



Université de Médecine et Pharmacie "Victor Babes" Timișoara
Département d'immunologie
Département des Sciences Fonctionnelles



Lymphocyte T

Cours 4



Les données fondamentales

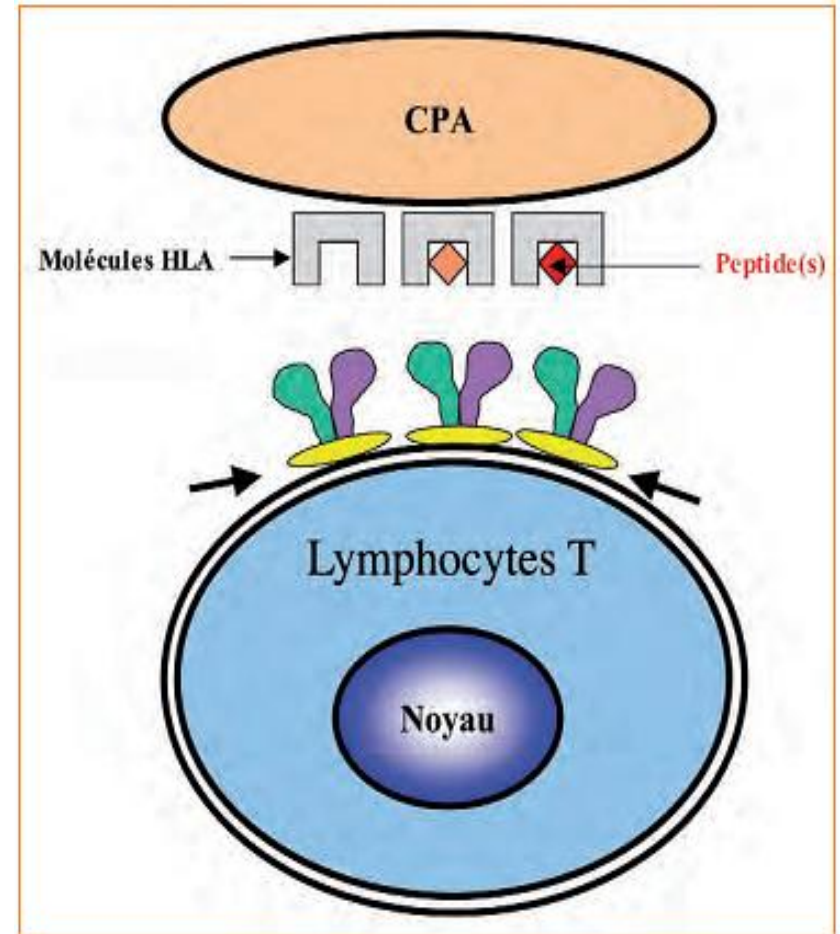
L'Homme est continuellement agressé par des agents extérieurs vivants comme les **virus**, **bactéries** ou inertes tels que les **allergènes**. Nous devons notre survie grâce à notre système immunitaire qui établit des barrières de défenses avec en première ligne une immunité innée qui permet une réaction rapide et ensuite une immunité plus élaborée et spécifique dirigée contre l'agresseur. Le lymphocyte T ou plutôt les différents lymphocytes T sont les acteurs principaux de cette réponse immunitaire spécifique appelée aussi adaptative. Mais qu'est-ce qu'un lymphocyte T ? Quels sont les moyens de les analyser ? Quel est leur rôle en pathologie ? Comment les neutraliser ?



1. Qu'est-ce qu'un lymphocyte T ?

Le lymphocyte T est une cellule essentielle du système immunitaire, **chargée** d'amplifier ou de **freiner** la réponse immune. Dans le sang périphérique, les lymphocytes T se caractérisent par l'expression d'un marqueur membranaire appelé **CD3** et un récepteur spécifique le **TCR** (T cell receptor) qui est directement impliqué dans la reconnaissance antigénique.

- Le rôle des lymphocytes T est surtout d'amplifier la réponse immune(par la production de cytokines ++) et/ou stimuler les cellules 'tueuses' (macrophages, PN, NK, sécrétion d'anticorps par les B) après avoir reconnu par leur unique TCR des complexes HLA+peptide présentés par une cellule professionnelle (dendritique surtout).
- Le TCR est composé d'une chaîne α et d'une chaîne β qui flottent sur des radeaux lipidiques





Les lymphocytes T comme les autres cellules hématopoïétiques sont issus d'une cellule souche totipotente présente dans la moelle osseuse.

Les progéniteurs des lymphocytes T migrent au sein d'un organe spécialisé, le thymus, afin d'y terminer leur différenciation en cellules T matures.

Schématiquement, il existe différents types de lymphocytes T:

- lymphocytes T effecteurs
- lymphocytes T régulateurs
- lymphocytes NK.

	CD	Fonction	Commentaires
Molécules associées aux récepteurs TCR (T Cell Receptor)	CD3	Chaine associée au TCR	Commun à tous les lymphocytes T (rôle dans la transduction du signal)
	CD4	Chaine associée au TCR	Lymphocytes T dit « helper » ou auxiliaires ; rôle dans la reconnaissance de l'antigène présenté par le complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) de type II
	CD8	Chaine associée au TCR	Lymphocytes CD8s T dit cytotoxiques ; rôle dans la reconnaissance de l'antigène présenté par le complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) de type I
	CD45RA	Tyrosine kinase (module la transduction du signal TCR)	Lymphocytes T naïfs qui n'ont pas encore été activés par un antigène.
	CD45RO	Tyrosine kinase (module la transduction du signal TCR)	Lymphocytes T mémoires qui ont déjà rencontré un antigène.

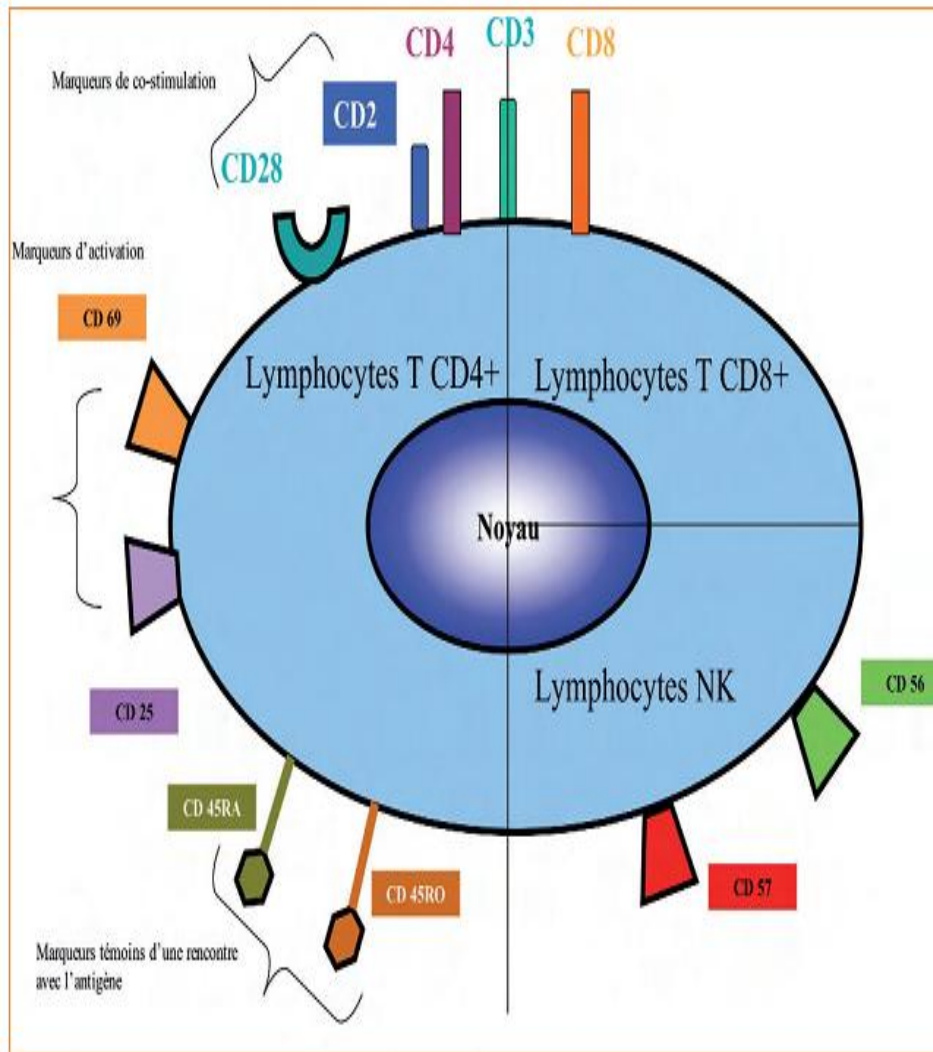
	CD	Fonction	Commentaires
Récepteurs de cytokines	CD25	Chaîne alpha du récepteur pour l'interleukine 2	Les lymphocytes T activés expriment CD25 et aussi d'autres marqueurs : CD69. Les lymphocytes T régulateurs sont des lymphocytes T CD4+ qui expriment fortement CD25
Co-stimulation entre cellules adjacentes	CD28 ou CD40L	Fixation au CD40	Molécules de costimulations nécessaires à l'activation du lymphocyte T. Il existe d'autres molécules de costimulation : CD2, CD134.
	CD56, CD57	Fixation à la molécule d'adhésion N-CAM	Lymphocytes « Natural Killer » capables de détruire une cellule en utilisant des molécules pouvant perforer la membrane cellulaire tels que perforines et granzymes.

Les marqueurs de différenciation ou
«clusters of differentiation».

