ED3

Prolifération lymphoïde,

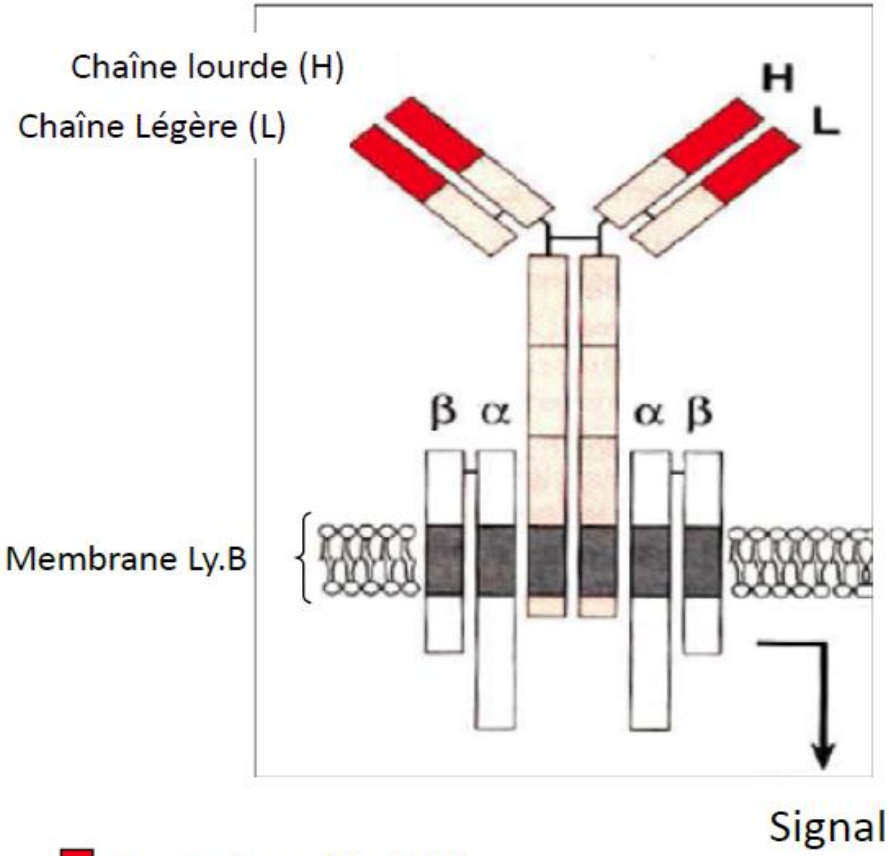
Immunoglobuline monoclonale

Clonalité,

Réarrangements

Récepteurs B et Immunoglobulines

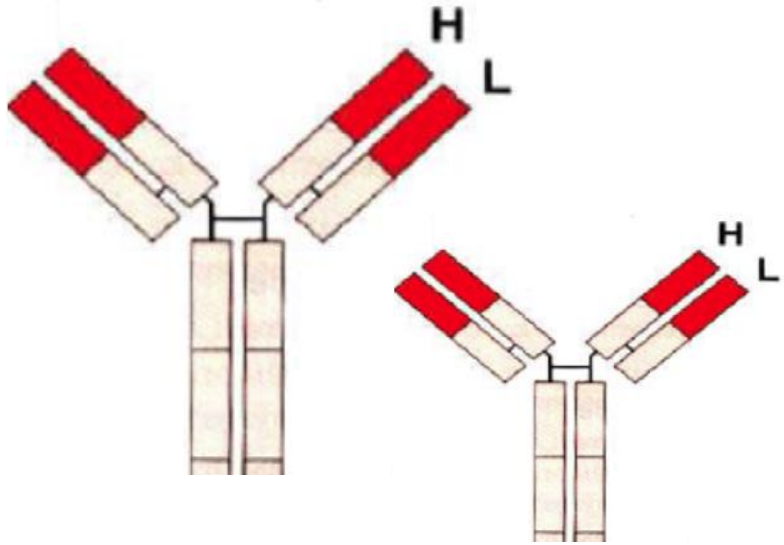
Récepteur à l'antigène des Lymphocytes B

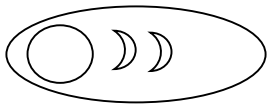


Domaines Variables

Domaines Constants

Immunoglobulines sériques





Plasmocyte

Généralités sur les immunoglobulines

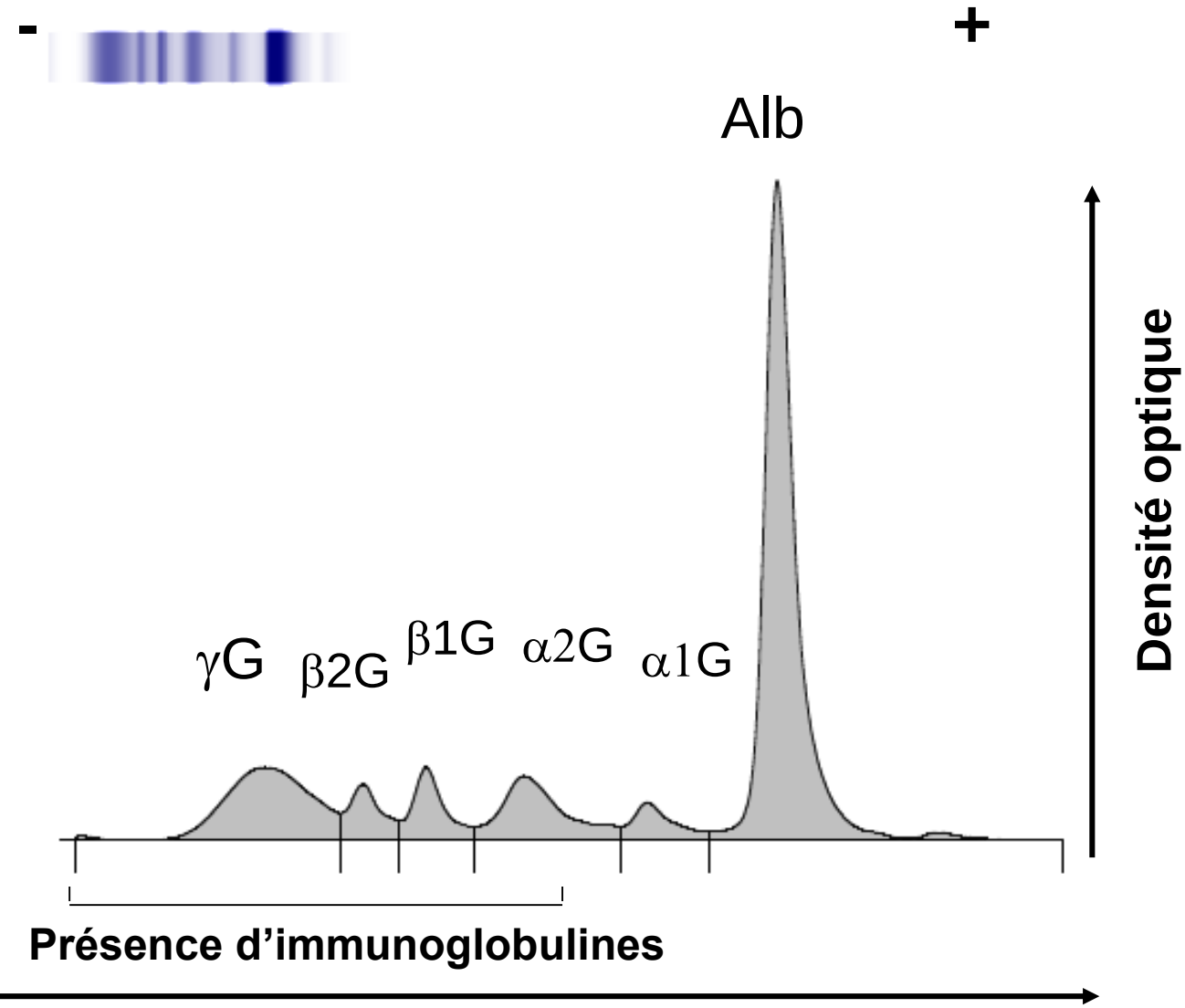
• Les immunoglobulines sont des glycoprotéines qui portent la fonction anticorps.

• Le terme **Immunoglobuline = protéine**
• Le terme **anticorps = fonction**

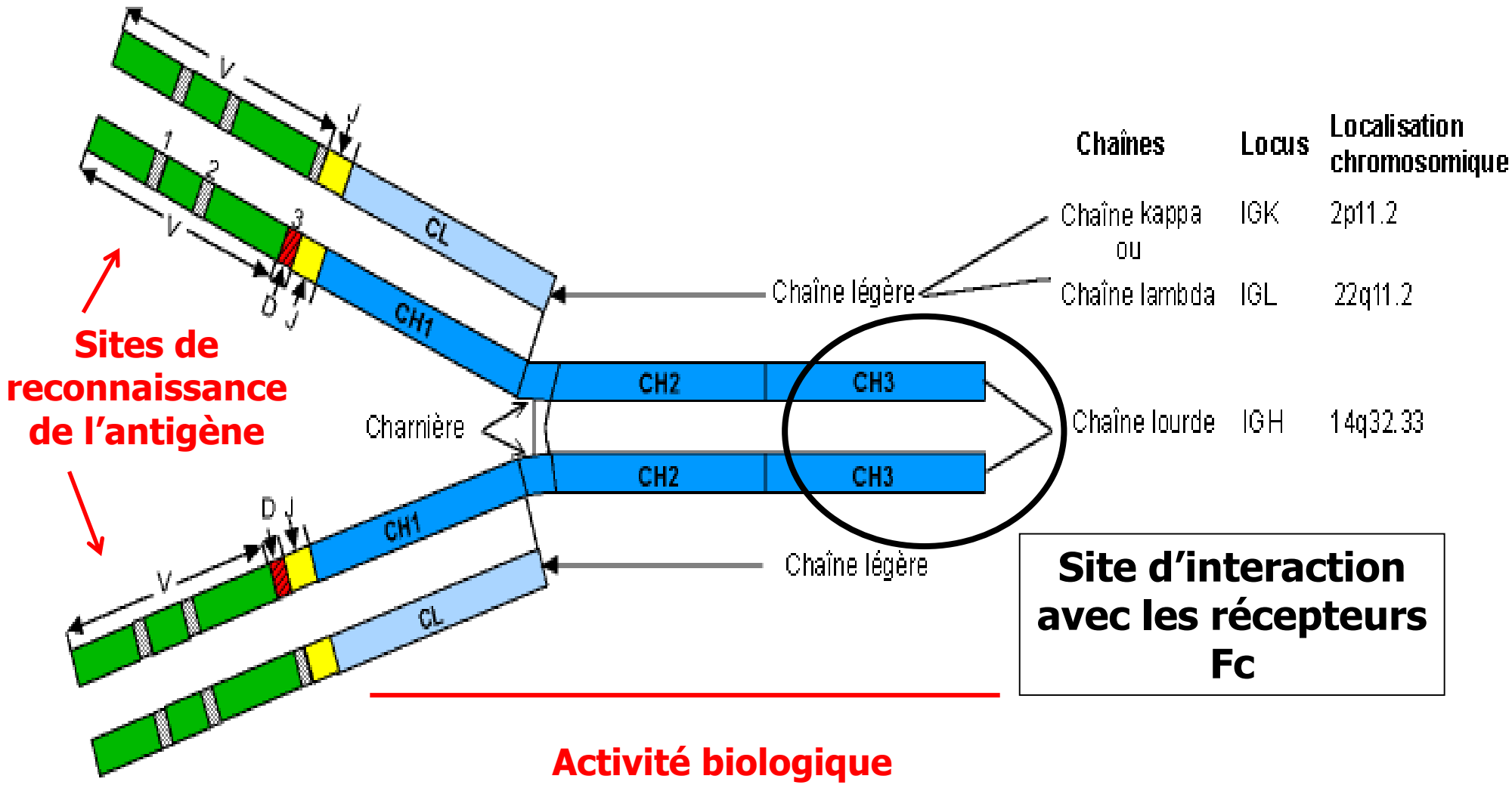
• Une des propriétés essentielles des Immunoglobulines est l'**hétérogénéité** sur le plan biochimique et fonctionnel nécessaire à la **diversité de reconnaissance** des multiples antigènes présents dans la nature.

Electrophorèse des protéines du sérum (Capillaire)

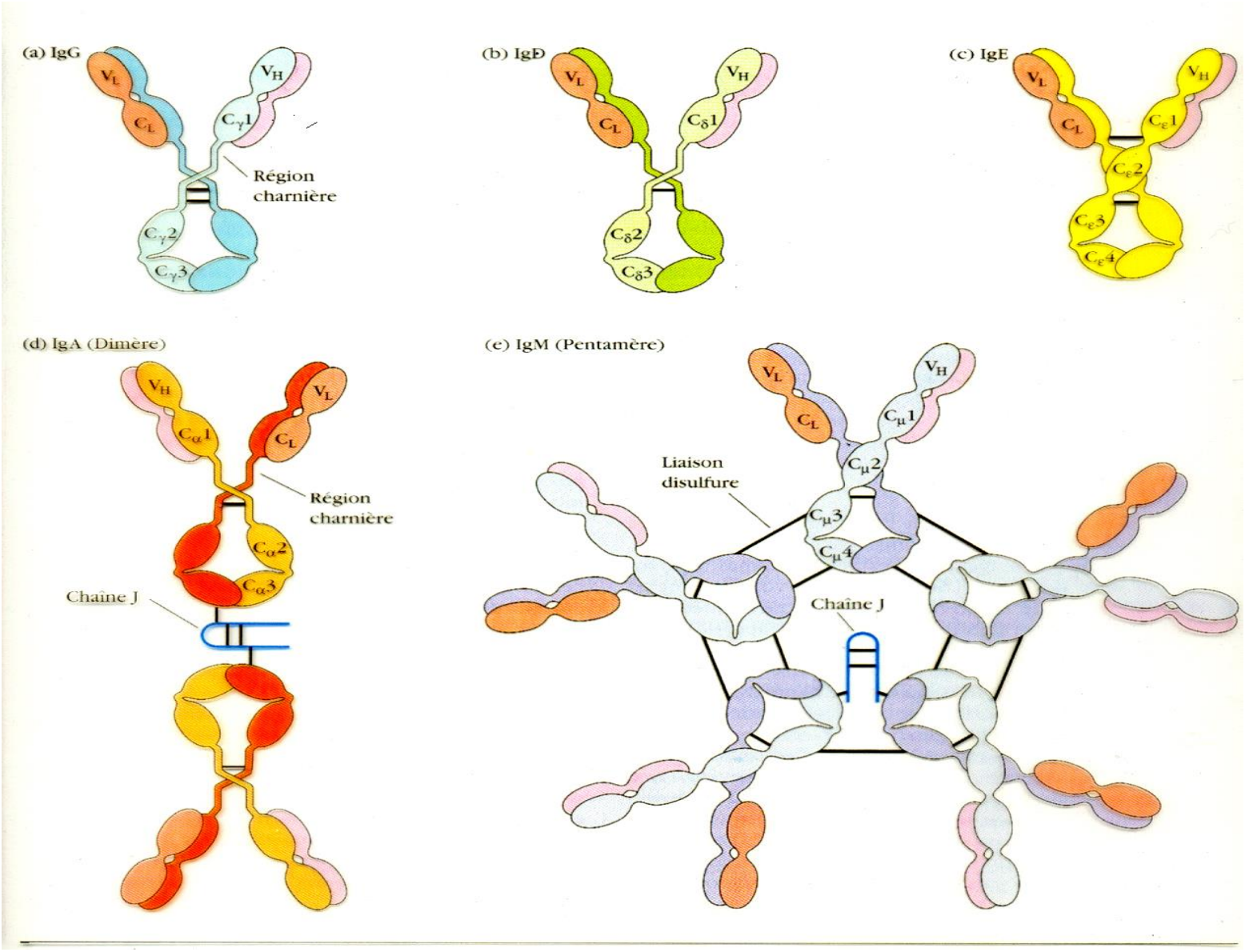
Nom	g/l	Normales g/l
PSHEMAlbumine	42,7	37,5 - 45,1
Alpha 1	3,1	2,5 - 3,9
Alpha 2	7,8	5,4 - 9,1
Beta 1	4,6	3,4 - 5,6
Beta 2	3,7	2,1 - 5,0
Gamma	12,7	6,8 - 14,9



