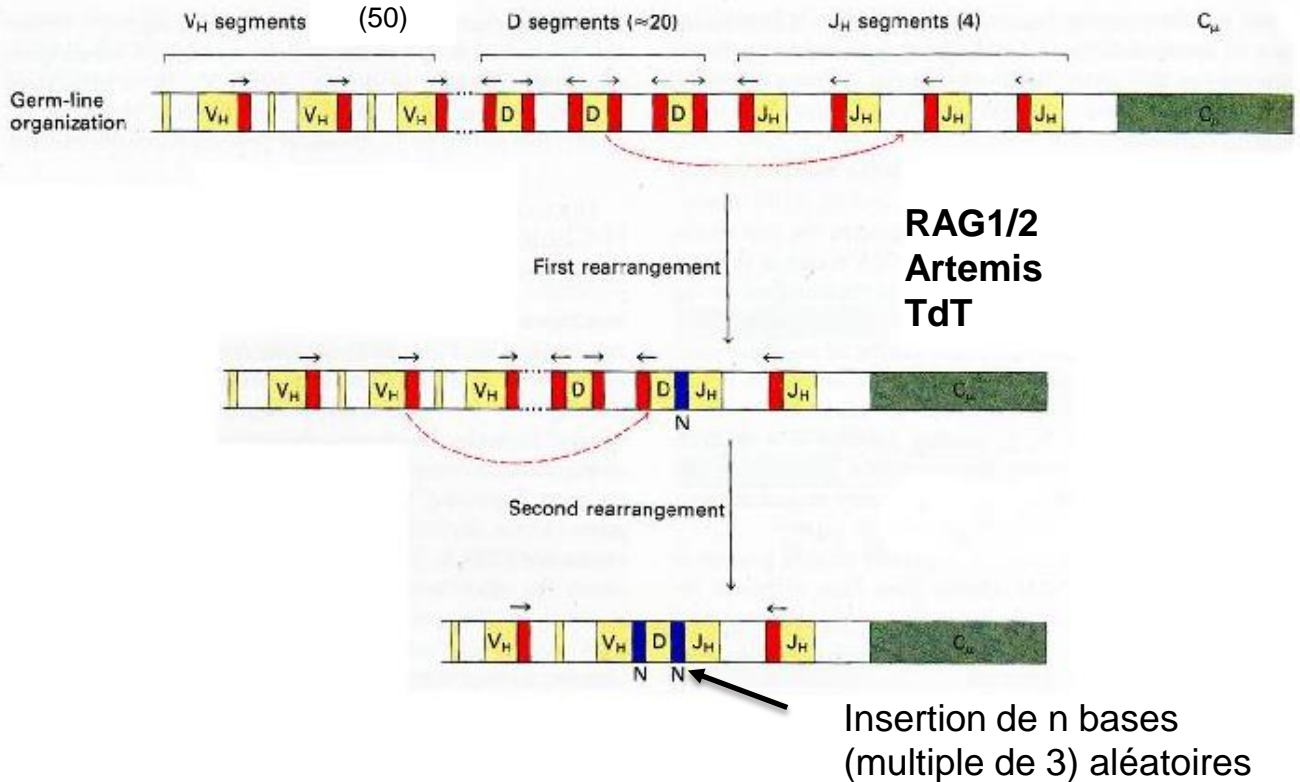
- Beadle et Tatum (1941): un gène, une protéine
- ~20 000 gènes dans le génome humain

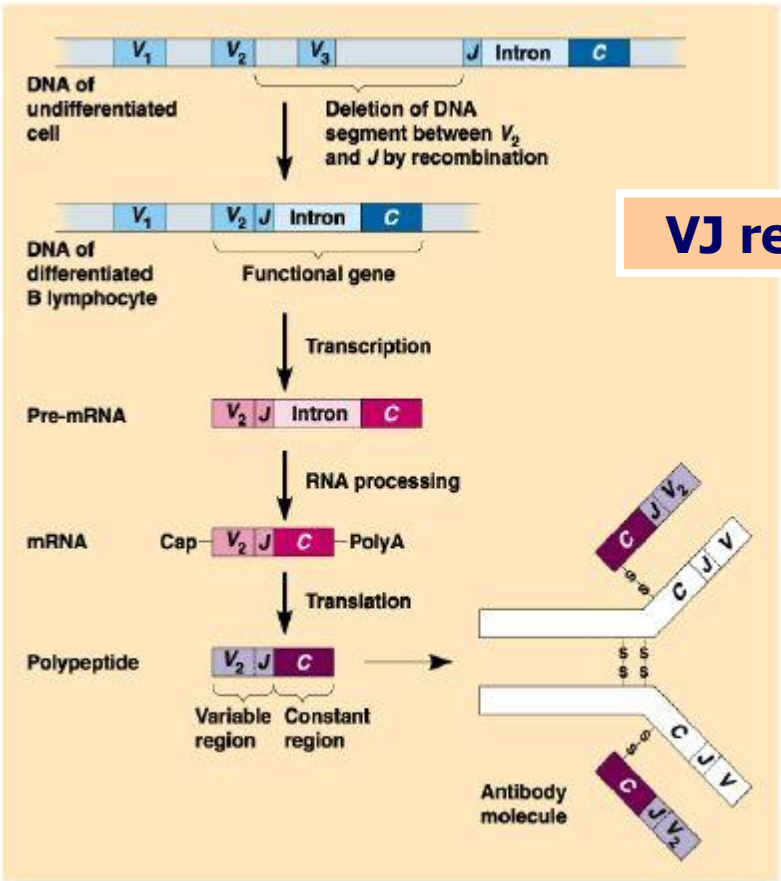
Mais...

- Capacité de production d'une variété « infinie » d'Ig et de TCR (cf. Landsteiner)
- Constance des domaines constants vs. Diversité dans les domaines variables (cf. Edelman, 1969)
- Combien de gènes doit-on considérer ?

=> Théorie des réarrangements somatiques
La recombinaison V(D)J (Tonegawa, 1976)

VDJ recombination (heavy chain)












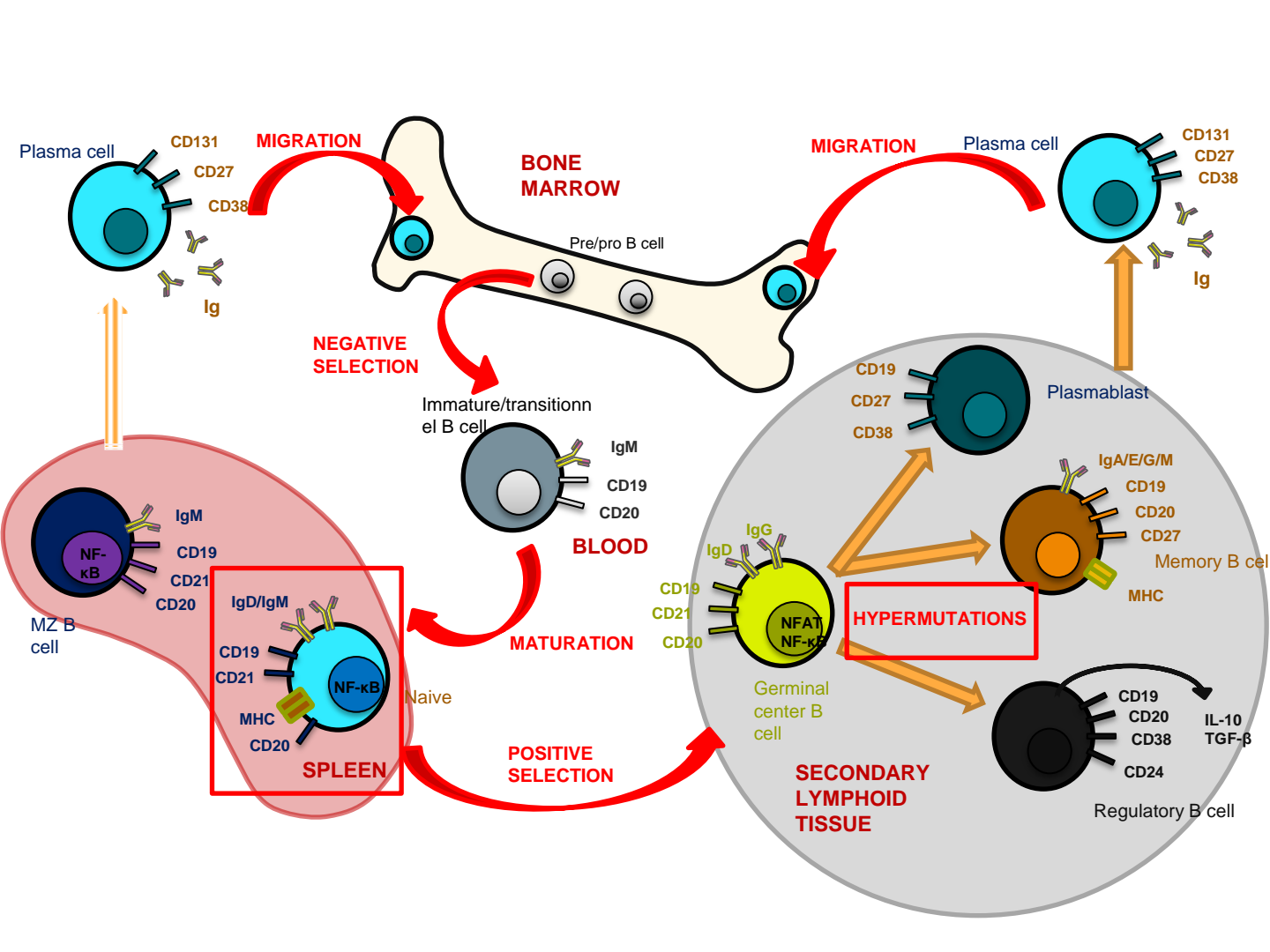
VJ recombination

2.10⁶ possibilities

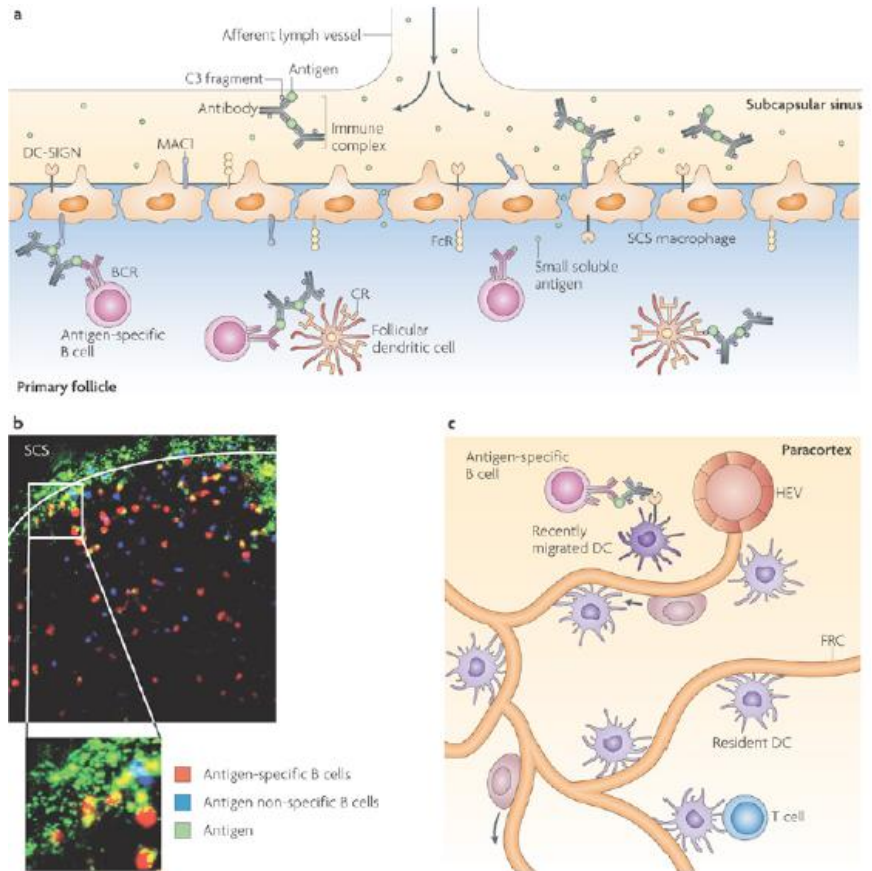
Ordered V(D)J recombination during B cell development

