

LYMPHOPOIESE & LYMPHOCYTES

- | | |
|------|------------------------------------|
| I. | Introduction |
| II. | Méthodes d'étude |
| III. | Etude statique de la lymphopoïèse |
| IV. | Etude dynamique de la lymphopoïèse |
| V. | Fonctions des lymphocytes |
| | Conclusion. |

I. INTRODUCTION :

Les lymphocytes sont les cellules centrales du système immunitaire. Ils assurent les fonctions essentielles d'identification de l'antigène participant avec les macrophages à la réaction immunitaire qui provoque la neutralisation et l'élimination des agents étrangers.

3 populations lymphocytaires existent : LT, LB, Lymphocytes naturel Killer (NK). Elles sont produites par un même phénomène : Lymphopoïèse. Les Lym T dont la maturation dépend du thymus, sont responsables de l'immunité à médiation cellulaire ; Les Lym B se développent chez l'adulte uniquement à partir de la MO, et sont responsables de l'immunité à médiation humorale. Les lymphocytes NK sont définis par des critères morphologiques, phénotypiques et fonctionnels. L'étude de la population lymphocytaire permet de comprendre son implication dans la réponse immunitaire ; de reconnaître les marqueurs spécifiques de chaque entité; d'étudier la relation structure - fonction permettant de mieux cerner la physiopathologie des hémopathies lymphoïdes.

II. METHODES D'ETUDE :

- ❖ **Hémogramme** : Adulte ♂♀ : 2 à 4 x 10⁹/L ; Enfant : 3 à 8 x 10⁹/L ;
- ❖ **Myélogramme, BOM** : Lymphocytes adulte : 5 à 15 % ; Plasmocytes adulte : 0 à 3 % ;
- ❖ **Adénogramme, biopsie ganglionnaire** : permet de classer avec certitude un LMNH +++ ;
- ❖ **Colorations cyto-chimiques et cyto-enzymatiques.**
- ❖ **Immuno-phénotypage, Numération par cytométrie en flux CMF** : marquage par des Ac monoclonaux fluorescents ;
- ❖ **Analyse fonctionnelle des différentes populations** : Intradermoréaction (IDR à la tuberculine), ELP des protéines, dosage pondéral des Ig, Immunoélectrophorèse, isotopie.
- ❖ **Cytogénétique - Biologie moléculaire.**

III. ETUDE STATIQUE DE LA LYMPHOPOIESE:

1) Etude morphologique :

Il n'est pas possible de distinguer les LT des LB selon les critères cytologiques. Cependant on peut distinguer (taille) : petit lymphocyte, grand lymphocyte, lymphocyte granuleux, plasmocyte (MO).

Tableau I : Morphologie des lymphocytes.			
Aspect général	Noyau	Cytoplasme	Microscope électronique
Petit lymphocyte			
Taille : 7 – 10µm Forme arrondie.	N/C = 0.9, Volumineux, bien rond, Chromatine très condensée, violet noire.	Basophile, mince en couronne, sans granulations.	Appareil de Golgi avec un à 2 centrioles près du noyau. Quelques ribosomes libres et quelques mitochondries.
Grand lymphocyte			
Taille : 10 – 15 µm ; Forme arrondie déformable.	N/C = 0.7, Rond, ovalaire, chromatine oins condensée,	Pale, plus grand. Quelques granulations azurophiles (grand lymphocyte granuleux LGL).	Plusieurs ribosomes, mitochondries, un ergastoplasme, des liposomes et des vacuoles lipidiques.
Plasmocyte			
Taille : 10 – 15µm,	Taille moyenne, arrondie/ovalaire, excentré, Chromatine condensée en masse (disposée en rayon de roue).	Fortement basophile avec une zone périnucléaire claire décolorée : archoplasme.	Appareil de Golgi, Réticulum endoplasmique rugueux très développé.

