

# Le récepteur T ou TCR

G. Cozon

[gregoire.cozon@chu-lyon.fr](mailto:gregoire.cozon@chu-lyon.fr)

Novembre 2009

# Le récepteur T ou TCR

Qu'est-ce que le récepteur T ?

Comment est-il formé ?

Comment fonctionne-t-il ?

À quoi sert-il ?

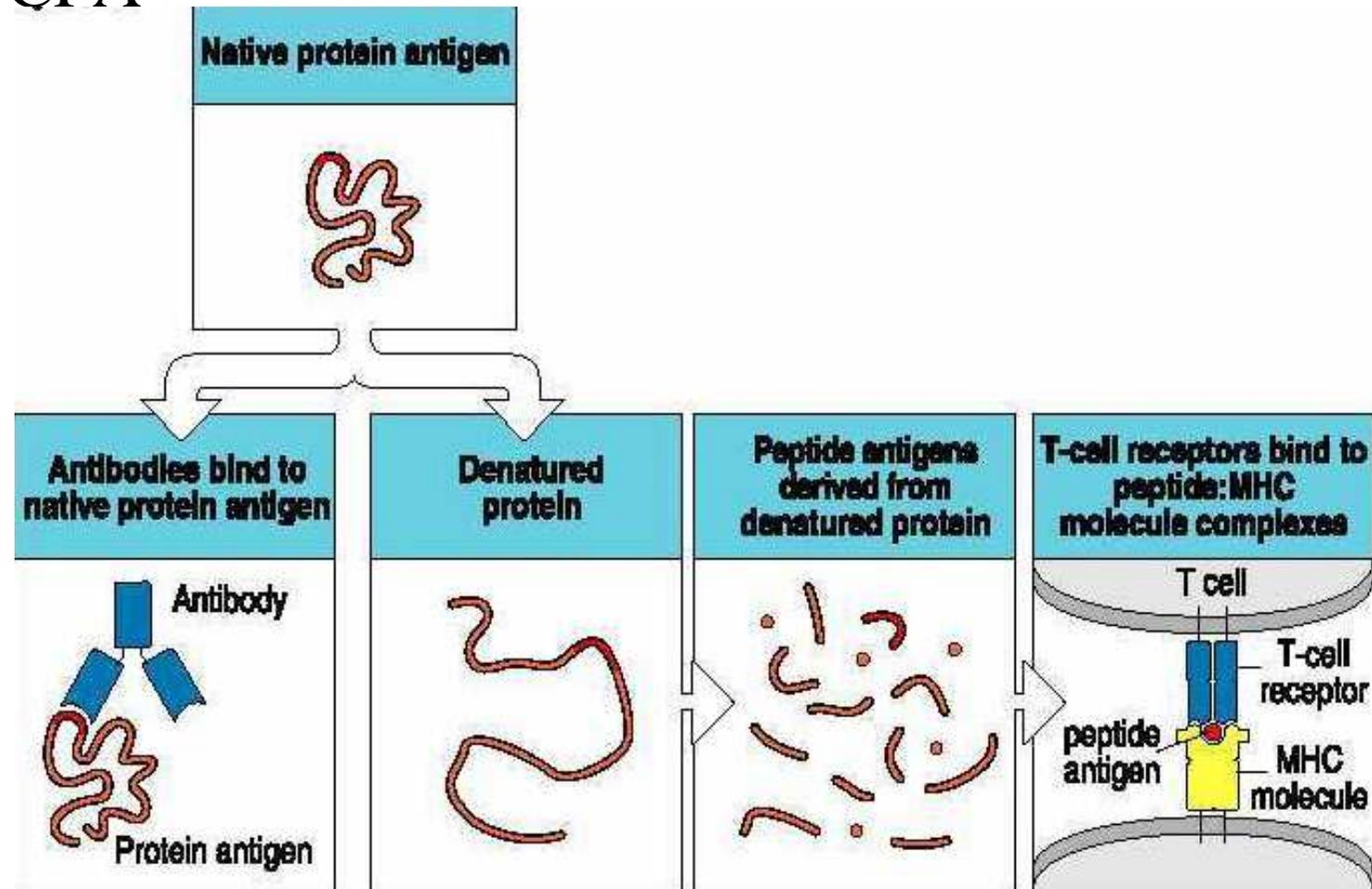
Qu'est-ce que des molécules d'adhérence  
et quelle est leur fonction ?

