

composante lymphoïde : identification et caractérisation des sous-populations thymocytaires

J. Boniver (*), L. J. Simar, M. P. Defresne

Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Laboratoire d'Histologie Humaine,
Université de Liège, Institut A. Swaen, rue de Pitteurs 20, 4020 Liège

Summary

Identification of thymic lymphoid subpopulations

Thymus lymphoid subpopulations reflect the process of T cell proliferation and differentiation leading to the production of immunocompetent T lymphocytes; these cells migrate to the periphery, where they act as helper, cytotoxic or suppressor lymphocytes. Maturing thymocytes acquire several membrane glycoproteins; T3 and antigen receptor allow specific antigen recognition; receptors for HLA antigens of class I or II are required for cellular interactions in the regulation of immune responses; other glycoproteins contribute to the capacity of thymic lymphocytes to penetrate peripheral lymphoid tissues.

Le thymus joue un rôle important dans la production des lymphocytes T immunologiquement compétents (3, 15). Ceux-ci, localisés dans les tissus lymphoïdes périphériques, se répartissent en plusieurs sous-populations qui se différencient les unes des autres par leur fonction immunologique et leur caractère phénotypique. Ainsi, un groupe de lymphocytes T donne naissance après un contact avec l'antigène, à des cellules *effectrices* cytotoxiques : ce sont les lymphocytes T cytotoxiques. Ils participent entre autres à l'élimination de parasites, de champignons ou de cellules infectées par le virus, au rejet des greffes et à la défense anti-tumorale. Ces cellules sont les médiateurs effectifs de l'immunité cellulaire. Deux autres sous-populations de lymphocytes T jouent un rôle régulateur dans les réponses immunitaires humérales ou cellulaires. Ainsi, les lymphocytes de type inducteur (ou «helper») contribuent, en produisant des facteurs de croissance, à la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs ou au développement des lymphocytes T cytotoxiques.

Ils sécrètent aussi d'autres lymphokines telles que l'interféron et les facteurs qui agissent sur la migration et la fonction des macrophages ; certains participent aux réactions d'hypersensibilité retardée.

Les lymphocytes T «suppresseurs» exercent une action régulatrice inhibitrice sur les réponses immunitaires.

Tout indique que c'est au sein du thymus que les précurseurs de ces lymphocytes acquièrent le «répertoire» nécessaire à leur compétence immunologique. Ce processus est complexe et implique :

1. Un accroissement numérique (et ce malgré la mortalité intrathymique importante) ;
2. L'acquisition de récepteurs membranaires leur conférant la capacité de pénétrer dans les tissus lymphoïdes périphériques (11) ;
3. L'acquisition de fonctions inductrice, suppressive ou cytotoxique ;
4. L'accès à la spécificité : celle-ci requiert l'expression de plusieurs glycoprotéines membranaires : d'une part un complexe formé par un récepteur spécifique pour l'antigène (à chaque antigène, un récepteur) et la glycoprotéine T3 et d'autre part un récepteur pour le «soi» (c'est-à-dire les antigènes codés par le complexe majeur d'histocompatibilité HLA) (12) ; la spécificité du récepteur pour l'antigène

(*) Chercheur Qualifié du Fonds National de la Recherche Scientifique.

est créée par des réarrangements se produisant dans des gènes dénommés Ti (réarrangements comparables à ceux qui touchent les gènes d'immunoglobulines dans les lymphocytes B en formation) (2); le récepteur pour le «soi» est différent selon que le lymphocyte T est de type inducteur (helper) ou cytotoxique/supprimeur; dans le premier cas, il s'agit de récepteurs pour les antigènes de classe II du MHC (HLA-DR), et dans le second cas, pour ceux de classe I (HLA-A, B, C).