Les Lymphocytes

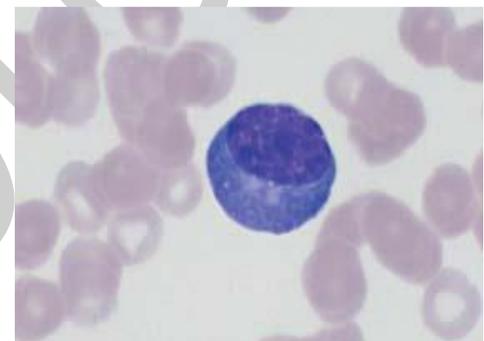
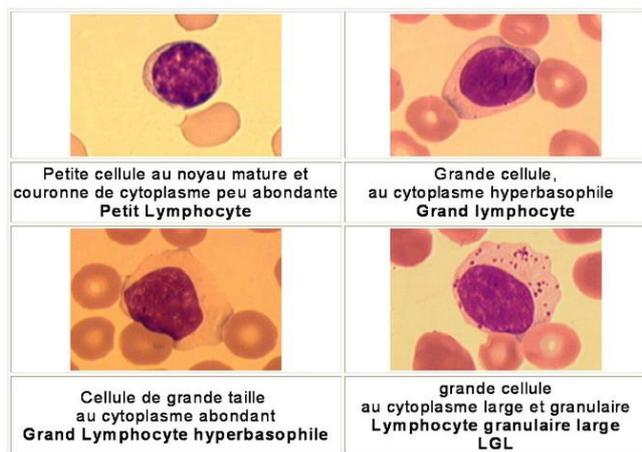


Figure 1: Cytologie des lymphocytes, Plasmocyte.

2) Etude biochimique :

Les lymphocytes sont : pauvres en enzymes (Peroxydase négatifs, Estérase négatifs), PAS (périodique Acide Schiff) négatifs (absence de glycogène), , Phosphatase acide (LT riches, LB pauvres), β glucuronidase positifs.

Les cellules NK contiennent des granules riches en perforines et granzymes, libérées lors de la phase effectrice de la cytotoxicité.

3) Etude immunologique : Les différents lymphocytes ne peuvent être distingués qu'à partir

des marqueurs membranaires spécifiques représentés par des récepteurs et des Ag membranaires identifiés à l'aide d'Ac monoclonaux et désignés par le terme CD (Classed differentiation).

Principaux Marqueurs de la lignée B	Principaux marqueurs de la lignée T	Principaux marqueurs des cellules NK
- Marqueurs de différenciations : CD19 et CD20. - Marqueurs spécifiques : CD20, CD21 et CD10. - Marqueurs d'activation : CD45 (LBm), CD38 et HLA-DR. - Récepteurs de reconnaissance des antigènes : BCR et CD79 (α et β). - Autres récepteurs membranaires : récepteur de l'IL-2, récepteur du TNFα et récepteur du complément.	- Marqueurs de différenciations : CD2, CD5 et CD7. - Marqueurs spécifiques: CD4, CD8 et CD28. - Marqueurs d'activation : CD45 (LTm), CD38 et HLA-DR. - Récepteurs de reconnaissance des antigènes : TCR – CD3. - Autres récepteurs membranaires : récepteur de la fraction Fc des Ig, récepteur du complément,	Kir : Rt CMH I CD16: Rt Fc IgG CD56, LFA-1, ICAM1, LFA-3 : molécules d'adhésion CD2: co-activation CD57,

4) Etude quantitative et Répartition :

Le corps humain contient environ 10^{12} lymphocytes, soit 2 % du poids du corps.

Dans le sang, leur concentration varie selon l'âge.

Les LT constituent la population prédominante des Lym du sang (70 % ; $1,1 - 1,7 \times 10^9/L$, dont: -LT CD4: 42 % ($0,7 \text{ à } 1,1 \times 10^9/L$) -LT CD8: 35 % ($0,5 \text{ à } 0,9 \times 10^9/L$)).

Répartition tissulaire des populations lymphocytaires

	Lymphocytes T	Lymphocytes B	Lymphocytes NK
Sang périphérique	70-80 %	10-15 %	10-15 %
Moelle osseuse	5-10 %	80-90 %	5-10 %
Thymus	99 %	<1 %	<1%
Ganglions	70-80 %	20-30 %	<1 %
Rate	30-40 %	50-60 %	1-5 %

La migration des Lym est permanente entre le sang et les tissus :

Les Lym font un bref séjour dans le compartiment intravasculaire ; ils gagnent les ganglions, puis les vaisseaux lymphatiques ; puis le canal thoracique puis retour dans la circulation sanguine.

Les précurseurs T : de la MO vers le thymus où ils subissent l'étape initiale de différenciation puis du thymus par le sang périphérique vers les zones T dépendantes des ganglions, de la rate et des divers formations lymphoïdes sous muqueuses ;

Les précurseurs B : de la MO vers les OLP ; recirculation ultérieure des Lym matures.

IV. ETUDE DYNAMIQUE DE LA LYMPHOPOIESE :

La lymphopoïèse commence au niveau du foie foetal à partir de la 6^{ème} semaine. La MO se substitue à partir du 4^{ème} mois.