# Introduction

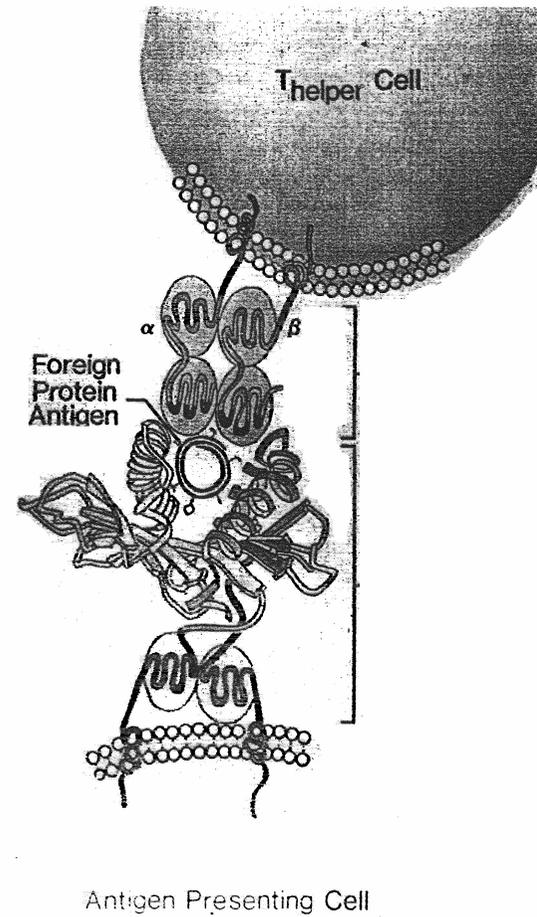
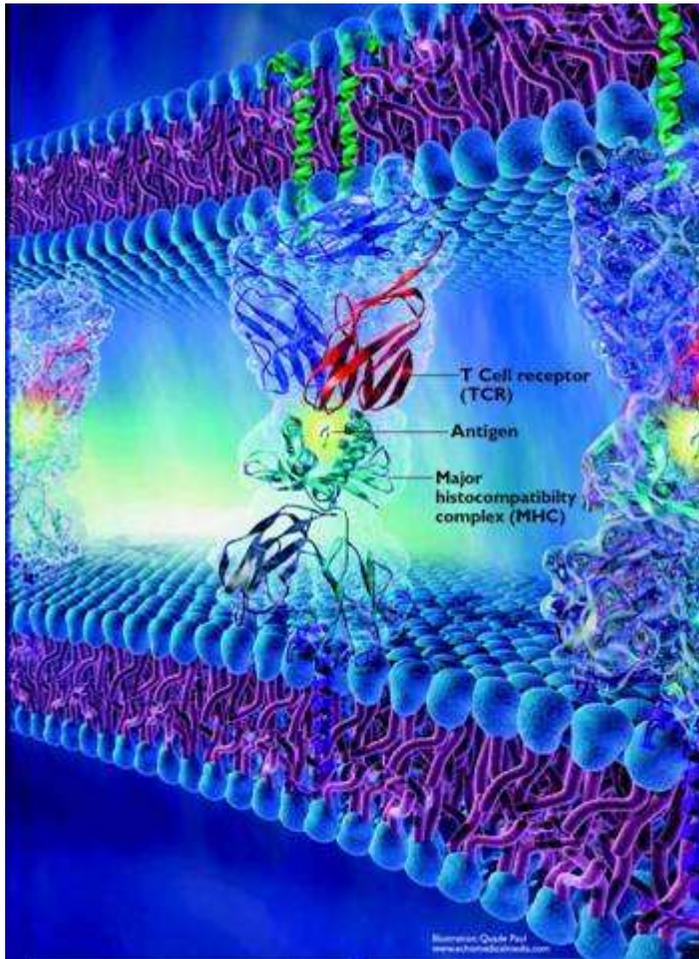
- Réaction immune phénomènes de reconnaissance
- Acquisition dans le thymus
- Lymphocytes T : récepteur spécifique de l'Ag
- $10^{12}$  lymphocytes T chez l'adulte.
- Uniquement forme membranaire
- Reconnaissance mixte peptide-CMH
- Co-molécules de reconnaissance

# Reconnaissance Ig et lyT

- Ig reconnaît un antigène soluble natif
- LyT reconnaît un antigène apprêté, présenté par une CPA