Le **CD3** caractérise les lymphocytes T.
Deux sous-populations lymphocytaires
T se distinguent par leur CD :

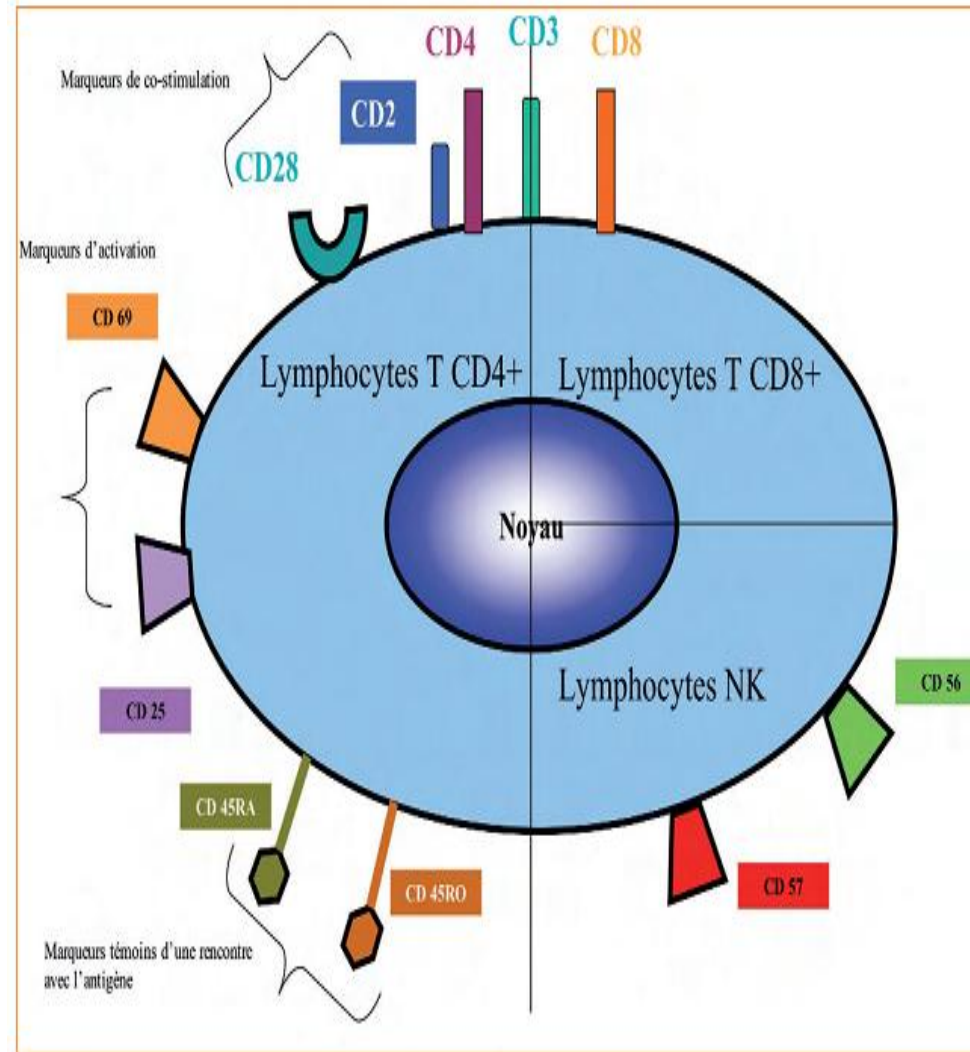
- les **CD4+** sont les lymphocytes
T auxiliaires et
- les **CD8+** les lymphocytes
T cytotoxiques.

D'autres marqueurs sont
indispensables à l'activation du
lymphocyte T: **CD2** et **CD28**.

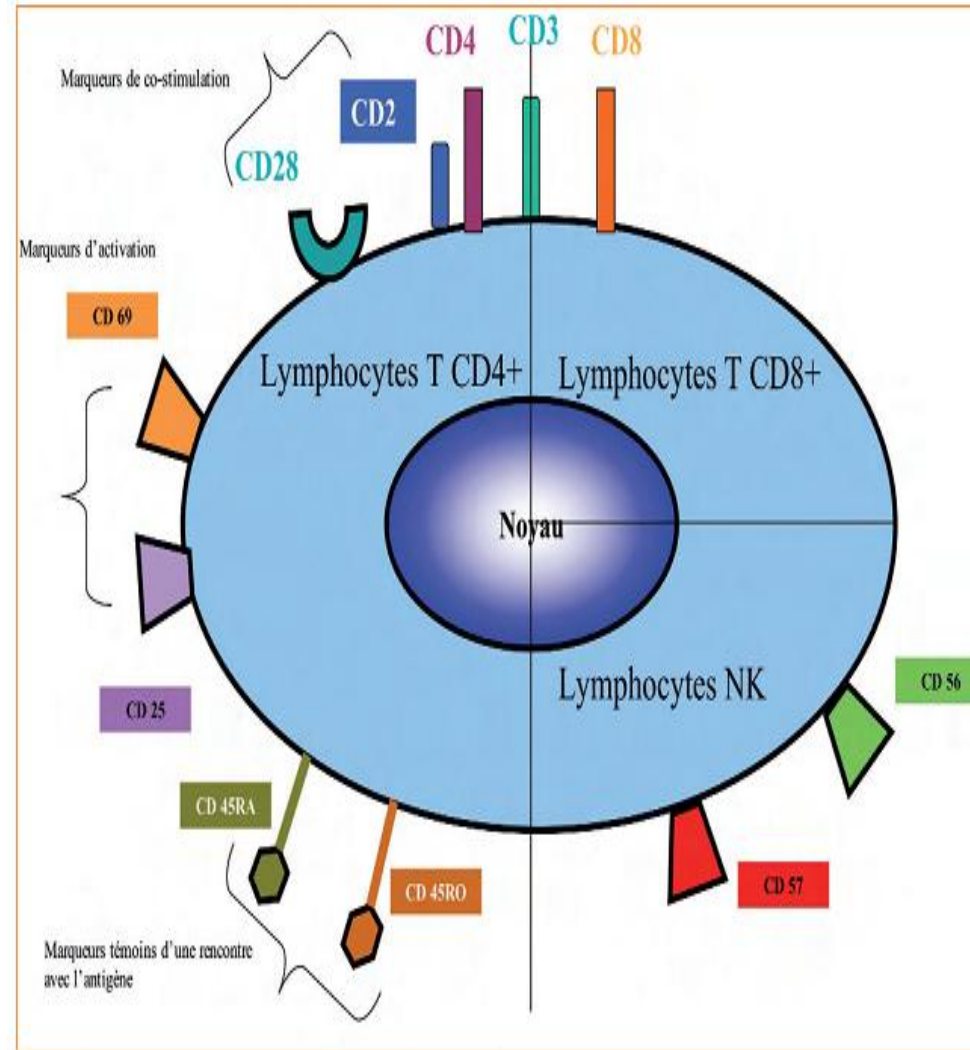


Après une stimulation antigénique, les lymphocytes T expriment des marqueurs d'activation (**CD25**, **CD69**...).

Certains de ces lymphocytes activés deviennent des lymphocytes mémoires caractérisés par l'expression de **CD45RO** alors que les lymphocytes non stimulés par un antigène sont dit naïfs et expriment **CD45RA**.



Une sous-population régule l'activation des lymphocytes T, ce sont les T régulateurs qui expriment fortement CD25. Les lymphocytes cytotoxiques Natural Killer expriment CD56 et CD57.





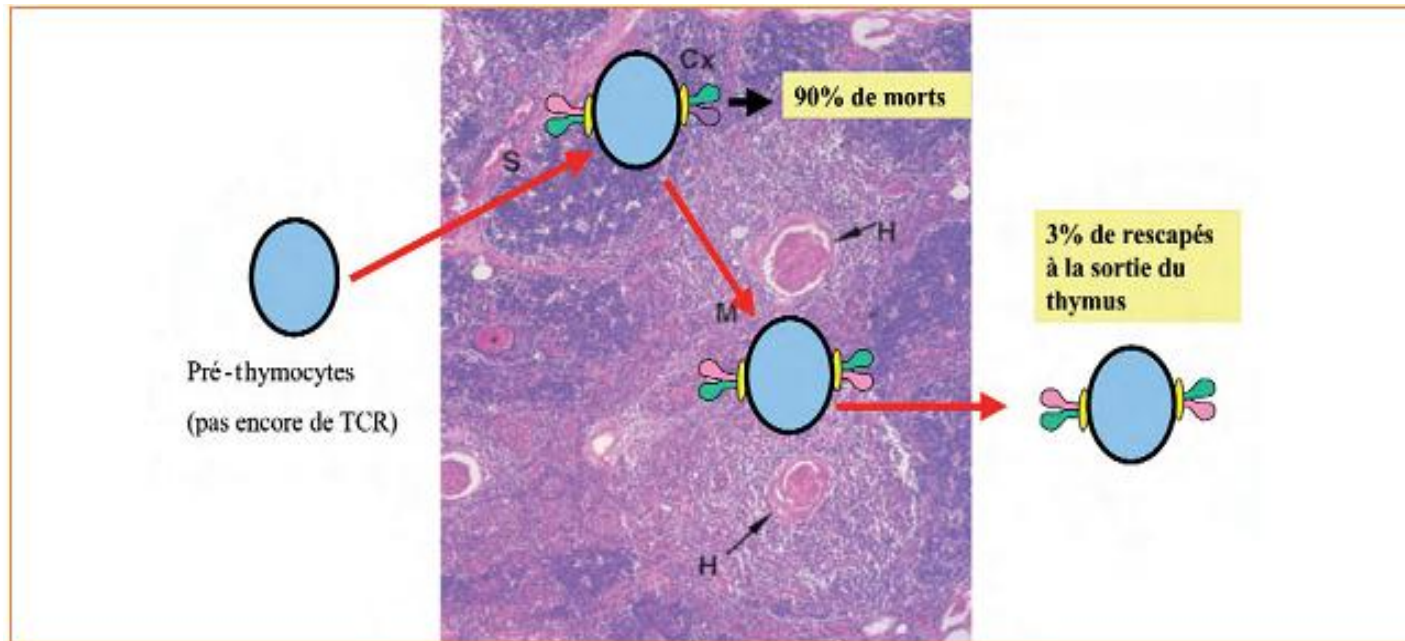
2. Comment est éduqué un lymphocyte T ?

