

Travaux Dirigés 3- Cours 5-6: Réponse T

Question 5.1.2 Quel est l'intérêt d'avoir deux voies de présentation des antigènes dans la cellule ? (une réponse correcte)

- A. Cela permet soit l'activation des lymphocytes T CD4 soit celle des lymphocytes B.
- B. Cela permet de séparer les peptides du soi des peptides d'origine virale ou bactérienne.
- C. Cela définit deux chemins d'activation, un pour les lymphocytes T CD8 et un autre pour les lymphocytes T CD4 un peptide antigénique étranger.
- D. Cela permet d'activer soit la réponse immunitaire innée soit la réponse immunitaire adaptative.
- E. Les peptides de ces deux voies permettent d'activer les cellules Th1 ou Th2.

Question 5.1.1 Indiquer laquelle parmi les cinq affirmations suivantes est vraie (une seule réponse est correcte). Pendant la présentation croisée :

- A. les lipides sont chargés sur les molécules du MHC non classique pour être reconnus par les cellules T CD4,
- B. peptides cytoplasmiques sont chargés sur les molécules du MHC II pour être reconnus par les cellules T CD8,
- C. les peptides cytoplasmiques sont chargés sur les molécules du MHC II pour être reconnus par les cellules T CD4,
- D. les peptides exogènes sont chargés sur les molécules du MHC I pour être reconnus par les cellules T CD8,
- E. les peptides exogènes sont chargés sur les molécules du MHC I pour être reconnus par les cellules T CD4.

Question 5.1.6 Indiquer dans les cas suivants si la cellule T qui reconnaît l'antigène va être induite en anergie (A) ou en prolifération (P).

- a) Une cellule dendritique (DC) stimulée par des récepteurs de pattern présente un antigène peptidique à une cellule T naïve.
- b) Une DC a ingéré une protéine virale injectée en circulation et la présente à une cellule T naïve.
- c) Une DC a ingéré une protéine virale injectée en circulation et la présente à une cellule T mémoire.
- d) Une DC n'exprimant pas de co-stimulateurs présente un antigène de la flore intestinale à une cellule T naïve.
- e) Une DC présente un antigène protéique du non-soi à une cellule T en présence d'un adjuvant.

Question 5.1.8a. Quelle(s) cytokine (s) sont caractéristique(s) des cellules T TH1.

Question 5.1.8b. (adapté de) Quelle(s) cytokine (s) sont caractéristique(s) des cellules TH2.

Question 5.1.8c (adapté de) Quelle(s) cytokine (s) sont caractéristique(s) des cellules Treg.

Question 5.1.10.

Indiquer dans les cas suivant si c'est vrai ou faux

- A. Les Th1 sont caractérisées par le facteur de transcription NFAT.
- B. Les Th2 sont caractérisées par le facteur de transcription GATA3.

- C. Les Th1 sont caractérisées par le facteur de transcription T-bet.
D. Les Treg sont caractérisées par le facteur de transcription Foxp3

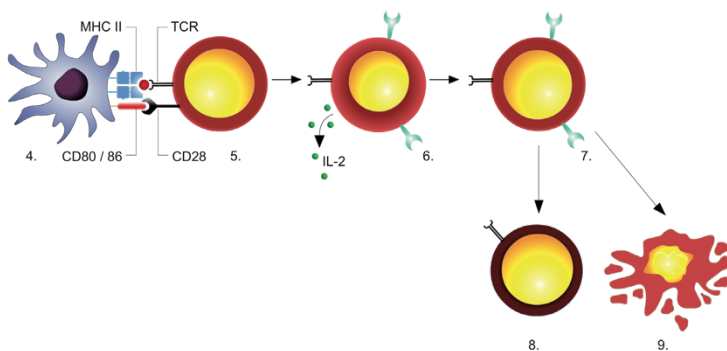
Adapté de 5.3.8 Indiquer si les réponses TH1 sont associées à l'inflammation

- A. Vrai
B. Faux

Annoter cette image avec les termes suivants (Question 5.2.1) :

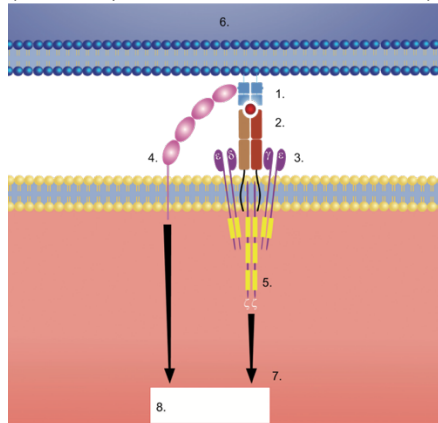
a) phase de prolifération et de différenciation, b) cellule T mémoire, c) phase effectrice, d) cellule présentatrice d'antigène, e) cellule T naïve, f) apoptose, g) cellule T effectrice, h) cellule T activée, i) phase d'activation.

