

Cellules T et TCR :

I Généralités sur le TCR :

A La structure du TCR :

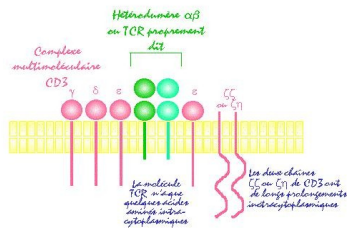
Mise en évidence du TCR :

1. Production et récolte d'une grande quantité d'**Ac monoclonaux**
2. tests contre divers clones de LT
3. Recueil d'**Ac clonotypiques** = Ac monoclonaux spécifiques d'un clone de cellules T

En réalité, les Ac clonotypiques reconnaissent le **TCR** du clone T. Il s'agit donc d'une application des Ac monoclonaux. Une fois repéré, on a cristallisé le TCR pour en déterminer la structure et progresser dans la connaissance de sa fonction. Ont également été produits des **Ac qui reconnaissent tous les LT**. En effet, tous les **TCR** sont organisés de la même manière mais avec une **spécificité différente**. C'est donc cette spécificité qui est reconnue par les Ac monoclonaux clonotypiques.

Le **TCR** est caractéristique du dit LT. C'est un **dimère** constitué de :

Récepteur pour l'antigène des lymphocytes T : TCR (T Cell Receptor)



1) **TCR** proprement dit, **hétérodimère $\alpha \beta$ (ou $\gamma \delta$)**. Il est organisé en boucles d'Ig, donc appartient à la **superfamille des Ig**. Il présente 3 portions :

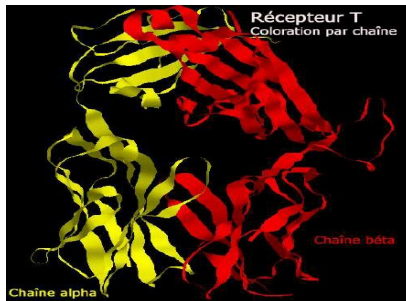
- une portion trans membranaire
- une portion extra cellulaire
- une portion intra cellulaire négligeable

Chacune de ces chaînes d'Ig possède un domaine **variable**, au sein duquel se trouvent **4 régions hypervariables** spécifiques de l'Ag.

→ rôle : **interaction avec l'Ag**

2) un complexe moléculaire, le **CD3**, avec des chaînes ϵ , γ et ζ . ζ est la portion **intra cytoplasmique**. Elle est commune à tous les individus et est constituée de motifs ITAM pouvant se phosphoryler et se lier à des partenaires intracellulaires.

→ **communication intra cellulaire**.

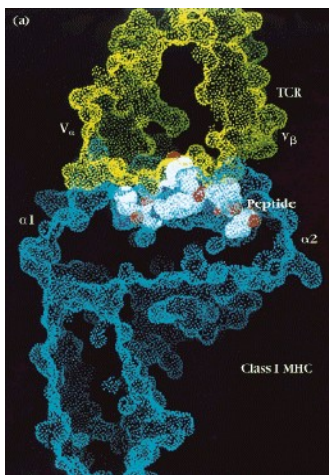


De plus, le **CD3** est également nécessaire à **l'expression du TCR en surface**. En effet, en absence de CD3, le TCR n'arrivera jamais à la surface cellulaire. C'est donc l'association **TCR + CD3** qui peut être expliquée en surface. La mise en place de ce complexe dépend de la **conformation complémentaire** en terme de **charge** des deux partenaires.

B TCR et reconnaissance de l'Ag :

Le **TCR** reconnaît le peptide antigénique, uniquement lorsqu'il est présenté par une molécule HLA. **L'organisation** de la poche antigénique de la molécule HLA est spécifique d'un individu en fonction de l'allèle HLA. Ainsi, chaque **TCR** est spécifique d'un Ag, d'un LT et d'un individu.

On décrit alors la **restriction au soi**. En effet, pour qu'il y ait une réponse cellulaire T efficace, il faut le **LT** et la molécule du **CMH** appartiennent au **même système d'histocompatibilité**.



