

Chapitre III

Activation de la Réponse Immunitaire Adaptative

1. Activation et différenciation des Lymphocytes T

III.1.1. Introduction

Les lymphocytes T sont les médiateurs de l'immunité cellulaire, ils forment un groupe de cellules diverses, beaucoup plus complexes que les lymphocytes B tant sur le plan de leur classification que sur le plan de leur fonction. Il existe deux populations principales de lymphocytes T effecteurs. Cette classification distingue les lymphocytes T CD4⁺ (LTCD4) exprimant le marqueur de surface CD4, et les lymphocytes T CD8⁺ (LTCD8) exprimant le CD8. Ces récepteurs de la membrane plasmique sont des glycoprotéines qui diffèrent des récepteurs d'antigène des lymphocytes T, les TCR (T Cell Receptor). Les LTCD4 sont surtout des lymphocytes T auxiliaires (T_h, ou lymphocytes T "helpers"), alors que la plupart des LTCD8 sont des lymphocytes T cytotoxiques (T_c), dont le rôle consiste à détruire toute cellule de l'organisme qui porte un élément étranger. Outre ces deux grandes catégories de lymphocytes T, il existe les lymphocytes T suppresseurs ou régulateurs (T_s ou Treg), les lymphocytes T mémoires et quelques sous-groupes plutôt rares.

Après avoir été soumis à la sélection positive puis 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 proportion de lymphocytes T naïfs spécifiques d'un antigène donné est très faible (de l'ordre de 1 pour 10⁵ à 10⁶). Afin d'être activés et d'augmenter leur nombre, ils doivent rencontrer des cellules présentatrices d'antigène (CPA) professionnelles, les cellules dendritiques qui présentent l'antigène spécifique sur ses molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH).

L'interaction moléculaire entre le TCR de la cellule T et le CMH porté par la CPA active différentes voies de signalisation. Ces voies de signalisation auront pour finalité d'activer plusieurs facteurs de transcription qui décideront de la réponse de la cellule T: prolifération, différenciation, production de cytokines ou encore mise en place du potentiel cytotoxique.

III.1.2. Mécanismes d'activation des LT

Les réponses des lymphocytes T contre les antigènes microbiens associés aux cellules se composent d'une série d'étapes consécutives qui entraînent une augmentation du nombre de lymphocytes T spécifiques de l'antigène et la conversion des lymphocytes T naïfs en cellules effectrices.

Les CPA professionnelles sont les seules cellules capables d'activer les lymphocytes T naïfs. L'interaction entre les lymphocytes T naïfs et les CPA 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 en traversant les HEV (*High Endothelial Venules*) par un processus actif faisant intervenir les molécules d'adhésion L-sélectine (CD62L) et LFA-1 (CD11a/CD18) ainsi que le récepteur de chimiokines CCR7. L'expression de ce récepteur par les lymphocytes T naïfs et par les cellules dendritiques permet de les attirer par les gradients des chimiokines CCL21 et CCL19 pour gagner la zone lymphocytaire T des organes lymphoïdes secondaire, où elles interagissent (voire les chapitres précédents).

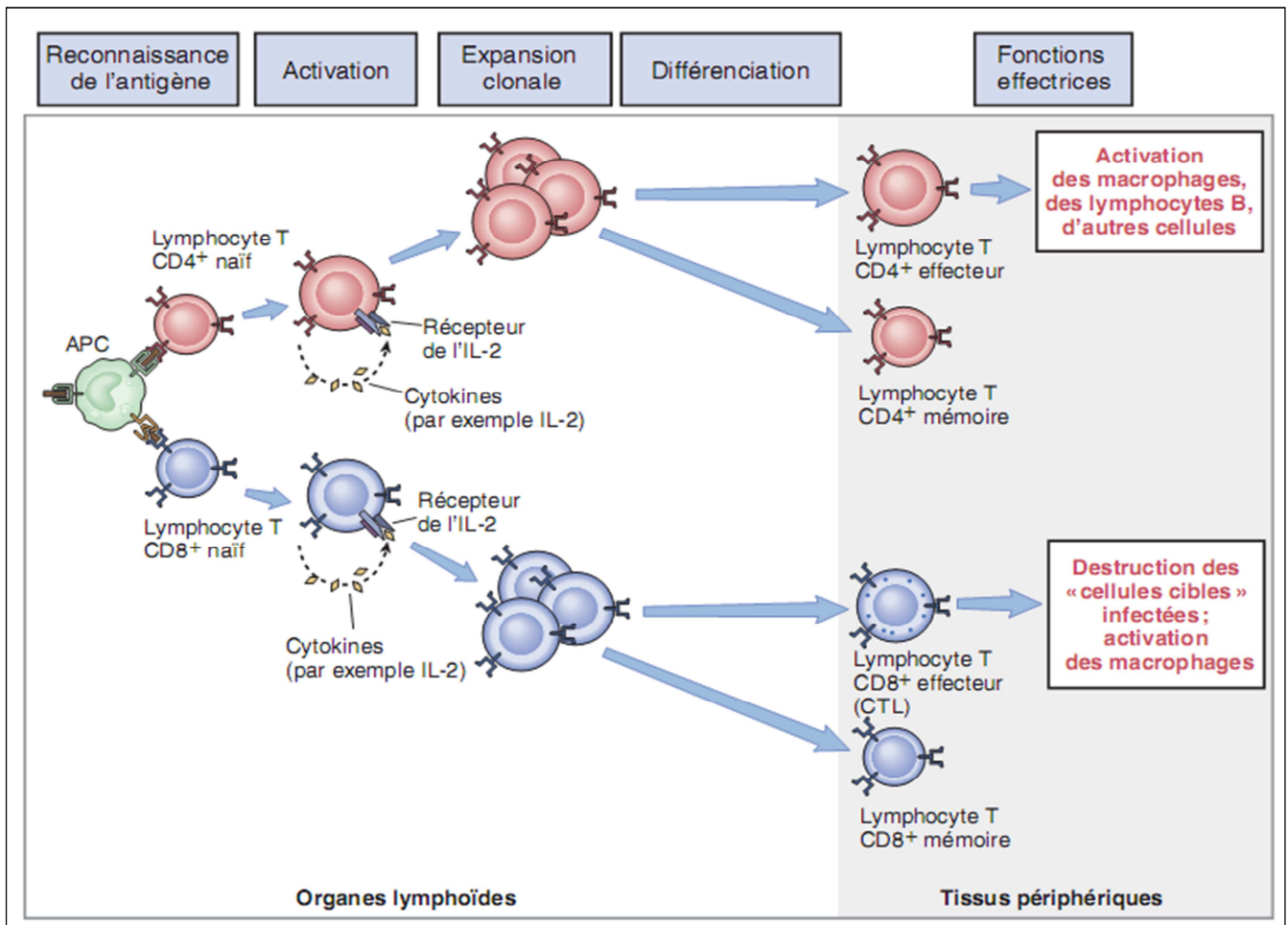


Planche 01. Les étapes d'activation des Lymphocytes T. (Abbas et Lichtman, 2009)

Les cellules dendritiques sont chargées de peptides apprêtés à partir d'antigènes capturés dans les tissus périphériques et qui sont exposés sur les molécules du CMH et présentés aux lymphocytes T. Les lymphocytes T naïfs balayent la surface des cellules dendritiques présentes, et ils peuvent ainsi établir des liaisons de faible affinité via les molécules d'adhésion avec la cellule dendritique. Si aucune liaison de haute affinité n'est établie entre le TCR et l'un quelconque des complexes peptide-CMH présent, le lymphocyte T naïf quitte le ganglion par le vaisseau lymphatique efférent. Ce processus dure 12 à 18 heures. À l'opposé, si le TCR reconnaît spécifiquement l'un des complexes peptide-CMH, avec une affinité suffisante, le lymphocyte T peut s'activer et le processus de sélection clonale (ou expansion clonale) peut débuter.

