

Immunité adaptative : activation et polarisation des lymphocytes T.

Marcelo de Carvalho, Olivier Adotévi, Valérie Frenkel,

Gilles Thibault, Richard Le Naour

I-Introduction	2
II-Activation des lymphocytes T naïfs	2
II-1. Premier signal : engagement du TCR	2
II-2. Deuxième signal : costimulation.....	3
II-3. Troisième signal : progression du cycle cellulaire.	4
III-Différentiation et polarisation des profils de lymphocytes T CD4+.	5
III-1. Les lymphocytes Th1	5
III-2. Les lymphocytes Th2	6
III-3. Les lymphocytes Th17	6
III-4. Les autres profils	6
IV-Facteurs impliqués dans la différenciation des profils de lymphocytes T CD4+.....	7

I-Introduction

Après avoir été soumis aux sélections positive et négative dans le thymus, les lymphocytes T entrant dans la circulation sont appelés naïfs, car ils n'ont pas encore rencontré l'antigène reconnu par leur TCR. La fréquence d'un lymphocyte T naïf spécifique d'un antigène donné est très faible (de l'ordre de 1 pour 100000). Afin d'être activés et d'augmenter leur nombre, ils doivent rencontrer des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) professionnelles, les cellules dendritiques.

II-Activation des lymphocytes T naïfs

L'interaction entre les lymphocytes T naïfs et les cellules présentatrices d'antigènes professionnelles a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires. Les lymphocytes T naïfs circulent continuellement vers ces organes lymphoïdes secondaires où ils arrivent par la circulation sanguine. Ils y pénètrent à travers des cellules endothéliales spécialisées, les veinules à haut endothélium (« High endothelial venules », HEV) par un processus actif faisant intervenir les molécules d'adhésion LFA-1 (CD11a/CD18) et L-sélectine (CD62L) et le récepteur de chimiokines CCR7. L'expression de ce récepteur par les lymphocytes T naïfs et par les cellules dendritiques permet à ces cellules de réagir au gradient de concentration positif de la chimiokine CCL21 et ainsi d'être attirés vers la zone lymphocytaire T du ganglion lymphatique, où elles interagissent.

Les cellules dendritiques sont chargées de peptides antigéniques capturés dans les tissus périphériques de la zone anatomique drainée par l'organe lymphoïde. Ces peptides ont été apprêtés et sont « présentés » aux cellules T dans la niche antigénique du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Les lymphocytes T naïfs balayent alors la surface des cellules dendritiques présentes. Ils peuvent établir des liaisons de faible affinité *via* les molécules d'adhésion ICAM-3 et CD2. Si aucune liaison de haute affinité n'est établie entre le TCR et le complexe peptide-CMH, le lymphocyte T naïf quitte le ganglion par le vaisseau lymphatique efférent. Ce processus dure de 12 à 18 heures.

A l'opposé, si le TCR reconnaît spécifiquement le complexe peptide-CMH, une forte liaison est établie et le processus de **sélection clonale** (ou expansion clonale) peut débuter.

II-1. Premier signal : engagement du TCR

Cette interaction entre le TCR et le complexe peptide-CMH ou **premier signal** de l'activation du lymphocyte T donne un signal de **spécificité** puisque seuls les lymphocytes présentant un TCR donné seront activés. Un premier contrôle physiologique d'une prolifération incontrôlée des lymphocytes est ainsi établi. Cependant, d'autres mécanismes de contrôle existent et le premier signal d'activation n'est pas suffisant pour déclencher la prolifération et