1. 2. 3.



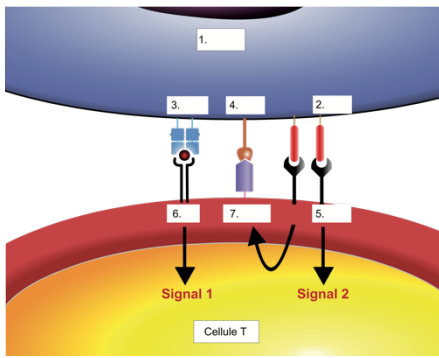
Annotations de schémas (Question 5.2.3)

- Annoter cette image avec les termes suivants (1-8) :
- CD4, TCR, ITAM, CD3, récepteur de pattern, MHC I, MHC II, cellule T, superantigène, CD8, transduction de signal, cellule présentatrice d'antigène (APC)
- (choisir parmi les termes de liste).



Annoter ce schéma d'une synapse immunologique avec les termes (Question Question 5.2.4) :

TCR, MHC II, CD80, APC, Cellule T, CD40, CD40L.

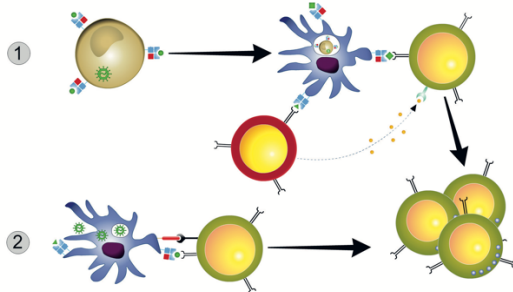


Question 5.3.6

Il existe deux modes d'activation des cellules T CD8 par une cellule dendritique lors d'une infection virale.

a) En vous aidant du schéma, indiquer les différences entre ces deux modalités en ce qui concerne l'infection ou non de la cellule dendritique, la nécessité ou non d'une T CD4, l'utilisation de la voie croisée (cross-presentation) ou de la voie endogène de présentation de l'antigène.

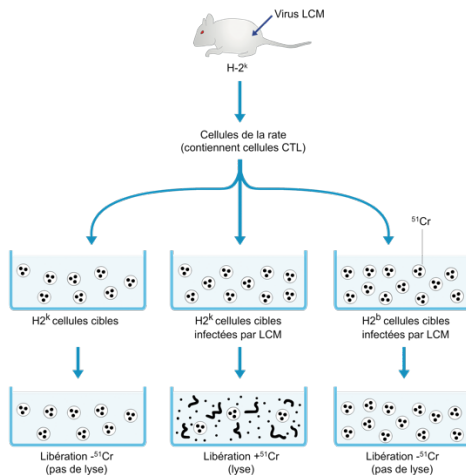
b) De quelle manière la T CD4 stimule la réponse T CD8 en réponse à une infection virale ?



Question 5.3.13

Une souris est infectée par le virus LCM (chorioméningite lymphocytaire). Les cellules de la rate contenant les cellules T CTL sont incubées avec différentes cellules infectées ou non infectées par le virus LCM. Expliquer les résultats.

Nb : H2k et H2b sont deux allèles différents du MHC 1.



Question 6.1.8

Indiquer, pour les conditions suivantes, s'il s'agit d'une réponse Th1 ou Th2 :

- 1) Listeriose (bactérie intracellulaire)
- 2) Tuberculose
- 3) Maladie auto-immune (p. ex. maladie de Crohn)
- 4) Infection à Ascaris (vers rond)

- 5) Virus de la grippe
- 6) Rhume des foins (allergie)
- 7) Amibe

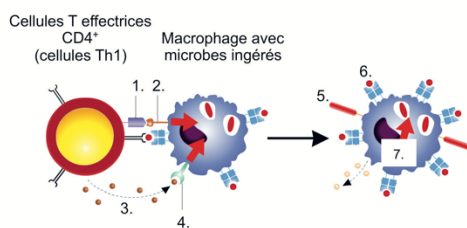
Question 6.1.9

Caractéristiques des mécanismes d'élimination qu'utilisent les CTLs pour tuer leurs cellules cibles.