III.1.2.1. Les interactions d'activation des LT

Au niveau des organes lymphoïdes secondaires, une coopération cellulaire s'effectue entre les CPA et les lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes T sont activés par des fragments antigéniques peptidiques présentés par des molécules du CMH. Dans le cas où le TCR reconnaît un antigène de manière spécifique, le lymphocyte T s'arrêtera, permettant la formation d'une zone de contact particulière : **la synapse immunologique**. Cette dernière s'accomplit par des réarrangements protéiques de part et d'autre de la membrane plasmique de la cellule dendritique et du lymphocyte. Une fois la synapse immunologique est formée, l'activation des lymphocytes TCD4+ s'effectue par différents types de signaux.

a. Interaction de stimulation (premier Signal de stimulation)

L'interaction entre le TCR et le complexe peptide-CMH du soi induit un premier signal de l'activation du lymphocyte T et assure la spécificité de la réponse. Cependant, ce premier signal d'activation n'est pas suffisant pour déclencher la prolifération et la différenciation du lymphocyte T. L'interaction TCR/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 l'épitope présent dans le sillon de la molécule du CMH joue un rôle majeur dans la stabilité de cette liaison. Cette interaction est renforcée par la liaison des co-récepteurs CD4 et CD8 aux molécules du CMH de classe II ou de classe I respectivement. Une réorganisation du cytosquelette permet alors la formation d'une zone élargie de contact étroit entre le lymphocyte T et la CPA, la synapse immunologique.

Les molécules de CD3 associées au TCR vont permettre, grâce à leurs motifs ITAM intracellulaires, la transduction du 1^{er} signal d'activation à l'intérieur des cellules LT. L'activation des ITAM implique, en plus de CD4 et CD8, le CD45 qui a une activité phosphatase sur sa partie intracellulaire (voire transduction du signal).

b. Interactions de co-stimulation (signaux de co-stimulation)

L'activation optimale des lymphocytes T requiert, en plus des voies de signalisation du TCR, un second signal indépendant de l'antigène : ce deuxième signal est appelé co-stimulation. Ce signal de co-stimulation est indispensable pour protéger les cellules T d'une anergie ou d'une apoptose précoce qui intervient en son absence.

Les molécules de co-stimulation sont représentées par les molécules de CD28 et CD40L exprimées sur les LT ; alors que leurs ligands exprimés sur les CPA sont respectivement, le B7.1 et B7.2 (CD80 et CD86) et le CD40. L'expression de CD28 est constitutive et son interaction avec le B7 non seulement augmente la transcription et la stabilité de l'ARNm de l'IL-2, mais également accroît l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-xL. La co-stimulation par CD28 diminue également le seuil d'activation des cellules T (diminue le seuil d'interactions TCR-CMH-Peptide nécessaire pour le signal de stimulation. D'autre part, L'interaction entre le ligand du récepteur CD40 (CD40-ligand ou CD40L) présent à la surface du lymphocyte et le CD40 présent à la surface de la CPA participe également au signal de co-stimulation.

Le signal de co-stimulation a pour effet de multiplier par 10 la quantité d'IL-2 produite, de stabiliser l'ARN messager de la cytokine. Les clones de cellules T ne prolifèrent pas en l'absence de signaux de co-stimulation et deviennent réfractaires à une autre activation. Cet état de non-réponse est appelé anergie et est la conséquence d'une absence de production d'IL-2

Les signaux de co-stimulation induisent également l'expression des molécules de CTLA-4 (*Cytotoxique-T-Lymphocyte-Antigen 4 protein*) qui génère des signaux inhibiteurs. Le CTLA-4 entre en compétition avec les CD28 (molécule de co-stimulation) et fixe les ligands CD80 (B7.1) et CD86 (B7.1) avec plus d'affinité que le CD28, ce qui régule négativement l'activation des LT.

c. Rôle des molécules d'adhésion

La plupart des TCR se lient avec une faible affinité aux complexes peptide-CMH pour lesquels ils sont spécifiques, leur interaction nécessite ainsi d'être renforcée par une adhésion ferme entre le LT et les CPA. Les molécules d'adhérence présentes sur les lymphocytes T reconnaissent leurs ligands sur les APC et stabilisent la liaison des lymphocytes T aux APC. Ainsi, L'agrégation T-CPA (DC) est entraînée par de nombreuses molécules d'adhésion, telles que CD2/ LFA-3 (Leucocytes Function Ag-3), ICAM-1 (Intercellular Cell Adhesion Molecule-1 ou CD54) et ICAM-2 (CD50) /LFA-1, ICAM-3/DC-SIGN. Ces interactions d'adhésion vont également favoriser l'interaction CPA/lymphocyte T naïf et prolonger la durée du premier signal de stimulation et pérenniser ainsi l'interaction LT-CPA.

d. Rôle des cytokines

En plus des interactions précédentes, un "troisième Signal" intervient dans l'activation des LT, il est donné par des cytokines présentes dans le microenvironnement des ganglions lymphatiques. Ces cytokines sont majoritairement produites par les cellules dendritiques mais aussi par les autres cellules immunitaires, tel que l'interleukine 12 (IL-12) produite par les DC ou l'IL-2 produite par les LT eux-mêmes après contact avec les CPA. En effet, Le signal de co-stimulation a pour effet de multiplier par 10 la quantité d'IL-2 produite, de stabiliser l'ARN messager de la cytokine, ainsi que l'IL-12 qui favorisent la différenciation des lymphocytes T.

