

Les lymphocytes $T\gamma\delta$, NK, NKT Présentations non classiques

Dr. Sébastien ANDRE
MCU Université Paris 6, UPMC
U872 INSERM, équipe 16: Immuno-pathologie
et immuno-intervention thérapeutique
Centre de Recherche des Cordeliers (CRC), 75006

Février 2010

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	$\sim 10^6$	$\sim 10^6$	$\sim 10^6$
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 [123] and [6].

(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-

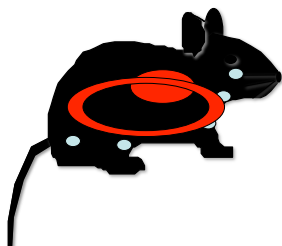
La représentation des cellules T $\gamma\delta$ varie selon les espèces, pourquoi?

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

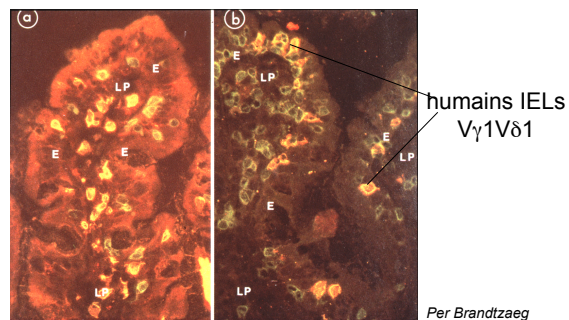
Localisation anatomique

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

Elles ont une localisation constitutive dans les tissus

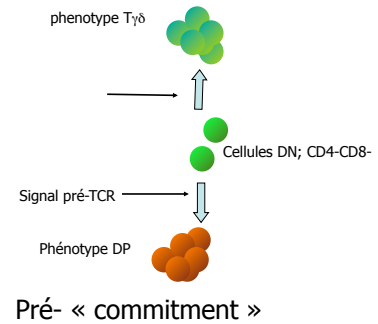


La plupart des cellules TCR $\gamma\delta$ sont constitutivement associées aux tissus - Lymphocytes intraépithéliaux (IEL)



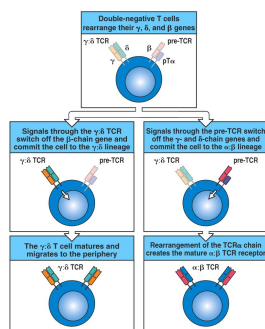
Développement des LT $\gamma\delta$

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

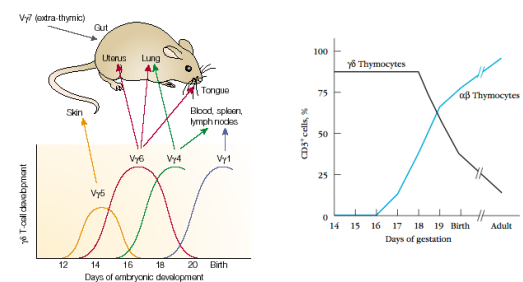


Développement des lymphocytes T $\alpha\beta$ et $\gamma\delta$ à partir d'un précurseur commun

Modèle compétitif

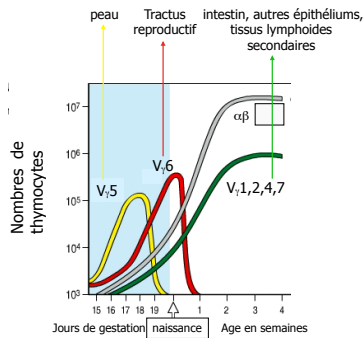


Le développement des T $\gamma\delta$ est séquentiel

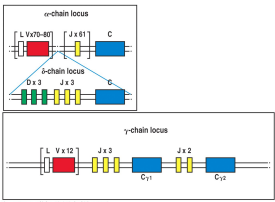


(Carding S.R. et al. 2002. Nat. Rev. Immunol. 2:336)

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		
Combinaisons V	10^4 - 10^5	2500
Combinaisons CDR3	10^{11}	10^{16}

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

Développement des lymphocytes T $\gamma\delta$

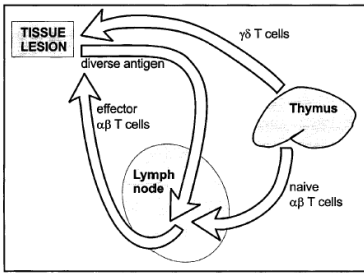


Figure 3 $\gamma\delta$ cells are tissue lymphocytes, posing questions about antigen sampling.

