

Les lymphocytes $T\gamma\delta$, NK

Présentations non classiques

Dr. Isabelle CREMER
MCU Université Paris 6
U872 INSERM, équipe 13: Microenvironnement immunitaire et Tumeurs
Centre de Recherche des Cordeliers. Paris 6ème
Février 2008

Plan du cours

- $T\gamma\delta$
Caractéristiques des lymphocytes $T\gamma\delta$
Développement des $T\gamma\delta$
Modalités de reconnaissance et fonctions des $T\gamma\delta$:
- immunosurveillance
- immunorégulation
- NK
Caractéristiques des cellules NK
Développement des NK
Modalités de reconnaissance et fonctions des NK:
- immunosurveillance
- immunorégulation

Caractéristiques des $LT\gamma\delta$

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	$\sim 10^{16}$	$\sim 10^{20}$	$\sim 10^{11}$
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 $_{H1}$ 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-

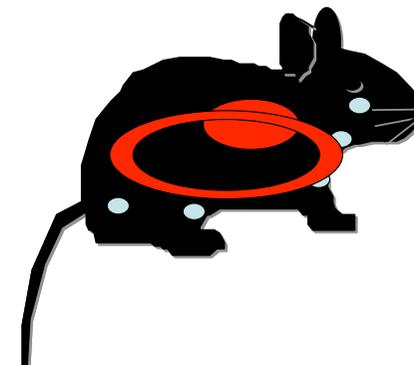
La représentation des cellules T $\gamma\delta$ varie selon les espèces, pourquoi?

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

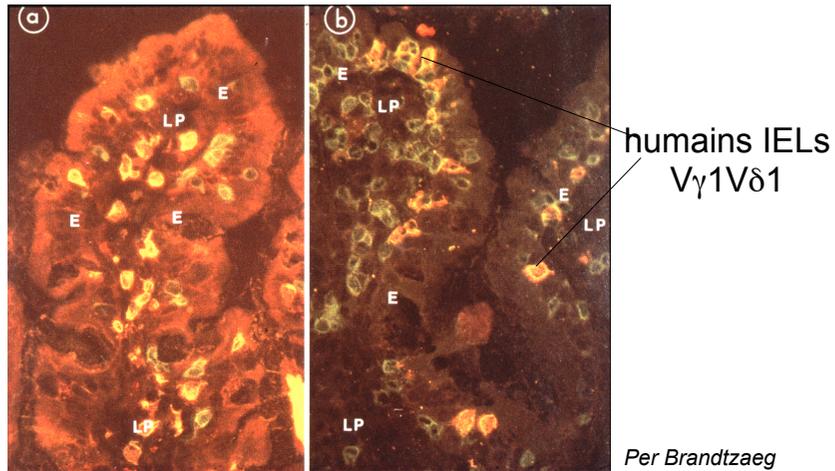
Localisation anatomique

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

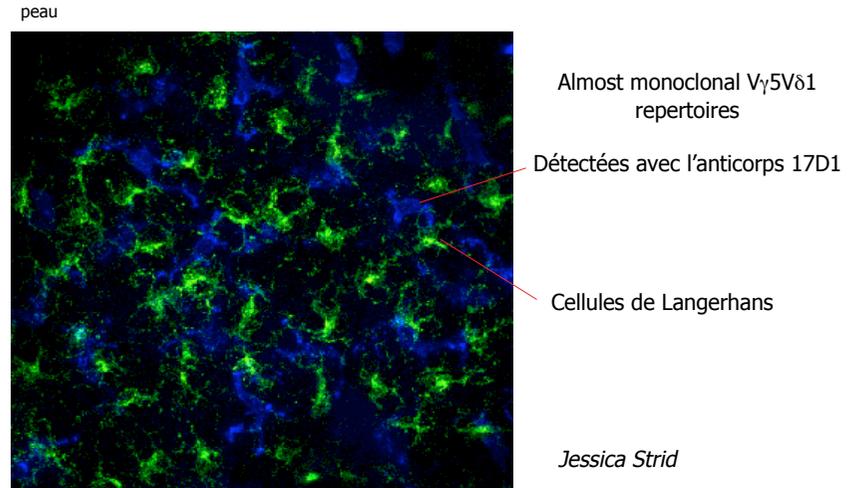
Elles ont une localisation constitutive dans les tissus



