

ANTICORPS

LYMPHOCYTES B

RÉPERTOIRE

(P.AUCOUTURIER)

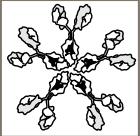
I. RAPPEL

Rappel	
Reconnaissance des Ag	- <u>Lymphocytes B</u> : • Reconnaittent les antigènes sous leur forme native. • Générés dans la moelle osseuse. • Passe du lymphocyte B avec son immunoglobuline de membrane (ou BCR)... • Au plasmocyte qui sécrète des anticorps spécifiques à l'Ag, après la maturation terminale B. - <u>Lymphocytes T</u> : • Ne reconnaissent que des peptides sur des CPA.

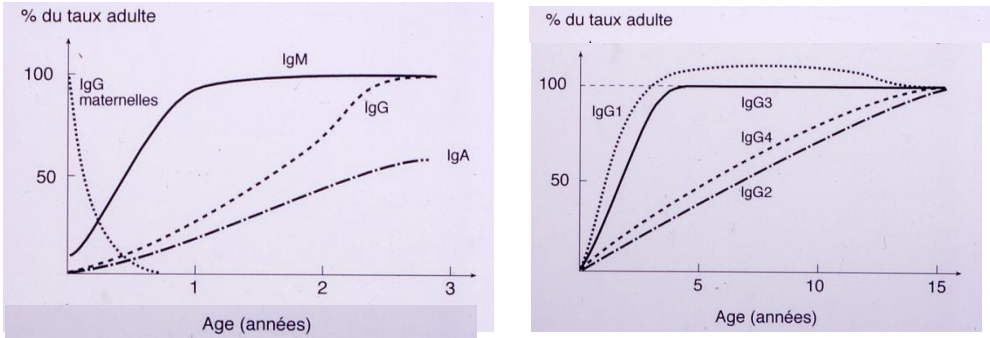
II. ANTICORPS

Anticorps	
Portions	- Dualité fonctionnelle et structurale. - Anticorps constitués de 3 portions : • <u>2 portions Fab (antigen binding)</u>, très variables : ▸ Contient le site anticorps qui reconnaît et lie l'Ag. • <u>1 portion Fc (cristallisable)</u>, qui active des systèmes effecteurs, variables selon les classes et sous-classes d'Ac : ▸ À titre d'exemple, le complément (inné) est capable de reconnaître certaines zones de la portion Fc de certains Ac. ▸ Quand l'Ag lie l'Ac, le Fc va pouvoir être reconnu par des cellules de l'immunité : - Cellules cytotoxiques quand Ag = cellule tumorale. - Phagocytes => phagocytose Ac-dépendante.
Structure	- Immunoglobuline. - 2 chaînes lourdes et 2 chaînes légères. - Région variable N-term. - Région « constante » C-term : support d'une variabilité relativement restreinte, qui définit les différents isotypes d'Ig (ex : IgM, IgG...). - Il existe 2 types de chaînes légères, codées par des groupes de gènes différents : • Kappa (κ) et Lambda (λ). - Les chaînes lourdes sont codées par les mêmes groupes de gènes, et déterminent les classes et les sous-classes d'Ac.
Illustration (ex de l'IgG1)	Diagramme illustrant la structure d'un anticorps (ex de l'IgG1). L'anticorps est composé de quatre chaînes polypeptidiques : deux chaînes lourdes (pink) et deux chaînes légères (green). Les chaînes lourdes sont divisées en régions constantes (CH1, CH2, CH3) et régions variables (VL). Les chaînes légères sont divisées en régions constantes (CL) et régions variables (VL). Les régions variables sont responsables de la liaison à l'antigène. Les régions constantes sont responsables des fonctions effectrices. Des N-glycosides sont attachés aux chaînes lourdes. Les extrémités N-terminales (NH₂) sont aux extrémités des bras Y, et les extrémités C-terminales (COOH) sont à la base.

