



Université de Médecine et Pharmacie "Victor Babes" Timișoara  
Département d'immunologie  
Département des Sciences Fonctionnelles



# Lymphocyte B

## Cours 5



# Les données fondamentales

Longtemps, le lymphocyte B a été cantonné à un rôle unique dans les mécanismes des maladies auto-immunes, celui de sécréter les auto-anticorps. L'efficacité de la déplétion lymphocytaire B chez les patients ayant une polyarthrite rhumatoïde a renouvelé l'intérêt pour cette cellule. Parallèlement, la diversité des rôles du lymphocyte B récemment mis en évidence a considérablement étendu le champ d'action de cette cellule dans la physiopathologie des maladies auto-immunes. Ce chapitre vous propose donc de revisiter le destin passionnant et tourmenté du lymphocyte B, cette cellule au cœur de la pathogénie des maladies auto-immunes !



# 1. Qu'est-ce qu'un lymphocyte B ?

Le lymphocyte B dérive d'un précurseur hématopoïétique commun aux lymphocytes B et aux lymphocytes T.

La lymphopoïèse B a lieu dans le foie au cours de la vie fœtale, et dans la moelle osseuse tout au long de la vie.

Les caractéristiques essentielles du lymphocyte B sont la présence d'un récepteur membranaire, le BCR, qui est une immunoglobuline (Ig) de surface, qui reconnaît un antigène différent dans chaque cellule, et la capacité de sécréter cette même immunoglobuline (anticorps) par le plasmocyte (réponse immunitaire humorale), stade ultime de la différenciation lymphocytaire B.



La complexité des différentes étapes menant au développement de nouveaux lymphocytes B vise à répondre au défi représenté par la diversité des antigènes du non soi (infections, tumeurs) rencontrés tout au long de l'existence, grâce à l'élaboration d'un répertoire lymphocytaire B aussi diversifié que possible. Les mécanismes cellulaires (succession de phases de prolifération et de mort cellulaire) et moléculaires (réarrangement de segments de gènes et mutations) utilisés dans la diversification du répertoire B peuvent se compliquer de l'émergence d'un clone B tumoral (lymphomes B, myélome) ou d'un clone B auto-réactif, ayant échappé aux mécanismes de tolérance lymphocytaire B. Le lymphocyte B vit donc en permanence sous la double menace de l'auto-immunité et du lymphome !

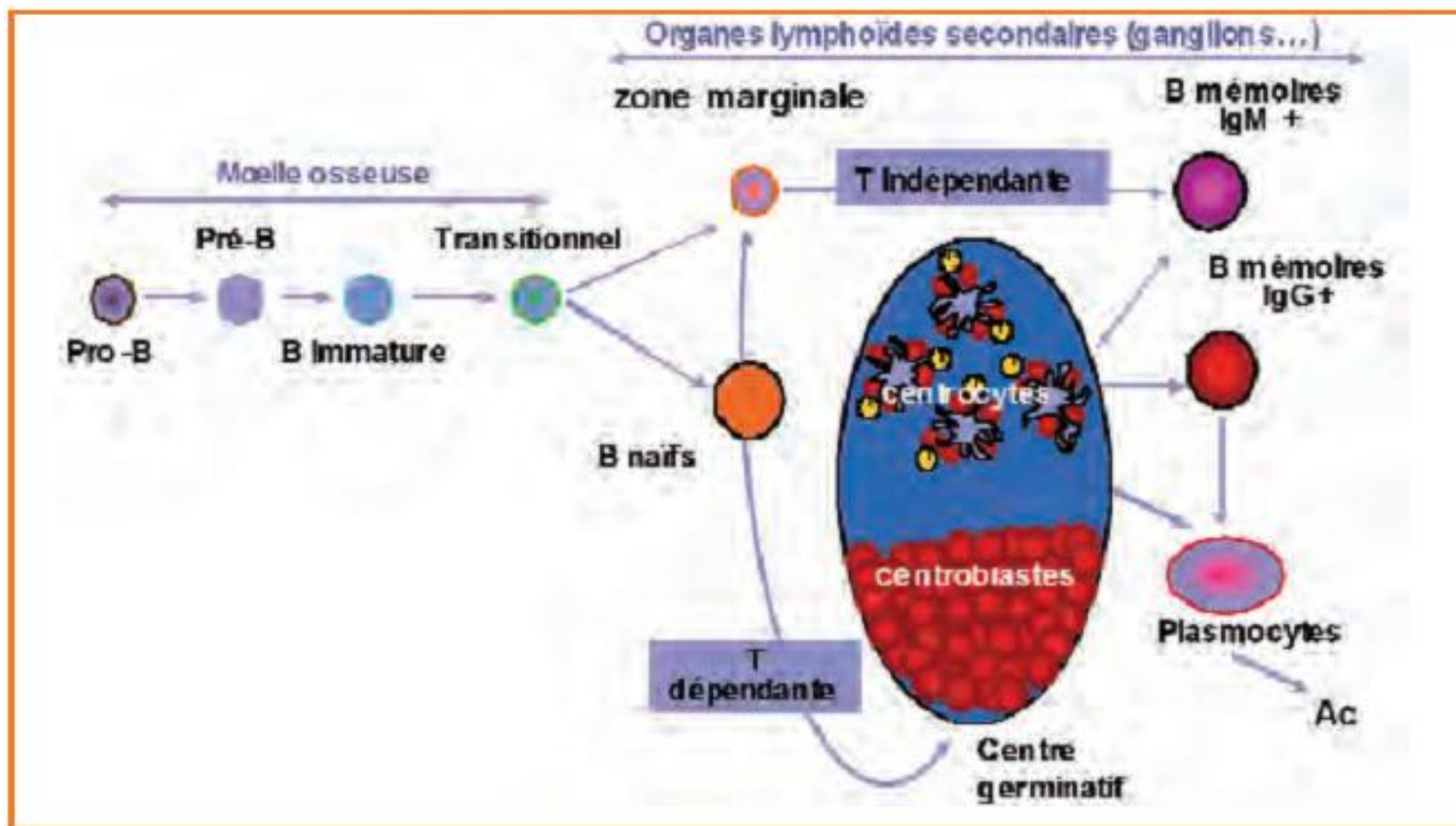


Pour éviter cette double menace, le lymphocyte B va être éduqué et contrôlé à plusieurs stades. Il suit, au maximum, 4 étapes successives de maturation :

