

Les lymphocytes $T_{\gamma\delta}$

Dr. Isabelle CREMER
MCU Université Paris 6
U872 INSERM, équipe 13: Microenvironnement immunitaire et Tumeurs
Centre de Recherche des Cordeliers. Paris 6ème
Tél: 01 53 10 04 10
E-mail: isabelle.cremer@upmc.fr

Mars 2007

Plan du cours

- 1) Découverte et caractéristiques des lymphocytes $T_{\gamma\delta}$
- 2) Développement des $T_{\gamma\delta}$
- 3) Modalités de reconnaissance et fonctions des $T_{\gamma\delta}$:
 - immunosurveillance
 - immunorégulation

Découverte et Caractéristiques

Découverte des lymphocytes T $\gamma\delta$

1984: γ chain cDNA

Saito *et al*

1985: γ chain genes

Hayday *et al*

1986: non- $\alpha\beta$ T cells

Brenner *et al*

1987: $\gamma\delta$ cells

Brenner *et al.*

Borst *et al.*

Treiber *et al*

1987: δ chain cDNA

Chien and Davis;

Krangel and Brenner

Propriétés des $T_{\gamma\delta}$

- 1) Expression d'un récepteur unique (TCR), conservé
- 2) Distribution anatomique particulière
- 3) Caractéristique phénotypique particulière
- 4) Voie de différenciation distincte (développement)
- 5) Spécificité antigénique unique
- 6) Large spectre d'interactions cellules-cellules
- 7) Capacité unique de protéger l'hôte contre certains pathogènes particuliers

Lymphocytes $T_{\gamma\delta}$ sont des cellules de l'immunité innée

Généralités sur les $T_{\gamma\delta}$

- Représentent une petite fraction des lymphocytes T dans les organes lymphoïdes et le sang (1-5% des LT) chez l'homme et la souris
- Sont plus représentés dans le sang des patients pendant une infection bactérienne ou virale (peuvent représenter jusqu'à 50% des cellules T)
- Reconnaissent les antigènes d'une façon différente des $T_{\alpha\beta}$ « conventionnelles »:
 - ne reconnaissent pas des antigènes « processés »
 - reconnaissance de l'antigène ne nécessite pas la formation de complexes peptide-CMH

Caractéristiques des $LT_{\gamma\delta}$, en comparaison des $LT_{\alpha\beta}$ ou LB

Table 1 $\gamma\delta$ T cells can be distinguished from other lymphocyte lineages			
Characteristic	$\alpha\beta$ T cells	$\gamma\delta$ T cells	B cells
Antigen-receptor configuration	CD3 complex + $\alpha\beta$ TCR	CD3 complex + $\gamma\delta$ TCR	Ig
Theoretical receptor number	$\sim 10^{15}$	$\sim 10^{20}$	$\sim 10^{11}$
Antigen recognition	Peptide + MHC	Protein and non-protein	Protein and non-protein
MHC restriction	Yes	Rare	No
Phenotype	CD4 ⁺ or CD8 ⁺	Most are CD4 ⁻ CD8 ⁻ ; iIELs are CD8($\alpha\alpha$) ⁺	CD19 ⁺ CD20 ⁺
Frequency in blood	65–75%	1–5% (25–60% in gut)	5–10%
Distribution	Blood and lymphoid tissues	Blood, epithelial and lymphoid tissues	Blood and lymphoid tissues
Effector capability	CTLs (CD8 ⁺) Cytokine release (T_H1/T_H2)	CTLs Cytokine release ($T_H1 > T_H2$)	Ig production
Function	Immune protection and pathogen eradication	Immunoregulation and immunosurveillance	Humoural immunity

CTLs, cytotoxic T lymphocytes; iIELs, intestinal intraepithelial T lymphocytes; Ig, immunoglobulin; T_H cell, T helper cell; TCR, T-cell receptor. Data adapted from REFS 64,65.

(Carding S.R. et al. 2002. Nat. Rev. Immunol. 2:336)

Les cellules $\gamma\delta$ sont des lymphocytes T

TCR $\gamma\delta$ +, CD3+, CD4-, CD8-

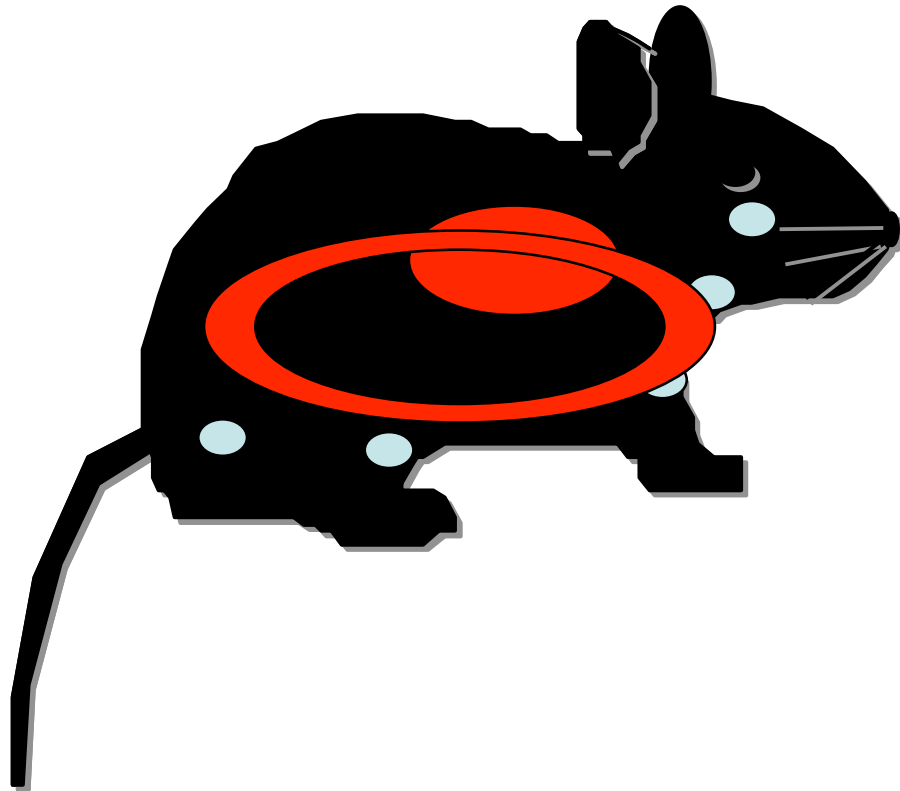
La représentation des cellules T $\gamma\delta$
varie selon les espèces; pourquoi?

% de cellules T $\gamma\delta$ parmi les T	Homme	souris	veau
	0.1-15%	0.5-3%	35-55%
	50% -infection	<10%	>50%

Localisation anatomique

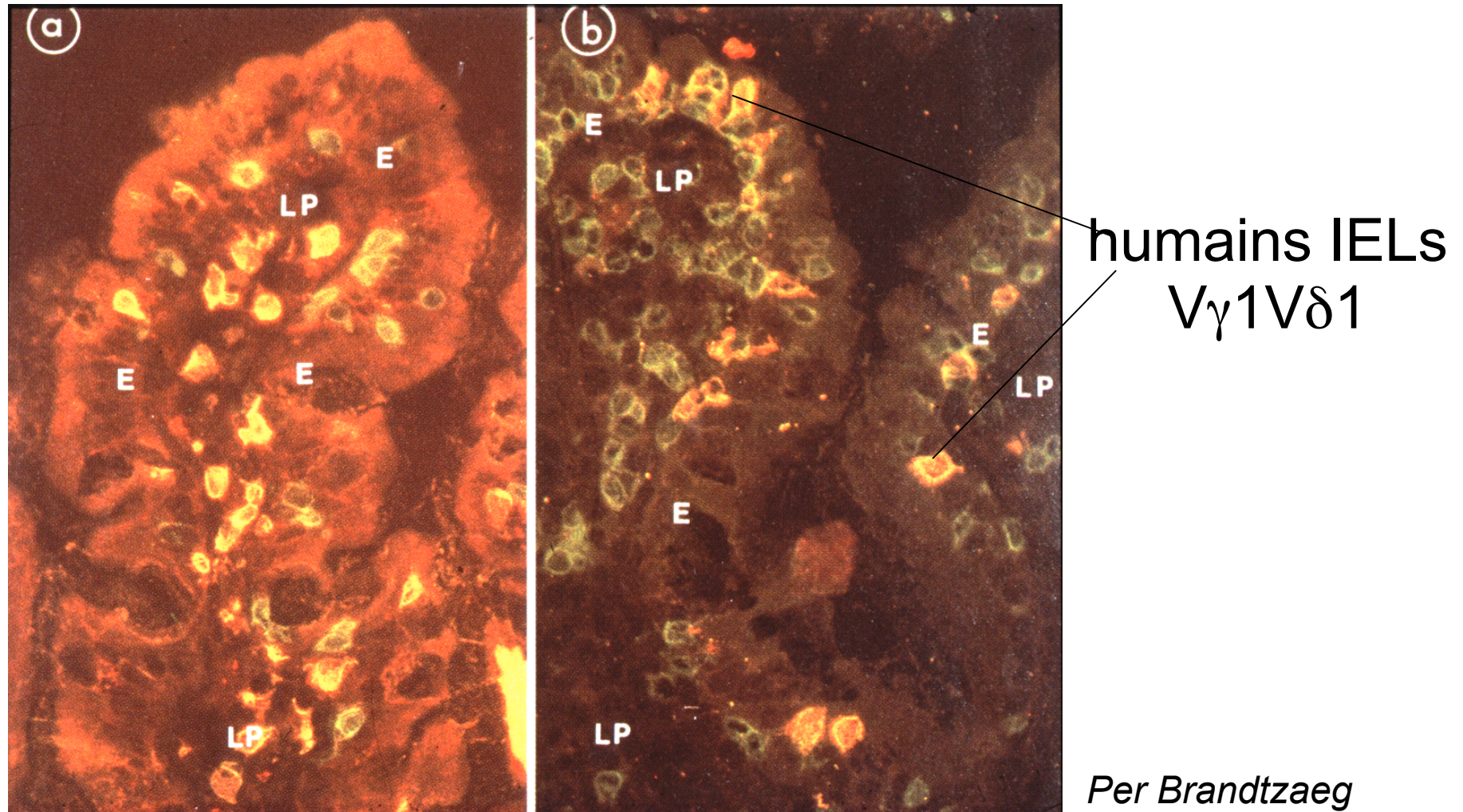
Les cellules $T\gamma\delta$ cells ne recirculent pas comme les autres cellules T "conventionnelles"

