

Les lymphocytes T $\gamma\delta$, NK, NKT 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 2009

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 ⁻ ; IELs 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	Humoral immunity

CTLs, cytotoxic T lymphocytes; IELs, 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⁻

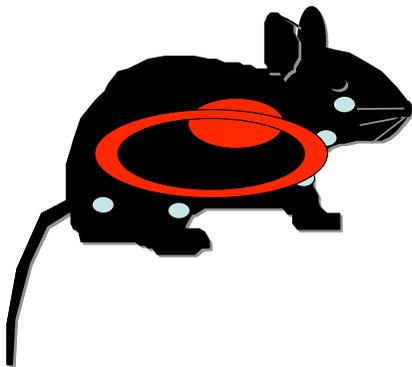
La représentation des cellules T $\gamma\delta$ varie selon les espèces, pourquoi?

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

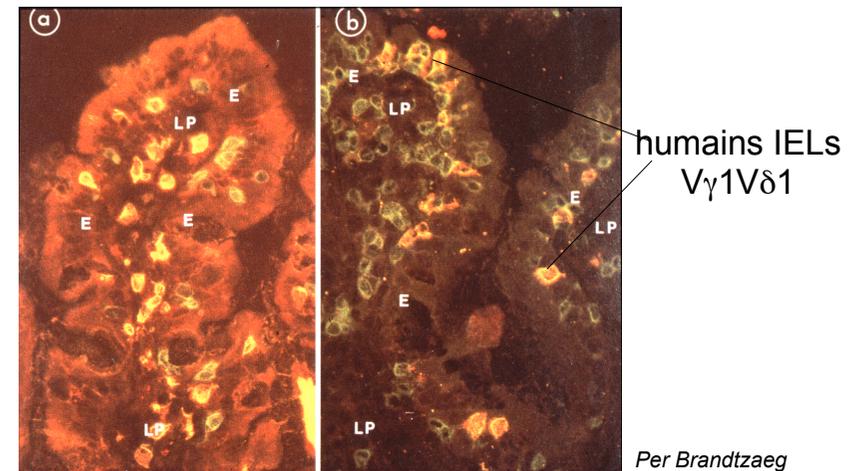
Localisation anatomique

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

Elles ont une localisation constitutive dans les tissus

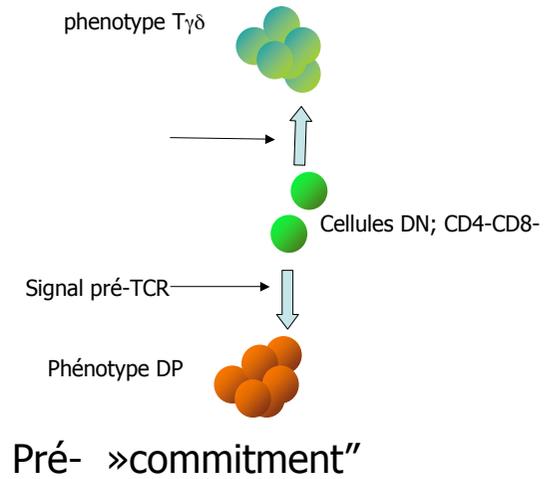


La plupart des cellules TCR $\gamma\delta$ ⁺ sont constitutivement associées aux tissus - Lymphocytes intraépithéliaux (IEL)



Développement des LT $\gamma\delta$

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



Développement des lymphocytes T $\gamma\delta$

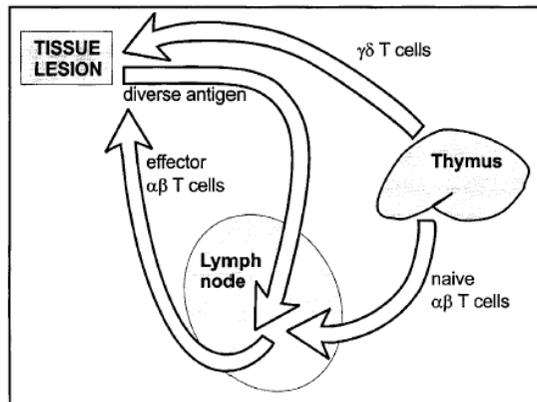
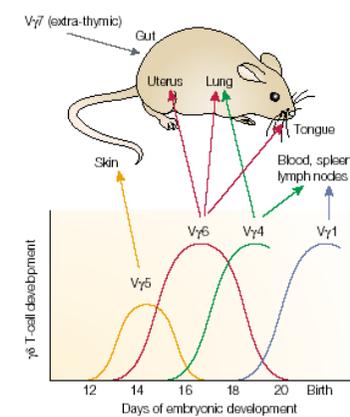


Figure 3 $\gamma\delta$ cells are tissue lymphocytes, posing questions about antigen sampling.