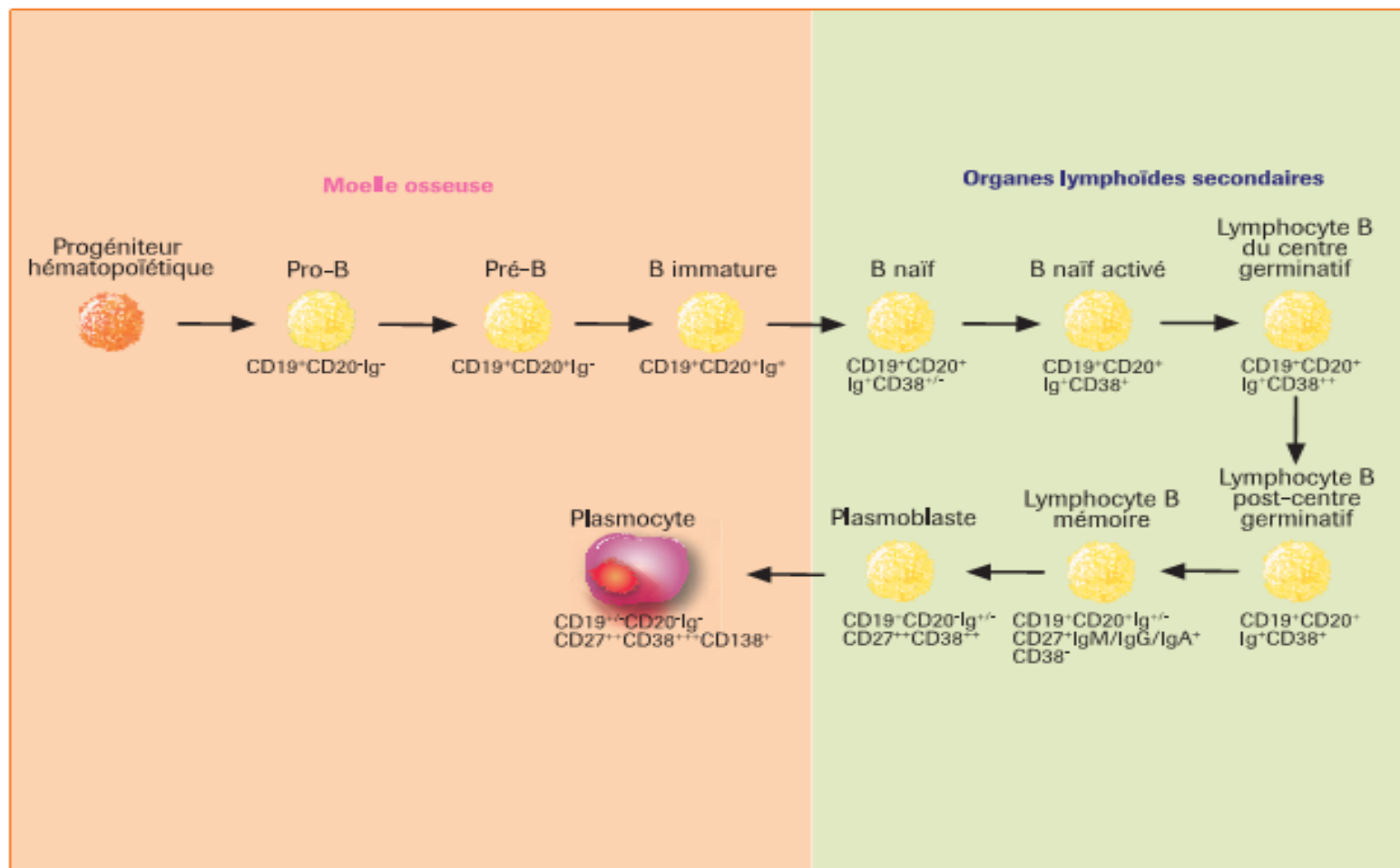
- 1 - éducation dans la moelle osseuse (tolérance centrale)
- 2 - éducation dans la rate (tolérance périphérique)
- 3 - réponse «extra-folliculaire»
- 4 - formation du centre germinatif

Au cours de sa maturation , il passe du statut de lymphocyte B immature, à celui de B mature naïf, de B activé, pour se différencier de manière ultime soit en lymphocyte B mémoire, soit en plasmocyte, cellule sécrétrice d'auto-anticorps.

## Les principales étapes de différenciation du lymphocyte B



# Principaux marqueurs membranaires au cours de la différenciation lymphocytaire B





## 2. Comment le lymphocyte B est-il éduqué dans la moelle osseuse ? (tolérance centrale)

Cette étape conduit au développement de lymphocytes B matures naïfs, ayant chacun un récepteur de membrane fonctionnel dont la spécificité est unique, ne reconnaissant pas d'antigènes du soi.

Cette étape de maturation est indépendante de la rencontre d'un antigène. Elle répond à un programme séquentiel faisant intervenir les enzymes RAG-1 et RAG-2, de nombreux facteurs de transcription spécifiques, comme Pax-5 et E2F, et le microenvironnement médullaire. La réussite de chaque étape de ce programme complexe conditionne la survie lymphocytaire B. Des mécanismes proches de ceux utilisés pour la formation du récepteur lymphocytaire T, mènent à la formation d'un pré-récepteur (stade pré-B) puis d'un récepteur mature.

Seuls les lymphocytes B qui ont un récepteur fonctionnel reçoivent des signaux de survie (sélection positive).





Les mécanismes de tolérance centrale visent à éliminer l'essentiel des lymphocytes B ayant une réactivité contre les antigènes du soi par sélection négative.

La moelle osseuse est donc à la fois le lieu de naissance et le cimetière de nombreux lymphocytes B, non fonctionnels ou auto-réactifs!

La maturation lymphocytaire B dans la moelle osseuse mène également à l'expression de marqueurs membranaires spécifiques du lymphocyte B, comme CD79 $\alpha$  (Ig $\alpha$ ), CD79 $\beta$  (Ig $\beta$ ), CD19, CD21 (récepteur CR2 du complément) et CD81, participant à la signalisation du récepteur lymphocytaire B, et CD20 (à partir du stade pré-B).



### 3. Éducation splénique (tolérance périphérique)

Chez la souris, il semble exister à ce stade 2 programmes distincts de différenciation menant aux lymphocytes B folliculaires, population lymphocytaire B principale, d'une part, et aux lymphocytes B de la zone marginale (B-MZ), d'autre part. Le rôle des B-MZ est, comme les lymphocytes B1 chez la souris, de reconnaître rapidement les pathogènes infectieux.

Les B-MZ, intégrés aux acteurs de l'immunité innée, pourraient jouer un rôle crucial dans le développement des maladies auto-immunes et des lymphomes compliquant certaines maladies auto-immunes.

Le répertoire de ces lymphocytes est souvent auto-réactif.



L'étape d'éducation splénique a surtout été étudiée chez la souris. Dans la rate, les lymphocytes B passent du stade transitionnel de type 1 (T-1) au stade transitionnel de type 2, en fonction de l'affinité du BCR pour les antigènes du soi (sélection négative) et de l'importance des signaux de survie, comme le taux de BAFF (B cell activating factor of the TNF family). Une population de cellules B transitionnelles a récemment été mise en évidence chez l'homme.