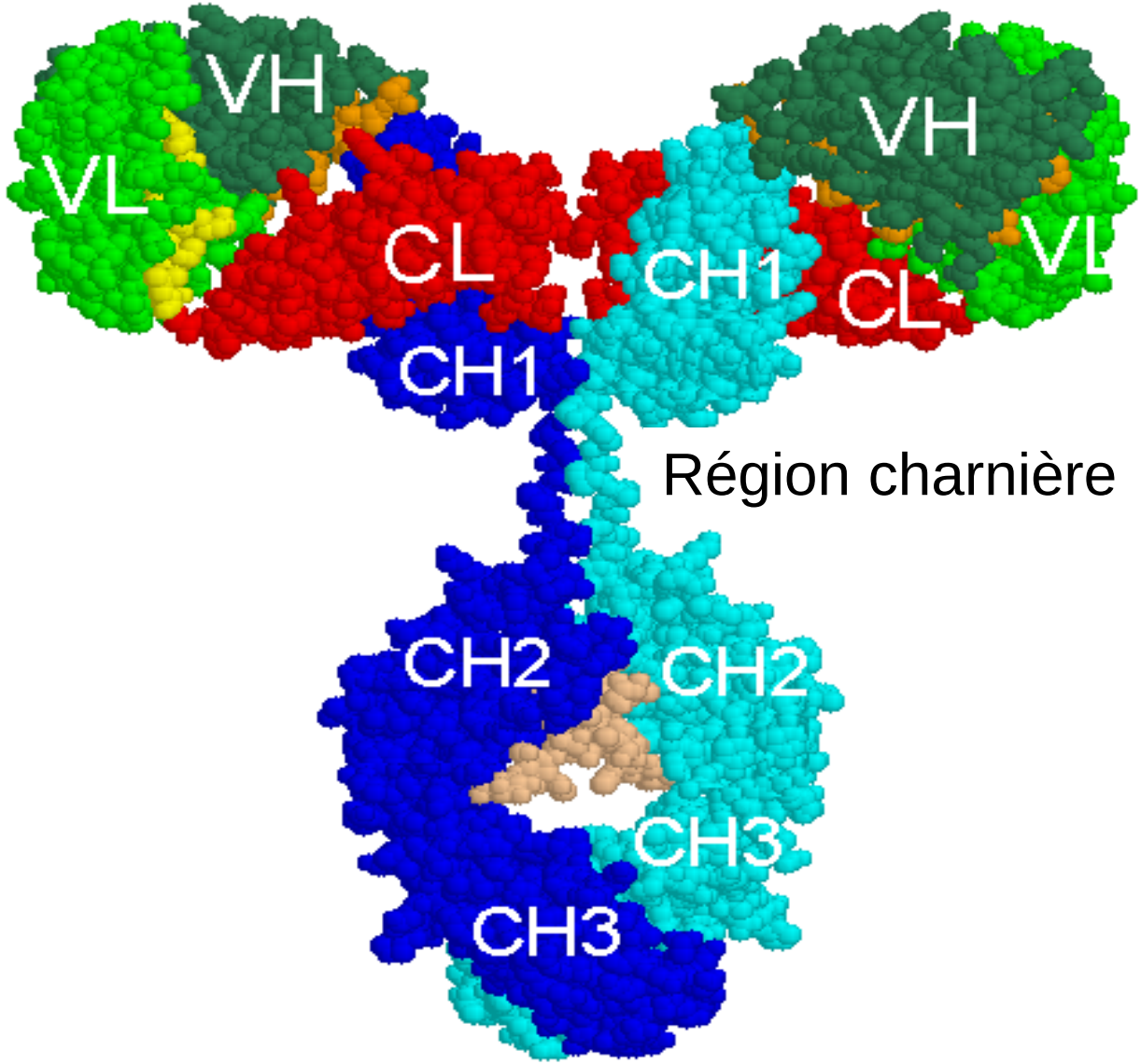
Structure générale d'un monomère d'Ig



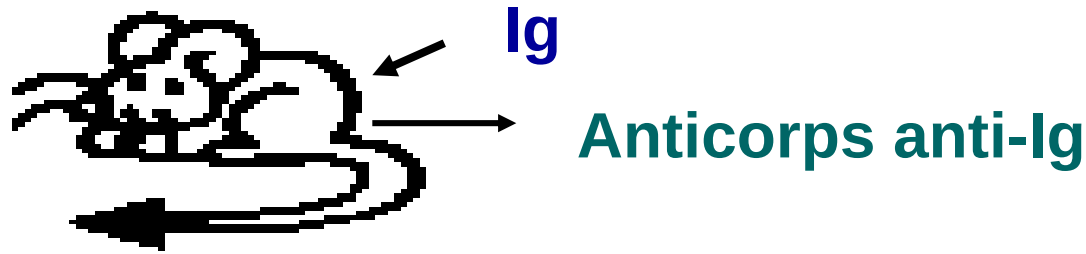
Les différentes classes d'Ig



Structure des IgG humaines normales



Déterminants antigéniques des Immunoglobulines (Igs)



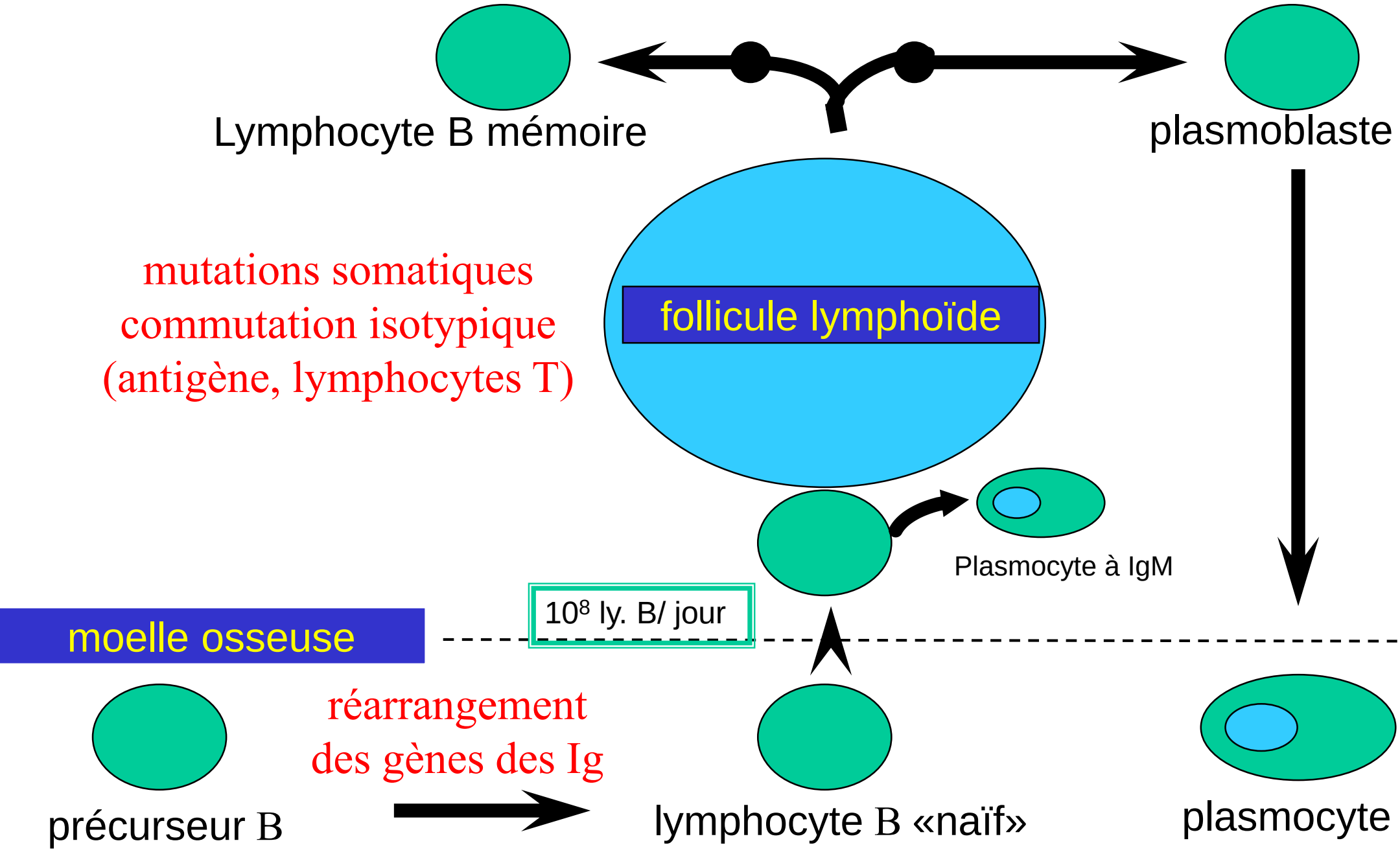
• Les **Isotypes**: Classes et les sous-classes : parties constantes des chaines lourdes (γ, α, μ, δ, ε) et des chaines légères (κ, λ) des Igs

- Identiques d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce.
- Indépendants de la fonction anticorps

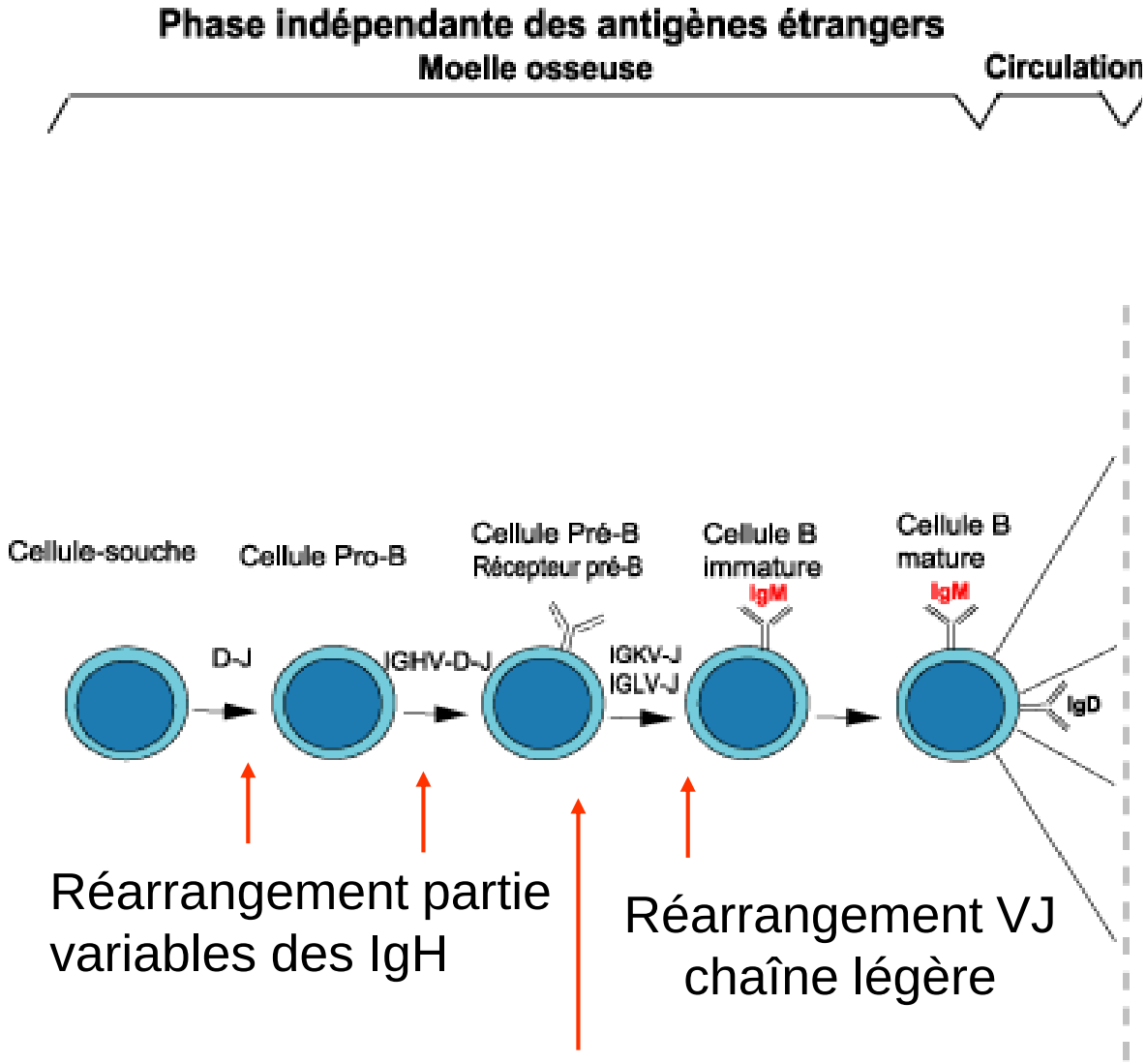
• Les **allotypes**: différences dans la structure primaire des Igs chez des individus de même espèce, pour une même classe et sous-classe

