

LE TYPAGE LYMPHOCYTAIRE : SIGNIFICATION, MÉTHODES INTÉRÊT POUR LE CLINICIEN

A. THIRY (1), M. P. HOUBEN-DEFRESNE (2), V. DEMBOURG (3),
P. LENAERTS (3), M. L. BEAUMARIAGE (4), J. BONIVER (5)

Le système immunitaire a pour fonction de défendre l'organisme contre des « agresseurs » tels que des virus, des bactéries, des parasites, des protéines étrangères, des tissus étrangers (greffes) ou des cellules cancéreuses. Cette fonction repose sur deux populations lymphocytaires qui dérivent respectivement du thymus (lymphocytes T) et de la moelle hématopoïétique (lymphocytes B). Les lymphocytes B sont les précurseurs des plasmocytes producteurs d'anticorps, qui sont les éléments « effecteurs » de l'*immunité humorale* ; leur activité est sous le contrôle de lymphocytes T ; certains de ceux-ci collaborent en effet à la stimulation des lymphocytes B, ce sont les lymphocytes T « helper » ou « inducteurs » ; d'autres, au contraire, inhibent leur fonction sécrétoire, ce sont les lymphocytes T « suppresseurs ». Dans l'*immunité cellulaire*, les lymphocytes T interviennent comme éléments « effecteurs », ce sont les cellules « cytotoxiques », ou comme cellules régulatrices, à fonction « helper » ou « suppresseur ». D'autres cellules participent également aux réactions d'immunité cellulaire ; citons les macrophages et les cellules NK (« natural killer »). Ces dernières appartiennent à une population lymphoïde particulière. Elles peuvent exercer des effets cytotoxiques sur des cellules tumorales ou infectées de virus sans y avoir été exposées au préalable. Les réponses immunitaires humorale et cellulaire s'expriment finalement dans la réaction inflammatoire, dont l'effet aboutira le plus souvent au rejet de l'« agresseur étranger ». Les différentes étapes de proli-

fération et de différenciation que franchissent les cellules lymphoïdes ont été rappelées dans un article publié récemment dans cette Revue (7) ; on trouvera ailleurs des informations plus complètes sur cette question (15).

Le système immunitaire est impliqué dans de nombreuses conditions pathologiques (16). Citons, sans vouloir être exhaustifs, les réactions dites d'hypersensibilité, les déficits immunitaires congénitaux ou acquis, certaines maladies infectieuses, les maladies auto-immunes, et des affections néoplasiques telles que les leucémies et les lymphomes. Dans ces affections, il est important d'établir un bilan des fonctions immunologiques. Un tel bilan comprend un volet « sérologique » (immuno-électrophorèse, dosage de divers facteurs du complément, recherche de complexes immuns, d'auto-anticorps...) sur lequel on n'insistera pas ici et un volet « cellulaire », à savoir l'étude qualitative et quantitative des diverses populations lymphocytaires. Cette analyse « cellulaire » comporte elle-même deux aspects : d'une part, la mise en évidence et l'identification d'une série de « marqueurs » présents sur ou dans la cellule (« typage lymphocytaire »), et d'autre part, la définition des propriétés fonctionnelles par des tests *in vitro* ou *in vivo*.

Dans cet article, nous envisagerons les bases théoriques, les méthodes d'analyse et les indications et significations cliniques du typage lymphocytaire.

LES « MARQUEURS » DES CELLULES LYMPHOÏDES

La plupart des « marqueurs » caractéristiques des cellules lymphoïdes sont des protéines ou des glycoprotéines localisées sur la surface cellulaire : il s'agit des immunoglobulines membranaires, des antigènes dits de différenciation, des récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines, pour le complément, pour des

(1) Elève-Assistant, Université de Liège, Institut de Médecine, Département d'Hématologie (Pr. J. Hugues).

(2) Chercheur du FRSM, (3) Elève-Assistant, (5) Chercheur qualifié du FNRS, Université de Liège, Laboratoire d'Anatomie pathologique (Pr. E. H. Betz).

