

La cytotoxicité

I Généralités sur les effecteurs cytotoxiques :

Le **syndrome de Di George** est un syndrome touchant principalement les enfants. Il se caractérise par une **absence de thymus** à la naissance et donc de **cellules T**. Il existe 2 types de réaction contre un pathogène en fonction de l'endroit où il réside. Ainsi, chez un enfant atteint du syndrome de **Di George**, il y a *élimination des pathogènes extra cellulaires mais pas d'élimination des pathogènes intra cellulaires*. Ces enfants seront alors victimes **d'infections répétées** virales, bactériennes et parasitaires. D'où l'intérêt d'avoir **plusieurs voies de défense**.

On rappelle la distinction entre :

- réponse cellulaire : Elle permet de détecter et de détruite **les cellules hébergeant des pathogènes** en leur sein.
- réponse humorale : Il s'agit des **Ac** sécrétés par les plasmocytes capables de fixer et d'éliminer les **pathogènes situés dans un compartiment extra cellulaire**.

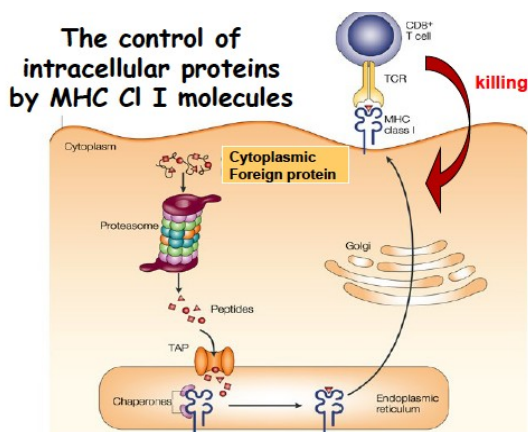
On distinguera donc des effecteurs cytotoxiques de la réponse cellulaire et de la réponse humorale.

Type d'immunité	Spécifique	Non spécifique
Effecteur	- LTCD8 = LT cytotoxique = LCT - aidés des LT CD4 Th1 et Th2	- Cellules NK - Macrophages - PNN - PN éosinophiles
Mode d'activation	L'activation du LCT se fait grâce à l'aide apportée via des cytokines par le LT CD4	Phénomène de <u>priming</u> induit par les cellules dendritiques
Mode d'action	- lyse cellulaire - apoptose	- lyse cellulaire - apoptose
Cellules cibles	- Cellules du soi altéré , c'est à dire cellules infectées et tumorales - Cellules étrangères au soi	- Cellules du soi altéré , c'est à dire cellules infectées et tumorales - Cellules étrangères au soi

NB : Sur les cellules **tumorales** comme sur les cellules **infectées par un virus**, on observe une diminution de l'expression du CMH notamment des molécules du CMH I.

II Les effecteurs cytotoxiques : les LCT

A Rappels :

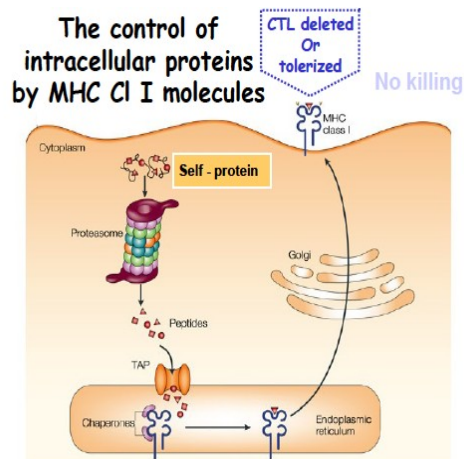


Infection d'une cellule par une protéines étrangère :

La protéine étrangère donne de **petits peptides**. Ces derniers seront ensuite exprimés à la surface de la cellule par le **CMH1**.

Les **LT CD8+** reconnaissent le complexe : peptides étrangers + CMH I. Il en résulte une **élimination** de la cellule soit par :

- **lyse cellulaire**
- **apoptose**



Protéine du soi dans une cellule :

La protéine du soi donne de **petits peptides**. Ces derniers seront ensuite exprimés à la surface de la cellule par le **CMH1**.

Les **LT CD8+** reconnaissent le complexe : peptides du soi + CMH I, comme appartenant au soi. La cellule ne sera **pas éliminée**.