Elles ont une localisation constitutive dans les tissus



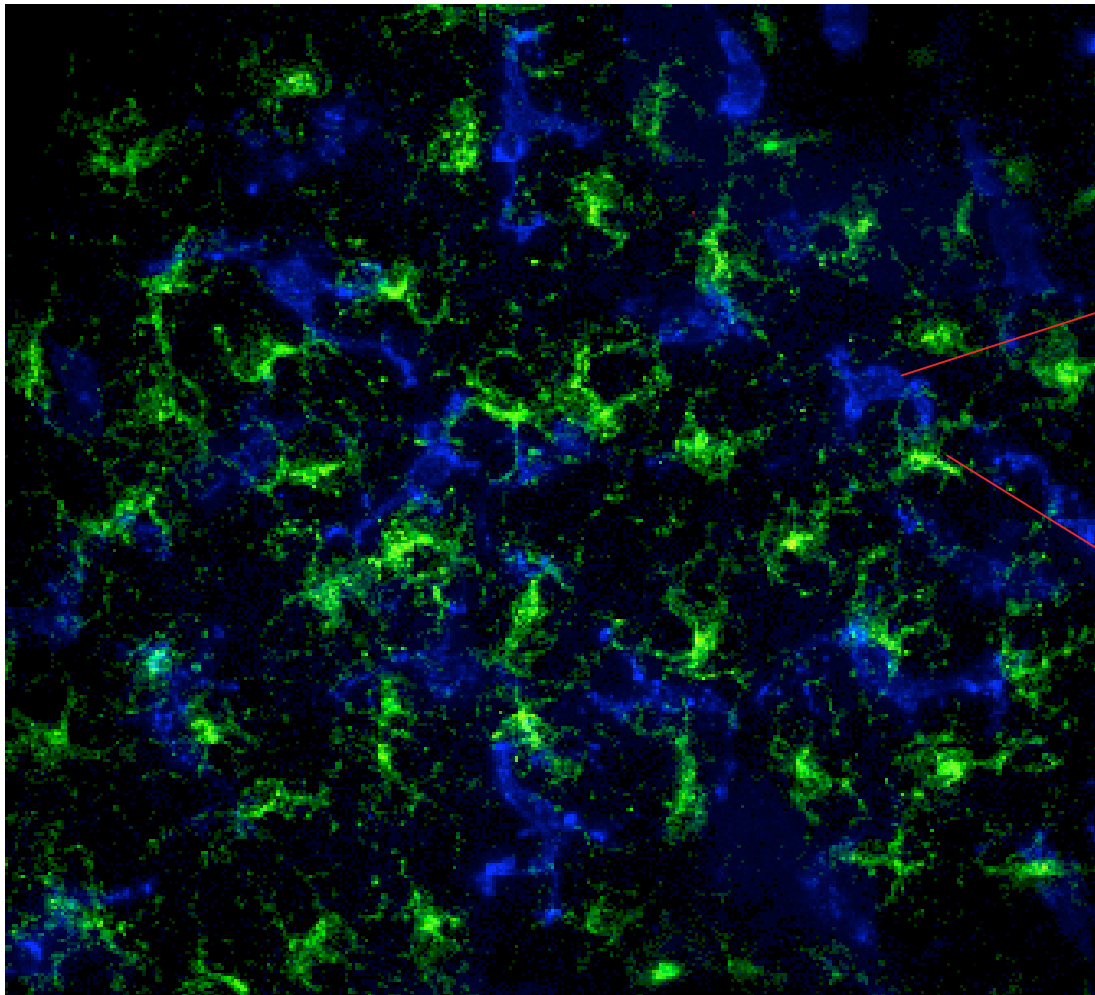
La plupart des cellules $\text{TCR}\gamma\delta^+$ sont constitutivement associées

- aux tissus - Lymphocytes intraépithéliaux (IEL)



Cellules dendritiques épidermiques $T_{\gamma\delta}$ murines (DETC)