# TCR-Peptide-MHC



# Le complexe moléculaire TCR-CD3

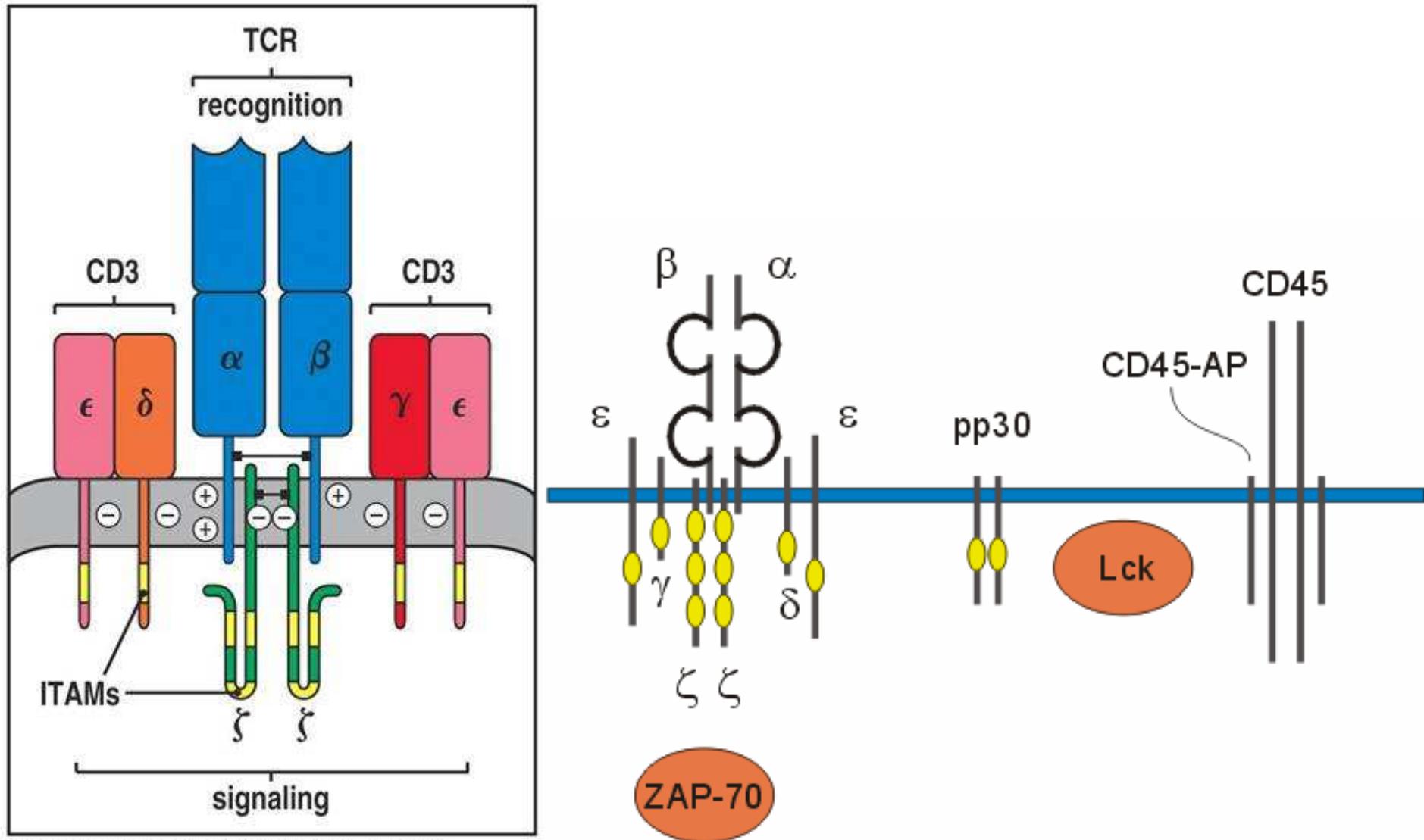
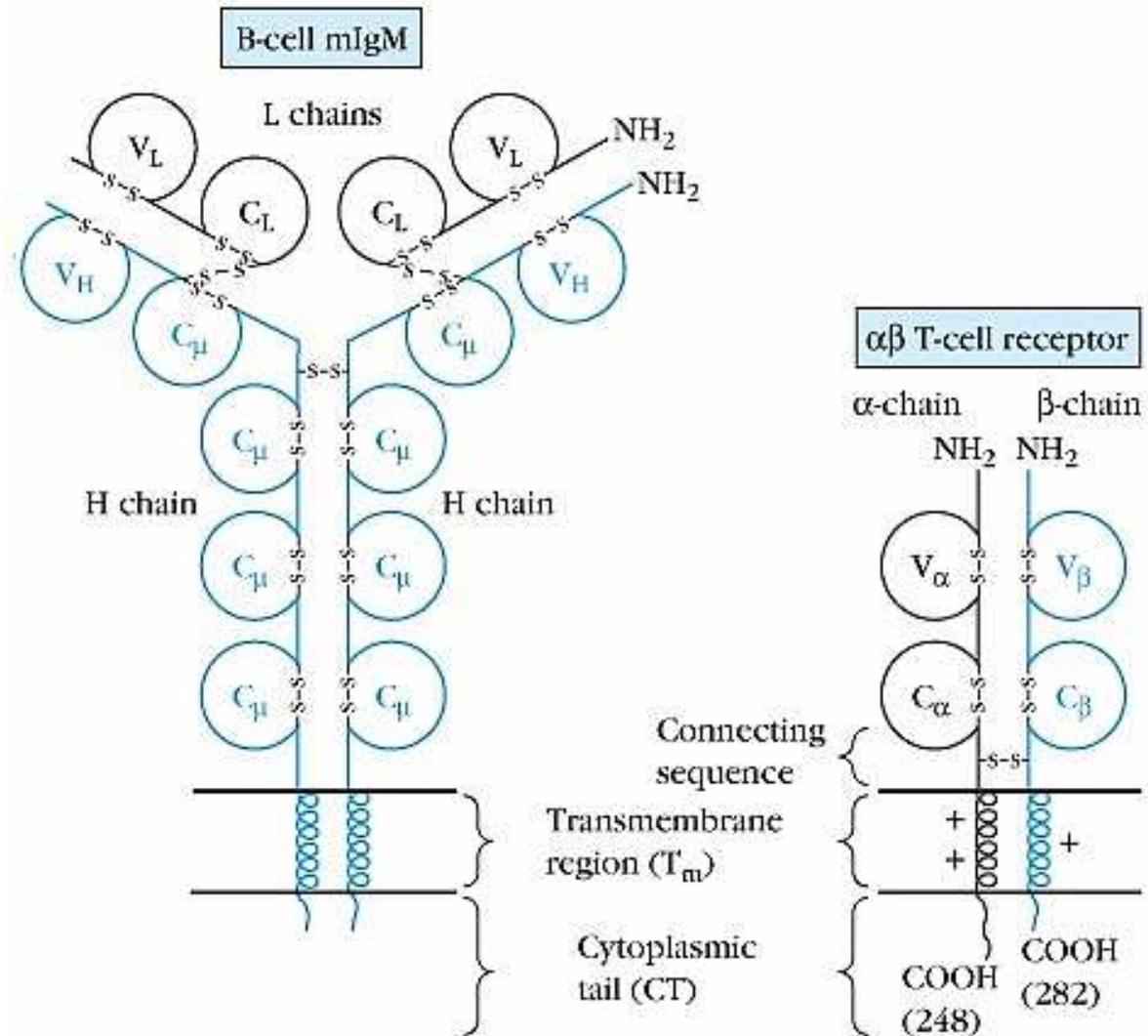
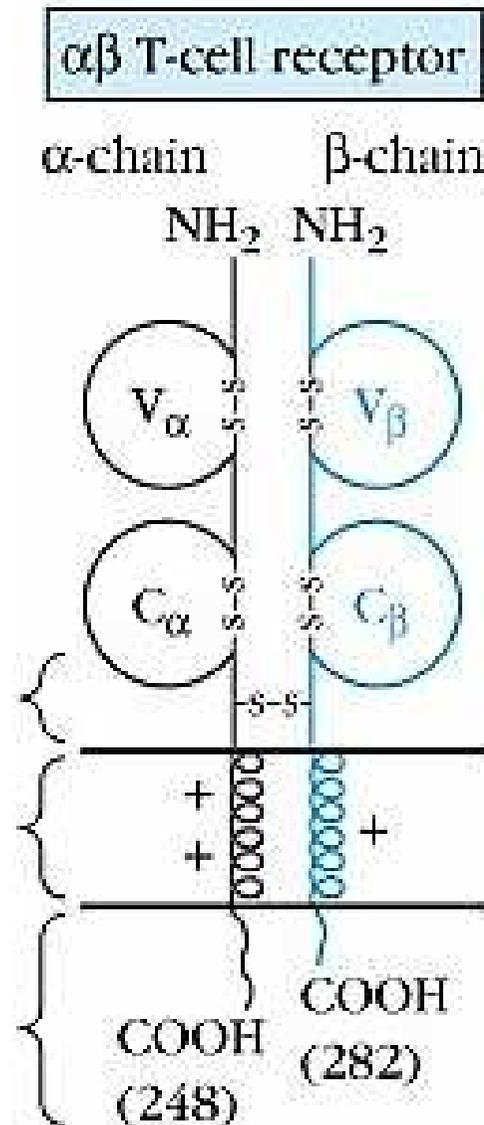


