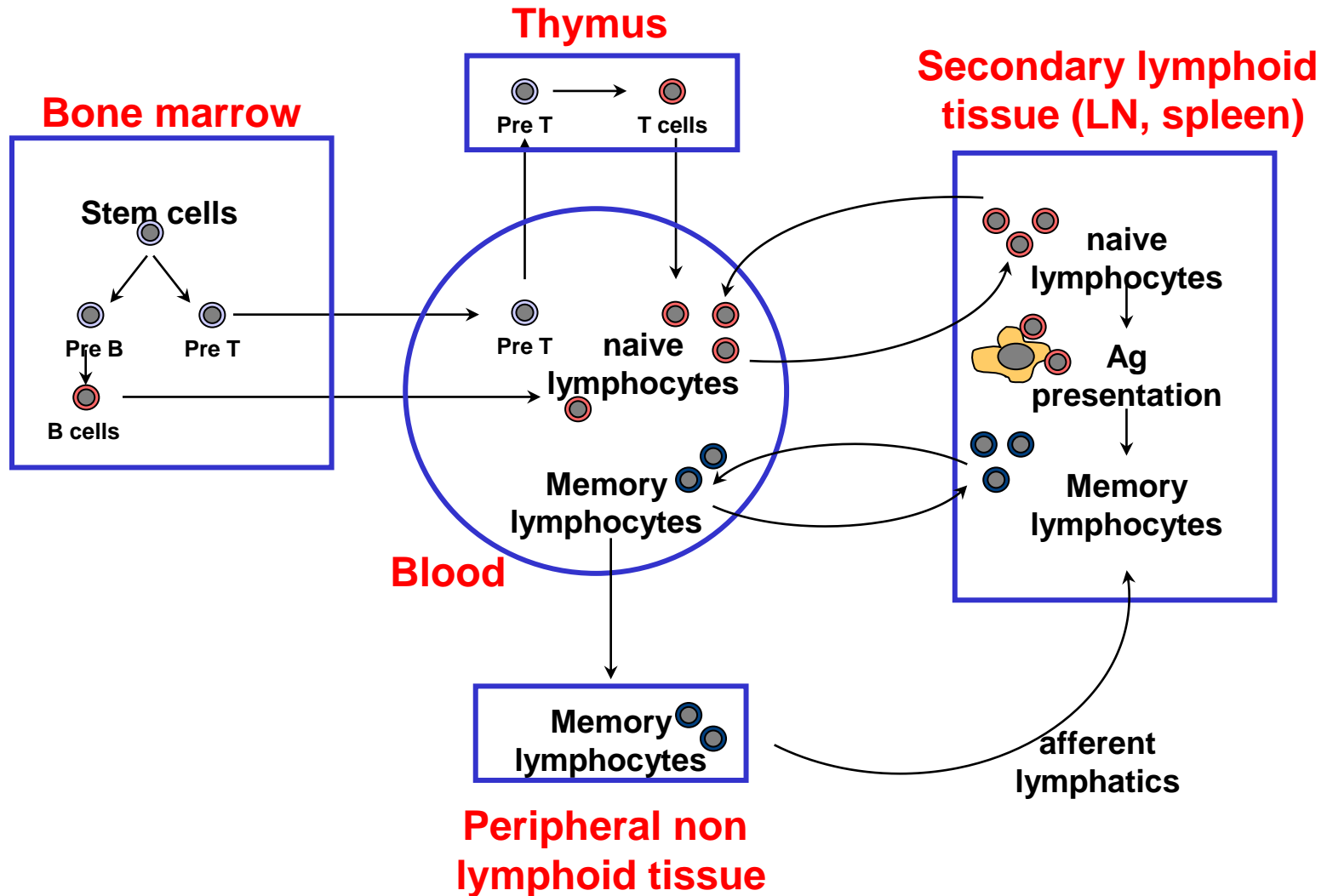


# **Activation de la cellule T**

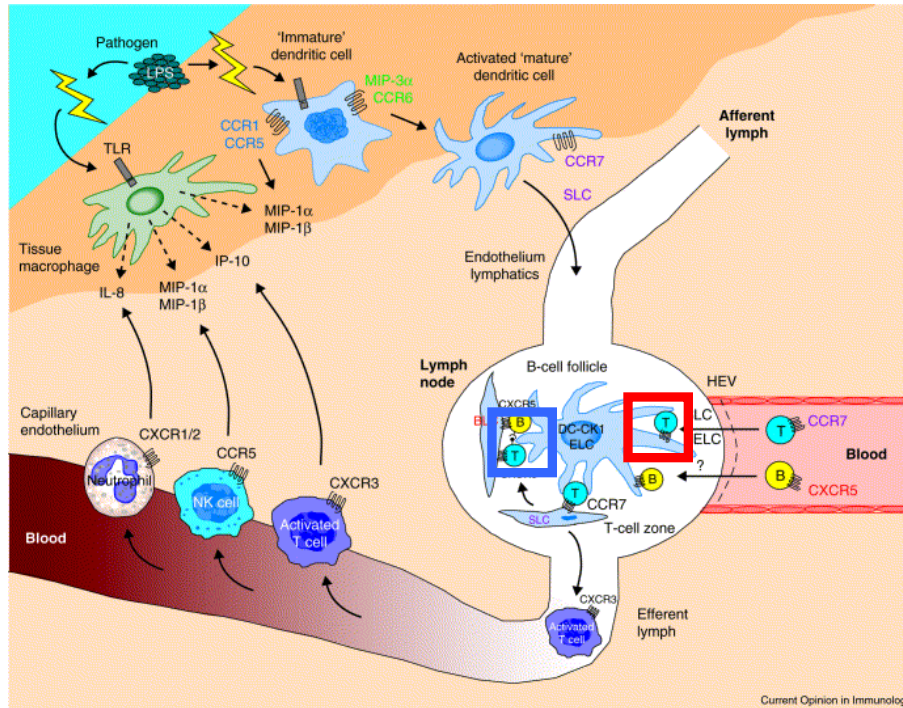
- 1. Les lieux de rencontre avec l'antigène -  
la synapse immunologique**

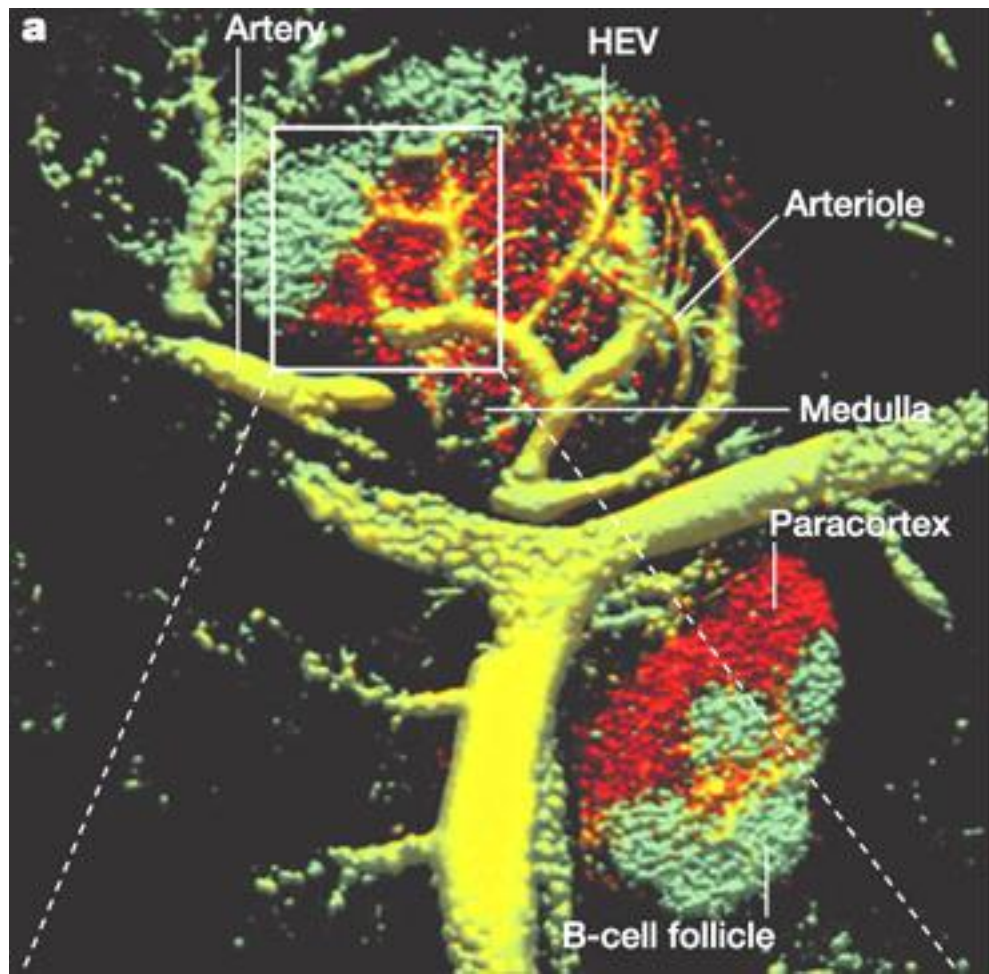
# Les organes lymphoïdes primaires, secondaires, tertiaires