- a) Quelle molécule crée des pores dans la membrane cellulaire des cellules cibles ?
- b) Quelle molécule induit l'apoptose dans les cellules cibles ?
- c) Quelle molécule est exprimée sur la CTL qui induit la mort de cellules cibles par un récepteur de mort ?

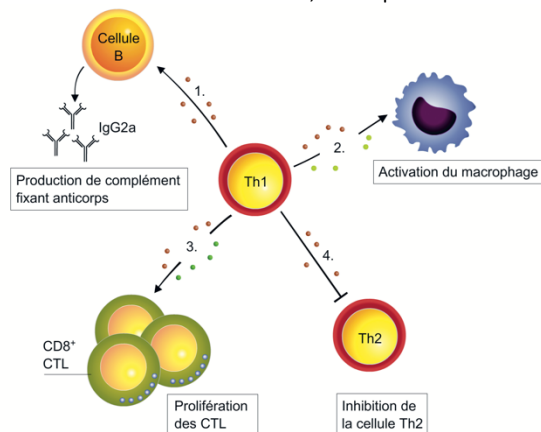
Annotations de schémas (Question Question 6.2.2)

Sur le schéma ci-dessous, indiquer les molécules impliquées dans l'activation du macrophage par une cellule T CD4.



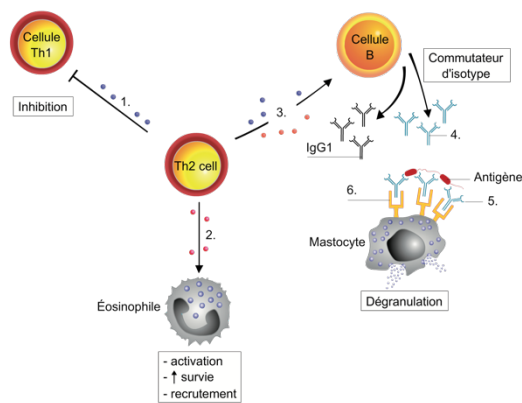
Annotations de schémas (Question 6.2.3)

Sur le schéma ci-dessous, indiquer le nom des cytokines sécrétées par une cellule T CD4 Th1 (1-4).



Annotations de schémas (Question 6.2.4)

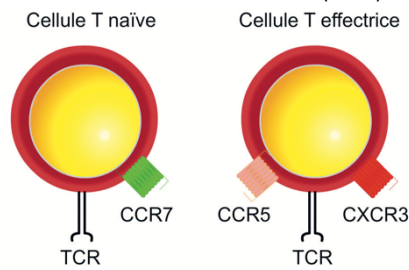
Sur le schéma ci-dessous, compléter les annotations le nom des cytokines sécrétées par une cellule T CD4 Th2 ainsi que les noms des facteurs impliqués dans la dégranulation du mastocyte.



Question 6.3.3

La figure ci-dessus présente une cellule T naïve et une cellule T effectrice.

- Indiquer le nom donné aux molécules CCR7, CCR5, CXCR3.
- Expliquer pourquoi ces cellules ont des profils de migration différents.
- Indiquer le nom des tissus vers lesquels ces cellules migrent.
- Des individus portant la mutation delta 32 affectant le gène CCR5 se montrent particulièrement résistants au virus du sida (HIV). Expliquer pourquoi.



Travaux Dirigés 3 - Cours 7-8: Réponse B et réponse intégrée

Question 7.1.2 L'isotype d'un anticorps est déterminé par :

- sa spécificité de liaison à l'antigène.
- la région constante de sa chaîne légère.
- les segments V utilisés pour générer les régions variables
- la région constante de la chaîne lourde.
- à la fois les chaînes lourdes et légères.

Question 7.1.4

En faisant l'hypothèse qu'une seule cellule B possède 100 000 immunoglobulines à sa surface, indiquer le nombre de site(s) de liaison à l'antigène avec une spécificité différente exprimé(s) simultanément à la surface de cette cellule B (une seule réponse est exacte).

- 100 000
- 1000
- 2
- 1
- Moins de 100 000 mais ne peut pas être déterminé.

Question 7.1.6

Indiquer pour chacune des propositions suivantes si elle est vraie ou fausse.