Cristallisation du complexe : TCR – HLA/Ag :

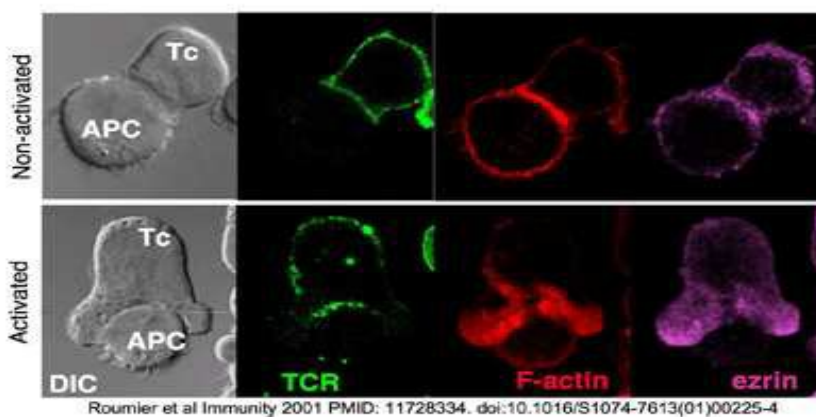
- **jaune** : le TCR
 - **blanc** : le peptide Ag
 - **bleu** : la molécule de **CMH1**.
- Les deux chaînes servant de réceptacle au peptide Ag.

Il existe **3 boucles α et β**. On sépare les boucles :

- **1 et 2** interagissant +++ avec le **CMH**. Elles sont **encodées par les gènes** codant pour les régions variables. Ainsi, le réarrangement ne change pas la conformation de ces boucles.
- **3** interagissant +++ avec le **peptide**. Elles sont le **fruit du réarrangement** et ne sont pas codées par les gènes.

Tous les **TCR** provenant du même gène ne seront donc **pas forcément les mêmes** en raison du réarrangement mais auront les **mêmes boucles 1 et 2**. Néanmoins, ceci n'est pas immuable et peut **varier** en fonction du TCR.

C Les déterminants de l'interaction LT- CPAg :



Comme l'interaction entre le TCR et l'Ag est de **faible affinité**, la reconnaissance nécessite qu'il existe de **nombreux contacts TCR et la CPAg**. Grâce à l'utilisation d'un Ac dirigé contre le TCR, on distingue la **répartition importante du TCR tout autour du LT**. Une telle répartition permet **d'optimiser le nombre d'interactions**.

Les protéines du **cytosquelette**, dont **l'actine** et **l'eZRine**, jouent également un **rôle majeur dans l'interaction TCR-CPAg**. Comme l'interaction entre le TCR et l'Ag est de faible affinité, la reconnaissance nécessite qu'il existe une **surface cellulaire de contact très importante** entre le TCR et la CPAg. En effet, **le LT activé change de forme**. Sa taille augmente et il vient presque entourer la CPAg afin d'augmenter la surface de contact. Tous ces réarrangements sont permis par une **activation très importante du cytosquelette** et une **réorganisation des molécules d'actine et d'eZRine**. Ce contact ne peut être obtenu que parce qu'il y a interaction de molécules à la surface des ces deux cellules.

D La transmission du signal :

Après avoir vu la mise en place de l'interaction entre le TCR et le complexe Ag-HLA, nous allons voir comment se déroule la transmission du signal.

A côté du TCR, il existe des **molécules coreceptrices** très importantes, car l'affinité du TCR pour le

complexe Ag-HLA est très faible et qu'il ne possède pas de région intra cytoplasmique. Ce sont ces co récepteurs qui permettent de :

- donner un **2ème signal d'activation** après la reconnaissance
- **maintenir l'interaction.**

1) Le CD3 :

Le CD3 et notamment la **chaîne ζ** joue un rôle d'activateur et de transmission du signal. Celle-ci se fait grâce à l'interaction entre la chaîne ζ intra cytosolique et la protéine **ZAP 70** (ζ activating protein). On dit que le CD3 est une molécule coréceptrice.

Un déficit en **ZAP 70** implique donc une déficience de l'activation de la cellule T. En effet, il y a reconnaissance de l'Ag présenté par le CMH mais il n'y a pas transmission du signal d'activation à l'intérieur de la cellule.

En revanche, le CD3 n'intervient pas dans la reconnaissance de l'Ag. On pourra néanmoins mimer une réponse cellulaire T par activation du CD3.