La plupart des cellules $\text{TCR}\gamma\delta^+$ sont constitutivement associées
 • aux tissus - Lymphocytes intraépithéliaux (IEL)

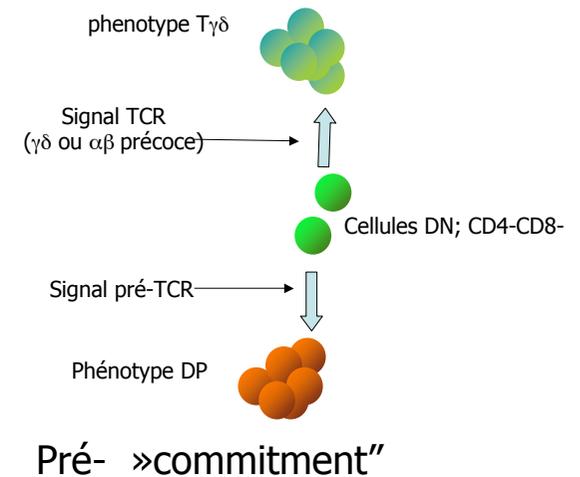


Cellules dendritiques épidermiques $\text{T}\gamma\delta$ murines (DETC)

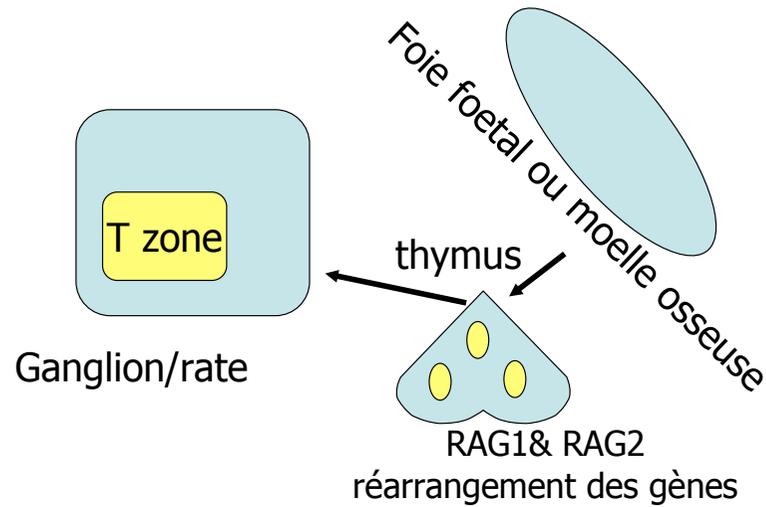


Développement des $\text{LT}\gamma\delta$

Développement des lymphocytes $\text{T}\alpha\beta$ et $\gamma\delta$ à partir d'un précurseur commun



Stades du développement des cellules T



Développement des lymphocytes $T\gamma\delta$

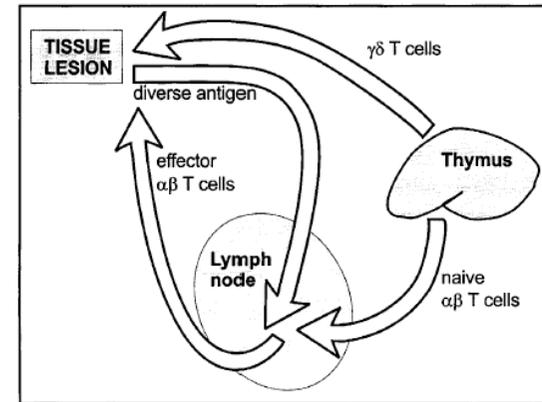
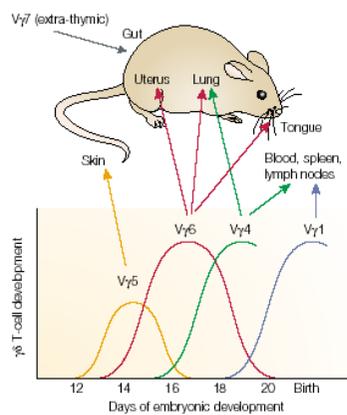


Figure 3 $\gamma\delta$ cells are tissue lymphocytes, posing questions about antigen sampling.