Organisation en domaines	- Ig = glycoprotéines. - Organisation en domaines (régions homologues qui se répètent) : • V pour variable. • C pour constant. - Sur le schéma, « région charnière » (hinge) entre CH2 et CH1. - Chaque domaine a une structure particulière, qu'on peut aussi trouver chez d'autres protéines de la superfamille des immunoglobulines : • Partie peptidique de 105-110 aa, • Avec une structure en feuillets β anti-parallèles, • Et un pont disulfure entre les chaînes qui stabilise le domaine.
Site anticorps	- Chaque site anticorps est constitué par des zones « hypervariables » (CDR pour Complementarity Determining Region) situées dans les boucles entre les brins β de chaque domaine variable : - Un site anticorps complet contient : • CDR1, CDR2, CDR3 de la chaîne légère. • CDR1, CDR2, CDR3 de la chaîne lourde.
Isotypie	- Niveau de variabilité défini par les types (« isotypes ») d'immunoglobulines présents chez tous les individus normaux d'une espèce. • 9 isotypes chez l'Homme. - Les classes et sous-classes d'Ig sont déterminées par la région constante des chaînes lourdes de l'Ig. - Ainsi l'Homme possède : • 5 classes d'Ig : IgG, IgA, IgM, IgD, et IgE. • Incluant <u>4 sous-classes de IgG</u> et <u>2 sous-classes d'IgA</u>. ▶ Chaîne γ pour les IgG ($\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$). ▶ Chaîne α pour les IgA ($\alpha 1$, $\alpha 2$). ▶ Chaîne μ pour les IgM. ▶ Chaîne δ pour les IgD. ▶ Chaîne ϵ pour les IgE. - 2 types de chaînes légères : Kappa et Lambda.
IgG	- Principales immunoglobulines du sang. - <u>4 sous-classes</u> : • IgG1 : les plus abondante, région charnière relativement courte et flexible. • IgG2 et IgG4 : rigides. • IgG3 : longue région charnière. - Seules anticorps qui traversent le placenta (immunisation passive du fœtus).
IgM	- Anticorps de la réponse primaire et composant du BCR. - Premières immunoglobulines produites par le nouveau-né. - <u>Gène réarrangé de la chaîne lourde de l'IgM</u> : • 4 domaines constants (CH1 $\rightarrow$ CH4). • Pas de région charnière.