- a) Les récepteurs de surface (BCR) d'une cellule B mémoire ont la même spécificité que ceux de la cellule B naïve dont elle est issue.
- b) Les récepteurs de surface (BCR) d'une cellule B mémoire ont le même isotype (classe) que ceux de la cellule B naïve dont elle est issue.
- c) Les récepteurs de surface (BCR) d'une cellule B mémoire ont la même affinité que ceux de la cellule B naïve dont elle est issue.
- d) L'IgG est le premier anticorps sérique mesurable lors d'une réponse humorale primaire.
- e) Les immunoglobulines ne reconnaissent que les antigènes de nature protéique.

Question 7.1.10

Trois souris sont immunisées selon les conditions listées ci-dessous. Indiquer dans chaque cas, à droite, si les anticorps induits dans le sérum auront une faible (+) ou une forte affinité (+++) et si l'on y trouvera plutôt des IgM ou des IgG.

Entourer les bonnes réponses à droite.

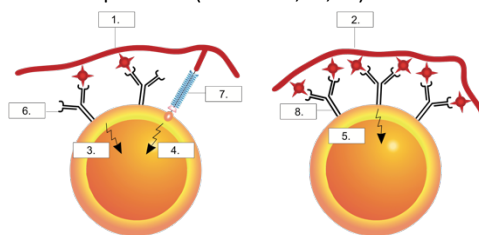
- | | |
|---|------------------|
| a) Première injection d'albumine de bovin + adjuvant | + / +++ IgM/IgG. |
| b) Seconde injection d'albumine de bovin + adjuvant | + / +++ IgM/IgG. |
| c) Injection d'une protéine avec des motifs répétitifs ¹ | + / +++ IgM/IgG. |
| d) 2nd injection d'une protéine avec des motifs répétitifs ¹ | + / +++ IgM/IgG. |

1 ex. une protéine de la capsid d'un virus

Annotations de schémas (Question 7.2.1)

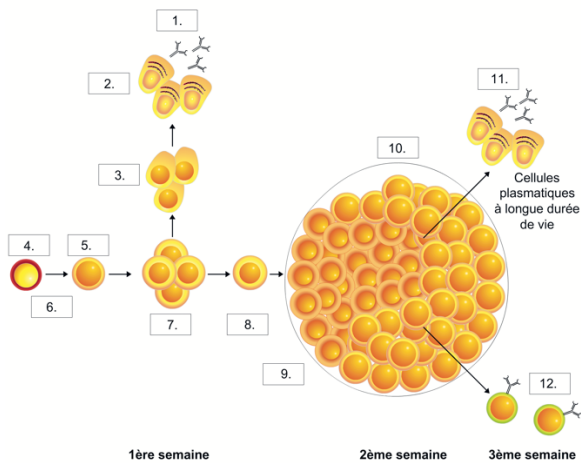
Indiquer dans les cases

- le type d'antigène (cases 1 et 2),
- Le type de signal (1 ou 2) induit (cases 3, 4, 5)
- les récepteurs (cases 6, 7, 8).



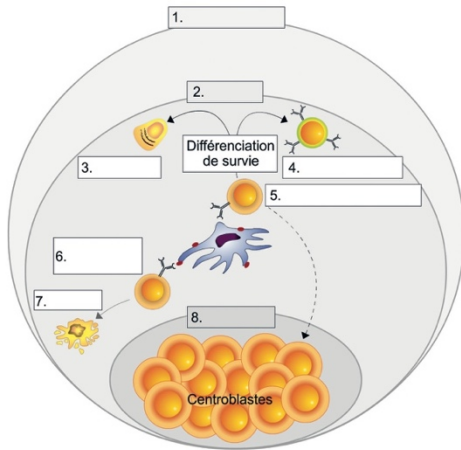
Annotations de schémas (Question 7.2.2)

cellule T, cellule B, IgA, Plasmocyte produisant des IgM, cellule B mémoire, réaction folliculaire, cellule fondatrice, Réaction extrafolliculaire, centre germinatif, blaste de cellules B, interaction entre cellule B et T, IgG IgA ou IgE

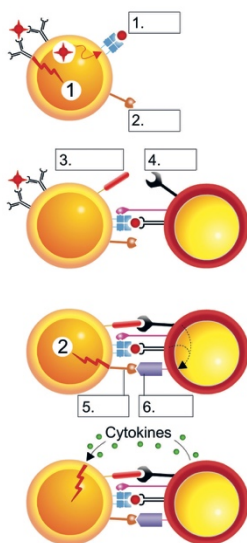


Annotations de schémas (Question 7.2.5)

centrocyte de forte affinité, zone claire, apoptose, cellule B mémoire, plasmocyte, zone sombre, centrocyte de faible affinité, zone du manteau.