Figure 4.3

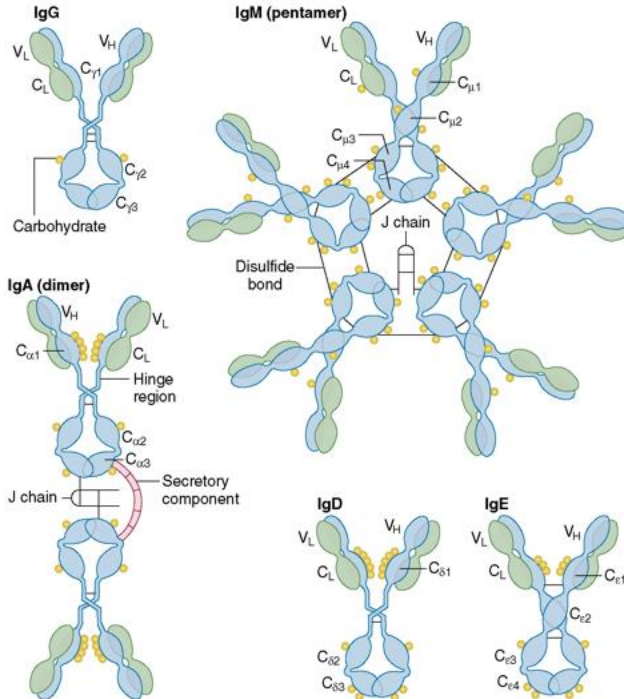
	Stem cell	Early pro-B cell	Late pro-B cell	Large pre-B cell	Small pre-B cell	Immature B cell	Mature B cell
							
H-chain genes	Germline	D-J rearranged	V-DJ rearranged	VDJ rearranged	VDJ rearranged	VDJ rearranged	VDJ rearranged
L-chain genes	Germline	Germline	Germline	Germline	V-J rearrangement	VJ rearranged	VJ rearranged
Surface Ig	Absent	Absent	Absent	μ chain at surface as part of pre-B-cell receptor	μ chain in cytoplasm and at surface as part of pre-B-cell receptor	IgM expressed on cell surface	IgD and IgM made from alternatively spliced H-chain transcripts



La rencontre avec l'antigène



Commutation de classe isotypique



Caractéristiques biochimiques des immunoglobuline

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	IgD	IgE
Chaîne lourde	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$	μ	$\alpha 1$	$\alpha 2$	δ	E
PM (Kda)	150	150	165	150	970	160	160	185	185
Sites fixation Ag	2	2	2	2	10	2/4	2	2	2
Conc (mg/ml)	9	3	1	0,5	1,5	3,0	0,5	0,03	5×10^{-5}
Demi-vie (jours)	21	21	7	21	10	6	6	3	2

Génération de la diversité des anticorps

Diversité combinatoire Assemblage des segments V et J (chaînes légères) et V, D et J (chaînes lourdes)

Assemblage chaîne légère/ chaîne lourde Assemblage aléatoire d'une chaîne lourde avec une chaîne légère

Diversité jonctionnelle Insertion ou délétion de nucléotides à la jonction entre les segments de gènes

2.10⁶ possibilités

Maturation d'affinité Hypermutations somatiques : au hasard sur les gènes réarrangés des régions variables lors de la stimulation par l'antigène. Les cellules B qui ont un récepteur muté qui fixe mieux l'antigène sont sélectionnées.

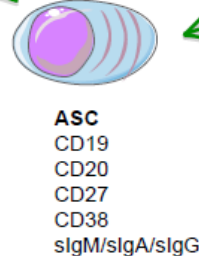
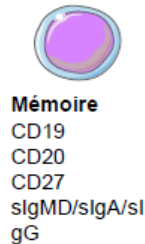
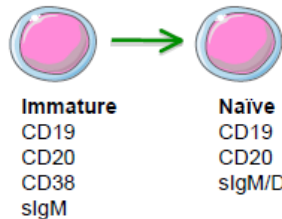
+ 10⁹ possibilités

Différents Ig reflet de la maturation du B et différents phénotypes

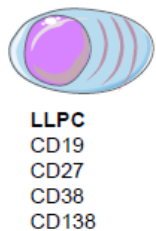
MOELLE OSSEUSE

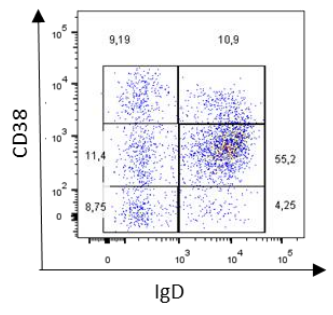
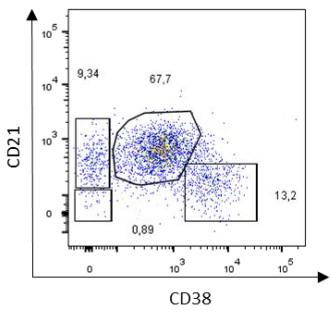
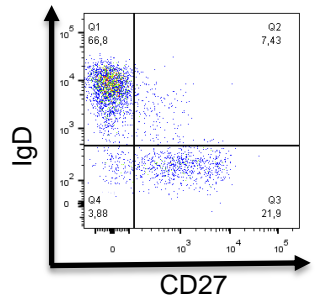
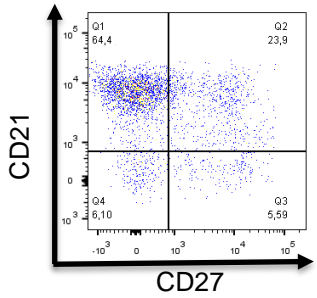
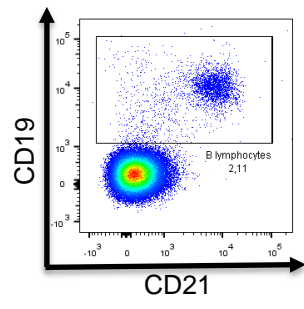
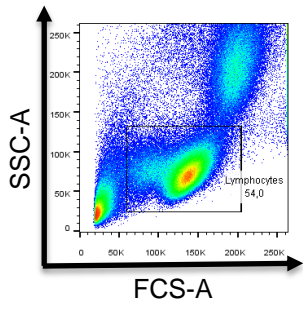
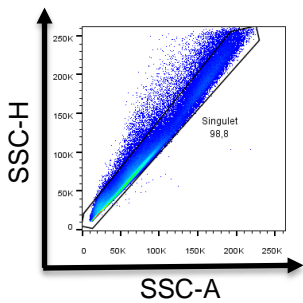
SANG

ORGANES LYMPHOIDES

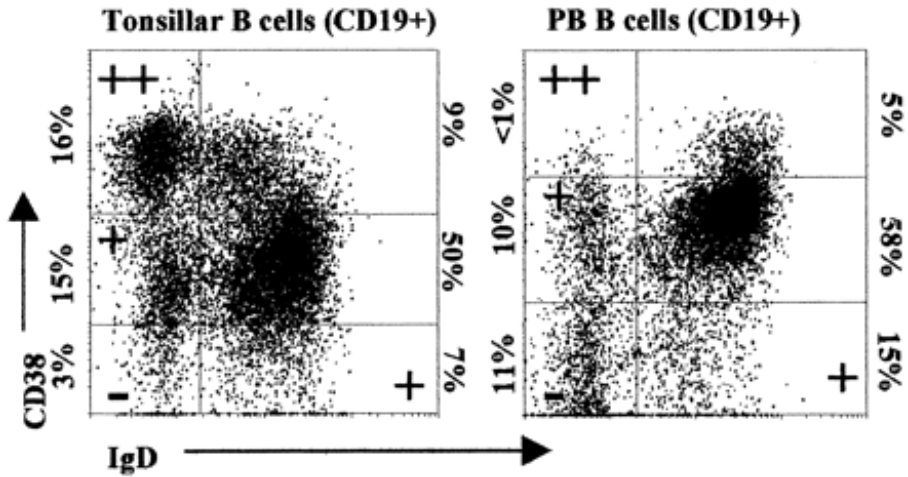


CD19
CD20
CD27
CD38

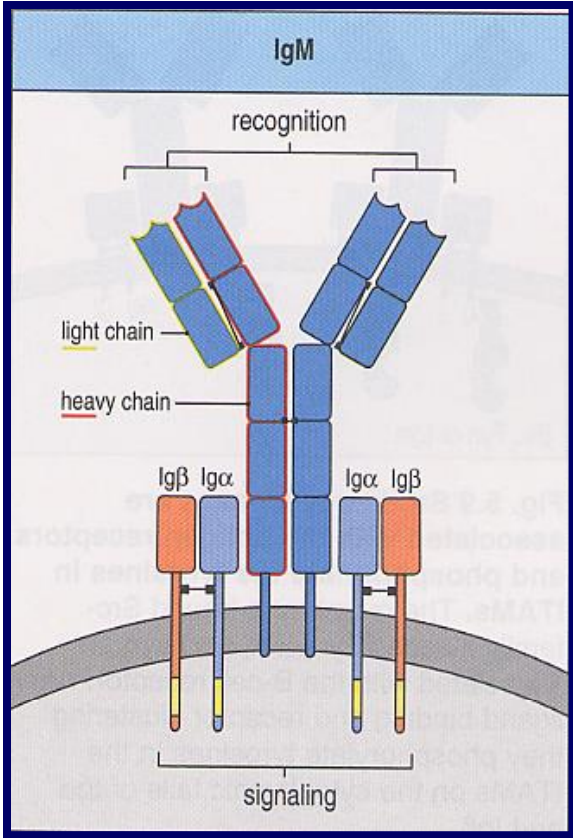
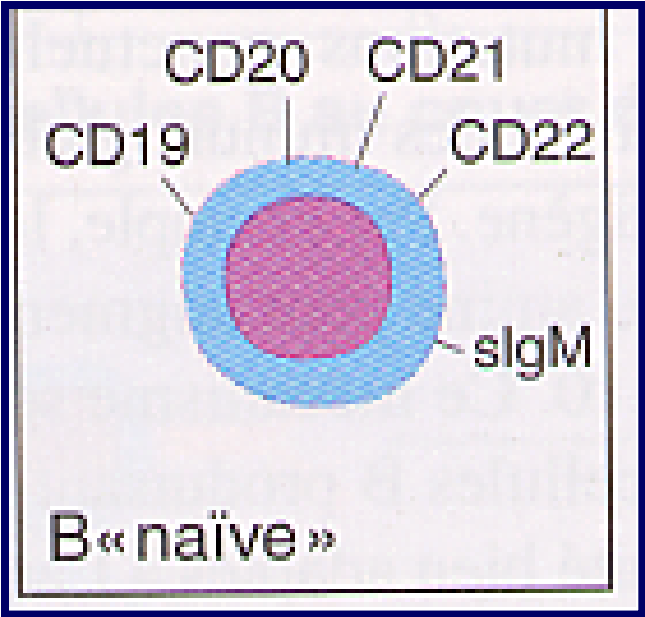