Figure 6-9 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Le BCR et le TCR



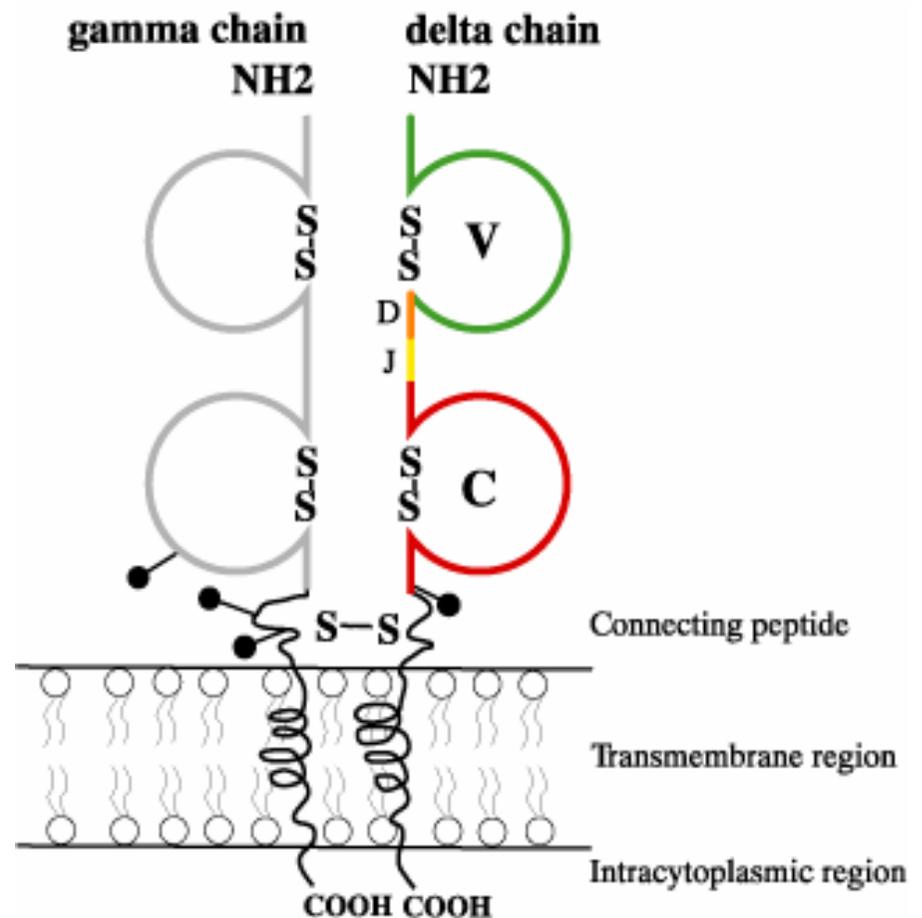
# TCR complexe de 90 kDa



- 2 chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  unies par un pont disulfure dans 95% des ly sanguins
- 2 chaînes  $\gamma$  et  $\delta$  dans 5% des cas
- $\alpha$  44 kDa,  $\beta$  37 kDa
- 2 domaines externes
- un segment de connexion
- une partie transmembranaire
- une courte portion intracytoplasmique