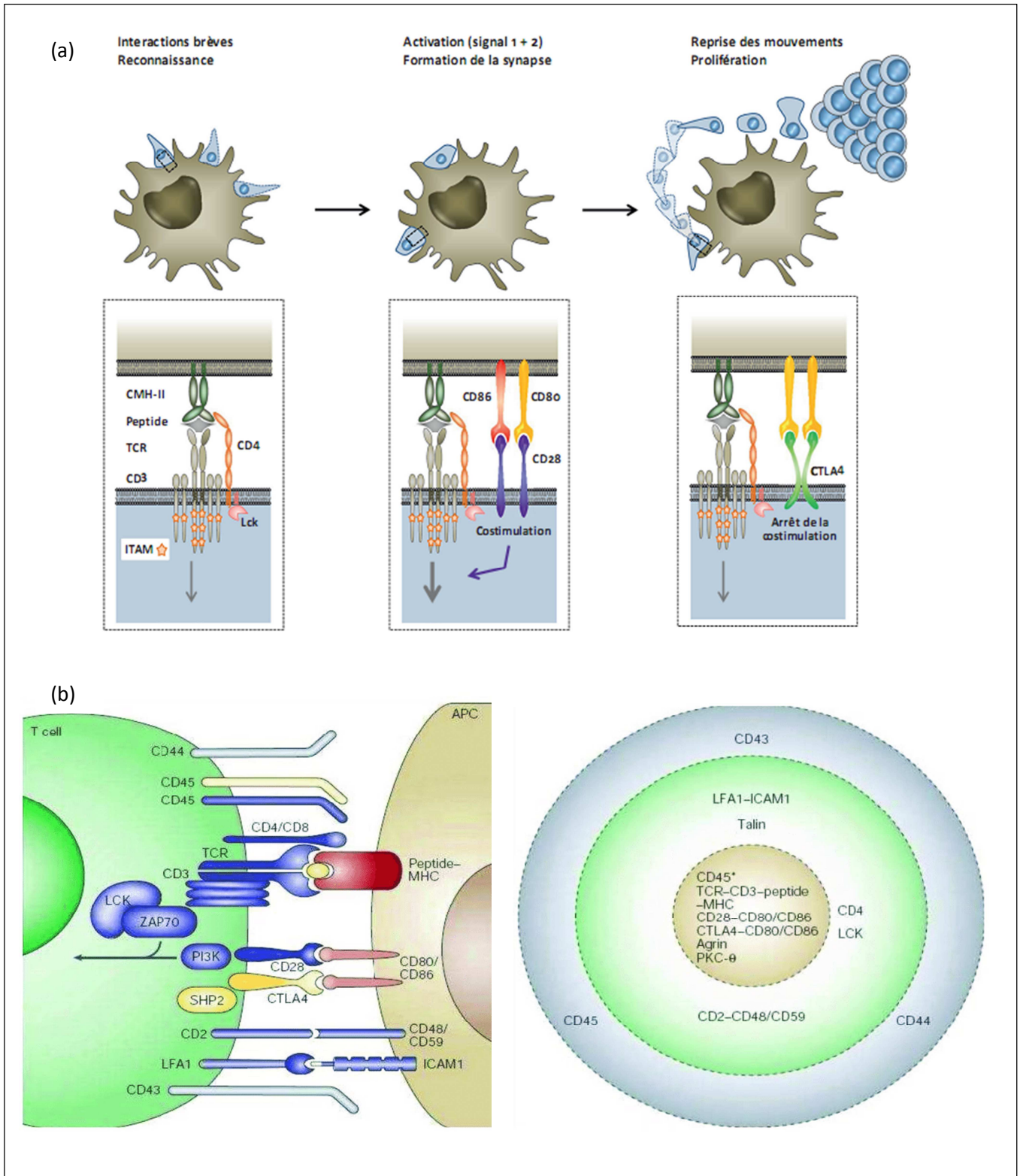


Planche 02. (a) Processus de formation de la synapse immunologique entre une cellule LT et une CPA (Bittencourt et al., 2018). (b) Constitution et organisation de la synapse immunologique (Huppa et al., 2003).

III.1.2.2. Processus de formation de la synapse immunologique entre les LT et les CPA

Les lymphocytes T circulent dans la zone T des organes lymphoïdes secondaires en scrutant les complexes peptide-CMH exposés à la surface des cellules dendritiques. Les lymphocytes T naïfs balayent la surface des cellules dendritiques présentes. Ils peuvent établir des liaisons de faible affinité via les molécules d'adhésion LFA-3 et CD2, LFA-1 et ICAM-1 avec la cellule dendritique. Si leur TCR est complémentaire d'un de ces complexes, la reconnaissance spécifique qui en résulte déclenche un premier signal d'activation qui va

arrêter le déplacement du lymphocyte T et engager la formation d'une structure de contact privilégié avec la cellule dendritique qui est synapse immunologique. Le TCR et la molécule de co-stimulation CD28 sont positionnés au centre de la synapse. La présence d'un deuxième signal (co-stimulation) apporté par la liaison de CD28 aux molécules CD80 et CD86 (B7.1 et B7.2) exprimées par les cellules dendritiques activées est en effet indispensable à l'activation complète du lymphocyte T naïf. Après 2 à 3 jours d'interaction étroite avec la cellule dendritique permettant l'échange de nombreux signaux, l'expression de la molécule CTLA-4 (qui se lie également aux molécules CD80 et CD86) par le lymphocyte T activé arrête la signalisation activatrice, permettant ainsi au lymphocyte T de reprendre ses mouvements et de poursuivre sa prolifération et sa différenciation. Donc, dans la partie centrale de la synapse immunologique se localisent le TCR, le co-récepteur CD4 ou CD8, la molécule CD28 et la molécule de co-stimulation CD28, et dans la partie 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 donc une structure dynamique qui permet d'optimiser la signalisation initiale ainsi que l'inactivation tardive des complexes TCR-CMH-peptide. 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.

III.1.2.3. Transduction du signal de stimulation (TCR-CD3)

Après formation de la synapse immunologique, les co-récepteurs CD4 ou CD8 et CD45 vont initier une cascade d'activations enzymatiques. Celles-ci vont aboutir à la phosphorylation des motifs ITAM, au recrutement d'autres protéines importantes pour la signalisation de l'activation, à l'augmentation du calcium intracellulaire et en fin, par l'intermédiaire de voies de signalisation terminales, induire la translocation nucléaire de facteurs de transcription. Ces derniers vont alors se lier à des promoteurs de gènes importants pour l'activation et prolifération des lymphocytes T, notamment pour la production de la cytokine IL-2, facteur de croissance majeur pour ces cellules.

L'interaction entre le TCR et l'Ag associé aux CMH permet la phosphorylation des motifs ITAM qui sont des régions intra-cytoplasmique des chaînes du CD3 associées au TCR. En effet, l'interaction entre le TCR et le complexe CMH peptide antigénique est fortement amplifiée par le recrutement des co-récepteurs CD4 ou CD8. Les queues intracytoplasmiques de ces co-récepteurs sont associées de manière constitutive à une protéine tyrosine kinase ($p56^{Lck}$ ou *Lck*). Après activation, la *Lck* est positionnée à proximité des ITAM, facilitant ainsi la phosphorylation de leurs résidus tyrosines.

Au repos, la *Lck* est phosphorylée, autorisant une conformation inactive. Après engagement du TCR, la phosphatase CD45 déphosphoryle la *Lck*, permettant un dépliement de la protéine et par conséquent elle devient active. La phosphorylation de la *Lck* est contrôlée par des actions opposées entre la tyrosine phosphatase CD45, qui active la *Lck*, et la tyrosine kinase *Csk* (C-terminal *Src Kinase*), qui inhibe la *Lck*. Une autre tyrosine kinase *fyn* est associée aux chaînes ζ du CD3 dont l'activation est dépendante elle aussi de CD45.