Une fois dans le thymus, les cellules souches se différencient en lymphocytes T thymiques appelés **thymocytes** sous l'effet du micro-environnement épithélial thymique. Au cours de ce processus de différenciation, les thymocytes migrent de la périphérie (cortex) vers le centre (medulla) du thymus.

Les cellules épithéliales et mésenchymateuses qui composent l'espace interlobulaire de la capsule thymique expriment des molécules de surface telles que le complexe majeur d'histocompatibilité (HLA I ou II) et produisent des cytokines qui favorisent la maturation des thymocytes. Les thymocytes passent ainsi d'un stade immature caractérisé par l'absence d'expression des marqueurs CD3, CD4 et CD8 à un stade de transition double positif pour CD4 et CD8.

L'éducation/sélection des lymphocytes T dans l'école thymique se fait en deux temps :

- Le "primaire" : dans la corticale thymique (Cx) où l'expression des TCR a lieu;
- Le "secondaire" dans la médullaire thymique (M, avec ses corpuscules de Hassal: H).





Les étapes de sélection thymique

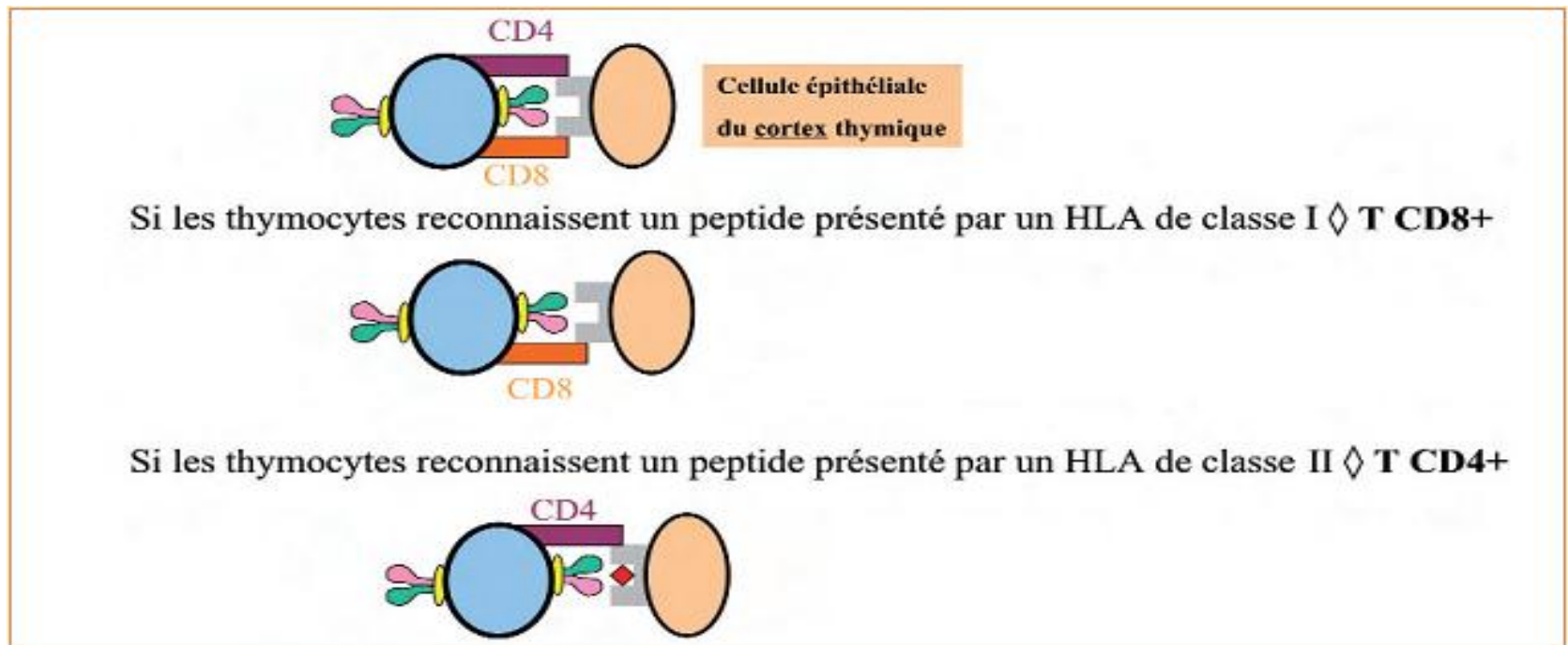
Un processus de maturation des thymocytes s'effectue qui implique une double sélection. La **sélection positive** encore appelée **éducation thymique** est un processus qui veille à ce que seules les cellules T dont les TCR possèdent une affinité modérée pour les molécules HLA puissent continuer leur maturation.

A l'inverse les cellules qui possèdent une très forte ou très faible affinité pour les molécules HLA mourront par apoptose d'où le nom de **sélection négative**.

Les thymocytes se différencient en **lymphocytes T matures CD4+ ou CD8+** qui sortent du thymus pour circuler dans le système périphérique (sang, organes lymphoïdes).

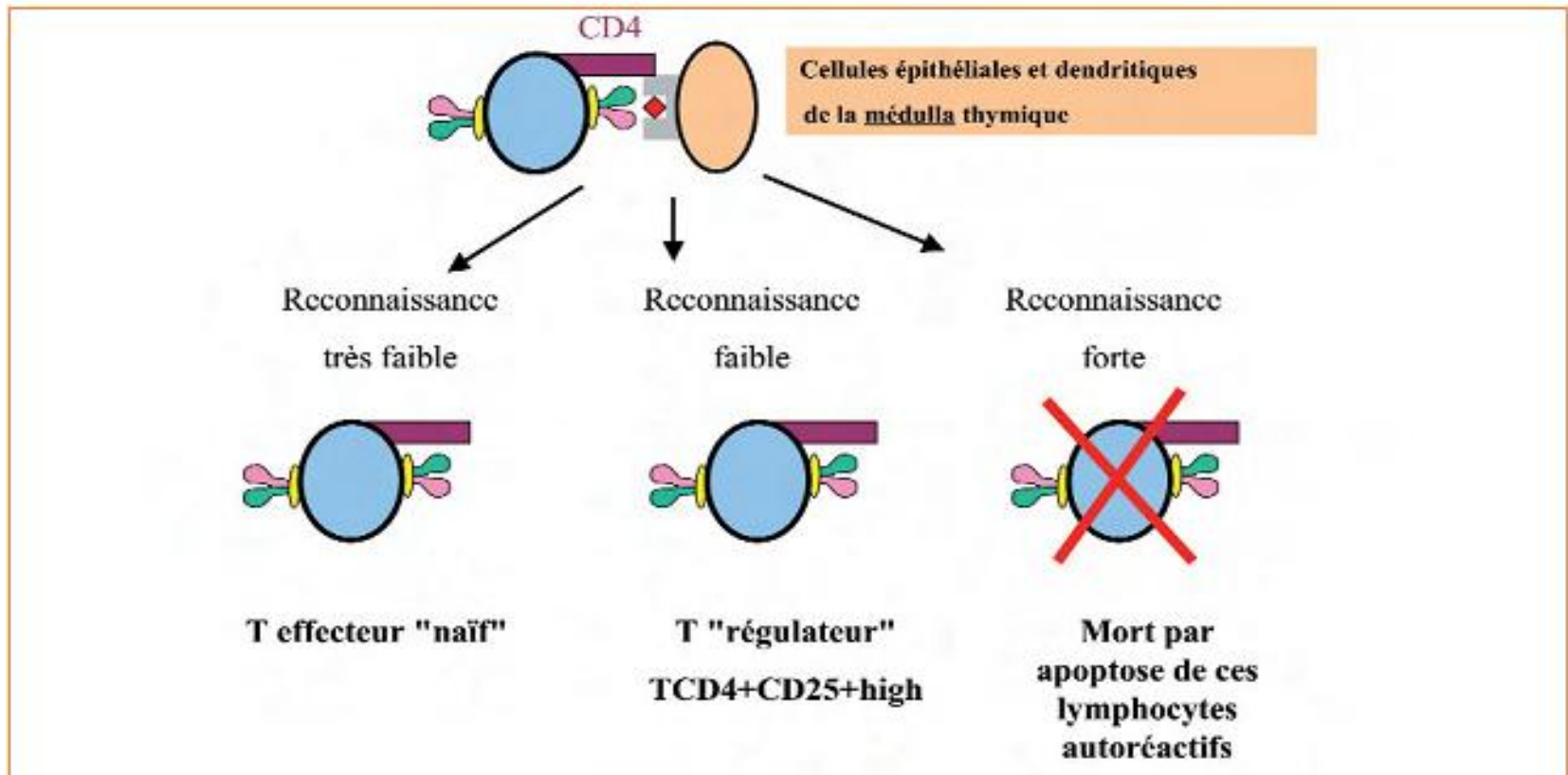
Pendant la **sélection positive**, seuls les 10% de thymocytes (CD4+CD8+) (lymphocytes T thymiques) capables de reconnaître une molécule HLA auront le droit de survivre.

Selon le type de molécule HLA utilisé pour présenter l'antigène, ils deviendront lymphocytes T CD4 ou TCD8.



La sélection négative.

Seuls les 3% de thymocytes CD4 ou CD8 (lymphocytes T thymiques) ne reconnaissant que "faiblement" les complexes HLA+peptides, survivront.