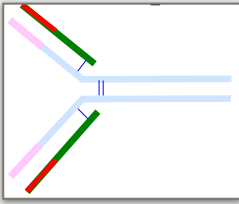
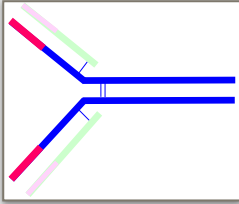
IgM	• Exons de membrane (m1,m2), qui codent ou non pour une région transmembranaire permettant à l'IgM de s'insérer dans la membrane (BCR). • 2 sites de polyadénylation => la génération de 2 types de transcrits : ▸ 1 qui code la forme membranaire avec m1 et m2 transcrits (BCR). - S'associe à 2 SU dont le rôle est la transduction du signal : CD79a et CD79b. ▸ 1 qui code la forme sécrétée (sérique), sans région transmembranaire, par les plasmocytes. - NB : les BCR (Ig + SUs) peuvent également être constitués d'IgD, d'IgG1, d'IgA2... Leurs gènes réarrangés contiennent aussi des exons de membrane.
 IgM sériques	- Les IgM polymérisent en 5 SU : « pentamère $\mu 2L2$ ». • Avec une pièce J (jonction) au centre. - Forme soluble en étoile. - Forme liée à un antigène en crampon. - Les IgM polymérisent car elles sont le support du répertoire primaire qui n'a pas subi de maturation d'affinité (=>affinité faible). • La coopération des sites anticorps <i>compense</i> leur faible affinité individuelle.
 IgA	- Ig des muqueuses. - Premiers anticorps produits en réponse à un Ag nouveau (=>réponse primaire). - 2 sous-classes d'IgA, avec glycosylation variable. - Isotype le plus abondant de l'organisme, localisation au niveau du système muqueux (tube digestif+++) et des glandes exocrines. - <u>IgA sérique (dans le sang)</u> : • Monomère. • À ~ 85% des IgA1. - <u>IgA « sécrétoire »</u> : • Dimère. • ~ 50% d'IgA1 et 50% d'IgA2. • Pièce J pour la dimérisation. • Composant sécrétoire qui dérive d'un récepteur présent du pôle baso-latéral des cellules épithéliales des glandes exocrines (polyIgR).
Production d'IgA sécrétoires	- Au niveau de la sous-muqueuse, en raison de l'environnement cytokinique (TGF-β+++), des plasmocytes produisent des IgA et de la pièce J => dimérisation. - Le dimère réagit avec le polyIgR et est transporté par transcytose vers la lumière intestinale. - Les IgA sécrétoires sont libérées dans la lumière, avec une grande partie du polyIgR (composant sécrétoire). - NB : chez certains individus déficient en IgA, ce sont des IgM qui sont produits au niveau des muqueuses, le polyIgR étant capable de reconnaître les Ig polymérisés.
IgD	- 3 domaines constants par chaîne lourde δ. - Longue région charnière, O-glycosylée. - Composant du BCR (en même temps que l'IgM) sur le lymphocyte B mature naïf. - Faibles quantités dans le sang, rôle mal connu.
IgE	- 4 domaines constants par chaîne lourde ϵ. - Pas de région charnière. - Fortement N-glycosylée. - Très peu abondante dans le sang. - Fonction de défense contre les antigènes parasitaires. - Rôle dans les réactions d'hypersensibilité immédiate.

Résumé			
Tableau	IgM	- Principale Ig de surface des lymphocytes B (BCR). - Pentamérique dans le sang. - Support principal du répertoire primaire.	~ 1 mg/mL [0,5-1,5]
	IgG	- 4 sous-classes (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). - Principaux anticorps de la réponse humorale « secondaire » systémique. - Traversent le placenta.	~ 10 mg/mL [6-12]
	IgA	- 2 sous-classes (IgA1, IgA2). - Dimérique dans les muqueuses et sécrétions exocrines. - Monomérique dans le sang.	~ 2 mg/mL [1-3]
	IgD	- Immunoglobuline de membrane (BCR) du lymphocyte B naïf.	< 0,06 mg/mL
	IgE	- Défense contre des parasites ; hypersensibilité de type I .	< 0,01 µg/mL

Taux sériques moyens dans l'ontogénie																											
Schéma																											
Tableau	<table> <tr> <th>Classe</th><th>Concentration sérique moy (adulte)</th><th>Ontogénie (âge du taux adulte)</th><th>Demi-vies</th></tr> <tr> <td>IgG</td><td>~ 10 mg/mL [5-12]</td><td>IgG1 et IgG3 : 2 ans IgG2 et IgG4 : 12-18 ans</td><td>10 - 30 j</td></tr> <tr> <td>IgA</td><td>~ 2 mg/mL [0,5-3,5]</td><td>12-18 ans</td><td>~ 6 j</td></tr> <tr> <td>IgM</td><td>~ 1 mg/mL [0,3-2,3]</td><td>1- 2 ans</td><td>~ 5 j</td></tr> <tr> <td>IgD</td><td>~ 10 µg/mL (< 60)</td><td>—</td><td>—</td></tr> <tr> <td>IgE</td><td>~ 10 - 1000 ng/mL</td><td>—</td><td>—</td></tr> </table>			Classe	Concentration sérique moy (adulte)	Ontogénie (âge du taux adulte)	Demi-vies	IgG	~ 10 mg/mL [5-12]	IgG1 et IgG3 : 2 ans IgG2 et IgG4 : 12-18 ans	10 - 30 j	IgA	~ 2 mg/mL [0,5-3,5]	12-18 ans	~ 6 j	IgM	~ 1 mg/mL [0,3-2,3]	1- 2 ans	~ 5 j	IgD	~ 10 µg/mL (< 60)	—	—	IgE	~ 10 - 1000 ng/mL	—	—
Classe	Concentration sérique moy (adulte)	Ontogénie (âge du taux adulte)	Demi-vies																								
IgG	~ 10 mg/mL [5-12]	IgG1 et IgG3 : 2 ans IgG2 et IgG4 : 12-18 ans	10 - 30 j																								
IgA	~ 2 mg/mL [0,5-3,5]	12-18 ans	~ 6 j																								
IgM	~ 1 mg/mL [0,3-2,3]	1- 2 ans	~ 5 j																								
IgD	~ 10 µg/mL (< 60)	—	—																								
IgE	~ 10 - 1000 ng/mL	—	—																								