Exemple : Si, *in vitro*, on met des cellules T en contact avec un Ac monoclonal anti CD3, il y a activation directe la cellule T par activation du CD3 mais il n'y a pas eu reconnaissance.

2) Le CD4 et le CD8 :

Les co récepteurs **CD4** et **CD8** appartiennent à la super famille des Ig. CD4 et CD8 permettent d'augmenter jusqu'à 100 fois l'affinité du TCR pour l'Ag en reconnaissant la molécule **HLA II (resp I)**. De plus, ces co récepteurs servent également, comme les CD3, à donner un 2ème signal d'activation du LT. Ainsi, leurs rôles sont multiples :

1. Maintient de l'interaction :
 - ils stabilisent le complexe TCR/pMHC
 - ils augmentent l'avidité de la réaction TCR-ligand (x100)
2. Transmission intra cellulaire du signal : ils recrutent des kinases : **p56lck** permettant de phosphoryler les résidus ITAM et de lancer les signaux d'activation.

Type de marqueur	CD4	CD8
structure	monomère	Mono / hétérodimérique
Interaction avec le HLA	HLA II	HLA I
Type de lymphocyte porteur	LT helper	LT cytotoxique

En fonction du LT activé, il existera donc 2 types de réponses cellulaires :

1. La réponse liée à l'activation de LT CD4 ou LT helper : Les **LT helpers** activés ont un rôle d'auxiliaire. Ils subissent une super spécialisation en fonction du climat cytokinique à la suite de laquelle ils aident à l'activation d'autres cellules immunitaires:

Différenciation du LT	L Th1	L Th2
CPAg activatrice de la voie	Cellule dendritique	LB
Cellules activées	LT CD8 cytotoxiques cellules NK macrophages	LB plasmocytes → production d'Ac
Cytokines synthétisées	IL 2, IL 3, IFN γ, TNF β, GM-CSF	IL4, IL5, IL10, IL13, (GM-CSF)

Les **LTh1** et les **LTh2** diffèrent par le type de cytokine sécrétée. Ainsi suite à un stimulus, en utilisant des Ac anti cytokines Th1 / Th2, on pourra déterminée vers quel type de réponse cellulaire c'est orienté le LT CD4+

2. La réponse liée à l'activation des LT CD8 : Les **LT CD8** sont impliqués dans la réponse cellulaire cytotoxique.

L'interaction entre les 2 types de réponses cellulaires et humorales est importante. En effet, dans certains cas, la réponse immunitaire est **polarisée**, c'est à dire qu'elle va se caractériser surtout par une production d'Ac avec peu d'activation de macrophages et de cellules NK et inversement. C'est donc le **sous type de LT helper** qui détermine la **polarisation** de la réponse. Cette **inhibition réciproque** des voies immunitaires s'observe souvent dans les **réactions allergiques et/ou inflammatoires**.

3) Les autres co récepteurs membranaires :

Les autres protéines membranaires sont aussi très importantes dans le maintien de l'interaction TCR et le complexe Ag-HLA et dans la transmission du signal.

Le CD40 est une protéine de surface des LB, macrophages et cellules dendritiques. Elle lie le **CD40 ligand** exprimé à la surface des **L Th1 ou L Th2**. L'expression de ce ligand CD40 est donc nécessaire à l'expression des fonctions auxiliaires des LT. L'association CD40 – CD40 ligand permet l'activation des cellules portant le CD40. **L'absence de ligand CD40** empêche le **switch** des Ig des LB (on ne peut plus passer d'IgM à IgG)

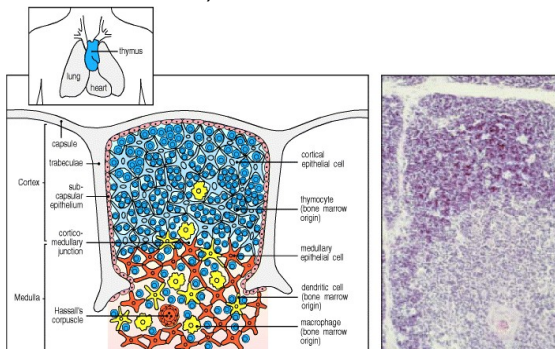
Enfin, il existe d'autres exemples de couples de molécules de surface indispensable à l'interaction entre le TCR et le complexe Ag-HLA ainsi que l'activation du LT :