Une fois les motifs ITAM du CD3 sont phosphorylés par *fyn* et *ZAP-70* est recrutée sous l'effet de la *Lck* activée au niveau du complexe de signalisation du TCR-CD3, la *ZAP-70* s'associe aux motifs ITAM phosphorylés. Suite à cette association, la *ZAP-70* devenant active phosphoryle une protéine adaptatrice LAT (*linker for activation of T-cells*) qui peut déclencher des cascades de signalisation parmi lesquelles la voie du *phosphatidyl inositol* via le recrutement de la phospholipase C ($PLC\gamma$), qui à son tour clive un phospholipide membranaire, le phosphatidyl inositol biphosphate (PIP2) pour générer du diacylglycérol (DAG) et de l'inositol triphosphate (IP3), responsables de l'activation de kinases des sérines et thréonines et de l'augmentation du calcium intracellulaire. L'augmentation du calcium résulte dans l'activation d'une phosphatase, la calcineurine, qui déphosphoryle le facteur de transcription NFAT (*nuclear factor of activated T-cells*). DAG active la protéine Ras qui à son tour active le facteur de transcription AP-1 (*Activating Protein-1*). Une autre action de DAG est d'activer la kinase PKC θ (*PKC thêta*), qui induit l'activation et la translocation nucléaire d'un autre facteur de transcription, NF- κ B (*Nuclear Factor κ -B*). Cette activation de facteurs de transcription est responsable de la transduction de gènes gouvernant la survie et les fonctions du lymphocyte T activé.

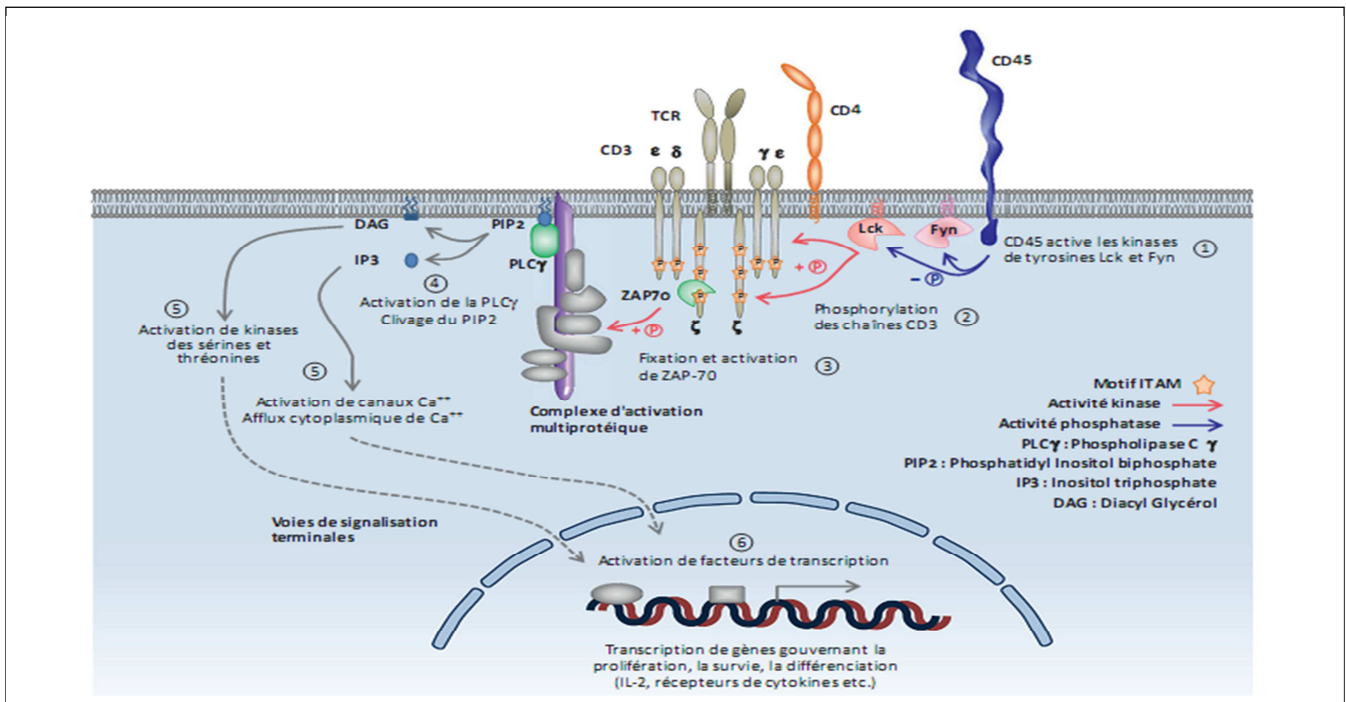


Planche 03. Les voies de transduction du signal de stimulation des Lymphocytes T. (Bittencourt et al., 2018)

III.1.2.4. L'expansion clonale des LT

Lorsque l'antigène et les molécules de co-stimulation interviennent, l'IL-2 produite favorise l'expansion clonale des cellules naïves. En fait, seule une partie du répertoire des lymphocytes peut reconnaître un antigène donné, par conséquent seule une partie du répertoire des lymphocytes est activée par l'antigène donné, ces lymphocytes activés vont subir une intense phase de prolifération puis de différenciation. Après 4 à 5 jours d'intense prolifération, ces lymphocytes T se différencient en cellules T effectrices capables de synthétiser toutes les protéines nécessaires à leur fonction de cellule T cytotoxique ou auxiliaire. Les cellules effectrices subissent des changements qui les distinguent des cellules naïves. Par conséquent, une cellule effectrice ne requiert plus la présence de molécule de co-stimulation pour exercer son effet sur sa cellule cible : ainsi, les lymphocytes T CD8+ activés peuvent détruire n'importe quelle cellule infectée par un virus qu'elle exprime ou non des molécules de co-stimulation. Parmi les autres modifications qui distinguent les cellules naïves des cellules activées, on notera l'expression différentielle de certaines molécules d'adhérence. Les cellules effectrices n'expriment plus la L-sélectine ce qui empêche leur circulation à l'intérieur du ganglion mais expriment VLA-4 qui favorise la fixation des cellules activées au niveau de l'endothélium vasculaire des sites infectés.

III.1.3. Différenciation et maturation des LT

III.1.3.1. Différenciation et polarisation des LTCD4⁺

les lymphocytes T CD4⁺ prolifèrent après reconnaissance de l'antigène présenté par le CMHII et activation via TCR et ses co-récepteurs, une partie des clones activés deviennent lymphocytes effecteurs ou auxiliaires (*T helper*, *Th*) ou bien dans certaines conditions des lymphocytes T à activité régulatrice (*T régulateurs Tregs*).

Les lymphocytes T CD4 activés présentent ainsi une hétérogénéité fonctionnelle : ils sécrètent des répertoires de cytokines différents ; recrutent et activent certaines cellules de l'immunité innée ; peuvent favoriser l'activation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques et des lymphocytes B spécifiques de l'antigène. Ces profils fonctionnels différents leur confèrent des rôles spécifiques dans l'élimination des différents types de micro-organismes infectieux. Le rôle des iTreg est différent de celui des Th, puisqu'ils freinent les réponses immunitaires inopportunes, telles que les réponses dirigées contre le soi et de régulent l'intensité et la durée des réponses immunitaires.

Cette différence de destinée du lymphocyte TCD4+ est dépendante des cytokines produites par la cellule présentatrice d'antigène qui l'active. On distingue ainsi:

a. Les lymphocytes Th1

Les lymphocytes T auxiliaires CD4 peuvent se différencier en sous-populations de cellules effectrices qui produisent différents groupes de cytokines assumant des fonctions variées. L'invasion des cellules phagocytaires par des pathogènes intracellulaires induit une sécrétion importante de l'IL-12 qui à son tour stimule la production de l'IFN γ par les cellules NK. Comme l'interaction CD40-CD40L, l'engagement de nombreux récepteur TLR des cellules dendritiques avec des produits microbiens (LPS, l'ARN double brin, ADN bactérien) déclenche la maturation des cellules dendritiques et la production de l'IL-12 favorisant ainsi le phénotype Th1.