Les cellules souches lymphoïdes (CFU-L) proviennent de la cellule souche pluripotente médullaire commune. Ce progéniteur totipotent va se différencier en progéniteur lymphoïde T (qui va migrer dans le thymus) et en progéniteur lymphoïde B (SCF et IL- 3) qui reste dans la MO.

1) **Lymphopoïèse primitive (basale)** : produit les cellules lymphoïdes nécessaires aux besoins.

a. **Lymphopoïèse B** : Elle débute par quatre étapes successives de prolifération cellulaire.

Le 1^{er} progéniteur lymphoïde B ou B cell precursor ou BCP prolifère et se différencie en présence d'IL-7 en BI, BII, BIII et BIV, qui se caractérisent par l'acquisition progressive de molécules :

▪ BI(ProB) : CD19, CD20, CD79b;	▪ BIII (B immature) : CD19, CD20, CD79b CD10 C Mu cytopl;
▪ BII (PreB) : CD19, CD20, CD79b CD10;	▪ BIV (B mature) : CD19, CD20, CD79b +/- CD10 Ig M de surface.

Après le stade BIV les lymphocytes produits quittent la MO vers la circulation sanguine puis lymphatique, entrent en contact avec les Ag du soi (tolérance immune) (rate) pour donner les Lym matures naïfs possédant une IgM et une IgD de surface.

b. Lymphopoïèse T :

Elle passe par le développement, la maturation et l'acquisition de la tolérance.

3 étapes de différenciation (toutes caractérisées par une forte prolifération) ont lieu au cours desquelles se construit le complexe CD3-TCR.

La maturation des LT comprend : le choix de lignage, la sélection positive (corticale), le choix du CD (simple positif) puis la sélection négative (médullaire).

Etape 1 : Dans la zone corticale, prolifération intense de prothymocytes (thymocytes corticaux) (SCF, IL-7). Les chaînes du TCR commencent à se réarranger. Le CD3 est présent, au niveau intracytoplasmique.

Etape 2 : Dans la zone corticale, les cellules évoluent en préthymocytes (thymocytes communs) (TCR, co-expression en surface des CD4 et CD8 (double positif)) → sélection positive vis-à-vis du CMH des cellules épithéliales avec élimination des cellules auto-réactives.

Etape 3 : Les cellules se localisent dans la médullaire du thymus (thymocytes matures/médullaires). En surface, elles expriment soit CD4 soit CD8 (simple positif) → sélection vis-à-vis du peptide (affinité) → survie si interaction faible avec les cellules dendritiques auto-réactives.

Les thymocytes matures se différencient en lymphocytes CD4⁺ ou CD8⁺ qui passent dans le sang.

2) La lymphopoïèse secondaire (immunopoïèse) : correspond aux multiplications des cellules matures soumises à l'activation du contact antigénique. Elle permet l'adaptation de la réponse immunitaire. Elle a lieu dans les OLP.

Les LB activés subissent une expansion clonale et une différenciation, soit en Lymphocytes Mémoires, soit en Plasmocytes, étape ultime de la différenciation B.

Les LT activés, après la phase d'expansion, se différencient en LT mémoire, en Lymphocytes effecteurs cytotoxiques (CTL), ou sécréteurs de cytokines, permettant la régulation de la réaction immune, l'activation des macrophages et la génération d'une réaction inflammatoire.

3) Régulation de la lymphopoïèse : Des étapes les plus précoces aux stades terminaux, sont régulés par un certain nombre de facteurs : IL 2 : maturation des LT ; IL 1 : maturation des pré B; BCGF: différenciation des LB; IL 6: maturation des LT et LB; IL 7: prolifération et différenciation des précurseurs lymphoïdes B.

V. FONCTIONS DES LYMPHOCYTES :

La réponse immunitaire est un ensemble de mécanismes biologiques qui assurent la cohérence des cellules de l'organisme et le maintien de l'intégrité en éliminant les agents étrangers auquel il est exposé. Cette réponse vitale met en jeu 2 catégories de processus immunitaire :

- Non spécifique : immunité naturelle de mise en jeu immédiate (cellules NK).

- Spécifique : reconnaissance et mise en mémoire de l'Ag. Les cellules lymphoïdes intervenantes sont : Les LT (immunité à médiation cellulaire), Les LB (immunité à médiation humorale).

1) **Fonctions des LT** : constituent une population très hétérogène par leur fonction.

- a. Reconnaissance de l'Ag.
- b. Fonctions effectrices des LT (CD8) cytotoxiques.
- c. Régulation de la réponse inflammatoire (sécrétion de lymphokines).
- d. Fonction de mémoire.