III. FONCTION DE RECONNAISSANCE : LE RÉPERTOIRE

Répertoire	
Mécanismes génétiques	- 2 catégories d'évènements : 1. Réarrangement des gènes d'Ig et constitution du « répertoire primaire » (phase indépendante des antigènes). 2. Mutations somatiques des régions variables d'Ig et « maturation d'affinité ».

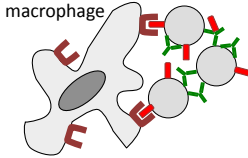
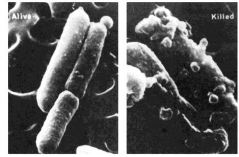
Locus IGK : chaînes légères kappa d'Ig 	5' Vκ Jκ Cκ Région variable Région constante 3' - Gène du chromosome 2. - <u>Le gène « germinale » est non fonctionnel :</u> • Comprends environ 40 segments Vκ, • Quelques segments Jκ, • 1 seul exon Cκ qui code la région constante de la chaîne légère. - Le réarrangement V-J rend le gène fonctionnel. - Les réarrangements mettent en jeu des séquences signal de recombinaison : • Certains segments V sont compatibles avec des segments J particuliers. • Les réarrangements peuvent être fonctionnels ou non. - Puis transcription, épissage et traduction de la chaîne légère κ.																
Locus IGH : chaînes lourdes d'Ig 	5' V_H D J_H Cμ Cδ Cγ₃ Région variable Région constante 3' - Gène du chromosome 14. - La région constante de la chaîne lourde définit la classe d'Ig. - Groupes de segments pour générer la diversité des régions variables : • V_H pour variable. • D pour diversité. • J_H pour jonction. - Plus en aval on trouve les zones capables de coder pour les régions constantes des chaînes lourdes (Cμ, Cδ, Cγ₃). - Regroupement V-D-J : les segments D et J se réarrangent, puis le segment V se réarrange avec D-J. • VDJ constitue l'exon qui code pour la région variable de la chaîne lourde. • Tout ce qui se trouve entre les 3 segments est éliminé par une exonucléase. • Réarrangement rapproche le promoteur d'une séquence enhancer, ce qui lance la transcription. - Au début de la maturation, on obtient toujours de l'IgM car les régions qui la codent (Cμ) sont le plus en amont.																
Diversité des Ig	- 3 loci non fonctionnels en configuration « germinale » : • IGH (14q32). • IGK (2p11). • IGL (22q11). - Chaque locus comprend des segments de gènes « variables » (V, D, J) et un nombre plus limité de segments de gènes « constants » (C). - <u>Nombre de segments variables fonctionnels :</u><table><tr><th></th><th>H</th><th>κ</th><th>λ</th></tr><tr><td>V</td><td>38-46</td><td>34-38</td><td>29-33</td></tr><tr><td>D</td><td>23</td><td>0</td><td>0</td></tr><tr><td>J</td><td>6</td><td>5</td><td>4-5</td></tr></table> - Au cours de la différenciation des cellules B réarrangement fonctionnel d'un allèle IgH (chaîne lourde) puis d'un allèle IGK ou IGL (chaîne légère). - Les réarrangements V(D)J dépendent des « gène activant la recombinaison » (RAG) : • Il existe des déficits immunitaires génétiques liés à une anomalie de fonctionnement de ces recombinaisons.		H	κ	λ	V	38-46	34-38	29-33	D	23	0	0	J	6	5	4-5
	H	κ	λ														
V	38-46	34-38	29-33														
D	23	0	0														
J	6	5	4-5														