- CD2-LFA 3, le CD2 étant spécifique des **LT**
- LFA1-ICAM I : LFA1 est une **molécule d'adhérence**. Il existe des déficits immunitaires liés à l'absence de molécules LFA1. Une **greffe de cellules souches hématopoïétiques** est nécessaire pour pallier à la déficience d'une SEULE molécule du système immunitaire.
- B7-CD28

II Le rôle du thymus dans l'éducation des LT :

A Les LT $\alpha \beta$:

1) Sélection et éducation des LT :



Le thymus est un organe crucial. En effet, c'est grâce à lui que les précurseurs les LT seront éduqués et sélectionnés. Il est organisé en 3 niveaux :

- la corticale : zone **périphérique** très dense, riche en **thymocytes**
- la jonction cortico médullaire
- la médullaire : zone **centrale** plus **relâchée**, moins riche de thymocytes. Elle contient des **macrophages**, des **LT** etc. etc.

Les cellules T arrivant dans le thymus sont appelés des **thymocytes**. Ils ne sont pas capables de reconnaître l'Ag. A l'arrivée des thymocytes dans le thymus, a lieu un **réarrangement des gènes du TCR** selon le même principe que pour les Ig. Ces réarrangements déterminent la puissance de nombre de TCR différents pouvant être produits chez un même individu.

Les **thymocytes immatures** de la corticale interagissent en permanence avec les **cellules épithéliales**. Le rôle de ces dernières est :

1. D'assurer une première phase de **sélection positive** :

Seuls les thymocytes dont l'interaction avec les cellules épithéliales est suffisante sont conservés. Les autres sont éliminés.

2. D'éduquer les thymocytes.

En effet, les thymocytes entrant dans le thymus sont **triple négatif** : CD3-, CD4- et CD8-. A la sortie du

thymus, les **LT circulants** sont tous CD3+ et soit CD4+, soit CD8+. L'acquisition de ces marqueurs se fait au décours d'une série d'étapes thymiques. *C'est donc à ce niveau que les cellules T apprennent à reconnaître les molécules du CMH :*

- **CMH II** pour les **CD4+**
- **CMH I** pour les **CD8+**

Au niveau de la **médullaire**, a lieu une deuxième phase de sélection dite **sélection négative**. En effet, sont éliminés les cellules qui présentent une trop forte interaction avec le CMH et qui seraient donc susceptibles de déclencher une **réaction auto immune**.

Cette **double sélection** permet d'éliminer **95-98%** des thymocytes. Pourtant, malgré une sélection drastique, le thymus laisse passer quelques cellules ayant une trop forte affinité pour le CMH. Il existe donc une **tolérance périphérique ...**

A la sortie du thymus, les **LT naïfs** sont désormais capables de reconnaître un Ag donné.

Aujourd'hui, on pense que *d'autres sites prennent le relais du thymus quand celui-ci involue*. En effet, on a constaté qu'une fois le pool de lymphocytes établi en périphérie, une **thymectomie** chez l'adulte ou le grand enfant n'a plus d'effet sur le nombre de LT dans le sang ou dans les organes lymphoïdes. Une thymectomie ne provoque donc **pas d'immunodéficience**.

NB : Il y aurait des régions de l'intestin qui pourraient éventuellement servir à l'éducation des cellules T après l'involution du thymus.

2) Thymus, pathologie et traitement :

Un défaut sur une chaîne de CD3 peut être à l'origine d'un défaut immunitaire profond. En effet, les perturbations de certaines chaînes du CD3, notamment la chaîne ϵ , **bloquent la différenciation des LT**.

Aujourd'hui on essaie de développer des **médicaments** ciblant certaines **étapes de l'activation du LT**.
Exemple : Dans les **greffes d'organe**, il faut stopper seuls **certains LT** avec une mode d'activation bien particulier tout **en conservant les autres** pour conserver l'immunité du patient.

B Les LT $\gamma \delta$:

Il existe en réalité 2 lignées différentes de LT :

1. les LT $\alpha\beta$: Les **données classiquement admises** concernent les LT $\alpha\beta$
2. les LT $\gamma\delta$: Ils correspondent à une **lignée différente de LT** possédant des propriétés particulières.