(4) Chef de Travaux, Université de Liège, Institut de Médecine (Pr. A. Nizet et H. Van Cauwenberge), Secteur d'Immunopathologie (Pr. associé J. Salmon).

DemboURG

hématies, ou même pour des agents infectieux comme le virus d'Epstein-Barr. D'autres marqueurs sont cytoplasmiques ou nucléaires, telles les immunoglobulines cytoplasmiques ou la déoxynucléotidyl-transférase terminale (pour revue : 8, 17).

1. Immunoglobulines de surface

Les lymphocytes B mûrs portent des immunoglobulines qui servent de récepteurs pour la reconnaissance des antigènes. Chaque lymphocyte B ne porte à sa surface qu'un seul type d'immunoglobuline et ne peut donc reconnaître qu'un seul antigène. Il peut s'agir d'une IgM, d'une IgD, d'une IgA, d'une IgE ou encore d'une IgG, chacune étant formée de chaînes légères (soit κ , soit λ) et de chaînes lourdes (respectivement μ , δ , α , ϵ ou γ). Chaque lymphocyte considéré individuellement ne contient donc qu'un seul type de chaîne légère et, sauf cas particulier, qu'un seul type de chaîne lourde.

Les immunoglobulines de surface sont mises en évidence par la méthode d'immunofluorescence à l'aide d'anticorps monospécifiques anti-immunoglobulines. Dans le sang normal, la distribution des lymphocytes porteurs des différentes immunoglobulines est la suivante :

Ig totales : 16 à 28 %

Chaînes lourdes :

α	1 à 4,3 %
γ	4 à 12,7 %
μ	6,7 à 13 %

Chaînes légères :

κ	10 à 18,6 %
λ	5 à 9,3 %

2. Les immunoglobulines cytoplasmiques

A certaines étapes de la lignée lymphoïde B, des immunoglobulines cytoplasmiques peuvent être décelées. Ainsi, dans les moelles hématopoïétiques, les précurseurs des lymphocytes B (« cellules pré-B ») contiennent des chaînes lourdes μ cytoplasmiques, et ce avant d'exprimer toute immunoglobuline membranaire. D'autre part, après une stimulation antigénique, les lymphocytes B porteurs d'immunoglobulines de surface entreprennent de nouvelles

synthèses au sein de leur cytoplasme ; aussi trouve-t-on des immunoglobulines cytoplasmiques dans les immunoblastes B comme dans les plasmocytes ; lorsqu'on examine la « descendance » d'un lymphocyte B stimulé par un antigène, on constate, en général, que les immunoglobulines cytoplasmiques nouvellement produites sont semblables aux immunoglobulines membranaires qu'il portait initialement ; ici encore, un seul type de chaîne légère et un seul type de chaîne lourde forment ces immunoglobulines.

Les immunoglobulines cytoplasmiques sont recherchées par immunofluorescence sur des préparations cellulaires étalées sur lames et fixées.

Dans le sang normal, seuls quelques rares plasmocytes portent de tels « marqueurs ».

3. Récepteurs pour les fragments Fc des immunoglobulines

Les membranes des lymphocytes B portent des récepteurs qui peuvent fixer les fragments « Fc » des immunoglobulines G, M ou A mises à leur contact. Rappelons que le fragment Fc représente la portion commune de l'Y que constitue chaque molécule d'immunoglobuline.

On peut également révéler la présence de tels récepteurs membranaires sur certains lymphocytes T : des récepteurs pour le fragment Fc des IgM se trouvent sur les lymphocytes T « helper », tandis que des récepteurs pour le fragment Fc des IgG peuvent être décelés sur les lymphocytes T « suppresseurs ». Le rôle physiologique de ces récepteurs est encore mal connu.

Les récepteurs pour les fragments Fc sont identifiés par leur capacité de fixer des hématies recouvertes d'Ig, ou d'agrégats d'Ig, ce qui aboutit à la formation de « rosettes de type EA ».