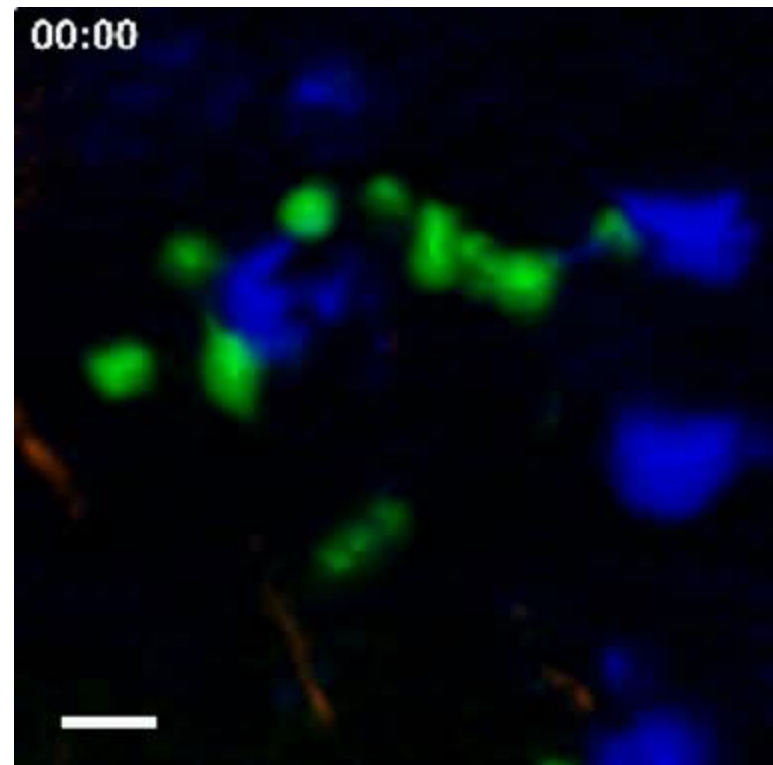
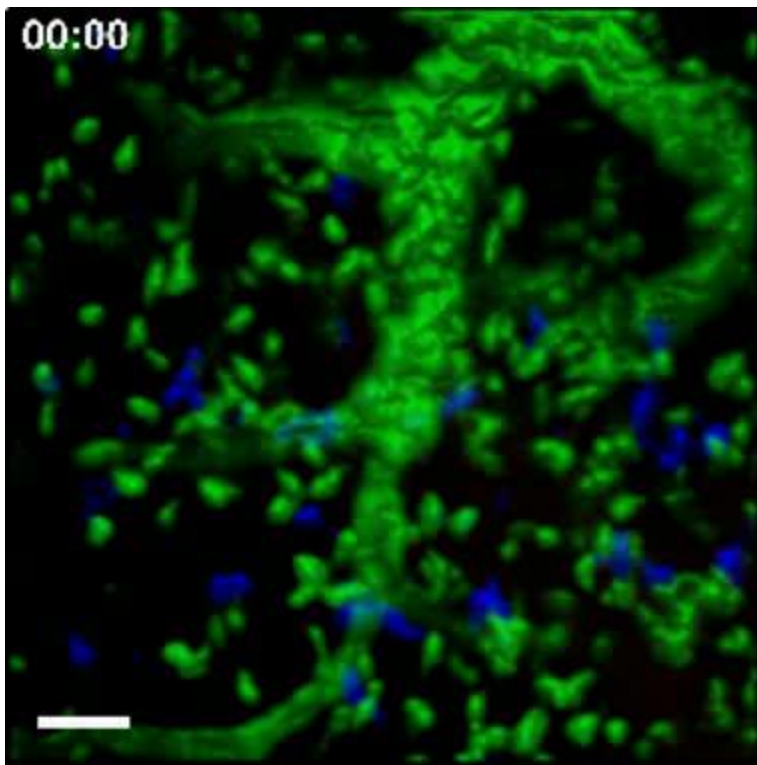
## L'entrée des lymphocytes dans les organes lymphoïdes secondaires

- La majorité des lymphocytes naïfs résident dans le sang (un peu) et les organes lymphoïdes secondaires (beaucoup).
- Ces cellules utilisent des récepteurs spécifiques (L-sélectine, CCR7, LFA-1) pour reconnaître des ligands présents sur les HEV et entrer dans les organes lymphoïdes secondaires comme les ganglions.
- En moyenne un lymphocyte naïf passe environ 12h dans un ganglion avant de le quitter via les vaisseaux lymphatiques efférents, le canal thoracique et finalement la circulation sanguine.
- Ces cellules naïves recirculent ensuite vers un autre ganglion (ou un autre organe lymphoïde secondaire) jusqu'à leur mort ou leur rencontre avec un antigène.



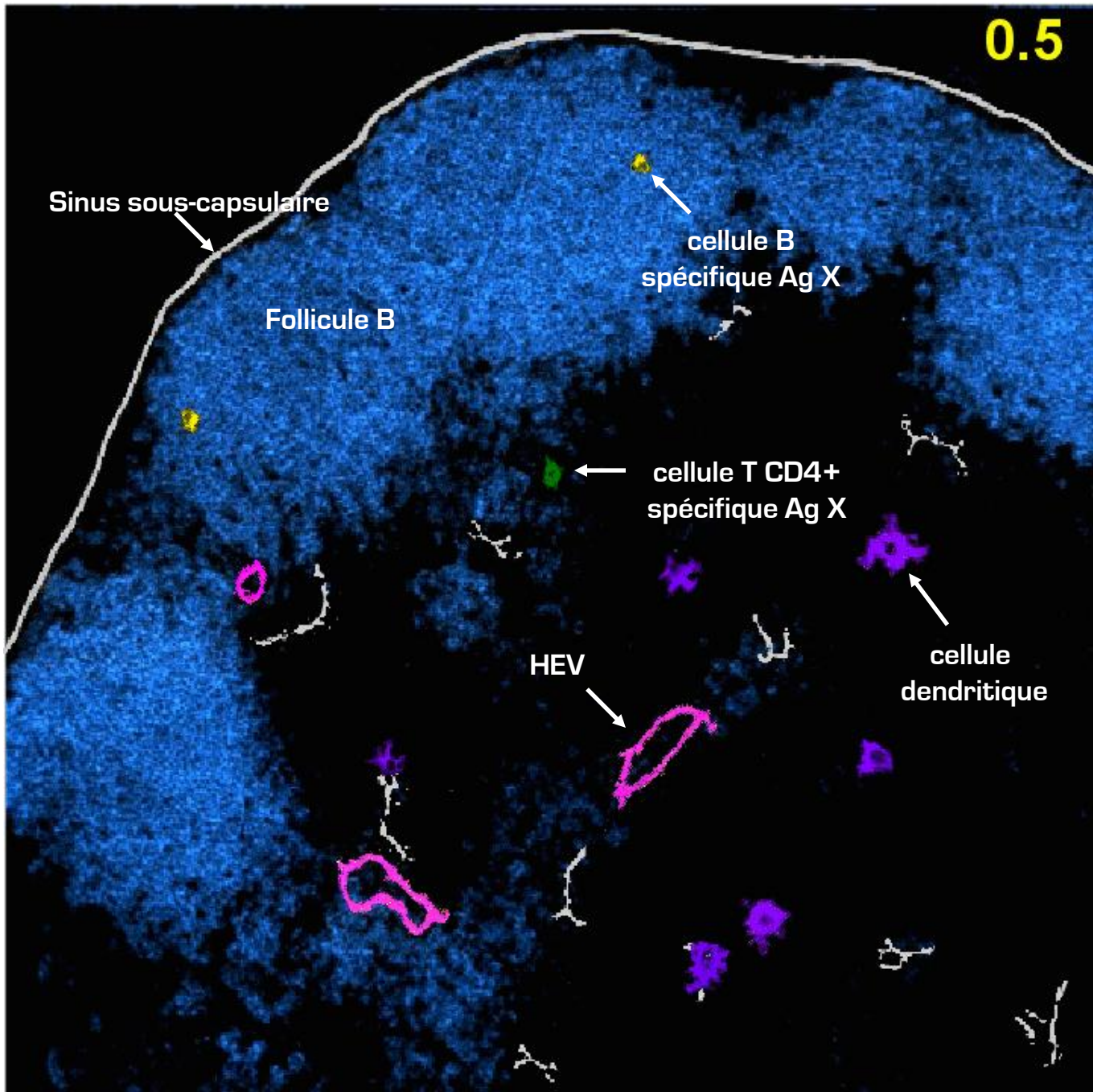


## Les interactions cellules T cellules dendritiques dans un ganglion



Les cellules T sont en vert, les cellules dendritiques en bleu. Les cellules dendritiques sont chargées en antigène.

0.5



Movements of DC and Naive  
Lymphocytes  
in the Absence of Antigen

Immunity Reviews Issue  
"In Vivo Monitoring of Immunity"

## En l'absence d'antigène

- **Les cellules se déplacent au hasard mais restent dans leurs aires**
  - ✓ Les cellules B dans les follicules
  - ✓ Les cellules dendritiques dans les zone T
  - ✓ Les cellules T dans les zones T et en bordure des zones B
  - ✓ Pas de rencontre entre cellule T CD4+ et cellule B
- **Un ganglion de 2 mm de diamètre est peuplé d'environ 4 millions de lymphocytes qui restent environ 12h avant de rejoindre la circulation.**
- **On estime à environ 0.2 rencontre par heure entre cellule T et cellule dendritique**
- **Le temps de contact moyen est de l'ordre de 3 min**
- **La fréquence des contacts entre cellule T spécifique d'un antigène donné (pourtant très rare au sein de la population T) est finalement considérable.**

Movements of DC and Antigen-Specific  
CD4+ T Cells and B Cells After  
Subcutaneous Injection of a  
Soluble  
Antigen

Immunity Reviews Issue  
"In Vivo Monitoring of Immunity"

## En présence de l'antigène (injection sous-cutanée) - les interactions T:DC

- Les cellules se déplacent toujours au hasard au début
- L'activation initiale des cellules T CD4+ spécifiques survient à la suite de rencontres transitoires (moins de 10 min) et multiples.
- Ces rencontres entraînent par exemple l'apparition de marqueurs de surface (comme CD69) très rapidement qui témoignent de l'activation T.
- Dans un deuxième temps surviennent des interactions plus prolongées
- Puis la cellule T se divise (en moyenne 30h après l'injection de l'antigène)
- Les cellules filles migrent au hasard, rencontrent d'autres cellules dendritiques chargées de l'antigène et se divisent à nouveau (ces interactions pourraient favoriser de nouvelles divisions)

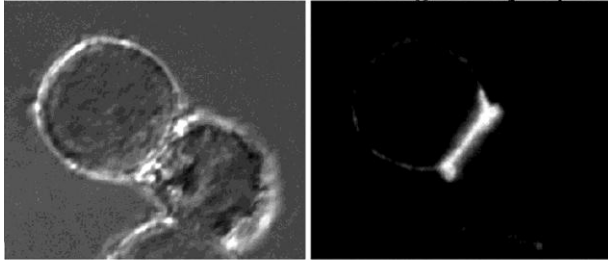
## En présence de l'antigène (injection sous-cutanée) - les interactions T:B

- Les cellules B du follicules sont capables d'acquérir de l'antigène (processus mal connu - diffusion de très faible quantité d'antigène ?)
- De très faibles quantité d'antigène favorisent les cellules B avec un BCR de haute affinité.
- Cette activation par le BCR favorise le mouvement des cellules B aux berges du follicule (« follicular exclusion ») via des variations de l'expression des récepteurs de chimiokines comme CXCR5 (favorise la localisation dans les zones B-dépendantes) qui diminue et CCR7 (favorise la localisation vers les zones T dépendantes) qui augmente.
- Entraîne la formation d'interactions stables T-B en bordure des zones B
- Ces cellules B (activées par l'antigène) reçoivent des signaux supplémentaires (CD40, cytokines) grâce à l'interaction avec les cellules CD4 qui leur permet de proliférer, de sécréter des anticorps... (voir cours correspondant).