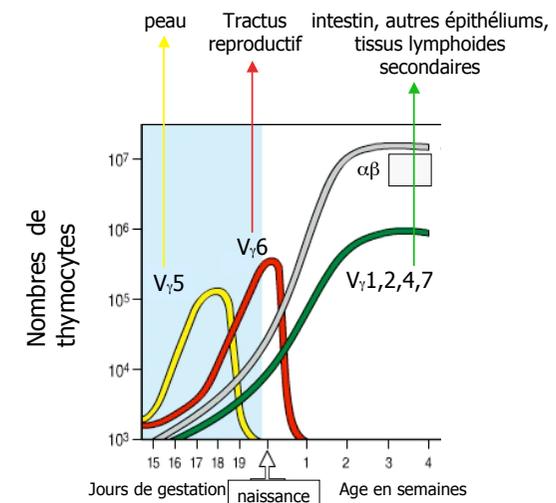
(Hayday A.C. Annu. Rev. Immunol. 2000. 18: 975)

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.

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

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 $\gamma\delta$

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

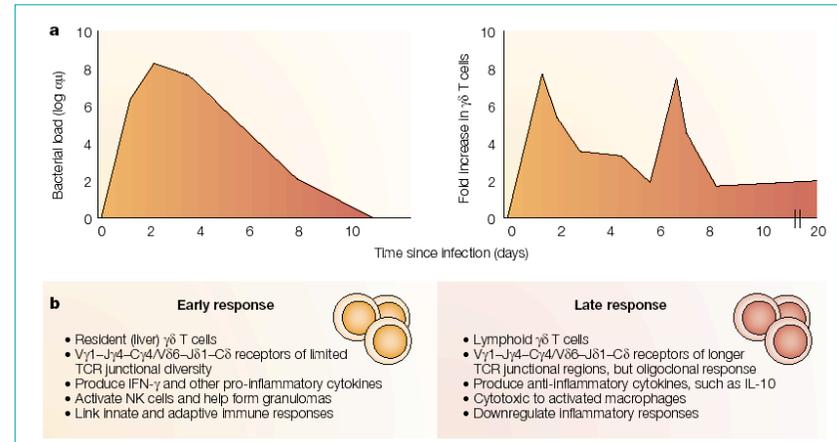
MICA: « MHC-class I-related gene A »

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

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



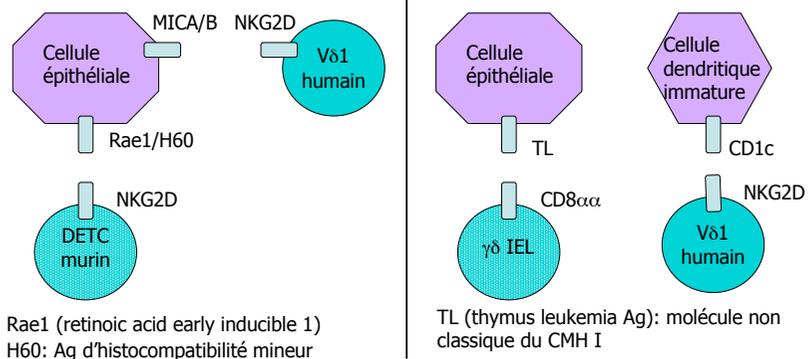
Pendant le **stade d'initiation de la réponse immune**, les cellules T $\gamma\delta$ modulent l'immunité innée (NK et macrophages) et adaptative (cellules T $\alpha\beta$), par la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. En **phase plus tardive**, d'autres cellules T $\gamma\delta$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

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 $\gamma\delta$?

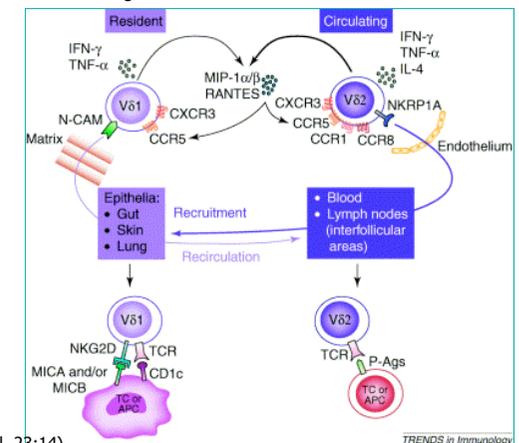
⇒ Reconnaissance et lyse des cellules épithéliales infectées ou tumorales, mais pas des cellules épithéliales normales.