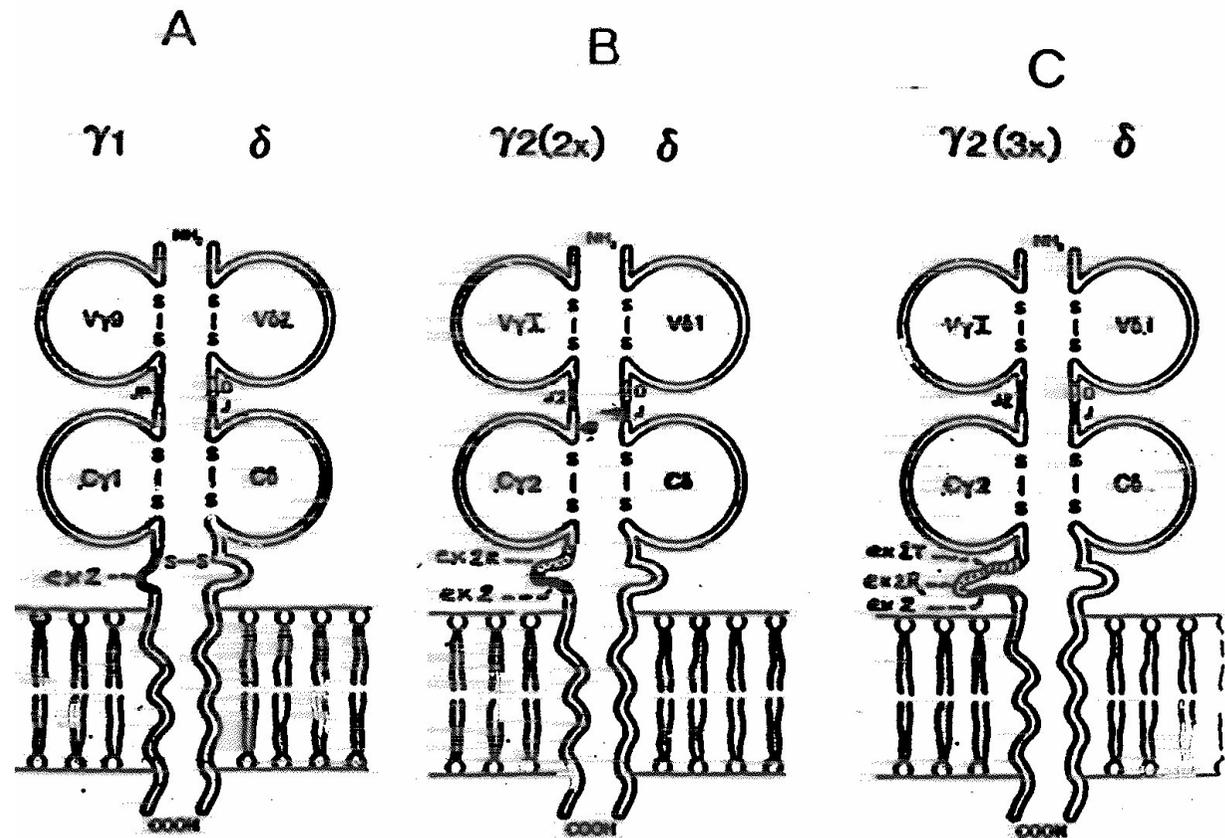
# TCR $\gamma\delta$

- 2 types de TCR $\gamma\delta$
- $\gamma 1\delta$
- $\gamma 2\delta$  sans pont disulfure intercaténaire
- Différence liée à 2 gènes pour la partie constante  $C\gamma 1$  et  $C\gamma 2$



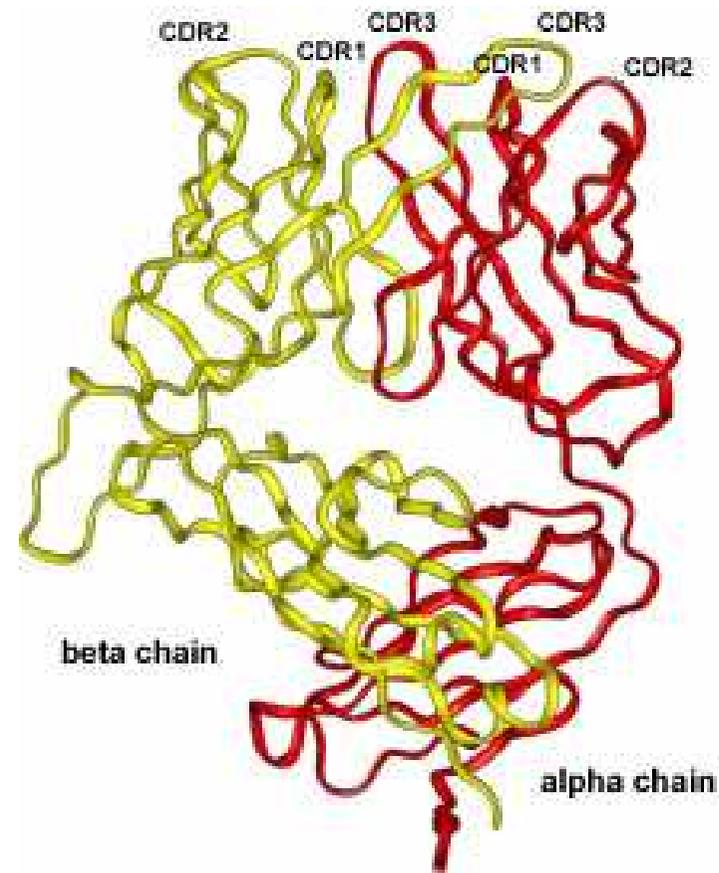
# Variation du TCR $\gamma\delta$

- $\gamma 1$  pont disulfure
- $\gamma 2$  pas de pont disulfure et longueur du segment de connexion variable