## Le rôle de BAFF dans les maladies auto-immunes

En même temps que le rôle des auto-anticorps était remis en lumière dans les maladies auto-immunes, il a été mis en évidence en 1999 une nouvelle cytokine de la famille du TNF appelé «B cell Activator of the TNF Family» (BAFF) ou «B Lymphocyte Stimulator» (BLyS) jouant un rôle fondamental dans l'activation des lymphocytes B. Ce médiateur est présent à la membrane des monocytes et des cellules dendritiques et peut être sécrété. Il se fixe sur des récepteurs présents sur le lymphocyte B: BAFF-R et TACI et va entraîner une activation des lymphocytes B.

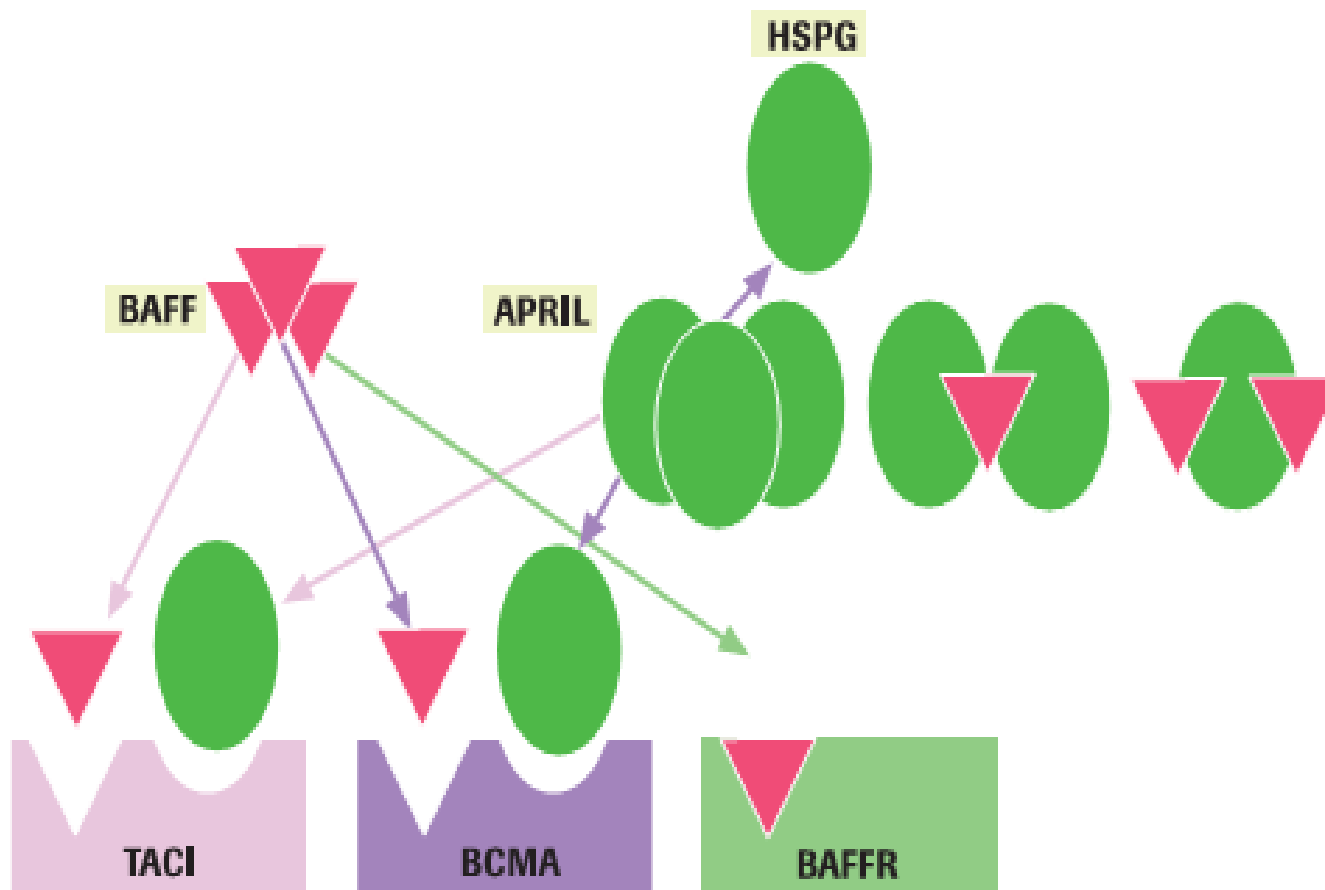
Cette activation concerne essentiellement les lymphocytes B auto-réactifs car les souris transgéniques pour BAFF (BLyS) ont des signes évoquant à la fois une PR, un lupus et un Sjögren. Elles présentent d'abord des arthrites et une glomérulonéphrite, puis une infiltration lymphoïde des glandes salivaires et une diminution du flux salivaire, et enfin, de façon intéressante un doublement du risque de voir apparaître un lymphome.



Une augmentation de BAFF (BLyS) dans le sérum a été observée dans le sérum de patients atteints de diverses maladies auto-immunes (lupus, syndrome de Sjögren, PR, maladie de Wegener). Le taux de BAFF peut être corrélé au taux des auto-anticorps (facteur rhumatoïde, anticorps anti-ADN ou anticorps anti-SS-A) ; la quantité d'ARN messager de BAFF a été retrouvée corrélée à l'activité de la maladie dans une étude sur le lupus.

Cette cytokine BAFF, qui joue un rôle dans l'activation des lymphocytes B peut également être exprimée par les cellules résidentes des organes cibles de l'auto-immunité sous l'influence de diverses cytokines : synoviocytes de la PR sous l'influence du TNF alpha ou de l'IFN gamma, cellules épithéliales salivaires du Sjögren sous l'influence de l'IFN alpha ou de l'IFN gamma.