• Les **idiotypes:** situés sur le domaine variable et les structures hypervariables des Igs (site anticorps)

Développement et différenciation des lymphocytes B

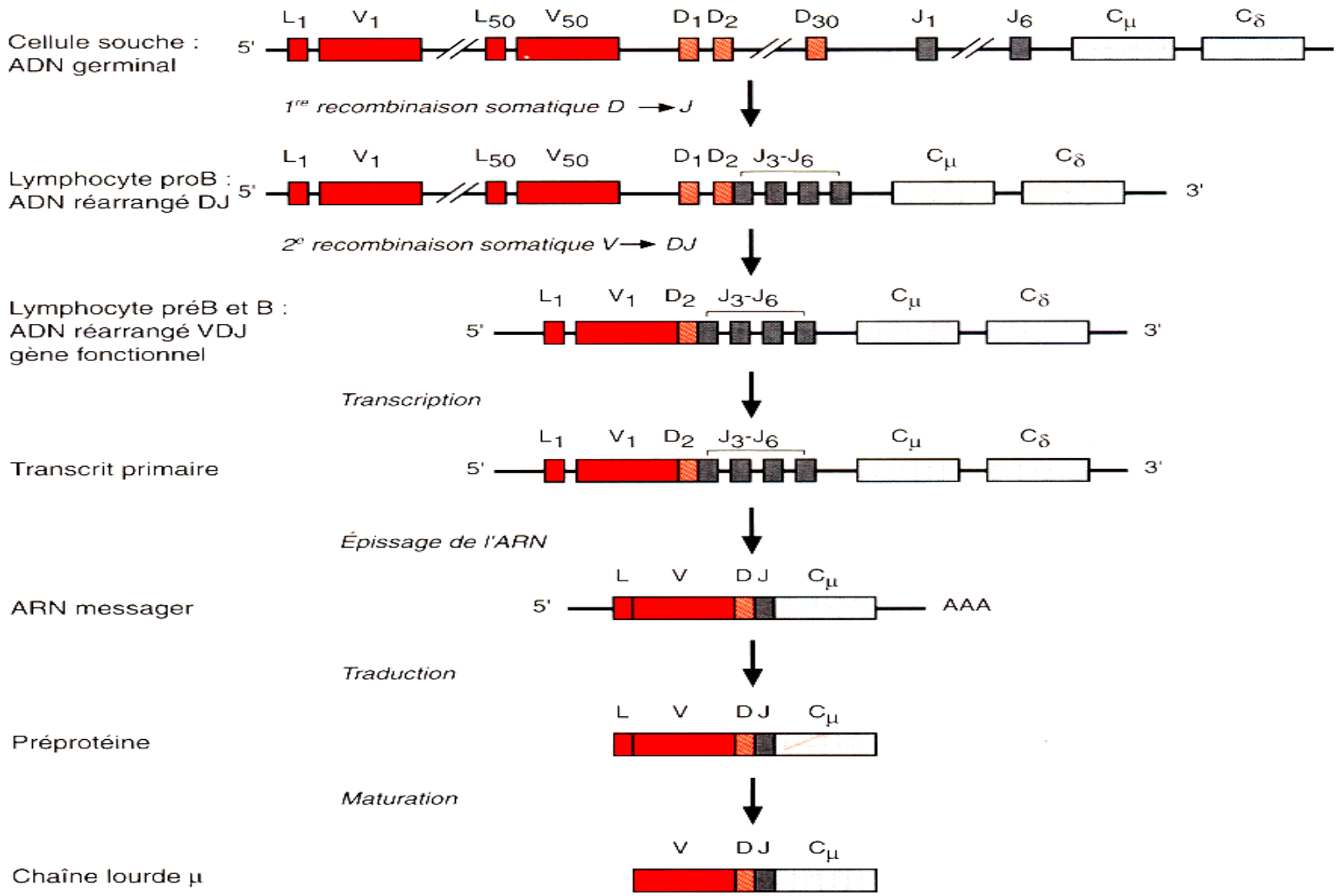


Différenciation précoce des lymphocytes B



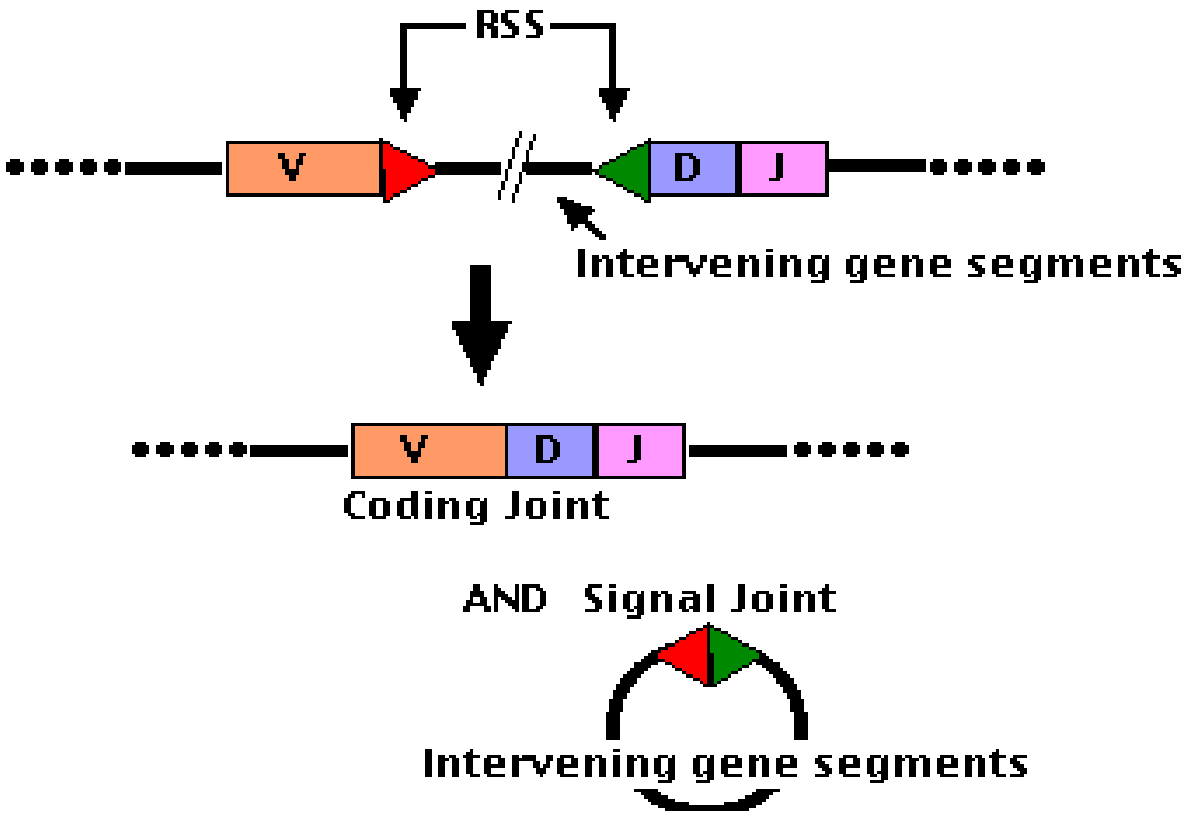
Acquisition du répertoire B de reconnaissance pour l'antigène

Réarrangement des gènes de la chaîne lourde μ

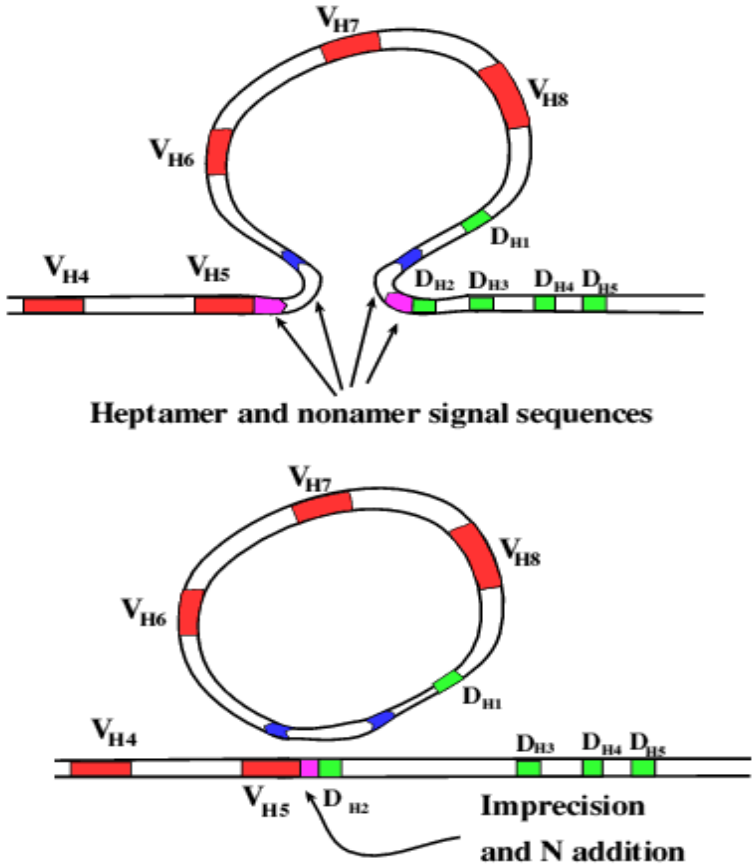


Recombinaison VDJ

Recombination signal sequences



Recombination Activating Genes
RAG-1 and RAG-2



imprécision, addition d' « extra-nucléotides » (régions N) par la TdT
(terminal deoxyribonucléotidyl transférase)

Génération de la diversité des anticorps

Diversité combinatoire	Assemblage des segments V et J (chaînes légères) et V, D et J (chaînes lourdes)
Diversité Jonctionnelle	Insertion ou délétion de nucléotides à la jonction entre les segments de gènes
Assemblage chaîne légère/ chaîne lourde	Assemblage aléatoire d'une chaîne lourde avec une chaîne légère

Moelle osseuse

Périphérie	Maturation d'affinité	Hypermutations somatiques

Exclusion allélique

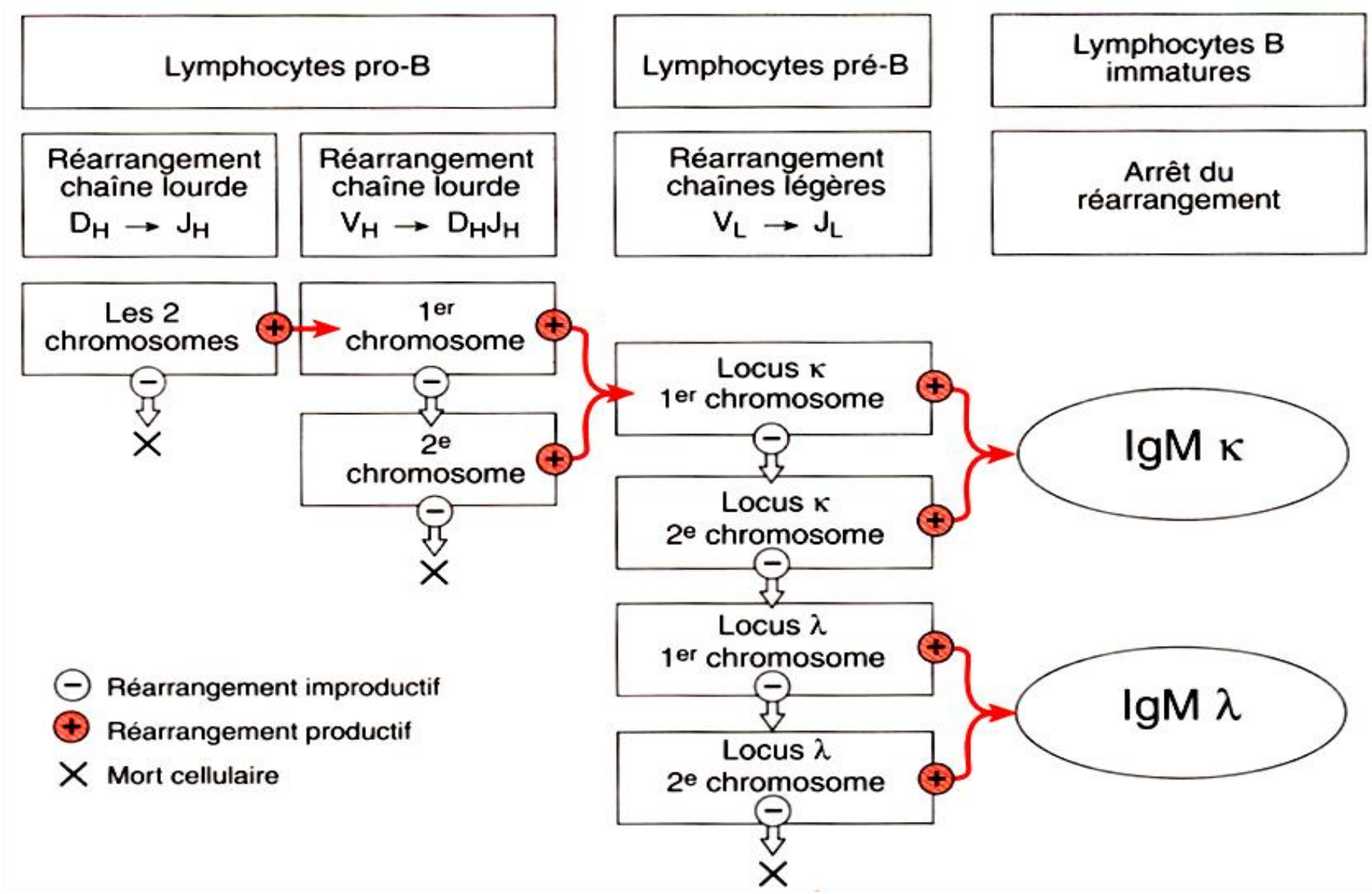
= Dans chaque lymphocyte B différencié ne sont fonctionnels qu'un seul locus de chaîne lourde et un seul locus de chaîne légère soit κ soit λ

Le réarrangement des gènes codant pour les parties variables de chaque chaîne fournit une combinaison unique base d'une spécificité déterminée.