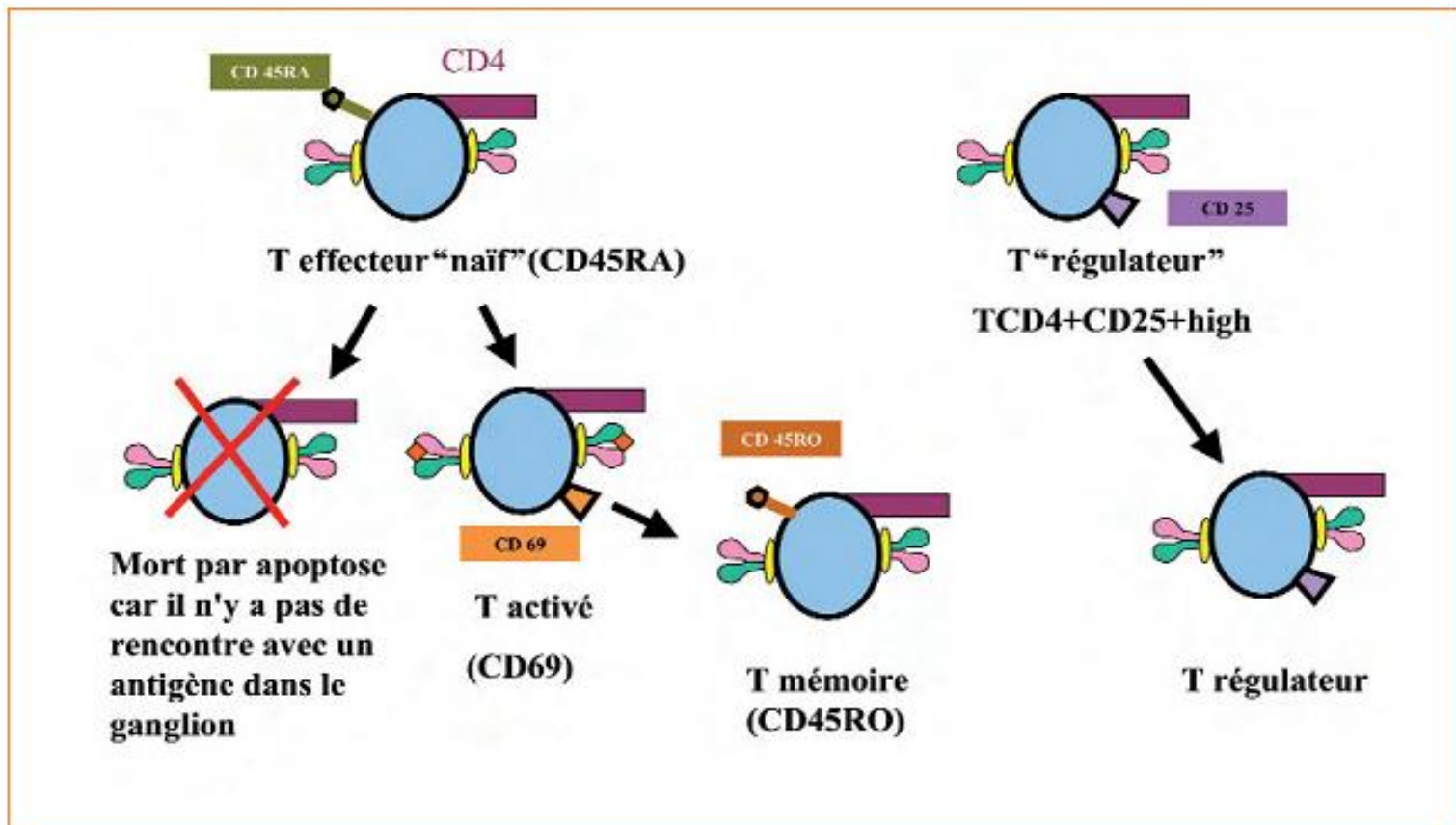


La migration des lymphocytes T matures naïfs hors du thymus

Ces lymphocytes T sortant du thymus sont dans un état dit "naïf" car ils n'ont pas encore rencontré leur antigène spécifique et ils se caractérisent par l'expression du marqueur CD45RA.

C'est à l'extérieur du thymus que les lymphocytes T sont capables de reconnaître plus d'un milliard d'antigènes différents.

Les T naïfs produits en permanence dans le thymus ont quelques jours pour rencontrer un peptide présenté **efficacement** dans un **ganglion** **sinon**, ils meurent.





La reconnaissance antigénique par un récepteur spécifique (TCR)

Cette reconnaissance d'un antigène spécifique par le lymphocyte T est assurée par le TCR qui est composé de deux chaînes peptidiques hétérogènes soit $\alpha\beta$ soit $\gamma\delta$.

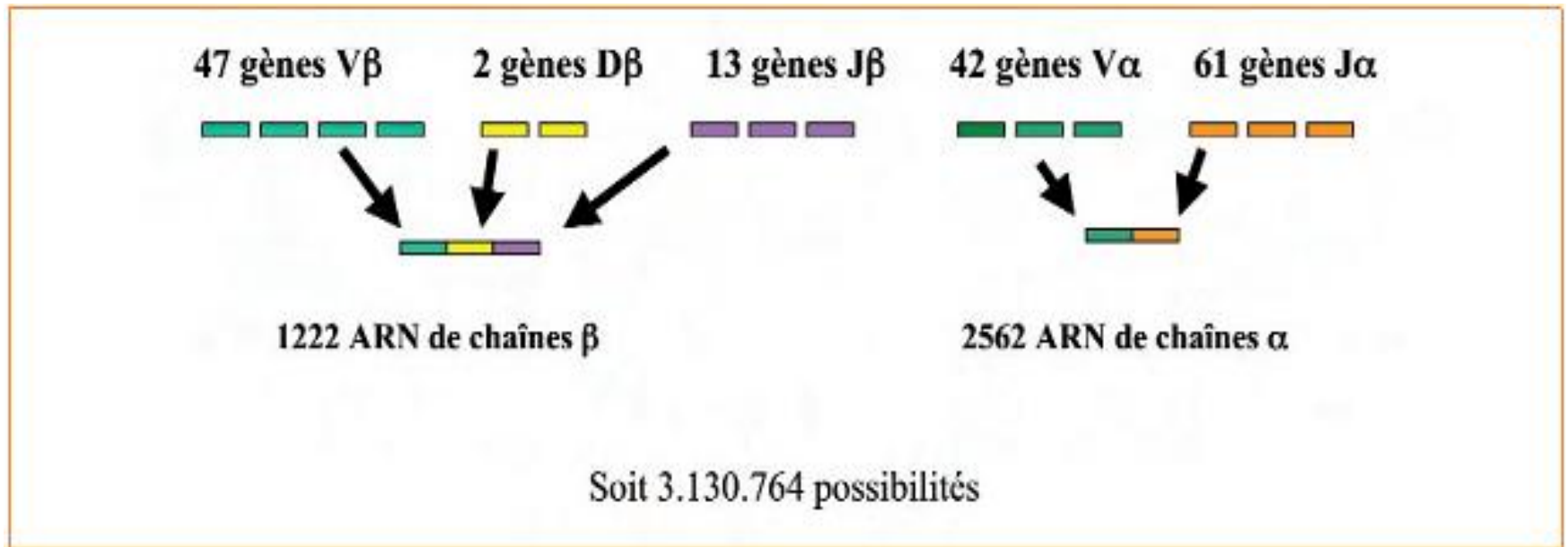
La diversité des cellules T apportée par leur TCR est essentielle pour assurer une protection contre un large panel d'antigènes.

C'est au moment du réarrangement des chaînes $\alpha\beta$ du TCR dans le thymus, que cette diversité est générée.

Le réarrangement pourrait être comparé à la combinaison d'un code à plusieurs chiffres.

Le nombre de combinaison possible est très important mais seul le code exact permet une correspondance parfaite des composants du verrou qui en permet l'ouverture.

Le récepteur T (= TCR) est synthétisé "au hasard" dans le thymus par recombinaison de gènes VDJ (chaîne β)  ou VJ (chaîne α) .



- Chaque lymphocyte T $\alpha\beta$ a la capacité de reconnaître certains peptides, de manière très spécifique, qui lui seront présentés par une cellule professionnelle de la présentation antigénique (CPA).

Toutefois, un même TCR $\alpha\beta$ peut lier, bien qu'avec une affinité plus faible, des dizaines de milliers d'autres "couples" HLA.

Cette inévitable polyspécificité des TCR est souhaitable, car la probabilité qu'un T naïf arrivant dans un ganglion trouve par "hasard" et d'emblée le couple peptide + HLA pour lequel il a le plus d'affinité est presque nulle, alors qu'il faut une stimulation par le TCR à ce T naïf pour survivre.

- Les lymphocytes T $\gamma\delta$ qui sont le plus souvent CD4- CD8-, sont en général spécifiques d'antigènes non présentés par des HLA, par exemple la protéine du stress Hsp65 des mycobactéries.

Il s'agit d'une variété de lymphocytes T encore ancestrale, surtout exprimés dans les épithéliums, qui ne reconnaissent qu'un nombre restreint d'antigènes.

La rencontre entre lymphocyte T et CPA s'effectue dans les organes lymphoïdes secondaires.



3. Comment est activé un lymphocyte T dans les organes lymphoïdes secondaires ?

Les lymphocytes T sortis du thymus entrent dans un circuit empruntant en alternance les vaisseaux sanguins et lymphatiques, qui leur permettent de passer régulièrement dans les organes lymphoïdes secondaires (ganglions, rate).

Dans un organe lymphoïde, les antigènes pathogènes sont présentés par les CPA aux lymphocytes T.