la différenciation du lymphocyte T. Il faut noter que l'interaction entre le TCR et le complexe peptide-CMH doit être prolongée et de forte intensité pour être efficace dans l'activation du lymphocyte T naïf. L'affinité entre le paratope du TCR et le peptide immuno-dominant présent dans le sillon de la molécule du CMH joue un rôle majeur dans la stabilité de cette liaison, renforcée par les « co-récepteurs » CD4 et CD8 (voir chapitre 4). D'autres molécules vont également intervenir afin d'augmenter l'intensité et la durée du premier signal, notamment des molécules d'adhésion CD2, LFA-1. Une réorganisation du cytosquelette permet la formation d'une zone élargie de contact étroit entre le lymphocyte T et la cellule présentatrice d'antigène, la **synapse immunologique (Figure 26)**. Dans la partie centrale de cette structure se localisent le TCR, le co-récepteur CD4 ou CD8, la molécule CD2 et la molécule de co-stimulation CD28 (voir ci-dessous) et dans la partie plus périphérique les molécules d'adhésion LFA-1 et ICAM-1 ainsi que les molécules CD45 et CD43. Ces dernières sont importantes dans la régulation de la signalisation du complexe TCR-CD3. La synapse immunologique est une structure dynamique et qui permet d'optimiser la signalisation initiale ainsi que l'inactivation tardive des complexes TCR-MHC.

Comme vu dans le chapitre 7, le TCR est associé au complexe CD3 qui transmet un signal à l'intérieur de la cellule *via* les motifs ITAM présents dans sa partie intracellulaire. Après liaison entre le TCR et le complexe CMH-peptide, les co-récepteurs CD4 et CD8 sont rapprochés. Ces co-récepteurs sont associés à une tyrosine kinase, **Lck**, qui phosphoryle les motifs ITAM du CD3. Ceci permet le recrutement et la phosphorylation d'une autre tyrosine kinase, **ZAP-70** qui peut alors à son tour activer **LAT** (Linker for **A**ctivation of **T** cells). Cette protéine rassemble d'autres protéines importantes pour la signalisation de l'activation, responsables de l'augmentation du calcium intracellulaire et du diacylglycerol (**DAG**). L'augmentation du calcium résulte en l'activation d'une phosphatase, la **calcineurine**, qui déphosphoryle le facteur de transcription NFAT. Le DAG active la protéine **Ras** qui à son tour active le facteur de transcription **AP1**. Une autre action de DAG est d'activer la kinase **PKC θ** , qui induit l'activation et la translocation nucléaire d'un autre facteur de transcription, **NF- κ B**. L'action conjointe de ces molécules est responsable notamment de la production de la cytokine **IL-2**, facteur de croissance majeur pour les lymphocytes T.

II-2. Deuxième signal : costimulation

Un **deuxième signal** est nécessaire pour poursuivre cette activation spécifique de l'antigène. Ce signal de **costimulation** est indispensable pour protéger les cellules T d'une **anergie** ou d'une apoptose précoce qui interviennent en son absence.

Les cellules dendritiques dans le ganglion expriment faiblement les molécules **CD80**, **CD86** et **CD40** à leur surface. Ces molécules sont reconnues par **CD28** exprimé à la surface des

lymphocytes T. Une signalisation impliquant le TCR et CD28 induit alors l'expression de **CD40-Ligand** (CD154) à la surface du lymphocyte T. La liaison à CD40, exprimé sur les cellules dendritiques, induit une augmentation de l'expression de CD80/CD86, qui à son tour renforce le signal induit par CD28. Une boucle positive d'activation s'établit et induit une forte prolifération des lymphocytes T spécifiques de l'antigène initialement reconnu. Cependant, un rétrocontrôle est nécessaire afin d'empêcher une prolifération incontrôlée. La signalisation TCR/CD28 induit ainsi également l'expression de **CTLA4** (« cytotoxic T lymphocyte antigen », CD152), molécule que se lie aussi à CD80/CD86 mais avec une plus forte affinité que CD28 et ne transmet pas de signal activateur. La résultante est un signal d'inhibition de la boucle positive d'activation décrite ci-dessus.