Dans le sang normal, environ 10-15 % des cellules portant ces récepteurs sont des lymphocytes B, 55 % sont des lymphocytes T « helper » et 10 % des lymphocytes cytotoxiques suppresseurs.

4. Récepteurs pour le complément

Certains lymphocytes B contiennent deux types de récepteurs pour le complément, l'un fixe la fraction C3b, l'autre la fraction C3d.

TABLEAU I. Représentation schématique de la maturation des lymphocytes T chez l'homme
(D'après REINHERZ, E. L. et SCHLOSSMAN, S. F., 1980).

Compartiment thymique			Compartiment sang
Stade I	Stade II	Stade III	Stade IV
OKT-10+	OKT- 9+ OKT-10+ OKT-11+	OKT-10+ OKT- 3+ OKT- 4+ OKT-11+	OKT- 3+ OKT- 4+ OKT-11+
	OKT-10+ OKT- 6+ OKT- 4+ OKT- 8+ OKT-11+	OKT-10+ OKT- 3+ OKT- 8+ OKT-11+	OKT- 3+ OKT- 8+ OKT-11+
Thymocyte « jeune »	Thymocyte « commun »	Thymocyte « mûr »	Cellules T périphériques « mûres »

On l'observe aussi dans le noyau des lymphocytes « pré-B » des moelles hématopoïétiques. Son rôle n'est pas encore connu. La TdT est mise en évidence soit par test biochimique, soit par immunofluorescence à l'aide d'anticorps spécifiques.

Dans le sang normal, aucun lymphocyte ne contient de la TdT. Sa recherche est particulièrement importante dans les leucémies aiguës et dans les crises blastiques des leucémies myéloïdes chroniques. Dans ces cas, des colorations spéciales et des tests cytochimiques (recherche des phosphatases acides et des peroxydases, coloration au PAS ou au noir Soudan...) sont indispensables à l'établissement du diagnostic.

9. Antigène de surface des cellules NK (« natural killer »)

L'anticorps monoclonal anti-Leu-7 reconnaît un antigène dénommé HNK-1 présent sur les cellules NK (1). Il est utilisé en immunofluorescence. L'antigène Leu-7 est mis en évidence

dans 4-7 % des cellules lymphoïdes du sang périphérique.

MÉTHODES POUR LA MISE EN ÉVIDENCE DES « MARQUEURS » LYMPHOCYTAIRES

1. Isolement des cellules mononucléées

Une étape préalable à l'identification des marqueurs qui viennent d'être décrits est l'isolement des cellules lymphoïdes à partir du sang.

Dans ce but, un échantillon de sang hépariné est déposé sur un gradient de densité, constitué le plus souvent d'une solution mixte de métrizolate et de Ficoll. Après centrifugation, on recueille une fraction cellulaire qui contient les cellules lymphoïdes et les monocytes, et intitulée pour cette raison « fraction de cellules mononucléées ». Des échantillons de cette préparation sont utilisés pour la mise en évidence des marqueurs. D'autres échantillons sont réservés pour la détection des cellules viables (bleu trypan) et l'étude cytologique des préparations

Les prothymocytes, cellules très jeunes de la lignée lymphoïde T, porteraient également ces récepteurs.

Les récepteurs pour le complément ne sont pas spécifiques de la lignée lymphoïde, car on les trouve également sur les polynucléaires, les monocytes et les macrophages.

Les récepteurs pour le complément sont détectés par leurs capacités de se lier à des particules (bactéries ou hématies) recouvertes de complément. Lorsqu'il s'agit d'hématies, une pièce intermédiaire, l'IgM, dirigée contre les hématies, est nécessaire pour que s'effectue la liaison, avec comme conséquence la formation de « rosettes de type EAC ».

Dans le sang normal, 10 à 19 % des cellules mononucléées portent des récepteurs pour le complément.