2 types de co-récepteurs :



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

- δ 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
- δ 2: - circulantes
- reconnaissent des P-Ags bactériens ou endogènes
- sécrètent IFN- γ , TNF- α , IL-4



(Ferrarini M. et al. 2002 Trends in Immunol. 23:14)

TRENDS in Immunology

Immunosurveillance anti-microbienne

Chez l'homme:

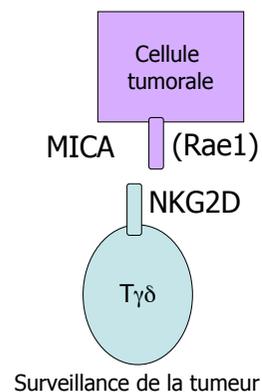
- Augmentation de la fréquence des $T\gamma\delta$ ($V\gamma9V\delta2$) dans le sang des patients infectés
- Après reconnaissance des phospho-Ags, ces cellules sécrètent des chimiokines et cytokines Th1 ($IFN\gamma$), stimulent les fonctions des cellules NK, NKT et $T\alpha\beta$.
- Après reconnaissance 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.

Immunosurveillance anti-tumorale

Chez l'homme:

- Les tumeurs solides sont infiltrées par $V\delta1+$ $TCR\gamma\delta+$ IELs
- Les cellules $V\delta1+$ $TCR\gamma\delta+$ 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 $T\gamma\delta$



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.

Caractéristiques des cellules NK

- Défenses contre pathogènes (viraux et bactériens)
- Surveillance anti-tumorale
- Gestation

Propriétés

Grand lymphocytes granuleux définis par leur phénotype CD3-CD56+

Nombreuses cellules (*NK: 10⁶/10 ml de sang*)

12% en moyenne des cellules mononuclées du sang périphérique, retrouvés dans les tissus périphériques: foie, cavité péritonéale, utérus

Cellules effectrices de l'immunité innée: défense contre pathogènes

Cellules cytotoxiques mobilisables sans immunisation préalable une cytotoxicité naturelle

Une cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC)

Production de cytokines et chimiokines

Interaction avec

Cellules dendritiques

Cellules endothéliales (migration)

Généralités

Initialement identifiés par leur capacité à détruire in vitro les cellules tumorales.

Cellules NK naissent et se différencient dans la moelle osseuse.

Ils n'ont pas de TCR, ni de complexe CD3 (TCR-, CD3-)

Ils sont présents chez la souris nude (pas besoin de réarrangements génétiques)

Ils sont présents chez l'homme, expriment CD56 et CD16

CD56: glycoprotéine membranaire (famille N-CAM des molécules d'adhésion)

CD16: récepteur de faible affinité au fragment Fc des IgG (Fc γ RIII)

Récepteurs aux molécules du CMH de classe I (récepteurs KIR)

Récepteurs activateurs et de cytotoxicité

CD3-CD56+ NK cell subtypes

10% blood NK: CD56^{bright}

90% blood NK: CD56^{dim}

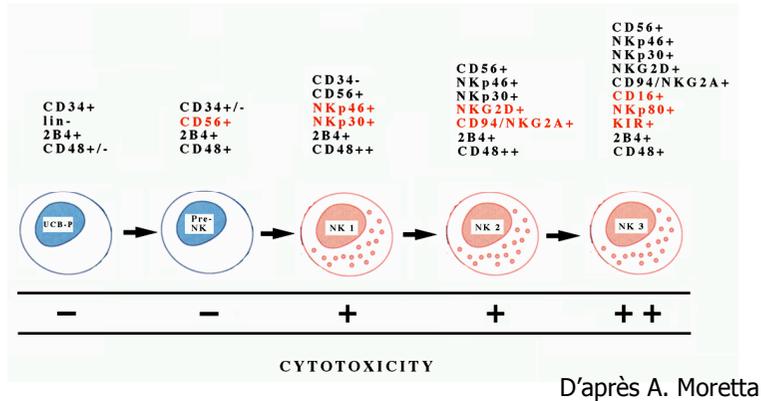
- Low cytotoxic
- High cytokine production (IFN- γ)
- Proliferate in response to IL-2
- Phenotype: CD16 dim or neg, KIR+/-, CD94++, PEN5-, ILT2-, NKG2D+, L selectin^{High}
- Highly cytotoxic (10X+ perforin)
- Low cytokine production
- Low proliferation in response to IL-2
- Good binding to target cells
- Phenotype: CD16+ (ADCC), Fc γ RIII+, KIR++, CD94+, CD162R(PEN5)+, ILT2+, NKG2D+