Plusieurs autres molécules interviennent après cette « première vague » de costimulation et jouent un rôle dans la différenciation fonctionnelle des lymphocytes T. Par exemple, ICOS (« Inducible **costimulator** ») et OX40 sont exprimés par les lymphocytes T et leurs ligands respectifs ICOSL et OX40L sont exprimés par les cellules présentatrices. Ces molécules sont importantes pour l'aide (« help ») des lymphocytes T CD4+ aux lymphocytes B qui expriment également ces ligands et pour la survie des lymphocytes T CD4+ mémoire.

Une molécule inhibitrice intervient plus tardivement dans cette interaction lymphocyte T/cellule dendritique. La molécule **PD1** (« programmed cell death-1 ») est exprimée après CTLA-4 et reconnue par deux ligands (**PDL-1** et **PDL-2**).

II-3. Progression du cycle cellulaire.

Les signaux de costimulation d'activation lymphocytaire convergent vers **mTOR** (« mammalian target of rapamycin »), un régulateur central du métabolisme et de la survie cellulaire en réponse aux facteurs environnementaux. Cette kinase est présente sous la forme de deux complexes de signalisation, **mTORC1** et **mTORC2**, qui intègrent le niveau d'une gamme de signaux et stimuli tels que les nutriments (glucose et acides aminés), les facteurs de croissance, les cytokines et les signaux délivrés par les récepteurs membranaires comme les molécules de costimulation et d'adhésion. En présence d'un niveau de nutriments suffisant à la croissance cellulaire et d'une forte stimulation extracellulaire, mTOR phosphoryle des substrats divers afin de prévenir l'apoptose et l'autophagie, réorganiser l'actine et induire la traduction protéique. L'action conjointe des signaux délivrés par le TCR et de la kinase mTOR, permet la progression du cycle cellulaire de la phase G0 à la phase G1 et l'activation du métabolisme nécessaire à la multiplication cellulaire.

Plusieurs gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire sont rapidement exprimés, ainsi que la cytokine **IL-2** et son récepteur **IL-2R**, renforçant l'activation de mTOR. En

réponse aux signaux délivrés par CD28 et l'IL-2R, un complexe formé par mTOR et les protéines **survivin** et **aurora B** facilite alors l'expression de gènes impliqués dans la progression de la phase G1 à S du cycle cellulaire. Ainsi, l'activation de mTOR prévient l'anergie et induit la prolifération des lymphocytes T.

La kinase mTOR joue également un rôle dans la différenciation fonctionnelle des lymphocytes T (« **troisième signal** »). L'état de maturation des cellules dendritiques, dont la production de cytokines associées à la polarisation lymphocytaire, est ainsi sous contrôle de l'activation de mTOR. De plus, le niveau d'activation de mTORC1 et mTORC2 dans le lymphocyte T influencerait de façon directe la polarisation des cellules T CD4+ en lymphocytes TH1/TH2/Th17 ou Treg (voir chapitre 13).

L'activation de mTOR peut être bloquée par des molécules immunosuppressives comme la rapamycine et ses analogues. Ces drogues se lient à une protéine, FKBP12, et ce complexe bloque l'activation de mTOR. Vu son rôle central d'intégration des signaux importants pour le métabolisme cellulaire, la modulation de la voie mTOR offre des perspectives importantes pour l'immunointervention thérapeutique dans plusieurs conditions pathologiques, comme les maladies auto-immunes, le cancer et la transplantation d'organes et de tissus.

III-Différenciation et polarisation des profils de lymphocytes T CD4+.

Après reconnaissance de l'antigène et activation, les lymphocytes T CD4+ prolifèrent et une partie du clone devient des lymphocytes effecteurs ou auxiliaires. Ils recrutent et activent des cellules de l'immunité innée, et **favorisent** l'activation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques et des lymphocytes B spécifiques de l'antigène.

Les lymphocytes T CD4 activés présentent une hétérogénéité fonctionnelle, avec différents profils de sécrétion cytokinique. Les lymphocytes T CD4+ à activité régulatrice (Treg) sont décrits dans le chapitre 13. Les premiers profils de lymphocytes effecteurs auxiliaires (« T helpers » ou Th) ont été identifiés il y a environ 25 ans.