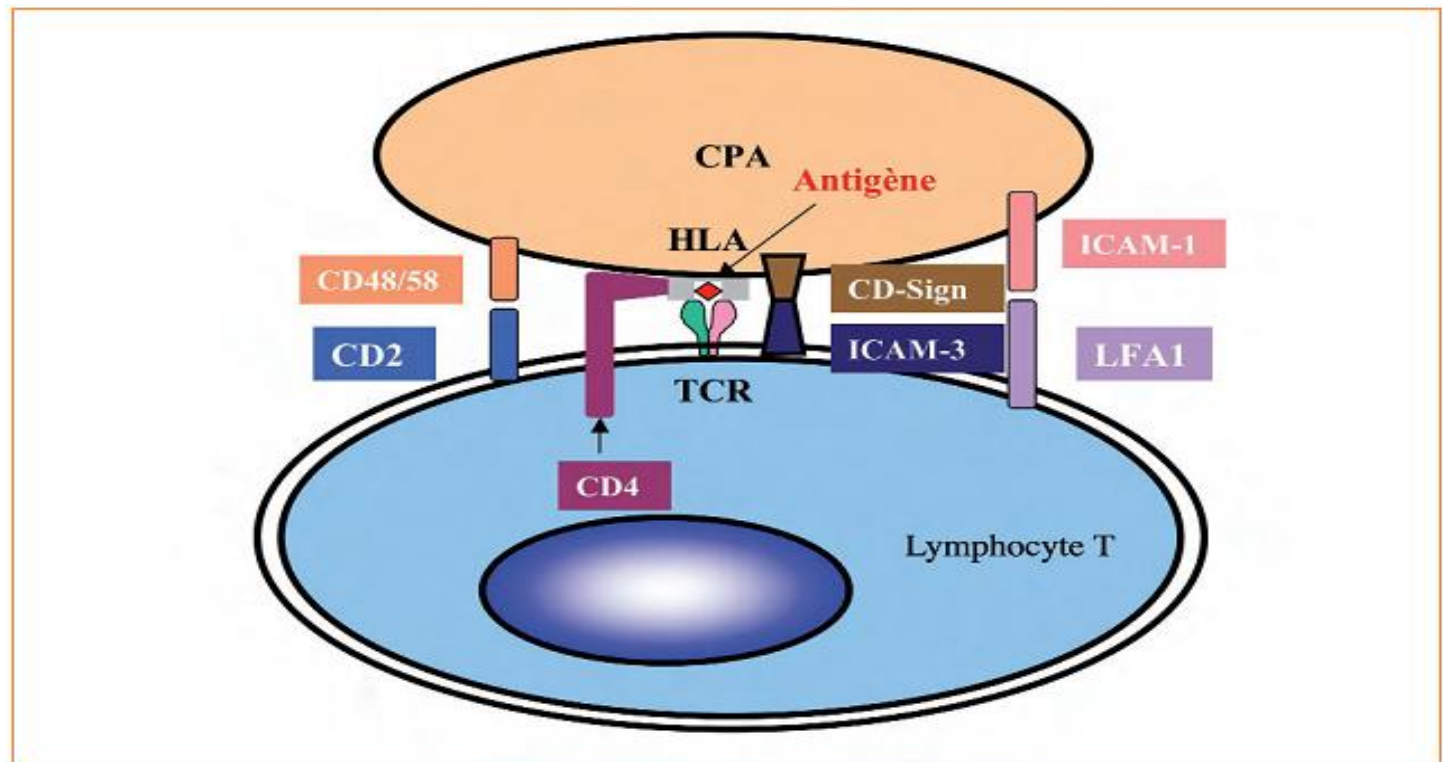
Les antigènes sont présentés aux lymphocytes T par des cellules présentatrices de l'antigène (CPA).

Les CPA expriment à leur surface des molécules HLA de classe I et II qui lient les peptides antigéniques. La reconnaissance de l'antigène par les cellules T CD8+ est restreinte aux molécules HLA-I tandis que les lymphocytes T CD4+ sont activés par les peptides couplés aux molécules HLA-II.

La co-localisation entre le TCR, le HLA, les molécules d'adhésion et les molécules de co-stimulation forment une zone de contact étroite entre les cellules appelée la **synapse immunologique**.

Le “baiser” TCR / peptide + MHC doit être stabilisé. Expression de molécules d’adhésion complémentaires :

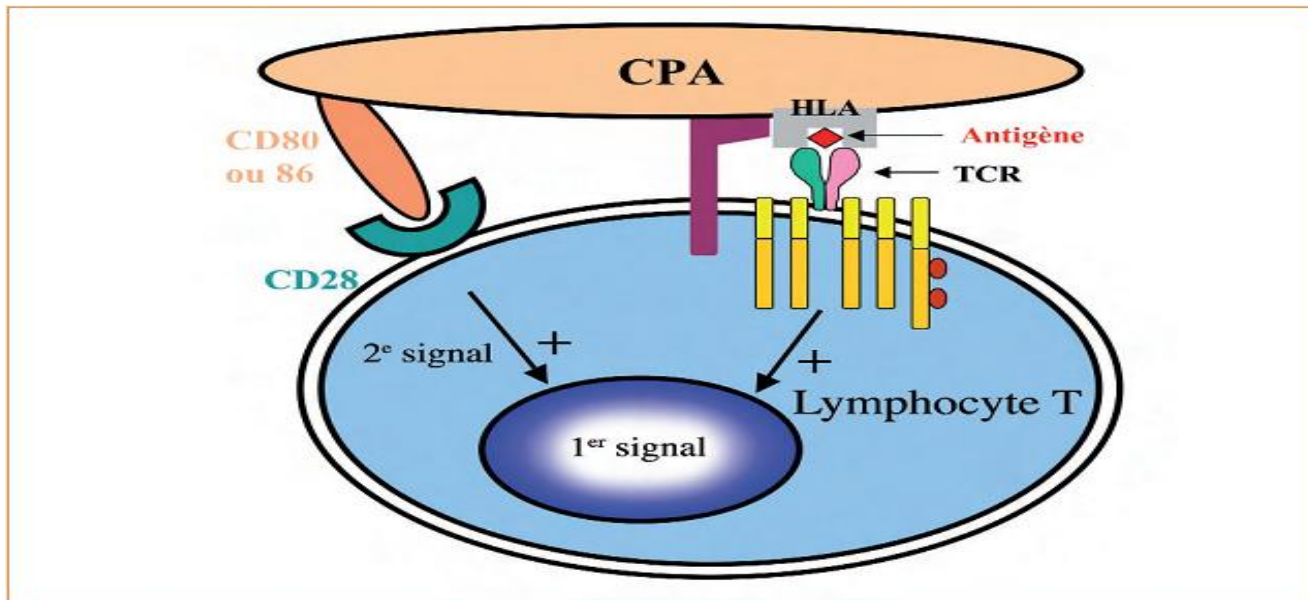
- Le 1^{er} signal est induit par le contact TCR/peptide + HLA.
- Le contact entre le LT et la CPA est stabilisé par des molécules d'adhésion.



■ **Le 1^{er} signal d'activation.** La liaison HLA et TCR induit un premier signal mais qui n'est cependant pas suffisant pour activer le lymphocyte T.

Le 1^{er} signal est donné par le contact TCR/HLA + peptide.

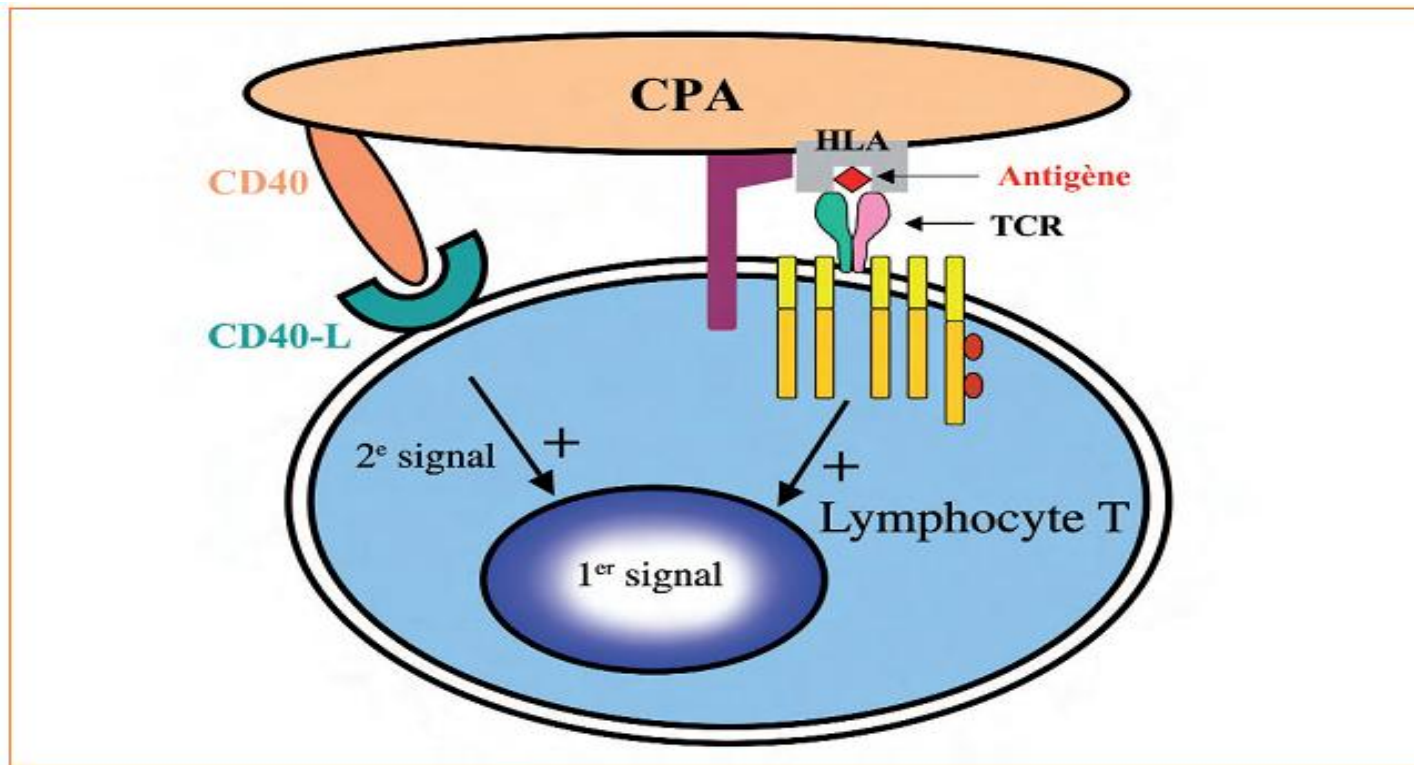
Un « **2^e signal** » pour informer le T sur la réponse à donner. La principale source de ce 2^{ème} signal est la molécule **CD28** qui lie une molécule **B7.1** ou **2** des cellules présentatrices (**CD80** ou **CD86**).