2) **Fonctions des LB** :

- a. Reconnaissance de l'Ag, sous forme native, sans restriction du CMH ;
- b. Présentation du peptide associé au CMH II ;
- c. Synthèse et sécrétion des Ac (plasmocytes).
- d. Fonctions de mémoire.

3) **Fonctions des NK** : agissent sans immunisation préalable, sans reconnaissance spécifique par un TCR ou une Ig. Elles sont capables d'induire la lyse des cellules cibles selon 2 voies :

- *Cytotoxicité dépendante des Ac (ADCC)* : efficace pour lyser les cellules cibles recouvertes d'Ac,
- *Cytotoxicité naturelle* : Ce sont les cellules majeures de l'immunité naturelle, et de la surveillance antitumorale et antivirale mettant en jeu la perforine, granzyme, Fas-L.

Elles sécrètent diverses cytokines : IFN γ β α , IL-3, IL-4 et IL-5, cytokines inflammatoires (IL1, IFN, GM-CSF).

Conclusion :

Les outils modernes d'immunophénotypage, et les études approfondies des cellules lymphoïdes ont permis de classer les différentes anomalies affectant ces cellules en fonction de leur degré de différenciation, correspondant aux divers stades de maturation des Lym normaux ; Cela a permis de distinguer au sein d'une entité morphologiquement uniforme des entités de pronostic très différent.

De nouvelles classifications des maladies et l'individualisation de leur caractéristique, peuvent permettre d'avoir des pistes pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et d'éviter de nombreux cas de traitements agressifs → Amélioration du diagnostic et de la prise en charge.

Références :

- EMC hématologie. Physiologie et différenciation des cellules lymphoïdes.
- Taieb Agourram. Cahier N°2 de cytologie hématologique. Havard medical school. PDF.
- Mark T Drayson and Paul AH Moss. Postgraduate Haematology: Normal lymphocytes and non-neoplastic lymphocyte disorders. P330 – 357. Fifth edition. Blackwell Publishing. 2005.
- www.Biolegend.com.