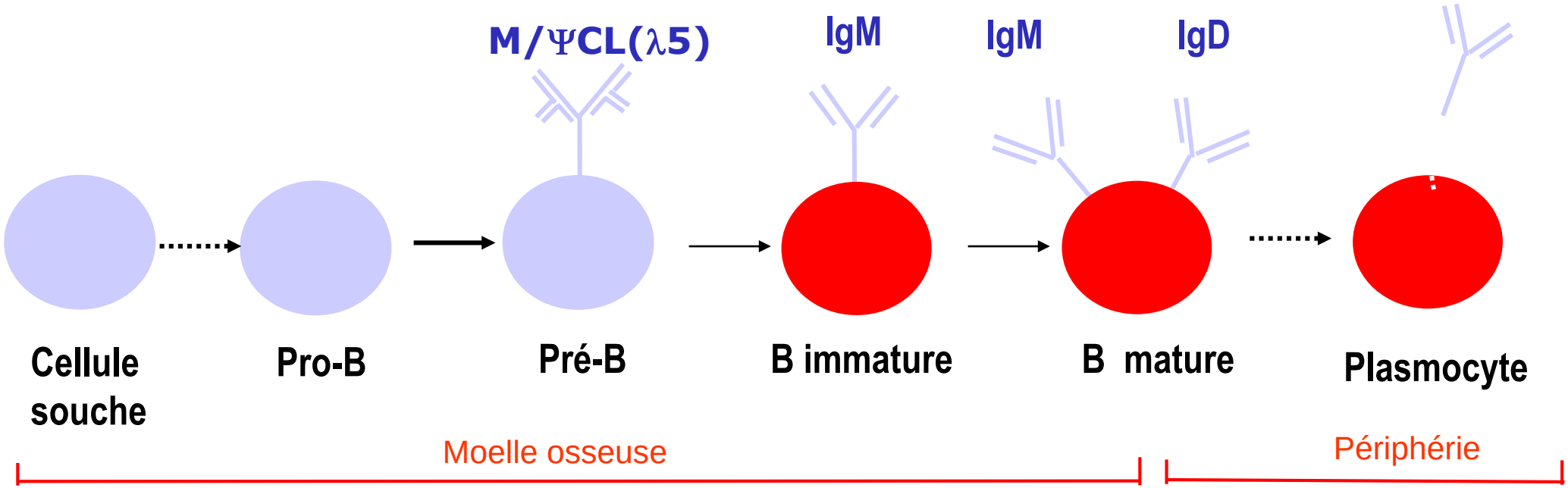
→ Diversité de reconnaissance:

$$\left.\begin{array}{l}\text{chaîne lourde: } 50 \times 30 \times 6 \\ \text{chaîne légère: } 2 \times 40 \times 5\end{array}\right\} \approx 10^7$$

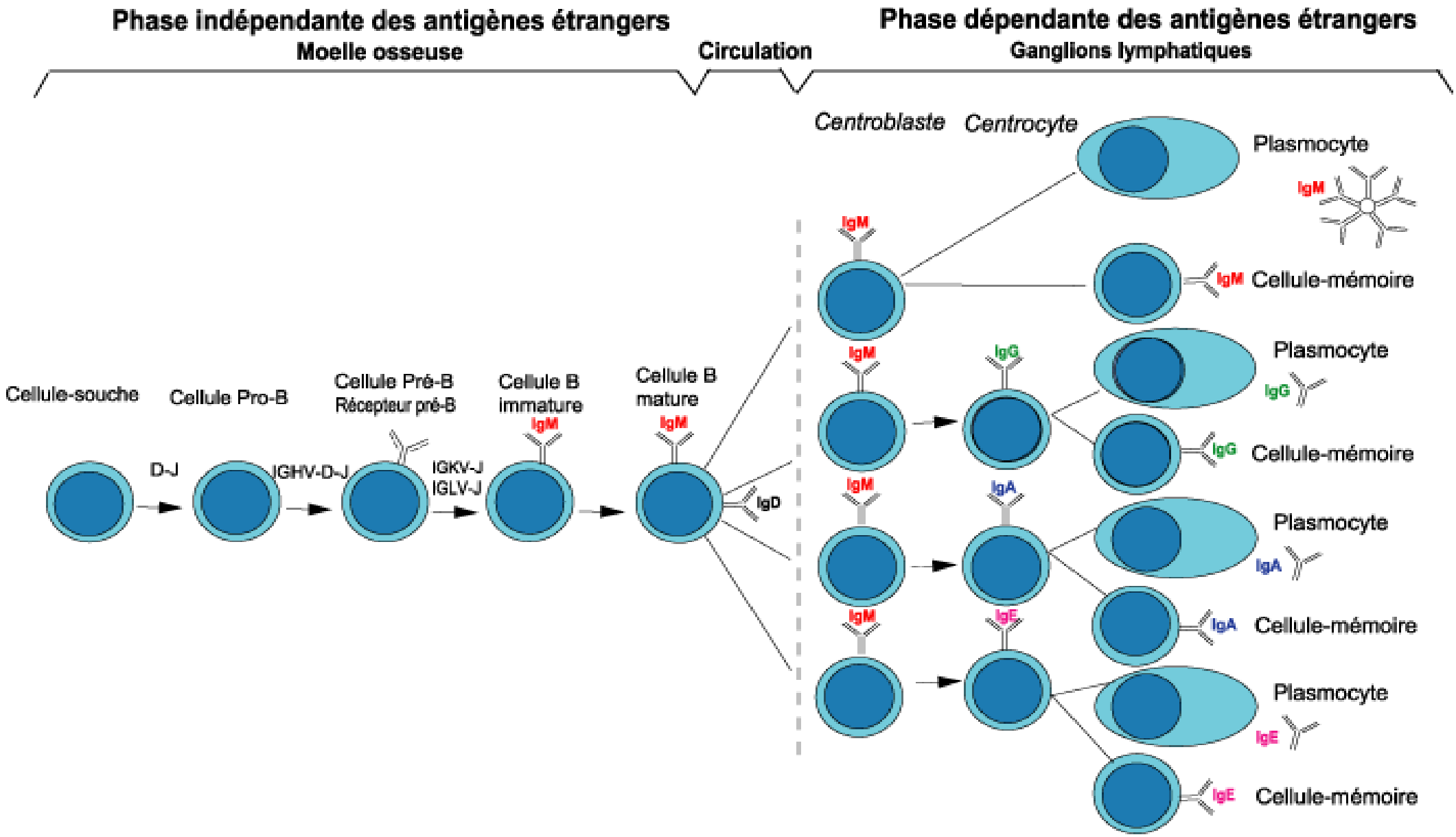
Dynamique des réarrangements des gènes d'Immunoglobulines

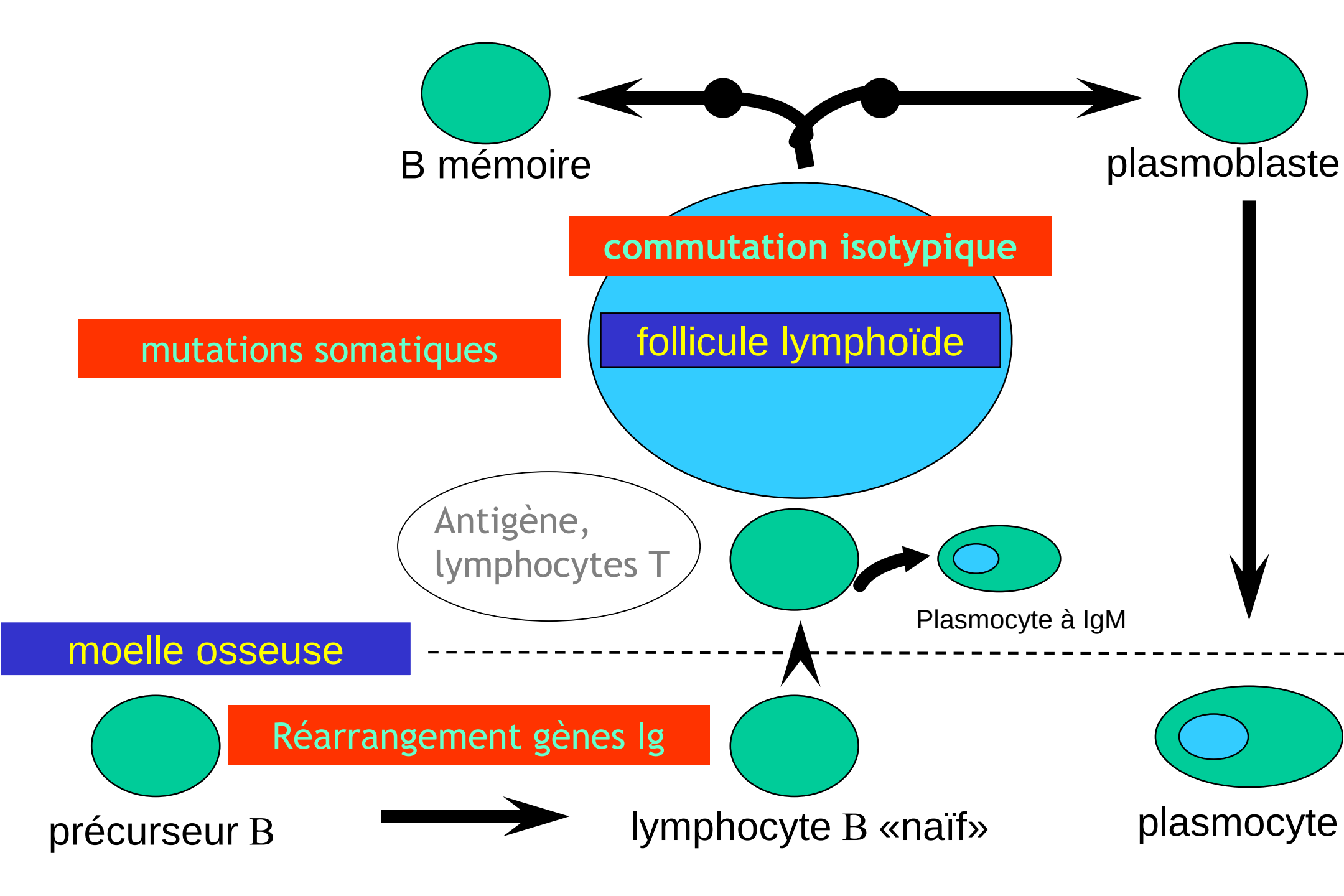


Développement et différenciation des lymphocytes B



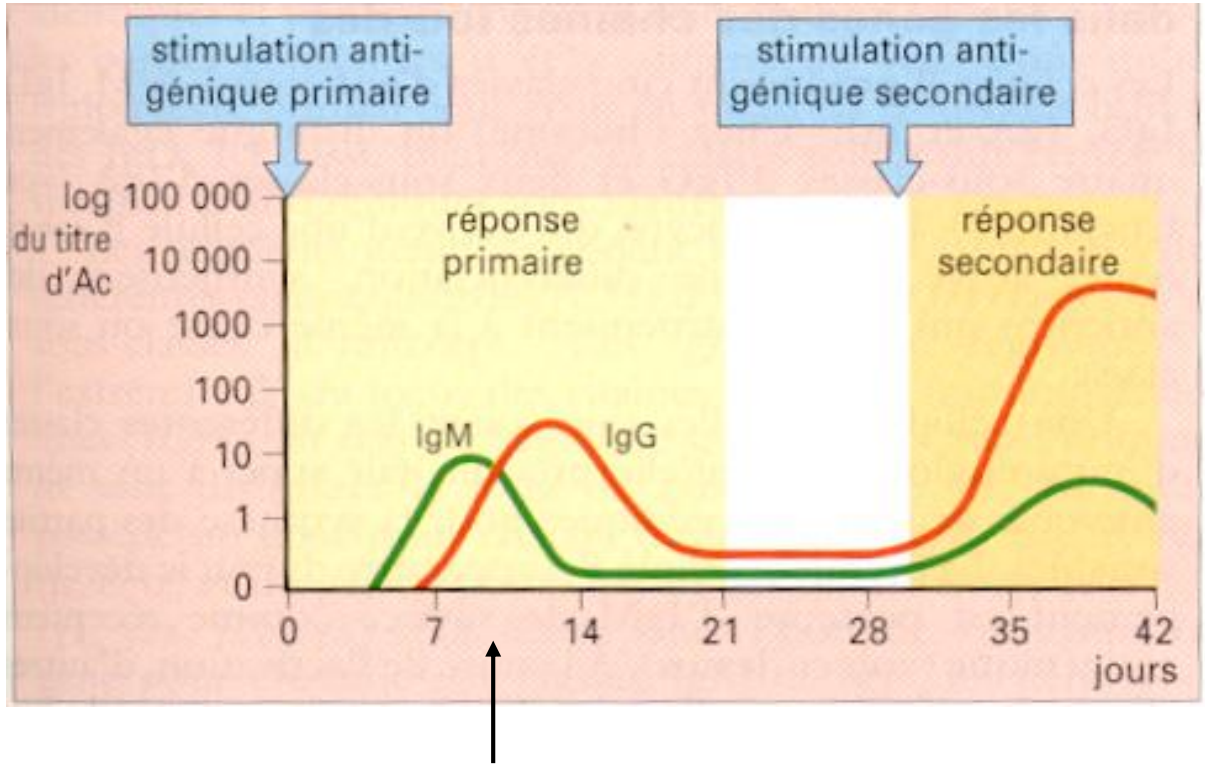
Différenciation terminale des lymphocytes B




B mémoire
plasmoblaste
commutation isotypique
mutations somatiques
follicule lymphoïde
Antigène,
lymphocytes T
Plasmocyte à IgM
moelle osseuse
Réarrangement gènes Ig
précurseur B
lymphocyte B «naïf»
plasmocyte