■ Les 2 signaux dits de "co-stimulation". Des facteurs de co-stimulation tels que les molécules **CD2** et **CD28** induisent un deuxième signal qui est indispensable à la transmission du signal intracellulaire aboutissant à l'activation du lymphocyte T. D'autres molécules co-stimulatrices (ICOS pour inducible co-stimulator, OX40 = **CD134**, 4-1BB = **CD137**, et **CD40L**) ont un rôle plus accessoire.

Le 1^{er} signal est donné par le contact TCR/HLA + peptide.

Un "2^e signal" pour informer le T sur la réponse à donner. Il existe en fait de nombreuses autres voies de co-stimulation (moins fortes) : CD40-CD40L (CD154), ICOS-ICOSL, OX40 = CD134, 4-1BB = CD137





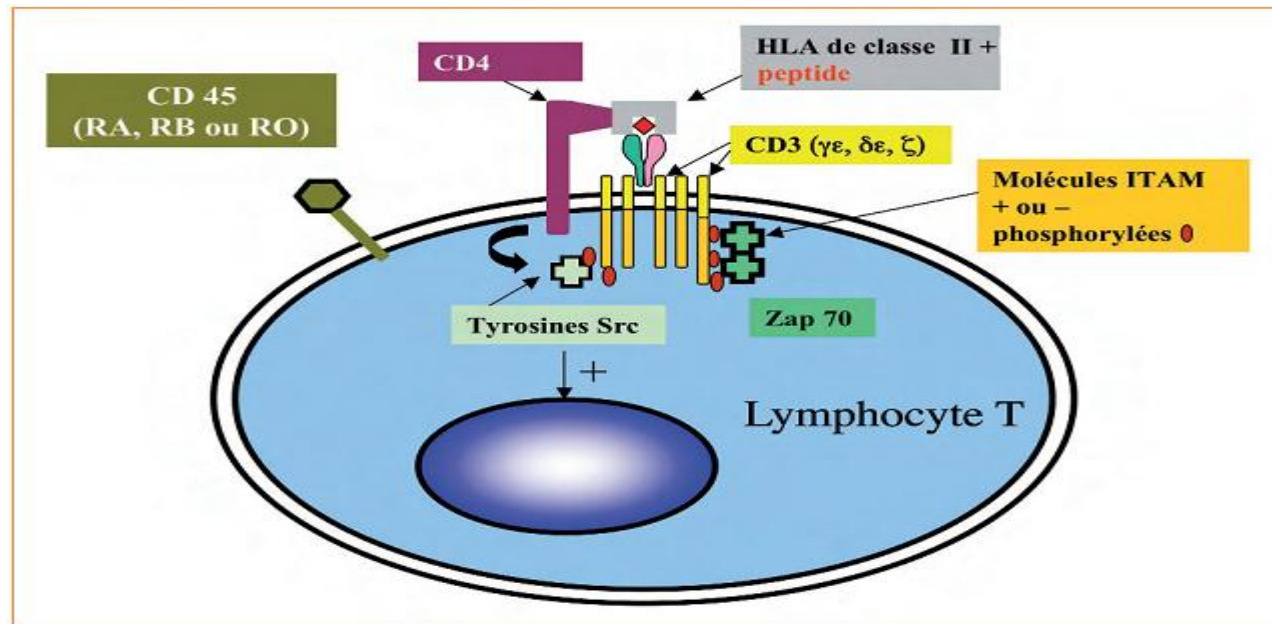
Les signaux d'activation induisent des phénomènes enzymatiques de phosphorylation (kinase) et de déphosphorylation (phosphatase) intracellulaire qui activent la "machinerie" lymphocytaire

Les CPA expriment à leur surface des molécules HLA de classe I et II qui lient les peptides antigéniques. La reconnaissance de l'antigène par les cellules T CD8+ est restreinte aux molécules HLA-I tandis que les lymphocytes T CD4+ sont activés par les peptides couplés aux molécules HLA-II.

La co-localisation entre le TCR, le HLA, les molécules d'adhésion et les molécules de co-stimulation forment une zone de contact étroite entre les cellules appelée la **synapse immunologique**.

La "gâchette" du lymphocyte T est plus ou moins "tendue" selon le degré de phosphorylation.

- Cette phosphorylation est assurée par des tyrosines-kinases : **Zap-70**, puis Src (p56 lck et p59 fyn).
- Cette phosphorylation est majorée par l'expression d'une tyrosine-kinase "de surface" appelée **CD45**, qui est + ou – active selon sa conformation: CD45RA = peu active (T naïfs); CD45RO = plus active (T mémoires)



Certaines molécules caractérisent l'activation des lymphocytes T

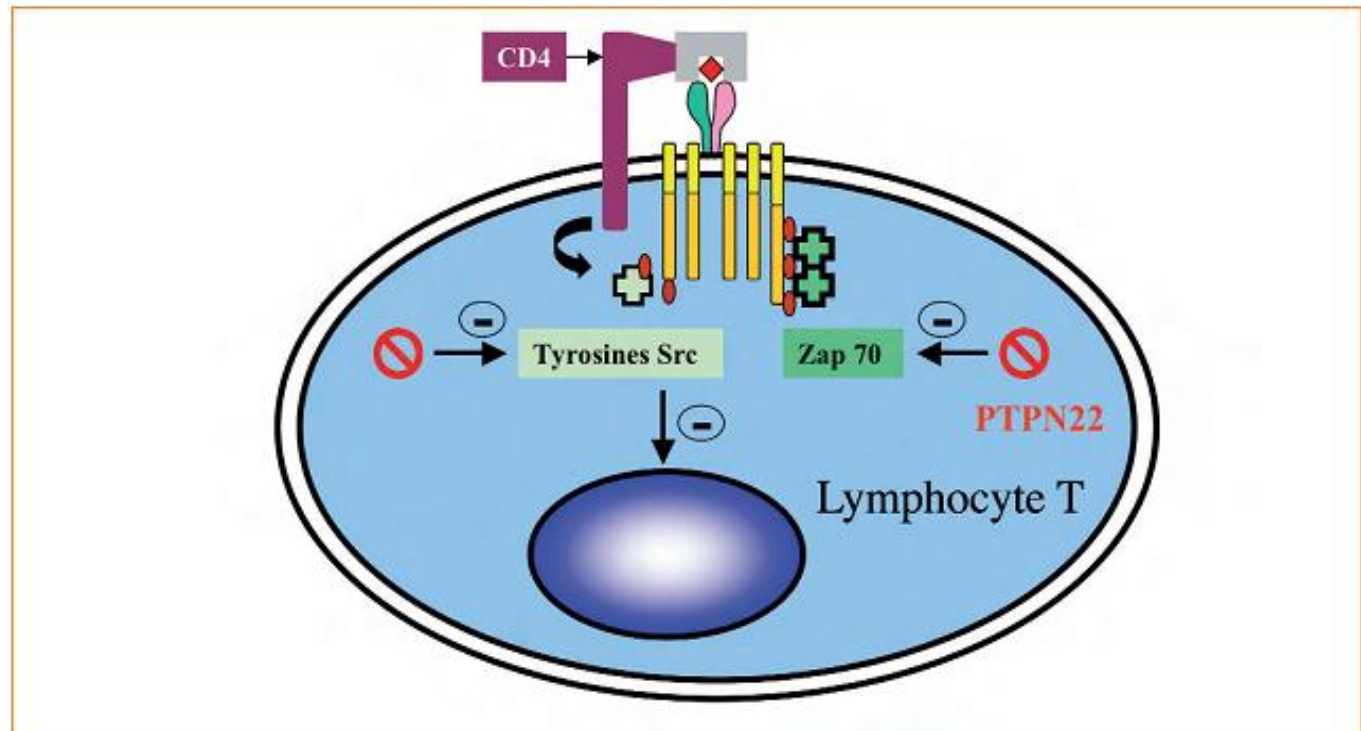
Les lymphocytes T activés se distinguent par l'expression de nouvelles molécules de membrane, dites d'activation telles que CD69 et CD25 ou encore les molécules HLA-II.

Certaines molécules ont un rôle particulier dans l'activation des lymphocytes T

L'activation du lymphocyte T est régulée par des phosphatases et des molécules de co-stimulation négative.

- **PTPN22 : une phosphatase importante.** Parmi les nombreuses phosphatases décrites, la plus intéressante est la protéine tyrosine phosphatase **PTPN22**, une phosphatase spécifique du lymphocyte T, dont l'activation régule à la baisse l'activation du T avec une moindre sécrétion d'IL-2.
- **CTLA-4 : une molécule inhibitrice essentielle.** CTLA-4 est une molécule de co-stimulation capable de lier les mêmes ligands que CD28 mais induit plutôt un signal négatif. **CTLA-4** altère en effet les capacités de prolifération et de synthèse de cytokines des lymphocytes T de deux manières : d'une part en entrant en compétition avec CD28 pour lier les molécules de co-stimulation B7.1 et B7.2 ; d'autre part en favorisant la dégradation du tryptophane qui est un acide aminé indispensable à la prolifération lymphocytaire.
- **D'autres molécules participent à la régulation de l'activation des lymphocytes T.** L'intensité du signal d'activation du lymphocyte T transmis par le TCR peut être également modulée par certaines molécules. Les CD44 et CD69 amplifient le signal tandis que la molécule CD5 semble au contraire le réduire.