B Les cellules T naïves et effectrices :

Propriété	LT naïfs	LT effecteurs
Signal de costimulation	Requis pour l'activation	Non requis pour l'activation
CD45	CD45RA	CD45RO
Molécules adhérence	Faibles	Élevées

La molécule CD45 :

Le CD45 est une molécule de surface possédant une **activité phosphatase propre**. Ainsi, elle agit en déphosphorylant un résidu tyrosine de lck et de fyn, 2 protéines intra cellulaires activées en cas de contact entre le LT et l'Ag.

Tous les LT expriment le CD45. Cette molécule peut se présenter sous 2 isoformes, signant l'**état fonctionnel** de la cellule T :

1. **CD45RA** exprimée à la surface des **LT naïfs**
2. **CD45RO** exprimée à la surface des **LT effecteurs**. Il possède une *plus grande affinité pour le complexe TCR*, donc une plus grande **sensibilité à l'activation par le complexe peptide – CMH I**.

L'expression de l'une ou l'autre des isoformes de CD45 est donc à l'origine de fonctions totalement différentes.

Les 2 isoformes divergent au niveau de la **composition de leur chaîne**, ceci étant permis par un mécanisme d'**épissage alternatif**. Aujourd'hui, on sait par quoi est déclenché le changement d'isoforme permettant aux cellules T naïves de devenir des cellules T effectrices : le phénomène de **priming**.

Une petite expérience ...

Il existe une *affinité très faible entre le TCR et les molécules du CMH*. La mise en évidence de cette interaction est donc très complexe. Pour pallier ce problème, on a alors fabriqué en laboratoire des outils moléculaires : des **polymères du CMH** (pentamères, tétramères etc. etc.) Ce tétramère de molécule HLA est ensuite associé à un système comprenant des molécules de **streptavidine et de biotine**, se fixe spontanément sur le HLA. Le complexe obtenu est très solide.

Lorsque ce complexe est présenté à un LT spécifique d'un virus A, il est alors capable de se **fixer au TCR spécifique de A**, ce qui nous permet de repérer les LT spécifiques de ce virus.

Néanmoins, cette technique présente des limites :

- Il existe un **très grand polymorphisme HLA**. Ainsi, pour pouvoir repérer les LT cytotoxiques spécifiques d'un complexe virus + HLA, il faudra synthétiser des *tétramères exprimant et reconnaissant ce virus*.

- Cette technique permet d'évaluer **le nombre de cellules T** pouvant réagir contre un virus donné mais *ne nous renseigne pas sur leur fonctionnalité.*

C La lyse cellulaire par les LCT :

1) La cytolyse :

La cytolyse est une étape de **lyse cellulaire** par libération de molécules à activité cytolitique très puissante :

1. **la perforine** +++ . Comme le complexe du complément, elle perce la membrane cellulaire
2. **la granzyme**

La cytolyse provoque la **nécrose** de la cellule cible. Elle fonctionne selon le mécanisme suivant :

1. Dans les secondes qui suivent l'adhésion du CTL à la cellule cible, on aura une brutale **augmentation du taux de calcium dans le CTL** qui est responsable d'une **relocalisation des structures golgiennes et des granules cytoplasmiques**. Cette relocalisation du golgi et des granules intervient dans la préservation des cellules environnantes.
2. Ces granules vont migrer et s'accumuler au pôle qui est au contact de la cellule cible.
3. Les granules vont libérer des **molécules cytolitiques** dont la **perforine** qui présente de fortes homologies structurales avec le C9 du complément.
4. Au contact de la cellule cible, ces molécules s'insèrent dans la bicouche lipidique et se polymérisent grâce au calcium.
5. On obtient des **trous** homologues au polyC9.
6. Les granules de **granzyme** pénètrent la cellule par les pores créés par la perforine et relarguent l'enzyme dans le cytoplasme.
7. La granzyme clive la caspase 8 et active ainsi une cascade de caspases entraînant la mort par **apoptose**
8. Il y a alors **nécrose** de la cellule.

2) L'apoptose :

L'autre mécanisme utilisé par le LCT pour lyser la cellule infectée est **l'apoptose** mettant en jeu un contact LCT-cellule infectée. Les molécules membranaires typiques de l'apoptose impliquées dans ce contact sont :

1. **La molécule Fas**, apparentée au Rc du TNF, située à la surface de la cellule cible.
2. **La molécule Fas ligand**, molécule de 30 Kda apparentée au TNF, située sur le LTCD8+

NB : A noter la possible intervention du Rc TRAIL et de ses ligands DR4 ou DR5.