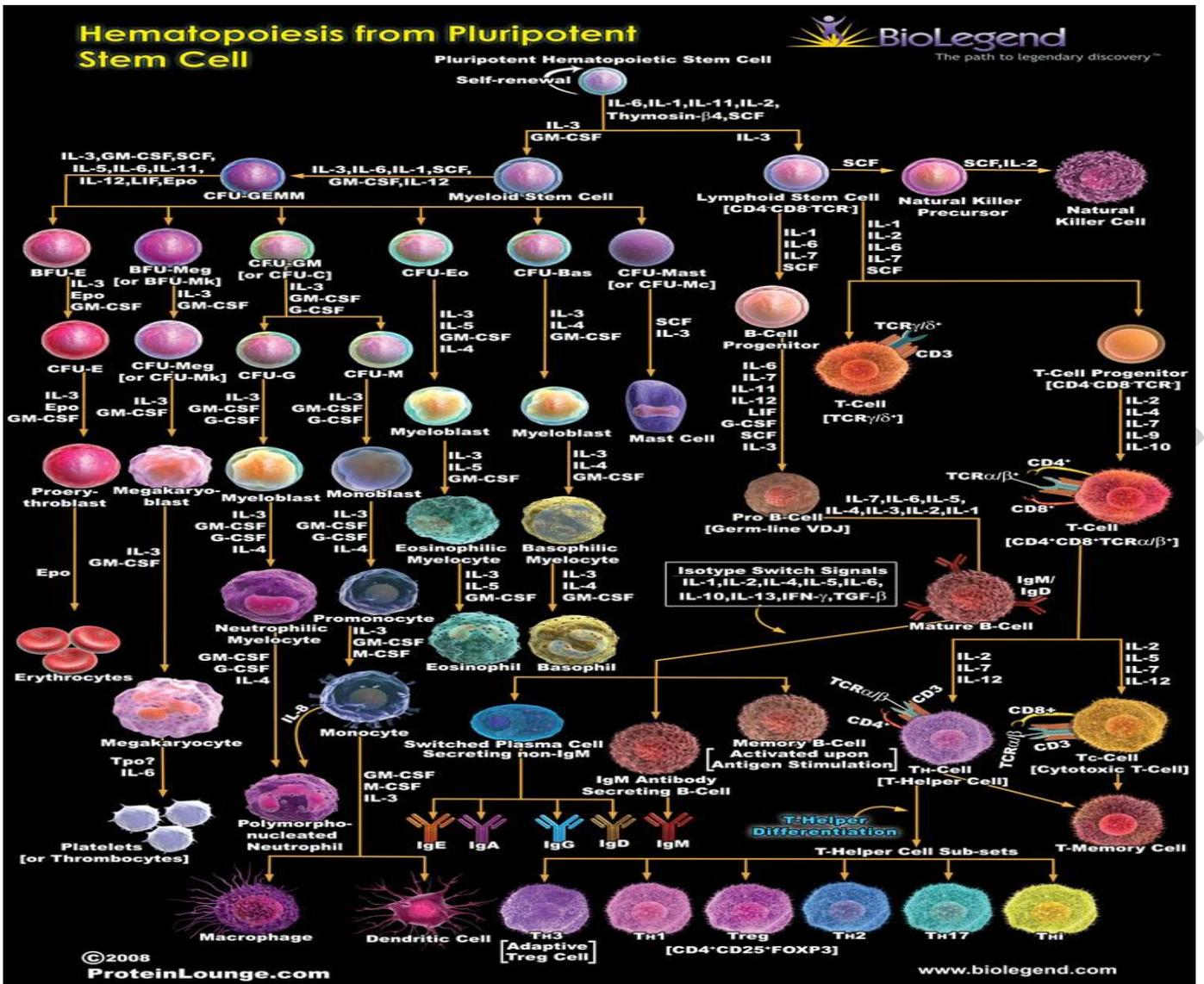


Figure 2: Hématopoïèse.

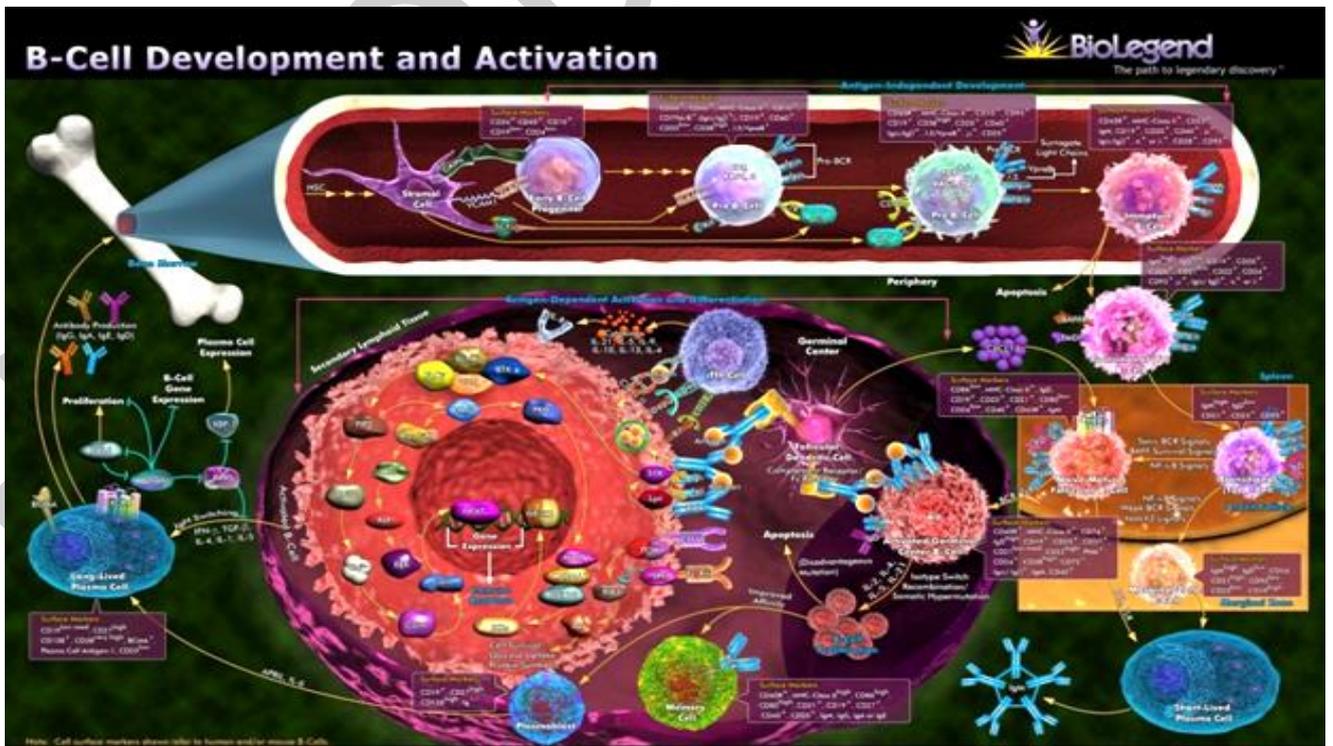


Figure 3: Lymphopoïèse B.

djinane.bouhsane@univ-constantine3.dz