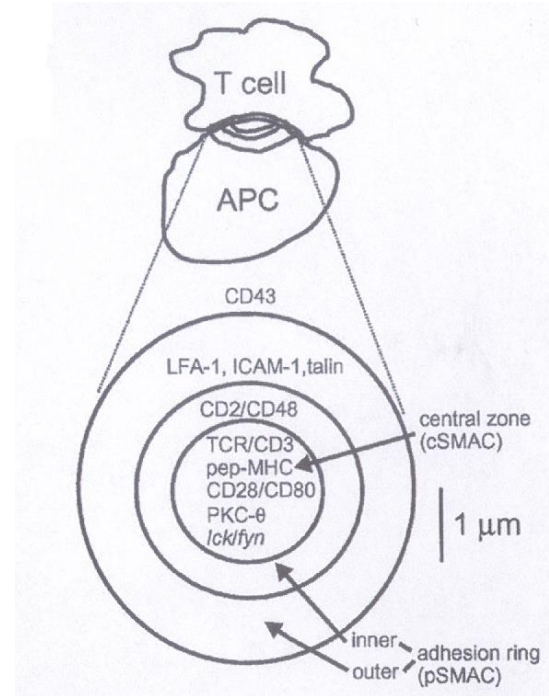
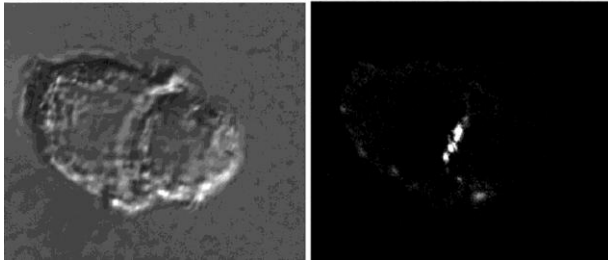
# La synapse immunologique

- L'interaction d'une cellule T et d'une cellule présentatrice de l'antigène entraîne la formation d'une surface de contact appelée synapse immunologique.
- (la SI désigne la zone de contact entre un lymphocyte effecteur (T, B, NK) et une APC ou une cellule cible).
- Sa formation comporte plusieurs phases
  - ✓ Arrêt de la migration des cellules T
  - ✓ Synapse immature très « fluide »
  - ✓ Synapse mature (partie centrale - partie périphérique)

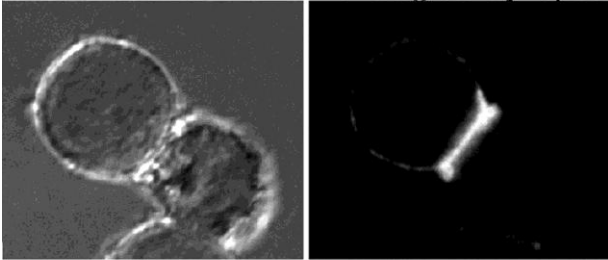
### Localization to the Immunological Synapse



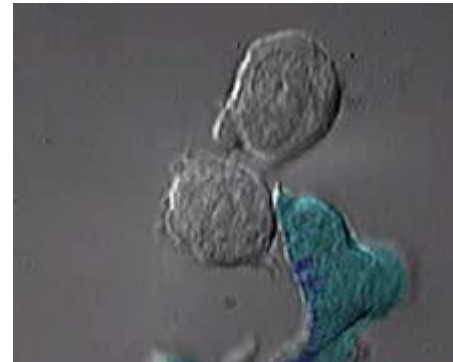
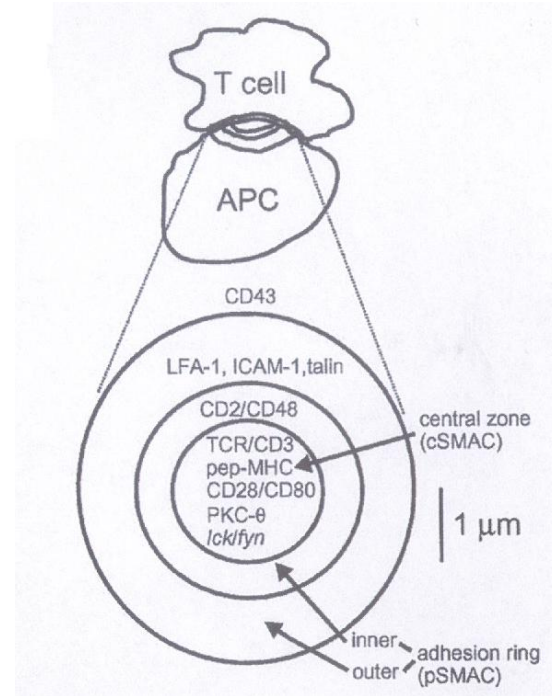
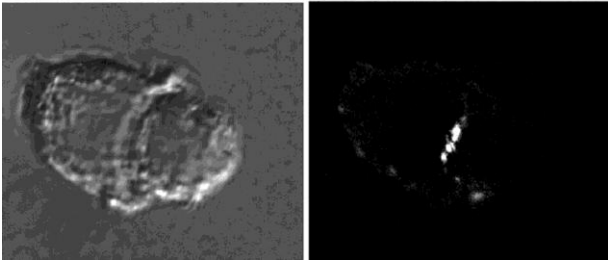
### Localization to the c-SMAC

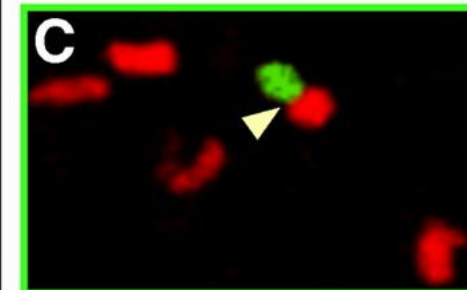
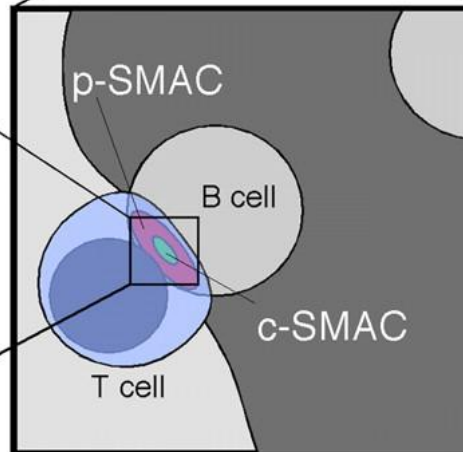
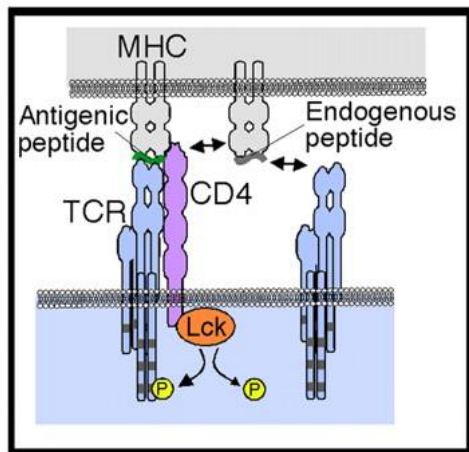
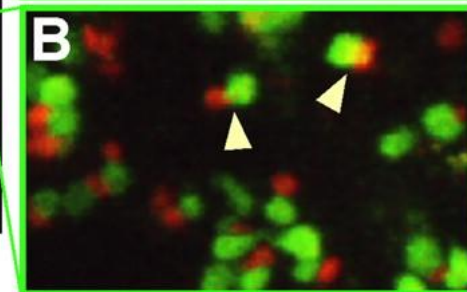
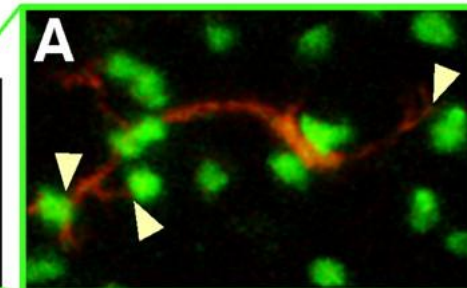
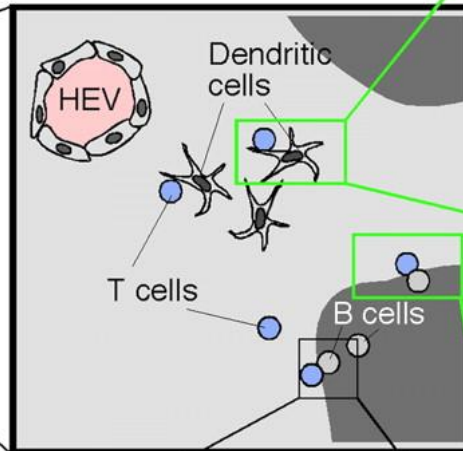
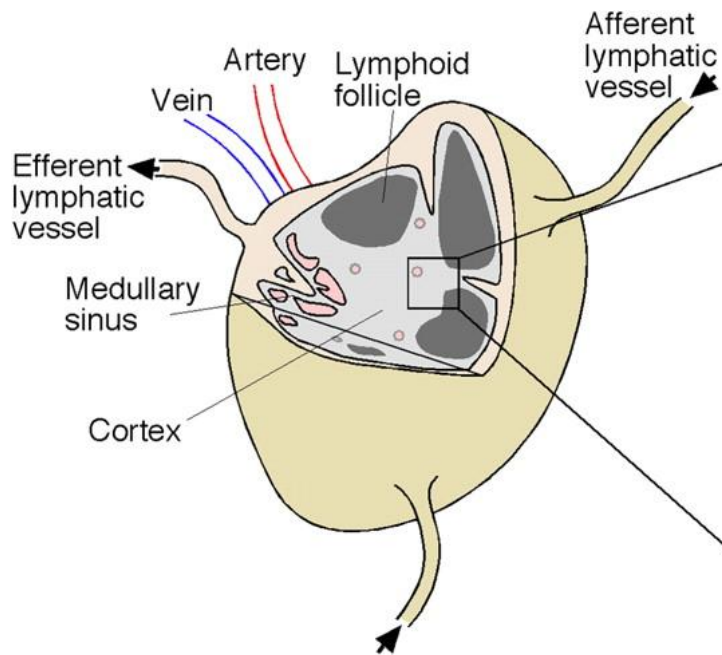