Les LTh1 sécrètent majoritairement de l'Interféron-gamma (IFN- γ), du *Tumour Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) et de l'interleukine-2 (IL-2). Ces lymphocytes induisent les réponses immunes cellulaires les plus efficaces contre les virus et bactéries, comme elles jouent un rôle très important dans l'inflammation (cytokines pro-inflammatoires). Cependant, cette réponse anti-infectieuse Th1 peut aussi être à l'origine des lésions immunopathologiques tissulaires, notamment lors d'une infection chronique. Ces cellules sont aussi impliquées dans les maladies auto-immunes.

b. 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. Ce phénotype est obtenu grâce à l'IL-4. Ce dernier réduit l'expression de la sous-unité β 2 du récepteur de l'IL-12. Les LTh2 sécrètent surtout l'IL-4, -5, -6, -10 et -13. L'IL-4 agit de manière autocrine et il a un effet inhibiteur sur la production d'IFN γ par les LTh1. Les LTh2 jouent un rôle dans l'activation des lymphocytes B et la coopération T/B. Ils induisent la production d'IgE et stimulent l'action des éosinophiles, favorisant l'élimination des parasites extracellulaires comme les helminthes. Cependant, les Th2 favorisent aussi les maladies allergiques.

Certains nombre d'observations indiquent l'existence de sous populations de cellules dendritiques spécialisées dans la stimulation des Th1 ou Th2, il semble que les cellules dendritiques soient relativement souples et puissent adopter un phénotype de polarisation Th1 ou Th2 selon les signaux qu'elles reçoivent des pathogènes ou des tissus qu'elles occupent. En effet, il a été démontré que le développement des sous populations Th1 et Th2 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. Ainsi, une amplification positive s'établit pour une des deux sous-populations, avec comme conséquence une polarisation fonctionnelle de la réponse immune en fonction des cytokines présentes dans le microenvironnement cellulaire ("troisième signal" de stimulation des LT).

c. 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. Il a été montré que des lymphocytes T CD4+ pouvaient se différencier en lymphocytes Th17 sous l'influence des facteurs tels que TGF- β , l'IL-6, l'IL-21 et de l'IL-23. Ces cellules sont importantes pour le contrôle des infections bactériennes extracellulaires et fongiques. En effet, elles facilitent le recrutement et l'activation des cellules phagocytaires, en particulier les polynucléaires neutrophiles. Les lymphocytes Th17 peuvent aussi être impliqués dans plusieurs maladies inflammatoires et auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux disséminé), le cancer, l'allergie et le rejet de greffes allogéniques.

d. Les lymphocytes Treg

Les lymphocytes T régulateurs (Tregs ou Tr) sont une sous-population de lymphocytes T CD4+ ayant la propriété d'inhiber la prolifération d'autres lymphocytes T effecteurs.

Les lymphocytes Tregs comprennent plusieurs sous-populations distinctes de cellules T qui contrôlent les réponses immunitaires par la production de cytokines comme l'IL-10 et par contacts cellulaires directs. On distingue les lymphocytes T régulateurs naturels (*nTregs* ou *iTregs*) produits par le thymus, et les lymphocytes T

régulateurs adaptatifs produits en périphérie à partir de lymphocytes T conventionnels (*pTregs*). Par ailleurs, il est possible d'induire des Lymphocytes T régulateurs (*iTregs*) à partir de lymphocytes T conventionnels in vitro en présence de TGFβ ou d'IL-10 et d'IL2, certains les dénomment Tr1.

Les Tregs ont pour cibles les cellules dendritiques présentatrices d'antigène, les lymphocytes T CD4+ et CD8+ effecteurs mais aussi les lymphocytes B effecteurs producteurs d'anticorps. Les Tregs sont nécessaires au maintien de la tolérance immunitaire, ils participent donc au maintien de l'homéostasie. Ainsi, les lymphocytes Tregs contribuent fortement à la tolérance périphérique aux antigènes du soi.

e. Autres sous-populations

Les principales catégories de T helpers sont représentés par les Th1/ Th2/ Th17/Tregs mais il existe d'autres catégories moins décrites et présentant diverses fonctions. Ainsi, les lymphocytes **Th3** sont des LT CD4+ des fonctions régulatrices via la sécrétion de TGF-β. Les lymphocytes **Tr1** sont des LT CD4+ ayant une activité régulatrice via la sécrétion d'IL-10. Les lymphocytes Th3 et Tr1 sont des cellules suppressives associées à la tolérance muqueuse via la sécrétion de TGF-β et d'IL-10, respectivement. Les lymphocytes **Th9** sont des LT CD4+ sécréteurs d'IL-9 jouant un rôle dans l'auto-immunité et l'immunité anti-helminthique (contre les vers parasites). Les lymphocytes Th9 peuvent être induits à partir de cellules Th2 sous l'influence du TGF-β. Leur rôle physiologique est encore imparfaitement caractérisé. Les cellules T CD4 Th9, Th3 et Tr1 ne sont pas encore entièrement établies comme des profils distincts.

Les lymphocytes **T helpers folliculaires (Tfh)** représentent une sous-population de LT CD4+ destinés à assister les lymphocytes B qui ont des fonctions essentielles dans la formation du centre germinatif, dans la création d'un répertoire BCR de haute affinité et dans le développement de LB mémoires et de plasmocytes sécréteurs d'anticorps de haute affinité. Leur développement implique une stimulation en particulier par de l'IL-6 et la mise en jeu du facteur de transcription Bcl-6 (*B cell lymphoma 6*).