Annotations de schémas (Question 7.2.3)



Question 8.1.6

Indiquer par une croix à côté des types cellulaires en question si :

- ils appartiennent à l'immunité innée (I) ou adaptative (A).
- ils appartiennent à la lignée myéloïde (M) ou lymphoïde (L).

c) ils se trouvent en circulation et/ou dans les organes lymphoïdes secondaires (C), résident dans les tissus périphériques (p. ex. peau) en absence d'inflammation (R), ou migrent dans les tissus périphériques en cas d'inflammation (M).

	Immunité		Lignée		Localisation		
	I	A	M	L	C	R	M
Les cellules dendritiques							
Les mastocytes							
Un lymphocyte B activé							
Un lymphocyte B naïf							
Un monocyte							
Un Natural Killer (NK)							
Un neutrophile							
Un macrophage							
Un lymphocyte T activé							
Un lymphocyte T naïf							
Une cellule dendritique folliculaire							

Question 8.2.3.

Vous êtes infecté par un virus respiratoire que votre système immunitaire rencontre pour la première fois. Ordonner la séquence dans le temps des événements suivants (en plaçant les n° dans la table ci-dessous) et indiquer si ces événements ont lieu dans le poumon ou dans un noeud lymphatique.

- 1) Neutralisation virale par des anticorps
- 2) Réplication virale au sein des cellules hôtes
- 3) Lyse des cellules hôtes infectées par les CTLs
- 4) Apoptose des cellules T effectrices
- 5) Sécrétion d'IFN- γ
- 6) Apoptose des neutrophiles
- 7) Réactivation des cellules T effectrices
- 8) Cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendantes (ADCC)
- 9) Sécrétion de facteurs vasoactifs et chimotactiques (inflammation)
- 10) Activation des cellules hôtes par les IFN- α/β
- 11) Production d'IgG antivirales
- 12) Activation des cellules dendritiques
- 13) Activation des cellules T naïves par les DCs
- 14) Production d'IgM antivirales
- 15) Infiltration de cellules immunitaires innées (neutrophiles, cellules NK, monocytes)
- 16) Captation d'antigènes par les DCs et migration vers les tissus lymphoïdes locaux
- 17) Activation des cellules NK
- 18) Élimination de l'antigène et résolution de l'inflammation
- 19) Infiltration des cellules T effectrices
- 20) Lyse des cellules hôtes infectées par les cellules NK
- 21) Activation des cellules T CD8 naïves
- 22) Coopération T-B

	Poumon	Nœud lymphatique
Actions immédiates au site d'infection (< 24h)		
De 1 à 5-8 jours après l'infection		
De 4 jours à 1-2 semaines		

Problème 15 (relatif au chapitre 6)

Inspiré de Schopf et al., *The Journal of Immunology*, 2002, 168 : 2383–2392.

Les infections par les nématodes gastro-intestinaux sont parmi les infections les plus courantes dans le monde, mais on sait relativement peu de choses sur les mécanismes effecteurs qui contribuent à l'immunité. Il est clair que les cellules T et les cytokines qu'elles produisent ont un effet profond sur l'infection. Les facteurs qui polarisent le système immunitaire vers une réponse immunitaire de type Th1, caractérisée par l'induction de l'IFN γ et de l'IL-12, inhibent l'immunité protectrice, alors qu'une réponse de type Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13) bien souvent contribue à l'élimination des vers helminthes.

Le ver *Trichuris muris* (*T. muris*) est un nématode qui provoque des infections chroniques chez certaines souches de souris. Il a été démontré que les deux cytokines, IL-4 et IL-13, jouent un rôle protecteur pendant l'infection de *T. muris*. Dans cette étude, les auteurs utilisent des souris déficientes en IL-10, IL-12 et IL-4, pour examiner la contribution de l'IL-10 à l'infection par le nématode *T. muris*.

Question 15.1

- Comparer les fonctions immunitaires des cellules T CD4 type Th1 et T CD4 type Th2.
- Laquelle des deux réponses T, Th1 ou Th2, est la plus pro-inflammatoire (susceptible de causer des dommages tissulaires) ?