III-1. Les lymphocytes Th1

Les lymphocytes T CD4 sécrétant majoritairement de l'Interféron-gamma (IFN- γ), du « Tumor Necrosis Factor – alpha » (TNF- α) et de l'Interleukine 2 (IL-2) ont été appelés **Th1**. Ces lymphocytes induisent les réponses immunes cellulaires les plus efficaces contre les virus et bactéries. Cependant, cette réponse anti-infectieuse Th1 peut aussi être à l'origine des lésions immunopathologiques tissulaires, notamment en présence d'une infection chronique. Ces cellules sont aussi impliquées dans les maladies autoimmunes.

III-2. Les lymphocytes Th2

Un autre profil de production cytokinique, avec une sécrétion majoritaire d'IL-4, IL-5 et IL-13 a été nommé **Th2**. Les lymphocytes Th2 soutiennent la différenciation des lymphocytes B pour la production d'anticorps. L'IL-5 est particulièrement importante pour la production d'IgE et l'action des éosinophiles, favorisant l'élimination des parasites extracellulaires comme les helminthes. Cependant, les Th2 favorisent aussi les maladies allergiques.

Il a été démontré que le développement de ces sous-populations était mutuellement antagoniste : l'IFN- γ (la « signature » des Th1) bloque le développement des Th2 *via* l'inhibition de la production d'IL-4 (« signature » des Th2) et réciproquement. Une amplification positive s'établit pour une des deux sous-populations, résultant en une polarisation fonctionnelle de la réponse immune en fonction des cytokines présentes dans le microenvironnement cellulaire.

III-3. Les lymphocytes Th17

Plus récemment d'autres profils de sécrétion des lymphocytes T CD4 effecteurs ont été décrits. Les cellules **Th17** produisent de l'IL-17, de l'IL-22 (« signatures » des Th17) et de l'IL-21. Ces cellules sont importantes pour le contrôle des infections bactériennes extracellulaires et fongiques et jouent un rôle dans le recrutement et l'activation des cellules de l'immunité innée comme les polynucléaires neutrophiles. Les lymphocytes Th17 peuvent aussi être impliqués dans plusieurs maladies auto-immunes et inflammatoires.

III-4. Les autres profils

D'autres profils de lymphocytes T CD4+ sont actuellement proposées comme ayant une activité auxiliaire. Les lymphocytes T CD4+ folliculaires (**Tfh**) expriment le récepteur de chémokine CXCR5 et migrent ainsi vers les follicules B des organes lymphoïdes secondaires, où ils soutiennent la différenciation et la maturation des lymphocytes B *via* la sécrétion d'IL-4 et d'IL-21. Ils contribuent ainsi à la formation des centres germinatifs et à la production d'anticorps de haute affinité. Il n'est pas encore établi si ces cellules sont un sous-type cellulaire à part entière ou le produit d'une différenciation phénotypique de cellules Th1, Th2 ou Th17. Cette ambivalence est due à l'absence d'une « signature cytokinique » spécifique, puisque ces cellules peuvent produire de l'IL-4 ou de l'IFN- γ en fonction des microenvironnements présents pendant leur génération.

Les cellules **Th9**, **Th3** et **Tr1** ne sont pas encore entièrement établies comme des profils distincts à part entière.

Les lymphocytes Th9 produisent de l'IL-9 et peuvent être induits à partir de cellules Th2 sous l'influence de TGF- β .

Les lymphocytes Th3 sont des cellules suppressives associées à la tolérance muqueuse *via* la sécrétion de TGF- β .

Les lymphocytes Tr1 sont également des lymphocytes suppresseurs, *via* la production d'IL-10.

IV-Facteurs impliqués dans la différenciation des profils de lymphocytes T CD4+.