peau



Almost monoclonal $V_{\gamma}5V_{\delta}1$
repertoires

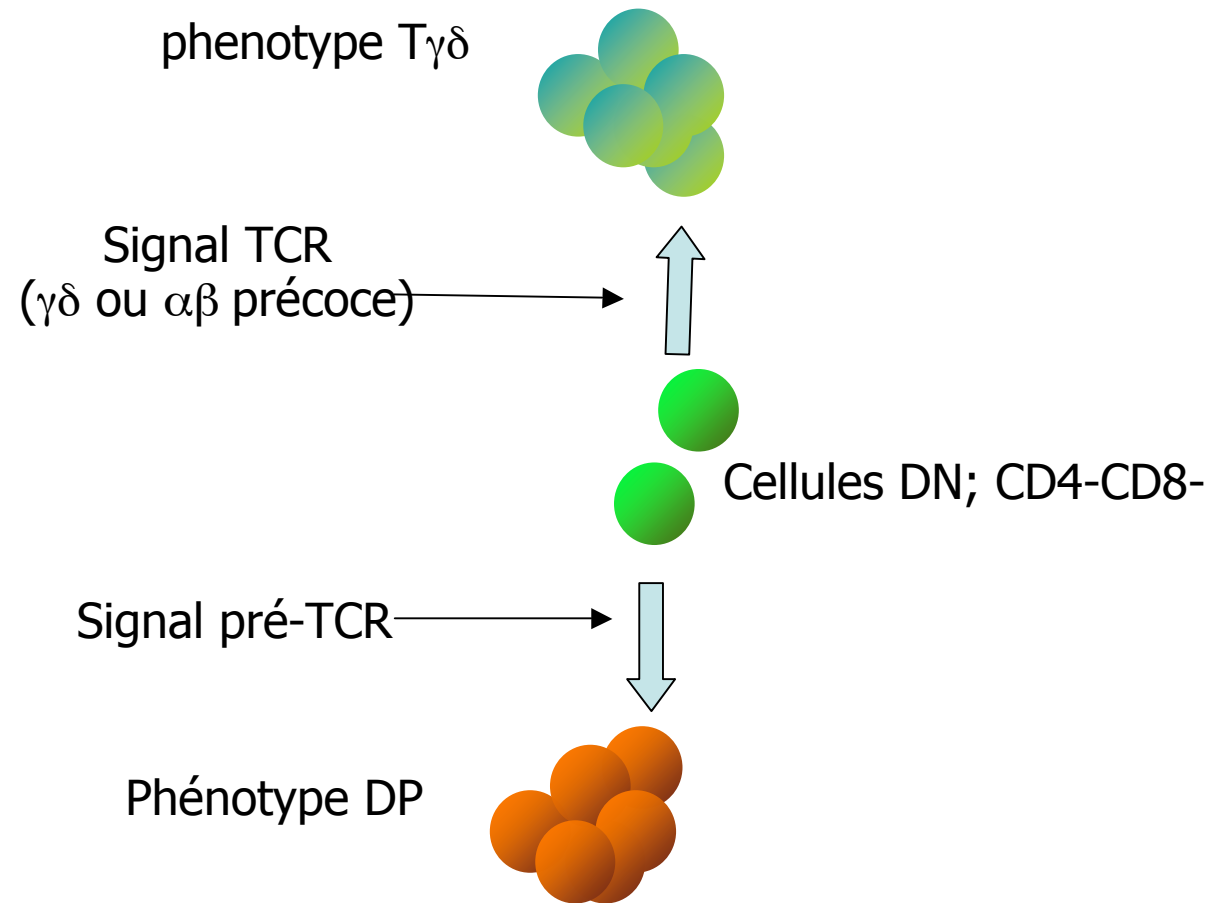
Déectées avec l'anticorps 17D1

Cellules de Langerhans

Jessica Strid

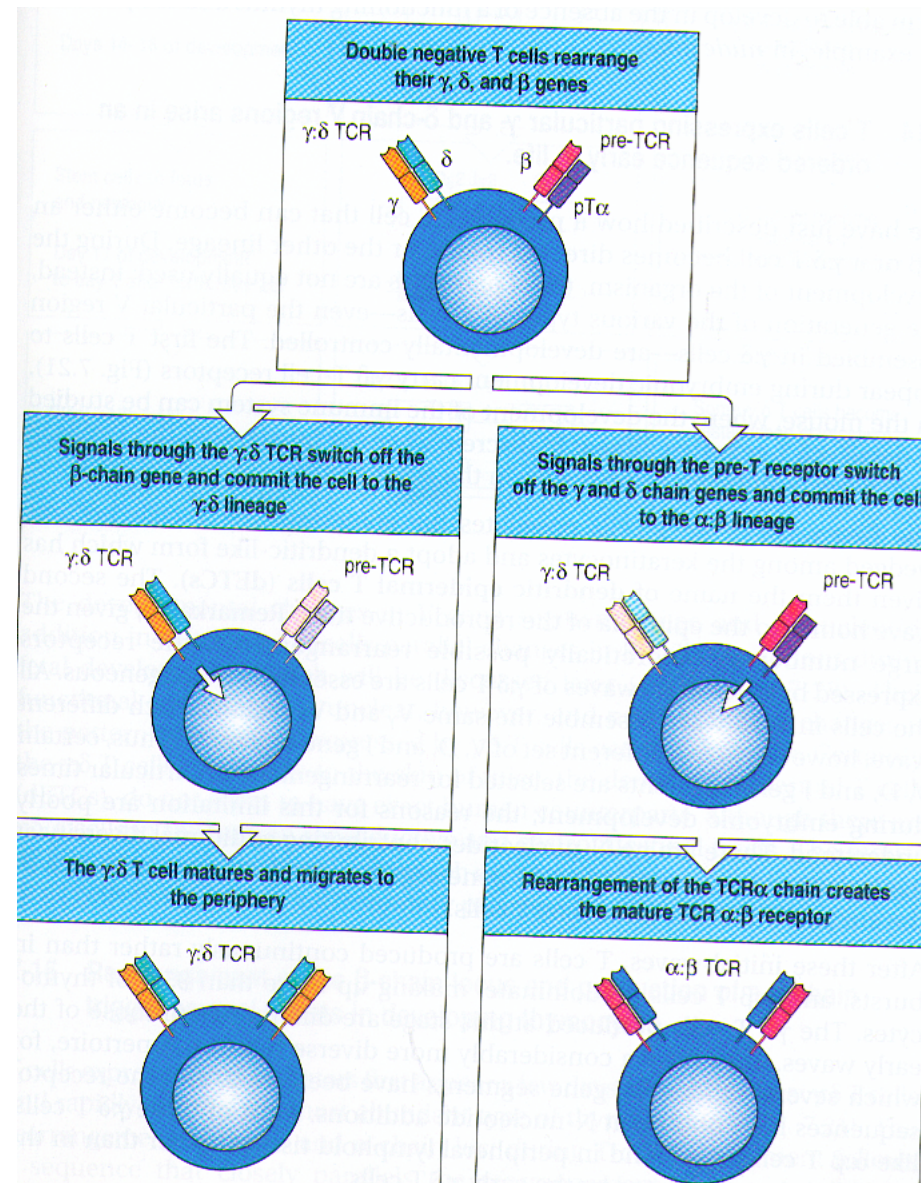
Développement des $LT_{\gamma\delta}$

Développement des lymphocytes $T_{\alpha\beta}$ et $\gamma\delta$ à partir d'un précurseur commun



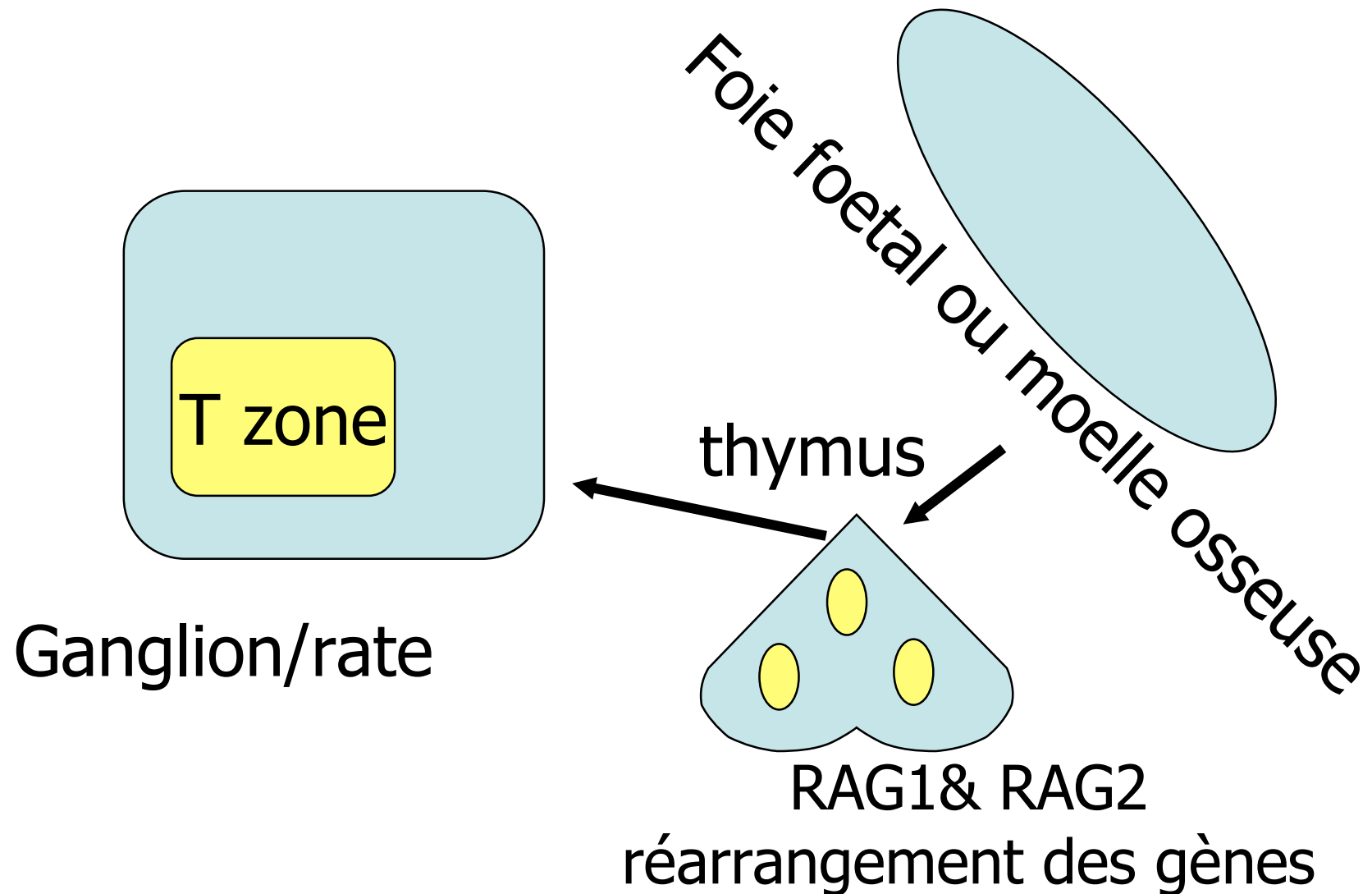
Pré-"commitment"

Compétition entre les signaux reçus par le $\text{TCR}_{\gamma\delta}$ et le pré-TCR, pour déterminer le devenir des LT



(Immunobiology, Janeway)

Stades du développement des cellules T



Développement des lymphocytes $T_{\gamma\delta}$

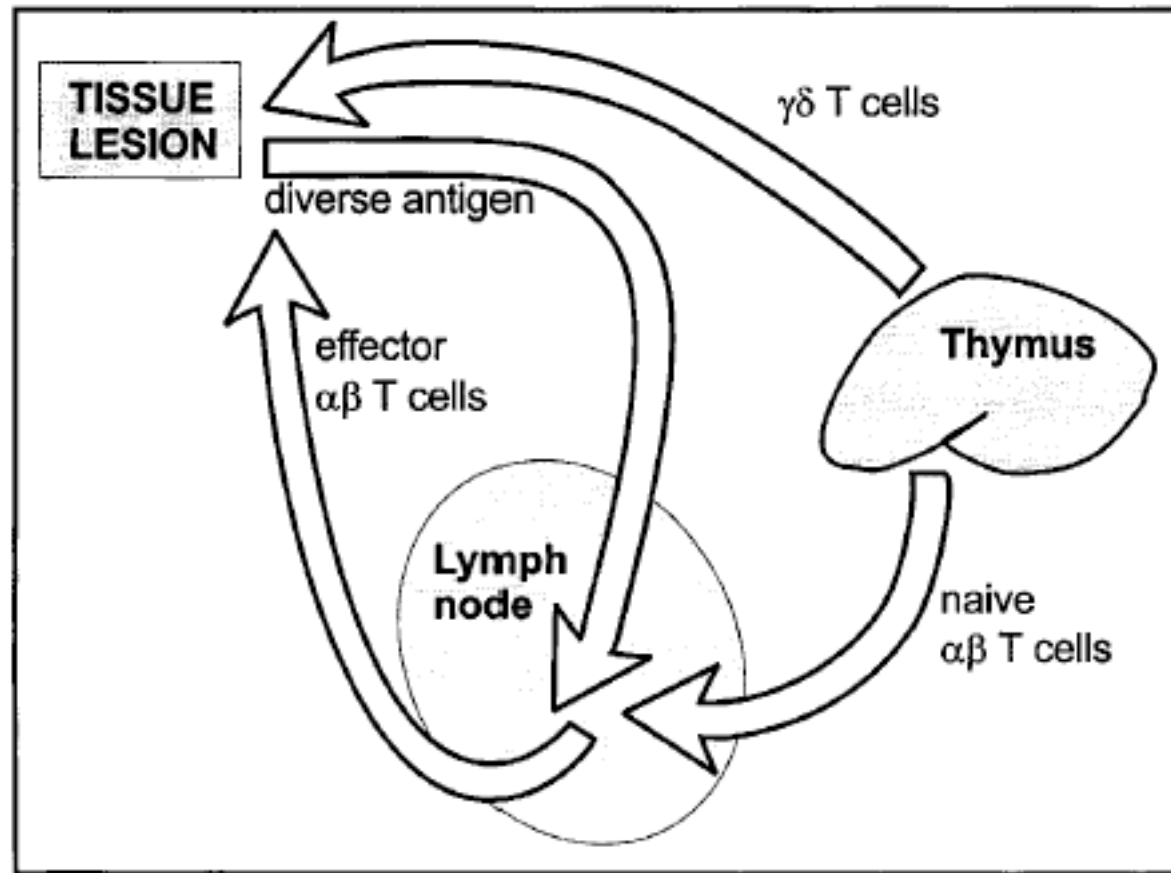
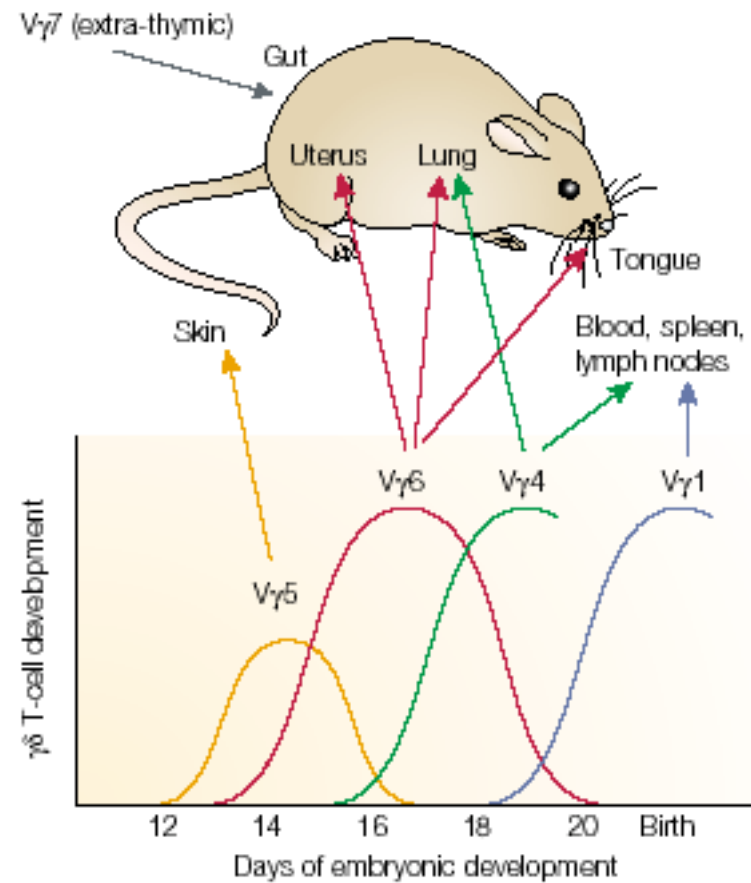


