

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 2011

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	$\sim 10^{15}$	$\sim 10^{20}$	$\sim 10^{11}$
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

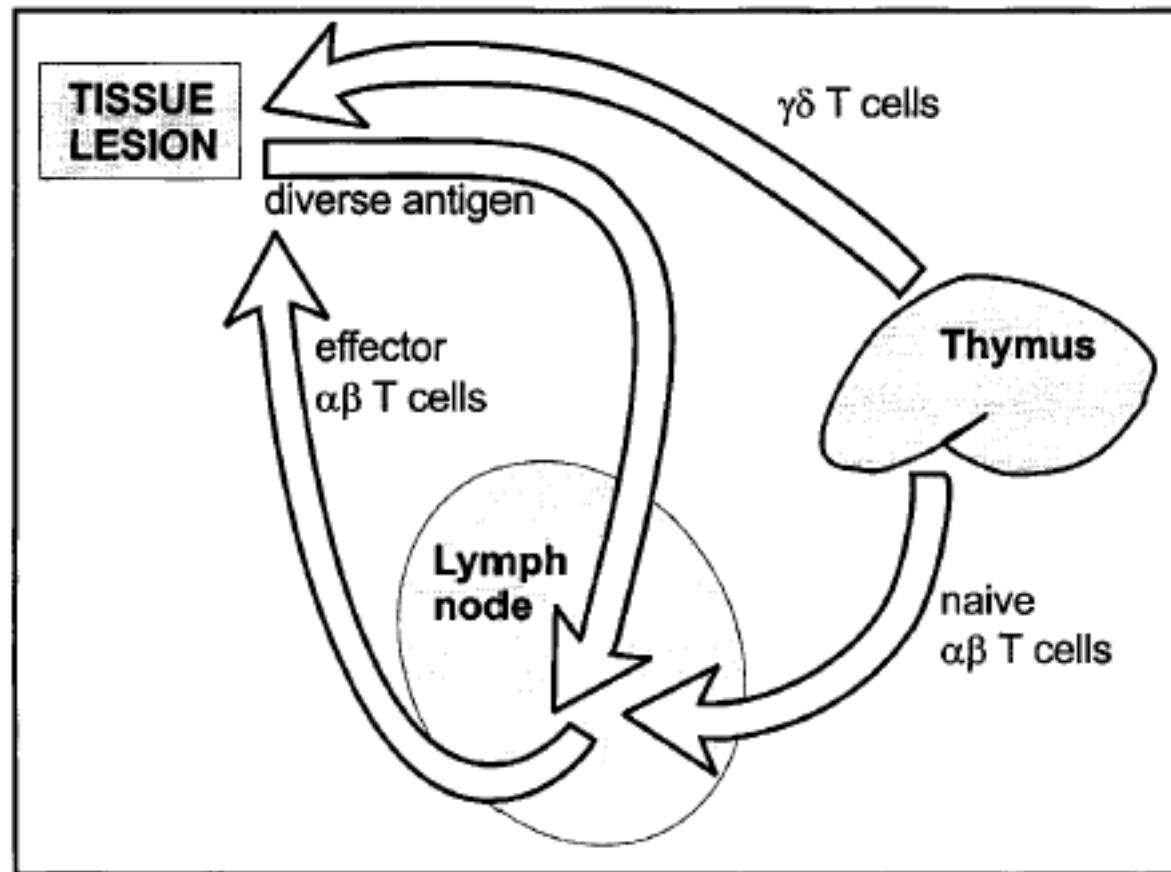


Figure 3 $\gamma\delta$ cells are tissue lymphocytes, posing questions about antigen sampling.