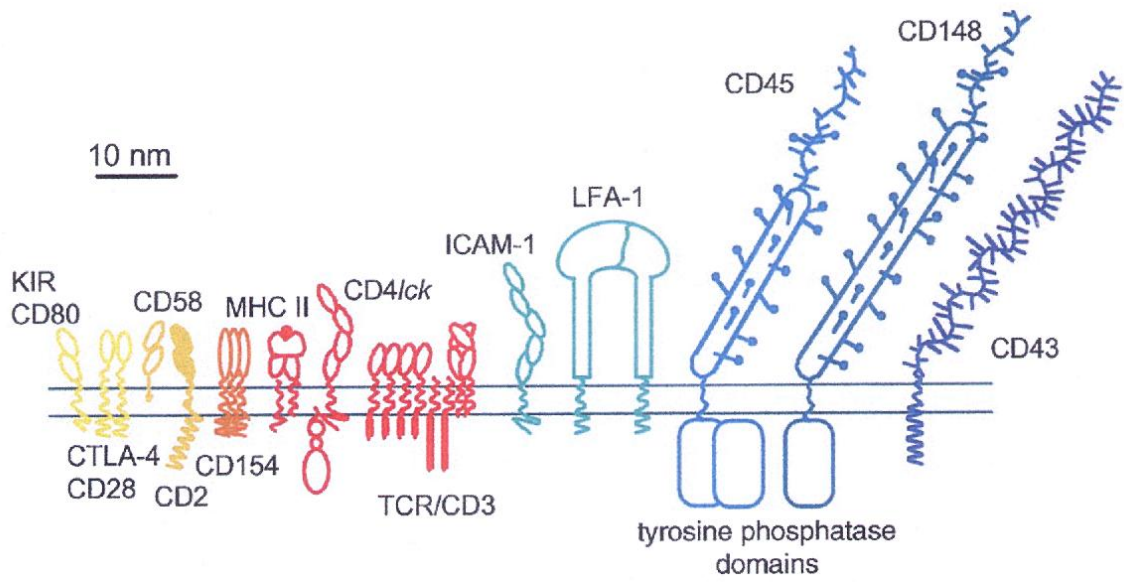
### Localization to the Immunological Synapse

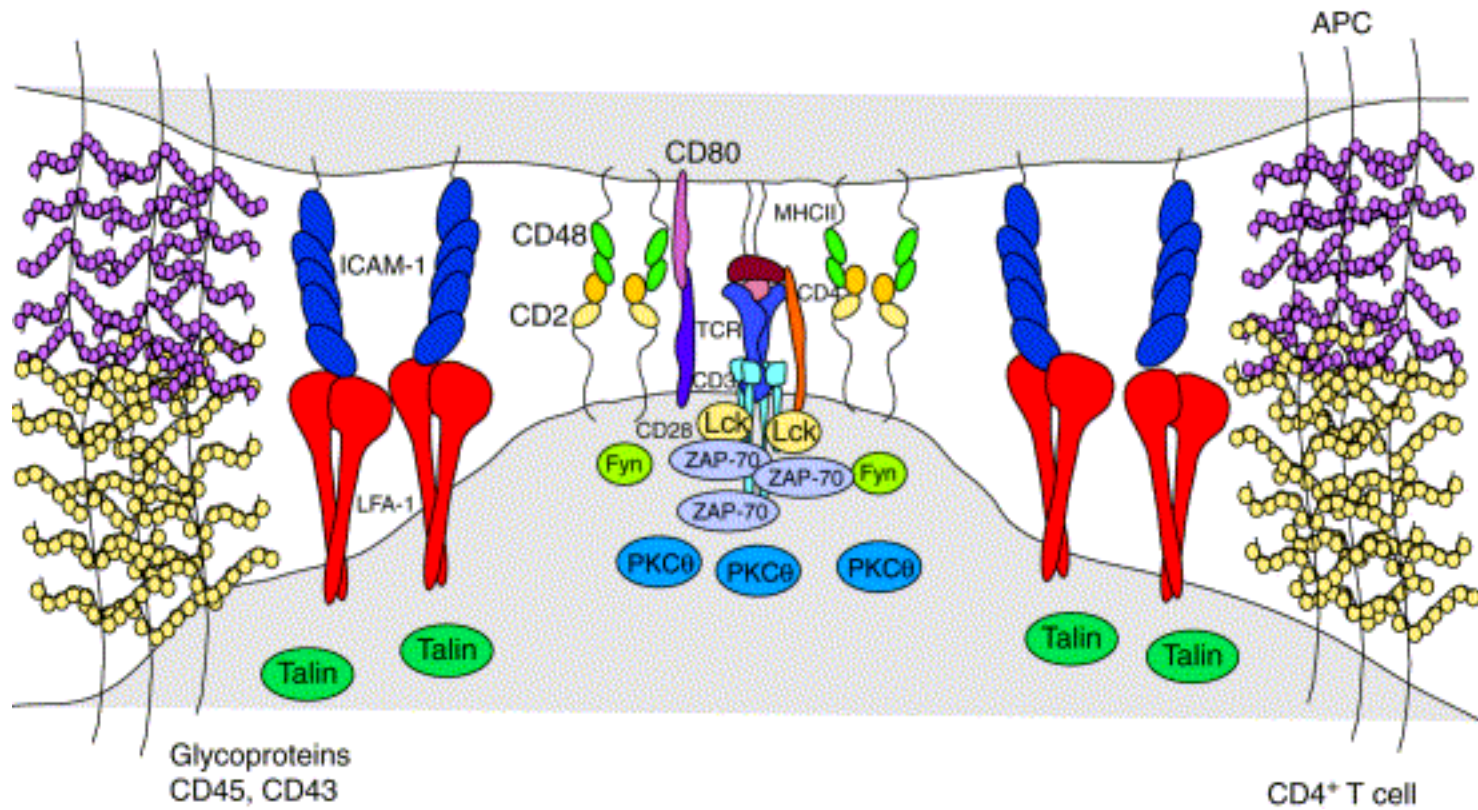


### Localization to the c-SMAC









p-SMAC

c-SMAC

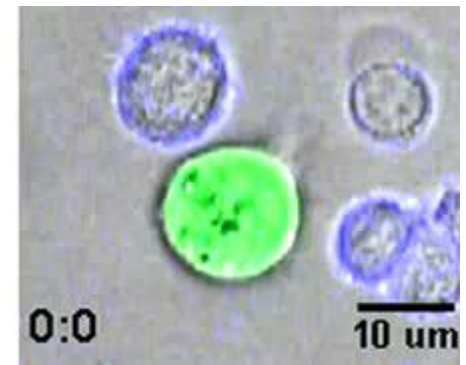
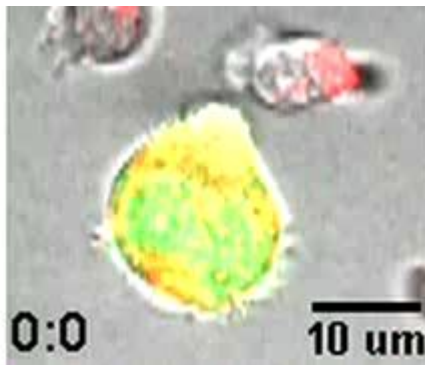
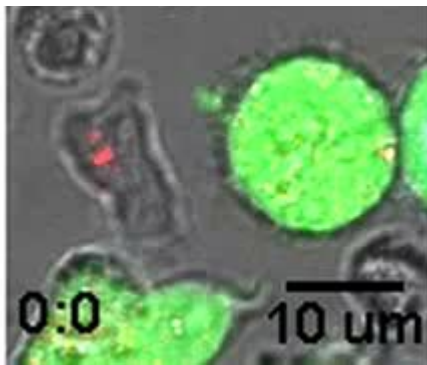
p-SMAC

# Pourquoi une synapse immunologique ?

- On sait maintenant que la SI n'est pas nécessaire à l'initiation des phénomènes de signalisation générés par le TCR
  - ✓ Pics  $Ca^{++}$ , Tyr phosphorylation surviennent bien avant
  - ✓ La stimulation du TCR est réalisée par de pts nombre de pMHC (10-100)
- Modulerait le signal transmis à la cellule T.
  - ✓ Structures stables dans le temps
  - ✓ Ralentirait le désengagement TCR-pMHC (surtout si faible affinité)
  - ✓ Favoriserait aussi la dégradation du TCR
  - ✓ Effet net dépendrait balance entre amplification du signal et dégradation du TCR
- Zone où de nombreux récepteurs se rencontrent (signalosome).
- Polarisation de l'interface (sécrétion de granules lytiques, de cytokines).