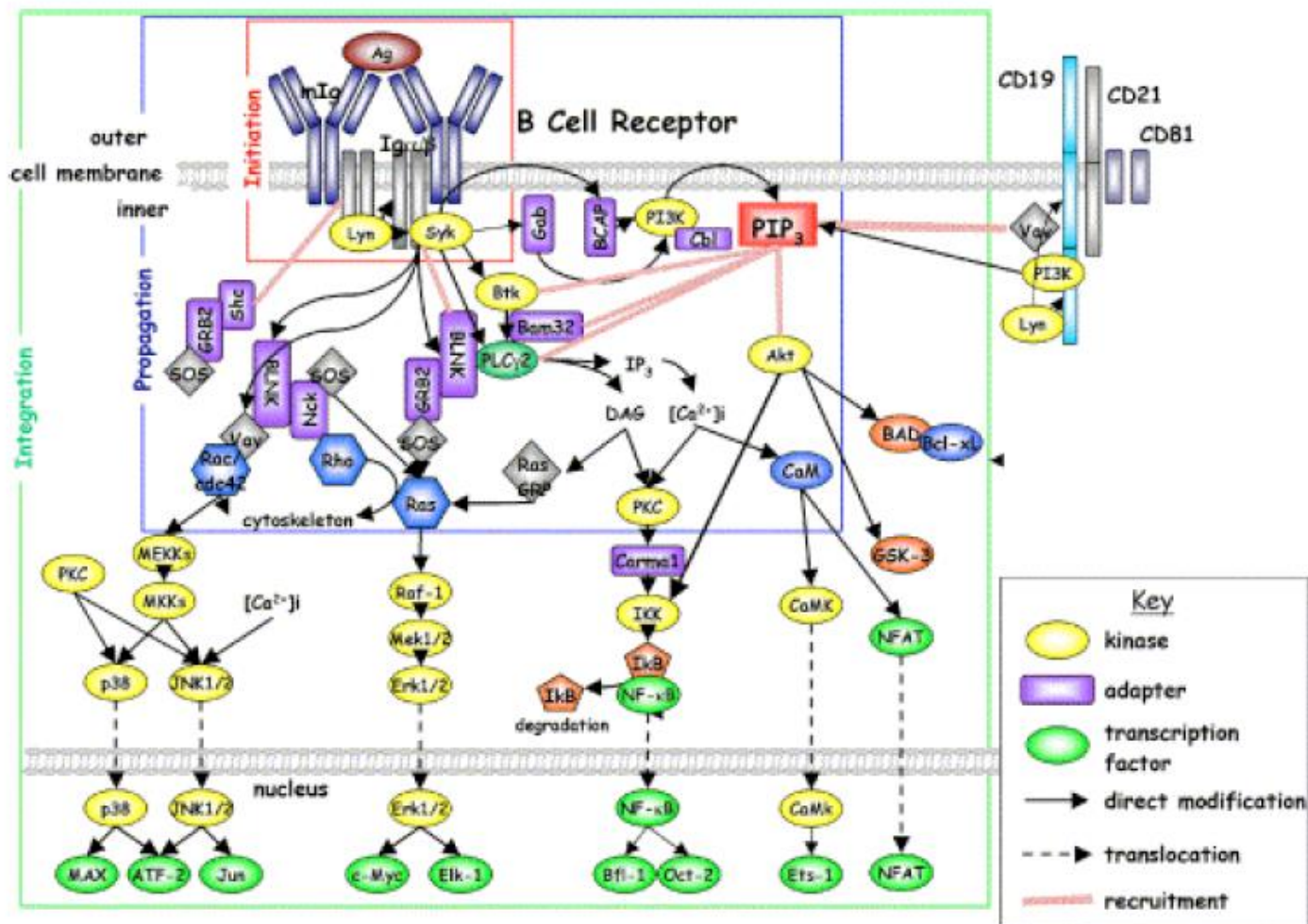


Différents phénotypes selon la localisation

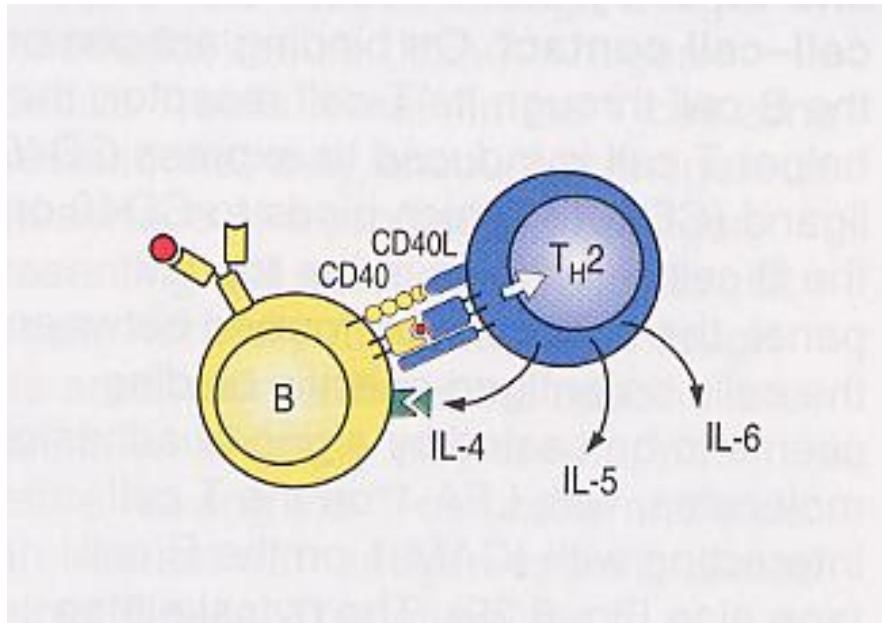


Lymphocyte B: récepteur, molécules de surface

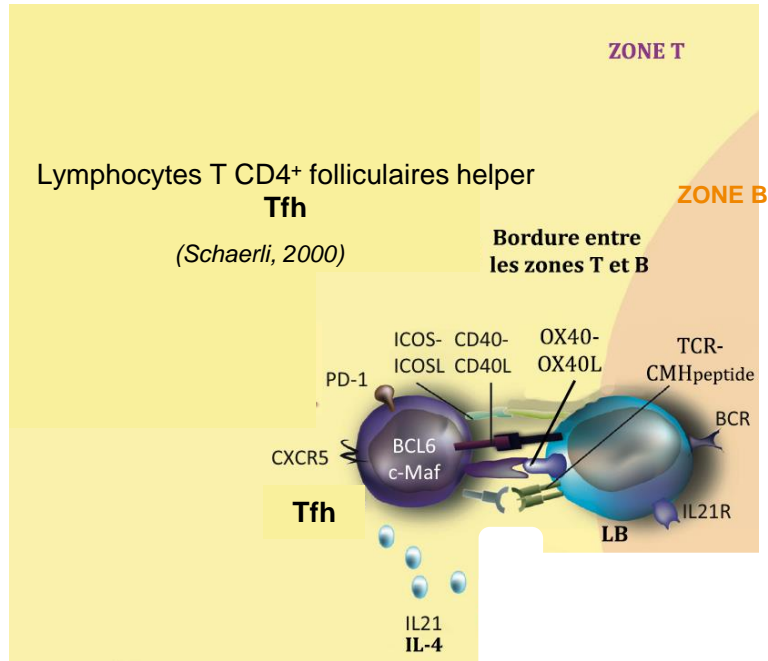




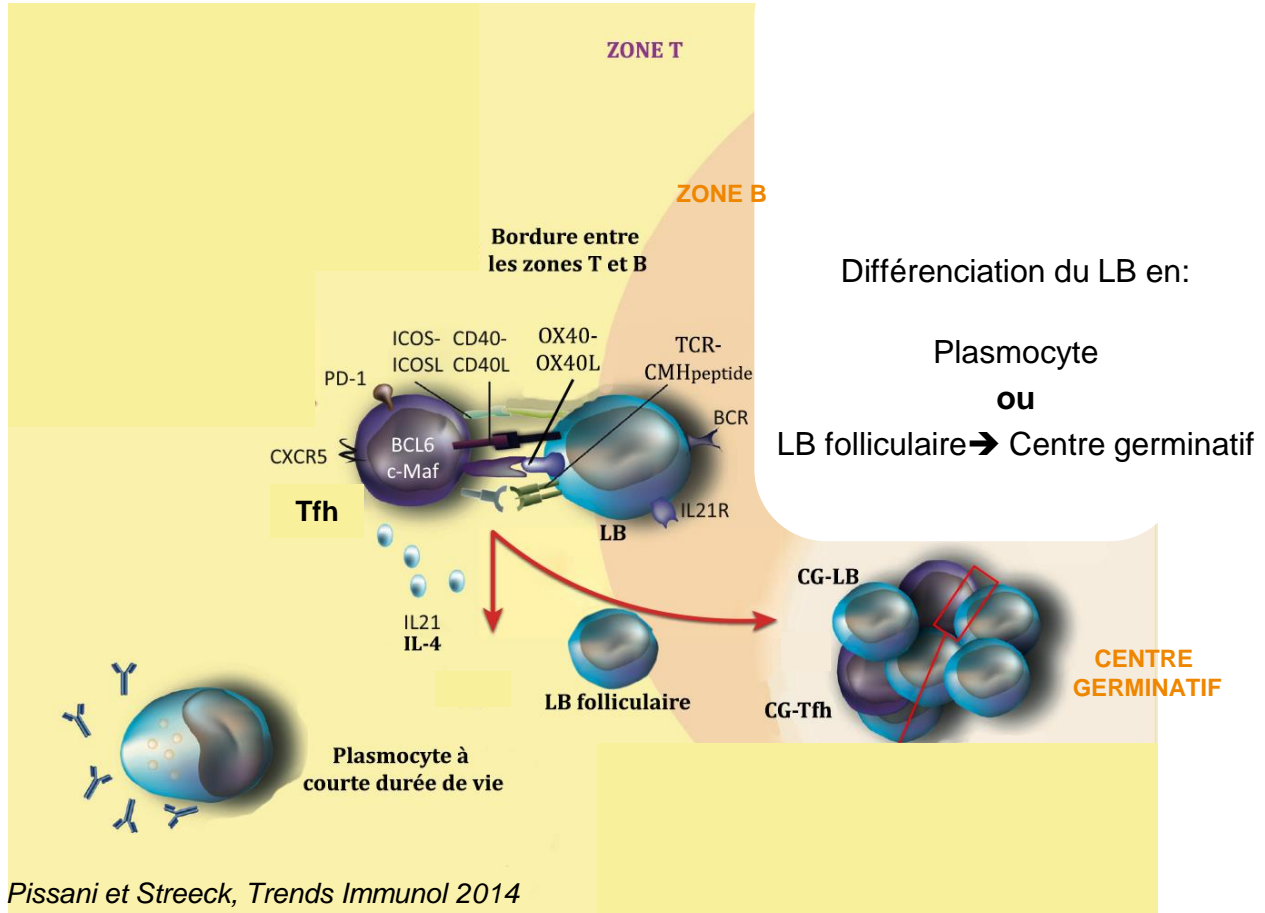
**La reconnaissance de l'antigène induit
l'expression de molécules effectrices par les LT,
qui activent les lymphocytes B**