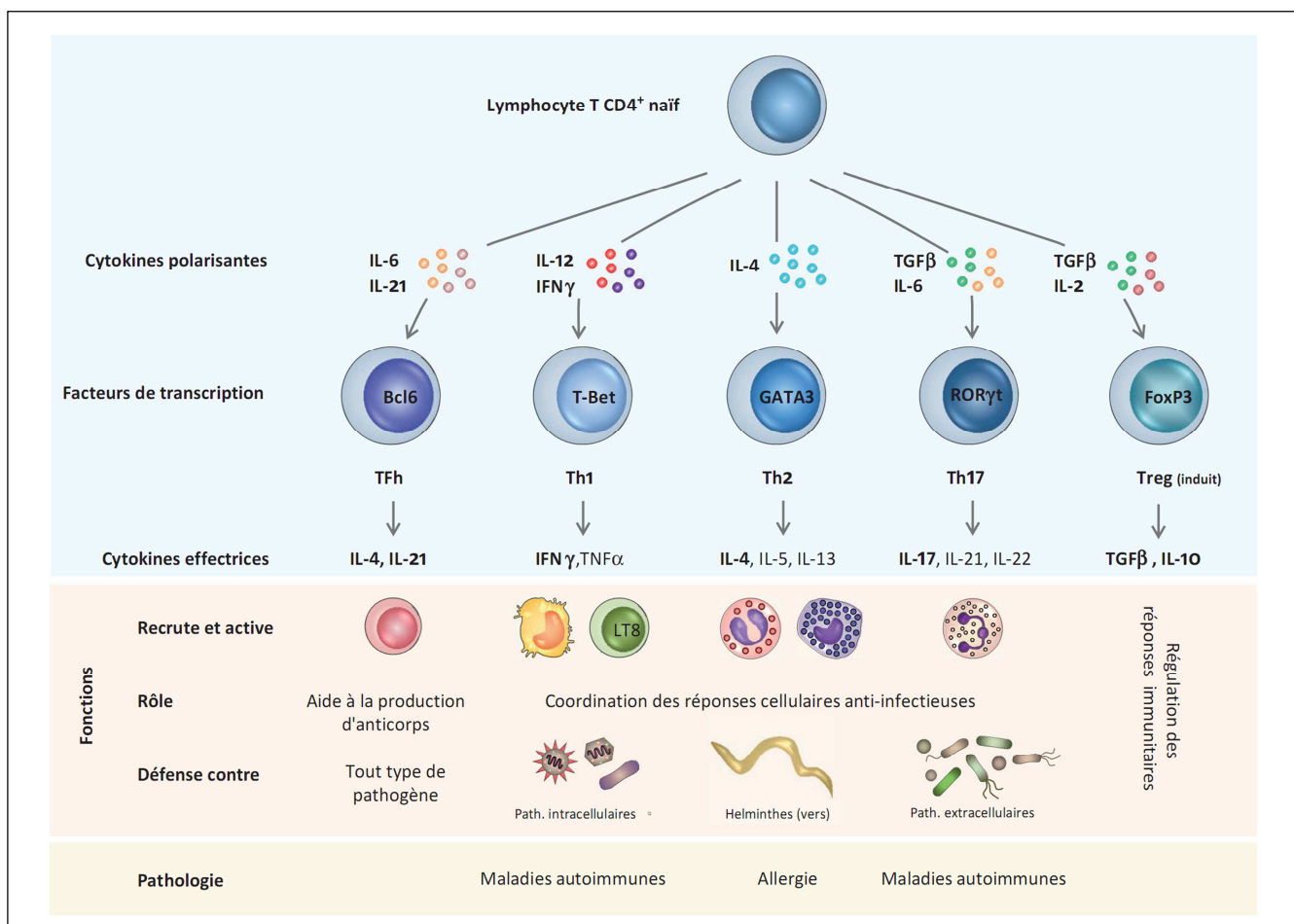


Planche 04. Différenciation et polarisation des LTCD4+. (Bittencourt et al., 2018)

III.1.3.2. Différenciation et polarisation des LTCD8⁺

III.1.3.2.1. Activation des LTCD8⁺

Les lymphocytes TCD8⁺ sont activés par des fragments antigéniques présentés par des molécules du CMHI. En effet les lymphocytes TCD8⁺ circulent à l'état "pré-cytotoxique" et reçoivent des signaux d'activation pour devenir "cytotoxique". Ces signaux leurs sont donnés suite à leur interaction, également sous forme de synapse, avec la CPA portant le CMHI-peptide. Comme précédemment décrit on distingue deux types de signaux :

- Des signaux de stimulation permis par des kinases qui phosphoryleront les motifs ITAM des régions intracytoplasmique des chaînes du CD3 associées au TCR.

- Des signaux de costimulation, indispensable à une activation totale du lymphocyte, qui sont induit par l'interaction entre le cluster de différenciation CD28 présent à la surface du lymphocyte TCD8⁺ et le récepteur B7.

- La production de cytokines pro-inflammatoire et en particulier l'IL-2 par la CPA activée, par le T helper et par le LT CD8⁺ stimulé vont permettre une amplification de l'activation et de la prolifération des LT CD8⁺.

Il est nécessaire de préciser que la plupart des cellules nucléées cibles expriment les molécules du CMH-I, ce qui n'est pas le cas du récepteur B7 exprimé par les cellules CPA. L'activation n'est donc pas directe, et nécessite une seconde interaction avec une cellule présentatrice d'antigène qui sera principalement la cellule dendritique. Cependant, la cellule dendritique exprime parfois trop faiblement le récepteur B7. De cette manière, le lymphocyte T-CD8 peut être activé par :

- **La cellule dendritique infectée** qui présentent directement le B7 et en quantité suffisante. Ils permettent ainsi l'activation du LT cytotoxique qui ira lyser la cellule cible présentant l'antigène. L'antigène devra être présenté par les molécules du CMH-I et donc correspondre à des antigènes synthétisés dans la cellule (antigène viral...etc.).

- **La cellule dendritique non infectée**, par **cross-priming** ou **cross-présentation**, qui nécessitent préalablement l'internalisation de l'antigène qui sera dégradé dans le cytoplasme, afin d'être présenté par des molécules du CMH-I, bien que l'antigène vienne de l'extérieur. Le souci de ces cellules est qu'elle exprime trop faiblement le B7; d'où la nécessité de l'aide des LT-CD4 (LTh1 en particulier). En effet les LTh1 vont reconnaître les antigènes présentées par les molécules du CMH-II exprimées à la surface des cellules dendritiques, et c'est l'interaction entre le ligand du récepteur CD40 (CD40-ligand) présent à la surface des LTh1 et le cluster de différenciation CD40 présent à la surface des cellules dendritiques qui induira l'augmentation de l'expression du B7, et permettra ainsi la formation des signaux de costimulation et donc l'activation des LT cytotoxiques.

III.1.3.2.2. Les sous-populations des LTCD8⁺

a. LT CD8⁺ cytotoxiques (CTL)

Les lymphocytes T cytotoxiques (*CTL*, *Cytotoxic T-cells*) sont des LT CD8⁺ spécialisés dans l'élimination directe de cellules infectées (en particulier par des virus), malignes ou dont l'intégrité est altérée.

Lors de leur migration au sein du tissu infecté, les CTL établissent des contacts avec leurs cellules cibles. Au niveau moléculaire, ces contacts reposent sur l'interaction entre le TCR du CTL et le complexe peptide CMH de classe I entraine une adhésion étroite à ces cellules, ceci aboutit à la formation d'une synapse immunologique cytotoxique de façon très rapide (moins de trois minutes après l'initiation du contact). La stabilité de la synapse cytotoxique est renforcée par des molécules d'adhérence, notamment des intégrines telles que LFA-1 exprimées par le CTL par interaction avec leurs ligands ICAM-1.

Les CTL activées libèrent alors par exocytose le contenu de leurs granules: perforines et granzymes. La perforine par polymérisation va permettre la perméabilisation de la cellule cible et les granzymes libérés dans le cytoplasme vont entrainer l'apoptose. Les CTL activés expriment aussi une protéine membranaire, le Fas-Ligand

(FasL), qui se lie à un récepteur inducteur de mort, appelé Fas (ou CD95) sur les cellules cibles et entraînent l'apoptose de celles-ci. En plus de leur capacité cytolytique, les CTL sont capables de sécréter des cytokines telles que l'IL-2, l'INF- γ , le TNF- α et certaines chimiokines qui permettent une intensification de la réponse anti-infectieuse. Ces médiateurs à propriétés pro-inflammatoires, vont permettre le recrutement et l'activation de macrophages et pour certains (l'INF- γ , TNF- α) des propriétés directement inhibitrices de la réplication virale.