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

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)	$V\gamma 9\delta 2$ 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 à la surface des IEL humains

Peu ou pas polymorphes

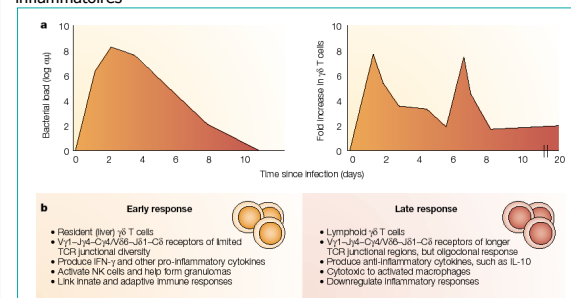
MICA: « MHC-class I-related gene A »

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

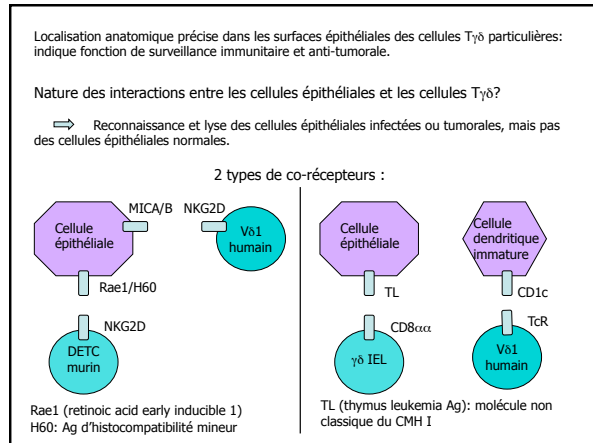
Phénotype des souris déficientes en $T\gamma\delta$

- 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

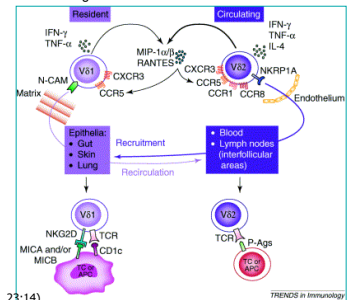


Pendant le **stade d'initiation de la réponse immune**, les cellules $T\gamma\delta$ modulent l'immunité innée (NK et macrophages) et adaptative (cellules $T\alpha\beta$), par la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. En **phase plus tardive**, d'autres cellules $T\gamma\delta$ lysent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



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



Immunosurveillance anti-microbienne

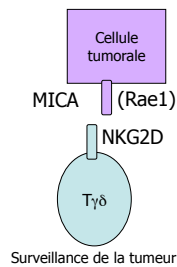
Chez l'homme:

- Augmentation de la fréquence des $T\gamma\delta$ ($V\gamma 9V\delta 2$) 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 $V\delta 1^+$ 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 $\gamma\delta$ 

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: $10^6/10\text{ ml de sang}$)

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.

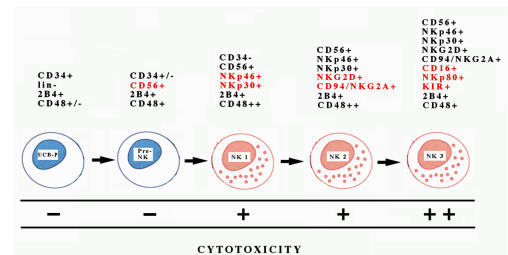
Ils n'ont pas de TCR, ni de complexe CD3 (TCR-, CD3-)

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

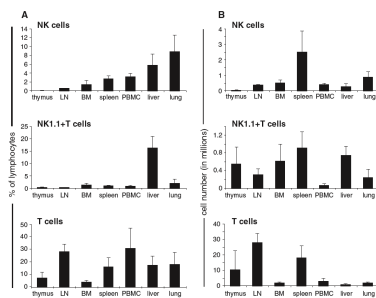
Ils sont présents chez l'homme, expriment CD56 et CD16
CD56: glycoprotéine membranaire (famille N-CAM des molécules d'adhésion)
CD16: récepteur de faible affinité au fragment Fc des IgG (FcγRIII)
Récepteurs aux molécules du CMH de classe I (récepteurs KIR)
Récepteurs activateurs et de cytotoxicité