Différenciation et maturation des LB dans les organes lymphoïdes Ilaire



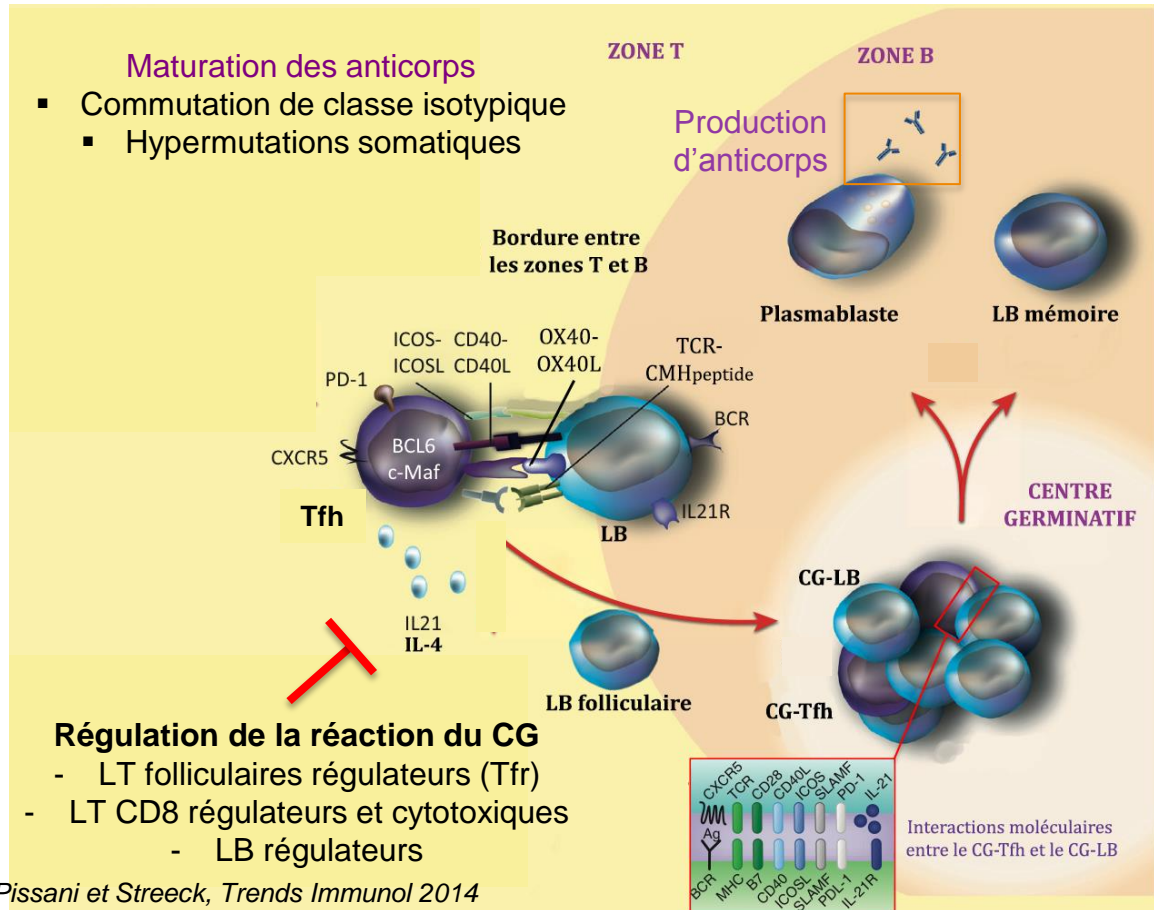
Différenciation et maturation des LB dans les organes lymphoïdes Iliaire



Différenciation et maturation des LB dans les organes lymphoïdes Ilaire

Maturation des anticorps

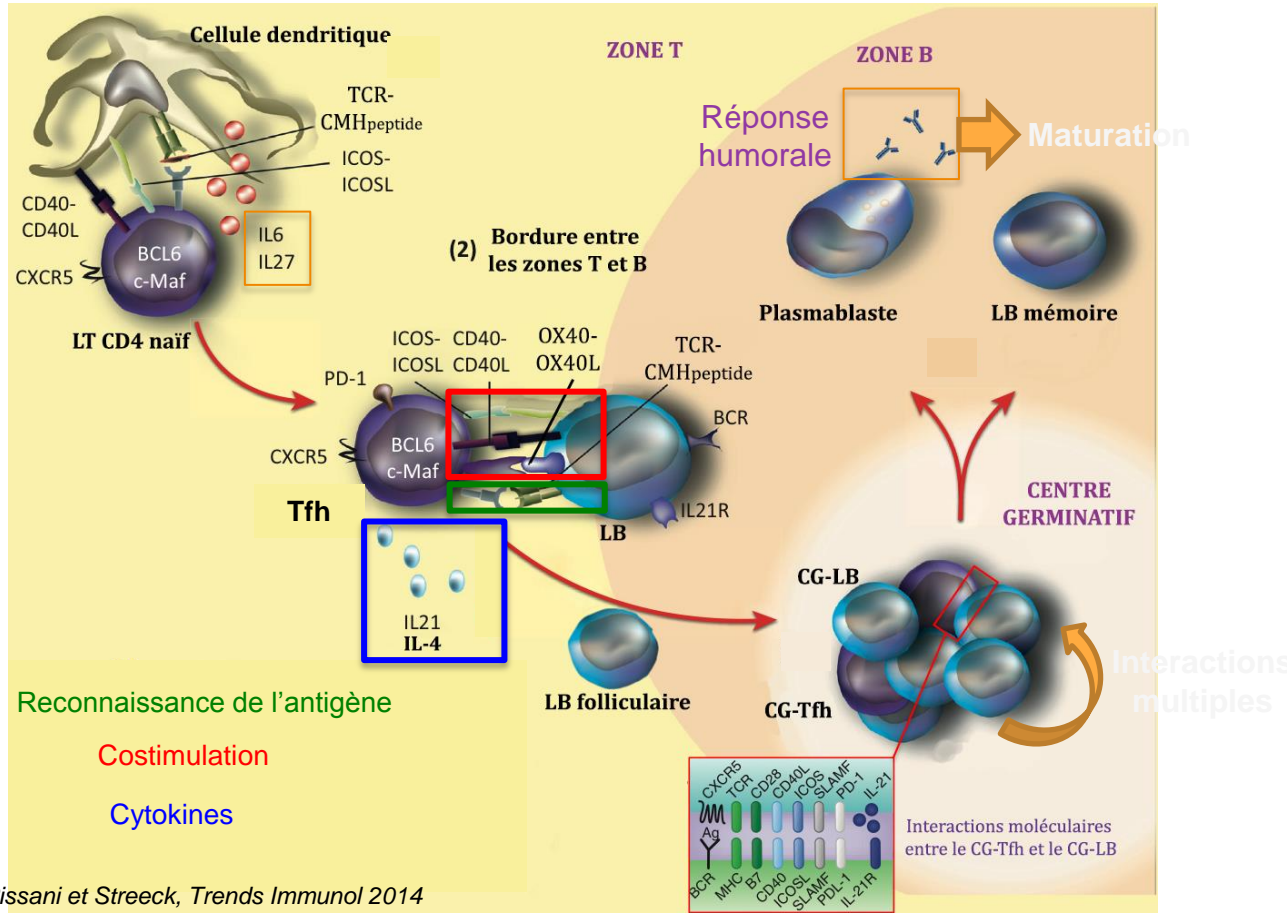
- Commutation de classe isotypique
 - Hypermutations somatiques



Régulation de la réaction du CG

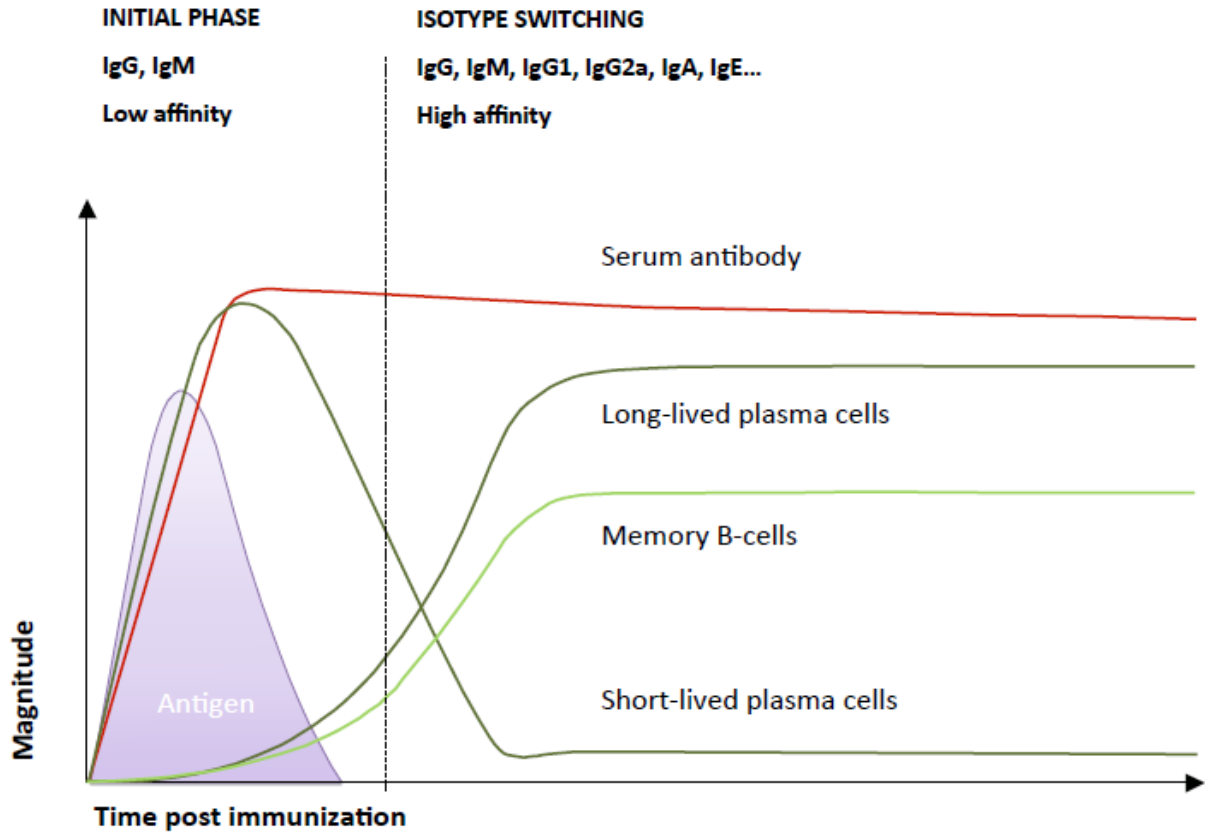
- LT folliculaires régulateurs (Tfr)
- LT CD8 régulateurs et cytotoxiques
 - LB régulateurs