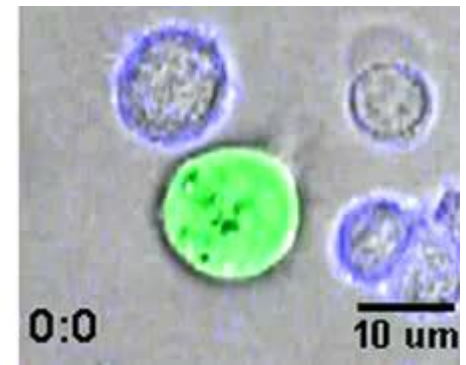
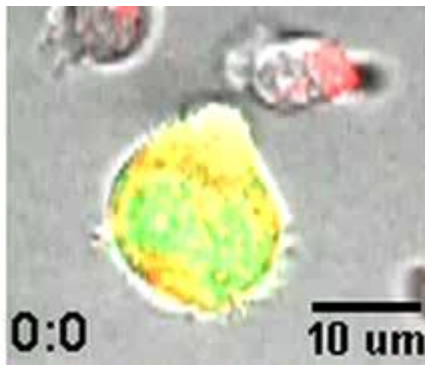
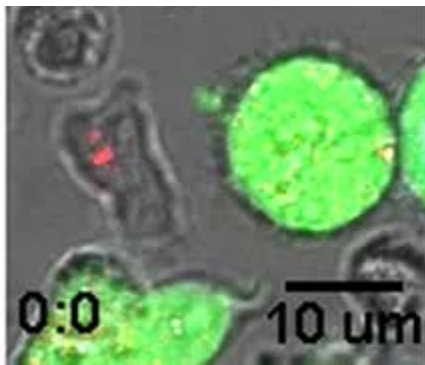
Film 1 et 2 : cellule cible chargée en calcéine (vert)  
Lymphocyte T : granules lytiques chargés avec du LysoTracker (rouge)

Film 3 : polarisation du CD 3/TCR (bleu)



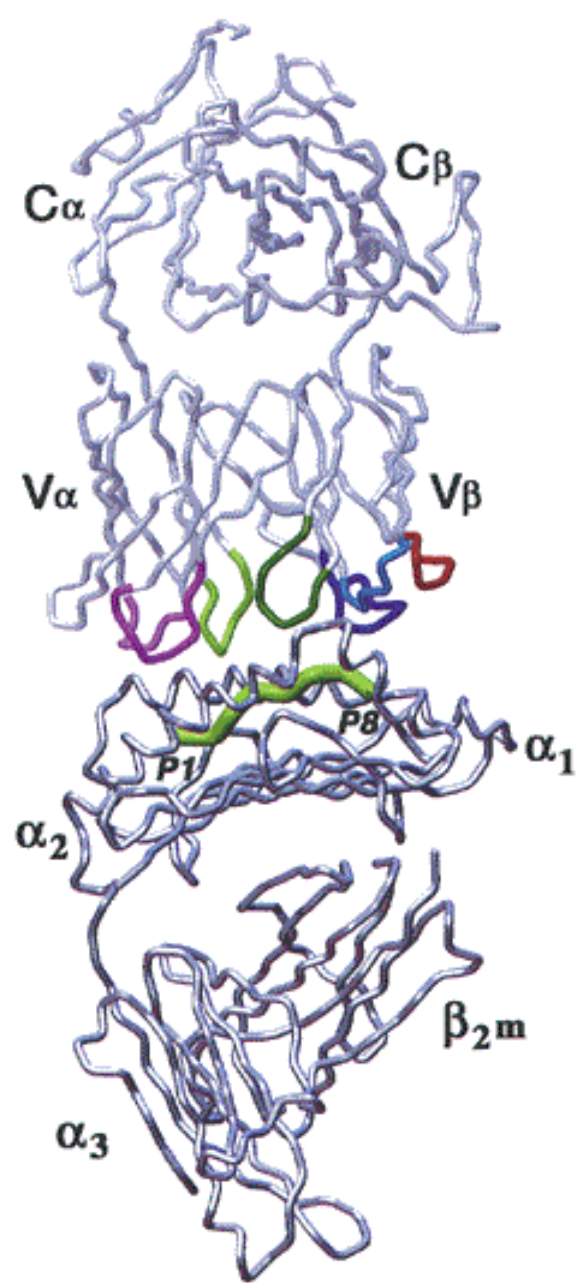
Film 1 et 2 : cellule cible chargée en calcéine (vert)  
Lymphocyte T : granules lytiques chargés avec du LysoTracker (rouge)

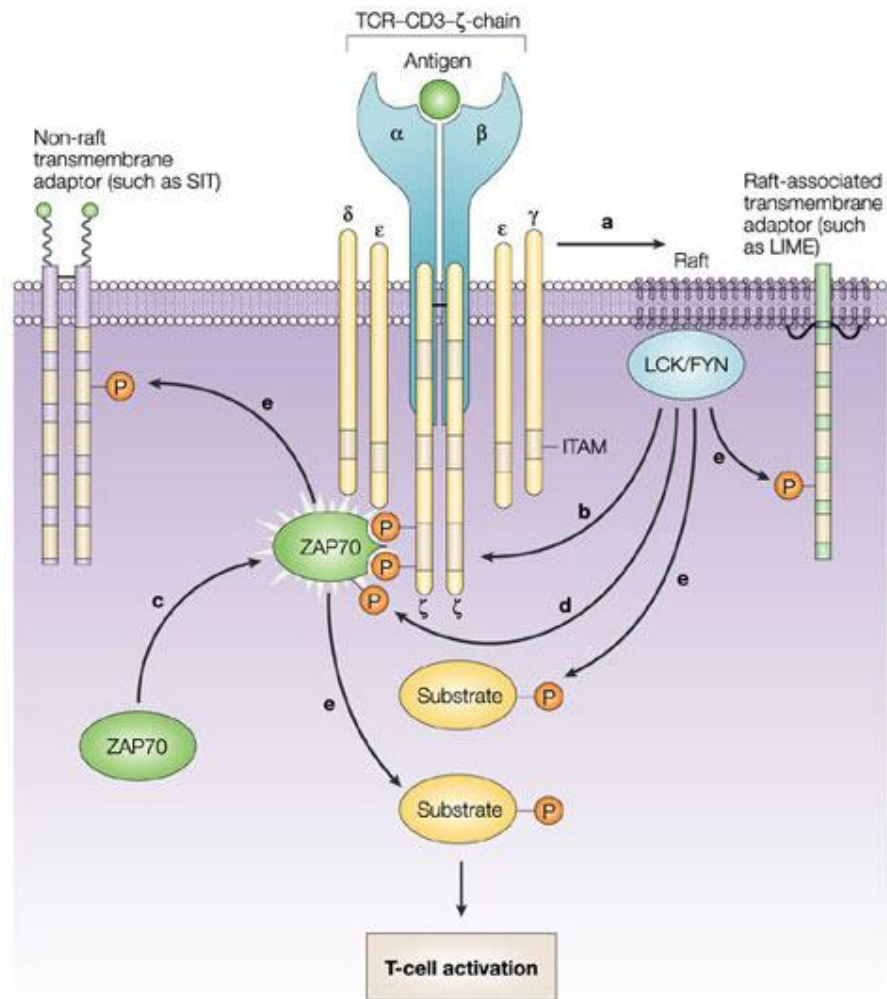
Film 3 : polarisation du CD 3/TCR (bleu)