3) Bilan sur les molécules des effecteurs :

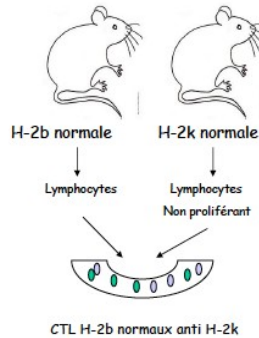
Type cellulaire	Effecteurs solubles	Effecteurs membranaires
CTL	- Perforine et granzyme - IFN γ et TNF β	Ligand de Fas
Th1	IL2, IL3, IFN γ , TNF β , GM-CSF	TNF β
Th2	IL3, IL4, IL5, IL6, IL10, IL13	Ligand de CD40

D La génération de CTL in vivo

La CMH s'appelle le H-2 chez la souris.

1) Expérience n°1 :

Déroulement de l'expérience :

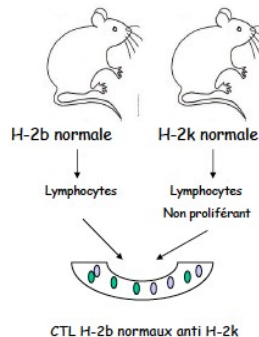


- La souris 1, **normale** a un système H-2b.
- La souris 2, **normale** a un système H-2k
- On met en contact des **LT de la souris 1** avec des **LT de la souris 2 rendus non proliférants**.
- A partir des cellules mononuclées de la souris 1, vont émerger des LCT dirigés spécifiquement contre le CMH de la souris 2
- résultat : **cytolyse des LT de la souris n°2**

Pendant longtemps, ce genre de générations in vivo de CTL ont été réalisées à des fins **thérapeutiques** : on parle de **culture mixte lymphocytaire**. Aujourd'hui, elles ne sont utilisées qu'à des fins de **recherches** car nous avons développé des techniques plus efficaces.

2) Expérience n°2 :

Déroulement de l'expérience :



- La **souris 1** présente :
 1. un système H-2b
 2. une **inactivation** des gènes codant pour la perforine
- La **souris 2**, normale a un système H-2k
- On met en contact des **LT de la souris 1** avec des **LT de la souris 2 rendus non proliférants**.
- A partir des cellules mononuclées de la souris 1, vont émerger des LCT dirigés spécifiquement contre le CMH de la souris 2
- Résultat : **cytolyse des LT de la souris n°2**

Cela a permis de montrer que **la perforine n'est pas la seule molécule impliquée dans la cytolyse**.

3) Expérience n°3 :

On a réalisé une 3ème expérience, se déroulant exactement de la même manière que l'expérience n°2. La seule différence est qu'il y a **inactivation du Fas des CTL de la souris n°2**. Il y a alors **cytolyse des LT de la souris n°2**, ce qui confirme le résultat précédent.

4) Les résultats :

CTL	LT cible – H2k normal	LT cible – H2k Fas (-)
H-2b normaux	Tuées	Tuées
H-2b, KO perforine anti H-2k	Tuées	Survivantes

II Les effecteurs cytotoxiques : Les cellules NK

A Histoire de la découverte des cellules NK :

Soient 2 souris :

1. La **souris n°1** est normale
2. La **souris n°2** a subi une greffe de cellules tumorales

On prélève des cellules immunitaires chez les 2 souris et on les dirige contre les mêmes cellules tumorales que celles greffées à la souris n°2. On s'attendait à avoir uniquement **une réponse de la part des cellules immunitaires de la souris n°2**. En effet, les LT CD8+ naifs ayant été mis en contact avec les cellules anormales, il y a eu émergence de **clônes de CTL** dirigés contre ces cellules.

Or, on a également observé une réponse de la part des cellules immunitaires de la souris n°1, capables de **lyser les cellules tumorales**. Ainsi, a été mise en évidence une **réponse anti tumorale non spécifique** mettant en jeu de **grands lymphocytes non granuleux** qui représentant **5-10%** des lymphocytes circulants. On parle de **cellules NK**. Ces dernières sont très bien visibles sur un frottis.

B Généralités sur les cellules NK :

1) Généralités

Les cellules NK sont des **lymphocytes de grande taille**, possédant de nombreuses **granules**. Ces cellules proviennent de la moelle osseuse et font partie du SI inné. Néanmoins, on considère de plus en plus que les cellules NK constituent une interface entre le SI inné et adaptatif.