Rôle des Tfh dans la maturation des anticorps



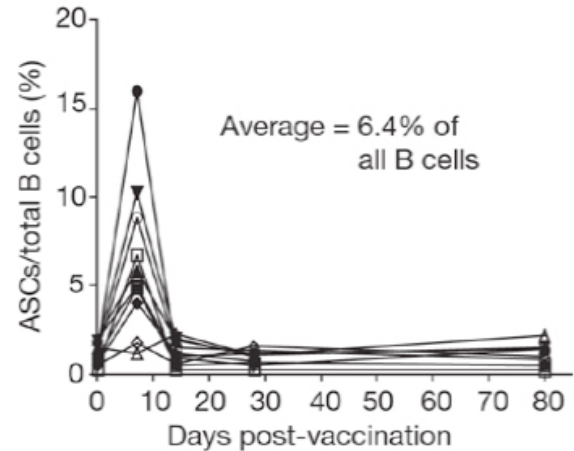
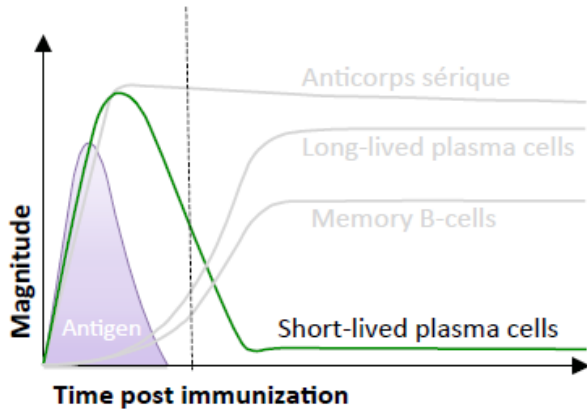
Adapté de Pissani et Streeck, Trends Immunol 2014

Diversité d'une réponse anticorps normale



Diversité d'une réponse anticorps normale

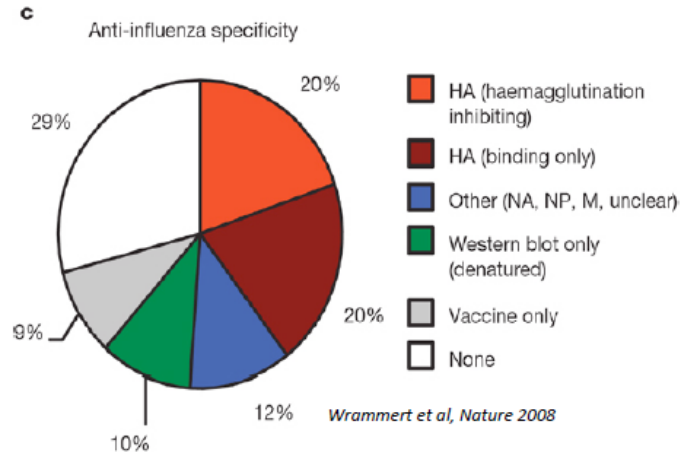
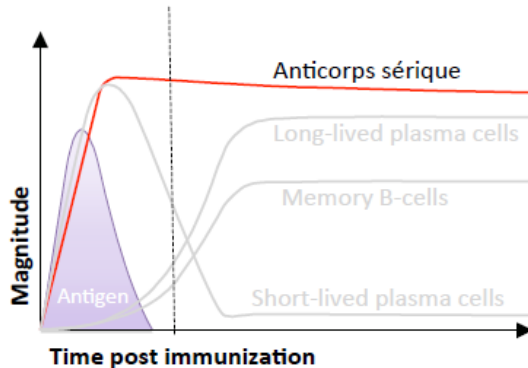
Étude de la réponse B spécifique dirigée contre un vaccin influenza (*Wrammert et al, Nature 2008*)



- Prolifération précoce des ASC (6,4% des cellules B)
 - Pic à 7 jours

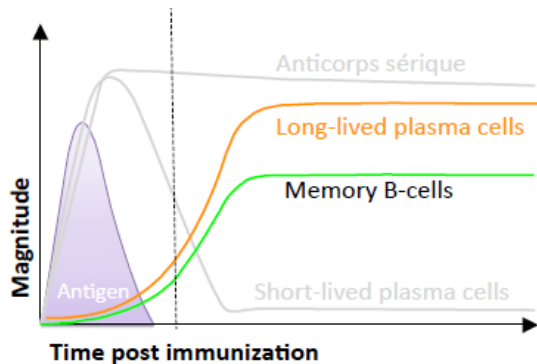
Diversité d'une réponse anticorps normale

Étude de la réponse B spécifique dirigée contre un vaccin influenza (*Wrammert et al, Nature 2008*)

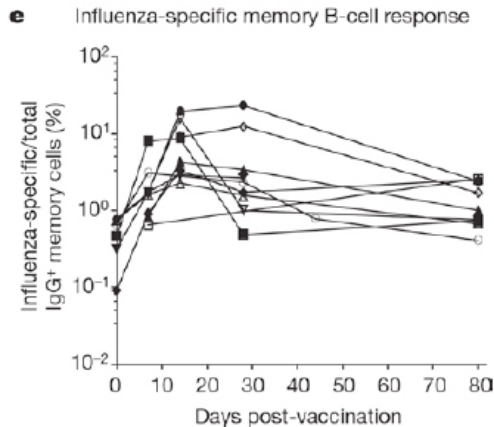
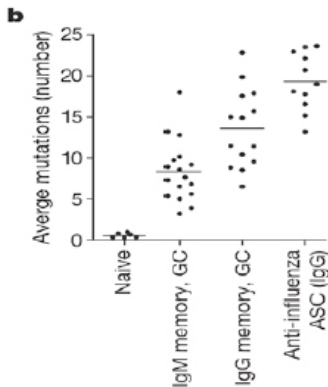


- 60% des IgG produites sont spécifiques de la protéine hémagglutinine
- 20% d'entre eux ont une activité inhibitrice.

Diversité d'une réponse anticorps normale




Étude de la réponse B spécifique dirigée contre un vaccin influenza (Wrarmert et al, Nature 2008)

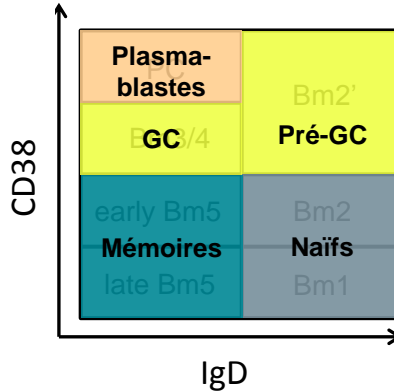


Wrarmert et al, Nature 2008

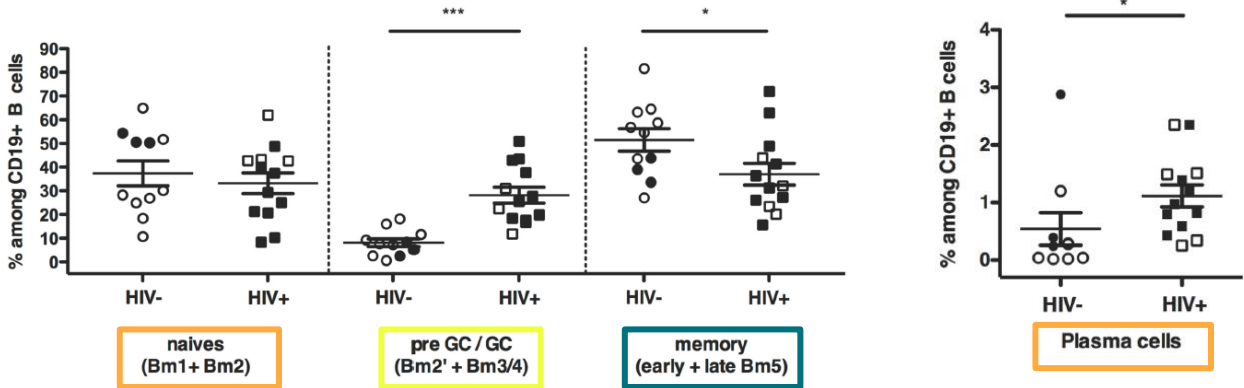
Mais les perturbations peuvent également être en amont de la production d'anticorps

Caractérisation de la maturation des LB dans la rate

 Cytométrie en flux
(Pascual, 1994)



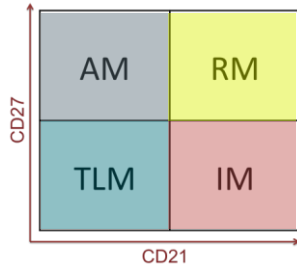
Collineau, Rouers *et al.*,
Plos One 2015



Maturation des LB altérée dans les rates VIH⁺ → Diminution des LB mémoires

Caractérisation des populations de LB ex vivo

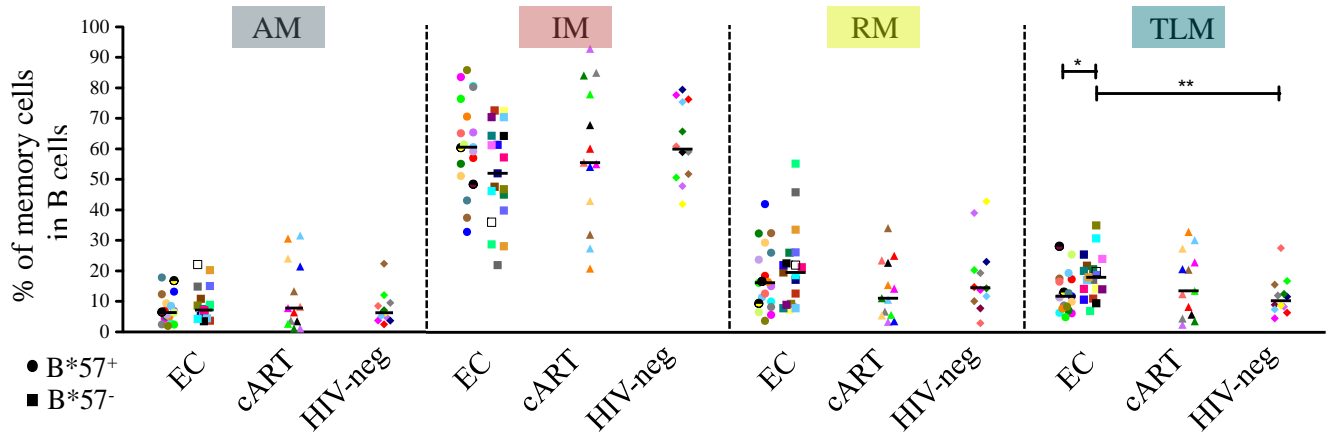
✂ Cytométrie en flux
(Moir et al., 2008)