A la suite de l'expansion clonale, la grande majorité des LT CD8+ spécifiques de l'antigène rencontré meurent, laissant derrière eux une petite population de LT CD8+ mémoires à longue durée de vie qui permettra une réponse plus efficace lors d'un éventuel nouveau contact avec l'antigène (se conférer à la partie LT mémoires).

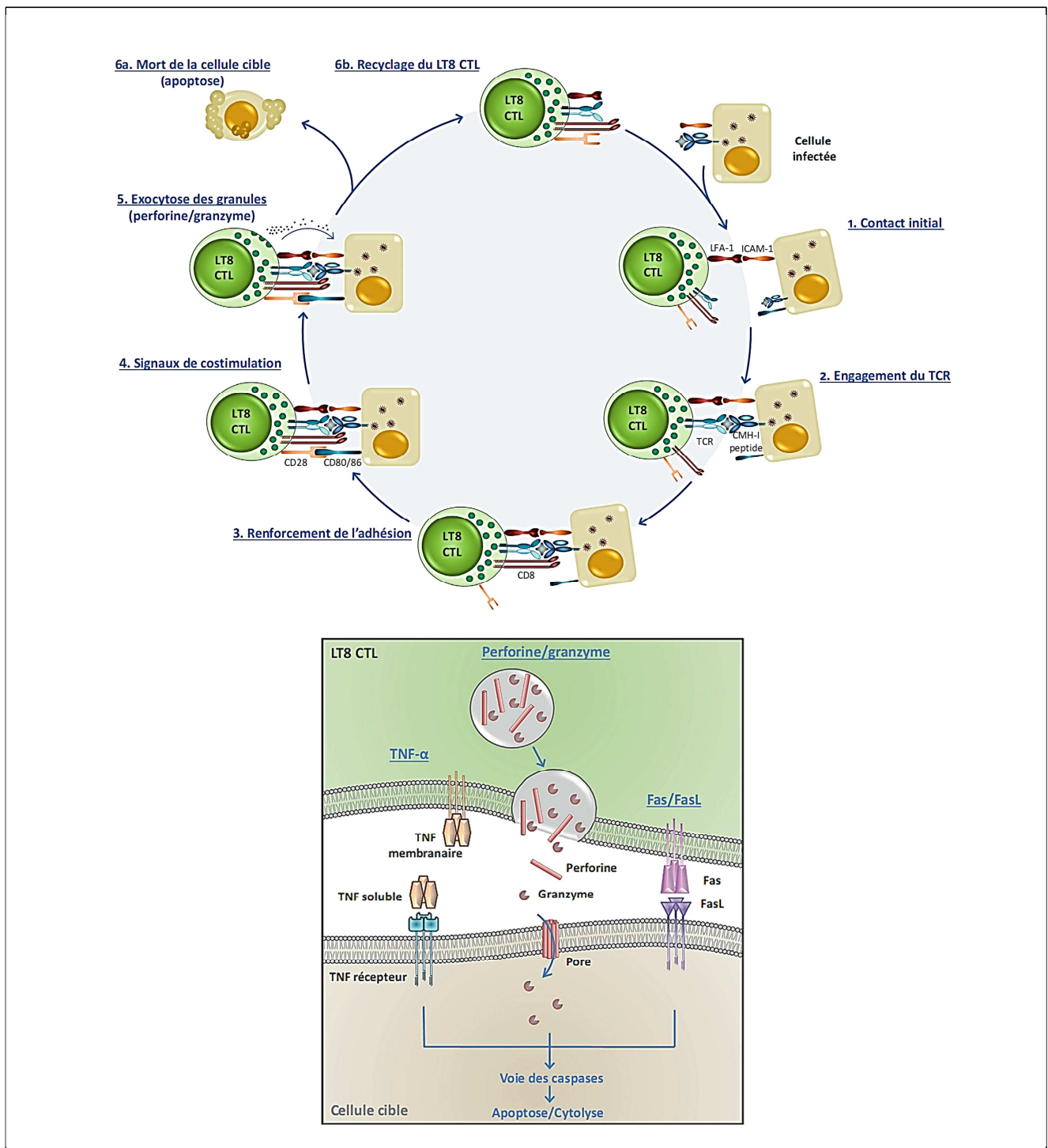


Planche 05. (a) Mécanismes d'activation des LTCD8+ cytotoxiques (CTL) et (b) de formation de la synapse cytotoxique. (Rosenzwaig et al., 2018)

b. LT CD8⁺ régulateurs

Une population régulatrice a aussi été décrite au sein du compartiment lymphocytaire CD8⁺ (*Tregs* CD8⁺). Ces Tregs CD8⁺, d'une grande diversité, peuvent être générés dans le thymus ou en périphérie à partir de LTCD8⁺ naïfs. Cette population est de phénotype hétérogène et il n'a pas été mis en évidence de marqueurs spécifiques. Les Tregs CD8⁺ peuvent cependant partager des marqueurs phénotypiques communs avec les Tregs CD4⁺ comme le CD25 ou Foxp3 et peuvent aussi exprimer des marqueurs comme le GITR, le CTLA-4, le CD103 ou le CD122. Ils sont capables de produire des cytokines inhibitrices telles que l'IL-10 et le TGF-β et de modifier l'état d'activation des LT effecteurs et des CPA.

Les Treg CD8⁺ jouent un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie immunitaire, et ils sont impliqués dans le contrôle d'un large panel de réponses immunes telles que l'immunité intestinale, l'auto-immunité, la tolérance orale aux antigènes alimentaires, ainsi que le rejet de greffe.

III.1.3.3. Différenciation et développement des LT mémoires

III.1.3.3.1. Développement des LT mémoires

Lors d'un premier contact antigénique, l'expansion clonale des lymphocytes T spécifiques d'un antigène augmente fortement leur fréquence, ils acquièrent des fonctions effectrices afin d'assurer une réponse immunitaire efficace. Ainsi, après élimination (ou clairance) de l'antigène, ou son confinement dans l'organisme (immunité non stérilisante), différents mécanismes interviennent pour éliminer la majorité des cellules T effectrices (**contraction clonale**) tout en permettant la constitution d'un panel de cellules T mémoires nécessaire pour permettre une réponse immunitaire plus rapide et plus efficace lors de réexpositions antigéniques.

Les lymphocytes T mémoires garantissant une immunité protectrice vis-à-vis du pathogène spécifique tout au long de la vie. Leur fréquence chez l'homme varie au cours du temps, et on observe trois principales phases :

- Une phase initiale de génération intense à partir de la naissance et durant les deux premières décennies de la vie. C'est une période de grande susceptibilité aux infections et de croissance importante de la population des T mémoires.

- Un plateau est atteint à l'âge de 20 – 25 ans et la fréquence des T mémoires reste stable au cours de la vie d'adulte. Le taux de T mémoire est maintenu grâce à un turnover homéostatique. Cette période de la vie est de moindre sensibilité aux infections.

- Une phase d'immuno-sénescence apparaît vers 65 – 70 ans, marquée par une décroissance de la population T mémoire et par une perte progressive de leurs fonctions effectrices.