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

Développement des $LT_{\gamma\delta}$

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

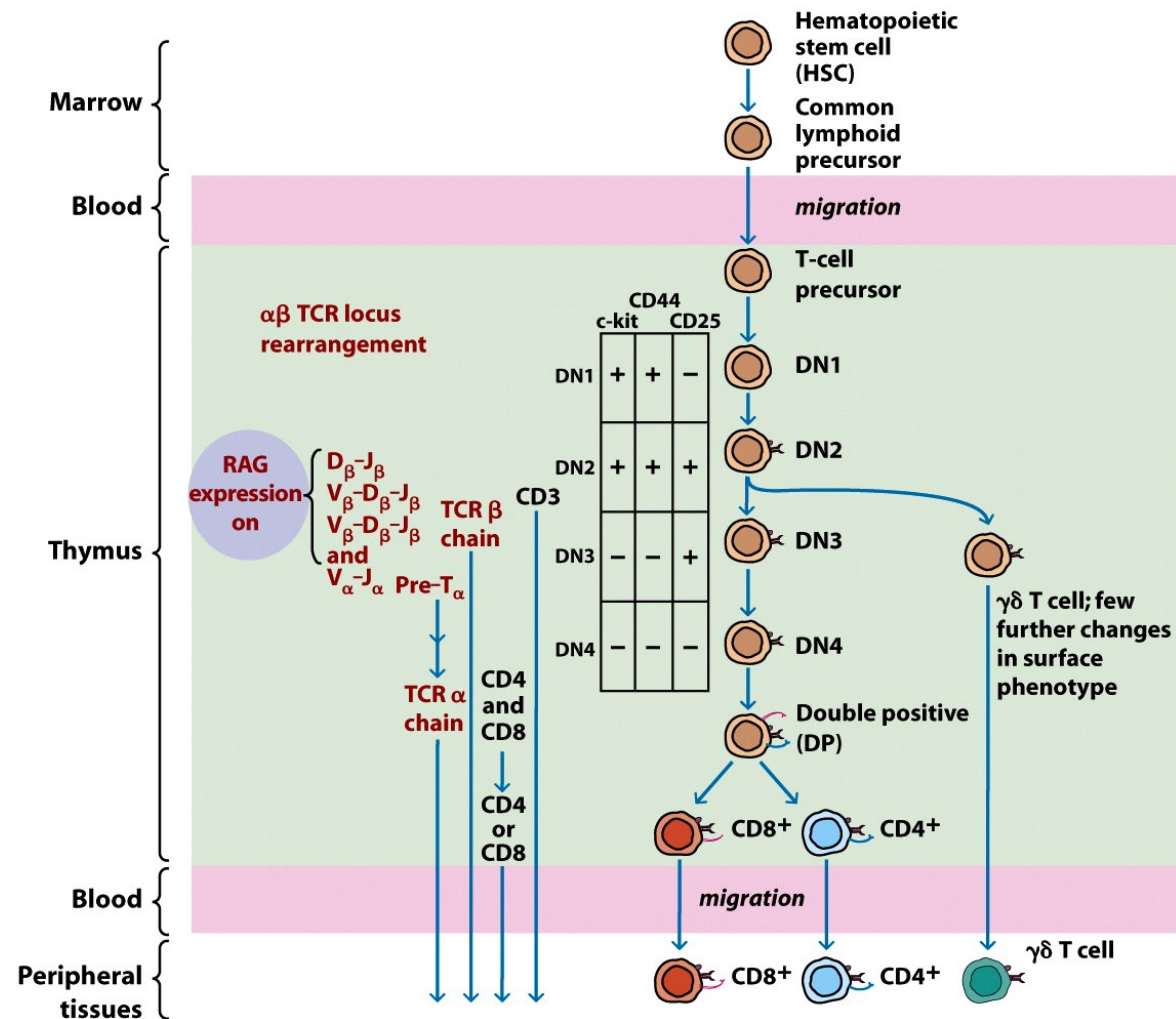


Figure 10-2
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

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

Modèle compétitif

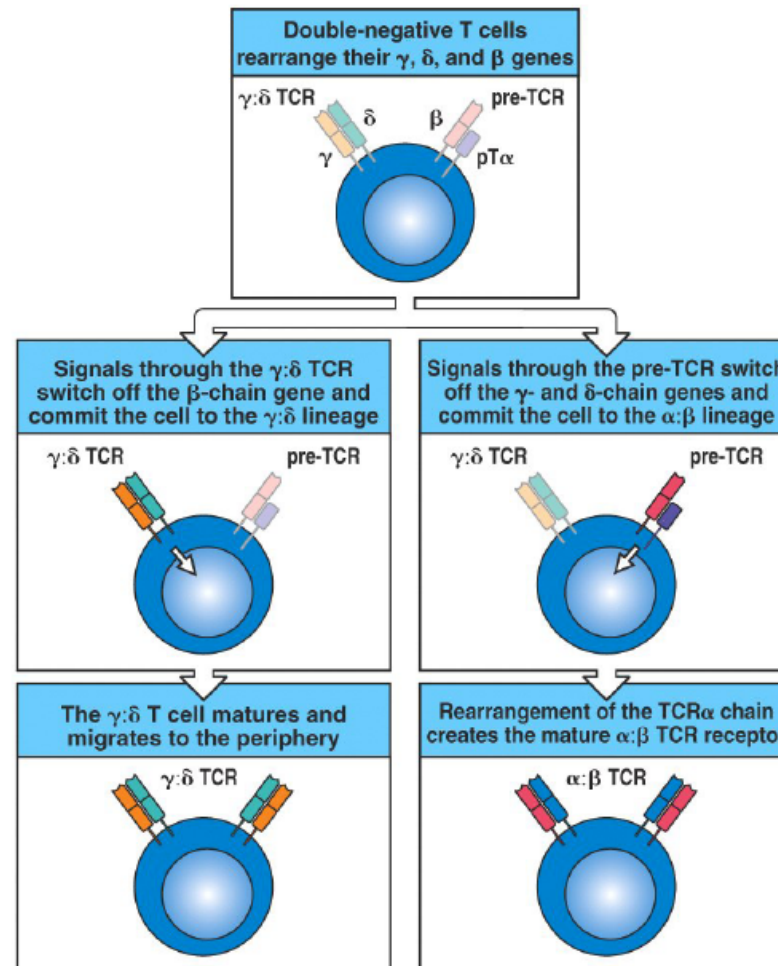
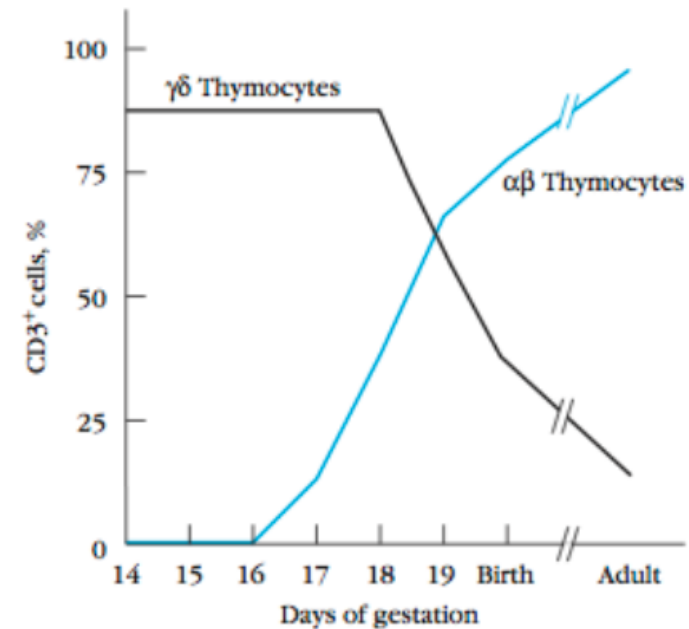
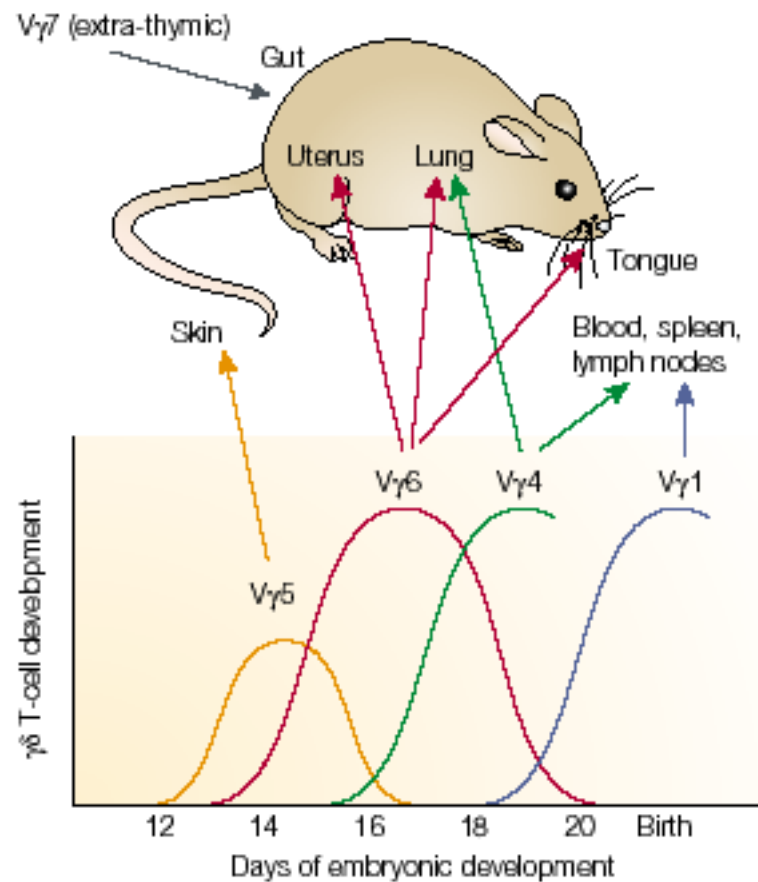


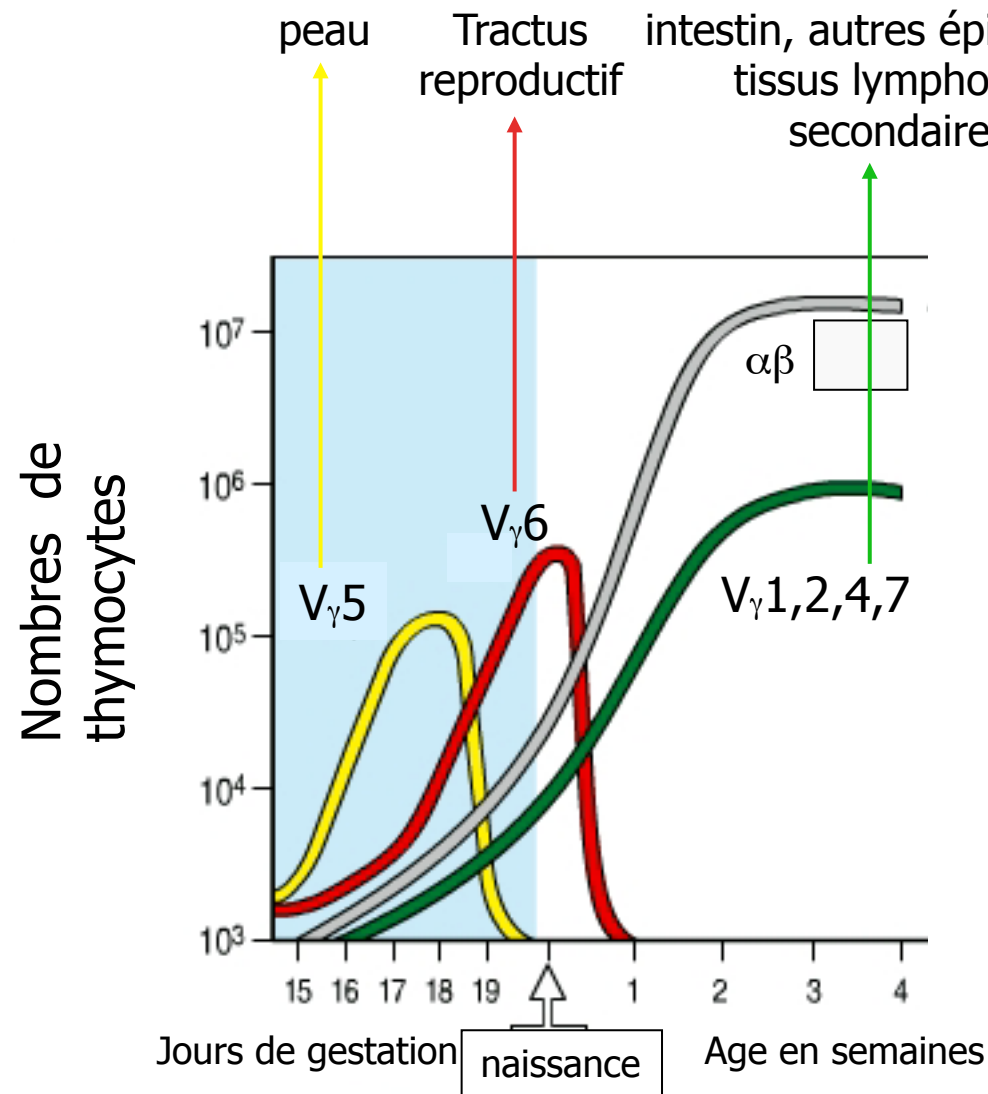
Figure 7-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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

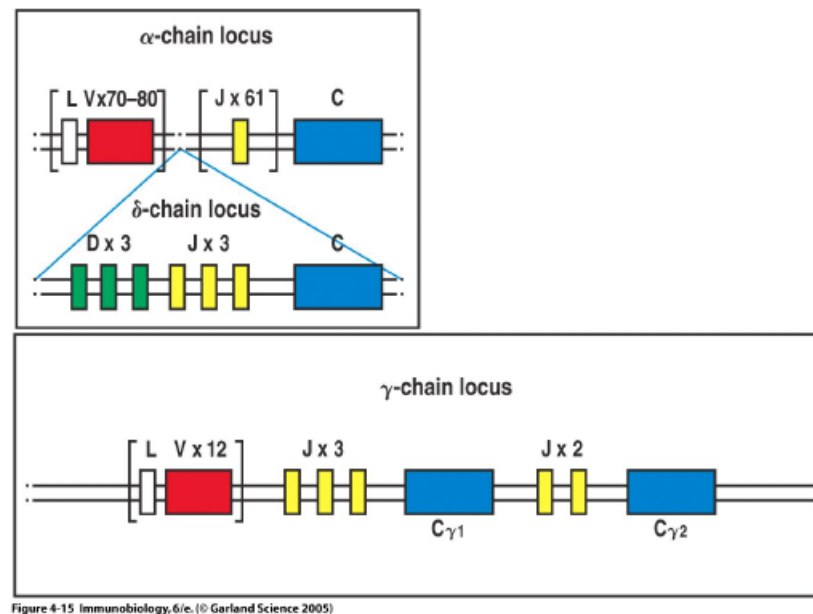


(Carding S.R. et al. 2002. Nat. Rev. Immunol. 2:336)

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)

TABLE 9-1	Comparison of $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in peripheral blood	
Feature	$\alpha\beta$ T cells	$\gamma\delta$ T cells
Proportion of CD3⁺ cells	90–99%	1–10%
TCR V gene germ-line repertoire	Large	Small
CD4/CD8 phenotype		
CD4⁺	~60%	<1%
CD8⁺	~30%	~30%
CD4⁺ CD8⁺	<1%	<1%
CD4[−] CD8[−]	<1%	~60%
MHC restriction	CD4⁺: MHC class II	No MHC restriction
	CD8⁺: MHC class I	
Ligands	MHC + peptide antigen	Phospholipid, intact protein
SOURCE: D. Kabelitz et al., 1999, <i>Springer Seminars in Immunopathology</i> 21 (55): 36.		