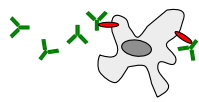
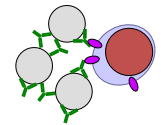
3 mécanismes de génération de diversité :	- <u>Diversité « combinatoire » :</u> • $VH \times D \times JH \Rightarrow$ environ 6 000 régions variables de chaînes lourdes possibles. • $VL \times J \Rightarrow$ environ 250 région variables de chaînes légères. - <u>Diversité « jonctionnelle » (CDR3++) :</u> • Addition de nucléotides ('N' ou 'P'). • Décalages de lecture des segments D et J. - <u>Mutations somatiques des régions V réarrangées :</u> • Interviennent uniquement dans les centres germinatifs des follicules lymphoïdes. • Permettent la « maturation d'affinité » en coordination la sélection sur l'antigène.
Commutation isotypique	Le diagramme illustre la commutation isotypique. La partie supérieure représente le génome d'un lymphocyte B, avec des segments d'exons (rectangles noirs) et d'introns (lignes brisées). Les segments sont étiquetés de gauche à droite : VDJ, Cμ, Cδ, Cγ3, Cγ1, Ψε, Cα1, Ψγ, Cγ2, Cγ4, Cε, Cα2. Des flèches bleues indiquent l'expression d'une chaîne μ (et parfois δ) à partir du VDJ et Cμ. Des flèches rouges pointent vers les régions Ψε, Cα1, Ψγ, Cγ2, Cγ4, Cε, qui sont regroupées sous l'étiquette « régions switch ». La partie inférieure montre le résultat de la commutation : le segment Cμ a été remplacé par Cγ1, et les régions switch correspondantes (Ψε, Cα1, Ψγ, Cγ2, Cγ4, Cε) sont maintenant exprimées. - Expression des classes et sous-classes. - Quand il est réarrangé de façon fonctionnelle, le gène des chaînes lourdes code pour des IgM. - C'est plus tard dans la vie du lymphocyte (périphérie) qu'il va être capable de passer de la production d'IgM à celle d'IgG1 (par exemple) : • C'est la commutation isotypique (« switch »). • Une fois que le lymphocyte reconnaît l'Ag et entre en contact avec des cellules T, il va recevoir un certain nombre de signaux qui vont lui permettre de produire autre chose qu'une IgM, mais vis-à-vis du même Ag (même région variable). - En amont de chaque groupe d'exons (Cμ, Cγ1...), on trouve des régions introniques « switch » : • Qui sont capables de se réarranger entre elles. • Par exemple, la région switch μ va venir se réarranger avec la région switch γ1. • Le lymphocyte B produit maintenant des IgG1.
Conditions à la commutation isotypique	- Interaction avec des lymphocytes T : • Par l'intermédiaire de molécules de co-stimulation, avec CD40 sur la cellule B et CD40-L sur la cellule Tfh. - Activité AID (cytidine déaminase) qui permet de repérer les centres germinatifs.
Ontogenèse B	- <u>Réarrangement IGH indispensable au développement B</u>, c'est une condition nécessaire et suffisante : • 1ère conséquence = exclusion allélique. ▸ Dès qu'un gène est réarrangé de façon fonctionnelle, l'autre allèle est éteint. • 2ème conséquence = cellule pré-B avec un pré-BCR, c'est-à-dire un BCR incomplet auquel il manque la chaîne légère. ▸ Mais la chaîne lourde reçoit des signaux qui permettent à la cellule B de continuer sa progression. - <u>Réarrangement d'un gène de chaîne légère (IGK ou IGL) :</u> • Ordre hiérarchique de réarrangement des chaînes légères : ▸ Toujours en 1er : la cellule tente de réarranger un gène Kappa. ▸ Mais très souvent, le réarrangement d'IGK est non fonctionnel $\Rightarrow$ délétion du gène. ▸ La cellule tente alors un réarrangement sur l'autre allèle Kappa. ▸ Quand échec sur les 2 allèles Kappa, on passe à un allèle Lambda. • Après réarrangement de la chaîne légère, la cellule devient un lymphocyte B immature.