Les cellules NK ont été définies à partir des 3 propriétés suivantes :

1. La cytotoxicité naturelle : Il s'agit de la 1ère démonstration de l'existence de cellules cytolytiques capables, sans aucune immunisation préalable, **d'éliminer des cellules tumorales**
2. La résistance de l'hybride : Les greffes de MO parentales sont rejetées par des souris hybrides F1 irradiées par implication des cellules NK
3. La détection de l'absence de soi = « missing self » : Les cellules NK détectent **l'absence des molécules du CMH I** (Karre, 1981)

Les cellules NK se distribuent un peu de partout. En effet, elles sont générées au niveau de la MO puis circulent dans :

Organe	Rôle des NK
Sang	RAS
Ganglions	Modulation de la RI et aide à l'induction des RI adaptatives
Rate	Même rôle que dans les ganglions lymphatiques
Foie	Même rôle que dans les ganglions et lieu d'élimination
Poumons +++	Encore inconnu
Muqueuse utérine	Cette population a un phénotype et une fonction différente. Les NK y favorisent l'implantation et l'angiogénèse → rôle +++ dans la grossesse
Thymus (peu)	RAS

Elles ont 2 fonctions principales :

- **La cytotoxicité** = lyse spontanée des cellules tumorales, ayant permis de les identifier
- **L'ADCC** = détection de cellules cibles recouvertes d'Ac

2) Le phénotype des NK :

Les cellules NK n'expriment **pas de TCR ni d'Ac de surface** comme les LB. Elles sont donc CD3-. En revanche, elles expriment les **marqueurs cellulaires, véritables cartes d'identité** :

- **NK1.1+ ou DX5+** chez les souris. A partir de là, on a identifié à l'aide des marqueurs **CD27 et CD11b**, 4 types de cellules NK :
 1. précurseurs : CD27 – CD11b
 2. immatures : CD27+, CD11b -
 3. matures CD27+ et CD11b+
 4. matures voire sénexcentes CD27- et CD11b +
- **CD56 +**, de niveau d'expression variable chez les humains. Il n'existe pas chez l'homme d'équivalent complet des 4 sous types découverts chez la souris. En revanche, on a pu définir 2 sous types :
 1. Le sous type CD3-, CD56 bright, CD16-. Il représente **10%** des NK. Cette population NK, présente dans les OLLr, a une **faible cytotoxicité** et une **forte production de cytokines**. Elle agit sur la *régulation de l'initiation de la RI*. En terme de Rc activateurs, elle exprime :
 - x des **Rc naturels**
 - x des **co Rc**
 - x **pas de KIR** mais des **CD94 NKG 2C** de ligand HLA II (Rc inhibiteurs)
 2. Le sous type CD3-, CD16+, CD56 dim. Il représente **90%** des NK. Cette population circulante a une plus **forte cytotoxicité** et une **faible production de cytokines**. En terme de Rc, elle exprime :
 - x des **Rc naturels**
 - x **beaucoup de Rc KIR** de ligand HLA I (Rc inhibiteurs)

Les 2 populations de NK ne possèdent également **pas les même Rc aux cytokines, Rc aux chimiokines et molécules d'adhésion**. Ceci explique la différence de localisation des deux populations.

Depuis 5-6 ans, on a identifié **Nkp56** comme étant un Rc spécifique des cellules NK, chez l'homme et chez la souris. Ainsi, lorsqu'on souhaite identifier des cellules NK, on utilise un marquage du :

1. **CD3** → **négatif**
2. **Nkp46** → **positif**

Il existe quelques exceptions aux 2 sous types établis précédemment. En effet, les **cellules NK utérines** sont des cellules **CD56 bright mais CD16 +/- négatives**. Elles sécrètent des **chémiokines** négatives impliquées dans **l'angiogénèse** et la **vascularisation**. Les **cellules NK des muqueuses**, quant à elles, sont **CD56+, Nkp46+ et expriment RORgT+**. Au lieu de sécréter de l'IFNg, elles sécrètent de **l'IL22** impliquée dans la **réparation des épithélium** et dans **l'immunité mucoale**.

NB : Certaines cellules NK appelées les **NKT** présentent un TCR mais qui reste invariable donc ces cellules sont bien différentes des LT normaux

C Le rôle des cellules NK:

1) La cytotoxicité :

Les cellules NK reconnaissent et tuent des cellules anormales, malades, cancéreuses ou infectées par des virus. Leur réponse est très **rapide**. En effet, elles sont prêtes à protéger le corps précocement en attendant le développement de la réponse immunitaire acquise.

Lorsqu'on réalise une greffe de CSH, les **cellules de la lignée NK** sont les premières populations cellulaires à apparaître. En effet, tout se passe comme si la mise en place d'une réponse immunitaire innée très rapide était fondamentale.