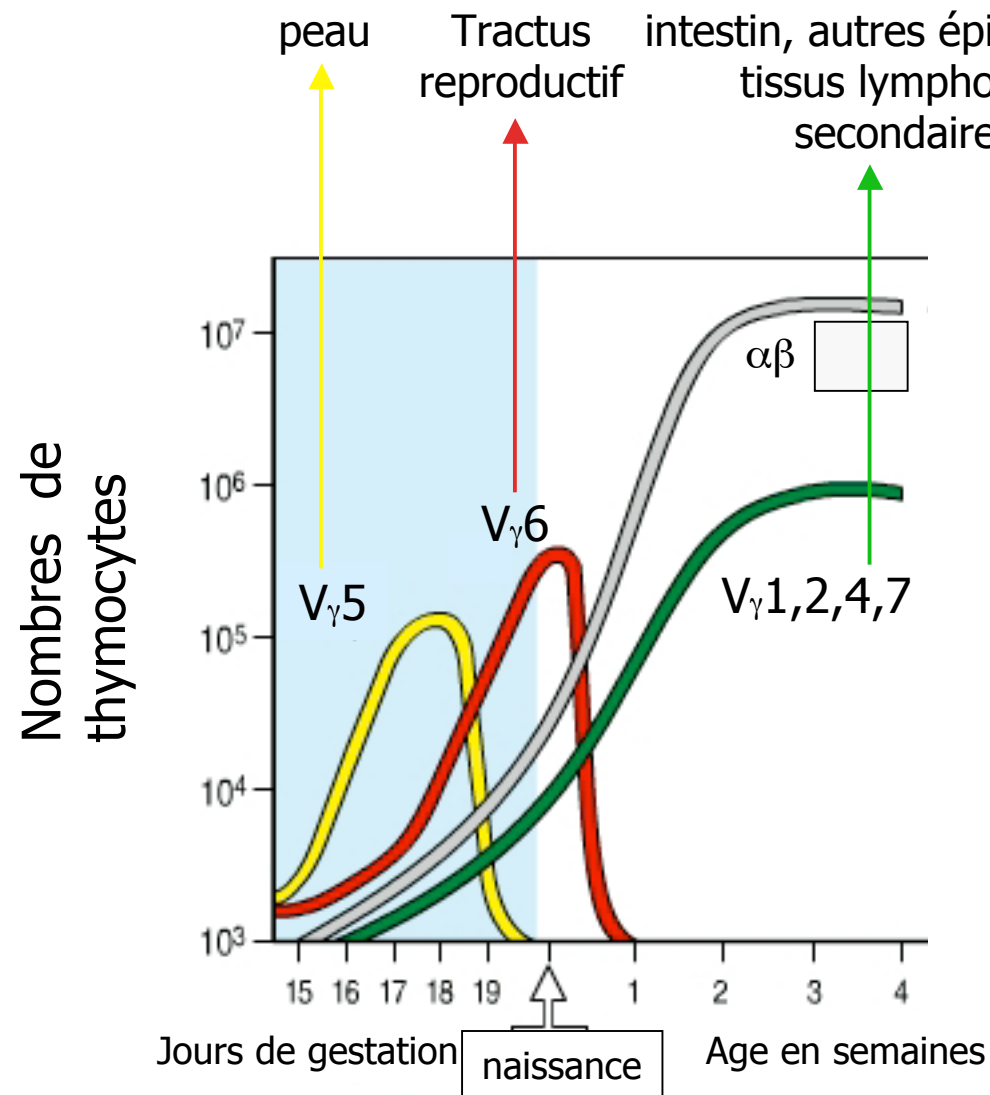
Figure 3 $\gamma\delta$ cells are tissue lymphocytes, posing questions about antigen sampling.

Le développement des $T\gamma\delta$ est séquentiel

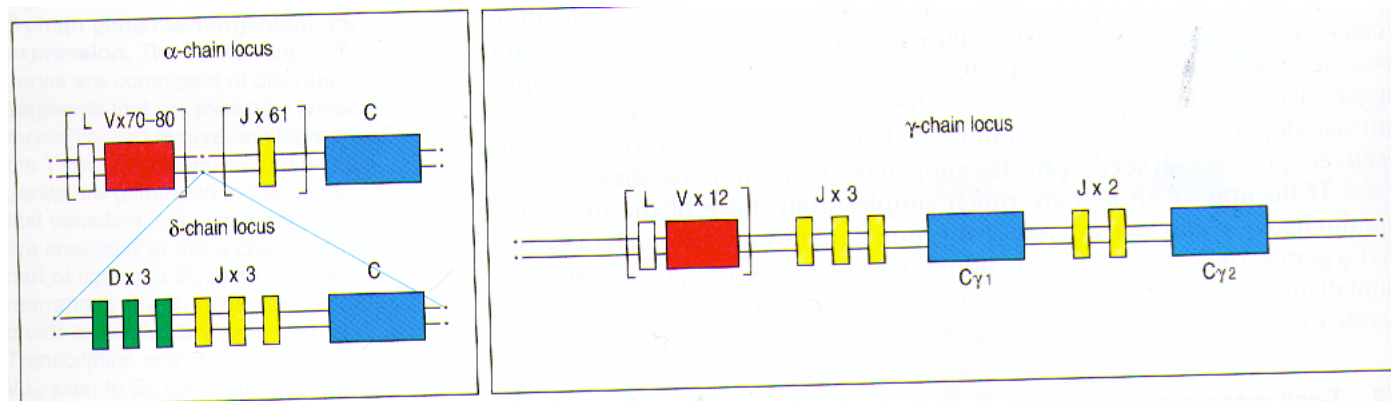


(Carding S.R. et al. 2002. Nat. Rev. Immunol. 2:336)

Séquences de développement des cellules $T_{\gamma\delta}$



Fort potentiel de diversité, mais limité par l'appariement des chaînes et la diversité jonctionnelle, en partie par des réarrangements programmés et favorisés.



(Immunobiology Janeway)

Chez l'homme:

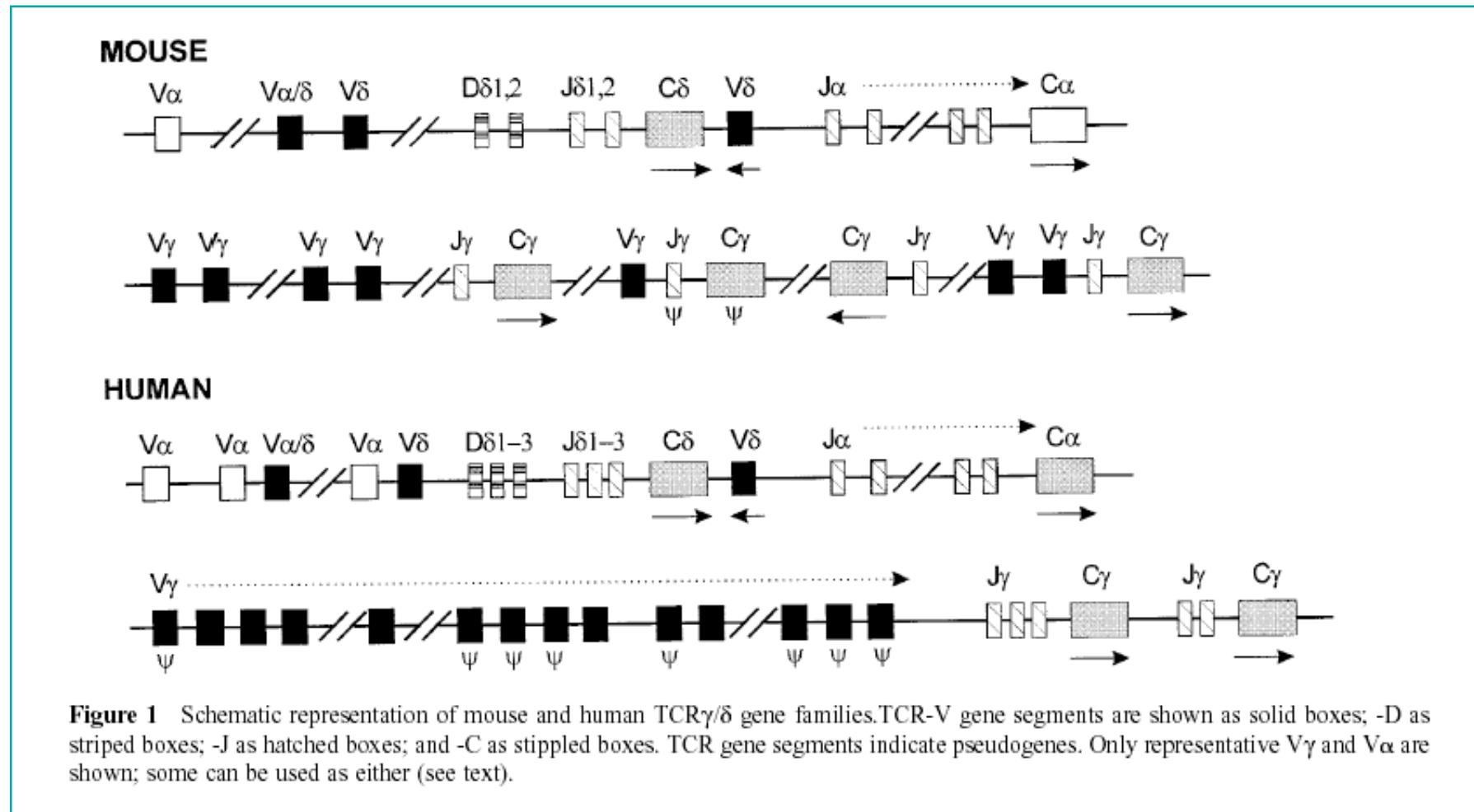
Locus codant la chaîne δ est localisée dans le locus de la chaîne α