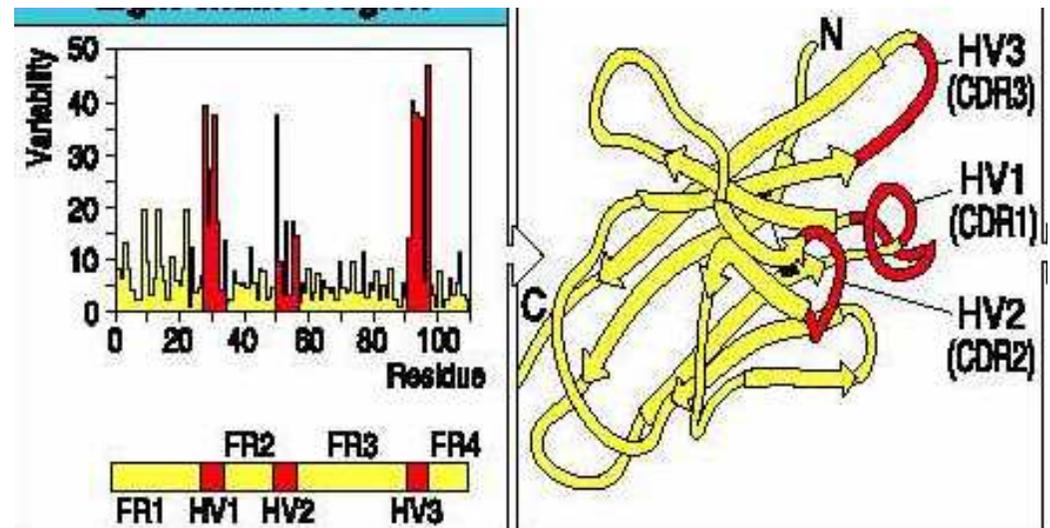
# Organisation spatiale du TCR

- 8 boucles de feuillet  $\beta$  par domaine variable
- 3 régions par domaine tournés vers l'extérieur : CDR1, CDR2 et CDR3

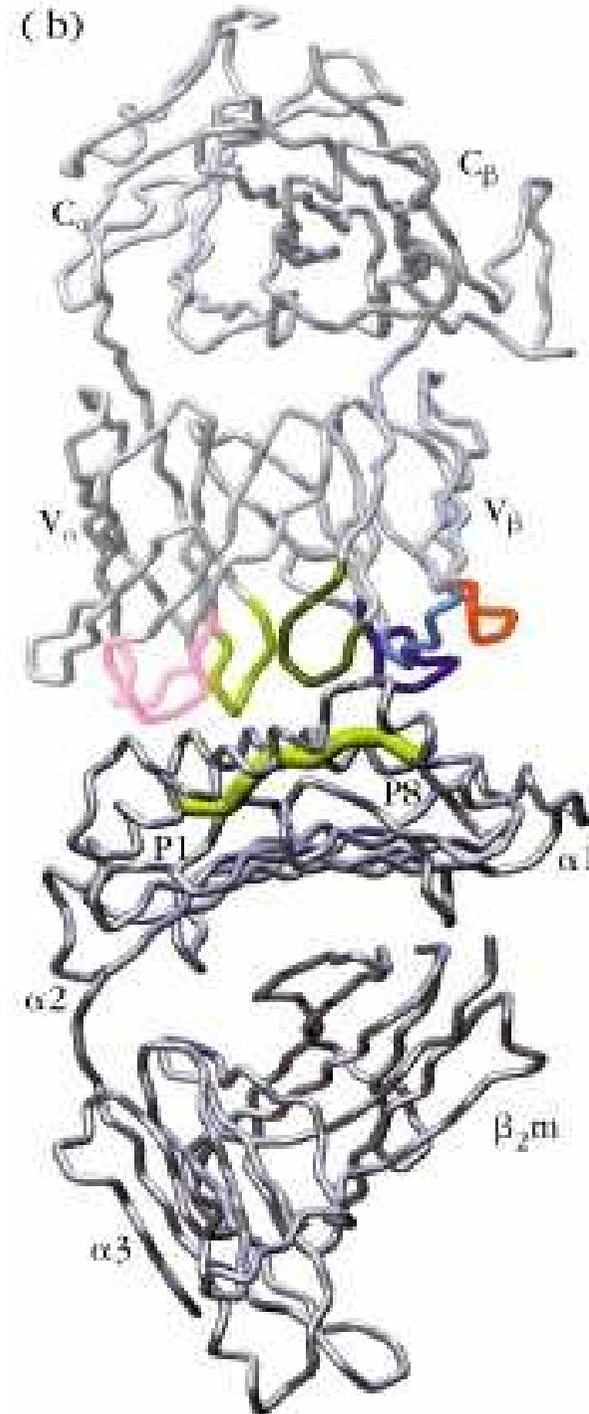
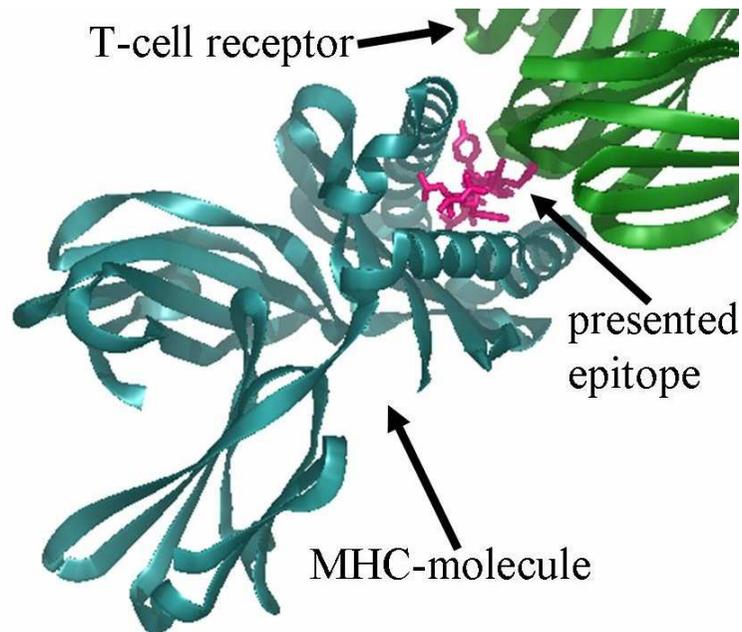