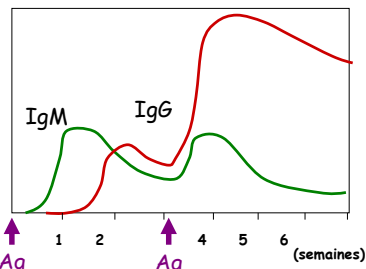
Ontogenèse B	- Après avoir reçu un certain nombre de signaux et subit la sélection (chargée d'éliminer les clones auto-réactifs), il devient un lymphocyte B mature naïf : • Avec, à sa membrane des IgM et IgD (car groupe Cδ juste à côté de Cμ). • Sort de la moelle osseuse et part patrouiller dans les organes lymphoïdes secondaires. - Quand il <u>rencontre l'Ag</u> (et éventuellement interagit avec une cellule T), le lymphocyte B désormais mature perd l'expression des IgD. • Il va pouvoir : ➢ Se différencier en plasmocyte et sécréter des Ac (réponse primaire). ➢ Subir une commutation isotypique pour exprimer autre chose que des IgM. ➢ Subir un phénomène de maturation d'affinité. • Lymphocyte B mature aboutit à la différenciation en lymphocyte B mémoire ou en plasmocyte.
Schéma	<i>Moelle osseuse</i> précurseur lymphoïde (moelle osseuse) → cellule pré-B → lymphocyte B immature Réarrangement d'un gène IGH (chaîne lourde) 'pré-BCR' (chaîne μ) BCR (IgM) Réarrangement d'un gène IGK ou IGL (chaîne légère) <i>Follicules lymphoïdes</i> lymphocyte B (organes lymphoïdes périphériques) IgM + IgD lymphocyte B 'mémoire' commutation isotypique + maturation d'affinité plasmocyte anticorps CD79a, CD79b, chaîne μ, chaîne légère Voir : Lefranc MP et Lefranc G, Différenciation des lymphocytes B.

IV. MODES D'ACTION : LES FONCTIONS EFFECTIVES

Systèmes effecteurs des anticorps	
Le complément	- Activé par des complexes immuns : • Car met en jeu C1, hexamérique donc se fixe mieux aux agrégats. - Activation (par protéolyse) de composants induisant divers effets : • Cytolyse (complexe d'attaque membranaire, C5-C9). • Inflammation (C3a et C5a). • Opsonisation (C3b). - Il existe des inhibiteurs du complément, pour contenir l'activation du complément sur le site d'activation.
Les récepteurs cellulaires pour le Fc	- Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (« ADCC »), avec les cellules NK et leur récepteurs CD16 qui reconnaissent les Ac. - Induction de la phagocytose des complexes immuns (opsonisation).
Autres effets	- Neutralisation. - Effets modulateurs sur les lymphocytes.

Activation de la voie classique du complément	
Stimuli	- Complexes immuns avec IgM , IgG1 , IgG3 principalement.
Initiation	- C1q (+ C1r et C1s). - Formation de convertase (C2a + C4b)
Effets	<u>Opsonisation (C3b)</u>  <u>Inflammation (C3a, C5a)</u> - Attraction des PN - Dégranulation des mastocytes <u>Cytolyse (C5-9)</u> Complexe d'attaque membranaire 
Inhibiteurs	- C1-INH, C4BP ...