Il y a de 2 types de mécanismes de cytotoxicité :

- La cytotoxicité « naturelle » ou missing self : il s'agit de la *détection de l'absence d'une molécule normalement présente ou la présence d'une molécule induite normalement absente* (induced self). Par exemple, les cellules tumorales expriment certaines molécules de surface reconnues par les LIR

des NK.

- L'ADCC : il s'agit d'un *phénomène qui dépend du Rc Fc du CD16* qui reconnaît des cellules recouvertes d'Ac c'est à dire **opsonisées**

2) La sécrétion de cytokines :

En plus de leur rôle de cytotoxicité, les cellules NK sont aussi des **cellules sécrétrices de cytokines et de chimiokines**. La sécrétion de **cytokines** permet la **régulation des RI**. Les cytokines impliquées sont :

- INF γ
- TNF α
- GM CSF permettant la **prolifération** et **survie** des cellules immunitaires,
- IL13 de rôle un peu plus flou, impliquée dans les **réactions allergiques** +++
- IL10, cytokine **régulatrice** inhibant l'activité de certaines cellules

La sécrétion de **chimiokines** est importante pour la **migration** et le **recrutement cellulaire**. Les chimiokines principalement impliquées sont :

- CCL2
- CCL3
- CCL4
- CCL5
- XCL1
- CXCL8

Chaque chimiokine possède de **nombreux rôles**. Ainsi, par l'intermédiaires des cellules NK, elles permettent le **recrutement d'autres cellules** : DC, lymphocytes ... afin de mettre en route des RI au niveau des sites inflammatoires.

3) Bilan sur les rôles biologiques des cellules NK :

Les cellules NK sont au centre des RI. Elles ont donc des rôles très nombreux :

- **lyse des cellules opsonisées** via l'ADCC
- **lyse des cellules tumorales** ou infectées via le système de reconnaissance impliquant les Rc
- **régulation des RI** par interaction avec
 1. les DCs immatures en favorisant leur maturation
 2. les LT via l'INF γ afin de les activer
 3. les macrophages fortement impliqués dans les pathologies infectieuses
- **sécrétion de cytokines et de chimiokines** modulant la RI adaptative
- **cytotoxicité** impliquée dans l'élimination directe des pathogènes, cellules tumorales ou infectées dans l'immunité innée

D Le fonctionnement cytotoxique des cellules NK :

1) Les Rc des cellules NK

Les cellules NK expriment des **Rc invariables** (contrairement aux TCR) reconnaissant des ligands exprimés sur des cellules cibles. Ces Rc peuvent être soit :

1. **activateurs**, à motif **ITAM** (activateurs dépendants des tyrosines)
2. **inhibiteurs** à motif **ITIM**, séquence d'AA très peu diverse des Rc activateurs avec *une tyrosine en plus*. Ils ont un rôle prédominants. Ils reconnaissent les HLA.

Les Rc des cellules NK assurent une **balance entre activation et inhibition**. Les 2 grands sous types de cellules NK (CD56 bright et CD56 dim) possèdent 4 grands types de Rc, mais pas forcément les mêmes Rc au sein de chaque type. Les 4 grands types de Rc sont :

1. Les Rc activateurs.
 - Les cellules NK possèdent presque **beaucoup de Rc activateurs**.
 - Chaque **ligand** d'un Rc activateur est exprimé un peu plus **spécifiquement par un type cellulaire donné** contrairement à ce qu'on observe au niveau des Rc inhibiteurs
 - Les **Nkp**, dont Nkp46+++ , sont des **Rc activateurs** dont on connaît peu de choses sur les ligands.

2. Les Rc inhibiteurs.

- Les cellules NK possèdent **moins de Rc inhibiteurs** que de Rc activateurs.
- Ils sont **moins important en terme de régulation** des fonctions cellulaires des NK
- Néanmoins, il y a dans l'organisme **énormément de ligands** pour ces Rc inhibiteurs.
- De plus, la plupart de ces ligands sont **ubiquitaires**, permettant ainsi une *reconnaissance des cellules saines de l'organisme*

3. Les Rc de cytokines et chimiokines

4. Les molécules d'adhésion

NB :

- 1) Dans la grande famille des **KIR**, on distingue des Rc :
 - activateurs : KIR S
 - inhibiteurs : KIR L

Les KIR activateurs auraient un rôle plus important face à une cellule infectée

- 2) Les **CD94 NKG2** sont des Rc très importants +++ . En effet, ils reconnaissent le HLA E. Il existe un Rc CD94 NKG2 **actif** et un **inhibiteur**. Étant donné que *le Rc inhibiteur a une affinité supérieure pour le ligand*, il en résulte une **inhibition** +++