Avant d'envisager comment ce processus complexe se manifeste dans la composante lymphoïde du thymus, rappelons d'abord qu'elle trouve sa source dans le compartiment des cellules souches multipotentiennes hématopoïétiques (1). Celles-ci sont localisées dans le foie et la moëlle chez le fœtus, et principalement dans la moëlle chez l'adulte. On ignore encore comment et sous l'influence de quels facteurs ces cellules souches s'engagent dans la voie de la différenciation lymphoïde. Il est possible que le thymus intervienne déjà à ce niveau, via des facteurs hormonaux circulants (6). Des précurseurs thymocytaires de la moëlle, communément dénommés «prothymocytes» ou cellules pré-T, sont mal caractérisés; ils paraissent peu nombreux (au maximum 1% des éléments nucléés de la moëlle). Ces cellules ressemblent à des lymphoblastes de petite taille. Leur noyau contient une enzyme particulière, la déoxynucléotidyl-transférase terminale (TdT). Il s'agit d'une polymérase de l'ADN dont l'activité biologique n'est pas connue, mais qui pourrait contribuer à la genèse du répertoire des cellules T. Au niveau membranaire, on trouve certaines glycoprotéines également exprimées sur certains thymocytes, tels que le T9, mais apparemment aucun des récepteurs nécessaires à la reconnaissance spécifique de l'antigène ...

Un petit nombre de prothymocytes migrent continuellement de la moëlle vers le thymus (8). Ce trafic augmente faiblement dans les conditions pathologiques qui entraînent une destruction thymocytaire, comme après une irradiation. Ces constatations indiquent que quelques cellules souches lymphoïdes suffisent pour donner naissance à l'ensemble des populations thymocytaires. De nombreux éléments expérimentaux suggèrent que le thymus (sans doute certains éléments de son microenvironnement) exerce un effet chimiotactique sur les prothymocytes (10). La nature des facteurs impliqués et leur site de production dans le thymus sont encore mal connus.

Après leur pénétration dans le thymus, le devenir des précurseurs devient très complexe (3, 15). Les

thymocytes sont répartis en deux régions, corticale et médullaire, qui semblent correspondre à des compartiments différents tout en étant peut-être en relation l'un avec l'autre. Quatre-vingt cinq à nonante pourcent d'entre eux sont localisés dans le cortex et les dix à quinze pourcent restants dans la région médullaire. En tenant compte de la morphologie et de l'expression ou non des diverses protéines membranaires, on distingue deux sous-populations principales de thymocytes corticaux, à savoir les blastes (10% : stade I), les petits lymphocytes (70% : stade II), et deux sous-populations de thymocytes médullaires, correspondant à 10 et 5% de l'ensemble des thymocytes (stade III). Les caractères phénotypiques principaux de ces différentes sous-populations sont résumés dans le tableau 1 (selon 13 et 14); en outre, il existe d'autres sous-populations quantitativement peu importantes et de phénotype particulier, qui ne sont pas reprises dans le tableau; certaines de ces cellules, quoique localisées dans le cortex, auraient un phénotype voisin des cellules T périphériques et seraient les précurseurs des lymphocytes migrant vers les tissus lymphoïdes périphériques (11).

On considère généralement que les lymphocytes du cortex (stades I et II) sont incapables d'engendrer une réponse immunologique. Ni les blastes ni les petits thymocytes n'expriment le récepteur T3, nécessaire à la reconnaissance de l'antigène. Les lymphocytes corticaux exercent une activité proliférative importante. Quinze à vingt % d'entre eux sont engagés dans la phase S du cycle cellulaire. Ils effectuent cinq à six divisions successives avant de donner naissance aux petits thymocytes corticaux. Il est important de noter que la plupart de ces thymocytes meurent *in situ*. Les raisons de cette mortalité sont encore mal connues et font l'objet de spéculations diverses: combinaisons particulières d'enzymes du métabolisme des purines (adénosine déaminase, purine nucléoside phosphorylase) aboutissant à une accumulation toxique de nucléosides (9), destruction de clones interdits (capables d'engendrer des réponses auto-immunes)... Ce modèle particulier de prolifération et de mort *in situ* explique que la population lymphoïde du cortex est renouvelée tous les trois jours environ.

Dans la région médullaire, l'activité prolifératrice est faible: environ 5% des cellules sont dans le cycle de division. La durée de vie de ces éléments est longue, et leur taux de renouvellement faible. Ces cellules portent tous les récepteurs requis pour une réaction spécifique avec l'antigène (14). Ils montrent

d'ailleurs des capacités fonctionnelles analogues à celles des lymphocytes T périphériques : ils répondent aux mêmes mitogènes ; certains peuvent engendrer une réponse cytotoxique spécifique, tandis que d'autres peuvent intervenir comme éléments régulateurs (inducteurs ou suppresseurs).