Table 9-1
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

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

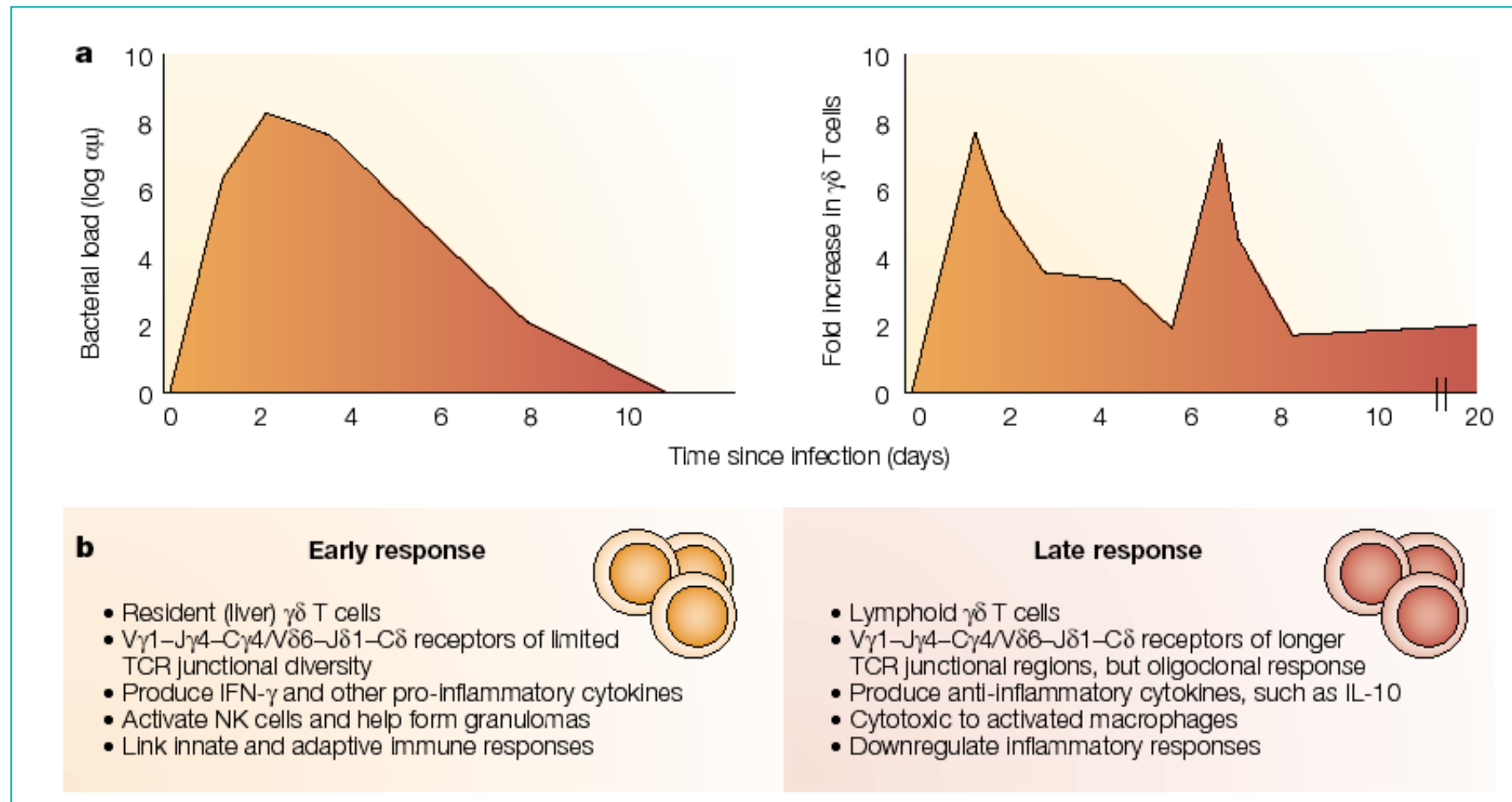
MICA: « MHC-class I-related gene A »

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



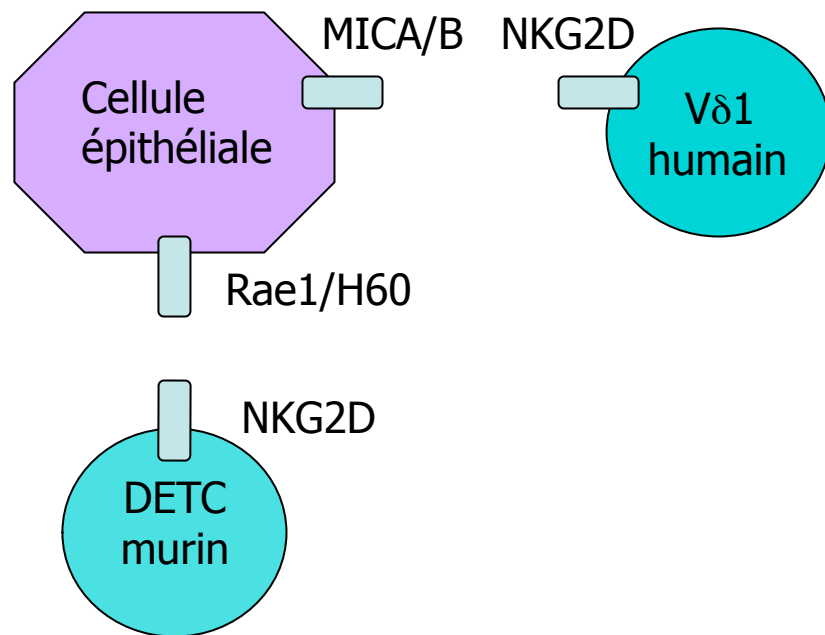
Pendant le stade d'initiation de la réponse immune, les cellules $T\gamma\delta$ modulent l'immunité innée (NK et macrophages) et adaptative (cellules $T\alpha\beta$), par la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. En phase plus tardive, d'autres cellules $T\gamma\delta$ lysent les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

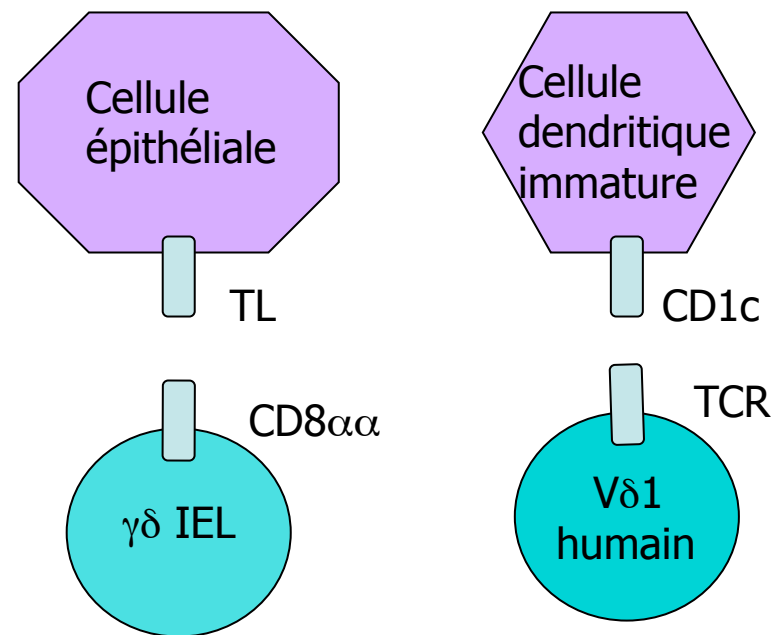
Nature des interactions entre les cellules épithéliales et les cellules $T\gamma\delta$?