Récepteurs pour le Fc des immunoglobulines	
Récepteurs de forte affinité	- Lient les Ig libres . - <i>Phagocytose par les macrophages</i> : • FcγR-I ou CD64 pour les IgG. - <i>Dégranulation des mastocytes (FcεR-I)</i> : • <i>Hypersensibilité de type I, IgE-dépendante.</i> 
Récepteurs de faible affinité	- Lient les complexes immuns . - <i>Cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC)</i> : • Par les cellules NK (FcγR-III ou CD16). • Par les polynucléaires éosinophiles (FcεR-II ou CD23). 

Caractères généraux de la réponse humorale	
Sélection clonale	- Un Ag nouveau pour l'organisme va forcément rencontrer un lymphocyte B naïf capable de reconnaître son épitope avec une faible affinité. - Ce lymphocyte B va se multiplier et générer : • Des plasmocytes sécréteurs d'IgM de faible affinité (réponse primaire). • Un pool de cellules mémoire qui ont subi une maturation d'affinité.
2 réponses	
Réponse primaire	- Antigène nouveau. - Stimulation du répertoire primaire (T et B). - Réponse IgM courte car produites par plasmocytes de courte durée de vie.
Réponse secondaire	- Stimulation des cellules mémoire , longue durée de vie. - Commutation isotypique => IgG. - Réponse plus rapide, plus intense, de plus forte affinité et meilleure spécificité (car sélection au niveau des centres germinatifs).

Réponse T-dépendante	
Schéma	Réaction du centre germinatif: - Maturation d'affinité (mutations somatiques + sélection sur l'antigène) - Commuation de classe (expression d'IgG, IgA ou IgE)
Maturation des cellules B	- <u>Un lymphocyte B naïf rencontre l'Ag</u>, l'endocytose et va présenter des peptides d'une quinzaine d'aa dans le contexte de CMH II sur sa membrane. - <u>Coopération B et T</u> : peptides reconnus par un lymphocyte T auxiliaire CD4+, spécifique du CMH et du peptide antigénique. • Met en jeu CD40 et CD40L. • Échanges de cytokines. • Le lymphocyte T a d'abord été activé, « primé », par une cellule dendritique. - <u>Activation et prolifération du lymphocyte B</u> : • Génération de plasmocytes à courte durée de vie (réponse primaire). ▸ Vont aller dans les zones interfolliculaires des gg (zones T) et sécréter des IgM. • Entrée de nombreuses copies du lymphocyte B dans un follicule lymphoïde pour former un « centre germinatif » : ▸ Ils s'y multiplient, ▸ Et interagissent avec des cellules Tfh (follicular helper). - <u>Expression de AID dans le centre germinatif => maturation d'affinité</u> : • Permet des mutations somatiques à fréquence très élevée, ciblées au niveau des régions CDR. • Modifient les fonctions de reconnaissance du BCR : certains voient leur capacité de reconnaissance de liaison à l'Ag diminuer, d'autre la voient augmenter. • Diversification des capacités de liaison. • Les cellules B de forte affinité sont ensuite sélectionnées sur l'Ag, qui se trouve aussi dans le centre germinatif via des cellules folliculaires dendritiques. - <u>Toujours dans le centre germinatif : commutation de classes</u> : • Expression d'IgG, d'IgA ou d'IgE. - <u>Production de</u> : • Lymphocytes B mémoire. • Plasmocytes à longue durée de vie et aux Ac de forte affinité.
Réponse T-indépendante ?	- Certains individus sont dépourvus de cellules T et produisent pourtant des Ac : • Cross-ligation de BCR par des épitopes répétitifs. • Co-stimulation via des récepteurs pathogènes (ex : TLR).