5. Antigènes de type « Ia »

On trouve sur la surface des cellules B, de certains lymphocytes T et de monocytes, des macromolécules dont l'expression est codée par une portion du complexe majeur d'histocompatibilité, à savoir la région Ia (HLA-DR). Sans entrer dans trop de détails, signalons que ces molécules membranaires semblent essentielles pour la reconnaissance des antigènes par les cellules lymphocytaires.

Les antigènes Ia sont mis en évidence par immunofluorescence en utilisant des anticorps monoclonaux.

Dans le sang normal, on détecte ces antigènes Ia dans 15 à 20 % des cellules mononucléées.

6. Récepteurs pour les hématies

Les hématies (non traitées) de diverses espèces animales se lient spontanément aux lymphocytes humains, ce qui aboutit à la formation de rosettes. Les lymphocytes T portent des récepteurs pour les hématies de mouton ou de chèvre (« rosettes E »), tandis que certains lymphocytes B fixent les hématies de souris ou de singe. Le rôle physiologique de ces récepteurs n'est pas connu.

Dans le sang normal, 50 à 80 % des cellules mononucléées portent des récepteurs pour les hématies de mouton et forment des « rosettes E ». Un pourcentage moindre, équivalent à celui des lymphocytes B porteurs d'IgM, forme des rosettes en présence d'hématies de souris.

7. Antigènes de « différenciation » des lymphocytes T

Grâce au développement récent de la technique des hybridomes, des anticorps monoclonaux permettent d'identifier les diverses sous-populations de lymphocytes T (tableau I). Les plus fréquemment utilisés sont les OKT, produits par la firme Ortho, et les Leu-, produits par Becton Dickinson (11, 13).

L'OKT-3 et l'anti-Leu-1 reconnaissent la quasi-totalité des lymphocytes périphériques, l'OKT-4 et l'anti-Leu-3 réagissent avec les lymphocytes T « helper » tandis que l'OKT-8 et l'anti-Leu-2 se fixent aux lymphocytes T « cytotoxiques-suppresseurs ».

En outre, on dispose des OKT-6 ainsi que OKT-9 et OKT-10 qui marquent les thymocytes « communs » (OKT-6), ou « jeunes » dès le premier stade de la différenciation (OKT-9 ou OKT-10). Ces anticorps ne reconnaissent normalement aucun des lymphocytes du sang. L'OKT-11 réagit avec un marqueur présent sur toutes les cellules de la lignée T, y compris les prothymocytes.

Le « typage » des lymphocytes T à l'aide d'anticorps monoclonaux recourt aux méthodes d'immunofluorescence.

Parmi les cellules lymphoïdes du sang normal, 60 à 70 % réagissent avec l'OKT-3 et l'anti-Leu-1, 40 à 45 % avec l'OKT-4 et l'anti-Leu-3, 20 à 25 % avec l'OKT-8 et l'anti-Leu-2. Le rapport OKT-4/OKT-8 (ou cellules « helper »/cellules « cytotoxiques-suppresseurs »), qui est normalement de 1,8 à 2, est, croit-on, le reflet de l'équilibre physiologique du système lymphoïde T.

8. Déoxynucléotidyl-transférase terminale (TdT)

Cette enzyme est une polymérase du DNA qui a la propriété unique de fixer un nucléotide à une chaîne préexistante de DNA, même en l'absence d'une séquence complémentaire (3). Elle est localisée dans le noyau ou dans le cytoplasme de certaines cellules lymphoïdes. Ainsi, au sein de la lignée T, l'enzyme est présente dans le noyau des prothymocytes et de certains blastes du cortex thymique, ainsi que dans le cytoplasme des thymocytes corticaux; elle n'est décelée ni dans les thymocytes médullaires ni dans les lymphocytes T périphériques.

(May-Grünwald et Giemsa). On peut également se débarrasser des monocytes en incubant préalablement le sang avec de la poudre de fer colloïdal, les monocytes ayant phagocyté le fer sont captés à l'aide d'un aimant.

2. Méthode des rosettes

Pour obtenir des rosettes, les cellules mononucléées du sang sont mélangées avec des hématies de mouton ou de souris, recouvertes ou non de complément ou d'immunoglobulines.