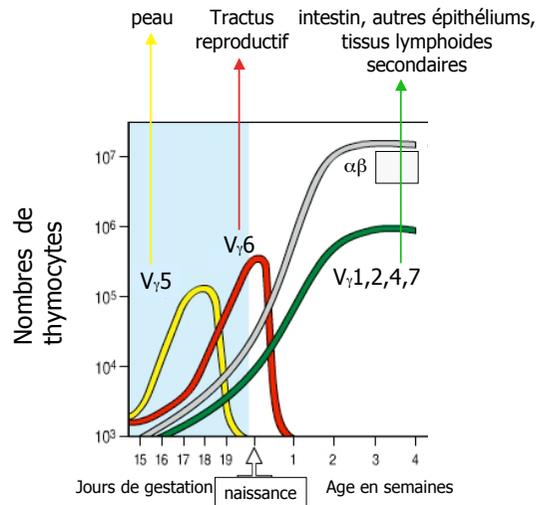
(Hayday A.C. Annu. Rev. Immunol. 2000. 18: 975)

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 isoprénoides)	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 de la voie de synthèse du mévalonate (IPP: Isopentenyl pyrophosphate)

HMBP >>> IPP (x 10 000)

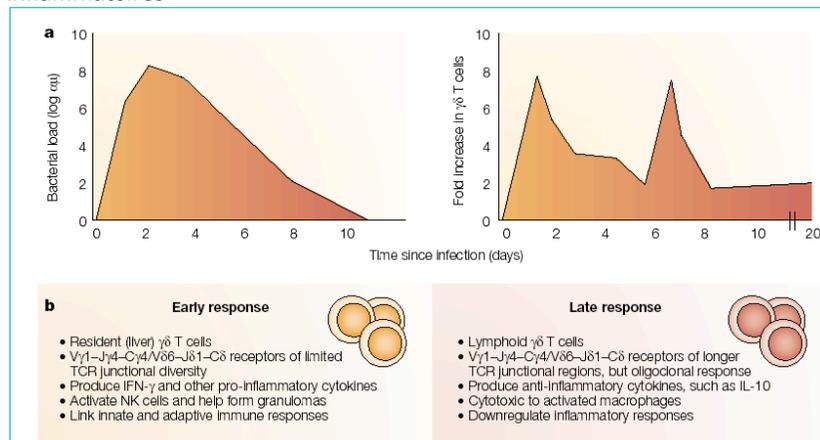
Molécules CMH-classe I « like »: - molécules T10 et T22 du locus T1a chez la souris
- molécules MICA, MICB et CD1c chez l'homme

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).

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.

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

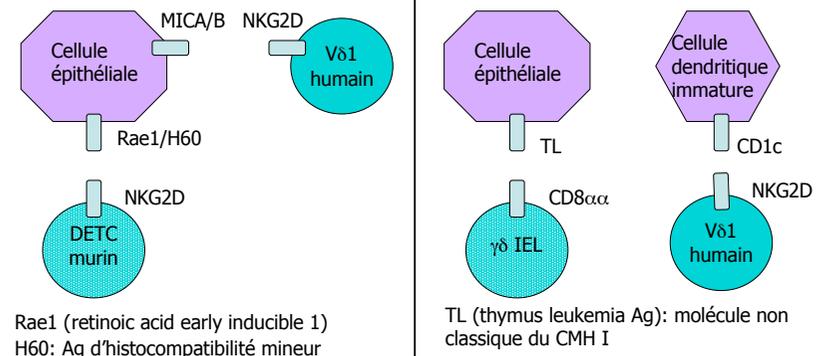
- Susceptibilité accrue au développement de tumeurs

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 $\gamma\delta$?

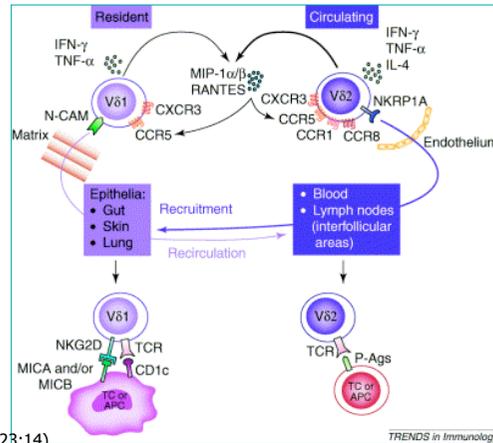
⇒ Reconnaissance et lyse des cellules épithéliales infectées ou tumorales, mais pas des cellules épithéliales normales.