Les mécanismes impliqués dans la génération des différents profils de lymphocytes T CD4+ ne sont pas encore complètement élucidés. De façon générale, un signal de **différenciation** ou **troisième signal** reçu par des lymphocytes T CD4 naïfs pendant leur activation est impliqué. Ce signal dépend de la nature et de la quantité d'antigène reconnu par les cellules présentatrices d'antigène. Par exemple, comme décrit précédemment, l'interaction entre les PAMP (« Pathogen-associated molecular patterns ») et les « Pattern Recognition Receptors » (PRR) induit l'activation des cellules présentatrices d'antigène et la sécrétion de cytokines inductrices d'une réponse Th1 (IL-12, IFN- γ).

Le troisième signal est majoritairement délivré par les cytokines présentes dans le microenvironnement où a lieu l'interaction physique entre les cellules présentatrices d'antigène et les lymphocytes T. Une combinaison de cytokines est nécessaire pour la différenciation de chaque type de lymphocytes T, notamment IL-12 et IFN- γ pour les Th1, IL-4 et TLSP (« Thymic Stromal Lymphopoietin ») pour les Th2, TGF- β et IL-6/IL-21/IL-23 pour les Th17 et TGF- β et IL-2 pour les iTreg.

La liaison des cytokines à leurs récepteurs induit l'activation des protéines de la famille STAT (« Signaling Transducer and Activator of Transcription »). Ces protéines induisent une augmentation de l'expression des facteurs de transcription de différents gènes, y compris ceux des cytokines elles mêmes, ayant comme conséquence la production des « signatures » cytokiniques. Chaque type de lymphocyte T possède ainsi un facteur de transcription majeur et spécifique qui, dans une action conjointe et complexe avec des protéines STAT spécifiques, inhibe le développement des autres profils et polarise la cellule.

Il est important de signaler qu'il existe une certaine **plasticité** entre les différents profils de lymphocytes T CD4+ décrits ci-dessus. Cette plasticité est sous le contrôle de modifications épigénétiques des gènes cibles de facteurs de transcription, résultant en une adaptation des cellules T effectrices au contexte immunologique dans lequel elles se trouvent. Par exemple, des cellules Th17 peuvent, sous l'effet d'IL-12, produire de l'IFN- γ plus caractéristique d'un profil Th1. Cette plasticité commence seulement à être mieux comprise, et démontre que la « destinée » des lymphocytes T CD4+ effecteurs n'est pas « gravée dans le marbre ».

En conclusion, l'activation et la polarisation des lymphocytes T CD4⁺ naïfs (« le priming ») permet l'amplification clonale de lymphocytes spécifiques d'antigène et une efficacité accrue des réponses immunes adaptatives. En effet, ces cellules jouent un rôle majeur dans la coordination de ces réponses, notamment par leur aide ("help") apportée aux lymphocytes T CD8 cytotoxiques et aux lymphocytes B spécifiques de l'antigène ainsi que par l'amplification de la réponse immunitaire innée.

A retenir

- Les lymphocytes naïfs spécifiques d'un antigène donné sont très peu fréquents, de l'ordre de 1 pour 100000
- Les lymphocytes T naïfs entrent dans les organes lymphoïdes secondaires par les veinules à haut endothélium (HEV) et balayent la surface des cellules présentatrices d'antigène à la recherche de peptides antigéniques spécifiques qu'ils peuvent reconnaître
- La reconnaissance du complexe CMH de Classe II/peptide antigénique constitue le premier signal d'activation
- Des signaux de costimulation sont nécessaires pour que l'activation du lymphocyte T se poursuive
- Un troisième signal est nécessaire pour induire la progression du lymphocyte activé dans le cycle cellulaire, initier la prolifération clonale et induire la différenciation fonctionnelle
- Les profils cytokiniques des lymphocytes T CD4⁺ dits « auxiliaires » ou « helper » définissent les populations cellulaires dites Th1, Th2, Th17, Tfh...

Figure 26. Représentation schématique de la synapse immunologique activatrice (à gauche) et régulatrice (à droite).