# Région hyper variables CDR1, CDR2 et CDR3 (complementarity determining regions)

- Les domaines  $V\alpha$  et  $V\beta$  sont formés comme les domaines variables des Igs de parties constantes (la charpente) et de parties hypervariables CDR1, CDR2 et CDR3

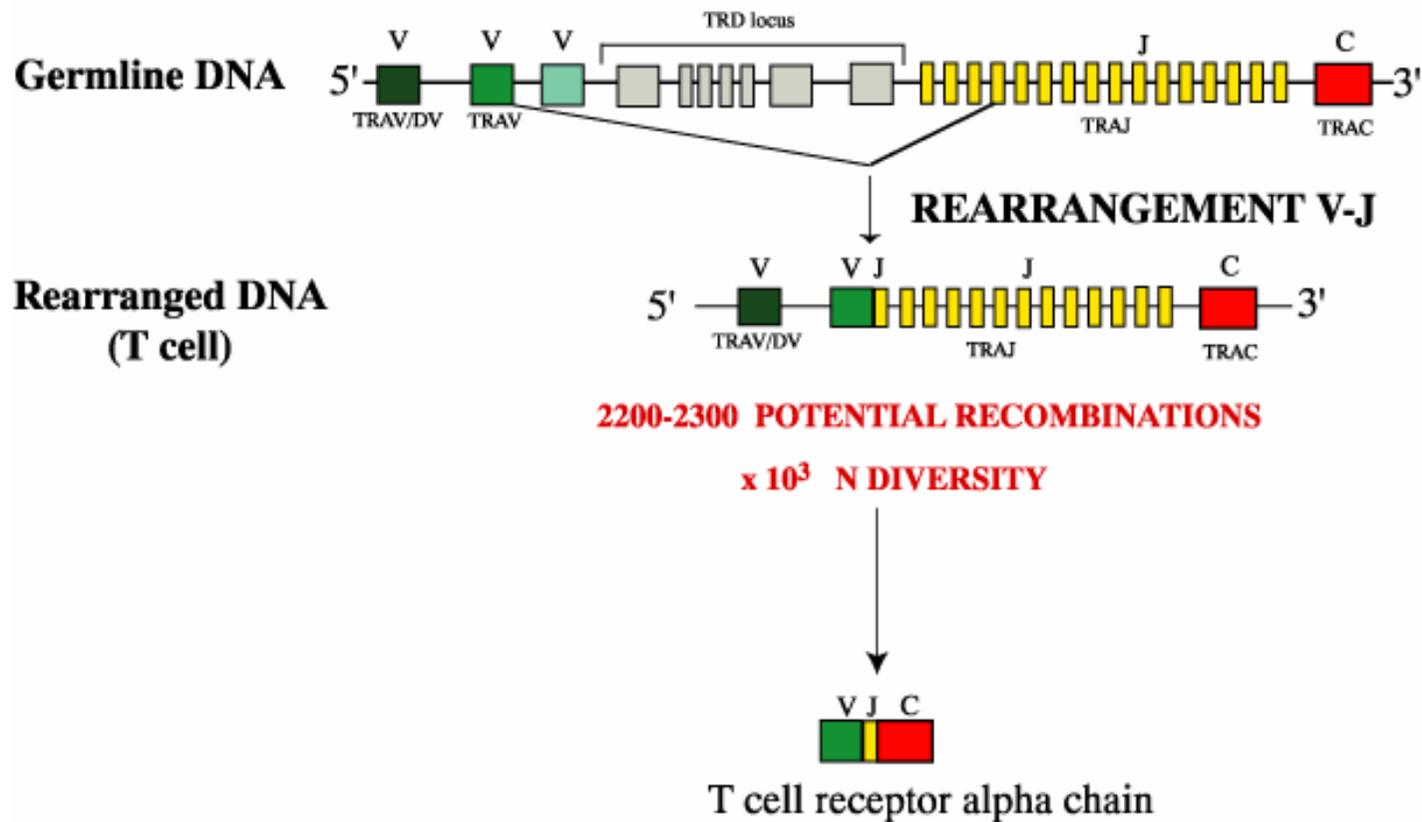


- CDR1 et CDR2 reconnaissent les hélices  $\alpha$  du CMH alors que les régions CDR3 sont en contact avec le peptide présent dans le sillon du CMH