Après une courte période d'incubation, un échantillon de cette préparation est placé sur une lame et examiné au microscope. Les rosettes apparaissent comme des complexes formés d'au moins 3 hématies entourant un lymphocyte (fig. 1). On peut ainsi définir le pourcentage de cellules formatrices de « rosettes mouton » (rosettes E = lymphocytes T), ou de « rosettes souris » (certains lymphocytes B), ou de cellules porteuses de récepteurs pour le complément (rosettes EAC) ou pour le fragment Fc de l'une ou l'autre immunoglobuline (rosettes EA).

Un procédé analogue est utilisé pour la formation de « rosettes bactéries » destinées à l'identification des récepteurs pour le complément. Dans ce cas, les cellules mononucléées sont mêlées à des bactéries fluorescentes couplées à du complément (fig. 2).

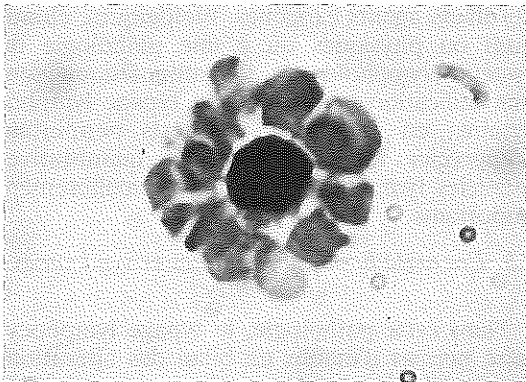


FIG. 1. Rosette E : le lymphocyte T est entouré de plusieurs hématies de mouton.

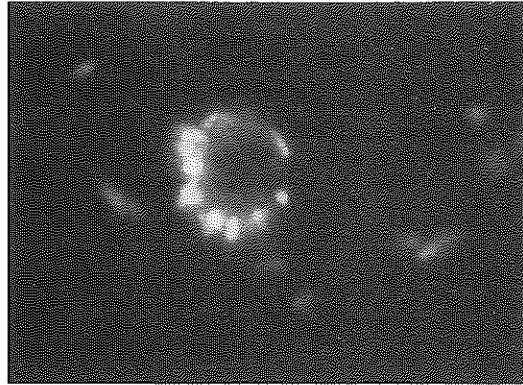


FIG. 2. Rosette bactérie : un lymphocyte B, porteur de récepteurs pour le complément, est recouvert de bactéries fluorescentes qui ont été couplées à du complément.

3. Méthodes d'immunofluorescence

A. Marqueurs intracellulaires (Ig cytoplasmiques, TdT).

Les cellules mononucléées sont déposées sur une lame de verre, séchées et fixées avec de l'éthanol additionné de 5 % d'acide acétique glacial. Les préparations sont traitées par des anticorps spécifiques fluorescents (anti-Ig) (immunofluorescence directe) ou non fluorescents (anti-TdT) (immunofluorescence indirecte). Pour la TdT, une seconde étape par un anticorps fluorescent réagissant avec le premier est nécessaire. Les lames sont examinées à l'aide d'un microscope à fluorescence.

B. Marqueurs membranaires (Ig membranaires, antigène Ia, antigènes des cellules T, antigène HNK-1, etc...)

Les cellules mononucléées mises en suspension sont incubées avec un premier anticorps spécifique, dirigé contre l'antigène à identifier. Dans un second temps, elles sont traitées par un anticorps fluorescent qui réagit avec le premier. Pour la recherche des Ig de surface, des anticorps directement marqués à la fluorescéine sont utilisés. Les préparations sont alors examinées selon deux procédés.

1. *Microscope à fluorescence.* — Un échantillon de la suspension cellulaire est placé sur une lame puis, après fixation, examiné au micro-

scope (fig. 3). Une réaction à la benzidine peut être effectuée pour mettre la peroxydase en évidence dans les monocytes. Elle permet de les éliminer lors de la numération. Néanmoins, l'examen microscopique présente l'inconvénient d'être long et fastidieux, tout en n'empêchant pas certains artéfacts de lecture.