Lorsque les Rc activateurs ou inhibiteurs reconnaissent leur ligand, des signaux seront délivrés qui vont influencer les fonctions des cellules NK, à savoir :

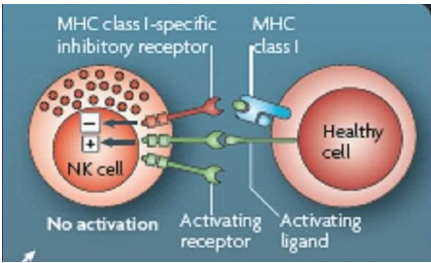
- activation → **lyse**
- inhibition → **non lyse**

2) Les cibles moléculaires des NK

En général **les cibles des cellules NK** sont des complexes : molécules du CMH I + peptides du soi ou d'origine étrangère, normalement présentés aux LT. On rappelle que toutes les cellules nucléées expriment le CMH de classe I. On distingue diverses situations :

- CMHI + peptide du **soi** ≈ cellule **saine**
- CMHI + peptide **d'origine virale** ≈ cellule **infectée**
- **imitations de CMH par mimétisme viral** ≈ cellule **infectée**

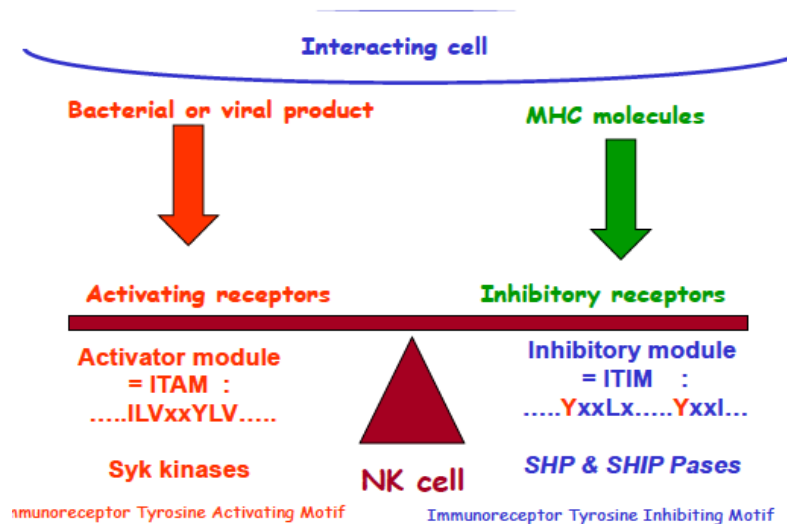
3) Le fonctionnement de la cellules NK

Schéma	Description
 <p style="text-align: center;">Cellule du soi</p>	<ul style="list-style-type: none"> - fixation du Rc activateur à son ligand (= KAR) - fixation du Rc inhibiteur au CMHI exprimant le peptide du soi et Rc NKG2A au HLA E - inhibition du Rc activation par le Rc inhibiteur

<p>Cellule du non soi</p>	<p>- fixation du Rc activateur à son ligand -↓ de l'expression du CMH1 → pas de fixation du Rc inhibiteur au CMH1 → pas d'inhibition du Rc activation par le Rc inhibiteur</p> <p>Il en résulte une lyse cellulaire.</p>
<p>Situation de stress induit</p>	<p>En situation de stress induit, l'augmentation des signaux activateurs permet de surmonter les signaux inhibiteurs d'une cellule NK éduquée qui va alors s'activer.</p>

Mais, les cellules NK sont plus complexes car, en plus de leurs Rc, elles expriment des Rc de co activation, **multipliant le signal** délivré par la cellule NK en cas d'activation. Ainsi, elles pourront recruter :

- des phosphatases
- des molécules de recrutement des LT telles que **ZAP**,
- des molécules de co stimulation telles que **DAP10**



Les NK sont donc soumises à une **balance d'activation/inhibition délicate**. Comme le niveau d'expression du CMH I, régulant l'action du Rc inhibiteur est très difficile à évaluer, on pense qu'il existe d'autres systèmes de contrôle de la NK que nous ne connaissons pas.