3 segments D δ , 3 segments J δ et 1 gène C δ , localisés entre le cluster de segments de gènes V α et le cluster de segments de gènes J α .

Les segments V δ sont entremêlés parmi les segments V α .

Locus codant la chaîne γ ressemble au locus TCR β . 2 gènes C γ

Représentation schématique des gènes du TCR $\gamma\delta$



(Hayday A.C. Annu. Rev. Immunol. 2000. 18: 975)

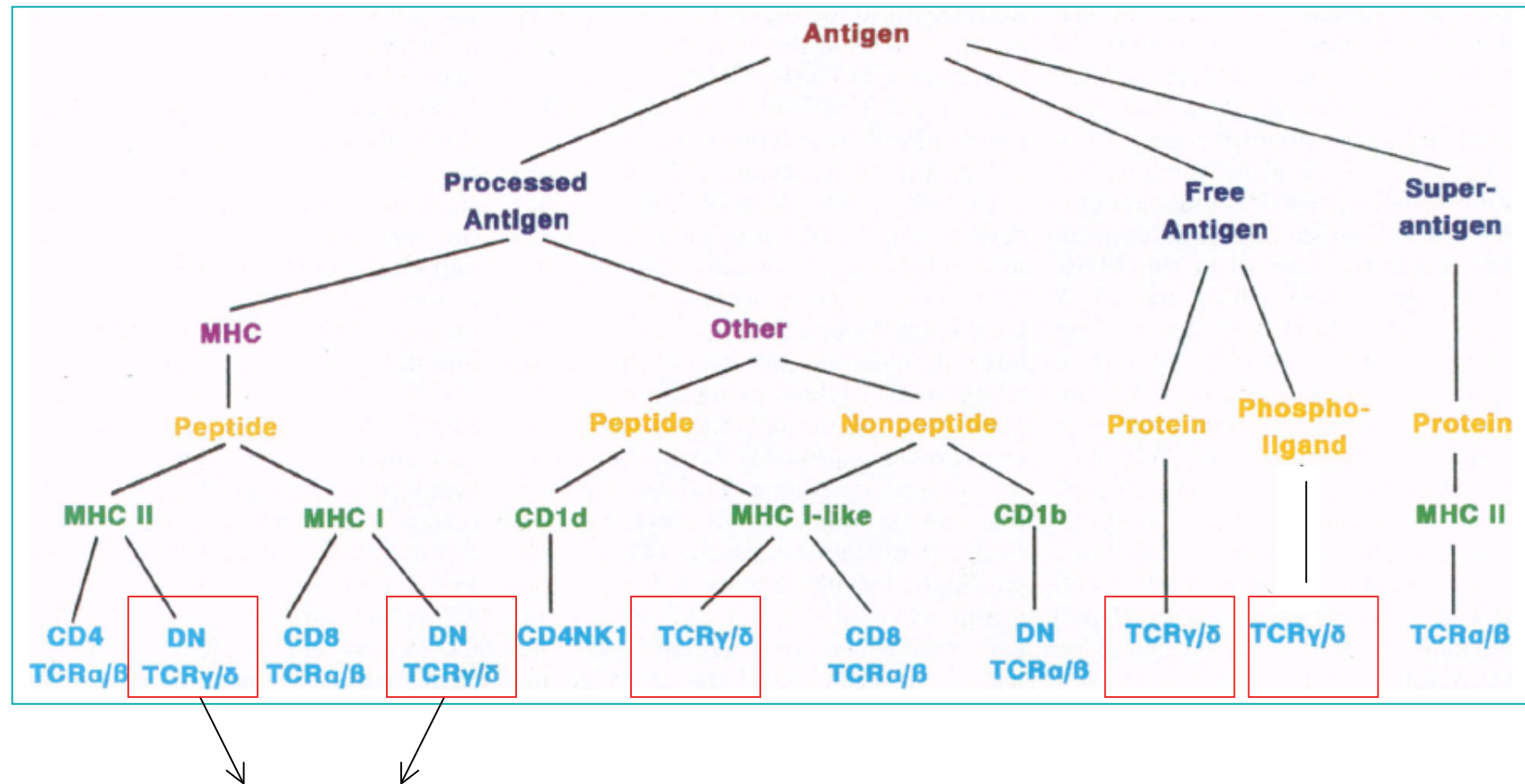
Nombre de segments de gènes V et diversité estimée des récepteurs de lymphocytes chez la souris

	Ig	TCR $\alpha\beta$	TCR $\gamma\delta$
Nombre de segments de gènes V			
	VH: 250-1000 κ Light: 250	Chaîne α : 100 Chaîne β : 25	Chaîne γ : 7 Chaîne δ : 10
Diversité en aa estimée		α	γ
Combinaisons V	10^4 - 10^5	2500	70
Combinaisons CDR3	10^{11}	10^{16}	10^{18}

(d'après Konigshofer Y. et al. 2006. Current Opinion in Immunol. 18:527)

Modalités de reconnaissance et fonctions des cellules $T_{\gamma\delta}$

Modalités de reconnaissance conventionnelle et non conventionnelle par les différentes populations de lymphocytes T



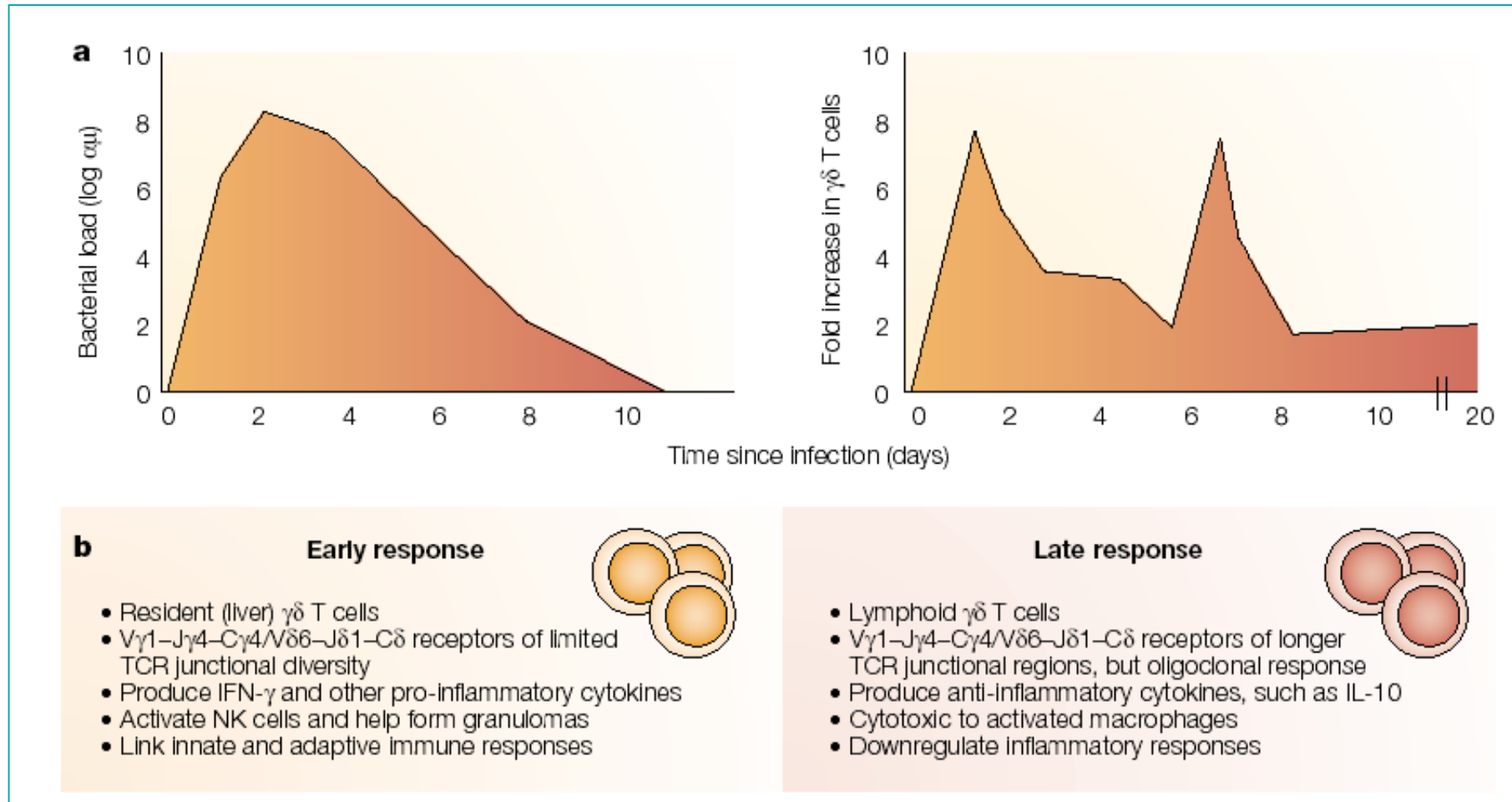
Reconnaissance conventionnelle existe
Décrite dans les années 1990
Mais très peu de T $\gamma\delta$ sont activés selon cette voie