En effet, **les LT $\gamma\delta$ ne passent pas par le phénomène de sélection thymique**. Ceci s'explique par le fait qu'ils sont :

- **CD3+**
- **CD4 – et CD8-**

Ils reconnaissent donc les Ag sans passer par l'intermédiaire des molécules du CMH. Ainsi, leur **sélection n'est pas nécessaire** car ils ne peuvent pas déclencher de réactions auto immunes. Ils se localisent essentiellement dans les **épithéliums** et sont très peu présents dans les organes lymphoïdes secondaires et le sang. Ils ont une **très petite diversité**. Leur fonction n'est pas très claire.

III La famille de gènes des TCR :

A Généralités :

Le TCR n'est pas directement codé par le génome. En effet, le génome code pour une **infinité de possibilités de TCR**. Ce sont les réarrangements qui déterminent la **spécificité** de chacun des TCR.

Chez l'homme on distingue **un locus pour le TCR β** et **un locus pour le TCR α/δ** . En effet, les gènes δ se trouvent dans le même locus que les gènes α .

Selon le même principe que les Ig, il existe divers types de régions : **V, J, +/- D et C** :

- **2 gènes C β**
- **1 gène C α**

Tous les réarrangements se passent dans un **ordre bien particulier** dans le thymus.

B Mécanismes de réarrangements :

1) Réarrangements β , premiers événements de la séquence des réarrangements

Il y a un très grand nombre de gènes codant pour la région V des chaînes β . Les gènes de la région D peuvent **se recombinaison** avec les gènes des autres régions, notamment de la **région J**. Puis les gènes de la région V peuvent se réarranger avec D-J, d'où le réarrangement final $V\beta D\beta J\beta$. Les chaînes β obtenues grâce à la **sélection** et la **recombinaison** des gènes codant pour les domaines $V\beta$, $D\beta$ et $J\beta$ s'associent de manière **aléatoire** aux chaînes α réarrangées de la même manière, d'où la grande variabilité obtenue pour les TCR.

Seul **un réangement sur 3 est fonctionnel**. En effet, souvent les réarrangements par **ajout/délétions** de nucléotides peuvent décaler le cadre de lecture et donc rendre le réarrangement **non fonctionnel**. Étant donné qu'il existe un **2ème allèle**, la cellule continue les réarrangements. Si le 2ème réarrangement est **fonctionnel**, on pourra passer à l'étape d'après. A contrario, en raison de l'**exclusion allélique**, si la cellule parvient à se réarranger avec un premier allèle, le 2ème allèle ne sera pas fonctionnel. Cette solution de secours explique le fait que beaucoup de cellules soient créées dans le thymus.

La partie constante n'intervient pas dans les réarrangements. Elle n'intervient qu'au niveau de l'**épissage**.

2) Le pré TCR

Les réarrangements β ainsi décrits aboutissent à la formation d'un **pré TCR** dit TCR β retrouvé au sein des cellules T immatures thymiques. En effet, les réarrangements de la chaîne α ne commencent que plus tardivement. Ce **pré TCR** est associé à une **protéine p α** encodée par le génome pouvant se lier avec n'importe quel TCR β . C'est cet ensemble **TCR β + p α** qui constitue le **pré TCR fonctionnel**.

3) β sélection et réarrangements α

A ce stade, il y a arrêt des réarrangements des locus β et β sélection, générant les événements suivants :

- Division cellulaire : plusieurs cellules expriment alors le **même TCR β** .
- Expression de signaux de différenciation : le LT commence alors à exprimer le **CD4 ET CD8** : il est double positif; avant de **perdre l'un des deux**.
- Ouverture du locus α avec mise en jeu des **réarrangements** se faisant sur les **2 K** en même temps. Ainsi, des cellules ayant le même TCR β pourront avoir un TCR α différent. A noter que les réarrangements des gènes α se font selon les **mêmes mécanismes** que les réarrangements des gènes β .
- Suite à ces réarrangements survient la **sélection thymique** déjà décrite.