2 types de co-récepteurs :



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

- $\delta 1$:
 - 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



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

TRENDS in Immunology

Immunosurveillance anti-microbienne

Chez l'homme:

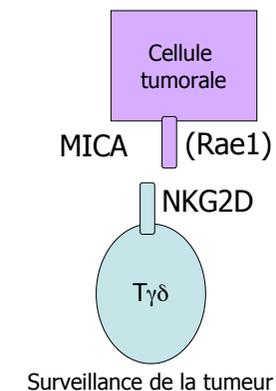
- Augmentation de la fréquence des T $\gamma\delta$ (V γ 9V δ 2) dans le sang des patients infectés
- Après reconnaissance des phospho-Ags, ces cellules sécrètent des chimiokines et cytokines Th1 (IFN γ), stimulent les fonctions des cellules NK, NKT et T $\alpha\beta$.
- Après reconnaissance des phospho-Ags, 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 δ 1+ TCR $\gamma\delta$ + IELs
- Les cellules V δ 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 $\gamma\delta$



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}

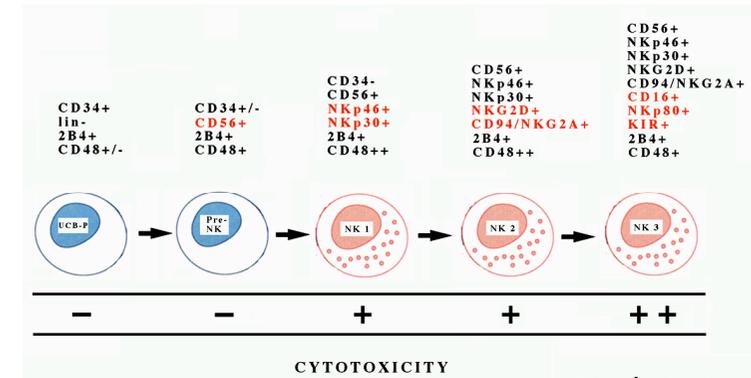
90% blood NK: CD56^{dim}

- 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

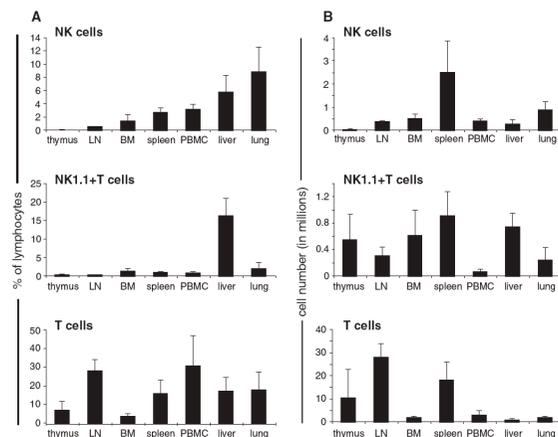
Développement des NK

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



D'après A. Moretta

Distribution tissulaire des cellules NK, NKT, et T chez la souris

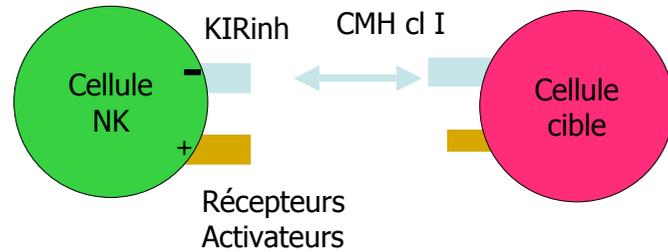


Modalités de reconnaissance et fonctions des cellules NK

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

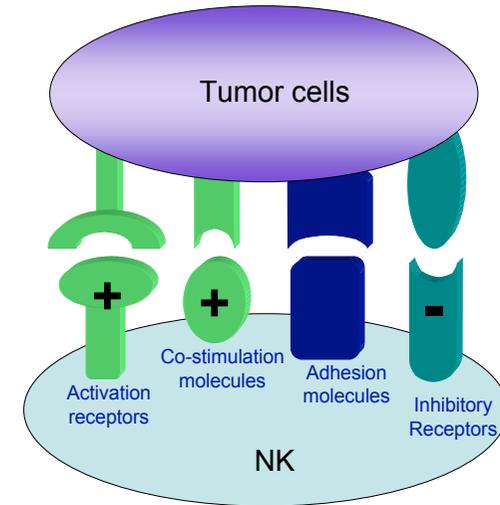
- Mise en place immédiate de la réponse effectrice: réponse précoce de l'immunité innée et favorise mise en place de réponse adaptatives
- Reconnaissance de l'état « pathologique » de la cellule: expression MHC, activation de ligands spécifiques de cellule « stressée »