(Kaufmann S.H.E. et al. 1996. PNAS. 93: 2272)

Phénotype des souris déficientes en $T\gamma\delta$

- Contrôle de l'infection primaire déficient. Défaut de protection contre les infections (surtout chez les nouveaux-nés)
- Infections plus virulentes
- Défaut d'immunorégulation
- Développement de maladies inflammatoires
- La génération d'une immunité antigène spécifique en réponse aux virus, bactéries, et parasites peut être plus lente et moins efficace
- Susceptibilité accrue au développement de tumeurs

Les cellules $T\gamma\delta$ contribuent à différents stades des réponses immunes inflammatoires



Pendant le stade d'initiation de la réponse immune, les cellules $T\gamma\delta$ modulent l'immunité innée (NK et macrophages) et adaptative (cellules $T\alpha\beta$), par la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. En phase plus tardive, d'autres cellules $T\gamma\delta$ lysent les macrophages activés et sécrètent des cytokines anti-inflammatoires et immunorégulatrices.

Quels sont les ligands des TCR $\gamma\delta$?

Ligands	Population T $\gamma\delta$
Phosphoantigènes (métabolites des voies de biosynthèse des isoprénoïdes)	V γ 9 δ 2 humaines et $\gamma\delta$ primates
Molécules CMH-classe I « like »	$\gamma\delta$ humains et murins

Phosphoantigènes sont produits par certains agents infectieux (HMBP: « hydroxy-methylbutyl pyrophosphate), d'autres sont endogènes et issus du de la voie de synthèse du mévalonate (IPP: Isopentenyl pyrophosphate)

HMBP>>>IPP (x 10 000)

Molécules CMH-classe I « like »: - molécules T10 et T22 du locus T1a chez la souris
- molécules MICA, MICB et CD1c chez l'homme
Peu ou pas polymorphes

MICA: « MHC-class I-related gene A »

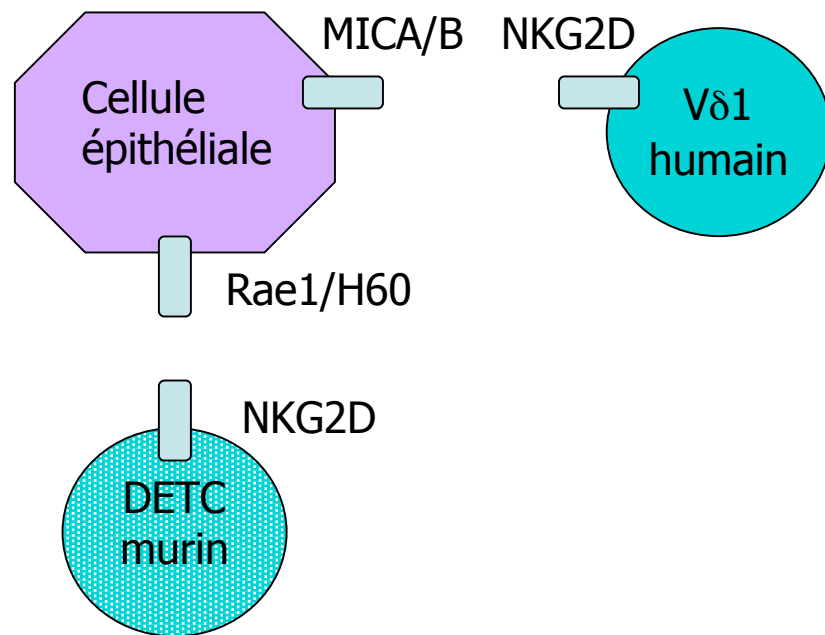
A l'exception de CD1c, ces molécules sont induites par le stress (cellules infectées ou tumorales).

Localisation anatomique précise dans les surfaces épithéliales des cellules $T\gamma\delta$ particulières: indique fonction de surveillance immunitaire et anti-tumorale.

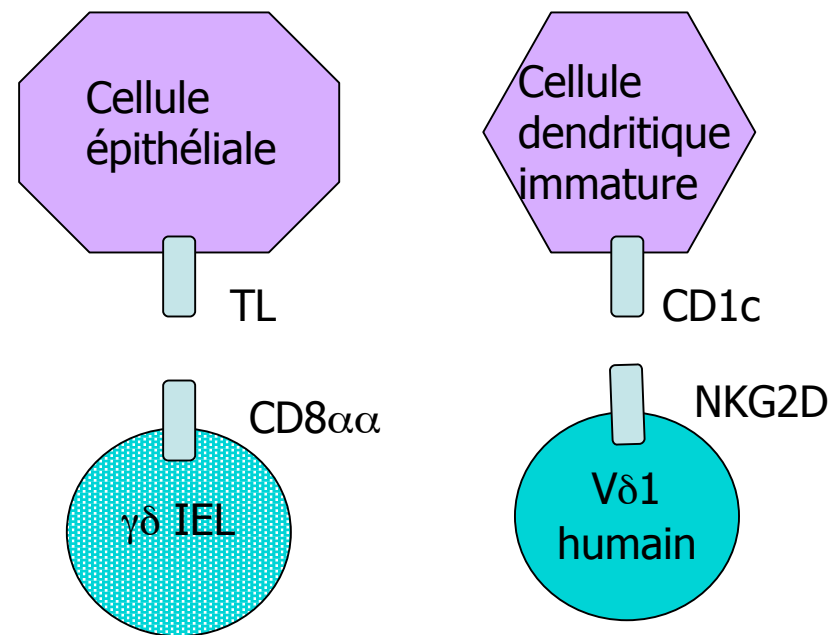
Nature des interactions entre les cellules épithéliales et les cellules $T\gamma\delta$

→ Reconnaissance et lyse des cellules épithéliales infectées ou tumorales, mais pas des cellules épithéliales normales.

2 types de co-récepteurs :



Rae1 (retinoic acid early inducible 1)
H60: Ag d'histocompatibilité mineur



TL (thymus leukemia Ag): molécule non classique du CMH I

Table 3. Characteristics of $\gamma\delta^+$ T-cell subsets as defined by TCR usage

γ/δ Usage ¹	Subset characteristics ²
Murine subsets	
V γ 1	Major peripheral recirculating $\gamma\delta$ T cells of the blood and lymphatics Downregulatory function, such as autoimmune myocarditis (see also Vγ4) Subset capable of killing <i>Listeria</i>-infected macrophages via Fas/Fas ligand, whereas other Vγ1 subset may be downregulatory
V γ 2	Recognizes non-classical MHC-Ib molecules, for example, T22, T10 (Shin <i>et al.</i>, 2005) Implicated in protection against lung mycobacteria
V γ 4	Pro-inflammatory functions, for example, autoimmune myocarditis
V γ 5V δ 1 ¹	Vast majority of the IELs of the skin, the prototypic DETCs First subset of T cells to emerge from the fetal thymus May lyse stressed/transformed keratinocytes via NKG2D ligands (for example, Rae-1) Downregulatory function for $\alpha\beta$ T cell-mediated inflammation
V γ 6V δ 1	Vast majority of the IELs of the tongue and reproductive tract
V γ 7	Vast majority of the $\gamma\delta^+$ IELs of the intestine (with Vδ4/Vδ5) Generated in the absence of a functional thymus

Human subsets

V δ 1	Large component of the $\gamma\delta^+$ IELs of the intestine Frequently found infiltrating tumors of epithelial origin May lyse stressed/transformed epithelial cells via recognition of NKG2D ligands (for example, MICA)
V γ 9V δ 2 ¹	Major peripheral recirculating $\gamma\delta$ T cells of the blood and lymphatics Recognizes and expands in response to isoprenoids and alkylamines Has demonstrated cytotoxicity to a variety of cancer cell lines (for example, lymphoma, myeloma, prostate, renal) Kills both intracellular and extracellular <i>Mycobacterium tuberculosis</i> organisms (Dieli et al., 2001) May also function as professional antigen-presenting cells (Brandes et al., 2005)

¹V γ 5V δ 1 is also known as V γ 3V δ 1; V γ 9V δ 2 is also known as V γ 2V δ 2 (for further clarification of TCR $\gamma\delta$ nomenclature, see Kabelitz and Wesch, 2003). ²See Huber et al., 2005; Dalton et al., 2004. Abbreviations: DETC, dendritic epidermal T cell; IEL, intraepithelial lymphocyte; MHC, major histocompatibility complex; MICA, MHC class I chain-related A.