Evolution de la réponse Anticorps après un contact antigénique

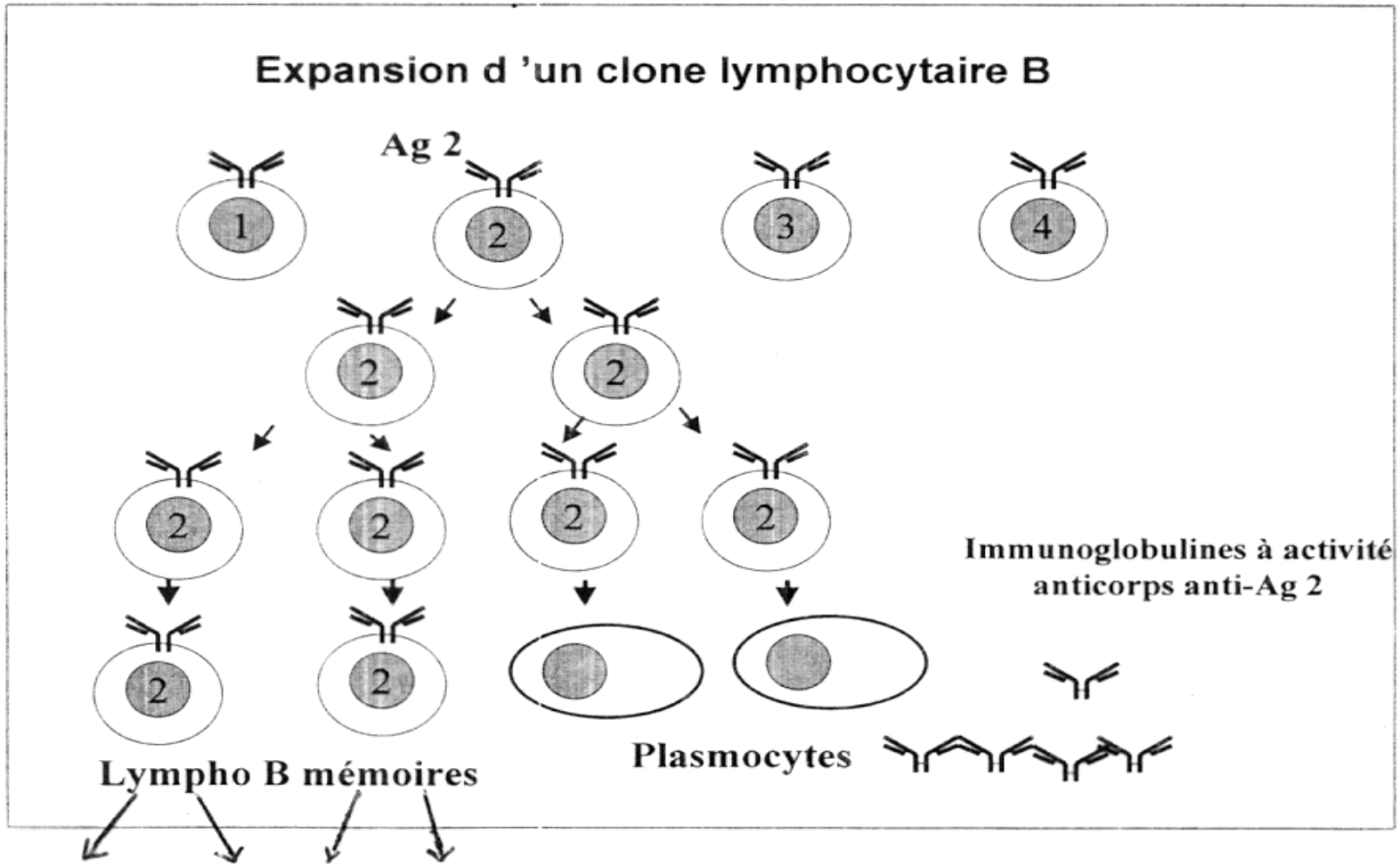
Antigène thymodépendant



+ rapide (4j)
+ intense
+ prolongée
Affinité ↑

Expansion clonale
de lymphocytes B

Evolution de la réponse Anticorps

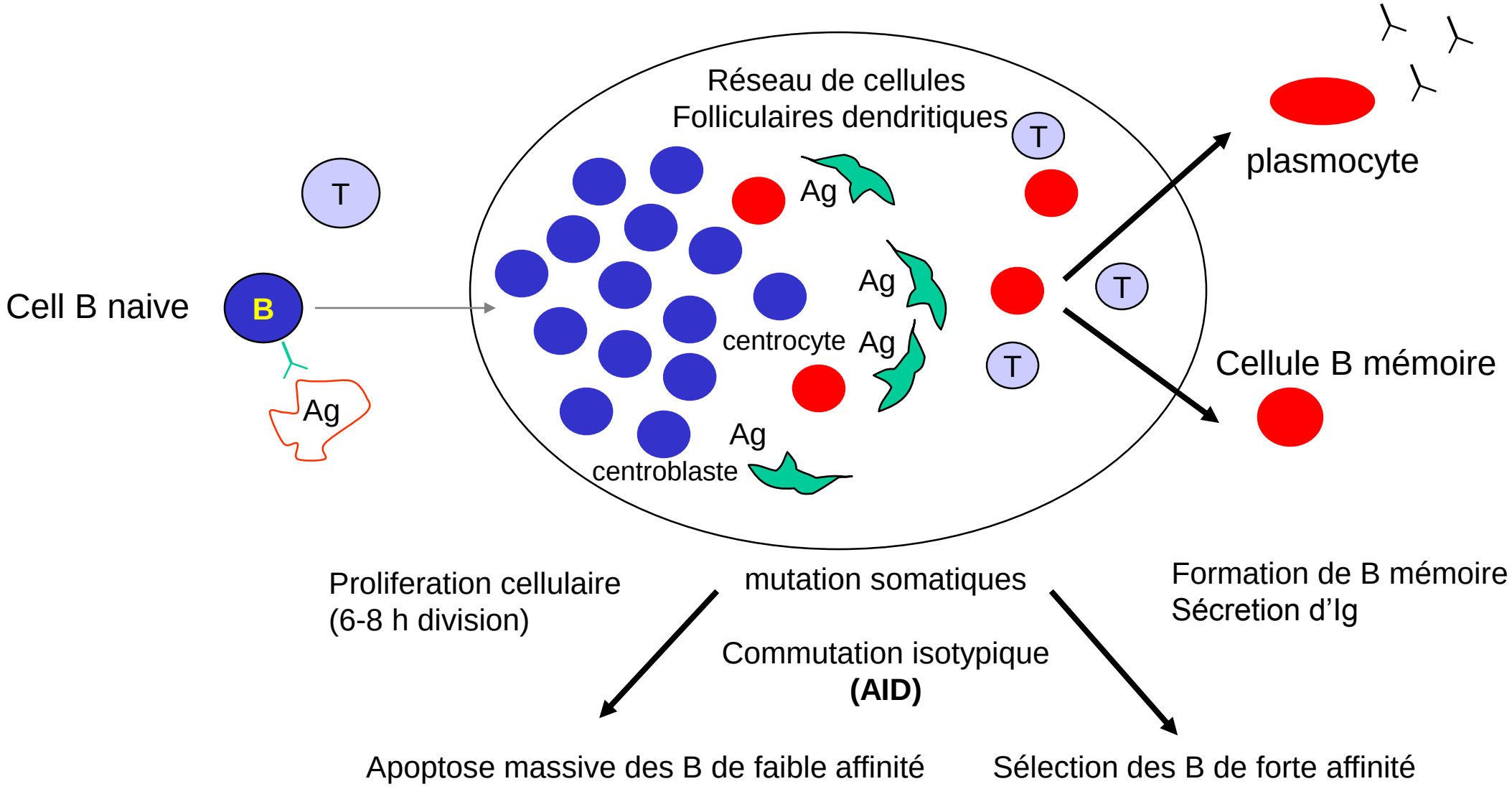


2ème contact →

Lors du 2ème contact avec l'antigène:
-Expansion de cellules mémoires plus nombreuses
-Ayant souvent un BCR de meilleure affinité pour l'antigène

→ Réponse + rapide, + intense
basée sur la mémoire spécifique de l'antigène

Réponse immunitaire dans le centre germinatif: maturation d'affinité



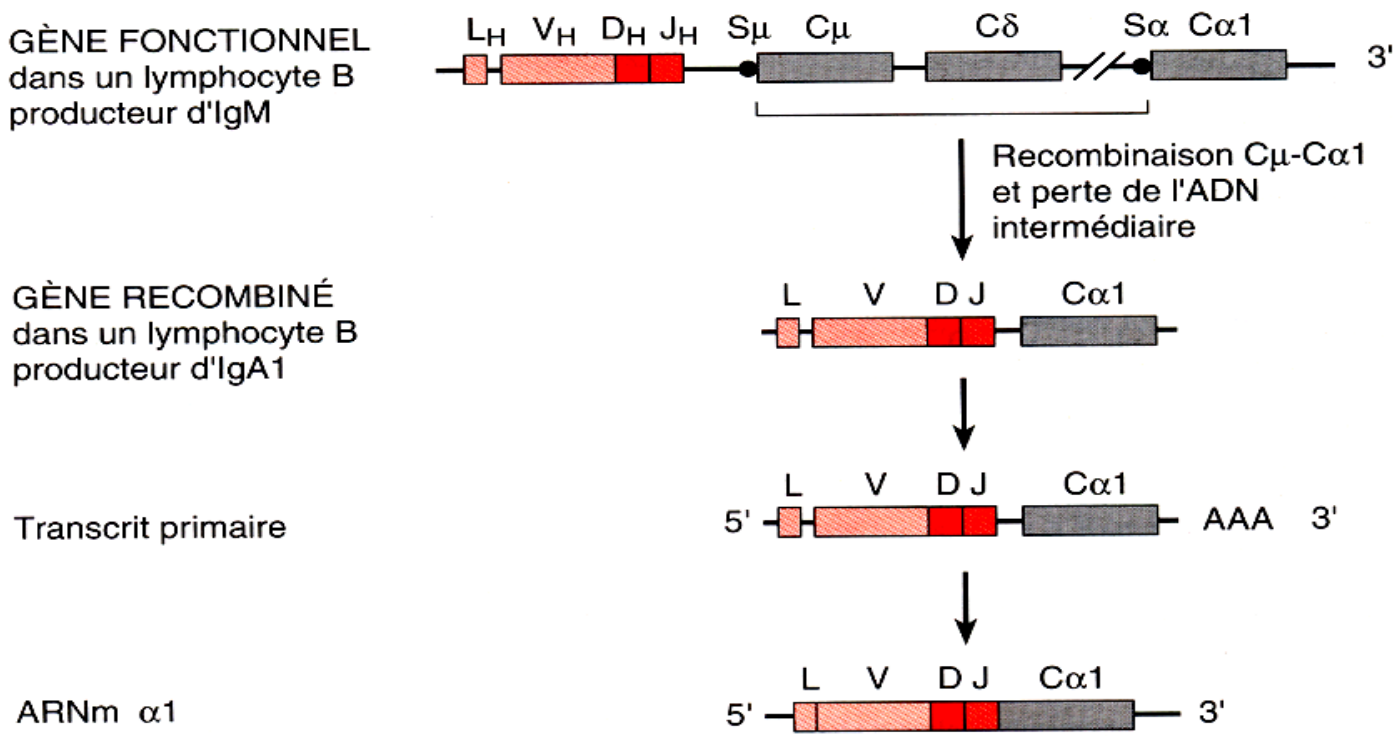
Commutation de classe: commutation isotypique (Class Switch Recombination)

Mécanismes par lesquels un même clône peut synthétiser des Anticorps de même spécificité mais de classe différente.

→ Des Igs portant des propriétés biologiques différentes sur leur partie constante peuvent avoir la même spécificité.

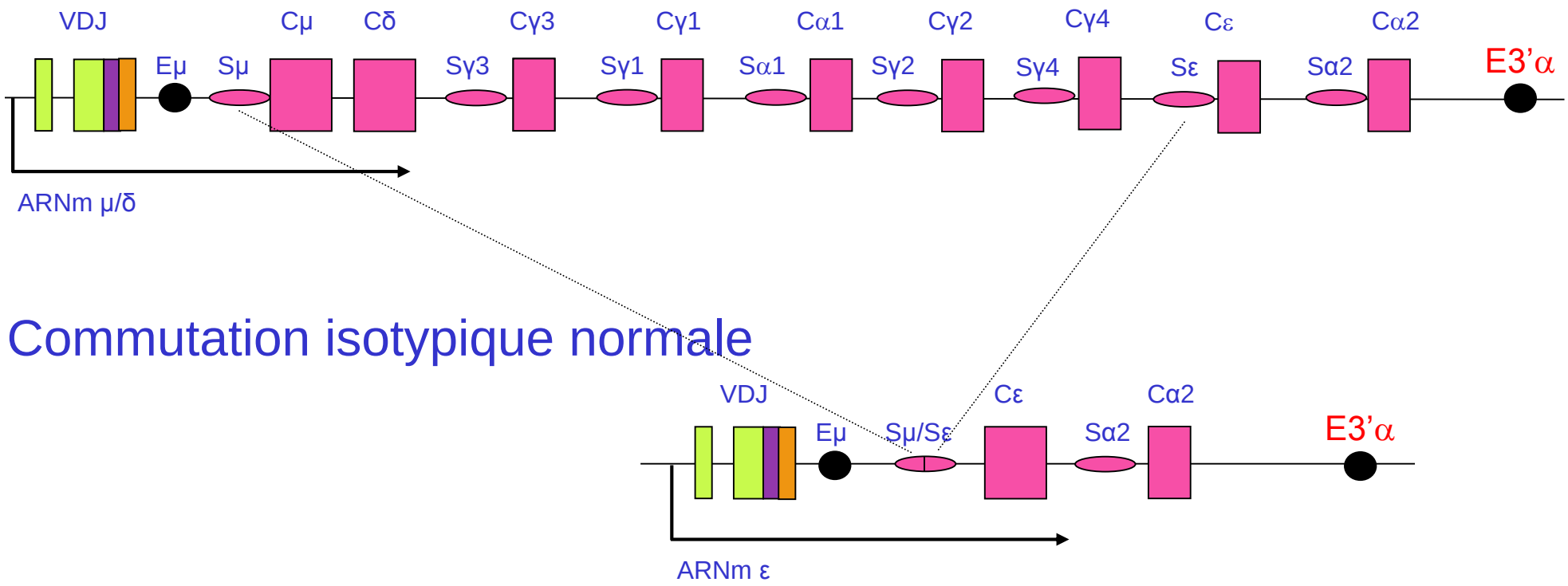
Mécanismes génétiques de la Commutation de classe

- Site de commutation en 5' de chacun des gènes codant pour les Ch. Lourdes sauf delta
- Accolement des sites de commutation
- Excision de l'ADN intermédiaire



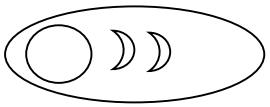
Une même partie variable peut être associée à des gènes constants différents

Anomalies de la commutation de classe: Translocation



Commutation isotypique normale

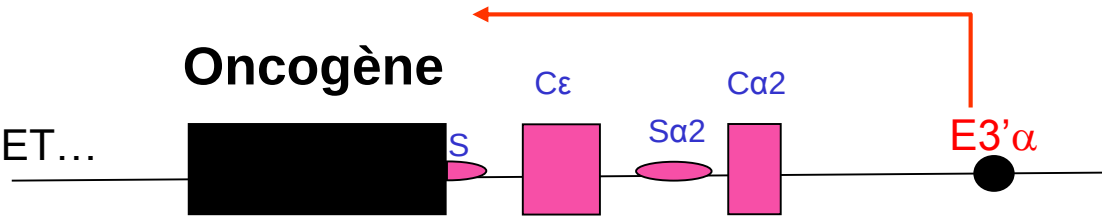
Myélome: translocation IgH (50%)