## Le système BAFF-BAFF récepteurs



HSPG : héparane sulfate protéoglycanes

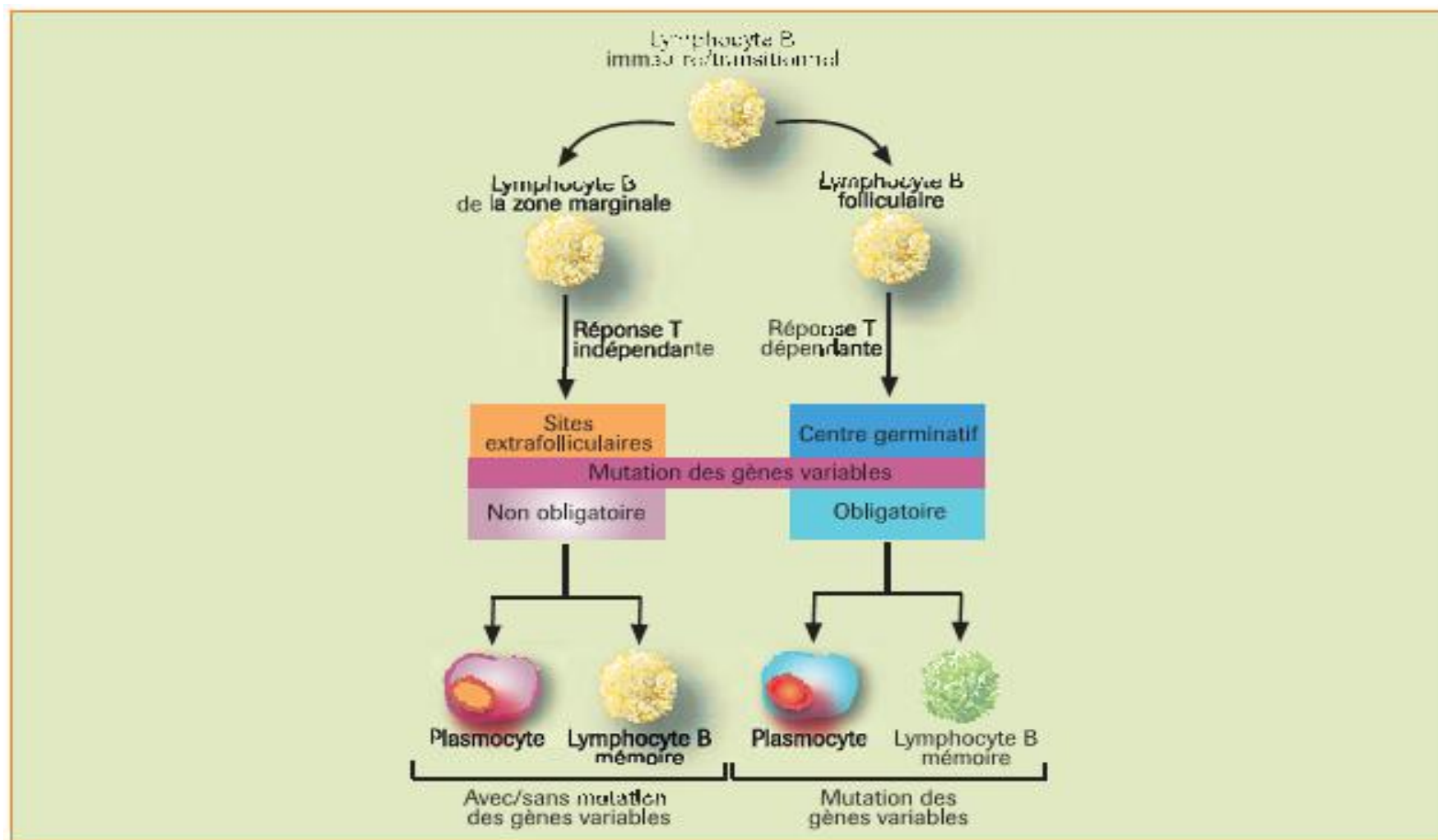


## 4. Comment le lymphocyte B est activé dans les organes lymphoïdes périphériques ?

### □ Réponse «extra-folliculaire»

La survie du lymphocyte B naïf mature, rescapé des étapes de sélection négative précédentes, passe maintenant nécessairement par la rencontre de l'antigène reconnu spécifiquement par son BCR. Le lymphocyte B circule donc à travers les vaisseaux lymphatiques et sanguins, dans la rate, les ganglions, les tissus lymphoïdes des muqueuses, à la recherche de son « élu » antigénique. L'avenir du lymphocyte B à court terme (48-72 heures) est le suivant : mort cellulaire en l'absence de rencontre de l'antigène, activation lymphocytaire B «T-indépendante», ou réponse «T-dépendante»

## Réponse lymphocytaire B T dépendante et T indépendante







Si l'antigène a certaines caractéristiques structurales (motifs polysidiques répétés par exemple), s'il existe une stimulation des récepteurs de l'immunité innée (Toll-like récepteurs), ou d'un récepteur de BAFF (TACI), ou s'il s'agit d'un B-MZ, le lymphocyte B peut être activé sans l'aide d'un lymphocyte T. Cette réponse T-indépendante peut mener à l'apparition de lymphocytes B mémoires à IgM de membrane, qui ne sont pas passés par le centre germinatif et qui peuvent se différencier en plasmocytes sécrétant des IgM de faible affinité pour l'antigène.

Ces lymphocytes B-MZ mémoires pouvant se différencier en plasmocytes habituellement de courte durée de vie pourraient jouer un rôle important dans les maladies auto-immunes.



## □ Formation du centre germinatif

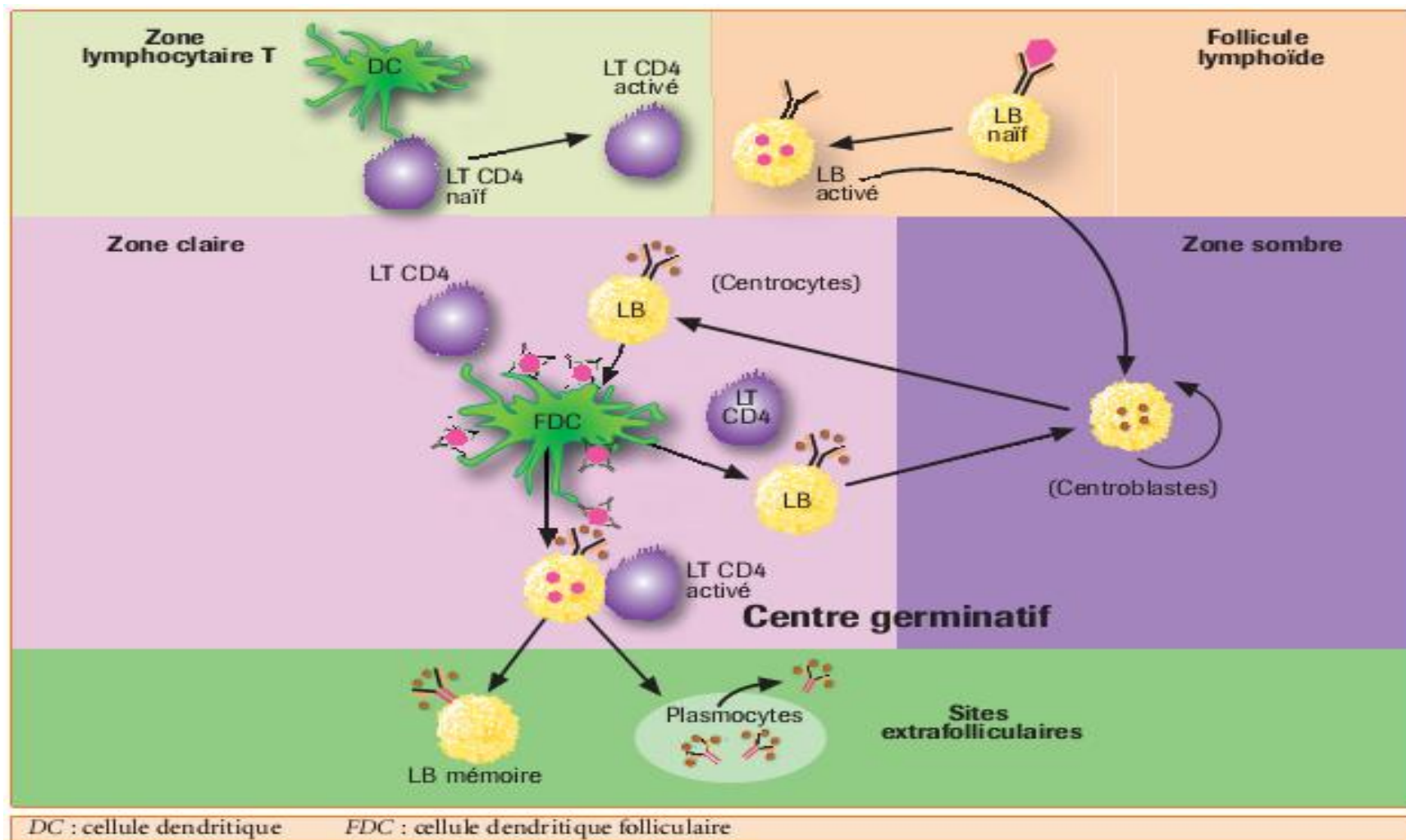
Dans les organes lymphoïdes secondaires, en présence d'une co-stimulation lymphocytaire TCD4 (réponse T-dépendante), le lymphocyte B va avoir une autre destinée : il va former des follicules lymphoïdes appelés aussi centres germinatifs. Dans le centre germinatif, l'architecture ganglionnaire permet un contact privilégié et prolongé entre lymphocytes B et T ayant la même spécificité antigénique et cellules dendritiques folliculaires, cellules qui favorisent la rétention prolongée de nombreux antigènes liés à des complexes immuns et qui activent les lymphocytes B et T en sécrétant la cytokine BAFF.