Développement des NK

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



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



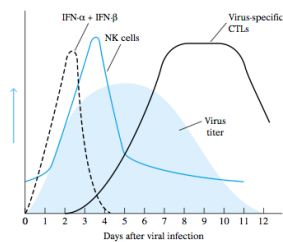
Modalités de reconnaissance et fonctions des cellules NK

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

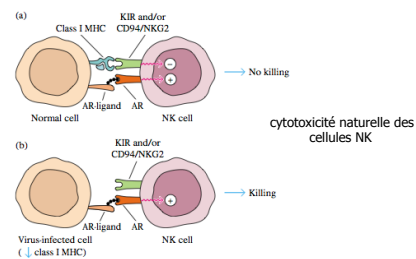


- Mise en place immédiate de la réponse effectrice: réponse précoce de l'immunité innée et favorise mise en place de réponse adaptatives
- Reconnaissance de l'état « pathologique » de la cellule: expression MHC, activation de ligands spécifiques de cellule « stressée »

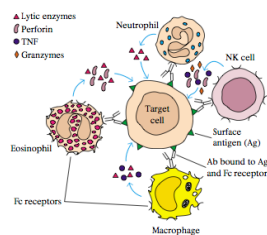
Activité NK pendant une infection virale



Les récepteurs inhibiteurs reconnaissent les molécules de Classe I du CMH

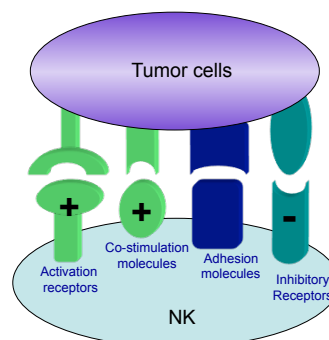


Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps : ADCC



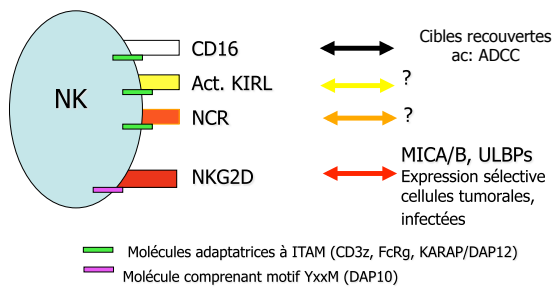
Les cellules cytotoxiques non spécifiques sont dirigées vers les cellules cibles spécifiques par la liaison à la région Fc de l'Ac lié aux Ag de surface des cellules cibles

Interactions entre les cellules NK et les cellules tumorales



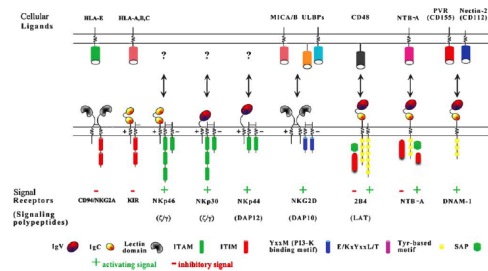
Récepteurs NK activateurs: NCR et NKG2D

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

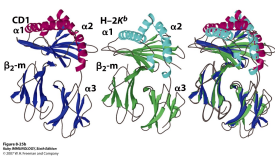
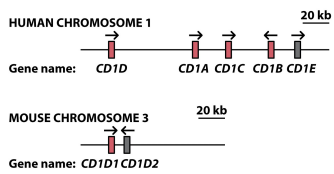
- Défenses contre pathogènes (viraux et bactériens)
- Surveillance anti-tumorale

Propriétés



- Cellules NKT expriment un TCR, CD3
- TCR invariant TCR α et TCR β (chez l'homme V α 24J 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

Gènes et molécules CD1



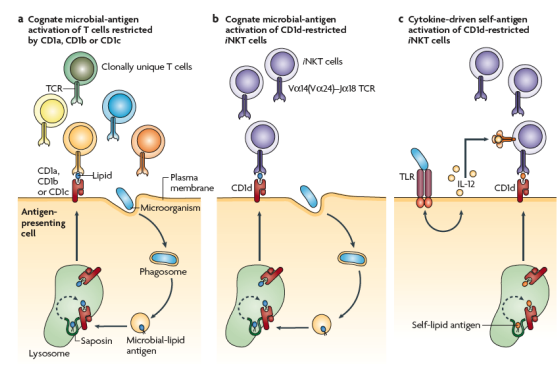
Présentations non classiques

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 β_2m . 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	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