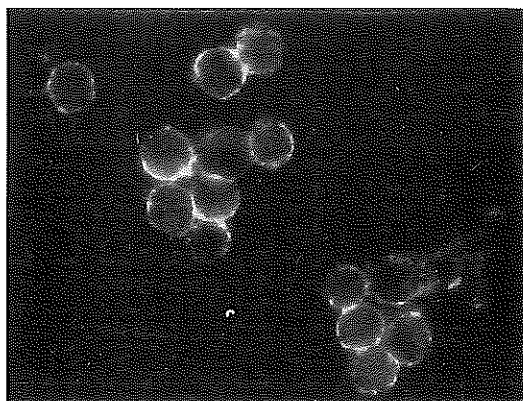


FIG. 3. OKT-3 : des lymphocytes T, traités par un anticorps OKT-3 puis par un second anticorps fluorescent, présentent un « marquage » membranaire fluorescent.

2. *Cytofluorimétrie de flux.* — Cette méthodologie, assez récente (pour revue : 12) repose sur les principes suivants : les cellules en suspension sont projetées dans un jet liquide régulier et sont frappées par un rayon laser ; celui-ci a une longueur d'onde choisie de façon à exciter de manière optimale le marqueur fluorescent présent sur les cellules. La lumière ainsi émise est captée par un photodétecteur et transmise à un analyseur multicanaux muni d'un miniordinateur. Un second signal, donnant une estimation de la taille cellulaire, peut également être enregistré. Grâce à cet équipement, on peut analyser de très grands nombres de cellules dans un temps très court, par exemple 10.000 cellules en 20 secondes. Les données très précises obtenues de cette façon sont présentées sous forme d'histogrammes. Le dispositif permet d'analyser sélectivement la présence d'un marqueur dans une population cellulaire sélectionnée sur la base de la taille ;

ainsi, dans le cas des cellules mononucléées du sang, peut-on distinguer les cellules lymphoïdes et les monocytes.

INDICATIONS DU TYPAGE LYMPHOCYTAIRE

Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, le typage lymphocytaire (tableau II) est et n'est qu'un des volets que doit comprendre tout bilan immunologique, à côté des études sérologiques et des tests fonctionnels *in vivo* et *in vitro*.

Son apport peut se situer à trois niveaux d'une étude clinique :

- pour contribuer au diagnostic ;
- pour établir le status immunologique ou, en d'autres termes, les potentialités de défense de l'individu ;
- pour la compréhension des mécanismes physiopathologiques de la maladie.

Citons les indications majeures du typage lymphocytaire.

1. *Syndromes de déficience immunitaire congénitales*

Le typage permettra de définir les populations lymphoïdes déficientes et d'apprécier l'importance de l'anomalie. Les divers types d'immunodéficiences congénitales ont fait l'objet d'une publication antérieure (10).

2. *Syndromes de déficience immunitaire acquise*

Les immunodéficiences secondaires à l'effet de divers agents exogènes, biologiques, chimiques ou physiques ou à une pathologie du système lymphoïde et hématopoïétique sont une indication importante du typage lymphocytaire ; en particulier, les tests permettant d'apprécier qualitativement et quantitativement les lymphocytes T sont particulièrement importants.

3. *Les maladies auto-immunes et syndromes apparentés*

Dans cette pathologie, le typage lymphocytaire permet d'établir un bilan des altérations des populations lymphocytaires ; en particulier, la numération des lymphocytes T « helper » et « cytotoxiques/suppresseurs » peut apporter des informations importantes sur la nature in-