Le centre germinatif est le siège d'une prolifération lymphocytaire B majeure (centroblastes, zone « sombre »), d'hypermutations somatiques permettant l'augmentation d'affinité des anticorps sécrétés avec parfois le risque d'acquérir par ces mutations une auto-réactivité, et de réarrangements géniques permettant de sécréter des anticorps de même spécificité mais d'isotype différent (phénomène de commutation isotypique).

De nombreux mécanismes de tolérance périphérique visent à limiter l'apparition de B auto-réactifs dans les centres germinatifs : exclusion de nombreux lymphocytes B auto-réactifs des follicules lymphoïdes entraînant leur mort, délétion clonale, anergie, ignorance, révision du BCR (réactivation des recombinaisons RAG 1/2 permettant de nouveaux réarrangements géniques et l'appariement de nouvelles chaînes légères aux chaînes lourdes d'Ig, ce qui modifie la spécificité du BCR). Plus de 95% des lymphocytes B pénétrant dans un centre germinatif vont mourir. Seuls les lymphocytes B ayant la meilleure affinité avec l' (ou les) antigène(s) présenté(s) seront sélectionnés.

## Représentation schématique d'un centre germinatif





Le centre germinatif est le siège de la différenciation terminale en lymphocytes B mémoires ou en plasmocytes de longue durée de vie (6 à 12 mois chez la souris), qui regagnent la moelle osseuse. La formation d'un centre germinatif est donc une étape cruciale qui conduit à la sécrétion d'anticorps de haute affinité, la commutation isotypique et la constitution d'une mémoire lymphocytaire B. Dans les maladies auto-immunes, des structures de type centre germinatif sont observées dans certains organes cibles comme la thyroïde (thyroïdites auto-immunes), la synoviale (polyarthrite rhumatoïde), le cerveau (sclérose en plaques), ou les glandes salivaires (syndrome de Sjögren). Une des théories séduisantes pour expliquer l'émergence de B auto-réactifs en périphérie est que les lymphocytes B au répertoire auto-réactif, notamment ceux de la zone marginale, normalement exclus du centre germinatif, soient sauvés de la mort par une sécrétion augmentée de BAFF , et parviennent à entrer dans le centre germinatif, ce qui permet l'augmentation d'affinité des auto-anticorps sécrétés et l'apparition d'une mémoire immunologique auto-immune prolongée



## ❑ Mécanismes moléculaires de reconnaissance de l'antigène, d'activation lymphocytaire B, et de coopération lymphocytaire B et T

### ▪ Présentation de l'antigène au lymphocyte B

Le lymphocyte B a la possibilité de reconnaître et capter directement l'antigène sans autre cellule présentatrice, ou de se faire présenter l'antigène par une cellule présentatrice (cellule dendritique myéloïde, cellule dendritique folliculaire).

L'activation du récepteur membranaire du lymphocyte B est différente selon l'antigène (concentration, antigène soluble/membranaire, durée de la stimulation du BCR par l'antigène), certains co-sigaux (activation du récepteur du complément CD21, activation des récepteurs de BAFF, inhibition par CD5, CD22, par exemple) et surtout le stade de maturation du lymphocyte B. Le récepteur du lymphocyte B agit donc comme un véritable rhéostat qui intègre ces différents signaux.



L'activation du BCR suit des mécanismes moléculaires très proches de ceux du TCR: agrégation des récepteurs et association au sein de radeaux lipidiques pour former des microdomaines. Ces domaines riches en glycosphingolipides et en cholestérol facilitent la transduction des signaux grâce à la co-localisation du BCR, des molécules CD19, CD20 au voisinage des kinases Syk (qui jouent dans le lymphocyte B le rôle de Zap-70 dans le lymphocyte T) et la famille des kinases de la famille Src (Lck, Lyn, Fyn), de la kinase Vav et de la kinase Btk (Bruton-tyrosine kinase).

L'activation des kinases cytoplasmiques conduit à une cascade de phosphorylation sur la tyrosine de motifs activateurs ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif), notamment dans les domaines cytoplasmiques de Ig $\alpha$  et Ig $\beta$ , et à l'exclusion de régulateurs négatifs de l'activation lymphocytaire B (comme CD22) de ces microdomaines.