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

2 types de co-récepteurs :



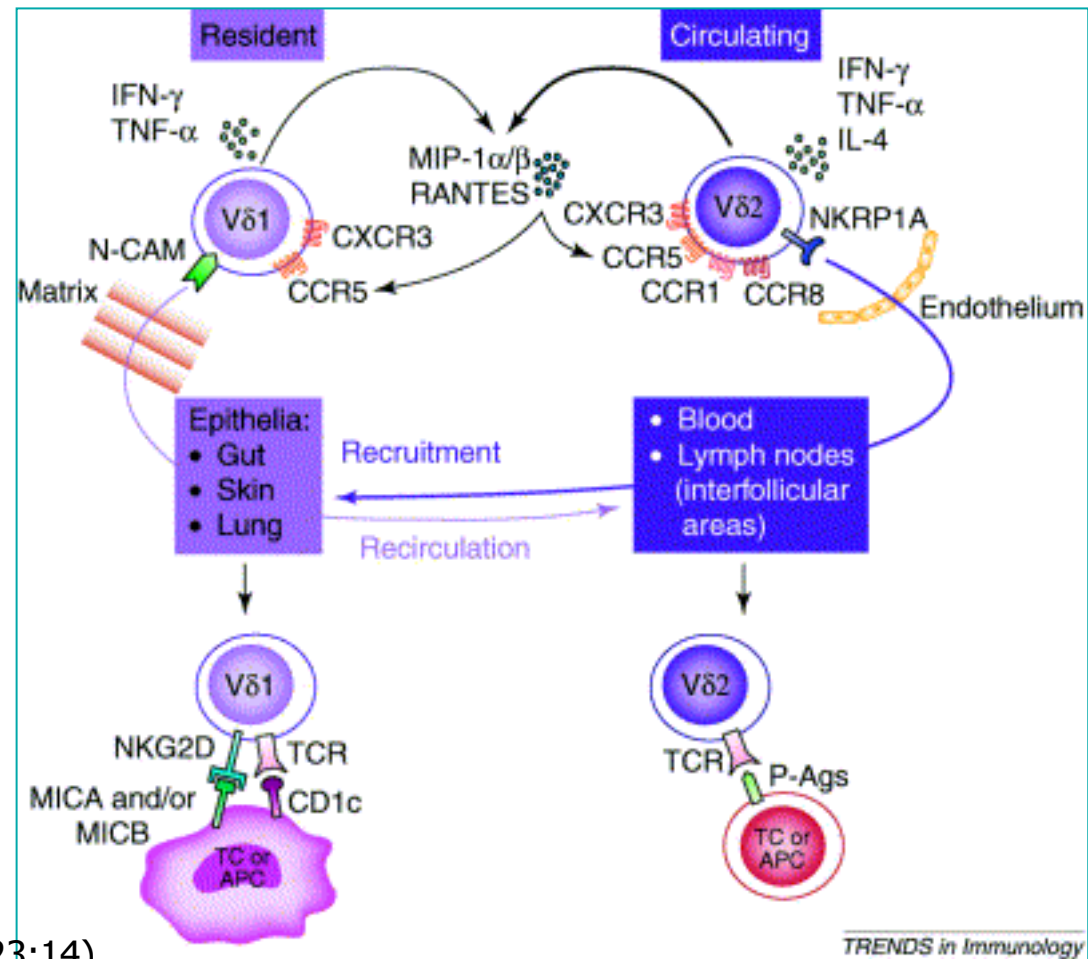
Rae1 (retinoic acid early inducible 1)
H60: Ag d'histocompatibilité mineur



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

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.

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}

- 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}

90% blood NK: CD56^{dim}

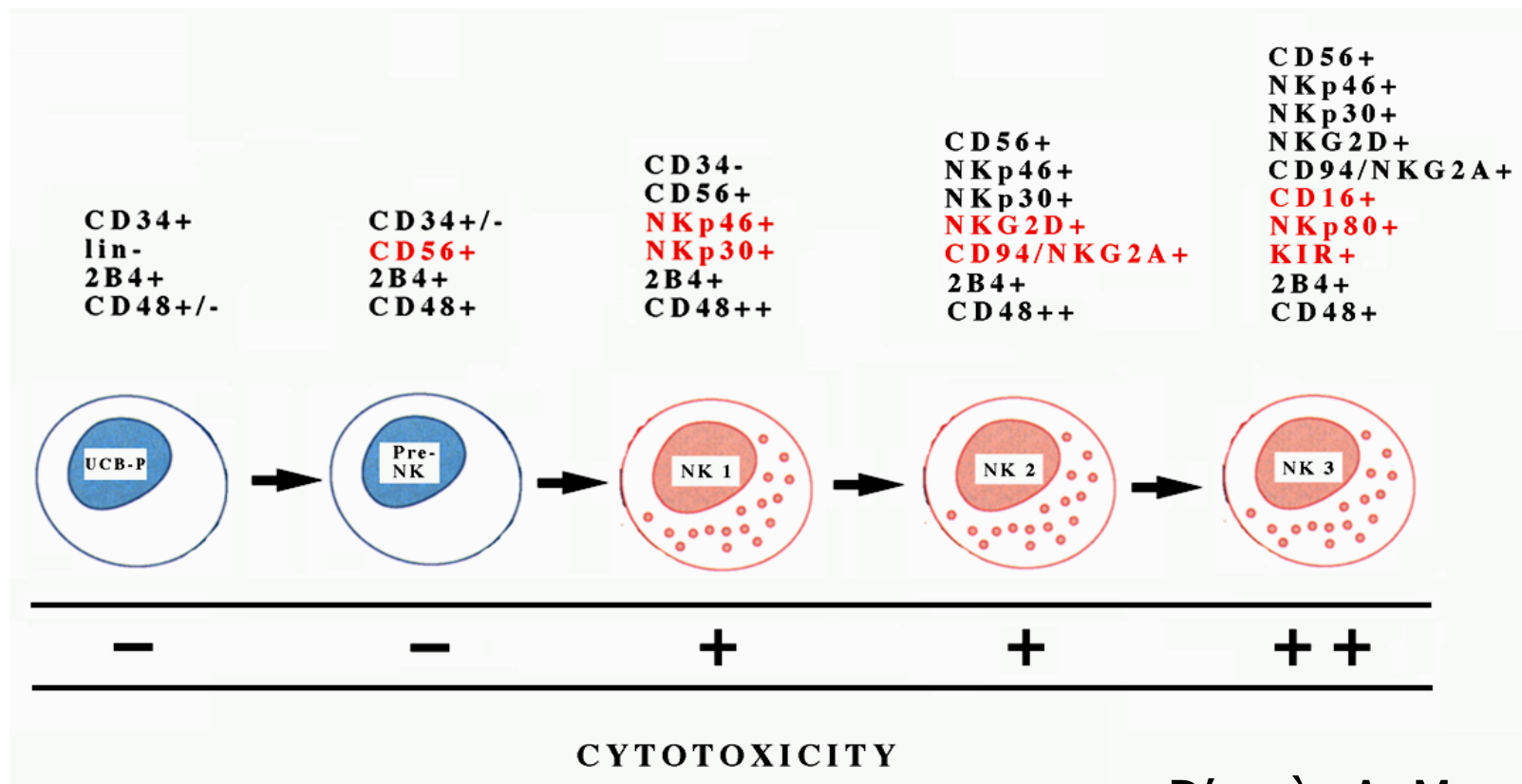
- Highly cytotoxic (10X+ perforin)
- Low cytokine production
- Low proliferation in response to IL-2
- Good binding to target cells
- Phenotype: CD16+ (ADCC), Fc γ RIII+, KIR++, CD94+, CD162R (PEN5)+, ILT2+, NKG2D+