4) La coopération cellulaire et l'activation des cellules NK :

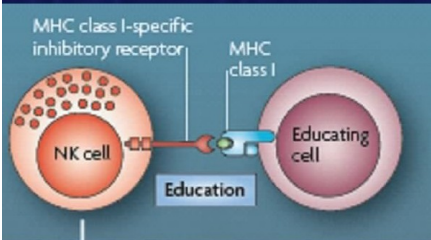
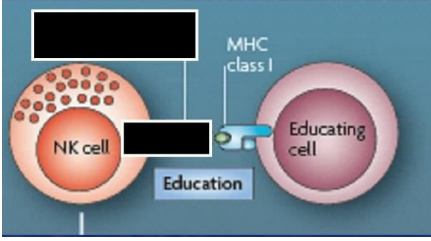
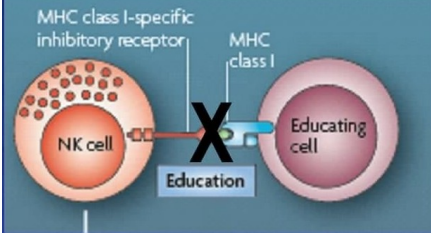
Il ne faut pas considérer chaque cellule immunitaire comme une entité isolée. En effet, il existe une communication entre toutes les cellules du SI assurée par des **molécules de signalisation** telles que les **chimiokines**. Ces cellules sont donc **modulables**. Ainsi, l'interaction entre les divers partenaires est très importante.

En effet, les cellules NK ne sont pas spontanément fonctionnelles. Il existe **3 étapes** nécessaires à l'acquisition par la cellule NK de ce caractère fonctionnel :

1. **éducation**
2. **priming**
3. **NK fonctionnelle**

a) L'éducation des cellules NK :

L'éducation des cellules NK fait intervenir les molécules HLA I. Elle a lieu au niveau de la MO, ce, dès qu'une cellule NK est générée. Elle a pour but **d'éliminer les cellules NK auto réactives**. En fonction de l'état de la cellule NK générée, on distingue 3 situations :

Schéma	Description
	<p>Une cellule NK exprime un/plusieurs Rc inhibiteurs pour les molécules HLA du soi :</p> <p>Cette cellule NK a donc la capacité d'être inhibée par les cellules saines et ne devient pas auto réactive. Elle est autorisée à être fonctionnelle.</p>
	<p>Une cellule NK n'exprime pas de Rc inhibiteurs pour les molécules HLA du soi :</p> <p>Cette cellule NK n'a donc pas la capacité d'être inhibée par les cellules saines et risque d'être impliquée dans des réactions auto immunes. Elle est rendue hyporéactive.</p>
	<p>Une cellule NK exprime un/plusieurs Rc inhibiteurs ne reconnaissant pas les molécules HLA du soi :</p> <p>Cette cellule NK n'a donc pas la capacité d'être inhibée par les cellules saines et risque d'être impliquée dans des réactions auto immunes. Elle est rendue hyporéactive.</p>

Cette éducation est largement **modulable**. En effet, chez la souris, si on prend des cellules NK hyporeactives issues de souris KO pour le CMH I (Tap1^{-/-}), elles peuvent néanmoins acquérir une **réactivité normale** lorsqu'elles sont transférées dans des souris sauvages et réciproquement. Ceci montre donc bien que l'éducation est modulable. On parle de **plasticité permettant une ré éducation**, se déroulant en périphérie

b) Le priming :

Le priming est une sorte de « pré activation » des cellules NK faisant intervenir des cytokines : **IL2, IL12, IL15 et IL18 et IL21**. On peut donc, en cas de besoin, amener **plus de cytokines** et donc **primer plus de NK**. La séquence du priming est la suivante :

- Dans le sang se trouvent des cellules **NK « naives »**.
- Elles peuvent rejoindre les ganglions qui vont leur donner des signaux
- S'ajoutent des signaux cytokines
- → transformation en **cellules NK fonctionnelles ayant la capacité de lyser la cellule cible**.

c) NK fonctionnelle :

Concernant le fonctionnement des cellules NK, voir supra

Parmi les cellules NK fonctionnelles, on a découvert très récemment une sous population de **cellules NK mémoires** possédant un phénotype distinct. Elles permettraient une **réponse plus rapide** lors de la **réactivation** d'une infection. En effet, en cas de **primo infection** chez la souris on observe :

- un **faible % de cellules NK non activées** avant l'infection
- une **activation rapide** des NK en cellules effectrices **6-7 jours** après la primo infection
- un développement de **cellules mémoires** dans les **2 semaines**
- une **activation rapide des NK** en cellules effectrices **2-3 jours** après une réactivation

E La lyse cellulaire par les cellules NK :

Les moyens utilisés par les cellules NK pour lyser les cellules sont les mêmes que pour les cellules cytotoxiques :