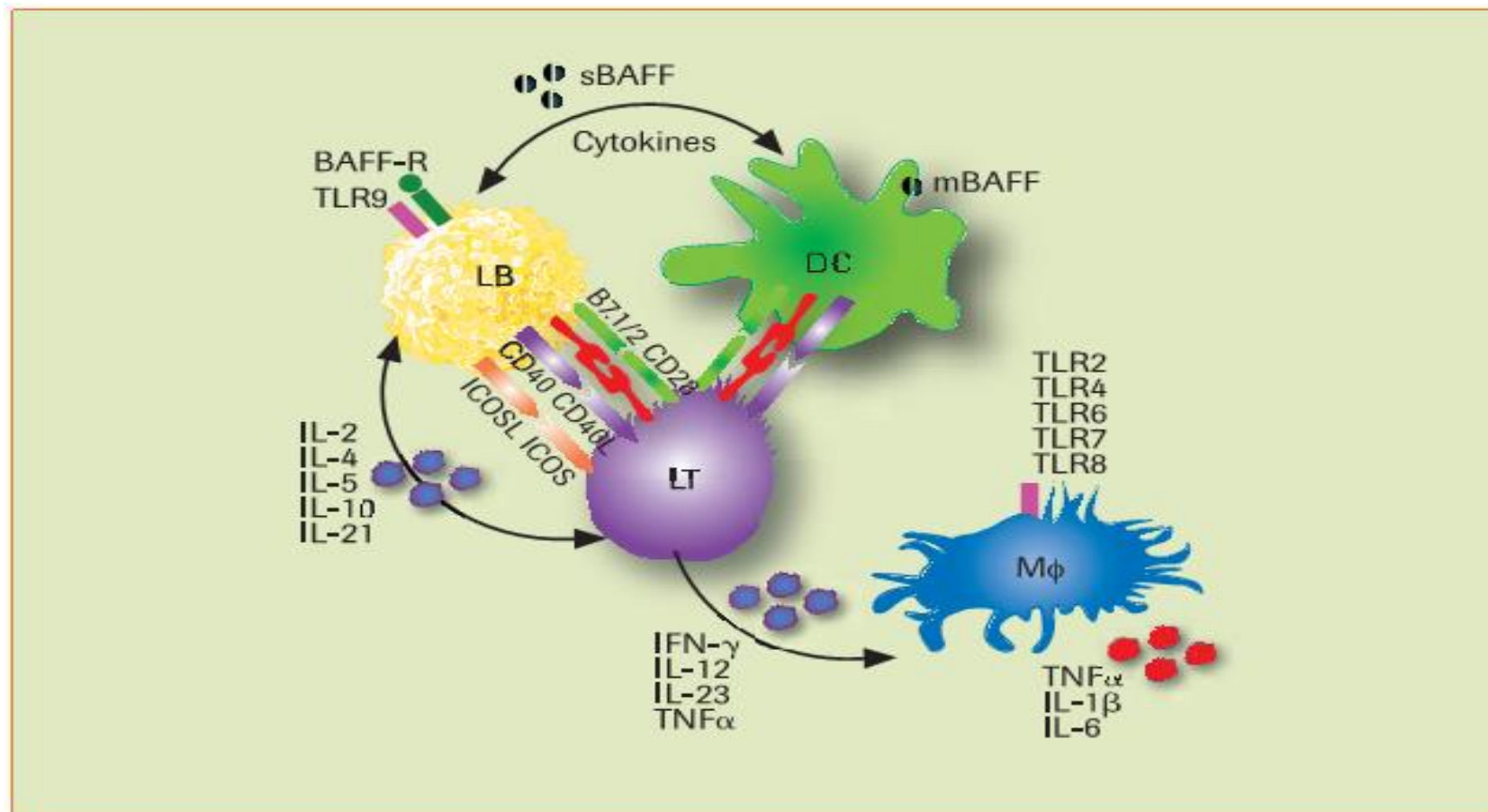


La signalisation intracellulaire du BCR se poursuit par l'apparition d'un flux calcique par l'hydrolyse des phospholipides par la phospholipase PLC $\gamma$ 2, l'activation de la voie des MAP kinases et de facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et AP-1.

L'engagement du BCR par son antigène conduit aussi à l'entrée du lymphocyte B dans le cycle cellulaire (prolifération) et à l'expression de certaines molécules de surface comme les molécules HLA de classe II, les molécules CD80 (B7-1) et CD86 (B7-2) et des récepteurs de cytokines, qui vont permettre au lymphocyte B d'engager le « dialogue » avec les lymphocytes T.



## Le lymphocyte B : une cellule présentatrice



sBAFF : forme soluble de BAFF  
 mBAFF : forme membranaire de BAFF  
 DC : cellule dendritique  
 Mφ : macrophage



## ■ Apprêtement de l'antigène

Le complexe BCR-antigène est internalisé, orienté vers les endosomes tardifs (compartiment MIIC), qui comportent les molécules HLA de classe II, et les molécules de chargement (HLA-DM et DO).

L'acidification de ces compartiments favorise la génération de peptides antigéniques par des enzymes protéolytiques sensibles au pH, la dégradation de la chaîne invariante Ii, et le chargement des peptides sur les molécules du CMH.



## ■ Synapse lymphocytaire B-T

La présentation de l'antigène, associé aux molécules HLA de classe II, par le lymphocyte B au TCR spécifique de cet antigène du lymphocyte T conduit à un véritable dialogue entre ces 2 cellules et à l'activation bidirectionnelle du lymphocyte T et du lymphocyte B. Le premier couple de ligands impliqué dans la coopération B-T met en jeu les molécules HLA de classe II, l'antigène et le TCR. Certaines molécules d'adhérence, comme ICAM-1 et LFA-1, favorisent l'adhérence entre T et B.

Le lymphocyte B activé délivre des signaux, notamment via l'expression des molécules CD80 et CD86, conduisant à l'activation du lymphocyte T.



Une étape clé est celle de l'expression par le lymphocyte T du ligand (CD40L) de CD40, molécule exprimée par le lymphocyte B. Le couple CD40L / CD40 est l'un des couples les plus importants dans l'interaction entre lymphocytes T et B au cours de la réponse humorale puisque l'activation de la voie CD40 sur le lymphocyte B conduit à la prolifération B, la sécrétion d'anticorps, la commutation isotypique, et la synthèse de cytokines comme l'IL-6 (voir déficit immunitaire avec syndrome hyper-IgM de type 1, section III-1).

De nombreux autres couples de molécules de co-stimulation B/T, comme CD27(B)/CD70(T), CD30(B)/CD153(T), ICOSL(B)/ICOS(T) et d'autres, participent à la coopération lymphocytaire entre lymphocytes B et T .



## 5. Fonctions des lymphocytes B

### ■ Les auto-anticorps : une pathogénie renouvelée dans les maladies auto-immunes

Les auto-anticorps sont très rarement directement pathogènes comme cela a pu être démontré au cours de la myasthénie, de la maladie de Basedow, ou du bloc atrio-ventriculaire congénital. Le rôle effecteur des anticorps inclut l'opsonisation des pathogènes infectieux, l'activation du complément, le recrutement et l'activation des monocytes, macrophages par leur récepteur Fcγ. Un nouveau rôle des anticorps a été mis récemment en évidence : l'activation par les complexes immuns des récepteurs de l'immunité innée (Toll-like récepteurs) conduisant à l'activation des B auto-réactifs et secondairement à la sécrétion d'autres auto-anticorps, et à l'activation des cellules dendritiques (boucle d'amplification de la réponse interféron).