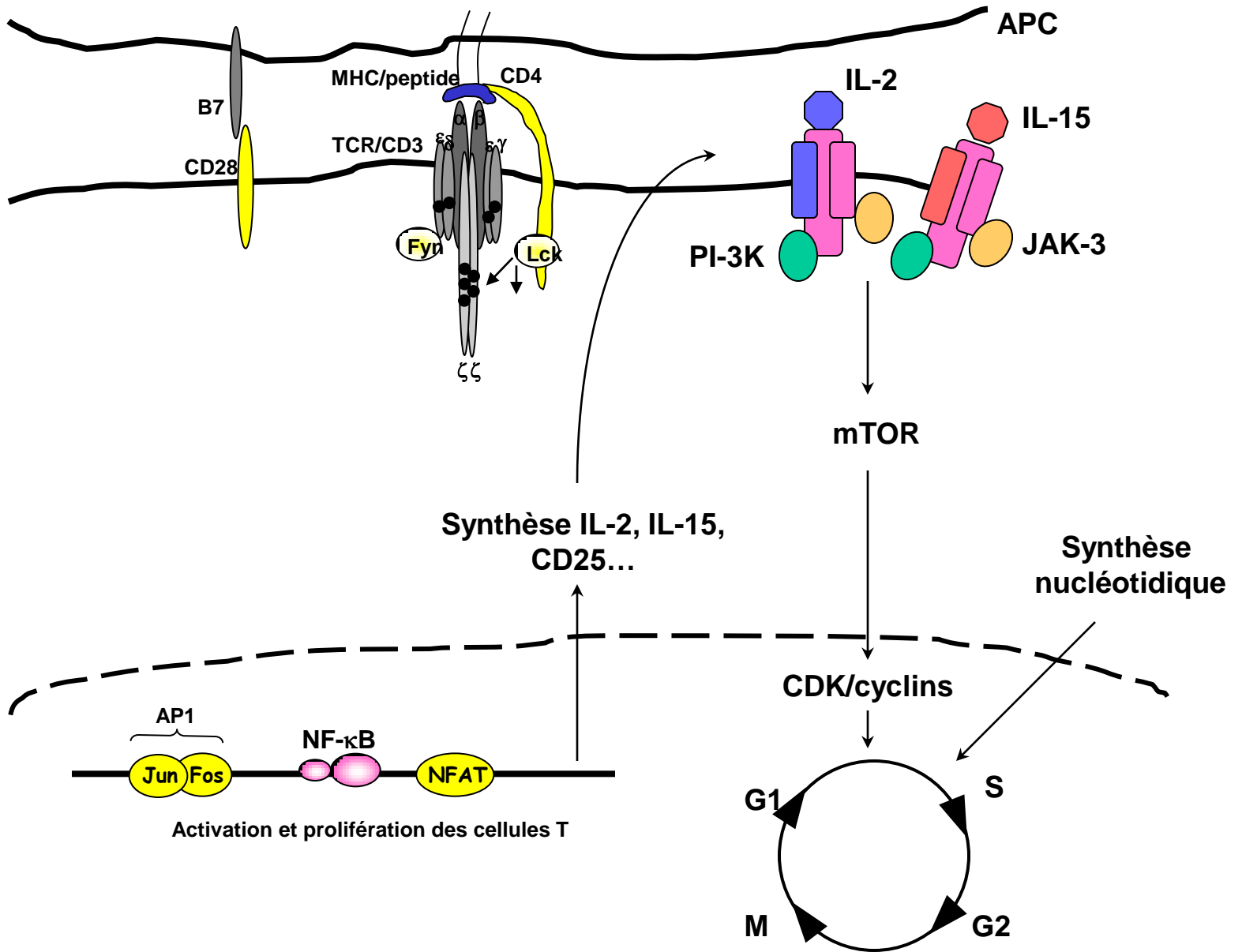
# **Activation de la cellule T**

## **2. La transmission du signal d'activation**









# Les immunosuppresseurs

- **De nombreuses drogues sont utilisées en thérapeutique pour inhiber le système immunitaire**
  - **Transplantation d'organes**
  - **Maladies auto-immunes**
- **Inhibe la calcineurine et l'activation T (cyclosporine, tacrolimus)**
- **Inhibe mTOR et la prolifération IL-2 dépendante (sirolimus)**
- **Interfère avec la synthèse de DNA (azathioprine) ou de nucléotides guanidiques (Mycophenolate mofetil)**
- **Bloque les protéines membranaires (thymoglobulines) entraînant la lyse cellulaire et une déplétion des cellules T**
- **Bloque spécifiquement des molécules clés de l'activation (anticorps monoclonaux contre CD3, CD25, molécules chimériques CTLA-4-Ig)**

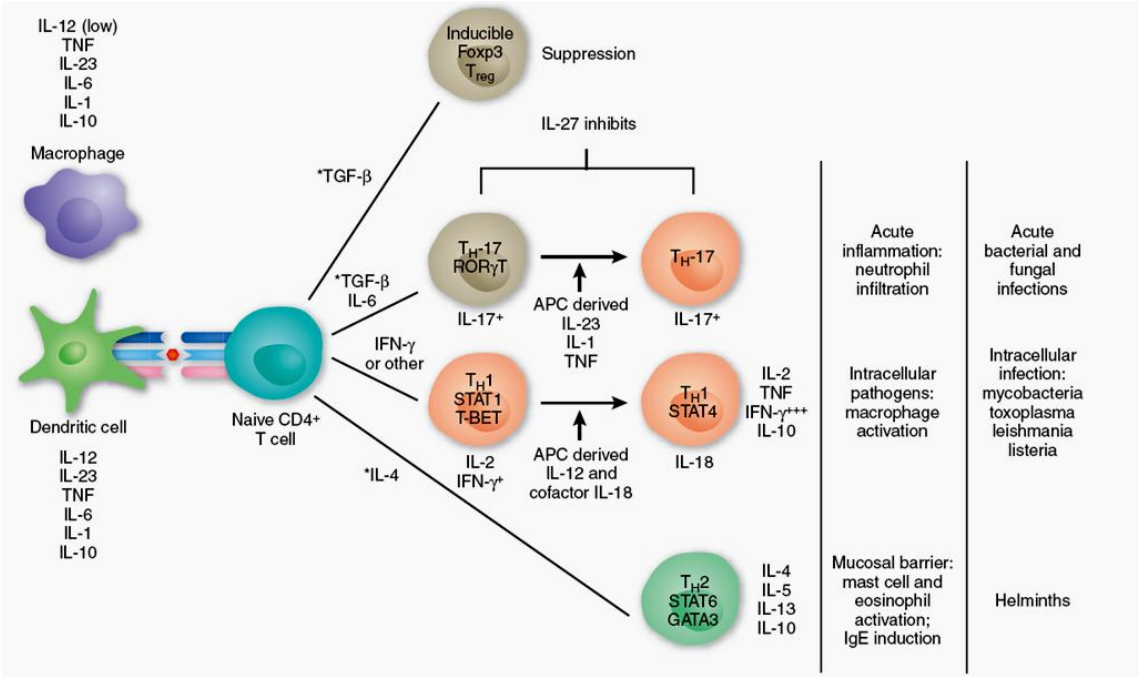
- **Les signaux d'activation font passer la cellule T en phase G1 (augmentation de la taille de la cellule ; décondensation de la chromatine ; augmentation du contenu en ARN et en protéines)**
- **C'est la transformation lymphoblastique**

- **Apparition de molécules membranaires (CD40L ; CD95 ; CD95L ; CD69)**
- **Exocytose des granules de perforine/granzyme dans les lymphocytes cytotoxiques CD8**
- **Synthèse de cytokines et de leurs récepteurs (IL-2...)**
- **La liaison de l'IL-2 à son récepteur permet l'expression de gènes de survie (Bcl-XL) et des gènes des cyclines et des kinases dépendant des cyclines qui permettent à la cellule d'entrer en phase S**

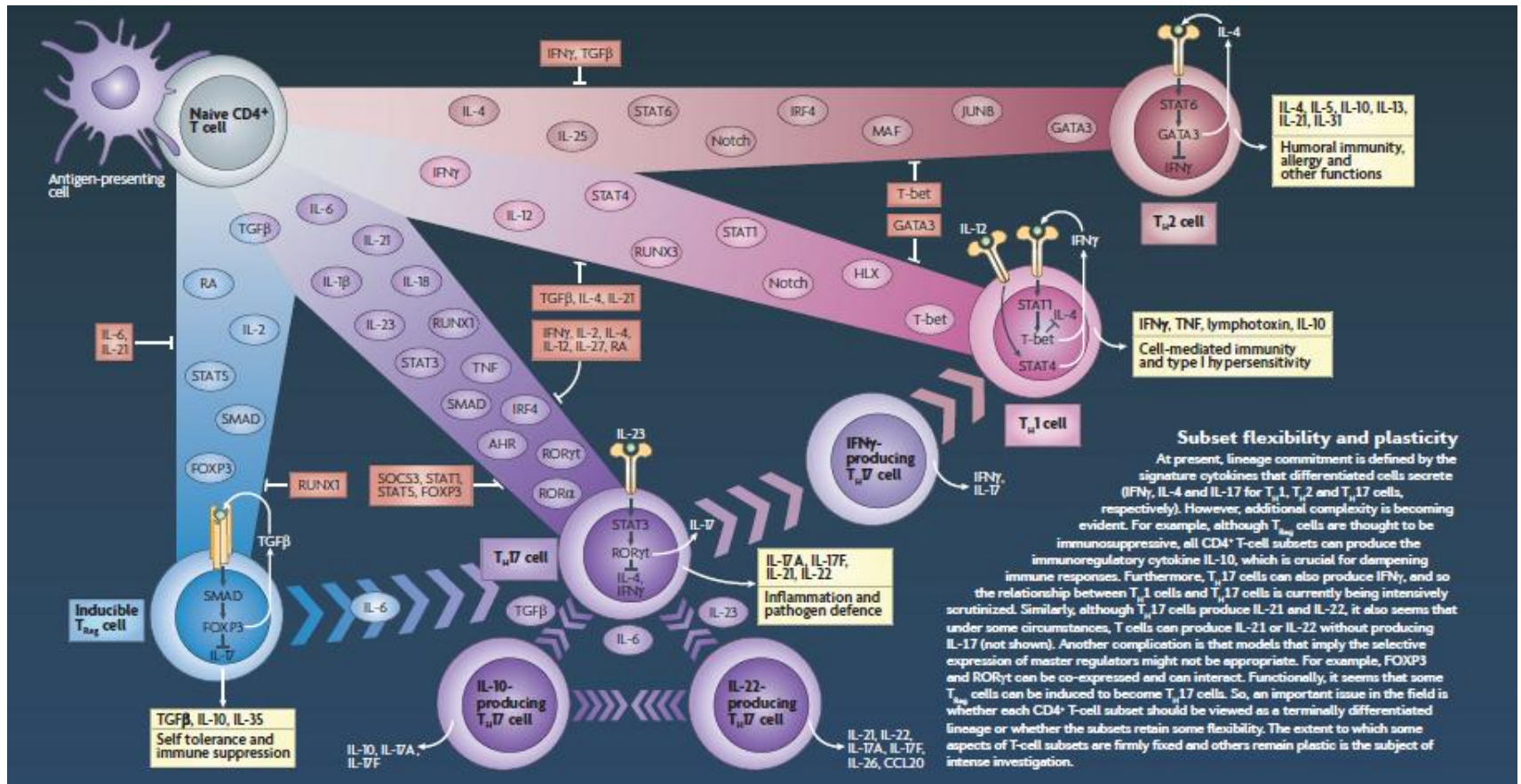
- **L'activation complète de la cellule T est réalisée lors de l'interaction prolongée avec une CPA (présentant le peptide adéquat).**
- **En l'absence de ce deuxième signal les lymphocytes deviennent anergiques ou même évoluent vers l'apoptose.**