Quelles sont, parmi les thymocytes, les cellules capables de migrer vers les tissus lymphoïdes périphériques pour y constituer le compartiment des lymphocytes T immunologiquement compétents ? Les élégants travaux de SCOLLAY *et al.* (15, 16) réalisés chez la souris ont démontré que 1 % environ des thymocytes quittent quotidiennement le thymus. Ces cellules présentent des caractères phénotypiques

et les capacités fonctionnelles des thymocytes médullaires et des lymphocytes T périphériques. Toutefois, des recherches récentes suggèrent que ces migrants sont localisés dans le cortex dont ils constitueraient une sous-population particulière (voir plus haut) (11). Ajoutons que, contrairement à ce que l'on a pensé pendant longtemps, des lymphocytes T mûrs immunologiquement compétents peuvent, après un contact avec l'antigène, migrer des tissus lymphoïdes périphériques vers le thymus (5). Ceci indique que le thymus peut en quelque sorte participer lui aussi à la réserve des lymphocytes T capables de répondre à une stimulation antigénique.

Tableau 1

Phénotype des thymocytes et des lymphocytes T périphériques^{a)}

	T10 ^{b)}	T11	T6	T3	T4	T8	PNA ^{c)}	TdT ^{d)}	Récepteurs spécifiques pour l'antigène
Thymocytes stade I (Blastes du cortex)	+	++	-	-	-	-	+	+	(noyau) -
Thymocytes stade II (petits lymphocytes du cortex)	+	++	+	-	+	+	+	+	(cytoplasme) +
Thymocytes stade III +	+	+	-	+	-	-	-	-	
(lymphocytes de la région médullaire) +	ou +	+	-	+	-	+	-	-	
Lymphocytes T périphériques non stimulés par l'antigène inducteurs (helper) +	-	+	-	+	+	-	-	-	
cytotoxique/suppress.	-	+	-	+	-	+	-	-	

a) Selon références.

b) T₃, ... T₁₁ : ces symboles correspondent à différentes glycoprotéines que l'on peut reconnaître à l'aide des anticorps monoclonaux de la série OKT, ... 11.

c) PNA : récepteur pour la PNA (lectine extraite d'arachides).

d) TdT : déoxynucléotidyl transférase terminale.

Toutes ces observations sur les sous-populations thymocytaires montrent bien que le «répertoire» nécessaire à la fonction immunologique spécifique des cellules T se constitue lors de leur passage dans le thymus. Toutefois, la succession des événements aboutissant à cette différenciation fonctionnelle est encore mal connue ; on ignore encore les relations existant entre les sous-populations corticales et médullaires et en particulier, si l'une sert de précurseur pour l'autre. Ceci fait l'objet de vives controverses et donc d'incertitude et de confusion parmi les immunologistes (pour revue : 11). Selon

certain, les précurseurs thymocytaires donneraient naissance aux thymocytes corticaux, dont seraient issus les thymocytes de la région médullaire qui migreraient alors vers la périphérie. Une autre façon de voir sépare complètement les populations corticales et médullaires, l'une ou l'autre donnant alors naissance aux lymphocytes périphériques. Il est possible que la vérité se trouve entre ces deux modèles.

La dernière question que l'on doit se poser, sans doute la plus fondamentale de toutes, est de savoir si le thymus est absolument nécessaire à la production

des lymphocytes T immunologiquement compétents. En effet, de telles cellules T peuvent être formées en l'absence du thymus, par exemple chez les souris «nude» athymiques (7) ou en culture après diverses manipulations (4). Toutefois, les capacités fonctionnelles et la spécificité de ces cellules sont encore mal documentées, de même que la réalité de ces mécanismes *in vivo* dans les conditions physiologiques. Aussi peut-on conclure, sur la base de nos connaissances actuelles, que le thymus est un élément efficace du système immunitaire pour produire un grand nombre de cellules T et pour sélectionner l'acquisition de leur répertoire spécifique.