1. **cytolyse**
2. **apoptose**

F Cellules NK et greffes :

Lors d'une **greffe hématopoïétique haplo identique**, il existe un risque de « Mismatch ». En effet, *toutes les molécules HLA ne reconnaissent pas les Rc inhibiteurs des cellules NK*. Ainsi, 2 individus **HLA compatibles** ne seront pas forcément compatibles pour le système NK. Ainsi, cela pose problème dans les greffes : les **cellules NK du donneur**, après la greffe, vont aller éliminer les quelques cellules leucémiques résiduelles du receveur non éliminées par la RT, mais également les cellules résiduelles parfaitement saines (cytolyse des cellules du receveur). Ainsi, les cellules NK sont impliquées dans :

1. **La maladie du greffon contre l'hôte ou GvH aiguë ou chronique**, médiée par les LT et les cellules NK intervenant dans la phase effectrice.
2. **L'effet du réaction contre la leucémie ou GvL** médiée par les LT et les cellules NK. Cet effet peut s'expliquer de la manière suivante : les cellules NK du donneur sont éduquées dans un certain contexte. Une fois greffé, si le receveur ne possède pas le même ligand que le donneur, la cellule NK reconnaît les cellules du receveur comme étrangères et les élimine. C'est ce mécanisme qui permet l'élimination des cellules malignes résiduelles.

L'implication des cellules NK dans la GvH et la GvL a été le premier modèle pathologique ayant permis de comprendre le rôle majeur joué par les cellules NK. .

NB : Une **greffe de sang placentaire** serait plus efficace. En effet, quand le SI se reconstitue après une **greffe de CSH haplo identique**, les cellules NK ne sont pas complètement fonctionnelles contrairement à la greffe de sang placentaire. Donc ce type de greffe serait à favoriser.

Tous les Rc jouent un rôle dans la greffe. **L'association de Rc est donc beaucoup plus efficace**.

G Rôle des cellules NK en pathologie :

1) Cellules NK et infections :

En pathologie humaine, on constate l'existence d'associations entre certains KIR et certaines infections virales : HIV, HCV, HCMV, MCMV ... Donnons quelques exemples :

- Infection à CMV :
 1. **L'infection au MCMV** est associée chez certaines souris à l'expansion d'une sous population de NK possédant un Rc activateur LY49H dont le ligand est une **molécule du CMV**. Ces souris deviennent alors **résistantes au MCMV**
 2. **L'infection au HCMV** est associée chez certaines personnes à l'expansion d'une population CD94/NKG2C+. Le ligand n'a **pas encore été identifié** mais on pense que celui-ci est un *constituant du virus*
- Infection à HIV :
 1. le **contrôle de la réplication du VIH1** est associé à des **molécules ligands du KIR3DL1/3DS1**.
 2. Il y aussi une expansion de nouvelles sous populations de cellules NK CD56- CD16+, fonctionnellement **anergiques**. Cette population n'arrive plus à éliminer les cellules infectées par le HIV
 3. Enfin, notons **l'effet délétère des cellules NK** par l'expression induite du Nkp44L par la Gp41 sur les cellules by standers. Ainsi, **les cellules non infectées** par le virus sont éliminées par les **NK** et les **cellules infectées** sont éliminées par l'infection, d'où l'effet délétère.

Néanmoins, nous ne disposons pas encore de données très solides sur le rôle pépondérant éventuel des NK en pathologie humaine. En effet, si on les **élimine**, une RI peut se développer bien qu'elle soit moins bonne.

2) Cellules NK et cancer :

Une implication des NK dans **l'élimination de cancers** a été établie. Alors, des stratégies anti tumorales visent à activer les cellules NK. Beaucoup de traitements ont été essayés :

- essais de **transferts adoptifs des cellules NK allo réactives** (= hyper activée)
- essais cliniques de phase II basés sur des **blocages des signaux d'inhibitions** avec des Ac anti Kir afin d'induire une réponse NK
- tentative de **promotion de l'expression des trails**
- tentative **d'induction d'une meilleure ADCC** avec des Ac d'affinité pour la CD16 améliorée au niveau de leur fragment Fc

NB : certaines cellules NK seraient :

- associées à des **déficits immunitaires**. En effet des **polymorphismes** ont été identifiés dans certains gènes. Ils induiraient des déficits immunitaires en lymphocytes et en NK.
- Impliquées dans la **lutte contre les infections bactériennes et parasitaires**
- impliquées dans les **MAI** avec association de typage de certains KIR avec la PR, le psoriasis et la SEP.