## ■ Le lymphocyte B : une excellente cellule présentatrice

La souris MRL/lpr, qui est un modèle à la fois de lupus, de Sjögren et de PR, développe une maladie auto-immune liée à une infiltration de lymphocytes T, les lymphocytes T pouvant transférer la maladie. Si cette souris est totalement déplétée en lymphocytes B (souris MT MRL/lpr), alors il n'y a plus d'infiltration T et plus de maladie auto-immune. Par contre, si les lymphocytes B expriment uniquement la forme membranaire de leur immunoglobuline (souris mIgM MRL/lpr) sans possibilité de sécréter d'anticorps, alors l'infiltrat T et la maladie auto-immune se développent. L'immunoglobuline de membrane des lymphocytes B est donc indispensable au développement de cette maladie auto-immune. L'immunoglobuline de membrane des lymphocytes B a pour rôle de fixer un antigène qui peut ensuite être apprêté, puis présenté par ce même lymphocyte B au lymphocyte T. Cette fonction de présentation peut donc être très importante pour le déclenchement et la persistance de l'auto-immunité. D'autres études similaires ont montré l'importance du lymphocyte B comme cellule présentatrice d'antigène dans des modèles expérimentaux de diabète ou d'arthrite. De manière intéressante, ce rôle est particulièrement important pour le lymphocyte B « facteur rhumatoïde » qui, grâce à son immunoglobuline de membrane anti-IgG, peut capter des antigènes complexés aux IgG et les présenter ensuite aux lymphocytes T.

## ▪ Sécrétion de cytokines et phénotypes des lymphocytes B

Le lymphocyte B peut sécréter de nombreuses cytokines : IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-16, MIP-1 $\alpha$  et MIP-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , lymphotoxines, TGF-béta.

Depuis peu, on commence à définir les populations de lymphocytes B sur la base de leur profil de sécrétion de cytokines. Les Be1, différenciés à partir de B naïfs dans un environnement riche en IFN- $\gamma$  et en IL-12, sécrètent IL-2, IFN- $\gamma$  et dans certaines conditions de l'IL-12. Les Be2 sécrètent de l'IL-4, IL-10 et IL-12.

Ces profils Be1 et Be2 sont en accord avec le concept plus large de réponse de type 1 ou de type 2, qui s'appliquent aux lymphocytes T (Th1/Th2), aux cellules dendritiques, ou aux cellules NK.

Chez la souris, des lymphocytes B régulateurs ont été mis récemment en évidence, sécrétant pour certains de l'IL-10, pour d'autres du TGF- $\beta$ .

## ▪ Sécrétion de cytokines et phénotypes des lymphocytes B

Le lymphocyte B peut sécréter de nombreuses cytokines : IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-16, MIP-1 $\alpha$  et MIP-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , lymphotoxines, TGF-béta.

Depuis peu, on commence à définir les populations de lymphocytes B sur la base de leur profil de sécrétion de cytokines. Les Be1, différenciés à partir de B naïfs dans un environnement riche en IFN- $\gamma$  et en IL-12, sécrètent IL-2, IFN- $\gamma$  et dans certaines conditions de l'IL-12. Les Be2 sécrètent de l'IL-4, IL-10 et IL-12.

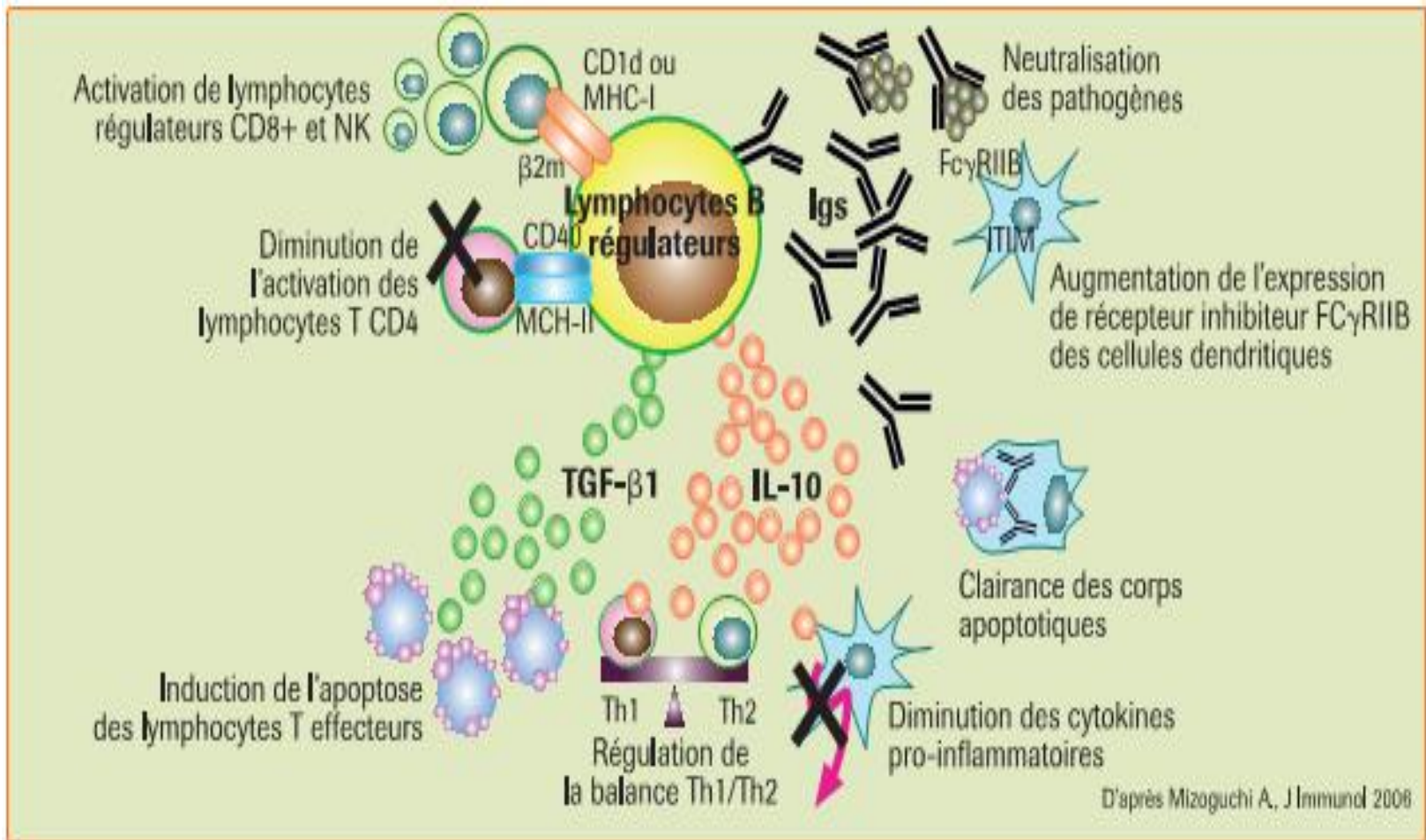
Ces profils Be1 et Be2 sont en accord avec le concept plus large de réponse de type 1 ou de type 2, qui s'appliquent aux lymphocytes T (Th1/Th2), aux cellules dendritiques, ou aux cellules NK.

Chez la souris, des lymphocytes B régulateurs ont été mis récemment en évidence, sécrétant pour certains de l'IL-10, pour d'autres du TGF- $\beta$ .