Résumé

La composante lymphoïde du thymus est le reflet des processus de prolifération et de différenciation aboutissant à la production de lymphocytes T, capables de migrer vers les tissus lymphoïdes périphériques et d'y fonctionner comme éléments cytotoxiques inducteurs ou suppresseurs.

Au cours de ce processus, les cellules lymphoïdes acquièrent plusieurs glycoprotéines membranaires. Certaines (T3 et récepteurs pour l'antigène) leur confèrent la capacité de reconnaître spécifiquement ; d'autres (récepteurs pour les antigènes HLA de classe I ou II) interviennent dans le contrôle de la réponse immunitaire ; d'autres enfin contribuent à la pénétration des lymphocytes T dans les tissus lymphoïdes périphériques.

Références

1. ABRAMSON S., MILLER R. G., PHILLIPS R. A. The identification in adult bone marrow of pluripotent and restricted stem cells of the myeloid and lymphoid systems. *J. Exp. Med.*, **145** : 1567-1579, 1977.

2. ACUTO O., MEUER S. C., HODGON J. C. Peptide variability exists within the alpha and beta subunits of the T cell receptors for antigen. *J. Exp. Med.*, **158** : 1368-1373, 1983.
3. CANTOR H., WEISSMAN I. L. Development and function of subpopulations of thymocytes and T lymphocytes. *Progr. Allergy*, **20** : 1-64, 1976.
4. CHING L. M., MURAOKA S., MILLER R. G. Differentiation of T cells from immature precursors in murine T cell colonies. *J. Immunology*, **127** : 2156, 1981.
5. FINK P. J., BEVAN M. J., WEISSMAN I. L. Thymic cytotoxic T lymphocytes are primed *in vivo* to minor histocompatibility antigens. *J. Exp. Med.*, **159** : 436-451, 1984.
6. GOLDSCHNEIDER I., AHMED A., BOLLUM F. J., GOLDSTEIN A. L. Induction of terminal deoxynucleotidyl transferase and Lymt antigens with thymosin : identification of multiple subsets or prothymocytes in mouse bone marrow and spleen. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **78** : 2469-2473, 1981.
7. HUNIG T. T cell function and specificity in athymic mice. *Immunology To-Day*, **4** : 84, 1983.
8. LEPAULT F., WEISSMAN I. L. An *in vivo* assay for thymus-homing bone marrow cells. *Nature*, **293** : 151, 1981.
9. MA D. D. F., SYLWESTROWICZ T., JANOSSY G., HOFFBRAND A. V. The role of purine metabolism enzymes and terminal deoxynucleotidyl transferase in intrathymic T cell differentiation. *Immunology To-Day*, **4** : 65-68, 1983.
10. PYKE K. W., BACH J. F. *In vitro* migration of potential hemopoietic precursors from the murine fetus. *Thymus*, **3** : 1-7, 1981.
11. REICHERT R. A., GALLATIN W. M., BUTCHER E. C., WEISSMAN I. L. A homing receptor bearing cortical thymocyte subset : implications for thymus cell migration and the nature of cortisone resistant thymocytes. *Cell*, **38** : 89-99, 1984.
12. REINHERZ E. L., MEUER S. C., SCHLOSSMAN S. F. The delineation of antigen receptors on human T lymphocytes. *Immunology To-Day*, **4** : 5-8, 1983.
13. REINHERZ E. L., SCHLOSSMAN S. F. The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell*, **19** : 821-827, 1980.
14. ROYER H. D., ACUTO O., FABBİ M., TIZARD R., RAMADHADRAN K., SMART J. E., REINHERZ E. L. Genes encoding the T β subunit of the antigen/MHC receptor undergo rearrangement during intrathymic ontogeny prior to surface T3-T β expression. *Cell*, **39** : 261-266, 1984.
15. SCOLLAY R. Intrathymic events in the differentiation of T lymphocytes : a continuous enigma. *Immunology To-Day*, **4** : 282-286, 1984.
16. SCOLLAY R., KOCHEN M., BUTCHER E., WEISSMAN I. Lymt markers on thymus cell migrants. *Nature*, **276** : 79-80, 1978.