Les récepteurs inhibiteurs reconnaissent les molécules de Classe I du CMH

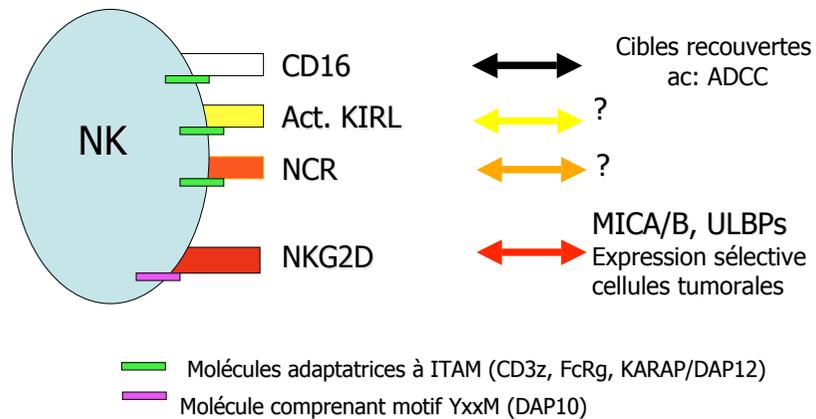


Pas de lyse

Interactions entre les cellules NK et les cellules tumorales

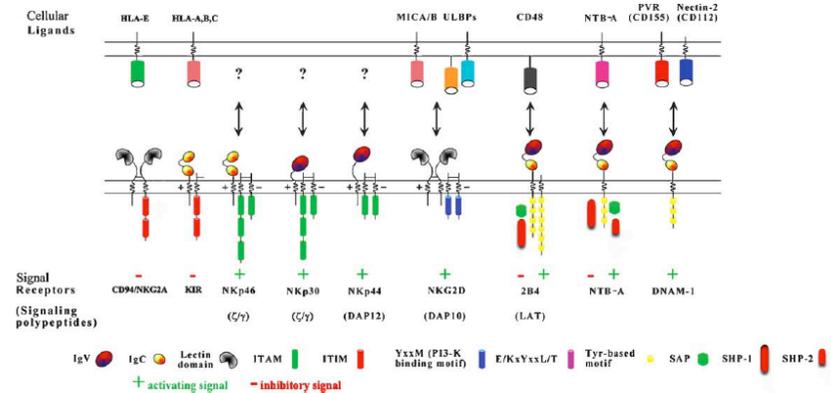


Récepteurs NK activateurs: NCR et NKG2D
 Impliqués dans lyse de cellules tumorales
 et dans interaction avec cellules Dendritiques



Récepteurs des cellules impliqués dans la reconnaissance des cibles

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



Caractéristiques des cellules NKT

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

Propriétés

Cellules NKT expriment un TCR, CD3

TCR invariant TCR α et TCR β (chez l'homme V α 24, J α 18, V β 11)

TCR reconnaît des glycolipides présentés par la molécule non polymorphe CD1d

Cellules NKT ne produisent pas de cellules mémoires

Expriment des marqueurs communs avec les cellules NK

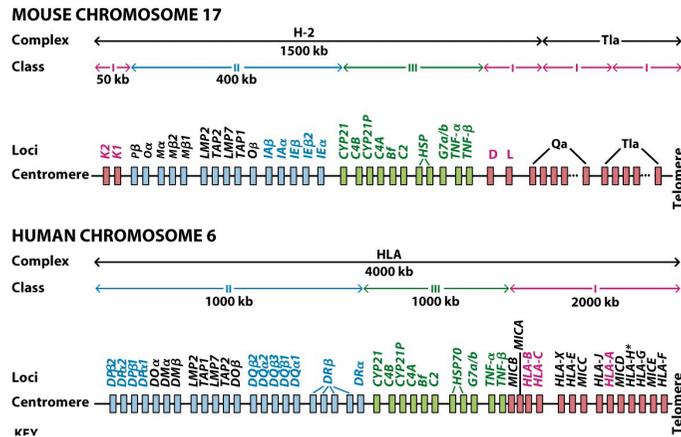
Table 2 | Characteristics of CD1-restricted T cells