Pour déterminer le rôle de la polarisation Th1 ou Th2 dans la résistance à l'infection par *T. muris*, les auteurs ont infecté des souris sauvages (wild type-wt) et des souris déficientes pour une variété de gènes associés aux cytokines Th1 et Th2 (simples et doubles KO). La quantité de vers (charge larvaire) a été mesurée 20 jours après l'infection (fig. 29).

Question 15.2

- Analyser et interpréter les résultats obtenus avec des souris IL-12 KO et IL-4 KO (en quelques lignes). Ces résultats sont-ils attendus ?
- Analyser la contribution des cytokines IL-10 dans le contrôle de l'infection causée par le nématode *T. muris*.
- En comparant les résultats obtenus avec le simple mutant IL-10 KO et le double-mutant IL-12 / IL-10 KO, proposer un rôle joué par IL-10 dans le contrôle de l'infection causée par *T. muris*.

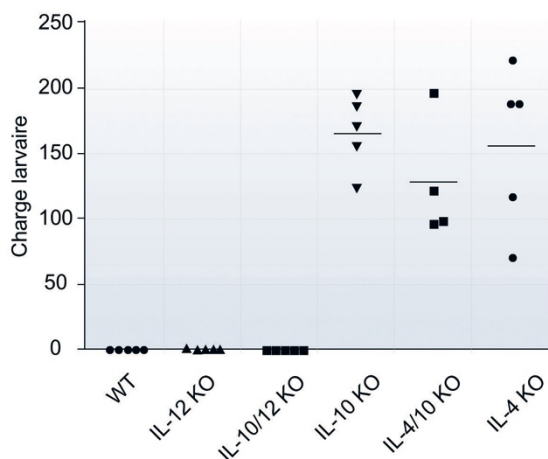


Figure 29 Détermination de la charge larvaire chez les souris wt et les souris déficientes en cytokines infectées par *T. muris*. Des souris sauvages et des souris déficientes en cytokines (cinq par groupe) ont été inoculées par voie orale avec 600 œufs de *T. muris*.

Les souris ont été sacrifiées 20 jours plus tard et le nombre de parasites par souris a été déterminé. Les résultats présentés sont représentatifs de quatre expériences indépendantes.

Les auteurs analysent ensuite la survie des différentes souris après une infection à *T. muris* (fig. 30).

Question 15.3

- Décrire brièvement les résultats de la figure 30. Que pouvez-vous conclure de l'importance du rôle joué par l'IL-10 par rapport à l'IL-4 dans le contrôle de l'infection causée par *T. muris* ?
- Expliquer pourquoi l'augmentation de susceptibilité liée à l'absence d'IL-10 est supprimée en l'absence d'IL-12.

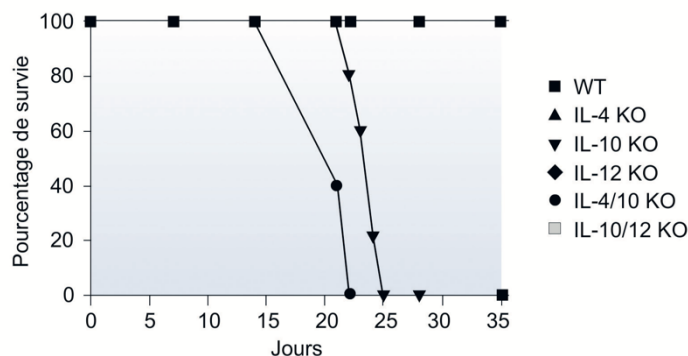


Figure 30 Évaluation de la mortalité suite à une infection à *T. muris*. Cinq souris par groupe ont été inoculées avec 350 œufs de *T. muris*, et le changement de poids ainsi que la mortalité ont été enregistrés sur une période de 35 jours. Les courbes de mortalité sont représentées en pourcentage de survie. Les survies des souris KO pour l'IL-4, l'IL-12 et IL-10/12 sont identiques à celles des souris sauvages.

Par la suite, les auteurs ont réalisé des coupes histologiques de l'intestin de souris sauvages, simple KO et double KO infectées par voie orale par *T. muris*. Ils ont observé chez les souris déficientes en IL-10 et double déficientes en IL-10/IL-4 (mais pas chez les autres types de souris) une augmentation de l'inflammation et des lésions des tissus intestinaux. Cette observation les a incités à analyser la quantité de $\text{TNF}\alpha$ dans le sang des souris infectées par voie orale avec *T. muris* (fig. 31).