CD56^{bright}: localized in lymphoid organs

CD56^{dim}: in blood

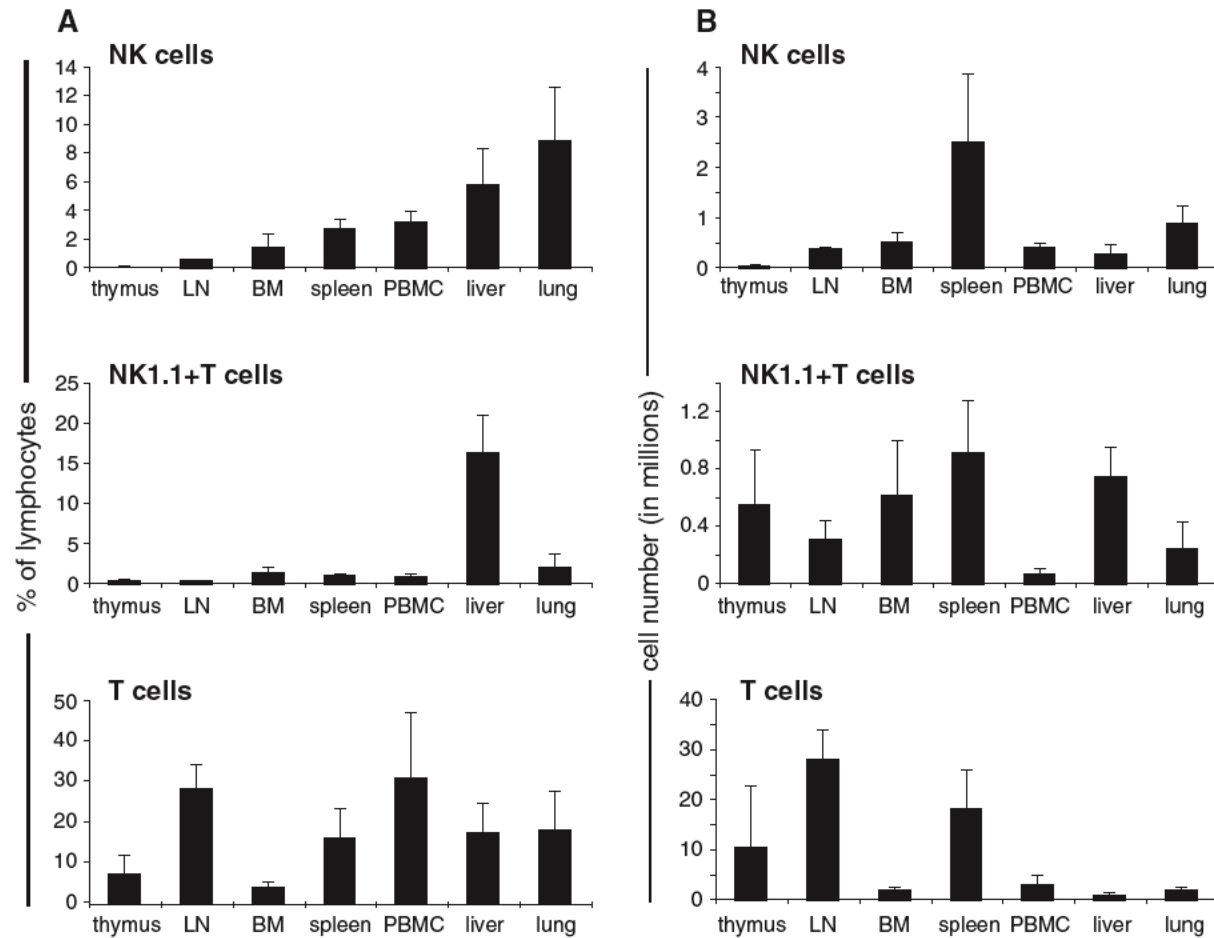
Développement des NK

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 »

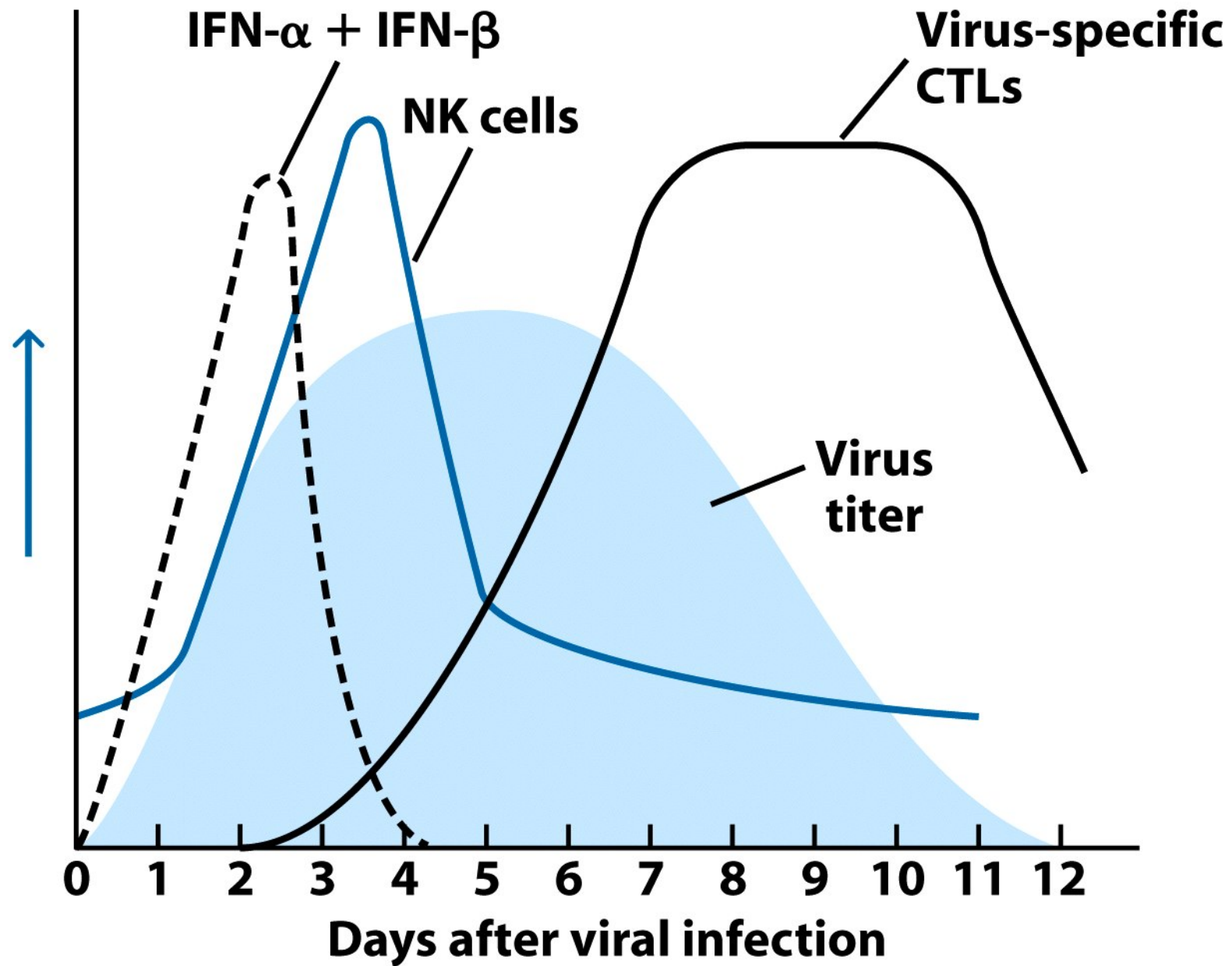


Figure 14-12
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Les récepteurs inhibiteurs reconnaissent les molécules de Classe I du CMH