4) La machinerie cellulaire impliquée

Ces réarrangements de gènes sont permis par des enzymes : **RAG1 et RAG2** (*recombining activator gene*) aussi bien pour les Ig que pour les TCR. Les souris n'exprimant les gènes RAG ne produisent donc pas de TCR et d'Ac car elles ne sont pas capables de réarranger leurs gènes.

NB : Attention, les Ig et les TCR possèdent un système enzymatique commun permettant des réarrangement génique mais il n'y aura jamais réarrangement des Ig dans les LT et/ou inversement.

5) Quelques mots de pathologie :

L'absence de TCR $\alpha\beta$, c'est le **syndrome d'immuno déficience humaine**, caractérisée par une absence d'expression du TCR. Ce syndrome serait dû à une **mutation** du gène codant pour la partie constante du

TCR α .

Découverte du syndrome d'immunodéficiência humaine :

2 enfants de familles consanguines présentent des infections récurrentes. On a alors analysé leurs lymphocytes par CMF grâce à des Ac anti CD3, et d'autres Ac. On observe que les LT exprimant le CD3 étaient ici des LT $\gamma\delta$. Aucune cellule exprimant le TCR $\alpha\beta$ n'a pu être isolée.

Les chercheurs ont alors réalisé des **analyses génétiques** pour essayer d'isoler la/les région(s) du génome codant pour le TCR $\alpha\beta$. Les techniques de séquençage ont permis d'isoler **des mutations d'un site d'épissage (splice) de la partie constante du TCR α** .

Cette mutation a pour conséquence que le TCR α de ces enfants ne possède **pas de partie transmembranaire et cytoplasmique**. Le TCR $\alpha\beta$ ne peut donc pas être exprimé à la surface. Ils ont été traités par greffe de MO.

IV La diversité du répertoire du TCR $\alpha\beta$:

La diversité est le fruit des réarrangement. En effet, elle résulte de :

- **réarrangement** proprement dit : il repose sur la **sélection aléatoire** des **gènes** codant pour les région VDJ et l'**association aléatoire des TCR β** (1 seul) avec les **TCR α** (plusieurs pour un TCR β)
- La flexibilité jonctionnelle.
- L'addition/délétion des nucléotides. Ce phénomène n'étant pas très précis, **2 mêmes gènes V et J** pourront donner par addition / délétion de nucléotides des **TCR totalement différents**.
- **PAS** d'hypermutation somatique pour augmenter encore la variabilité contrairement aux Ig

Ainsi, nous exprimons **tous un répertoire TCR différent**. En effet, prenons 2 jumeaux. Ils auront exactement le même patrimoine génétique, mais en raison des réarrangements : *sélection aléatoire des régions V,D,J et leur association aléatoire*, ils n'auront pas le même répertoire de TCR.

V Paradoxe(s) pathologique(s) :

A Paradoxe de la sélection de TCR de haute affinité :

Normalement, seule une certaine partie du répertoire peut reconnaître les Ag étrangers de manière suffisante et donc participer à la RI. En effet, il faut que le TCR possède une **certaine affinité** et une **certaine avidité** envers l'Ag pour que les cellules soient **activées** par le complexe : peptide + CMH. La meilleure solution semble être alors de **sélectionner le TCR de meilleure affinité**.

Néanmoins, en dépit des avantages certains, ce mode de fonctionnement du SI possède des limites. En effet, il y aura **génération d'une réponse initiale très efficace**, mais, si le pathogène mute, les mutants pourront alors **échapper à la RI** car ils ne seront *plus reconnus par le Rc trop spécifique*.

B Les biais partagés ou publiques

Normalement, nous disposons tous d'un **répertoire TCR différent**, or, nous nous sommes rendus compte qu'il existe des structures de TCR partagés par différentes personnes exprimant un MHC assez similaire : on parle de **TCR partagé ou publique**.

Chez ces sujets, on observe une tendance à l'utilisation de certains **TCR très similaires** mais non identiques, et notamment de certaines combinaisons de gènes V-J ou de boucles CDR3 d'une certaine longueur ou d'un certain motif similaires entre eux. Parfois, ces structures peuvent même être *sélectionnées en cours de réponse*.

Ces TCR partagés peuvent donner soit des réponses très **diverses**, soit des réponses très **limitées**. On ne peut pas prévoir cela. Certaines réponses partagées sont « **remarquables** » car souvent observées. Les répertoires publiques des TCR peuvent donc présenter une structure avantageuse par rapport aux autres TCR,

mais cette sélection est encore **mal comprise** aujourd'hui.