TABLEAU II. *Typage lymphocytaire dans le sang normal*

Type cellulaire	Marqueur	Pourcentage des cellules mononucléées (1)
Lymphocytes B	Immunoglobulines membranaires :	
	Ig totales	16-28
	Chaînes lourdes alpha	1-4, 3
	Chaînes lourdes gamma	4-12, 7
	Chaînes lourdes mu	6, 7-13
	Chaînes légères kappa	10-18, 6
	Chaînes légères lambda	5-9, 3
	Antigènes membranaires Ia	15-20
	Récepteurs Fc (rosettes EA)	10-15
	Récepteurs C3b (rosettes EAC)	10-19
Lymphocytes T	Récepteurs pour hématies de mouton (rosettes E)	50-80
	Récepteurs FcIgG	10
	Récepteurs FcIgM	55
	Antigènes membranaires :	
	T périphériques OKT-3, Leu-1	60-70
	T helper OKT-4, Leu-3	40-45
	T supresseur OKT-8, Leu-2	20-25
Lymphocytes NK	Antigènes membranaires, Leu-7	4-7

(1) Les valeurs expriment les pourcentages de cellules mononucléées, obtenues par centrifugation différentielle.

time du mécanisme immunitaire responsable de l'état pathologique et sur l'efficacité de la thérapeutique.

4. *Les aspects immunologiques des infections virales*

De nombreuses maladies d'origine virale s'accompagnent de modifications du nombre de lymphocytes dans le sang, ainsi que d'altérations des tests immunologiques fonctionnels. Le typage lymphocytaire a permis de montrer dans plusieurs cas (mononucléose infectieuse, infections à cytomégalovirus, influenza, hépatite B) une atteinte quasi sélective des lymphocytes T cytotoxiques (5). La signification physiopathologique de ces altérations doit encore être démontrée.

5. *Le « monitoring » immunologique chez des patients ayant subi une transplantation d'organe*

L'introduction des anticorps monoclonaux qui permettent de caractériser les diverses populations de lymphocytes T a donné un essor nouveau au monitoring des patients ayant reçu une greffe d'organe. Ainsi, a-t-on démontré des modifications importantes dans le rapport « helper/suppresseur » au cours d'épisodes de rejet de greffes rénales. Cette modification, associée à une augmentation du nombre total de lymphocytes T circulants, donne la possibilité de « prévoir » les épisodes de rejet et de les traiter avec succès par injection d'anticorps monoclonaux antilymphocytes T (4, 6).

Un autre exemple concerne le monitoring des patients ayant subi une greffe de moelle osseuse hétérologue. Dans de nombreux cas, on constate une réaction immunologique de type greffe contre hôte. Celle-ci s'accompagne d'une augmentation de la population des cellules de type cytotoxique/supprimeur.

A l'heure actuelle, les anticorps monoclonaux antilymphocytes T sont utilisés pour définir avec précision la nature des perturbations immunologiques chez ces patients (9); certains espèrent prévenir la réaction « greffe contre hôte » par un traitement *in vitro* de la greffe de moelle par des anticorps antilymphocytes T (14).

6. Les affections prolifératives des systèmes hématopoïétiques et lymphoïdes

Les lymphomes non hodgkiniens et les leucémies lymphoïdes apparaissent comme des proliférations malignes de clones uniques de cellules lymphoïdes (voir revue : 7). Le typage lymphocytaire est ici un instrument particulièrement précieux car il démontre de façon définitive la nature monoclonale de la tumeur, permettant ainsi dans des cas douteux d'établir un diagnostic différentiel d'avec une pathologie lymphoïde non proliférative (« pseudo-lymphome ») (8). L'examen des cellules mononucléées circulantes autorise quelquefois le diagnostic précoce de dissémination à caractère leucémique (2).

CONCLUSION

Le typage lymphocytaire qui est une des facettes du bilan immunologique, a évolué fortement ces dernières années grâce à la production des « anticorps monoclonaux » et au développement de la cytofluorimétrie de flux. Ces progrès méthodologiques apportent aux cliniciens des informations nouvelles qui sont importantes non seulement pour l'établissement du diagnostic et du status immunologique, mais également pour l'approche physiopathologique de la maladie.