- **L'activation aboutit à une prolifération intense (le nombre de lymphocytes spécifiques est multiplié par 1000 à 10 000).**
- **Les cellules naïves CD4 (Th0) vont se différencier en cellules de type Th1 (IL-2, IFN $\gamma$ ), Th2 (IL-4, IL-5), Th17 : elles deviennent polarisées.**
- **Certaines vont quitter les organes lymphoïdes pour aller en périphérie pour éliminer les agents infectieux.**
- **D'autres vont migrer vers les zones B pour permettre l'activation des cellules B (Cf cours correspondant).**

# Les conséquences de l'activation : la différenciation lymphocytaire

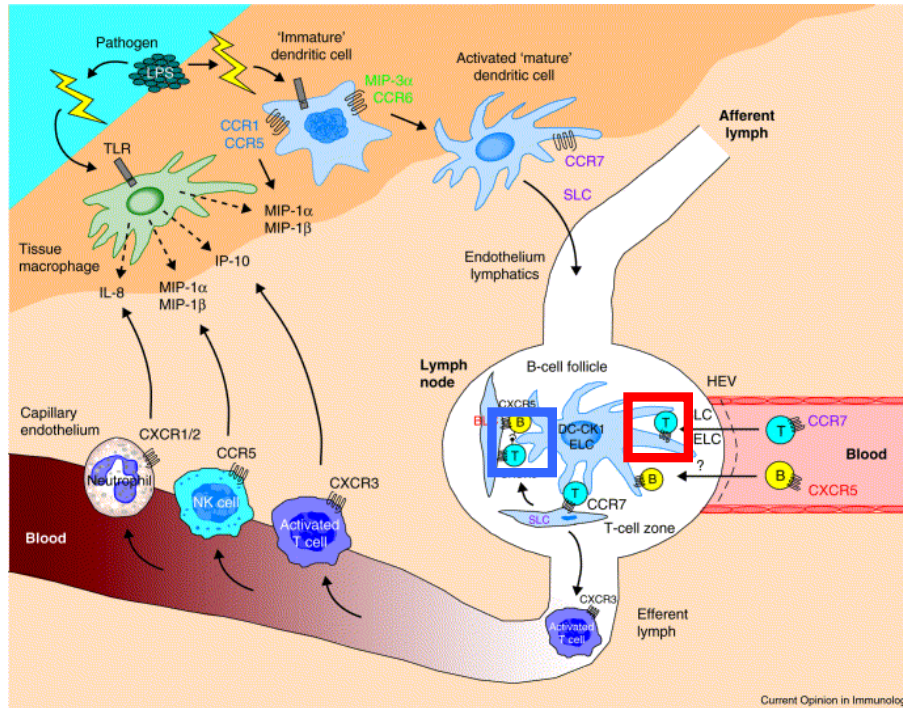


# La différenciation : définitive et fixée pour toujours ou encore capable de plasticité ?



# **Activation de la cellule T**

## **3. Les molécules co-stimulatrices**



# La théorie des 2 signaux

- Les lymphocytes T ont un rôle central dans la plupart des réponses immunes (une immunosuppression sévère survient en l'absence de cellules T)
- L'activation de la cellule T nécessite :
  - ✓ la reconnaissance par le TCR d'un peptide antigénique spécifique (permettant la prolifération, la différenciation, l'acquisition de fonctions effectrices et de fonctions auxiliaires pour d'autres cellules comme les cellules B et NK)
  - ✓ mais aussi la présence de signaux additionnels co-stimulateurs positifs provenant de molécules dites accessoires.
  - ✓ En leur absence les cellules T deviennent anergiques ou déclenchent un processus apoptotique.
- Des récepteurs de surface inhibant l'activation de la cellule T sont également présents : ils transmettent des signaux costimulateurs négatifs (ou co-inhibiteurs).
  - ✓ Ils permettent de terminer la réponse immune après l'élimination d'une infection
  - ✓ Ils permettent de maintenir une tolérance périphérique (protection contre l'auto-immunité)
- La balance entre ces signaux activateurs et inhibiteurs détermine le devenir de la réponse immune.

# La théorie des 2 signaux

- **Les molécules qui participent à la transmission de ces signaux sont extrêmement nombreuses (environ une cinquantaine sont connues actuellement)**
- **Classés en plusieurs familles dont 2 principales :**
  - ✓ La superfamille B7-CD28
  - ✓ La superfamille du TNF/TNF-R
- **D'autres familles jouent des rôles plus ou moins bien connus comme les intégrines, la famille de CD2, les tétraspanines, la famille TIM (T cell Immunoglobulin and Mucin domain)...**
- **Ces voies co-stimulatrices sont des cibles attractives à inhiber dans le cadre de maladies associées à une réponse immunitaire excessive (maladies auto-immunes, réponses aux allergènes, réponse aux allogreffes)**
- **A l'inverse, inhiber les voies inhibitrices ou stimuler les voies co-stimulatrices sont des stratégies potentiellement intéressantes dans le cadre d'infections virales chroniques ou pour augmenter la réponse (spontanée ou thérapeutique) aux tumeurs**

# Une molécule co-stimulatrice : CD28

- **CD28 est la molécule costimulatrice actuellement la mieux connue.**
- **Elle est exprimée constitutionnellement à la surface des cellules T (naïves et activées)**
- **Elle possède 2 ligands : CD80 (B7-1) et CD86 (B7-2) qui sont exprimés à la surface des cellules présentatrices de l'antigène.**
- **Elle est critique pour l'activation des cellules T naïves.**
  - ✓ **En l'absence de CD28, l'activation de la cellule T par le TCR la conduit à devenir apoptotique ou anergique.**
  - ✓ **Ces cellules anergiques sont incapables de produire de l'IL-2 ou de proliférer.**
  - ✓ **Elles ne répondront pas à une stimulation ultérieure (même en présence de signaux costimulateurs).**

## Le mode d'action de CD28

- **CD28 augmente la production de cytokines par les cellules T (à la fois en augmentant la transcription et en stabilisant le messenger).**
- **CD28 favorise la survie cellulaire (en augmentant l'expression de molécules anti-apoptotiques comme BCL-XL).**
- **CD28 abaisse le seuil d'activation de la cellule T par l'antigène (en réduisant le nombre nécessaire de TCR engagés pour induire la prolifération cellulaire ou la production de cytokines).**

# Une molécule inhibitrice : CTLA-4

- CTLA-4 (28 % d'homologie avec CD28) est exprimé sur les cellules T activées et reconnaît les même ligands (CD80 et CD86) mais avec une affinité plus grande (surtout CD80).
- CTLA-4 apparaît après l'activation, interagit préférentiellement avec CD80 et CD86 et participe à l'arrêt de la réponse immune.
- Le rôle de CLTA-4 est surtout important sur les cellules T primées (plutôt que sur les naïves)

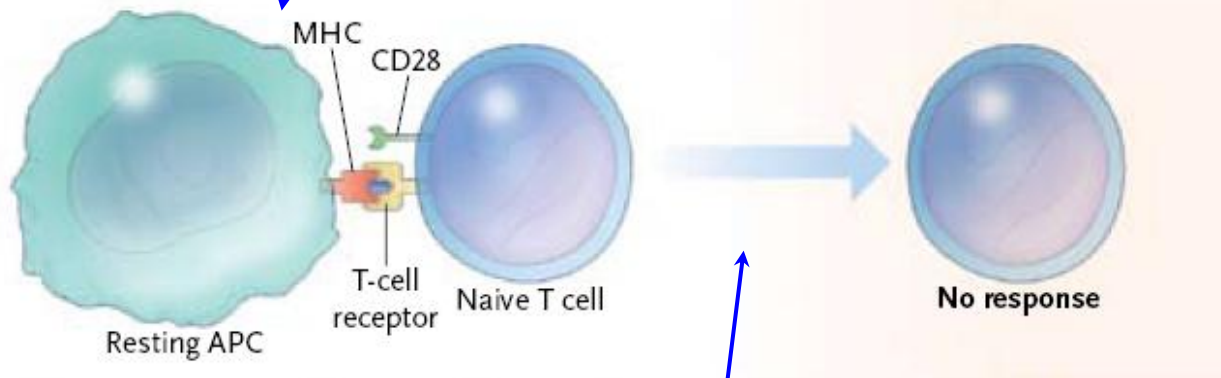
# Une molécule inhibitrice : CTLA-4

- Au niveau de la population lymphocytaire, CTLA-4 agit plutôt en réduisant la proportion de cellules qui produisent des cytokines ou qui prolifèrent (et non en modifiant le niveau de réponse de chaque cellule).
- CTLA-4 agit également en séquestrant CD80 et CD86 de l'action de CD28.
  - Fabrication d'une molécule chimère CTLA-4-Ig
  - Se fixe à CD80 et CD86 et empêche la stimulation par CD28
  - Améliore les greffes et les maladies auto-immunes
- CTLA-4 pourrait également réguler la fonction des lymphocytes suppresseurs CD4+CD25+ et participer à l'induction de la tolérance.
- CTLA-4 favoriserait aussi la motilité des lymphocytes qui vont « trop vite » pour s'arrêter auprès des cellules dendritiques (et donc plus faible activation).