AM : Activated memory : **cellules épuisées**
RM : Resting memory : **maintien de la réponse humorale**
TLM : Tissue like memory : **cellules anergiques**
IM : Intermediate memory

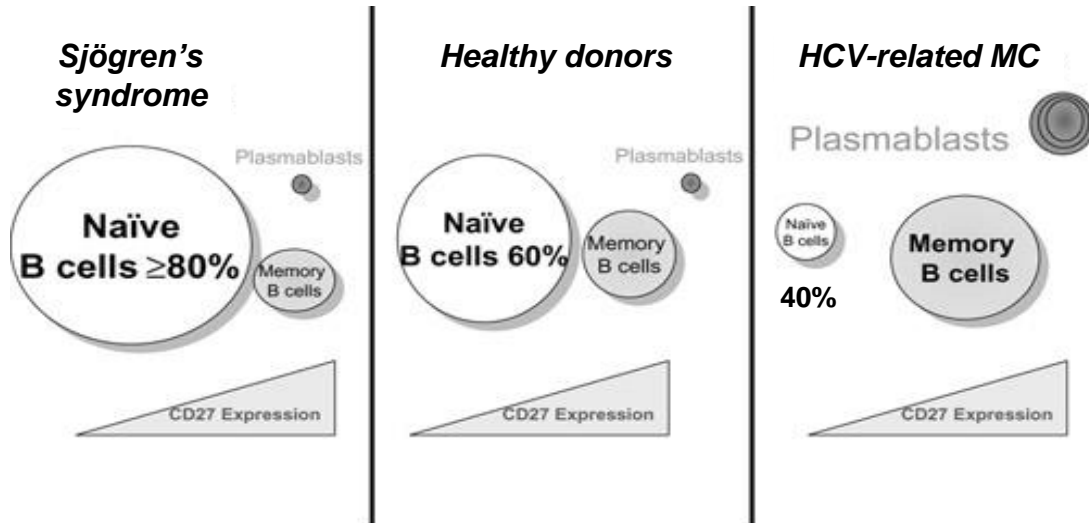
EC : Elite Controller
 cART : VIH+ traités
 HIV-neg : VIH- (EFS)

Collineau, Rouers et al.,
Plos One 2015

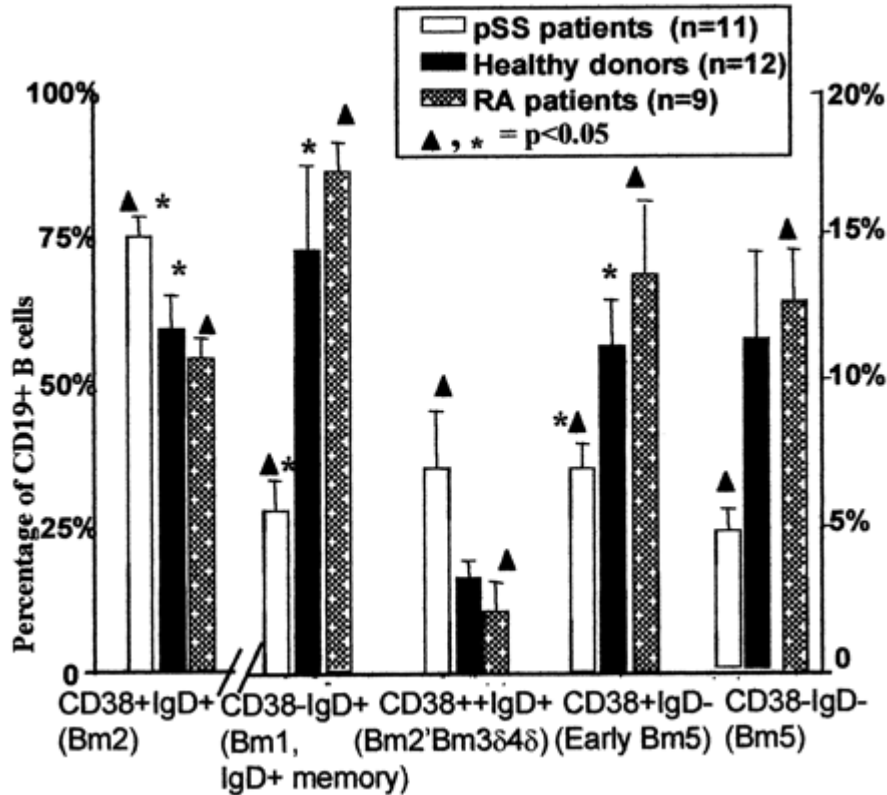


Les EC préservent naturellement leur compartiment B mémoire

Perturbations in B cell homeostasis in autoimmune disorders



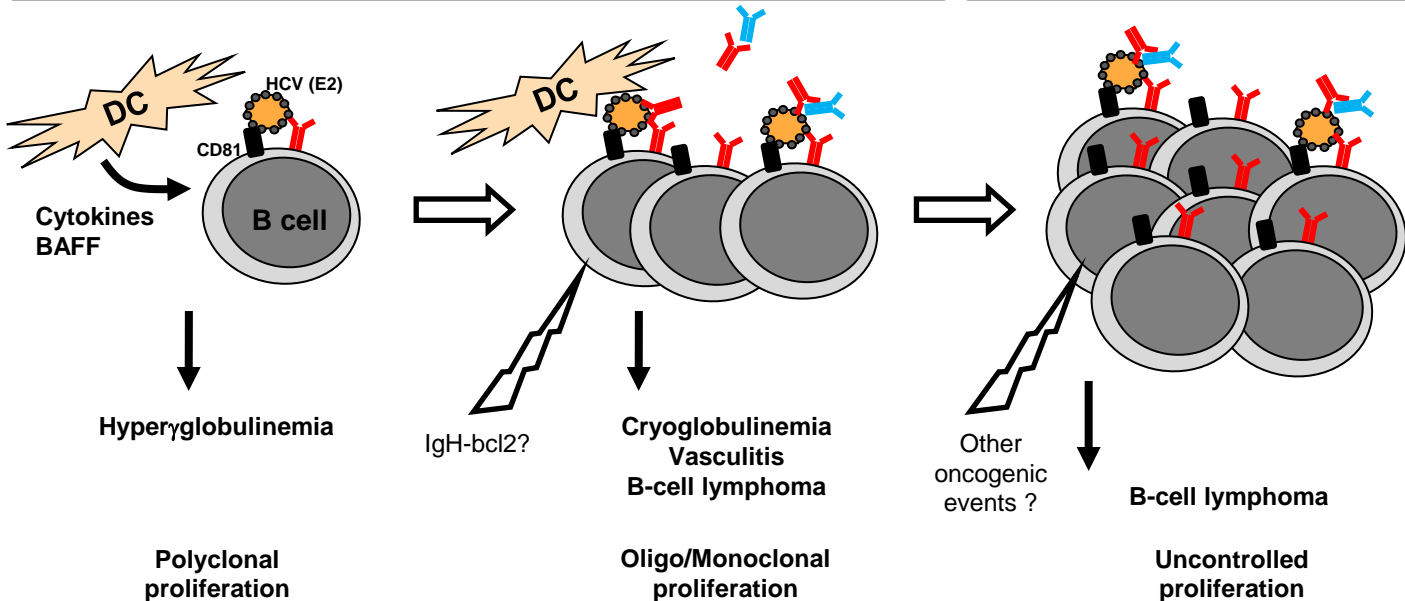
Perturbations in B cell homeostasis in autoimmune disorders



The example of HCV infection

Antigen-sensitive
B cell proliferation

Antigen-insensitive
B cell proliferation

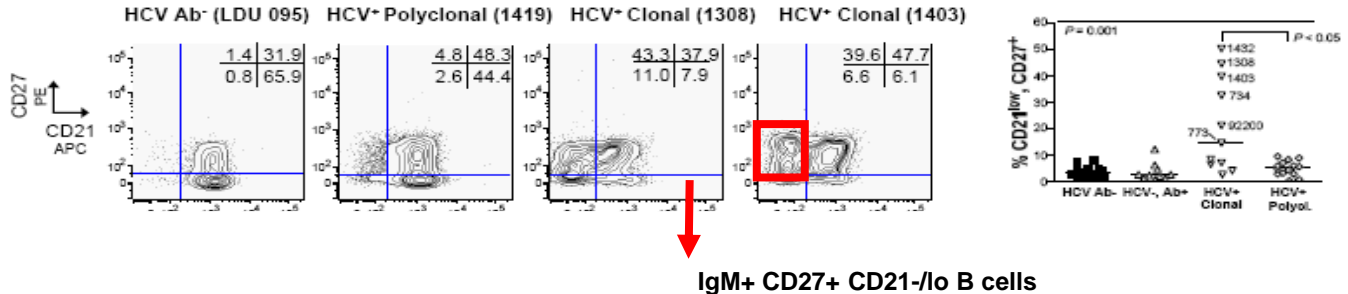


Anti-E2 IgM/Rheumatoid factor



IgG

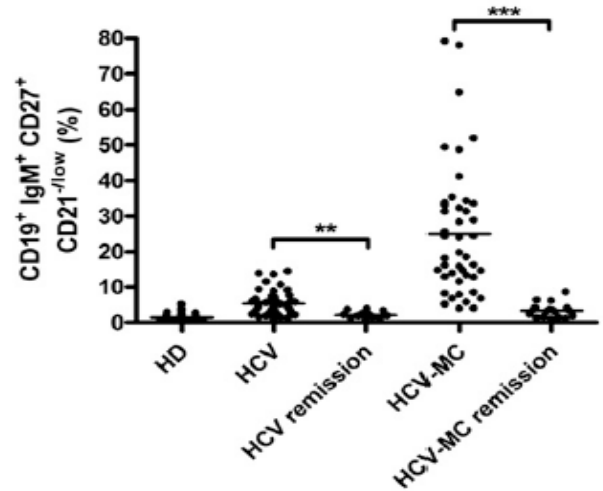
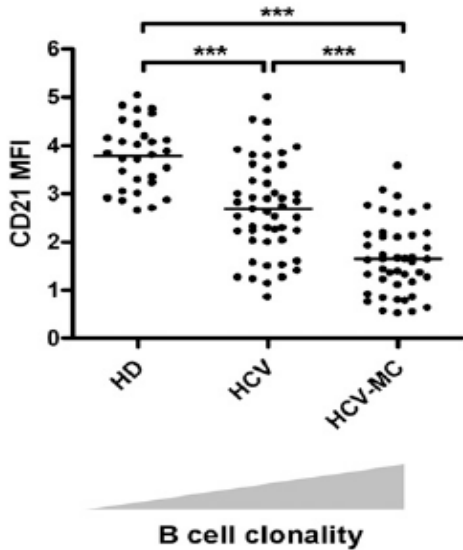
Clonal expansion of IgM+ CD27+ marginal zone B cells in HCV-MC patients