Les cytokines sécrétées modulent l'activation des autres acteurs de l'immunité, essentiellement les lymphocytes T et les cellules dendritiques. Ainsi la sécrétion d'IL-16, de MIP-1 $\alpha$  et MIP- $\beta$ , par le lymphocyte B participe-t-elle à la différenciation, la migration et la fonction des cellules dendritiques myéloïdes.



## Mode d'action supposé des lymphocytes B régulateurs chez la souris





## ▪Rôle des B dans la diversification du répertoire lymphocytaire T et activation lymphocytaire T

Les lymphocytes B jouent un rôle important dans la sélection positive thymique en présentant des antigènes peptidiques aux thymocytes. Les modèles animaux sans lymphocytes B ou ayant des lymphocytes B sans immunoglobulines de surface ont un répertoire T restreint.

Nous avons insisté sur l'importante coopération entre lymphocyte B et lymphocyte T. Cette collaboration concerne à la fois les lymphocytes T CD4 et les lymphocytes T CD8.

Les souris prédisposées au lupus sans lymphocytes B ou ayant des lymphocytes B sans immunoglobulines de surface développent peu ou pas d'infiltrat lymphocytaire T CD8 dans les organes cibles de la maladie.

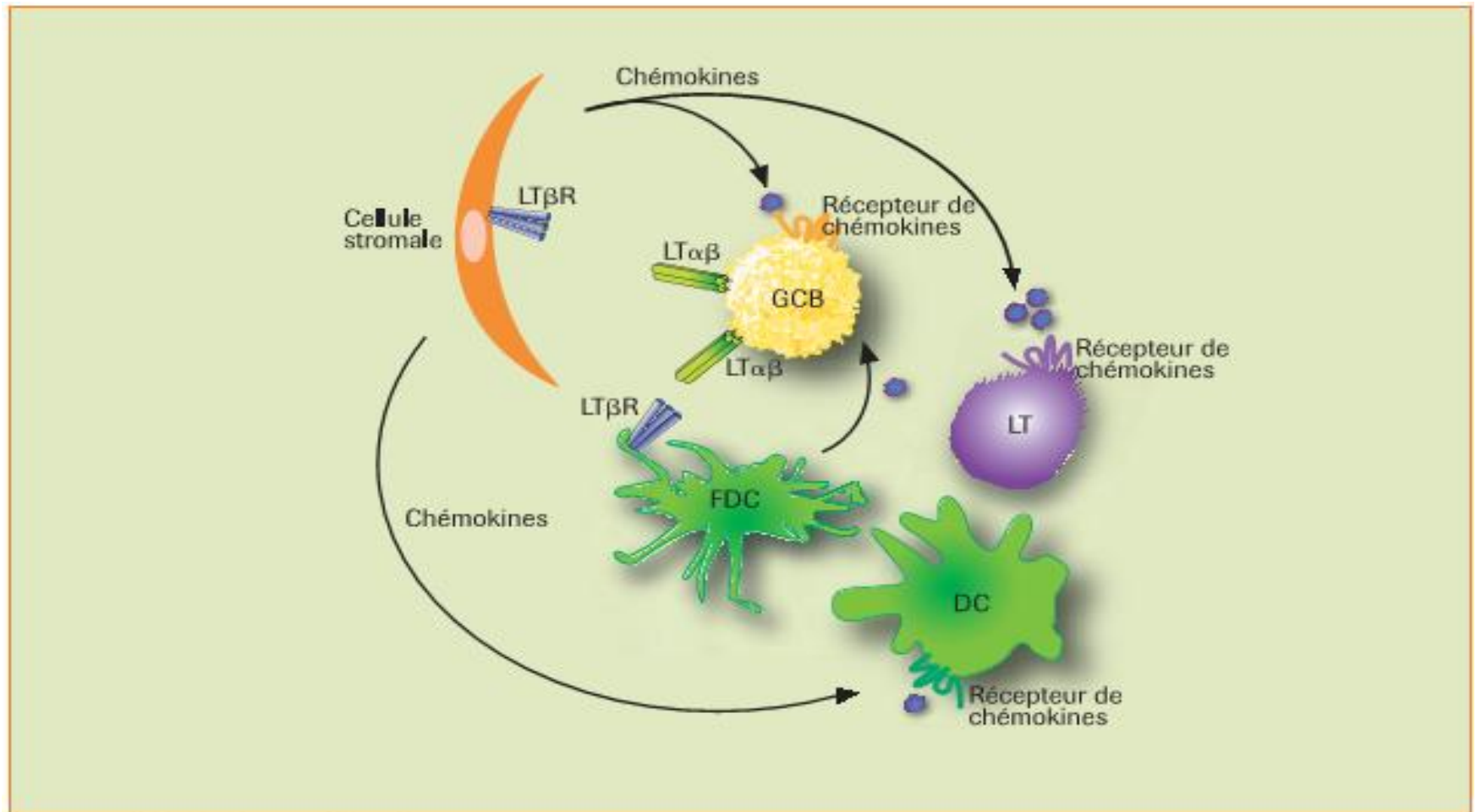
## ▪Rôle dans le maintien de l'organisation lymphoïde

Les lymphocytes B sont indispensables à la formation d'une architecture de type centre germinatif dans les organes lymphoïdes et dans certains organes cibles des maladies auto-immunes.

Nous avons rappelé l'importance du centre germinatif pour la sécrétion d'anticorps de haute affinité et l'acquisition d'une mémoire immunologique.

Ce rôle crucial passe notamment par l'expression par le lymphocyte B des lymphotoxines LT- $\alpha$  et  $\beta$ , qui assurent la survie des cellules dendritiques folliculaires, elles-mêmes indispensables au recrutement (gradient d'expression de la chémokine CXCL13) des lymphocytes B et à leur survie au sein des centres germinatifs .

## Le lymphocyte B : une cellule indispensable à la formation des centres germinatifs



*FDC* : cellule dendritique folliculaire  
*GCB* : lymphocyte B de type centre germinatif

## ■Participation à la cascade inflammatoire et aux lésions tissulaires

Les complexes immuns activent les mécanismes effecteurs cytotoxiques médiés par les T, les macrophages, les PNN, les mastocytes, ou le système du complément. Le lymphocyte B est également une cellule nécessaire à la fibrose, qui complique fréquemment les lésions tissulaires rencontrées au cours des maladies auto-immunes, comme le syndrome de Sjögren primitif ou la sclérodermie. Ainsi la déplétion lymphocytaire B prévient-elle l'apparition d'une fibrose hépatique dans un modèle expérimental murin. Par ailleurs, au cours de la polyarthrite rhumatoïde, on a récemment (re)découvert la présence de follicules lymphoïdes B dans l'os sous-chondral. Certaines études suggèrent la sécrétion par le lymphocyte B de cytokines activant la résorption osseuse par les ostéoclastes, comme RANKL...

Ces deux exemples (fibrose, ostéolyse) illustrent donc la participation du lymphocyte B à des processus tissulaires via des mécanismes non directement liés à leur immunoglobuline de membrane.