Plasmocyte

t(11;14): cycline D1

t(4;14): FGFR3, MMSET…



Clone et clonalité d'une population lymphoïde

Définition d'un clone:

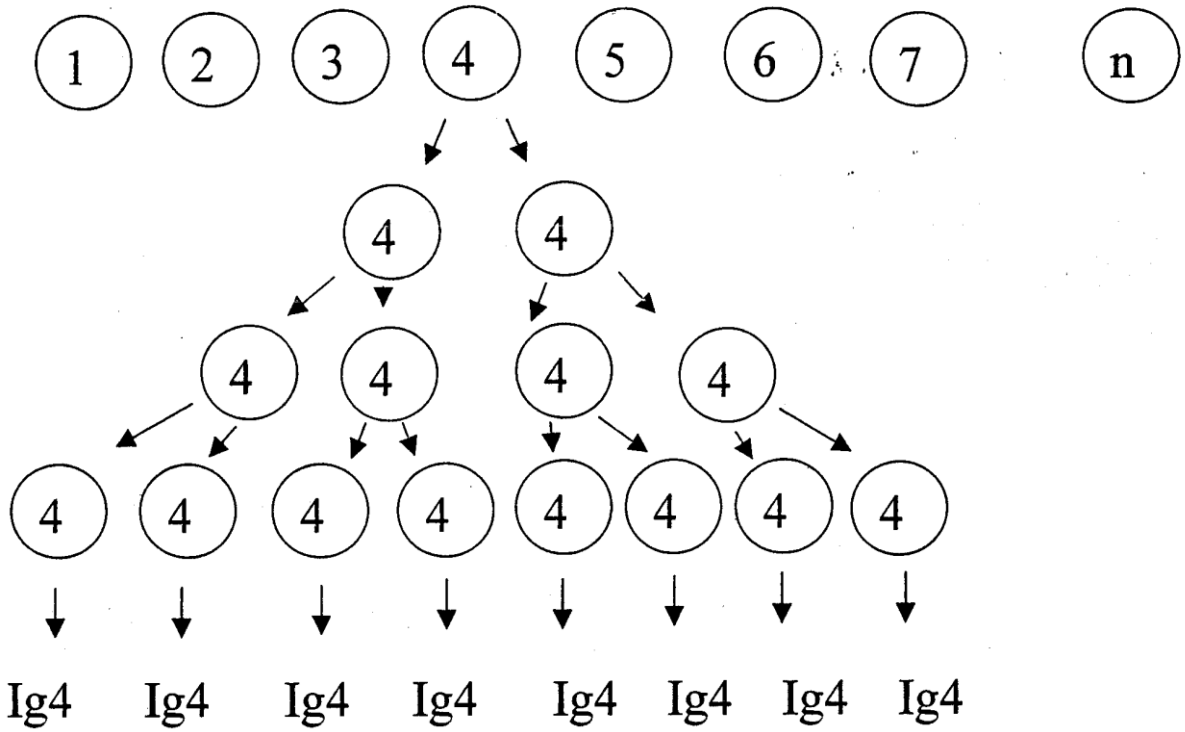
Ensemble de cellules dérivées par division d'une même cellule initiale

Pour les lymphocytes B et T:

- Prolifération cellulaire monoclonale: population cellulaire homogène exprimant le même récepteur pour l'antigène.

- Proliférations malignes sont souvent monoclonales mais monoclonalité ne signifie pas malignité

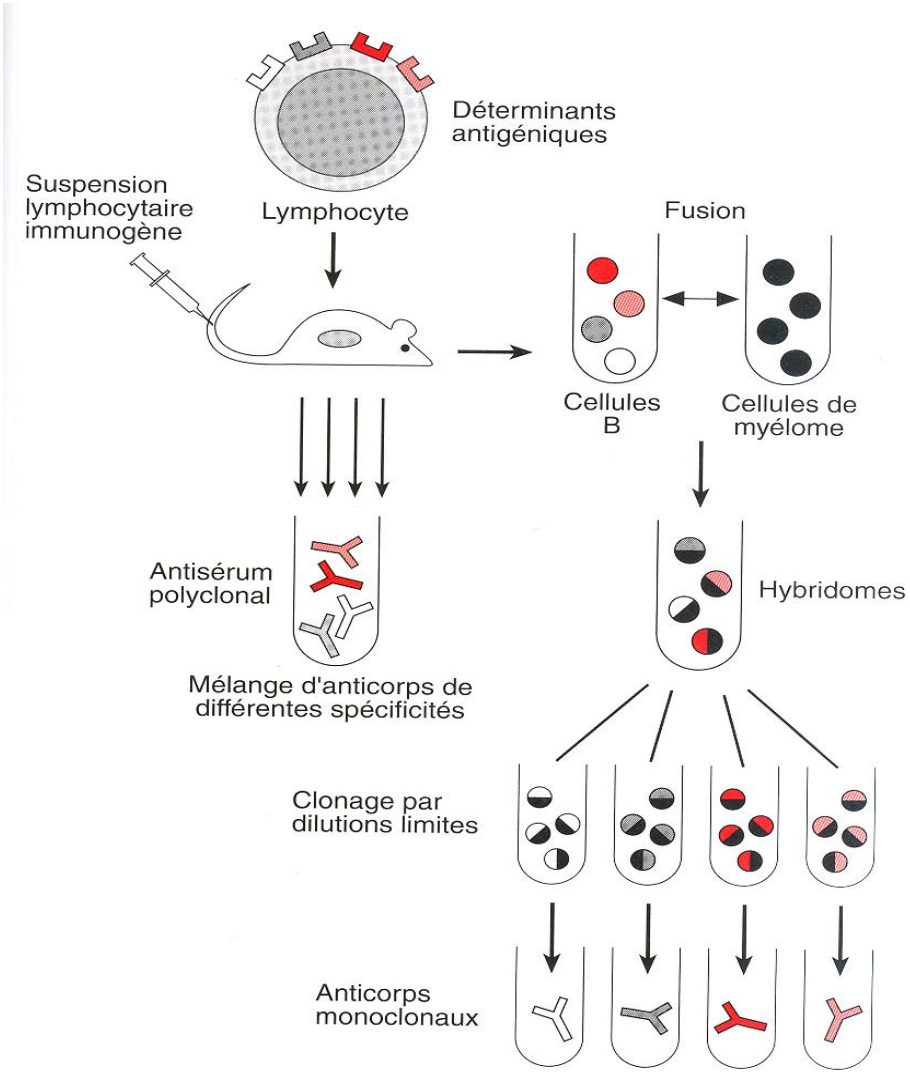
Prolifération B clonale produisant une Ig



Immunoglobulines monoclonales strictement identiques entre elles puisque produites par des cellules dérivées d'un même clone initial et donc génétiquement identiques entre elles

- Même charge électrique
- Même migration électrophorétique
- Mêmes déterminants antigéniques
- Même fonction anticorps

Hybridome: Isolement d'un anticorps monoclonal



Anticorps monoclonaux

CD: classe de différenciation ou cluster de différenciation

= ensemble des Anticorps monoclonaux qui reconnaissent une même molécule

Par extension, cette molécule est désignée CD

<u>Applications des anticorps monoclonaux</u>:

- Physiopathologique (immunophénotypage)
- Diagnostic: Groupe sanguin, Phénotypages lymphocytaires

  dg de prolifération malignes…
- Thérapeutique: Anti-TNF, Anti-CD20….

Diagnostic d’une Ig monoclonale dans le sang ou dans les urines

Immunoglobuline (Ig) monoclonale

- Anomalie fréquente

  <50 ans: 2,2%, >80 ans : 7%, jusqu'à 10% à >90 ans

  Prédominance homme>femme

  Plus fréquente chez les sujets de race noire (x2)

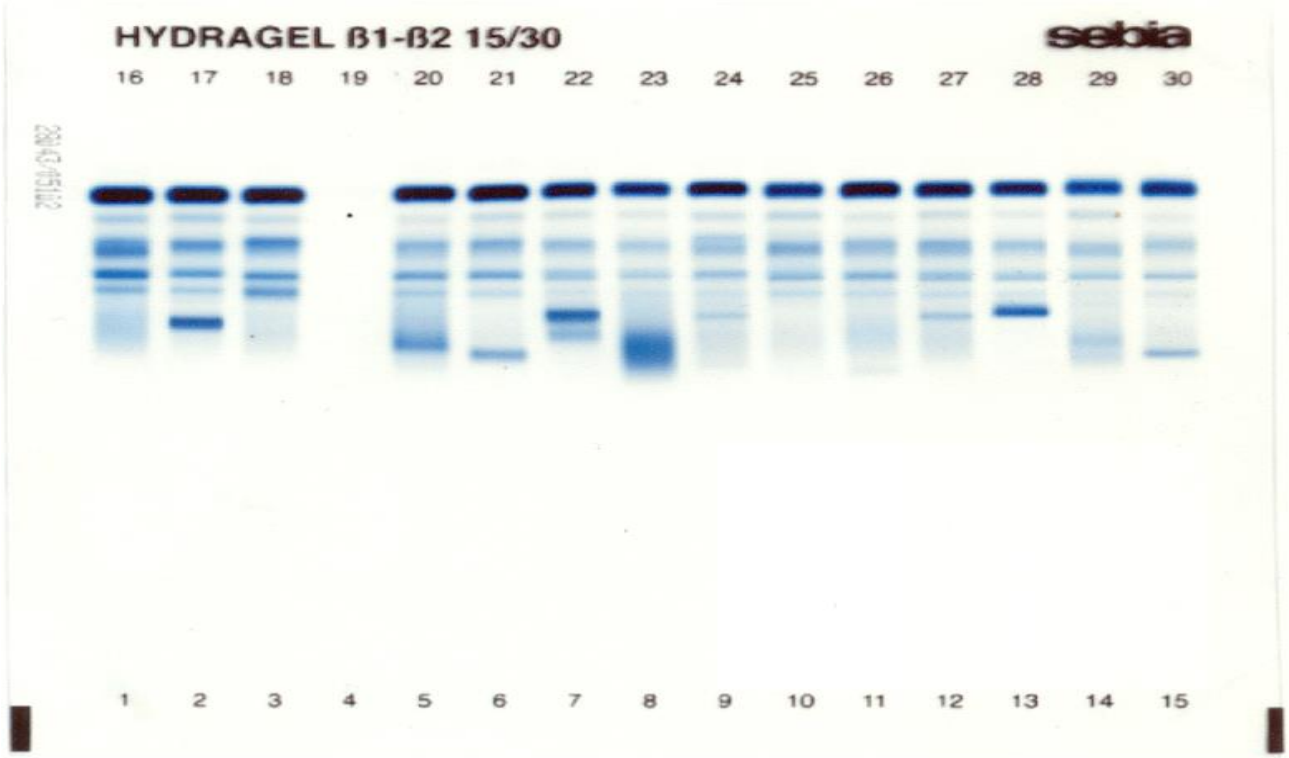
- Circonstances de découverte très variées

  Electrophorèse des protides systématique

  Augmentation de la vitesse de sédimentation

  Anémie

Dépistage d'une Ig monoclonale= Electrophorèse



- Recherche d'une bande étroite

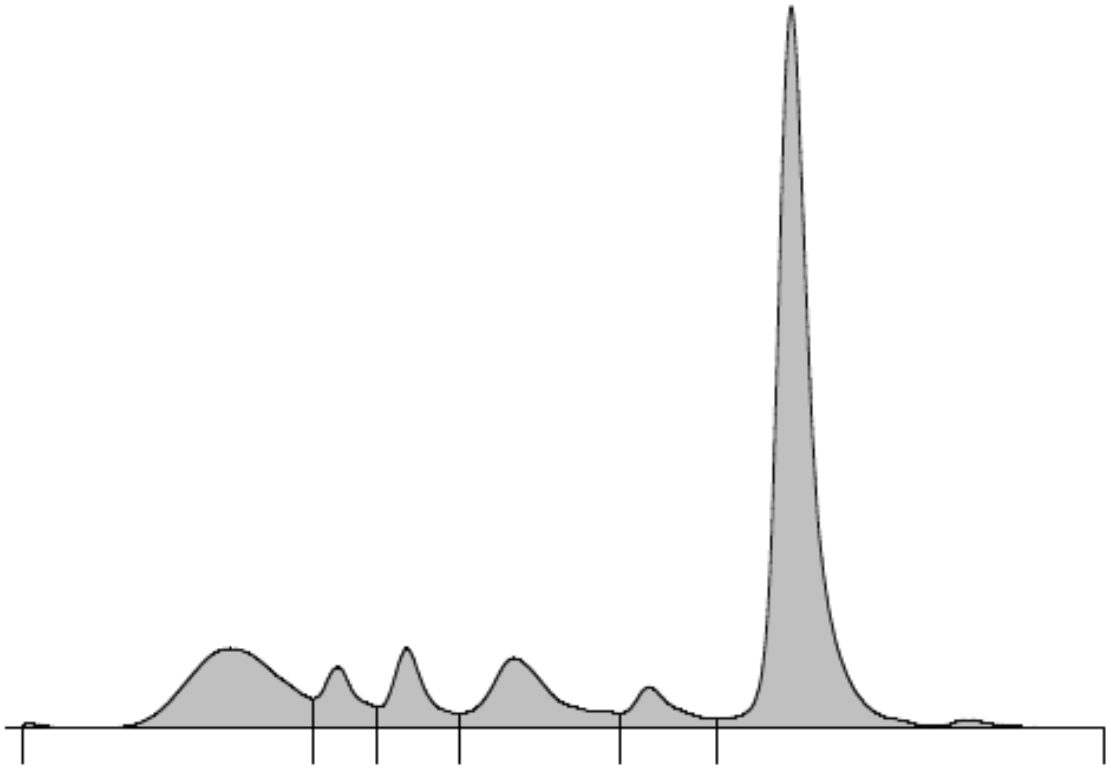
-Hypogammaglobulinémie

Dépistage d'une Ig monoclonale= Electrophorèse

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys SEBIA)

Nom	g/l	Normales g/l
PSHEMAlbumine	42,7	37,5 - 45,1
Alpha 1	3,1	2,5 - 3,9
Alpha 2	7,8	5,4 - 9,1
Beta 1	4,6	3,4 - 5,6
Beta 2	3,7	2,1 - 5,0
Gamma	12,7	6,8 - 14,9