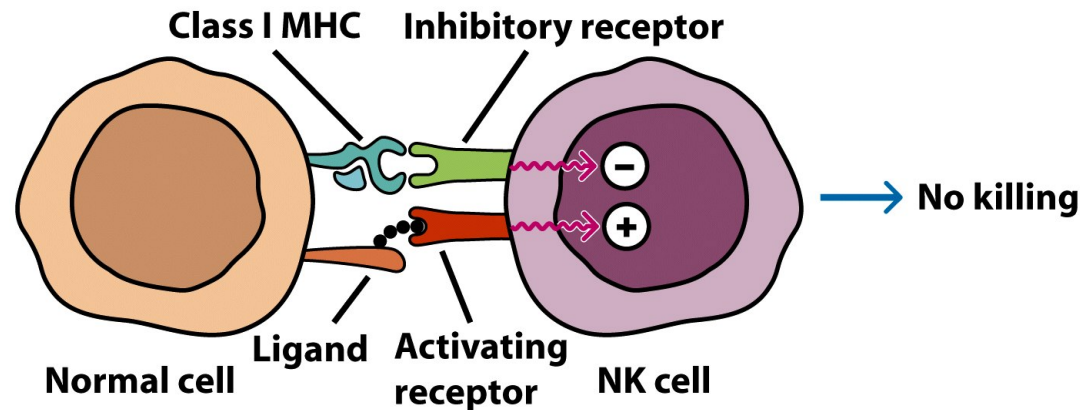


Figure 14-14a
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

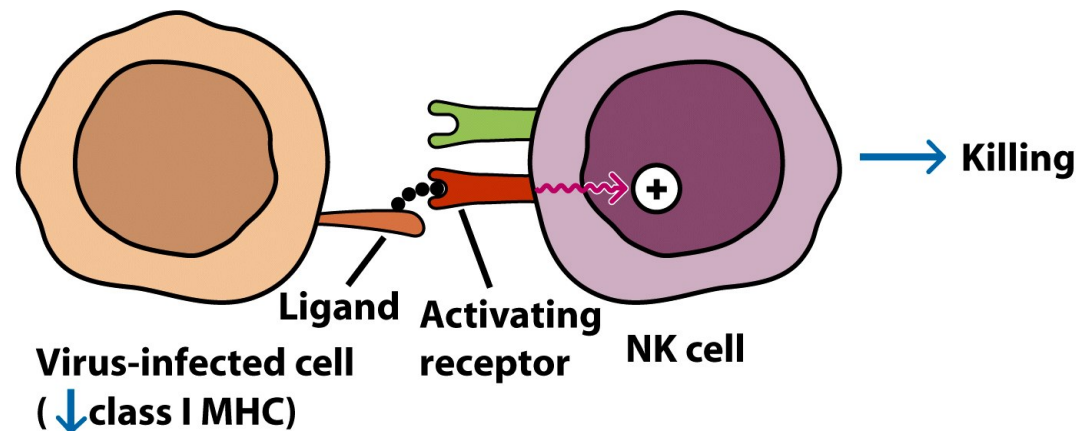
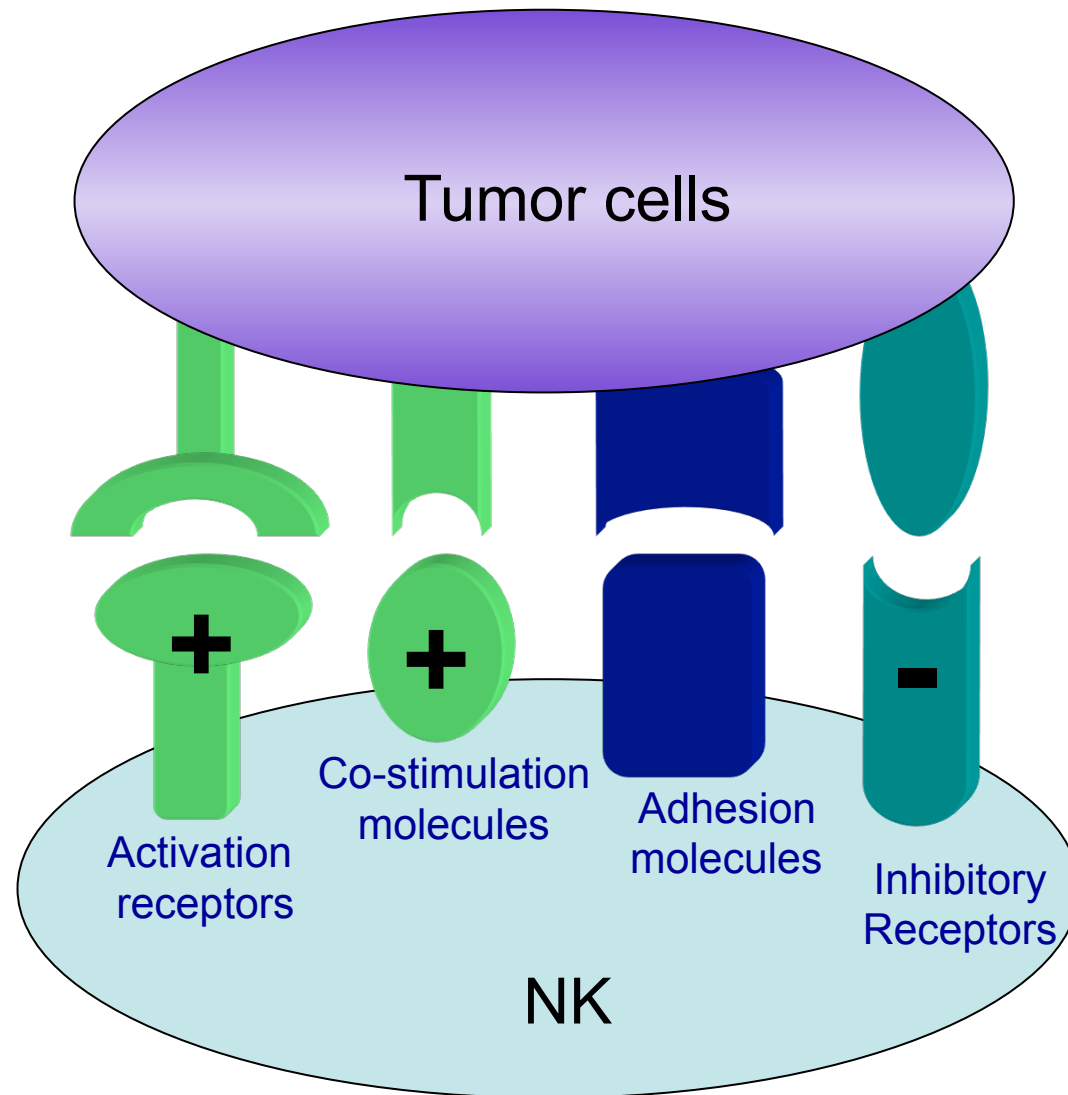


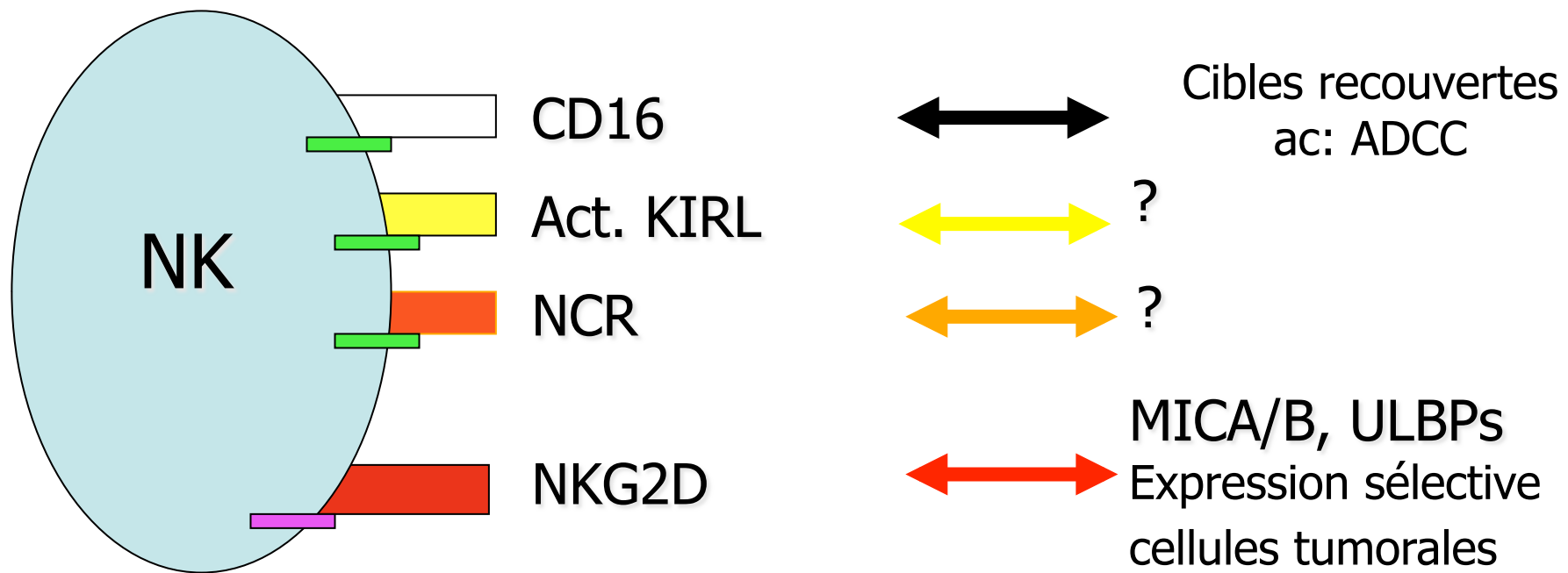
Figure 14-14b
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

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

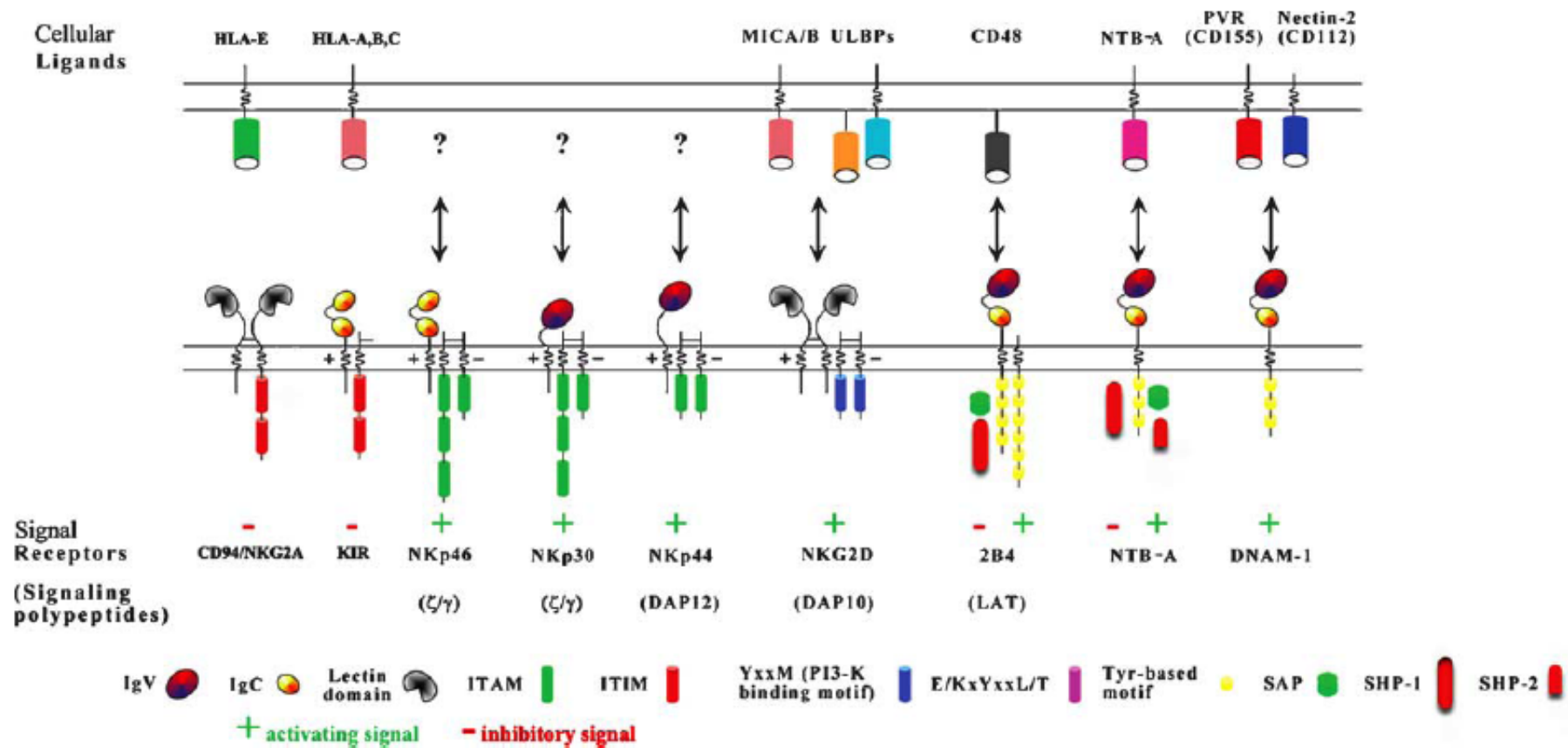


■ Molécules adaptatrices à ITAM (CD3z, FcRg, KARAP/DAP12)