Question 15.4

Analyser et interpréter les résultats de la figure 31. Sur la base de tous ces résultats, élaborer sur le mécanisme par lequel les souris déficientes en IL-10 sont sensibles à l'infection causée par le nématode *T. muris*.

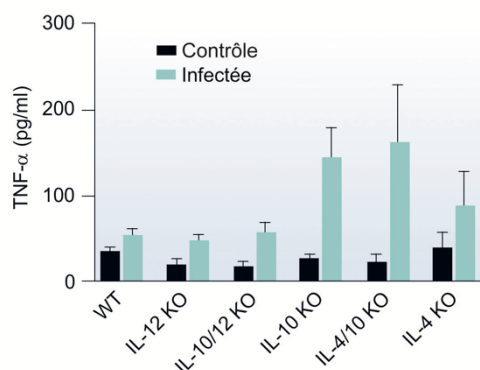


Figure 31 Niveaux de $\text{TNF}\alpha$ dans le sang de souris contrôles et infectées par *T. muris*. Des souris sauvages ou déficientes en cytokines (cinq par groupe) ont été inoculées par voie orale avec 600 œufs de *T. muris*. Les niveaux de $\text{TNF}\alpha$ ont été déterminés par ELISA sur du sérum prélevé après 20 jours et sont exprimés en tant que moyenne et écart-type.

Les auteurs ont observé que les souris déficientes en IL-10/IL-4, qui sont très susceptibles à l'infection par *T. muris*, peuvent être sauvées de la mort lorsqu'elles sont traitées avec un antibiotique à large spectre d'action.

Question 15.5

a) Qu'est-ce que l'utilisation d'antibiotique nous dit à propos de la mort causée par *T. muris* chez les souris déficientes pour les gènes IL-10/IL-4 ?

b) En utilisant le concept de Th1 et Th2, essayer de résumer par un modèle simple la séquence des événements qui se produisent chez les souris sauvages et mutantes pour IL-10 lors d'une infection par le nématode *T. muris*. Mentionner dans votre schéma, dans le bon ordre, les termes suivants : dégâts tissulaires, infection par les vers, inflammation, IL-4, IL-12 et IL-10, TNF- α , cellules Th1, cellules Th2.

Problème 17 (relatif au chapitre 7)

Inspiré de Martin et al., (2001) *Immunity*, Vol. 14, 617–629.

Les auteurs analysent la capacité de cellules B matures de la rate issues de la zone marginale (MZ : cellules B de la zone marginale, CD23^{low}CD21^{high}) ou de follicules (FO : cellules de type B2, CD23^{high}CD21^{high}) à répondre in vitro au lipopolysaccharide (LPS), un antigène capable d'induire une réponse polyclonale. Les cellules de la rate de souris de la souche 81X sont collectées et triées sur la base des marqueurs (CD21 : un marqueur de cellules B) et CD23 (un marqueur dont l'expression est forte chez les cellules folliculaires de type B2 et faible chez les cellules B de type MZ). Les cellules sont incubées avec du LPS. On mesure le niveau d'expression de Syndecan-1, un marqueur spécifique des plasmocytes (absent des cellules B immatures) par cytométrie de flux (fig. 36A) ainsi que l'expression du gène codant un facteur de transcription, Blimp-1, spécifique des plasmocytes par RT-PCR (fig. 36B).

Question 15.5

17.1 Indiquer sur la figure 36A où se trouvent respectivement les cellules B MZ et FO.

17.2 Décrire les résultats obtenus dans la figure 36A et 36B.

17.3 Que peut-on dire de la rapidité de la réponse B MZ par rapport à la réponse des cellules B FO ?

17.4 En vous aidant de vos connaissances en immunologie, indiquer en quoi diffèrent une réponse B thymo-indépendante et une réponse thymo-dépendante ?

17.5 Indiquer quelle proposition est vraie ou fausse :

a) Les cellules B MZ de la rate contribuent à la réponse T dépendante.

b) Les cellules B MZ de la rate contribuent à la réponse T indépendante.

c) Les cellules B B2 (FO) de la rate contribuent à la réponse T dépendante.

d) Les cellules B B2 (FO) de la rate contribuent à la réponse T indépendante.