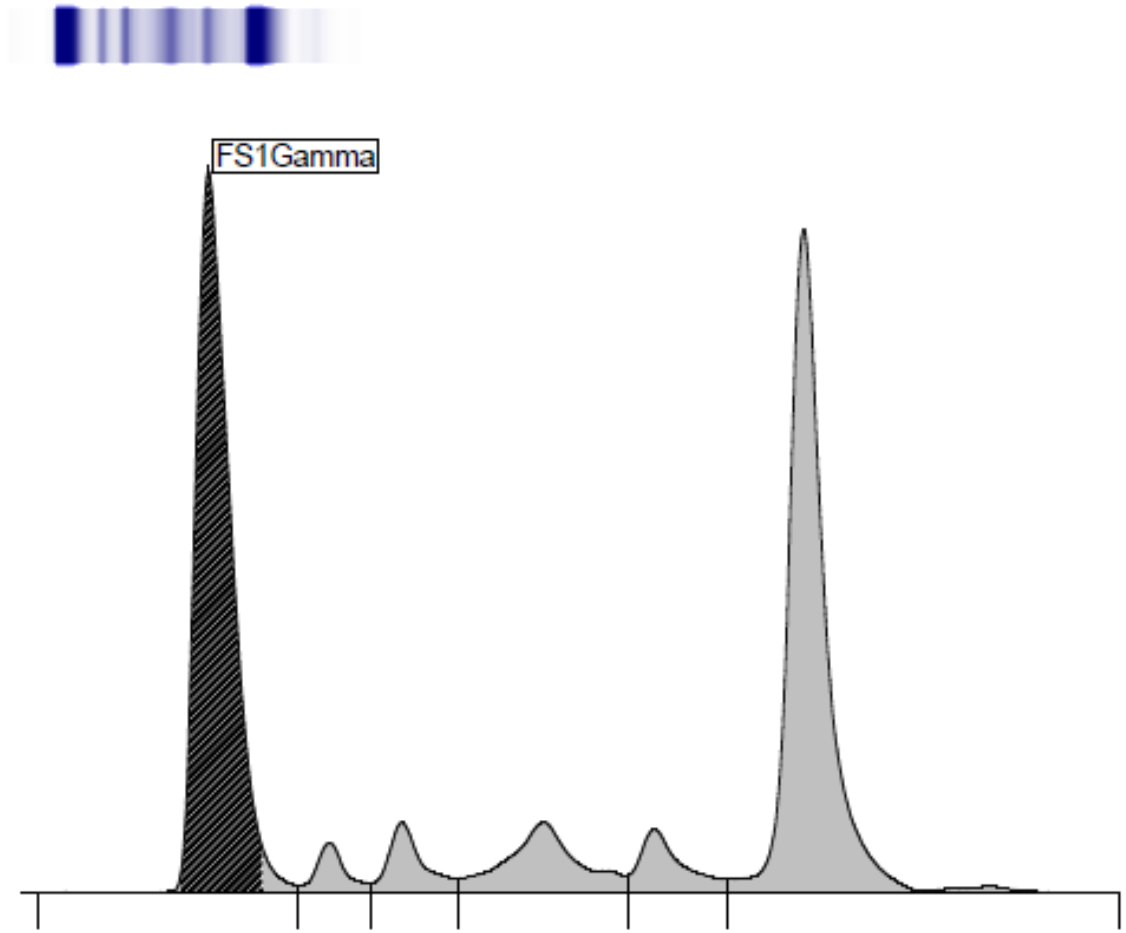
Dépistage d'une Ig monoclonale= Electrophorèse

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys SEBIA)

Nom	g/l		Normales g/l
Albumine	**40,4**		37,5 - 45,1
Alpha 1	**4,6**	*	2,5 - 3,9
Alpha 2	**8,2**		5,4 - 9,1
Beta 1	**4,0**		3,4 - 5,6
Beta 2	**2,4**		2,1 - 5,0
Gamma	**41,9**	*	6,8 - 14,9

PICS	%	g/l
FS1Gamma	40,4	41,0



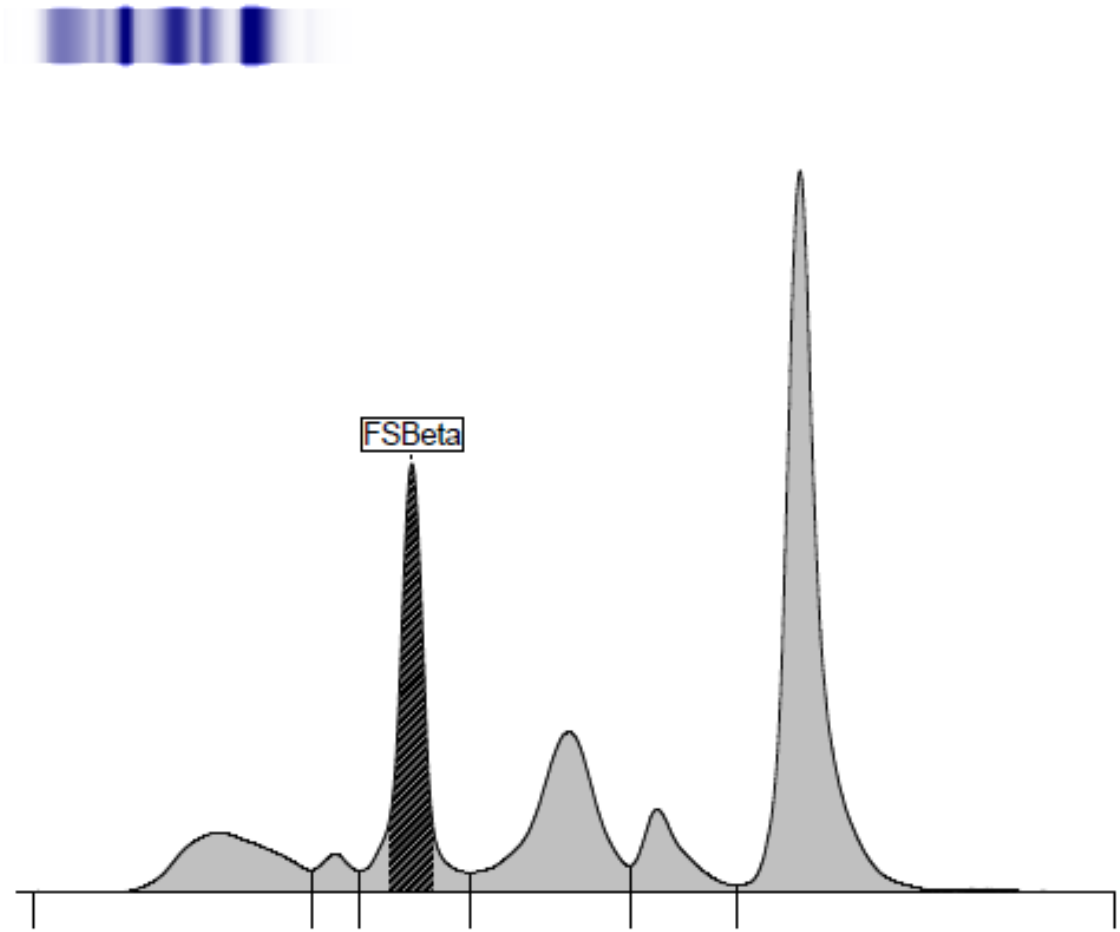
Dépistage d'une Ig monoclonale= Electrophorèse

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys SEBIA)

Nom	g/l		Normales g/l
Albumine	**32,3**	*	37,5 - 45,1
Alpha 1	**4,7**	*	2,5 - 3,9
Alpha 2	**13,6**	*	5,4 - 9,1
Beta 1	**15,2**	*	3,4 - 5,6
Beta 2	**1,6**	*	2,1 - 5,0
Gamma	**7,7**		6,8 - 14,9

PICS	%	g/l
FSBeta	17,4	13,1

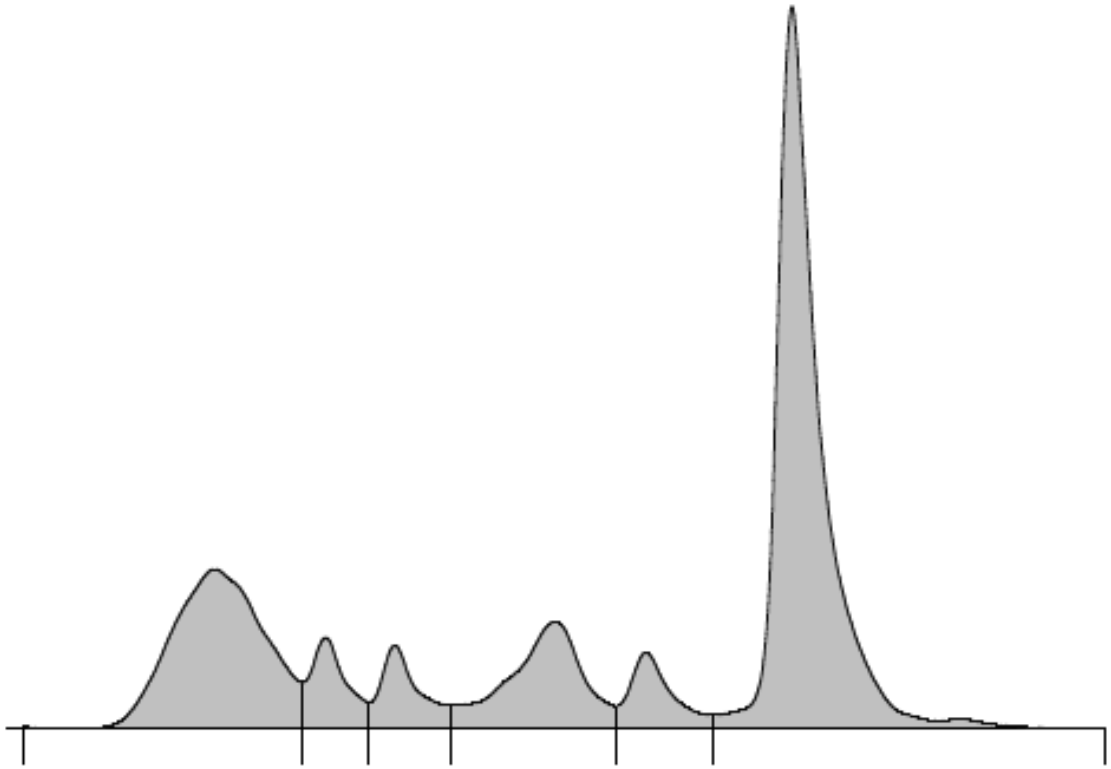


Dépistage d'une Ig monoclonale= Electrophorèse

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys SEBIA)

Nom	g/l		Normales g/l
Albumine	**38,0**		37,5 - 45,1
Alpha 1	**3,9**		2,5 - 3,9
Alpha 2	**9,3**	*	5,4 - 9,1
Beta 1	**3,9**		3,4 - 5,6
Beta 2	**3,9**		2,1 - 5,0
Gamma	**18,1**	*	6,8 - 14,9



≠ : Aspect polyclonal

Ig monoclonale: démarche diagnostique

Existe-t-il une prolifération lymphocytaire et/ou plasmocytaire avérée?

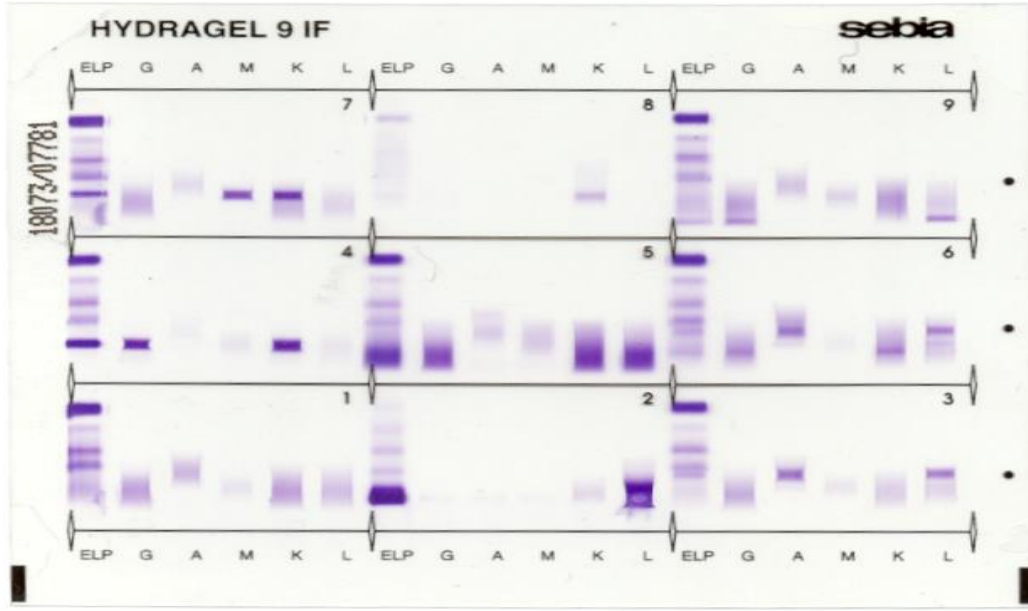
⬆

Caractérisation de l ’Ig monoclonale (étape immunochimique)

⬇

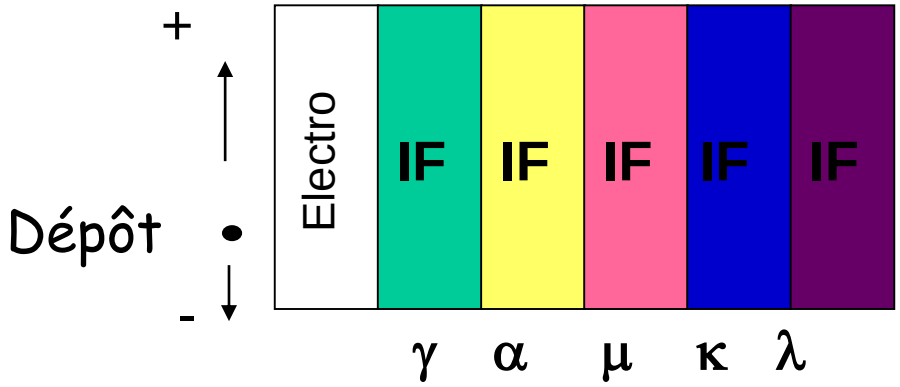
L ’Ig monoclonale est-elle la cause de complications?