REMERCIEMENTS

Nous apprécions l'aide technique excellente de M. M. Humblet dans la préparation des typages lymphocytaires et de M. T. Dessart pour la mise au point du cytofluorimètre

de flux. Nous remercions M. D. Bourguignon qui a préparé l'iconographie et M^{me} A. M. Valkenborgh qui a dactylographié le manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABO, T., BALCH, C. M. — A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). *J. Immunol.*, 1981, **127**, 1024-1029.
2. AULT, K. A. — Detection of small numbers of monoclonal B lymphocytes in the blood of patients with lymphoma. *New Engl. J. Med.*, 1979, **300**, 1401-1405.
3. BOLLUM, F. J. — Terminal deoxynucleotidyltransferase as a haematopoietic cell marker. *Blood*, 1979, **54**, 1203.
4. COSIMI, A. B., COLVIN, R. B., BURTON, R. C., RUBIN, R. H., GOLDSTEIN, G., KUNG, P. C., HANSEN, W. P., DELMONICO, F. L., RUSSEL, P. S. — Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts. *New Engl. J. Med.*, 1981, **305**, 308-314.
5. DEWAELE, M., THIELEMANS, C., VAN CAMP, B. K. G. — Characterization of immunoregulatory T-cells in EVB induced infectious mononucleosis by monoclonal antibodies. *New Engl. J. Med.*, 1981, **304**, 460-462.
6. ELLIS, T. M., LEE, H. M., MAHANAKUMAR, T. — Alterations in human regulatory T lymphocyte subpopulations after renal allografting. *J. Immunol.*, 1981, **127**, 2199-2203.
7. FILLET, G., DESOIGNIES, J., JARDON-JEGHERS, C., BONIVER, J. — Confrontations anatomo-cliniques. Lymphome centrocytique-centroblastique ou est-il bon ? est-il méchant ? *Rev. méd. Liège*, 1982, **37**, 700-711.
8. FOON, K. A., SCHRÖFF, R. W., GALE, R. P. — Surface markers on leukemia and lymphoma cells : recent advances. *Blood*, 1982, **60**, 1-19.
9. FOX, R., McMILLAN, R., SPRUCE, W., TANI, P., MASON, D. and THE SCRIPPS CLINIC BONE MARROW TRANSPLANTATION TEAM. — Analysis of T lymphocytes after bone marrow transplantation using monoclonal antibodies. *Blood*, 1982, **60**, 578-582.
10. LECLERCQ-FOUCART, J., LAMBOTTE, C. — Etude des immunodéficiences. II. Classification et modes d'exploration. Quelques syndromes de déficit de l'immunité cellulaire. *Rev. méd. Liège*, 1978, **33**, 141-146.
11. LEDBETTER, J. F., EVANS, R. L., LIPINSKI, M., CUNNINGHAM-RUNDLER, C., GOOD, R. A., HERZENBERG, L. A. — Evolutionary conservation of surface molecules that distinguish T lymphocyte helper/inducer and cytotoxic/suppressor subpopulations in mouse and man. *J. exp. Med.*, 1981, **153**, 310-323.
12. LOKEN, M. R., STALL, A. M. — Flow cytometry as an analytical and preparative tool in immunology. *J. Immunol. Methods*, 1982, **50**, R85-R112.
13. REINHERZ, E. L., SCHLOSSMAN, S. F. — The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell*, 1980, **19**, 821-827.

14. RITZ, J., SCHLOSSMAN, S. F. — Utilization of monoclonal antibodies in the treatment of leukemia and lymphoma. *Blood*, 1982, **59**, 1-11.
15. ROBBINS, S. L., COTRAN, R. S. — *Pathologic basis of disease*. 2nd edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1979, 262-278.
16. ROBBINS, S. L., COTRAN, R. S. — *Pathologic basis of disease*. 2nd edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1979, 279-326.
17. ROSS, G. D. — Identification of human lymphocyte subpopulation by surface marker analysis. *Blood*, 1979, **53**, 799-811.

**

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au D^r J. Boniver, Laboratoire d'Anatomie pathologique, Université de Liège, Tour de Pathologie B23, Sart Tilman, 4000 Liège.