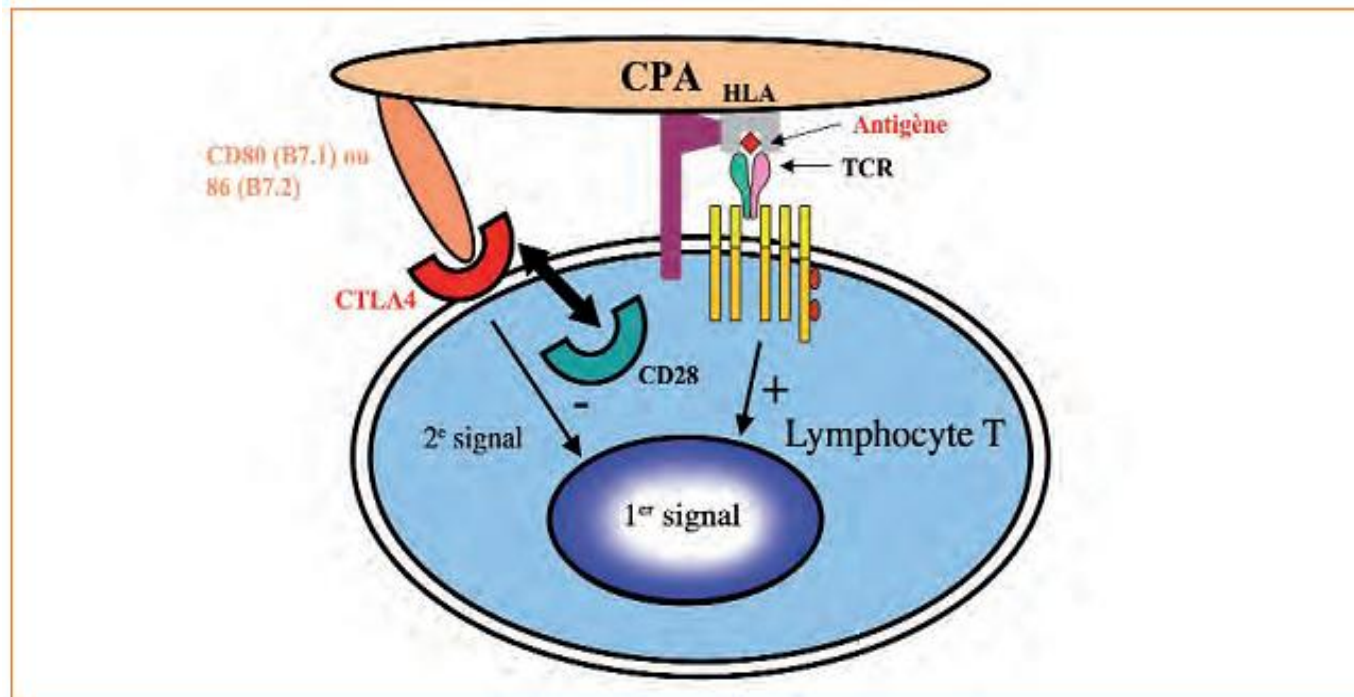
La "gâchette" du lymphocyte T est aussi modulée par une déphosphorylation assurée par des phosphatases. Des phosphatases dont la PTPN22 freinent cette activation. Une mutation du gène **PTPN22** rend la protéine phosphatase PTPN22 non fonctionnelle, ce qui induit une activation persistante du lymphocyte T. La mutation PTPN22 est associée à plusieurs maladies auto-immunes : diabète, myasthénie.



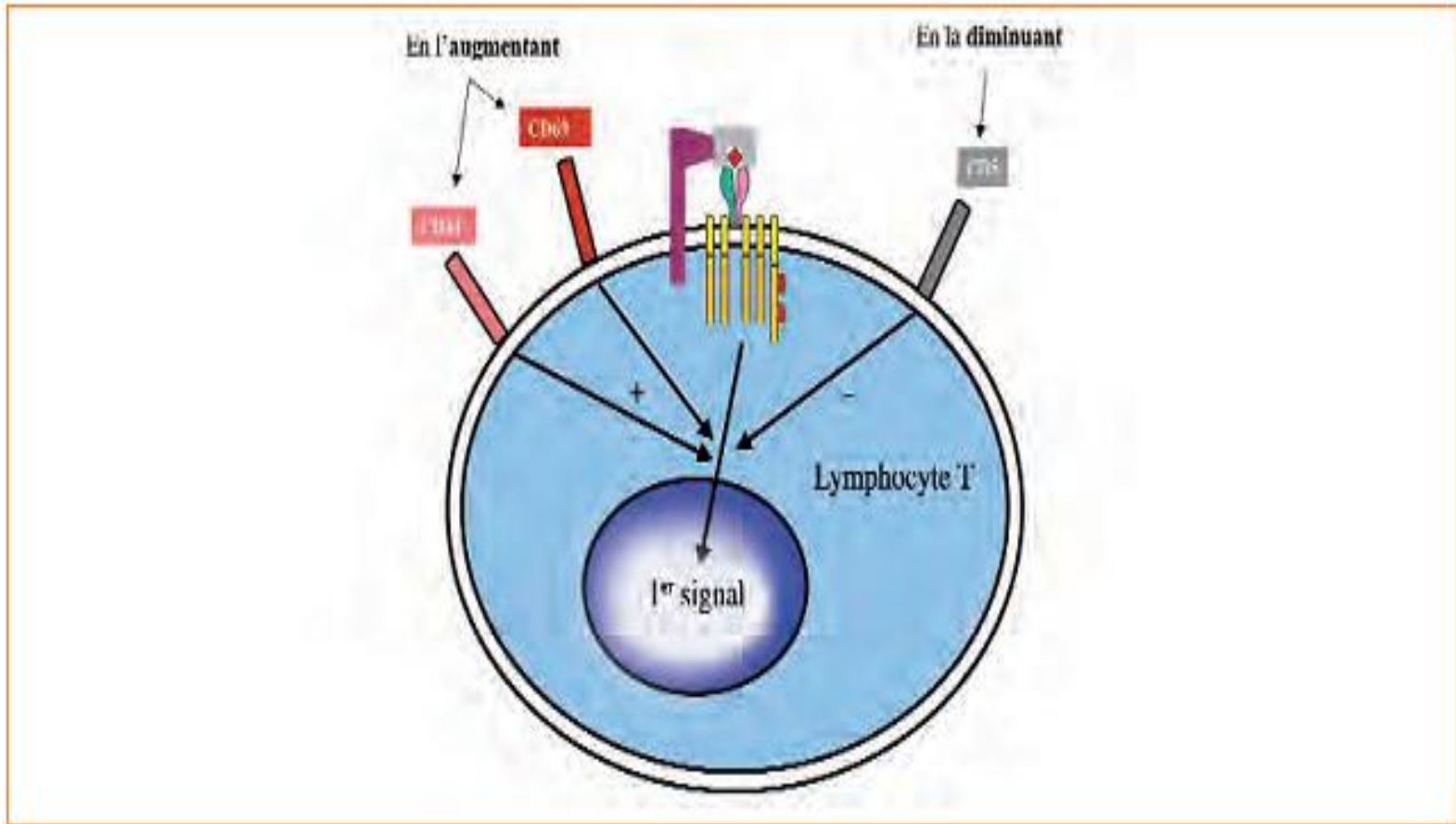
La régulation de l'activation des lymphocytes T dépend de molécules de co-stimulation.

CD28 a un analogue antagoniste qui reste dans le cytoplasme au début de l'activation des T = **CTLA4**.

Le signal s'inverse quand la molécule CTLA-4 vient "remplacer" CD28 en liant aussi **CD80** ou **CD86** (à la "fin" de la réponse T, pour la freiner).



L'activation du lymphocyte T dépend d'autres molécules de surface.





4. Quelles sont les principales fonctions lymphocytes (T auxiliaires, T régulateurs, T cytotoxiques) ?

La reconnaissance d'un antigène par le lymphocyte T naïf induit une réponse immunitaire primaire. Au décours de cette rencontre, le phénotype et les fonctions du lymphocyte T vont être modifiés et deux différents types de populations lymphocytaires T vont se développer:

- les cellules "effectrices" qui vont s'opposer à l'expansion de l'antigène et
- les cellules "mémoires" qui seront capables d'induire une réponse immunitaire rapide et efficace en cas de nouvelle rencontre avec cet antigène.



Les lymphocytes effecteurs

Les cellules effectrices assurent des fonctions spécialisées, telles que la sécrétion de cytokines ou encore l'aide aux lymphocytes B dans la fonction humorale (lymphocytes T CD4+ encore appelés lymphocytes T auxiliaires) ainsi qu'une activité cytotoxique (lymphocytes T CD8+).