	Group-1-CD1-restricted T cells	CD1d-restricted iNKT cells	CD1d-restricted diverse NKT cells
Antigens	Microbial and self lipids	Microbial and self lipids	Unknown
T-cell population	Clonally diverse	Canonical TCR α but polyclonal	Clonally diverse
TCR	TCR α : diverse; TCR β : diverse	TCR α : invariant V α 14 or V α 24 and J α 18; TCR β : limited V β repertoire with diverse CDR3	TCR α : diverse; TCR β : diverse
Precursor frequency	One per thousands, unique specificity for single antigen	<1% of T cells in humans; 2–50% of T cells in mice; pool of cells that responds <i>en masse</i> to a single antigen	Unknown
Memory	Yes	No	Unknown
Immunity	Adaptive, slow	Innate-like, rapid (hours to few days)	Unknown

CDR3, complementarity-determining region 3; iNKT cell, invariant natural killer T cell; TCR, T-cell receptor.

Molécules de CMH non classiques

Carte génomique du CMH murin et humain



Gènes de classe I colorés en rouge
 Gènes de classe II colorés en bleu
 Gènes de classe III colorés en vert

Gènes de classe I classiques sont écrits en rouge
 Gènes de classe II sont écrits en bleu
 Gènes non classiques sont écrits en noir

Gènes et molécules CD1

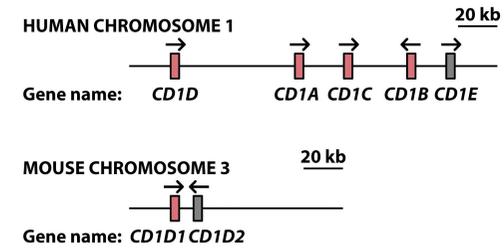


Figure 8-25a
 Kelly M. HERSHFIELD, Sarah Kellie
 © 2007 W. H. Freeman and Company

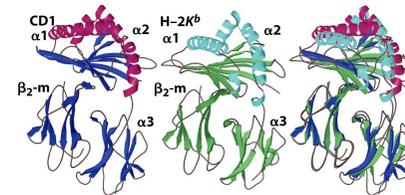


Figure 8-25b
 Kelly M. HERSHFIELD, Sarah Kellie
 © 2007 W. H. Freeman and Company

Présentations non classiques

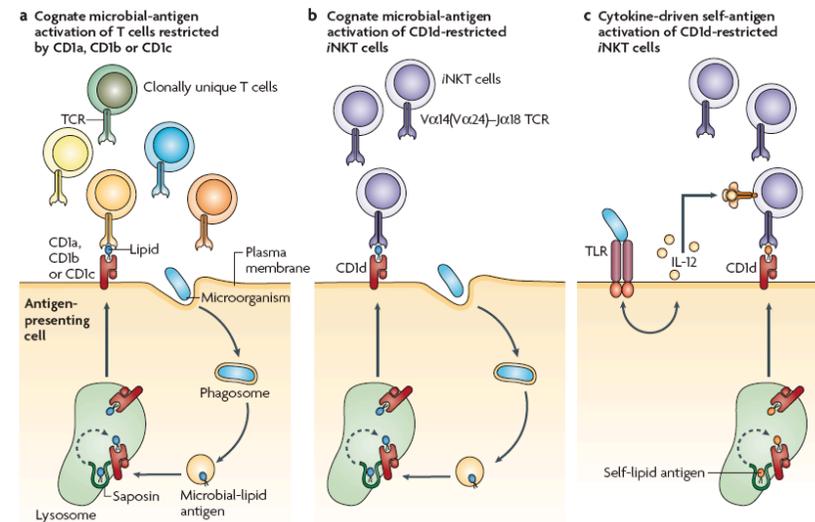
Antigènes non protéiques présentés par les membres de la famille CD1 des molécules de classe I non classiques

Molécules de la famille CD1 s'associent à la β2m. Elles ont une structure similaire à celle des molécules de classe I classiques.

Gènes ne sont pas localisés sur le CMH, mais sont portés sur le chromosome 1

2 groupes: Groupe 1 CD1a, b, c, e
 Groupe 2 CD1d

Mécanismes d'activation des cellules T restreintes par CD1



Conclusions

Cellules	Phénotype	Récepteur	Modalités de reconnaissance
NKT	TCR $\alpha\beta$ + CD3+	TCR $\alpha\beta$ NKG2D	CD1d MICA/B-ULBP1/2/3
T $\gamma\delta$	TCR $\gamma\delta$ + CD3+	TCR $\gamma\delta$ NKG2D TCR $\gamma\delta$	CD1c MICA/B-ULBP1/2/3 phosphoAgs
NK	TCR $\alpha\beta$ - CD3-	KIR NKG2D NKG2A/2C ILT-2	CMH classe I classique MICA/B-ULBP1/2/3 HLA-E HLA-G