■ Molécule comprenant motif YxxM (DAP10)

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

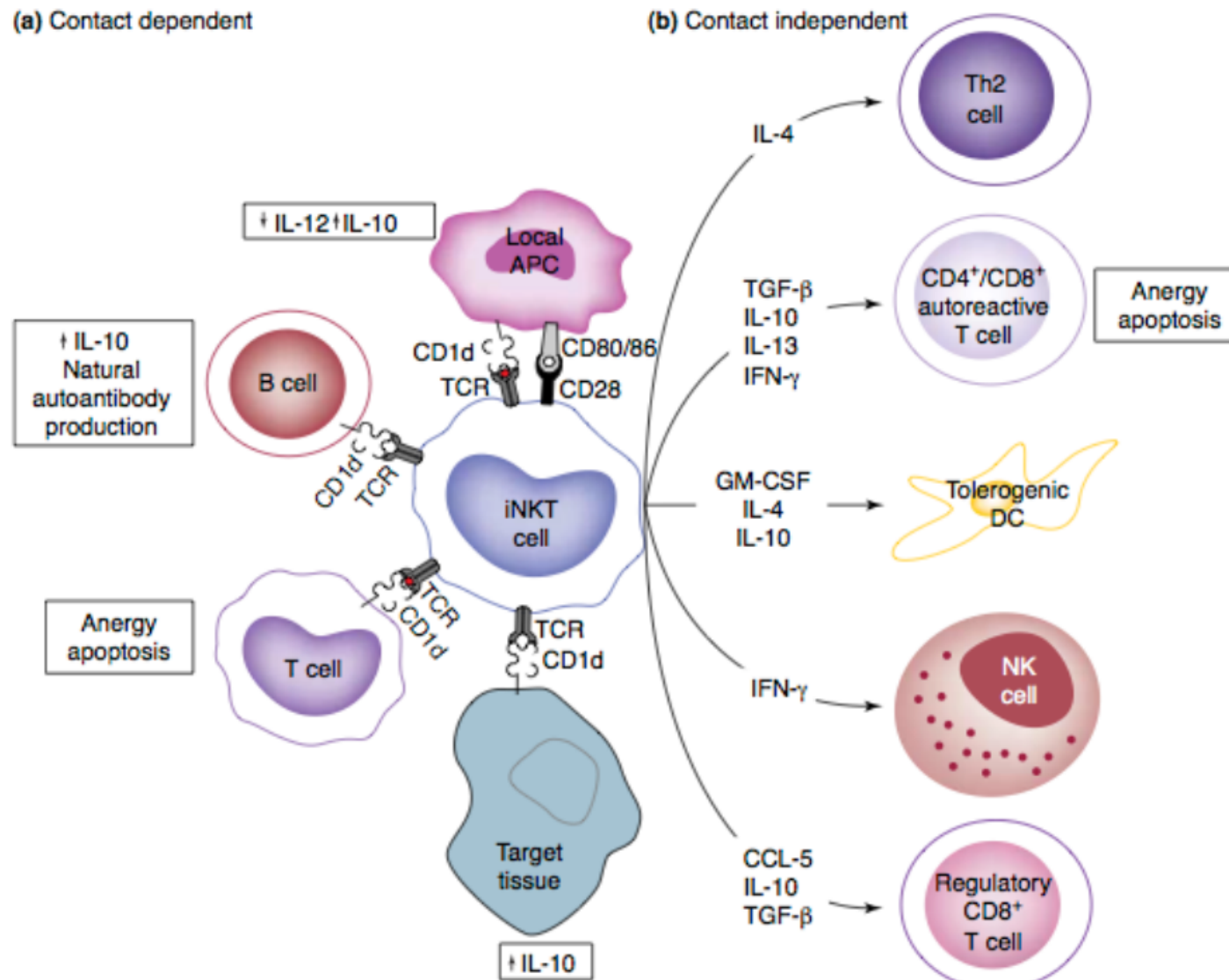
Expriment des marqueurs communs avec les cellules NK

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.

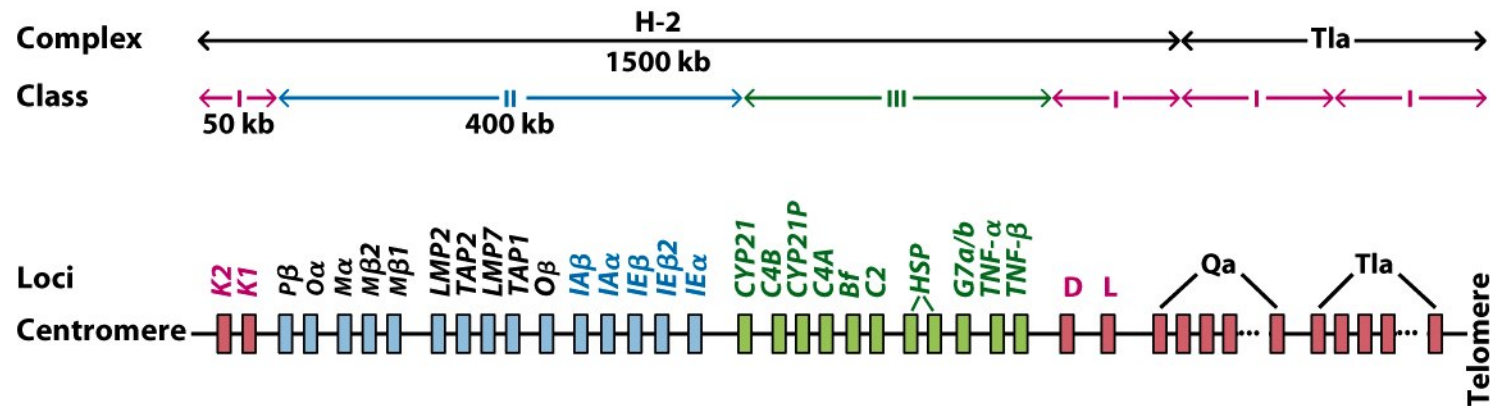
(a) Contact dependent



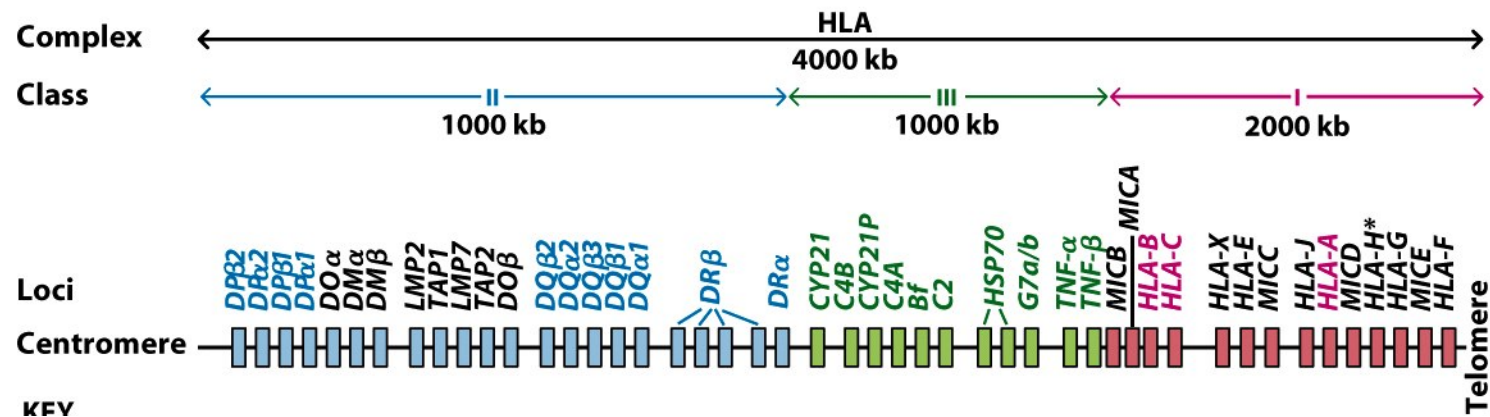
Molécules de CMH non classiques

Carte génomique du CMH murin et humain

MOUSE CHROMOSOME 17



HUMAN CHROMOSOME 6



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

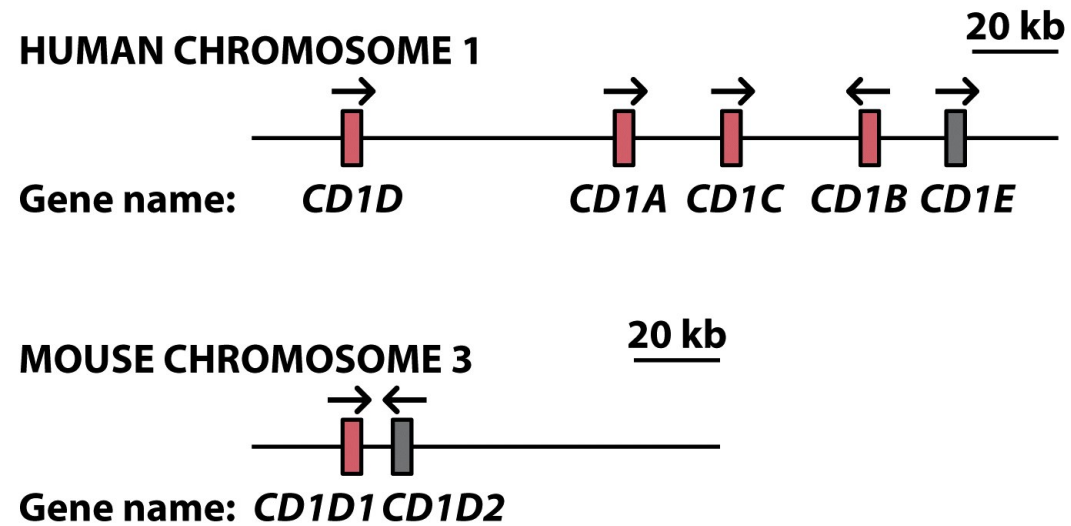


Figure 8-25a
Kuby *IMMUNOLOGY*, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