# Une molécule inhibitrice : CTLA-4

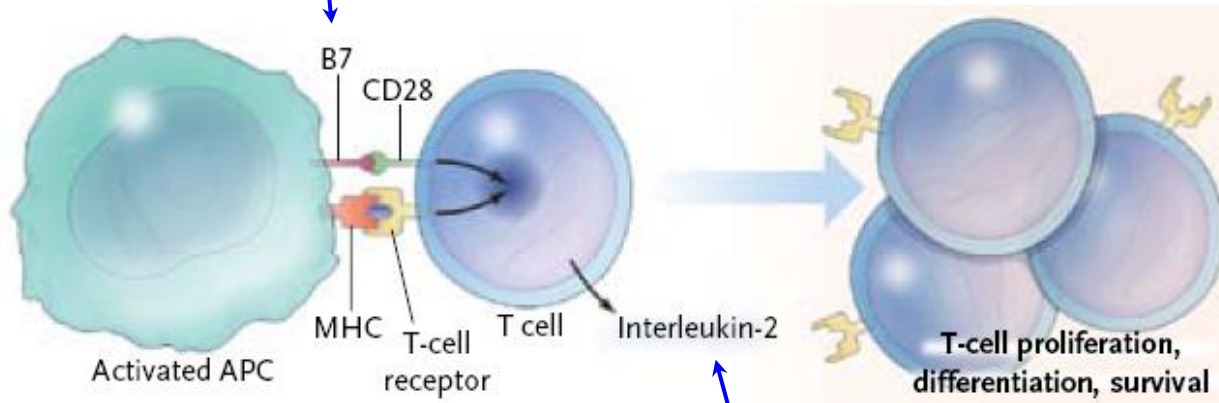
- **Les souris CTLA-4 KO développent un syndrome lymphoprolifératif polyclonal avec accumulation progressive de lymphocytes dans les organes lymphoïdes secondaires et les tissus (cœur, foie, pancréas) conduisant à la mort.**
- **Des différences génétiques (polymorphismes) qui diminueraient l'expression de CTLA-4 pourraient contribuer au développement de maladies auto-immunes (thyroïde, diabète...)**
- **CTLA-4 dans les infections chroniques comme le HIV pourrait jouer un rôle similaire à PD-1 (voir supra).**

**Les APC au repos expriment pas ou peu de molécules costimulatrices.**

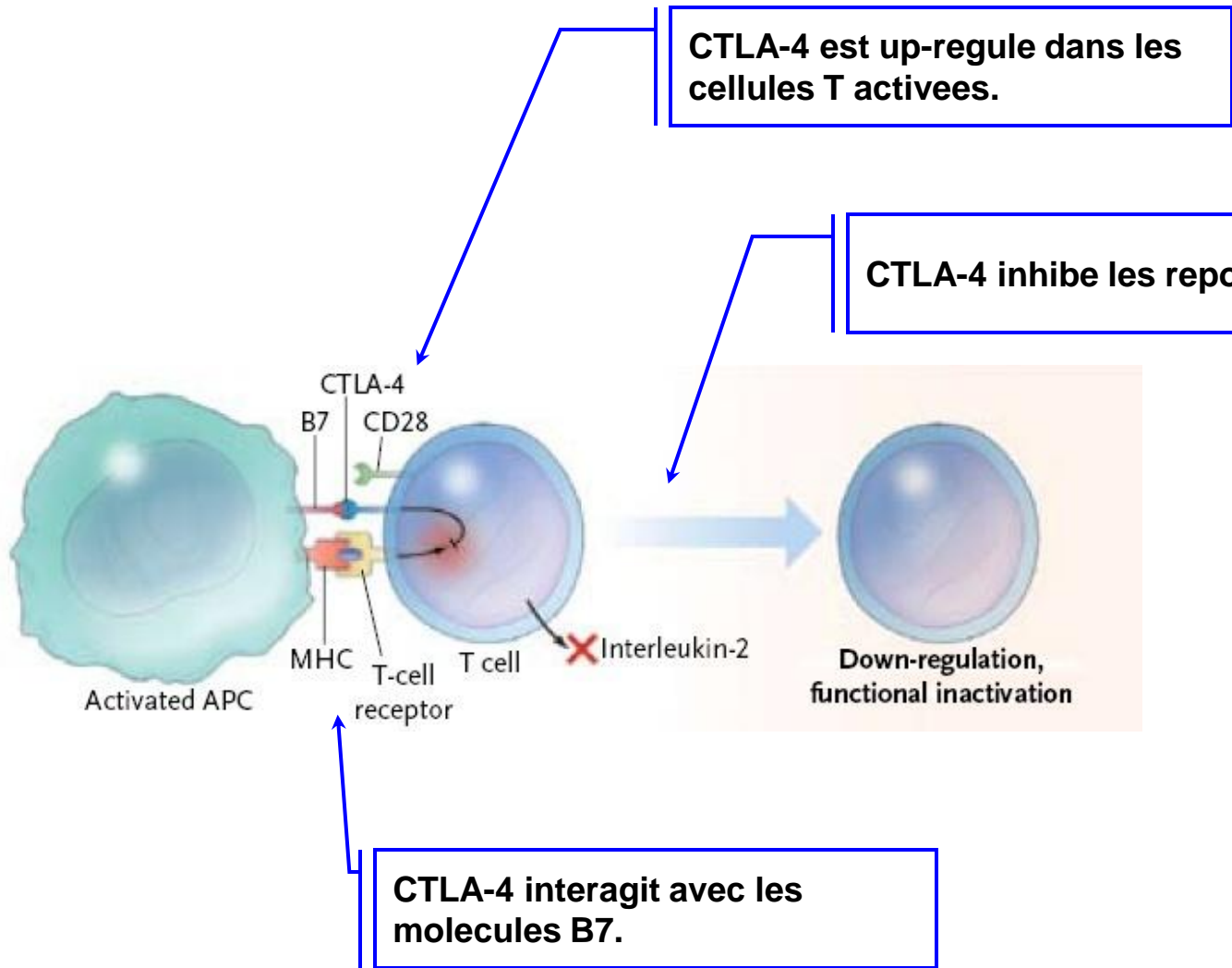


**Les cellules T naives ne sont pas actives.**

**Les agents infectieux et les cytokines produites activent les APCs et stimulent l'expression de molécules costimulatrices**



**Les interactions B7-CD28 stimulent l'expansion et la prolifération des cellules T naives**



# Les autres molécules co-stimulatrices

- Les molécules CD80/86 et CD28 sont importantes pour l'activation des cellules T naïves mais ne sont pas très efficaces pour réguler les réponses des cellules T effectrices et mémoires.
- D'autres voies existent appartenant à la famille CD28 - CD278/CD275 (ICOS/ICOSL) – ou la famille TNF - CD134/CD252 (OX40/OX40L), CD137/CD137L (4-1BB/4-1BBL) –
- Leur rôle est important pour réguler les fonctions effectrices des lymphocytes T activés (c'est à dire à un stade plus tardif) et la génération de cellules mémoire.
- Les récepteurs sur les cellules T sont induits sur les cellules activées.
- Leurs ligands sont exprimés plus largement et leur expression est augmentée par les médiateurs de l'inflammation.
- Ces voies agissent de la même manière que CD28-B7 (renforcer le signal du TCR, favoriser la survie cellulaire, la synthèse de cytokines et la prolifération cellulaire).
- Certaines voies interviennent plutôt dans les interactions T/B (CD40:CD40L) et seront vues dans le cours correspondant.

# Une voie activatrice : la voie ICOS-ICOS-L (CD278/CD275)

- ICOS (pour inducible costimulator, CD278) est absente des cellules naïves.
- exprimée sur les cellules T activées et son expression dépend de la costimulation par CD28.
- Elle a pour ligand la molécule ICOS-L (B7h, CD275) présente sur les lymphocytes B, les CPA, les monocytes.
- De manière similaire à CD28-B7, ICOS-ICOS-L induit la costimulation des cellules T et la synthèse de cytokines (comme l'IL-4, l'IL-5, l'IL-10, l'IFN $\gamma$ , le TNF $\alpha$ , l'IL-17, l'IL-21 mais pas l'IL-2).
- Cette voie est importante dans la différenciation de la réponse T par la production de cytokines Th1, Th2, Th17
- Cette voie est importante dans les interactions cellules T et cellules B en particulier la réponse B dépendante des cellules T (voir cours correspondant).

# Une voie inhibitrice : la voie PD-1 et PD-L1/2

- PD-1 (programmed death-1, CD279) est exprimée sur les cellules T et B.
- Elle est exprimée après activation T ou B
- Elle a pour ligand les molécules PD-L1 et PD-L2 (présentes sur les tissus lymphoïdes -T, B, macrophages DC - et non lymphoïdes - cœur, pancréas, poumons).
- PD-1 inhibe la prolifération des cellules T et la production de cytokines.
- PD-1 aurait un rôle central dans la tolérance périphérique (sa disparition ou son polymorphisme favorise le développement ou entraîne l'apparition de maladies auto-immunes) et dans l'inhibition de l'immunité anti-tumorale (ses ligands sont fortement exprimés sur les cellules cancéreuses et favorisent l'échappement tumoral)

## La voie PD-1 et PD-L1/2

- **PD-1 est augmenté à la surface des cellules T CD8 effectrices dans les infections chroniques.**
- **Il contribuerait à la faillite des cellules effectrices**
- **Montré dans le modèle de la chorioméningite lymphocytaire murine**
- **Dans le VIH son expression à la surface des cellules T CD4 et CD8 HIV spécifiques est corrélée à des facteurs pronostiques comme la charge virale (plus la charge est élevée et plus importante est l'expression de PD-1) ou le nombre de cellules CD4 (moins il y a de CD4 plus importante est l'expression de PD-1)**
- **Le blocage de PD-1 restaure les fonctions cytotoxiques et CD4 dans l'infection à HIV.**

## En résumé

- **Explosion des connaissances sur la signalisation du TCR au cours des 10 dernières années**
- **Indissociable des phénomènes de circulation des lymphocytes**
- **Exploration des nombreuses voies costimulatrices :**
  - **Transduisent des signaux positifs (CD28/B7-1 et 2 ; CD40/CD40L)**
  - **ou négatifs (CTLA-4 ; PD-1)**
  - **Mais aussi selon les circonstances des fonctions doubles (ICOS)**
- **Certaines sont bien connues (CD28-CTLA-4/B7-1 et 2 ; PD-1 : PD-L1 et L2) mais il existe d'autres voies moins connues**
- **Leurs actions sont complexes (nombreux ligands, expression lymphoïde ou tissulaire...)**
- **Leur fonction exacte dans la régulation des CD4 vs CD8, Th1Th2Th17 et dans la génération de cellules régulatrices reste à établir.**