Exemple, le CMV : Tous les individus différents ci joints expriment le HLA B7. Tous les TCR reconnaissant le HLA B7 expriment le même J β dans leur TCR. On parle de TCR partagé.

VI Méthodes d'analyse :

Pour analyser les répertoires spécifiques, il faut identifier les cellules T spécifiques de cet Ag. Il existe plusieurs méthodes souvent utilisées en combinaison :

In vitro, on peut **clôner une cellule T** par stimulation à l'Ag pour amplifier le nombre de cellules reconnaissant un même complexe : peptide + CMH. Attention, car on peut aussi **modifier le répertoire** si les cellules sont mal stimulées.

Création de **molécules fluorescentes imitant le MHC**. CMH + peptide antigénique sont alors associés à des **complexes** stabilisateurs et amplificateurs : biotine + streptavidine. Les LT possédant le **TCR spécifique** sont repérés par leur *fluorescence en CMF*.

Utilisation de *l'ELISPOT* pour repérer les cellules sécrétant de **l'IFN γ +++**, à savoir les **cellules activées**.

Utilisation d'un **marquage de surface des cellules T**. Néanmoins, cette technique utilisant des Ac est limitée : certains Ac reconnaissance certaines parties variables β mais nous ne disposons que de *peu d'Ac ciblant les parties variables α* . De plus, nous ne pouvons *pas couvrir tous les gènes* car on ne dispose pas de tous les Ac. Enfin, *les Ac ne donnent pas les séquences*.

Utilisation des séquence, par **sonde nucléotidiques**. Rare +++

Exemple : le CMV

Soient 4 personnes exprimant le HLA A 2. Ces personnes sont saines, déjà exposées au CMV. En faisant un marquage, on peut identifier les cellules CD8 spécifiques de ce virus. On peut ensuite coupler cette méthode avec l'utilisation d'Ac pour savoir quel type de TCR est utilisé (V β 4, 5 etc.), en fonction des Ac disponibles. On peut égaement les trier et analyser leur activité cytolytique.

VII Perspectives futures dans la recherche et la clinique

Il existe aujourd'hui de **nouvelles approches** pour traiter les infections virales et les cancers utilisant le TCR. En effet, on peut faire exprimer par une cellule, un **TCR spécifique** d'un virus, d'un Ag etc. et induire ainsi une **réponse immunitaire** contre ce dernier. Les **TCR publics** constituent ici un avantage, car comme on connaît ces TCR, on peut les étudier à l'avance afin de connaître les *réactivités qu'on souhaite éviter*, comme, par exemple, une activité auto immune par réaction croisée sur le CMH.

Des essais cliniques pour traiter les infections virales très sévères ou les cancers sont en cours aujourd'hui. Ils visent à coupler des **tétramères** avec des particules de **fer** ou avec des **billes magnétiques** au lieu d'utiliser la CMF. On peut alors isoler les cellules T spécifiques d'une tumeur, les cultiver et les amplifier in vitro. On teste ensuite les cellules T les plus **efficaces**, c'est à dire possédant les TCR les plus **spécifiques**. Puis, on essaie de traiter en les **réinjectant**. Néanmoins, il reste encore de **nombreux problèmes** à résoudre avant que ca marche bien.

En parallèle, on essaie d'isoler les **TCR spécifiques** d'Ag tumoraux avec pour but de transférer les gènes codant pour le TCR dans les LB des patients. Ceci pourrait permettre d'amplifier in vitro la RI et éventuellement obtenir une **réponse humorale anti tumorale**. Ces essais restent très expérimentaux et le **succès est faible**.

Exemple : Ces méthodes utilisées dans le traitement du mélanome présentent pas mal de réponse mais le problème a été une destruction des cellules saines parallèle. En fait, les chercheurs auraient sélectionné un Ag du soi exprimé à un niveau très très bas dans un tissu normal, ce qui explique la destruction précédente. Il faut alors changer l'Ag, pour un Ag non exprimé dans le tissu sain mais dans les carcinomes ainsi qu'un TCR spécifique de cet Ag, tout en gardant les mêmes techniques.