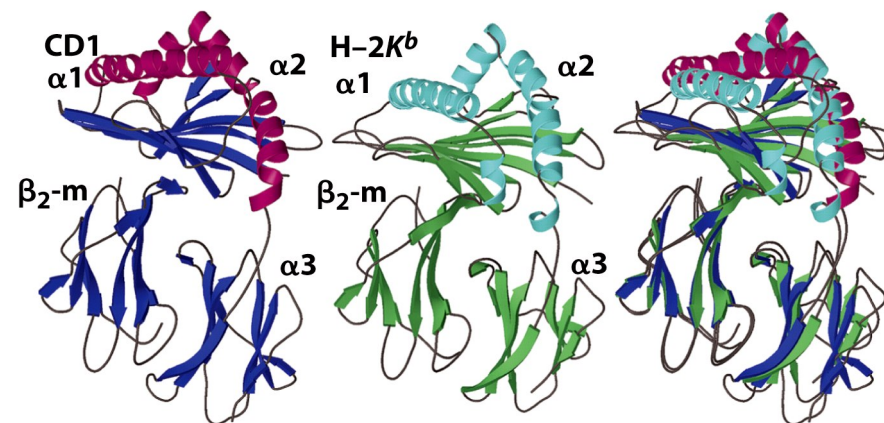


Figure 8-25b
Kuby *IMMUNOLOGY*, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Présentations non classiques

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

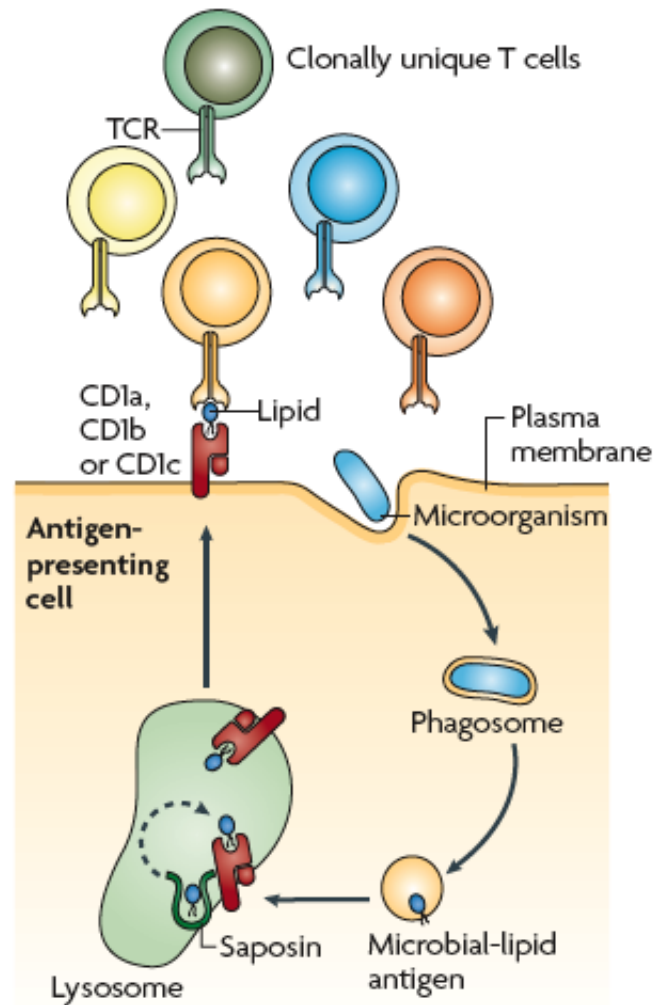
Molécules de la famille CD1 s'associent à la $\beta 2m$. Elles ont une structure similaire à celle des molécules de classe I classiques.

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

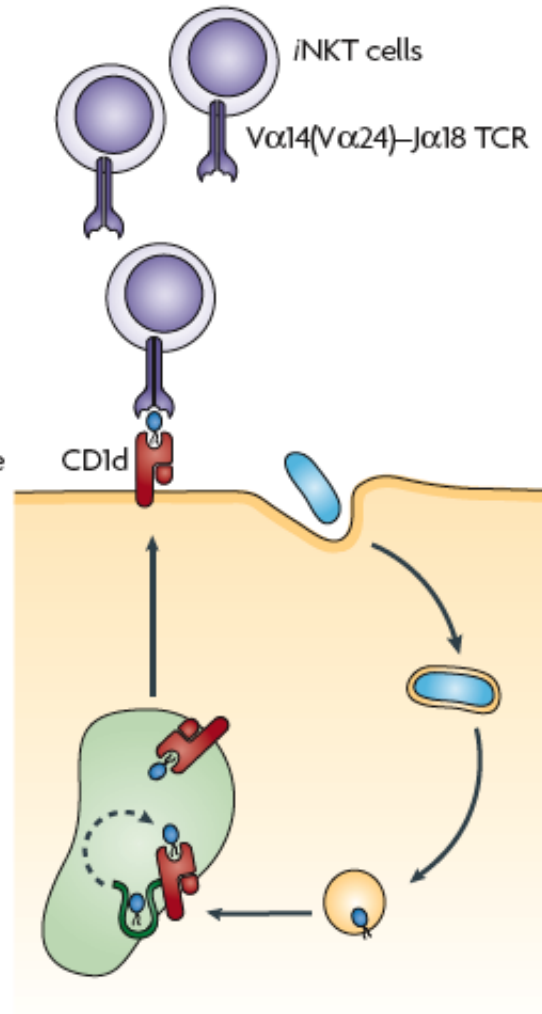
2 groupes: Groupe 1 CD1a, b, c, e
 Groupe 2 CD1d

Mécanismes d'activation des cellules T restreintes par CD1

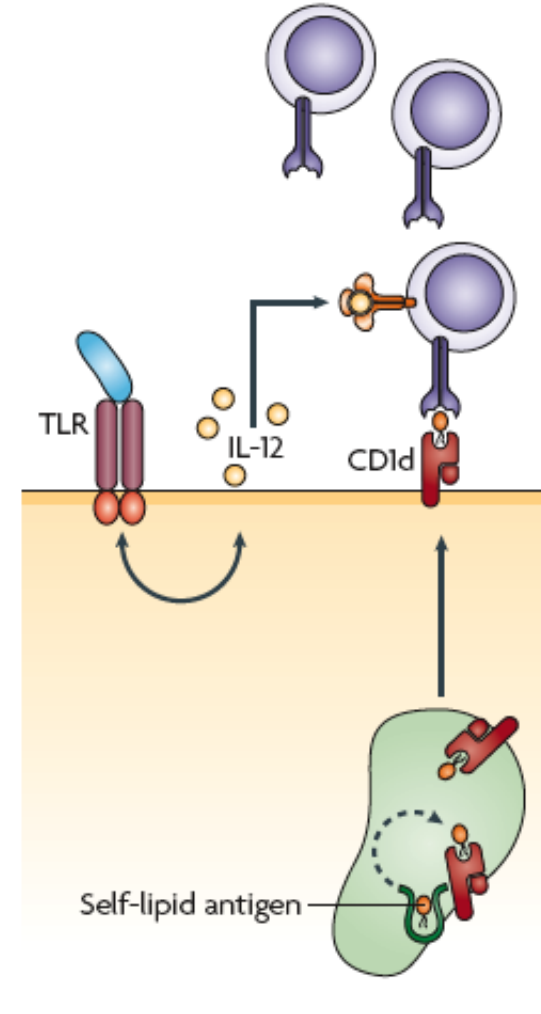
a Cognate microbial-antigen activation of T cells restricted by CD1a, CD1b or CD1c



b Cognate microbial-antigen activation of CD1d-restricted *i*NKT cells



c Cytokine-driven self-antigen activation of CD1d-restricted *i*NKT cells



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
		TCR $\gamma\delta$	phosphoAgs
NK	TCR $\alpha\beta$ - CD3-	KIR NKG2D	CMH classe I classique MICA/B-ULBP1/2/3
		NKG2A/2C	HLA-E
		ILT-2	HLA-G