■ Les lymphocytes T effecteurs "auxiliaires" de phénotype CD4

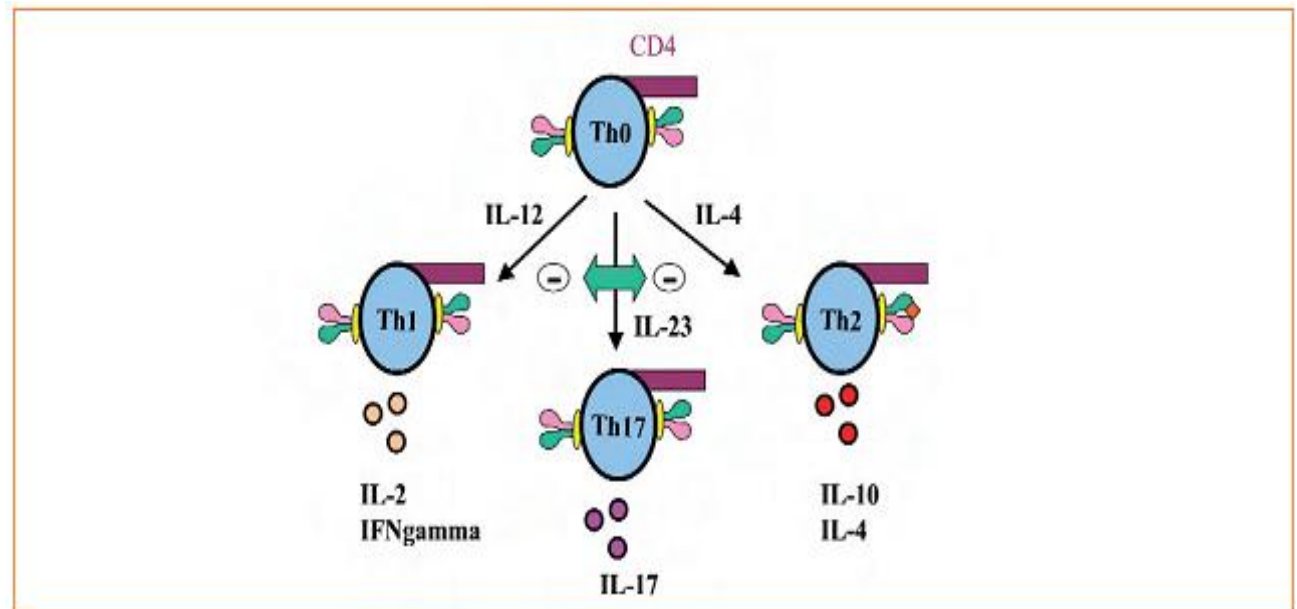
Les lymphocytes T auxiliaires ou "helper" en anglais (TH) se divisent en deux sous-populations caractérisées par des profils de sécrétion cytokinique différents.

- La sous-population TH1 qui sécrète les cytokines IL-2 et l'IFN, intervient dans des fonctions à médiation cellulaire telles que l'hypersensibilité retardée ou l'activation des lymphocytes cytotoxiques.
- L'autre sous-population TH2 qui sécrète les interleukines IL-4, IL-5 et IL-10, intervient surtout dans la réponse humorale en activant les lymphocytes B.
- Une autre sous-population TH17 a été décrite, caractérisée par la production d'IL-17 qui est une cytokine aux actions diverses. Elle est notamment impliquée dans la destruction ostéo-articulaire rhumatoïde.

Les lymphocytes T CD4+ lorsqu'ils sont activés par un antigène se différencient soit en lymphocytes TH1 qui sécrètent les cytokines IL-2 et IFN gamma soit en lymphocytes TH2 qui sécrètent les cytokines IL-10 et IL-4.

Les lymphocytes TH1 ont un effet contrôle négatif sur le développement des lymphocytes TH2 et réciproquement.

Les LT CD4+ peuvent aussi être activés, sous l'effet de l'IL-23, en LTH17 sécréteur d'interleukine 17.



- Les LT effecteurs "cytotoxiques" de phénotype CD8

Les lymphocytes TCD8+ ont quant à eux une action cytotoxique.

Ces lymphocytes T cytotoxiques sont capables d'induire la mort d'une cellule par l'excrétion de perforine et de sérines protéases comme les granzymes qui sont contenus dans des granules intracellulaires.



Les lymphocytes mémoires

Les cellules mémoires issues d'une première réponse immunitaire vont se comporter comme des sentinelles capables d'induire une nouvelle réponse immune spécifique d'un antigène mais dans un délai plus court.

Cette mémoire immunologique est le principe même de la vaccination.

Ces lymphocytes **T mémoires** ont une durée de vie très allongée et se distinguent par l'expression de la molécule **CD45RO**.

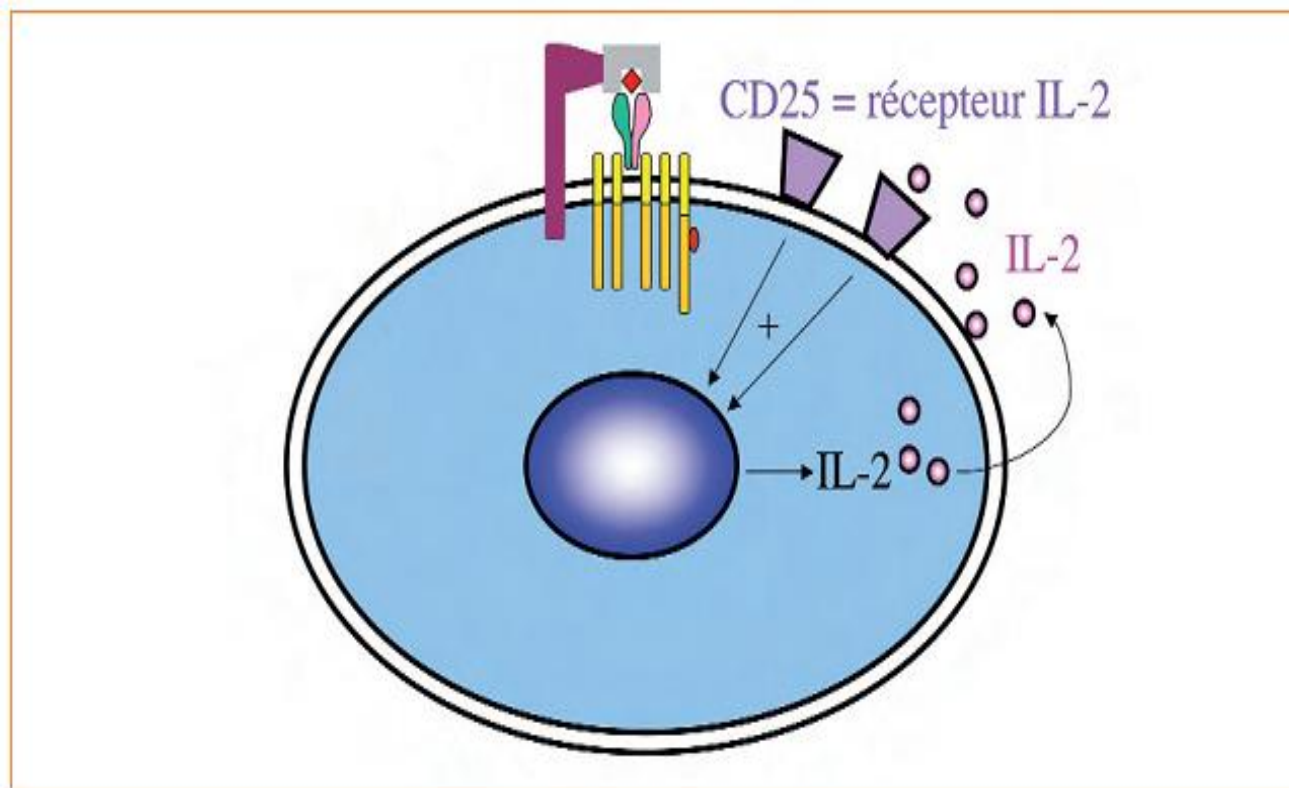


Les lymphocytes T régulateurs

■ Les lymphocytes T régulateurs "naturels"

Un très faible contingent de lymphocytes T CD4 reconnaissant mieux le Soi que les autres échappent aux filtres thymiques et médullaires. Ces lymphocytes T ont la particularité de freiner la réponse immune après avoir reconnu par leurs TCR divers auto-antigènes lors de leur migration dans les ganglions et les tissus périphériques. Cette fonction de **lymphocyte T régulateur (T reg)** concerne 1 à 2% des lymphocytes T CD4 du sang. Ces lymphocytes T régulateurs expriment en grandes quantités la molécule CD25 (**TCD4+CD25+high**) et le facteur de transcription **FOX-P3**. La fonction régulatrice des lymphocytes T régulateurs s'exerce surtout par l'envoi aux cellules présentatrices de voisinage de signaux d'apaisement, comme l'expression de CTLA-4, ou la libération de cytokines comme le TGF- β et l'IL-10. Ces TCD4+CD25+high "constitutionnels" n'auraient pas un répertoire différent des lymphocytes T effecteurs, mais la gâchette de leur TCR paraît plus "sensible". De ce fait, ces cellules en étant plus facilement activées que les lymphocytes T effecteurs exerceraient sur l'ensemble de la réponse immune un frein permanent pour éviter des dérapages tels que ceux que pourrait occasionner la stimulation dans un ganglion par un épitope étranger d'un lymphocyte T ayant la capacité à ensuite trop bien reconnaître dans certains tissus par le même TCR un épitope du Soi.

L'activation des lymphocytes T se caractérise par l'expression du récepteur à l'IL2 = **CD25** qui **amplifie la prolifération du T** (boucle autocrine). Toutefois, si le taux de CD25 (**TCD4+CD25+high**) est très élevé, le T n'est plus effecteur mais "**régulateur**" (freine la réponse immune).



• Les lymphocytes T régulateurs inducibles

Certaines populations appelées Th3, Tr1 sont des populations régulatrices inducibles par des antigènes (surtout digestifs). Ces cellules agissent par sécrétion de cytokines ($\text{TGF}\beta$, IL-10). Une population "naturelle" de $\text{TCD4}^+\text{CD25}^+\text{high}$ acquérant le phénotype T reg est produite dans le thymus. Ces lymphocytes T regulateurs freinent la réponse immune lorsqu'ils lient par leurs TCR certains peptides du "Soi". Ces T reg $\text{TCD4}^+\text{CD25}^+\text{high}$ freinent la réponse immune :

- via l'expression de CTLA4 à leur surface et de GITR-Glucocorticoid Induced TNF Receptor (mécanisme dominant)
- via la libération de cytokines inhibitrices (IL-10, $\text{TGF}\beta$)