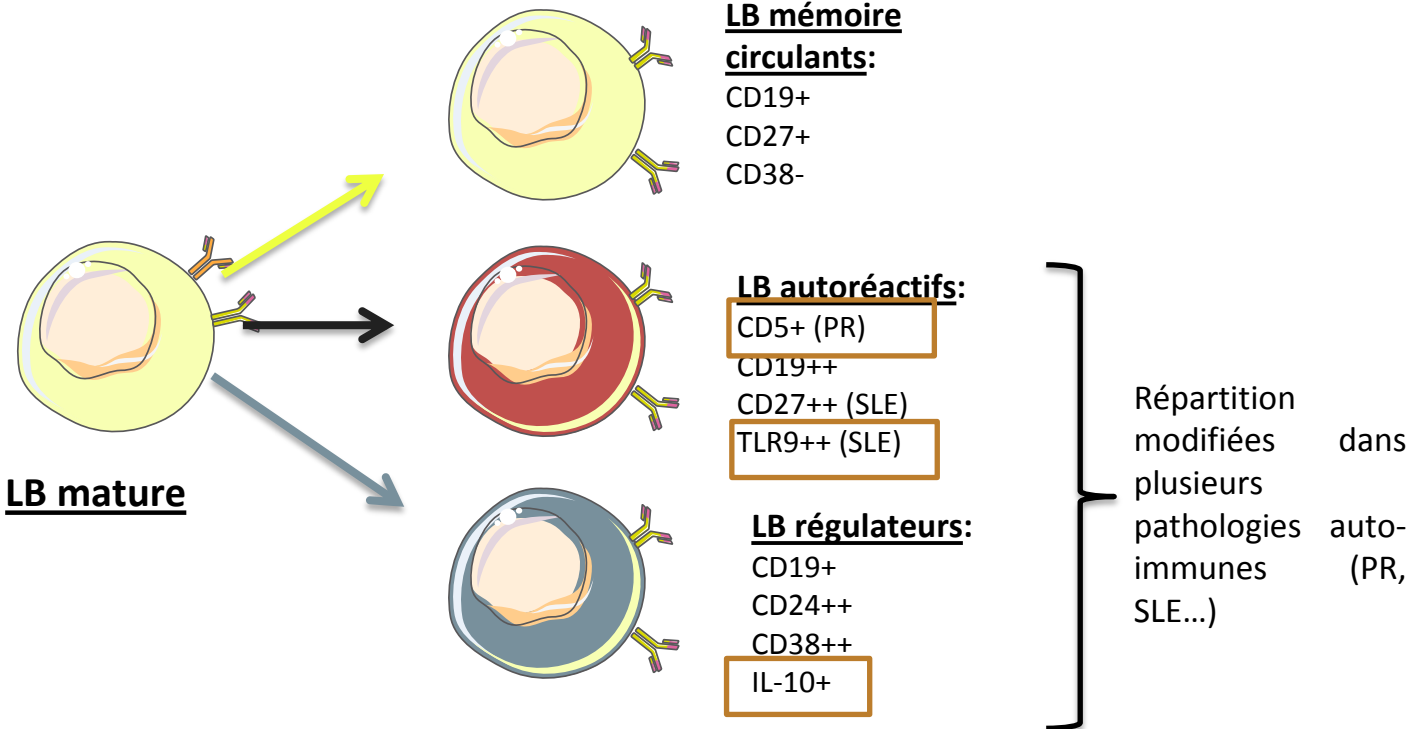
Group	CD19 ⁺ , CD20 ⁺ cells, %	CD19 ⁺ , CD20 ⁺ cells, %					
		κ ⁺ , λ ⁻ , %	κ ⁺ , CD27 ⁺ , %	IgM ⁺ , CD27 ⁺ , %	IgM ⁺ , IgD ^{low/-} , %	CD21 ^{low} , CD27 ⁺ , %	% CD5 ⁺
HCV Ab ⁻ , n = 16	14.74 ± 5.82	47.42 ± 11.30	17.23 ± 9.78	13.43 ± 7.59	8.21 ± 6.20	3.41 ± 2.29	22.18 ± 5.82
HCV ⁻ , Ab ⁺ , n = 10	13.75 ± 6.02	52.07 ± 4.98	17.33 ± 6.47	10.12 ± 4.66	5.61 ± 4.41	3.47 ± 3.41	13.75 ± 6.02
HCV ⁺ clonal, n = 11	18.55 ± 6.73	65.23 ± 20.84*	42.40 ± 22.16†	35.90 ± 25.53*	23.85 ± 19.85	20.94 ± 17.64*	18.55 ± 6.73
HCV ⁺ polyclonal, n = 14	20.14 ± 8.17	51.72 ± 6.53	19.22 ± 15.33	15.61 ± 13.03	9.73 ± 9.92	4.86 ± 2.80	20.14 ± 8.17

**Bias in the repertoire of clonal MZ B cells:
VH1-69, JH4 and Vkappa 3-20 gene segment restriction**

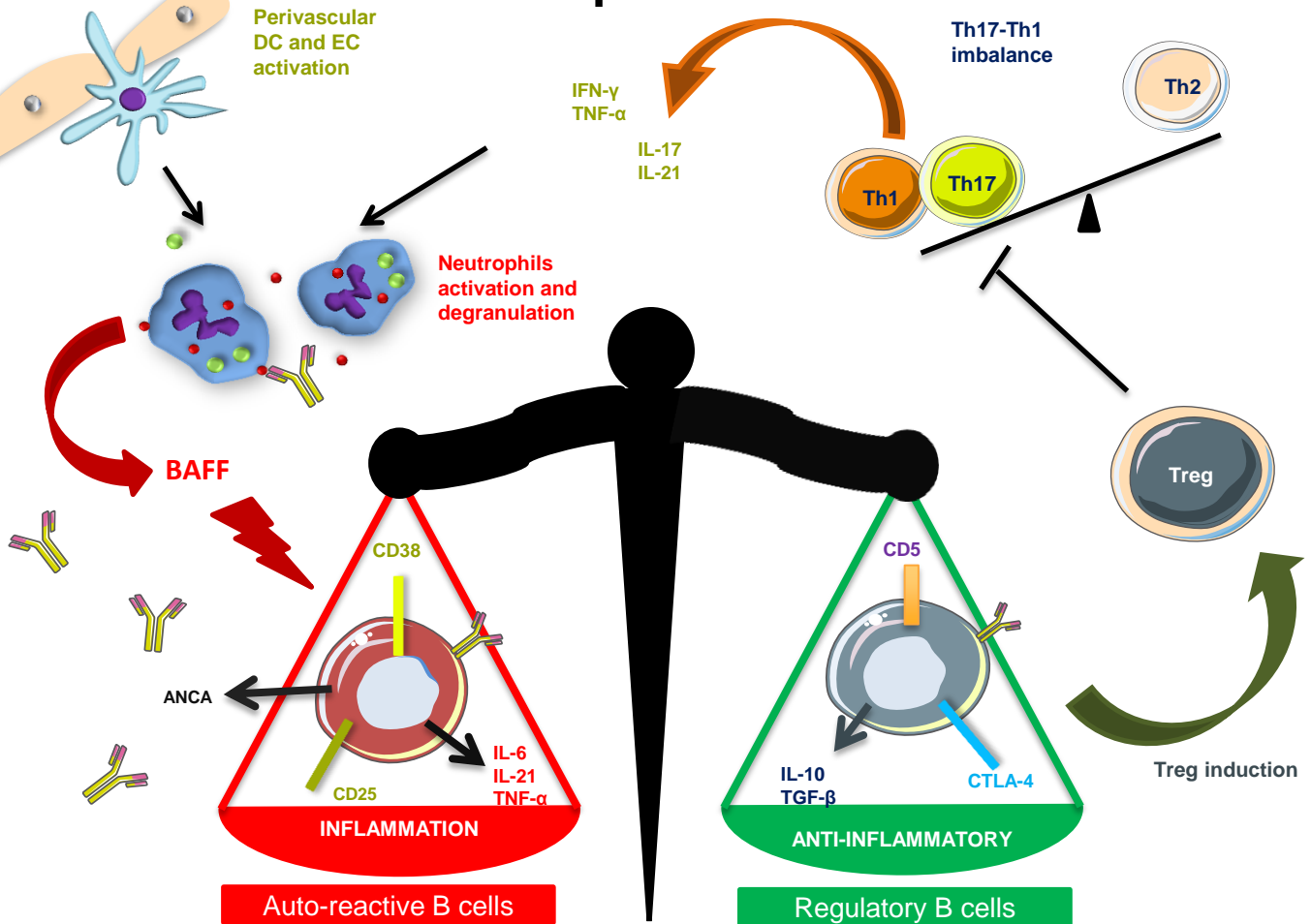
Expansion of an unusual CD21^{-/low} marginal zone B cell population in HCV-MC patients