Chez l'Homme La fraction de LT circulants représente environ 2 à 2.5% de la totalité des LT présents dans le corps (circulants et tissulaires). Sa composition varie au cours de la vie. Durant l'enfance et de l'adolescence, on observe une majorité de LT naïfs circulants. C'est une période de génération importante de LT mémoires qui vont atteindre un taux d'environ 35% des lymphocytes circulants au début de l'âge adulte. Au cours de la vie d'adulte le taux de LT mémoires atteint un plateau et augmente progressivement au fil des années jusqu'à atteindre environ 50% des LT circulants. Aux alentours d'environ 65 ans la proportion de LT mémoires circulants augmente encore (moins de LT naïfs circulants) mais sont marqués par une perte progressive de leurs fonctions effectrices.

III.1.3.3.1. Différents types des LT mémoires

Les LT mémoires chez l'homme sont classiquement distingués par l'expression de l'isoforme CD45RO et l'absence d'expression du CD45RA (CD45RO⁺ CD45RA⁻). De plus, une classification reposant sur la présence ou l'absence membranaire des molécules CCR7 (récepteur de chimiokines interagissant avec CCL19 et CCL21), CD62L (ou L-Sélectine) et CD45RA permet d'identifier les trois grandes catégories de cellules T mémoires circulantes : les cellules T mémoires centrales (T_{CM}), les cellules T mémoires effectrices (T_{EM}) et les cellules mémoires effectrices réexprimant le CD45RA (T_{EMRA}). Outre ces trois sous-populations T mémoires capables de

circuler, le compartiment mémoire comprend une quatrième sous-population, les cellules T mémoires résidentes (T_{RM}) des tissus non lymphoïdes.

a. Les cellules T mémoires centrales (T_{CM})

Ce sont des LT mémoires $CCR7^+ CD45RA^-$, expriment majoritairement $CD62L$, ont un fort potentiel prolifératif et constituent les précurseurs pour la génération intense et rapide de cellules T effectrices secondaires en cas de réexposition à l'antigène. Comme les cellules T naïves, les molécules $CCR7$ et $CD62L$ leur confèrent la capacité de passer du sang aux zones T des organes lymphoïdes secondaires où elles sont susceptibles d'interagir rapidement avec les CPA.

b. Les cellules T mémoires effectrices (T_{EM})

Ce sont des LT $CCR7^- CD45RA^-$ et n'expriment en général pas $CD62L$. Elles peuvent au cours de leur existence être localisées dans la circulation sanguine et lymphatique, les organes lymphoïdes secondaires mais également dans des tissus non lymphoïdes. Elles possèdent une grande capacité proliférative mais sont aussi capables de sécréter rapidement les cytokines dès leur activation. Elles peuvent renfermer des granulations cytotoxiques, tout particulièrement les cellules $TEM CD8^+$.

c. Les cellules T mémoires effectrices réexprimant le $CD45RA$ (T_{EMRA})

Ce sont des LT $CCR7^- CD45RA^+$ et sont considérées comme des cellules très différenciées, avec des capacités effectrices immédiates mais une capacité proliférative limitée. Ces cellules, très minoritaires au sein des lymphocytes T $CD4^+$, sont surtout présentes au sein du compartiment T $CD8^+$ mémoire chez l'adulte et le sujet âgé. Elles sont souvent oligoclonales.

d. Les cellules T mémoires résidentes (T_{RM})

Les cellules T mémoires résidentes (T_{RM}) résident dans les tissus épithéliaux périphériques et par leur position stratégique constituent une première barrière de protection en cas de réexposition à l'antigène. Elles dérivent principalement des cellules T mémoires effectrices entrées dans les tissus lors de la primo-infection qui se sont différenciées in situ. Les T_{RM} sont $CCR7^- CD45RA^-$ comme les T_{EM} mais se distinguent par l'expression à leur surface de la molécule $CD69$ (une lectine, également marqueur d'activation) et pour certaines également la molécule $CD103$ (une molécule d'adhérence, l'intégrine αE). Ces deux molécules jouent un rôle dans la rétention et la survie des TRM au sein des tissus.

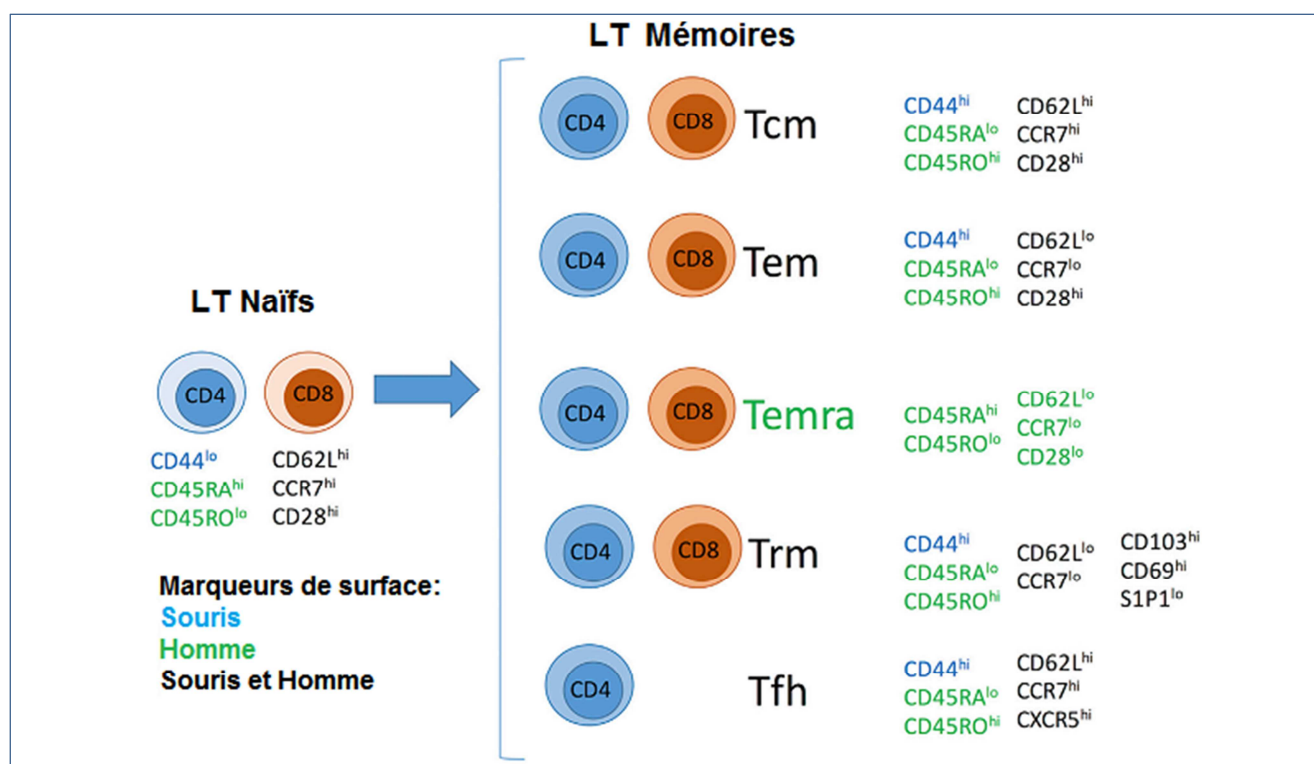


Planche 06. Les différentes sous-populations des LT mémoires (adaptée de Benichou et al., 2018)