CD56^{bright}: localized in lymphoid organs

CD56^{dim}: in blood

Développement des NK

Maturation des cellules NK à partir de précurseurs de sang de cordon humain CD34⁺ Lin⁻

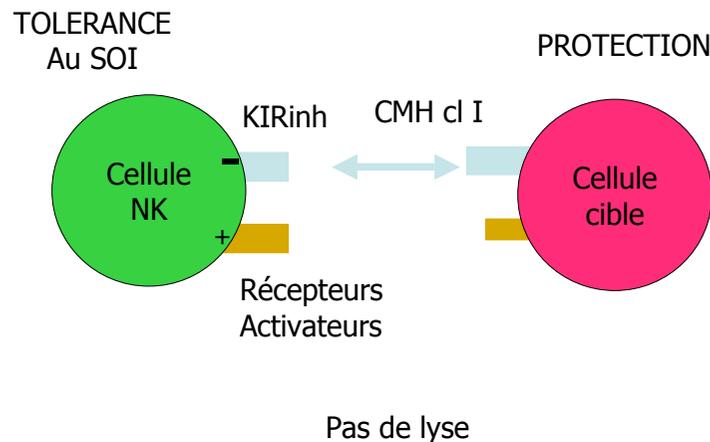


Modalités de reconnaissance et fonctions des cellules NK

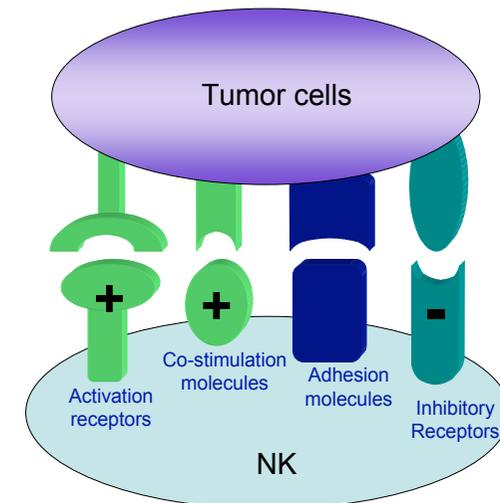
L'activité des cellules NK est contrôlée par l'engagement de récepteurs NK activateurs et inhibiteurs

- Mise en place immédiate de la réponse effectrice: réponse précoce de l'immunité innée et favorise mise en place de réponse adaptatives
- Reconnaissance de l'état « pathologique » de la cellule: expression MHC, activation de ligands spécifiques de cellule « stressée »

Les récepteurs inhibiteurs reconnaissent les molécules de Classe I du CMH

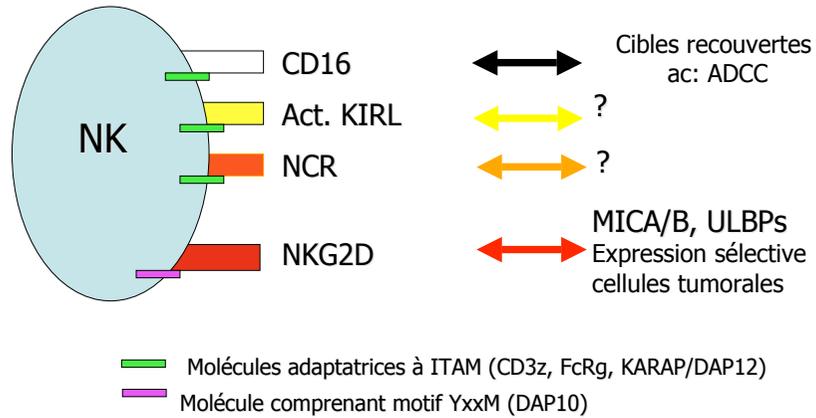


Interactions entre les cellules NK et les cellules tumorales



Récepteurs NK activateurs: NCR et NKG2D

Impliqués dans lyse de cellules tumorales
et dans interaction avec cellules Dendritiques



Récepteurs des cellules impliqués dans la reconnaissance des cibles

L. Moretta et al. / Seminars in Immunology 18 (2006) 151–158