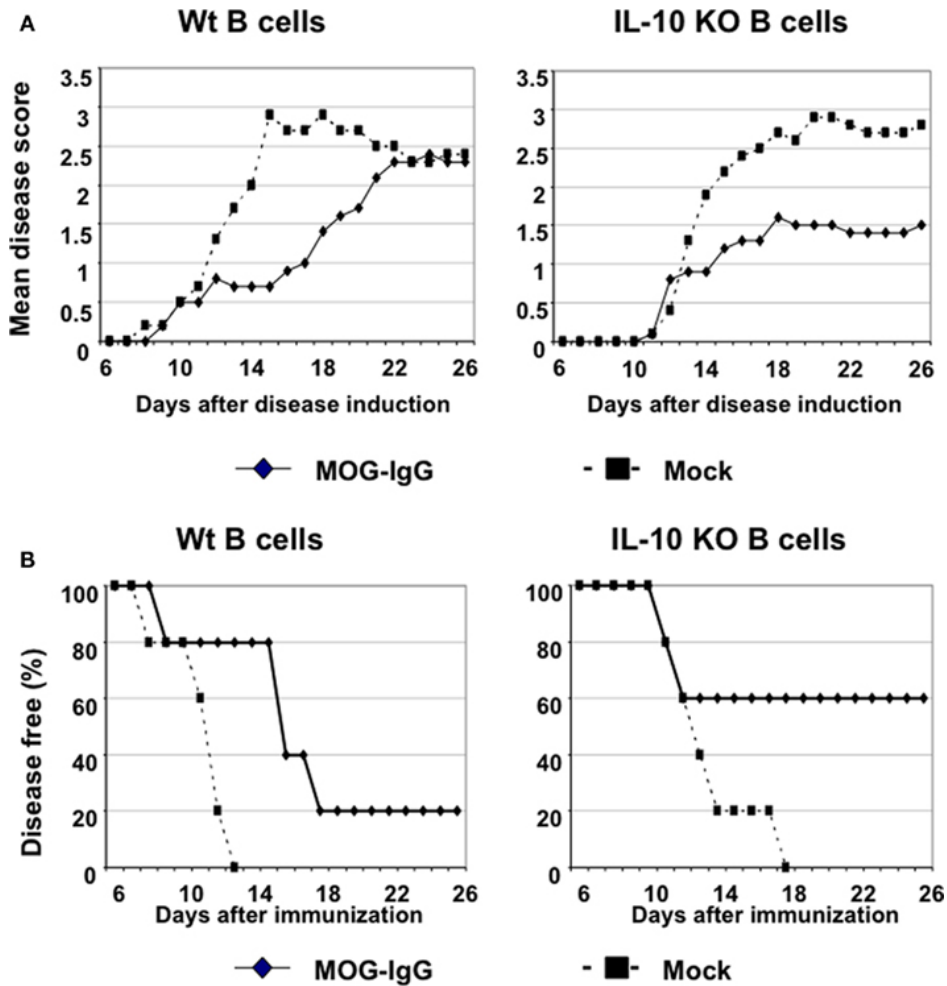
Les sous populations de lymphocytes B



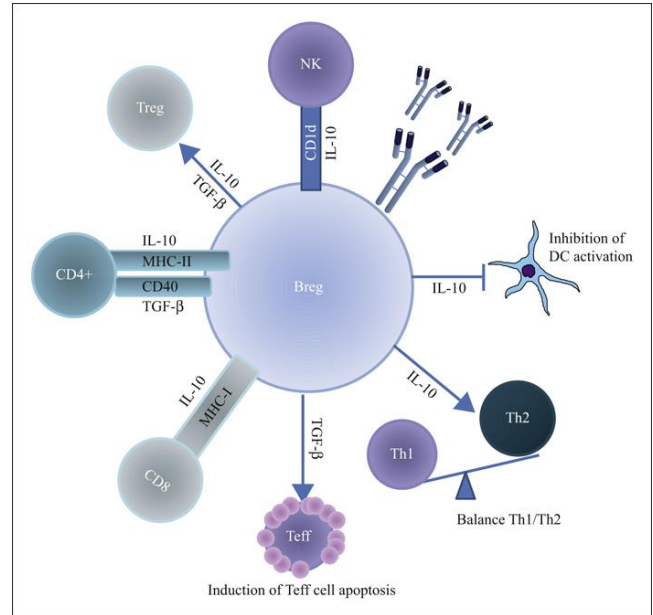
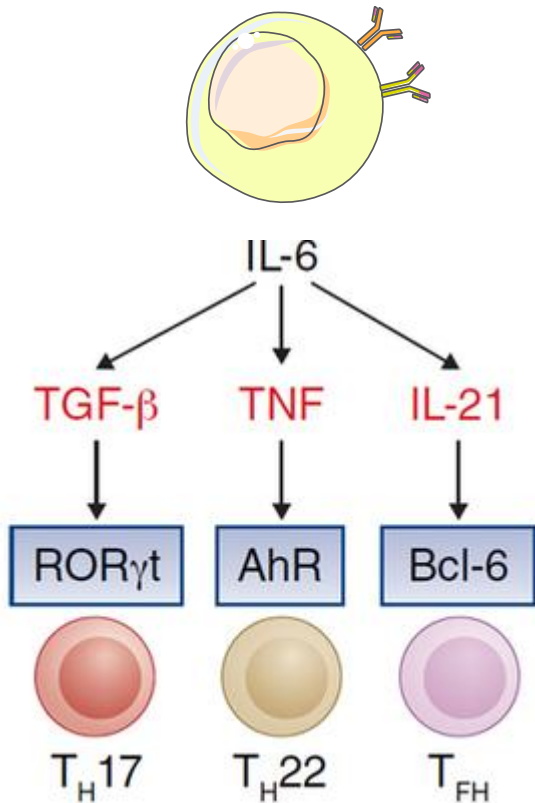
L'exemple de la GPA



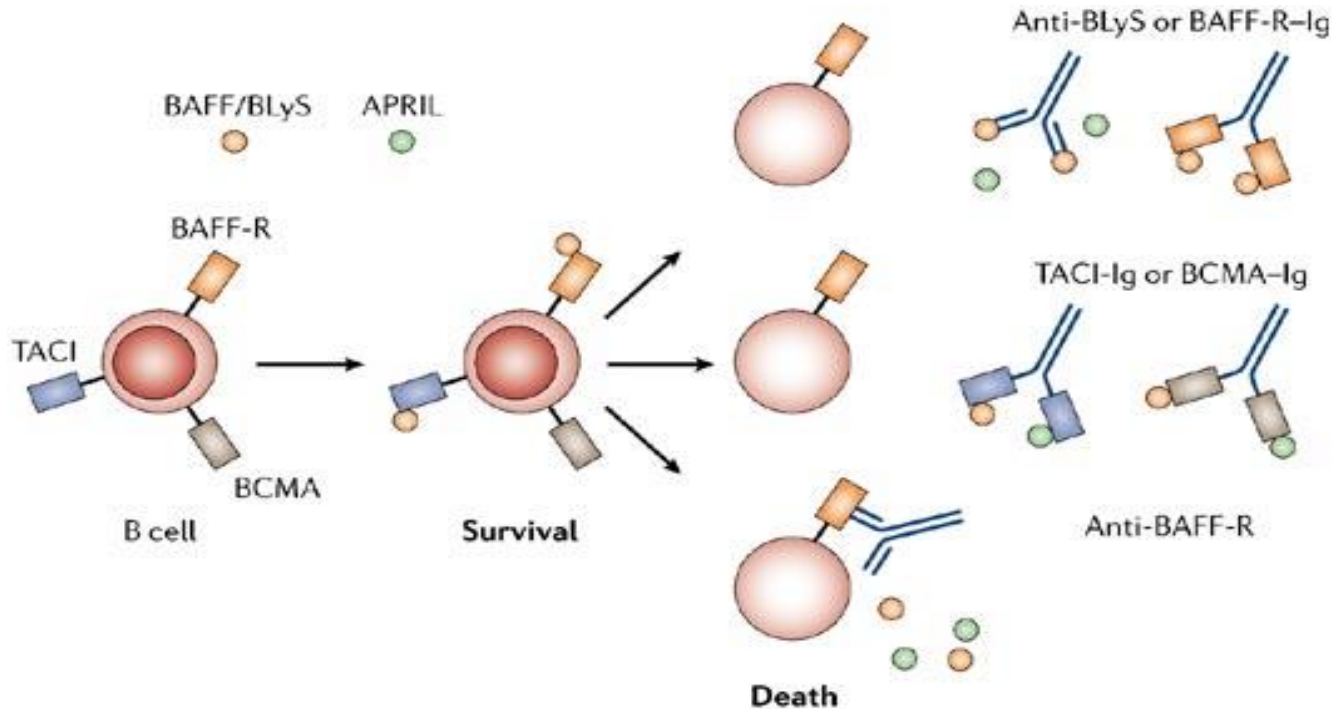
Bregs in EAE



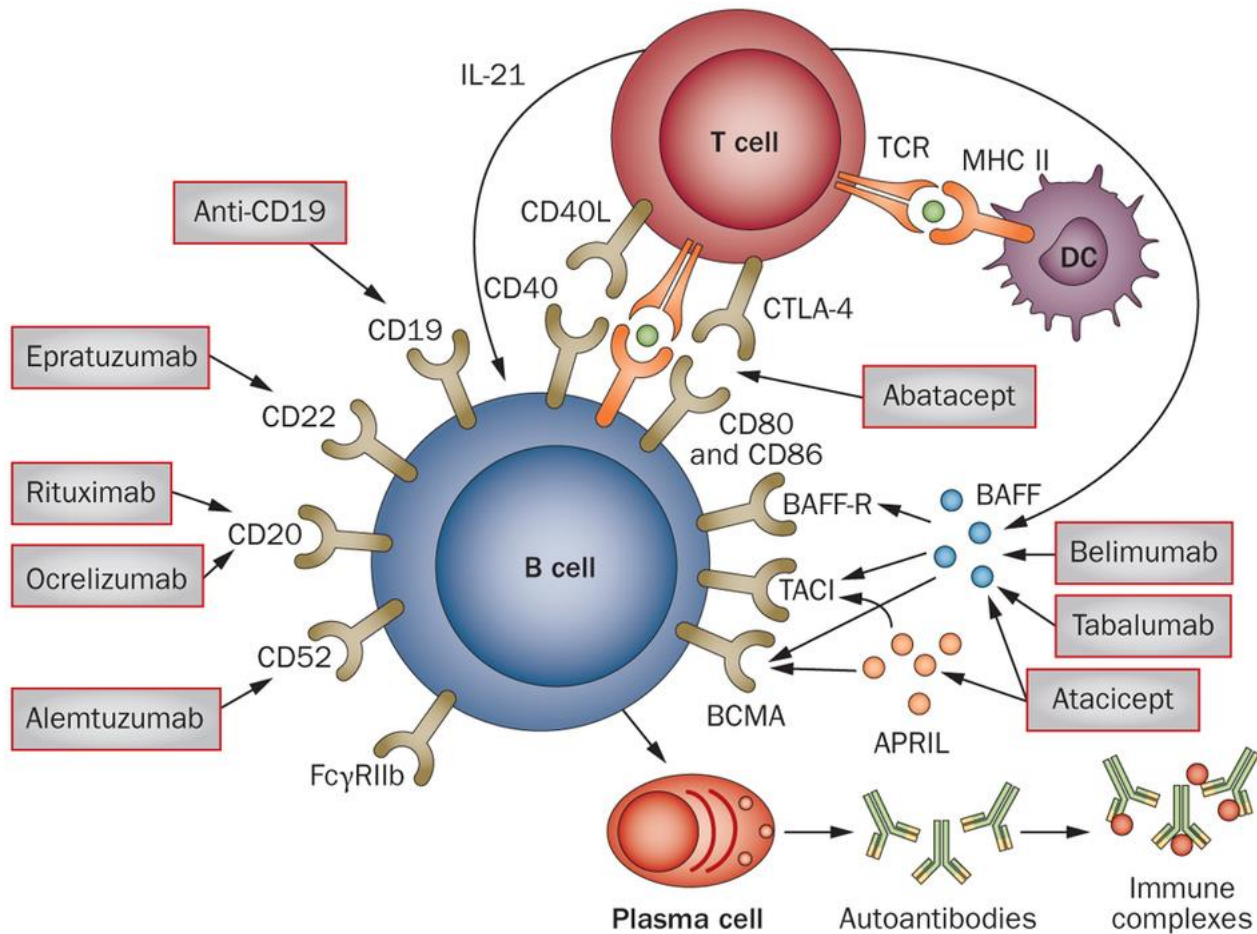
Les lymphocytes B balencent également la réponse immune



BAFF : nouvelle cible thérapeutique?



Quelle cible à quel interface?



Conclusions

- **Grande diversité d'anticorps chez le sujet sain**
- **Mécanismes multiples à l'origine de l'émergence d'autoanticorps ou de dérégulation des lymphocytes B**
- **Lymphocytes B: se différencient en plasmocytes, présentent l'antigène, produisent des cytokines pro- et anti-inflammatoires.**
- **Sous populations émergentes : B autoréactifs, B régulateurs.**



CMR
CENTRE MALADIES RARES
VASCULARITES | SCLÉRODERMIES
GOUGEROT-SJÖGREN | LUPUS

Hôpital Cochin
Paris

www.maladiesautoimmunes-cochin.org

www.vascularite.org

nicolas.dumoitier@inserm.fr