Caractéristiques et fonctions des lymphocytes T $\gamma\delta$ humains:

- $\delta 1$:
- localisées dans les épithéliums (intestin, peau, poumon)
 - reconnaissent MICA/MICB (inductibles par le stress) ou CD1+ CPA/tumeurs via NKG2D
 - sécrètent IFN- γ , TNF- α
- $\delta 2$:
- circulantes
 - reconnaissent des P-Ags bactériens ou endogènes
 - sécrètent IFN- γ , TNF- α , IL-4

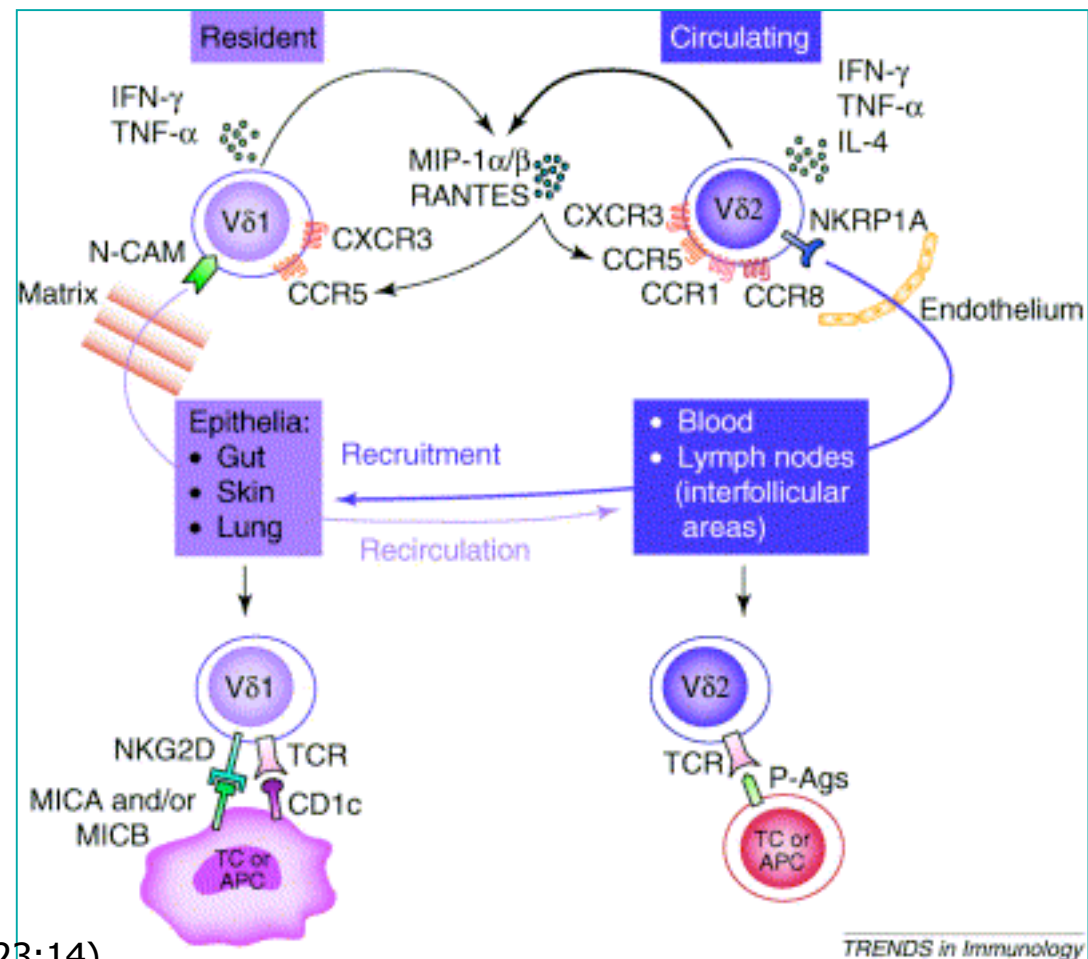


Table 1. Comparison of $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in mice

Feature	$\alpha\beta$ T cells	$\gamma\delta$ T cells
CD4 and CD8 phenotype	Major subsetting based on CD4 or CD8 expression	Predominantly CD4 ⁻ CD8 ⁻ (double-negative); murine intestinal IELs may be CD8 $\alpha\alpha$ ⁺
Antigen type and presentation	Peptide antigen in the grooves of MHC-I or -II; primary responses require antigen-presenting cell	Identification of TCR ligands incomplete; β_2 microglobulin independent; some subsets recognize MHC-Ib molecules
T helper functions	Predominantly CD4 ⁺ ; T helper 1 and 2 cytokine profiles	T helper 1 and 2 cytokine profiles
T cytotoxic functions	Predominantly CD8 ⁺ ; e.g., perforin/granzyme production, Fas ligand-mediated, NKG2D-mediated	Various subsets using the same mechanisms
T regulatory functions	Various T regulatory subsets including CD4 ⁺ CD25 ⁺ cells	Attributable to various subsets, including murine V γ 5 ⁺ DETCs and human V γ 1 ⁺ peripheral cells
TCR junctional diversity	Relatively vast	Relatively limited; especially limited for IEL populations

Abbreviations: DETC, dendritic epidermal T cell; IEL, intraepithelial lymphocyte; MHC, major histocompatibility complex.

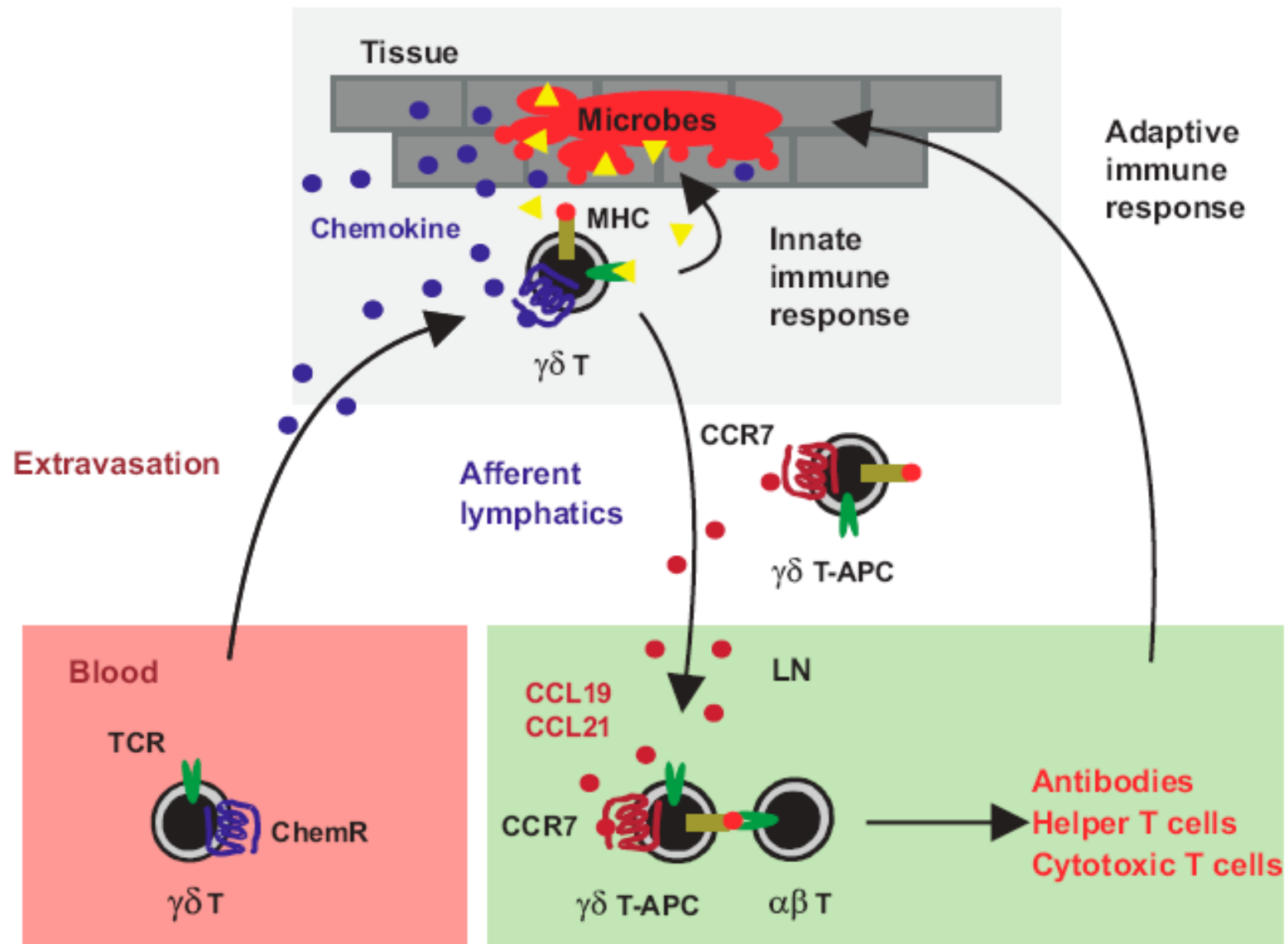
(Girardi M. et al. 2006. J. Invest. Dermatol. 126:25)

Immunosurveillance anti-microbienne

Chez l'homme:

- Augmentation de la fréquence des $T\gamma\delta$ ($V\gamma9V\delta2$) dans le sang des patients infectés
- Après reconnaissance des phospho-Ags, ces cellules sécrètent des chimiokines et cytokines Th1 ($IFN\gamma$), stimulent les fonctions des cellules NK, NKT et $T\alpha\beta$.
- Après reconnaissance des phospho-Ags, ces cellules sont activées et capables de lyser des cellules infectées.
- Mécanisme de lyse: perforines/granzymes
- Ces cellules sont capables d'effectuer la présentation antigénique à des $LT\alpha\beta$ $CD4+$ ou $CD8+$ (Brandes et al. 2005). Processing et présentation d'Ag peptidiques.