17.6 Quel est l'intérêt de la différenciation rapide des cellules B MZ pour la survie de l'hôte ?

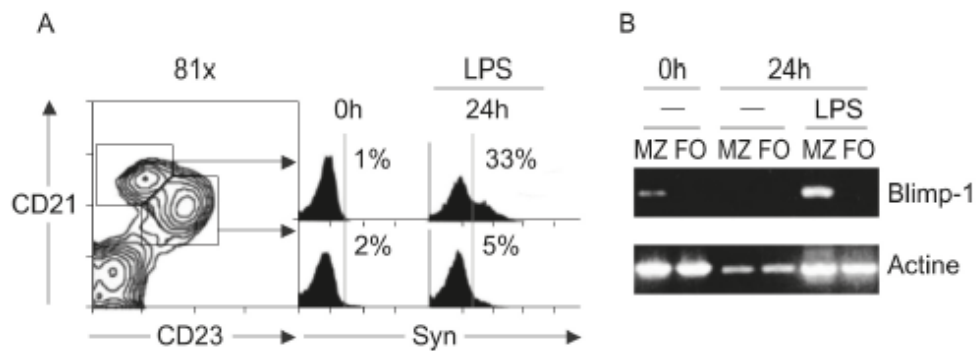


Figure 36 Différenciation in vitro de cellules en réponse au LPS. (A et B) Les cellules B spléniques matures de souris 81X ou BALB/c ont été triées sur la base de l'expression de CD23 et CD21, cultivées avec 10 mg/ml de LPS in vitro pendant 24 heures et (A) marquées pour l'expression de la protéine de surface Syndecan-1 (un marqueur de plasmocytes) ou (B) testées pour l'expression de Blimp-1 par RT-PCR. Une expérience parmi cinq expériences réalisées est montrée.

Problème 19 (relatif au chapitre 7)

Inspiré d'Oxenius et al., (1996) J. Exp Med vol 183 2209-2218.

Les cellules T CD4 contribuent à la réponse antivirale en produisant des cytokines qui activent les cellules T CD8 (et d'autres cellules) et en induisant la production d'anticorps par les cellules B. Oxenius et ses collaborateurs étudient le rôle de CD40 et CD40L dans la réponse antivirale des T CD4 contre les virus. Pour cela, ils comparent la production de cytokines IL-2 et IFN- γ par les cellules T CD4 chez une souris sauvage ou CD40 $^{-/-}$ après infection par deux virus, le virus de la chorioméningite lymphocytaire (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) et le virus de la stomatite vésiculaire (vesicular stomatitis virus, VSV). Ils n'observent pas de différences dans la production de cytokines (donnée non montrée). Puis ils étudient la capacité des souris sauvages ou CD40L $^{-/-}$ à produire des anticorps neutralisants après infection par VSV (fig. 41).

Questions

19.1 Indiquer laquelle de ces 4 propositions est vraie :

- a) CD40L est exprimé à la surface de cellules T naïves.
- b) CD40L est exprimé à la surface de cellules T activées.
- c) CD40 est exprimé à la surface de cellules T naïves.
- d) CD40 est exprimé à la surface de cellules T activées.

19.2 Décrire et interpréter les résultats présentés par la figure 41.

19.3 Rappeler le rôle de CD40/CD40L dans l'interaction T-B.

19.4 En vous basant sur les informations données dans ce problème, indiquer si les souris dépourvues de T CD4 (CD4 $^{-/-}$) auront tendance à être plus susceptibles à l'infection par un virus que les souris CD40L $^{-/-}$.

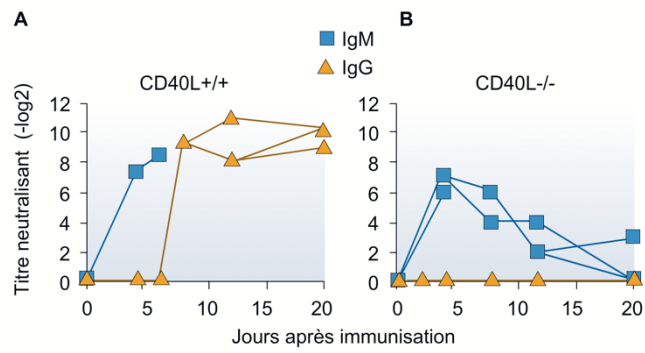


Figure 41 Production d'anticorps neutralisants contre le VSV. Des souris sauvages ou déficientes en CD40L ont été immunisées avec le VSV. Les titres d'IgM (carrés bleus) ou d'IgG (triangles orange) neutralisant le VSV ont été déterminées par ELISA à partir de sérum collecté 4, 6, 8, 12 et 20 jours après l'infection. Chaque ligne représente une souris individuelle. Une expérience parmi trois comparables est montrée.