Diagnostic d'une Ig monoclonale par immunofixation



Bande étroite:
Homogénéité de
Charge électrique

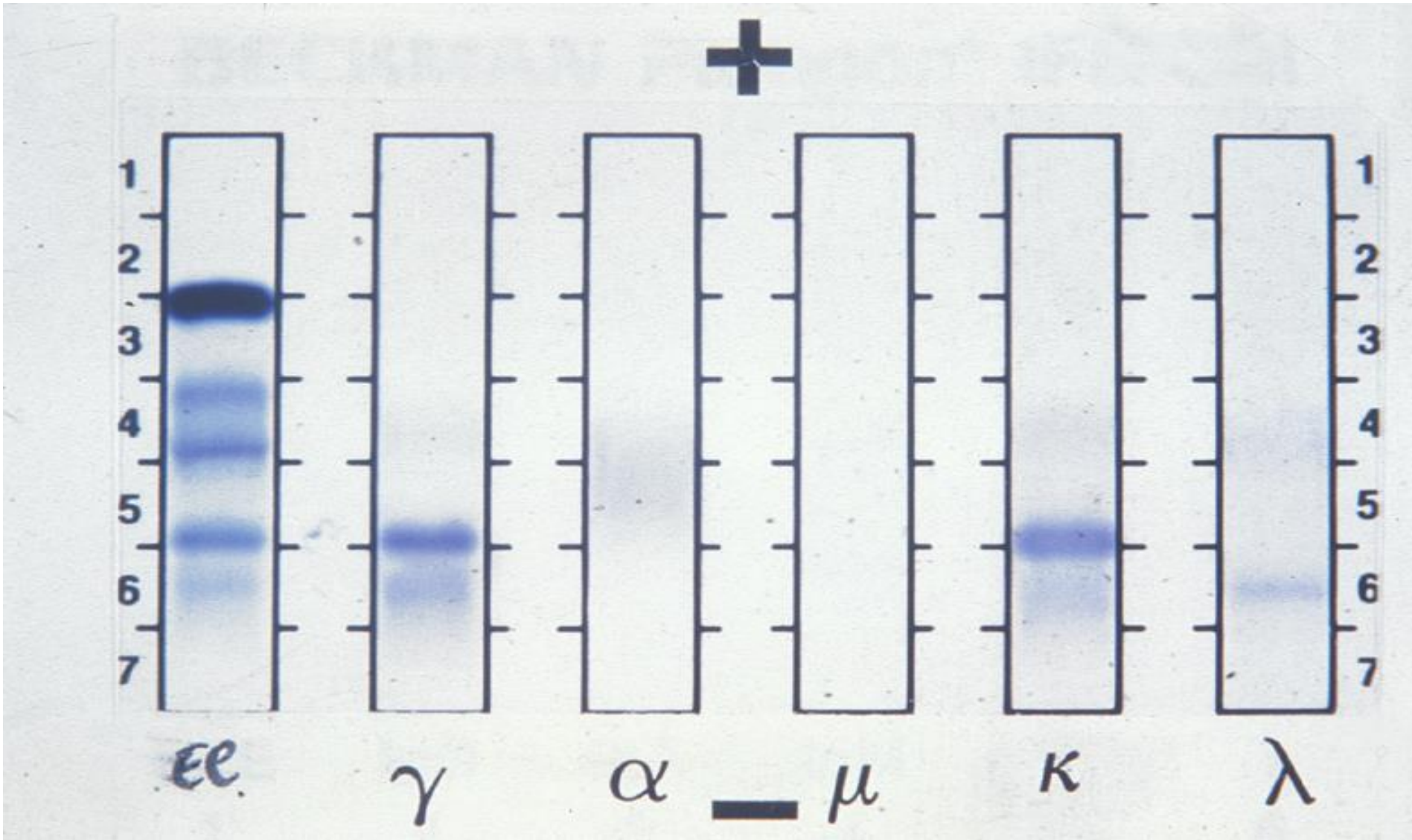
Bande étroite au même niveau de migration avec l'anticorps anti-chaîne lourde et anti-chaîne légère



IF = Electro Puis recouvrement par un anticorps précipitant

Soit: Antiγ,
Antiα,
Anti μ,
Anti κ,
Anti λ

Diagnostic d'une Ig monoclonale par immunofixation



Ig monoclonale: étape immunochimique

1) Electrophorèse des protides sériques

2) Immunofixation du sérum:

isotype de l ’Ig monoclonale

3) Etude des protides urinaires:

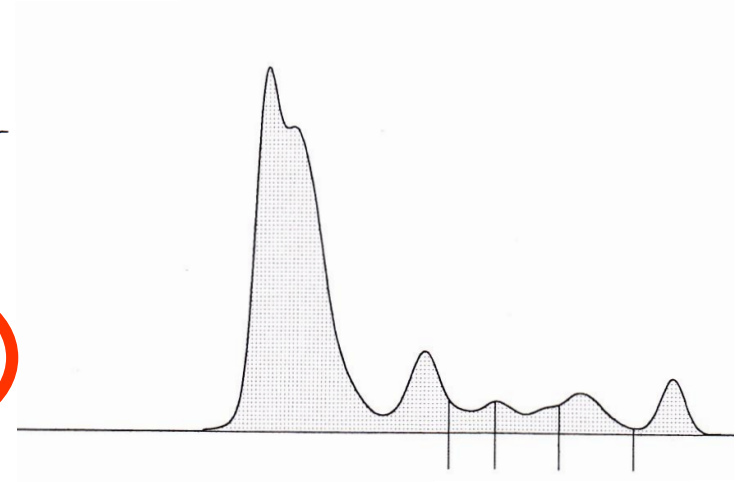
protéinurie, électrophorèse, Immunofixation des urines

Electrophorèse et immunofixation des protides urinaires

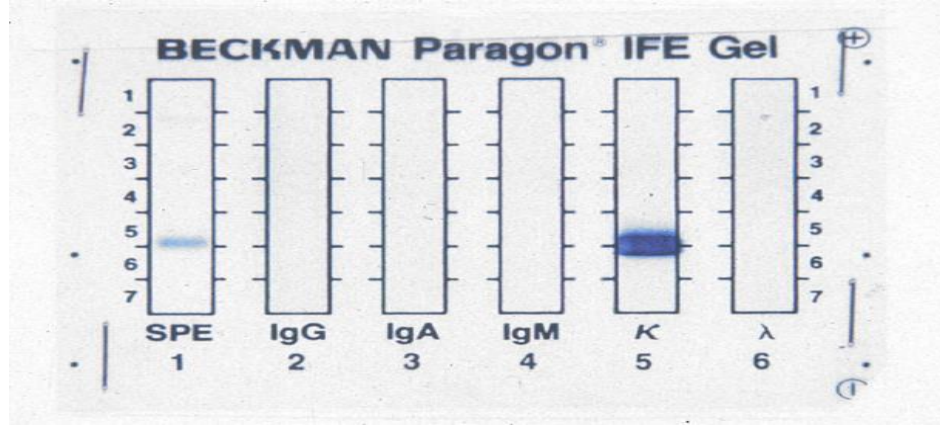
Protéinurie =**1,36** g/l

Prédominance de chaîne légère

Nom	%
albumine	5,0
alpha 1	5,6
alpha 2	4,4
beta	3,3
gamma	81,7



chaîne légère κ



Electrophorèse des protides sériques et Ig monoclonale

- Présence d ’une bande étroite

Evaluation

- du taux de l ’Ig monoclonale
- du taux des Ig polyclonales normales

Examen essentiel pour apprécier l ’évolution

- Absence de bande étroite et hypogammaglobuliémie
  - Immunofixation des protides sanguins,
  - Etude des protides urinaires

Ig monoclonale: démarche diagnostique

Existe-t-il une prolifération lymphocytaire et/ou plasmocytaire avérée?

⬆

Caractérisation de l ’Ig monoclonale (étape immunochimique)

⬇

L ’Ig monoclonale est-elle la cause de complications?

Diagnostic d ’une Ig monoclonale

I. Recherche d ’une prolifération **plasmocytaire** maligne

siège: moelle osseuse

IgG, IgA ou chaîne légère isolée: myélome ou gammapathie monoclonale « bénigne » ?

➡ Myélogramme, hémogramme,
calcémie, créatininémie et Rx du squelette axial

IgM: macroglobulinémie de Waldenström, leucémie lymphoïde chronique, lymphome ou IgM monoclonale « bénigne »?

➡ Myélogramme, hémogramme,
Echographie abdominale, recherche adénopathies

IgG, IgA ou chaîne légère isolée

Ni anémie, ni signes osseux, ni insuffisance rénale, ni hypercalcémie

IgG < 30 g/l, IgA < 20 g/l
Chaîne légère urinaire < 0.5 g/jr

Myélome latent ou Ig monoclonale « bénigne »?

de toutes façons: **surveillance** (Electrophorèse)

Ig monoclonale: démarche diagnostique

Existe-t-il une prolifération lymphocytaire et/ou plasmocytaire avérée?

⬆

Caractérisation de l ’Ig monoclonale (étape immunochimique)

⬇

L ’Ig monoclonale est-elle la cause de complications?

IgG, IgA, IgM ou chaîne légère isolée

II. Recherche de complications liées à l ’Ig monoclonale

- Rénales: précipitation intra-tubulaire de chaînes légères, amylose AL ou maladie des dépôts d ’Ig

- Hyperviscosité: signes neurologiques, hémodilution (Fond d’œil) => plasmaphérèse
- syndrome hémorragique: (fonctions plaquettaires, facteurs coagulation)

- Capacité de précipiter à froid (<37°C): cryoglobuline

  Signes cutanés et vasomoteurs (vascularite), atteinte rénale, neurologique

- Activité auto-anticorps
  - Facteur rhumatoïde (IgM anti-IgG)
  - Anti-Myeline (MAG), anti-facteur VIII, Maladie des agglutinines froides (anti-I)

DIAGNOSTICS ETIOLOGIQUES

Immunoglobuline monoclonale « bénigne » MGUS (« monoclonal gammapathy of uncertain significance »)	64%
Myélome multiple (IgG, IgA, chaînes légères)	14%
Amylose primitive	8%
Lymphome B	5,8%
Leucémie Lymphoïde Chronique	2,5%
Macroglobulinémie de Waldenström (IgM)	2,4%
Autres (plasmocytome solitaire, maladie des chaînes lourdes…)	3,1%

Clonalité d'une prolifération B sans sécrétion d' Ig monoclonale

Analyse de l'Ig membranaire

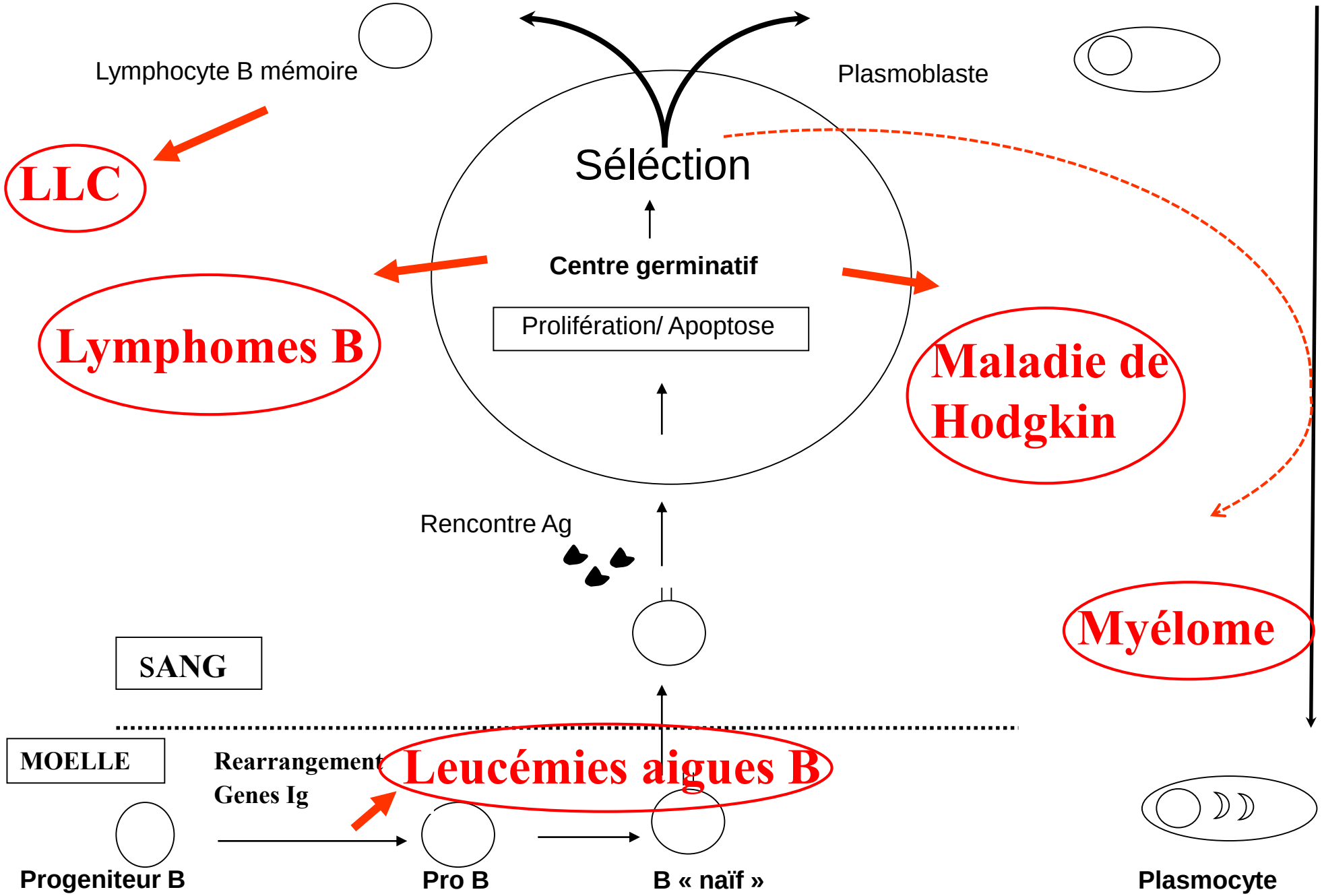
- Recherche isotypie (même chaîne légère et chaîne lourde) par phénotypage: ➔**ne signifie pas monoclonalité**

Etude des réarrangements des gènes récepteur B

- PCR sur région hypervariables IgH (ADN):

homogénéité de séquence (ou de longueur) du CDR3

➔ **preuve de monoclonalité** et non pas de malignité

Etude de transcrits de fusion IgH/oncogène lors des translocations (ARN➔ RT-PCR)

Syndromes Lymphoprolifératifs B