Fonction de présentation antigénique des lymphocytes $T\gamma\delta$

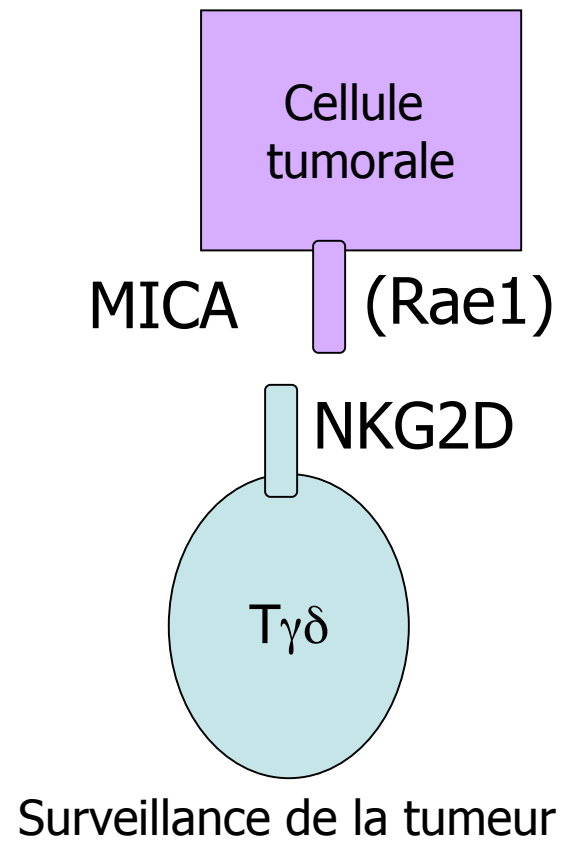


Immunosurveillance anti-tumorale

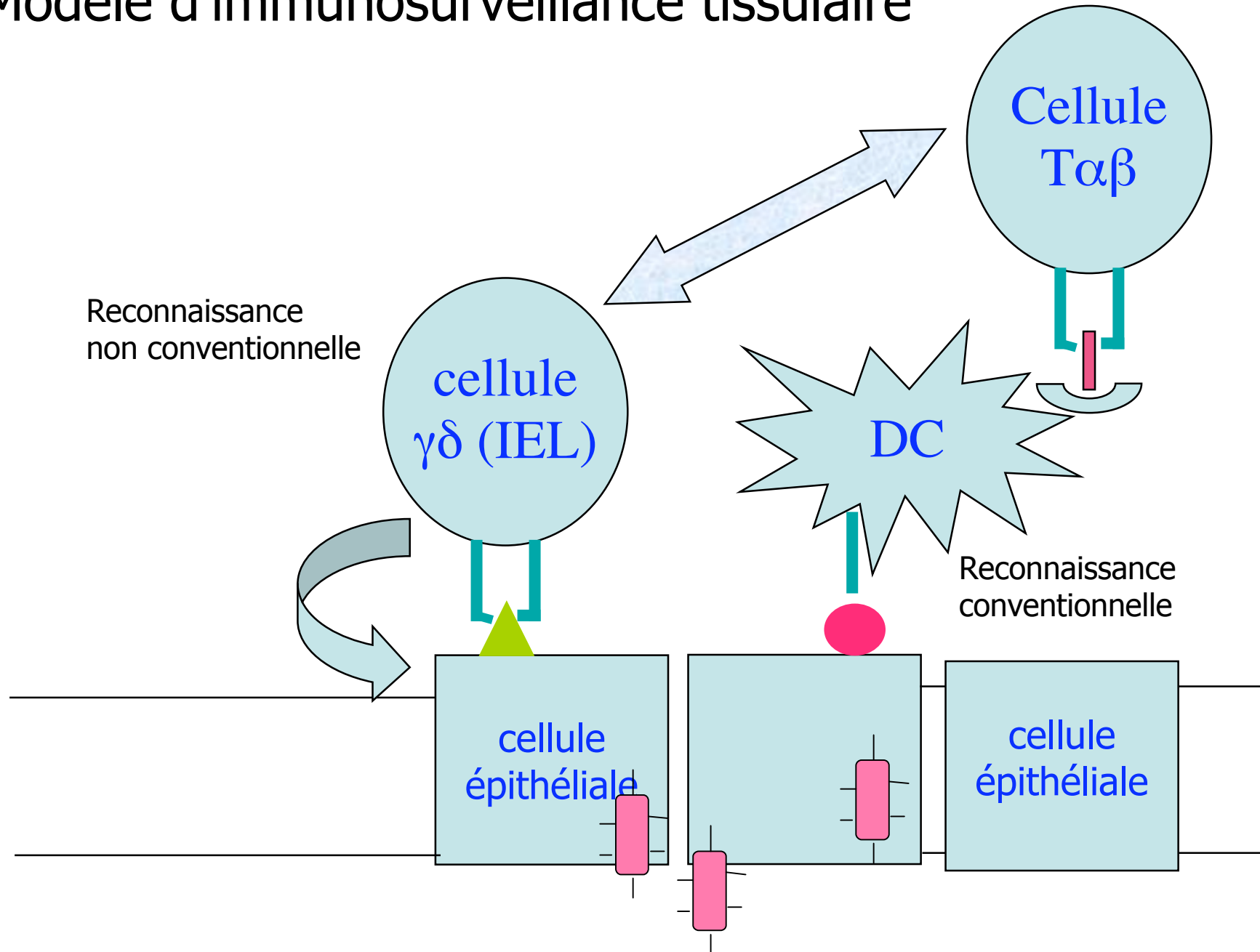
Chez l'homme:

- Les tumeurs solides sont infiltrées par $V\delta 1^+$ $TCR\gamma\delta^+$ IELs
- Les cellules $V\delta 1^+$ $TCR\gamma\delta^+$ peuvent reconnaître des cellules tumorales d'origine épithéliale: Réponse à un stress antigénique.
- Ces cellules expriment NKG2D (récepteur activateur). Après reconnaissance de leur ligand (MICA/B), ces cellules sont activées et capables de lyser les cellules tumorales exprimant le ligand.

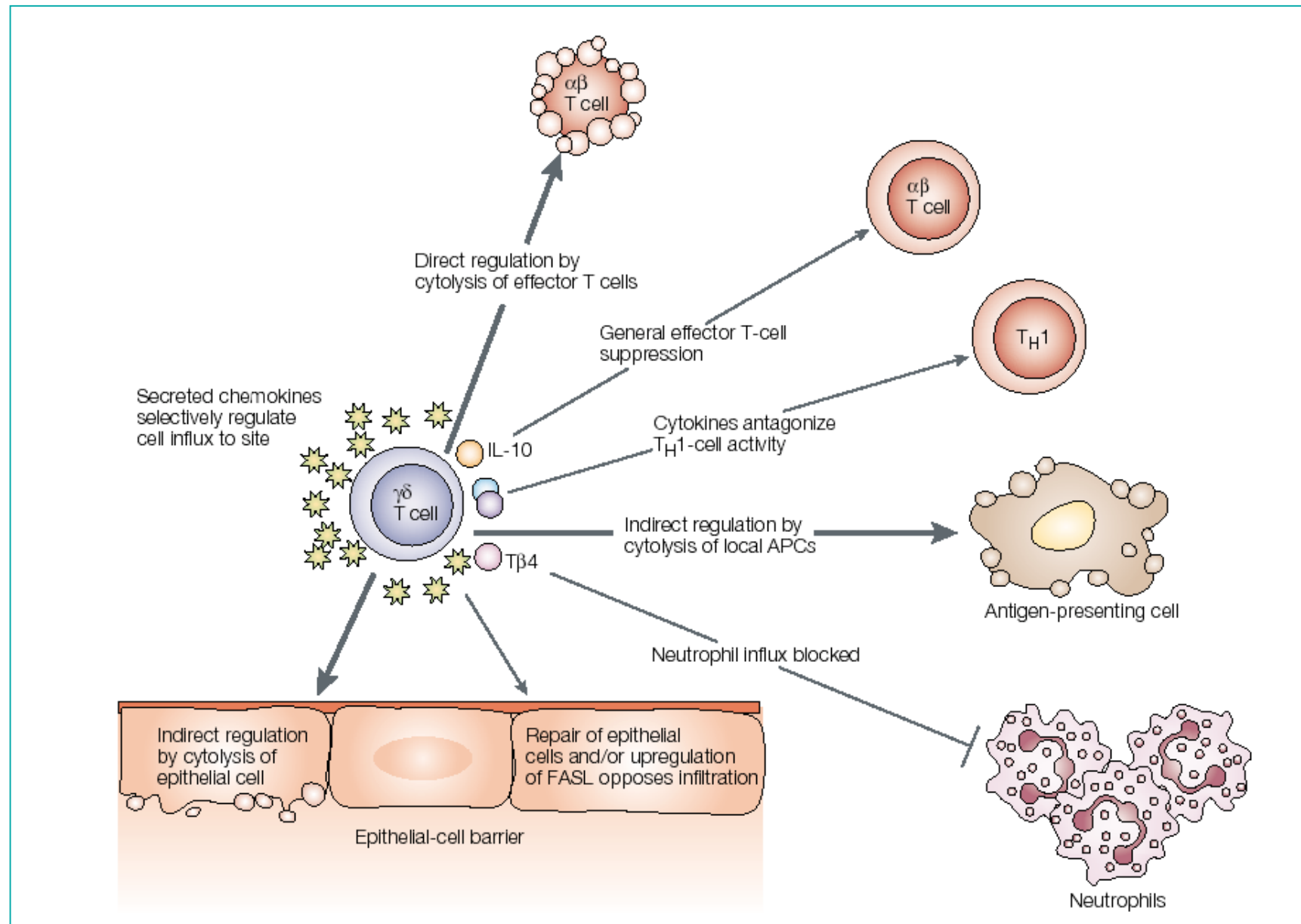
Reconnaissance des cellules tumorales par les cellules $T_{\gamma\delta}$



Modèle d'immunosurveillance tissulaire



Immunorégulation par les $LT_{\gamma\delta}$



(Hayday A. et al. 2003. Nature Rev. Immunol. 3: 234)

Conclusions

Les cellules $T_{\gamma\delta}$:

- cellules effectrices capables de lyser des cellules cibles infectées et des cellules tumorales.
- contribuent à la protection de l'hôte. Leur application clinique est très étudiée car elles sont non restreintes par le CMH.
- potentiel immunorégulateur élevé. Les souris déficientes en $T_{\gamma\delta}$ développent spontanément des pathologies autoimmunes.
- downregulent les pathologies autoimmunes, et rôle de prévention des tissus contre les pathologies inflammatoires.