# Gènes du TCR

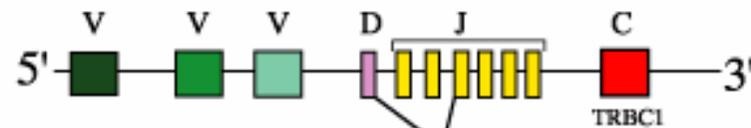
## TRA locus at 14q11.2



**$10^4$  DIFFERENT ALPHA CHAINS**

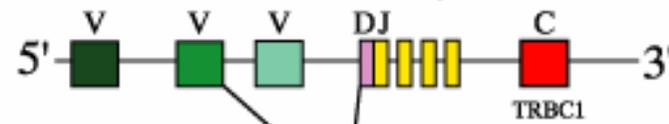
## TRB locus at 7q34

Germline DNA



REARRANGEMENT D-J

Rearranged DNA  
(T cell)



REARRANGEMENT V-D-J

Rearranged DNA  
(T cell)



960-1248 POTENTIAL RECOMBINATIONS

$\times 10^5$  N DIVERSITY



T cell receptor beta chain

**10<sup>8</sup> DIFFERENT BETA CHAINS**

germline DNA

recombination

rearranged DNA

transcription  
splicing  
translation

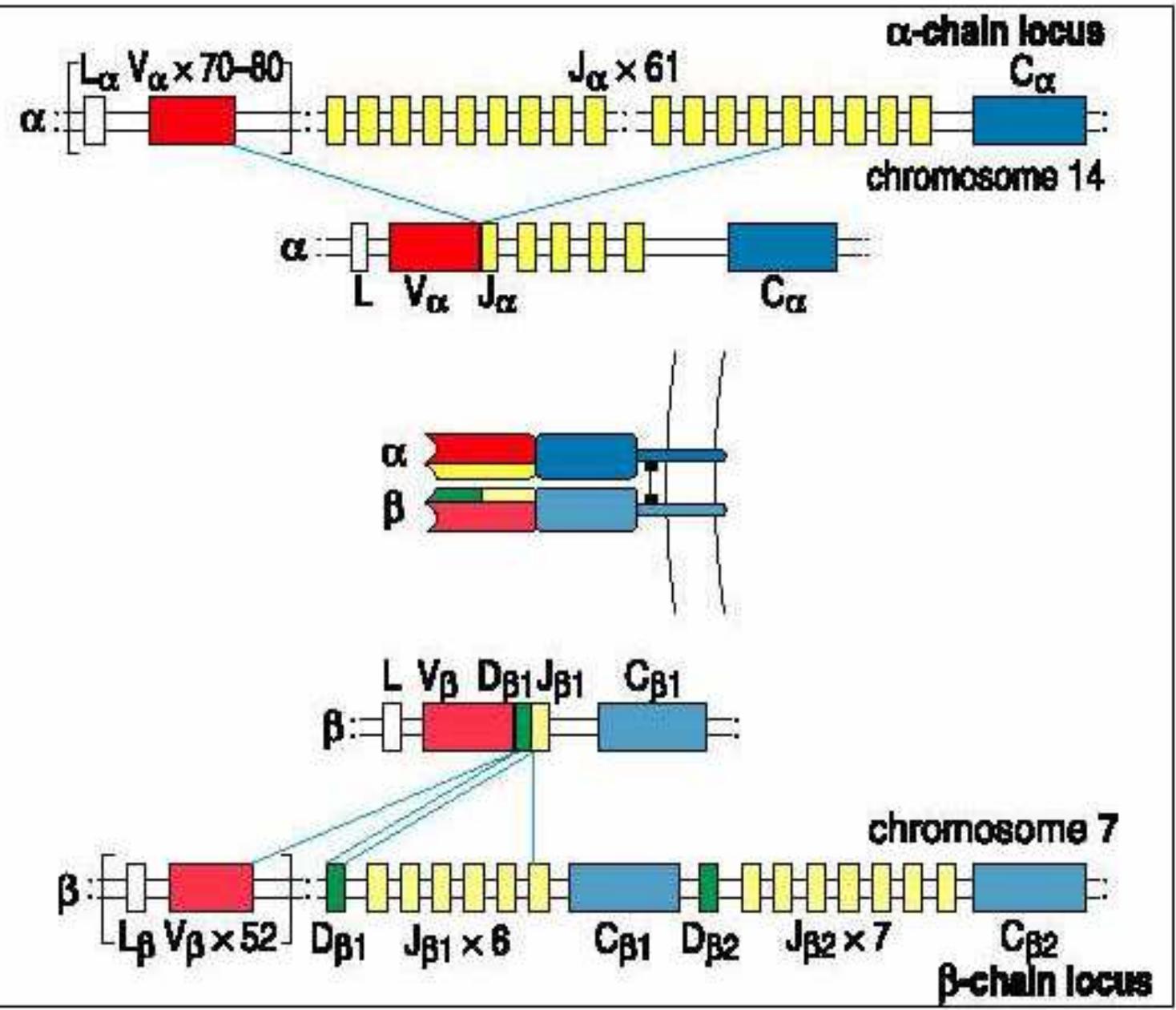
protein  
(T-cell receptor)

translation  
splicing  
transcription

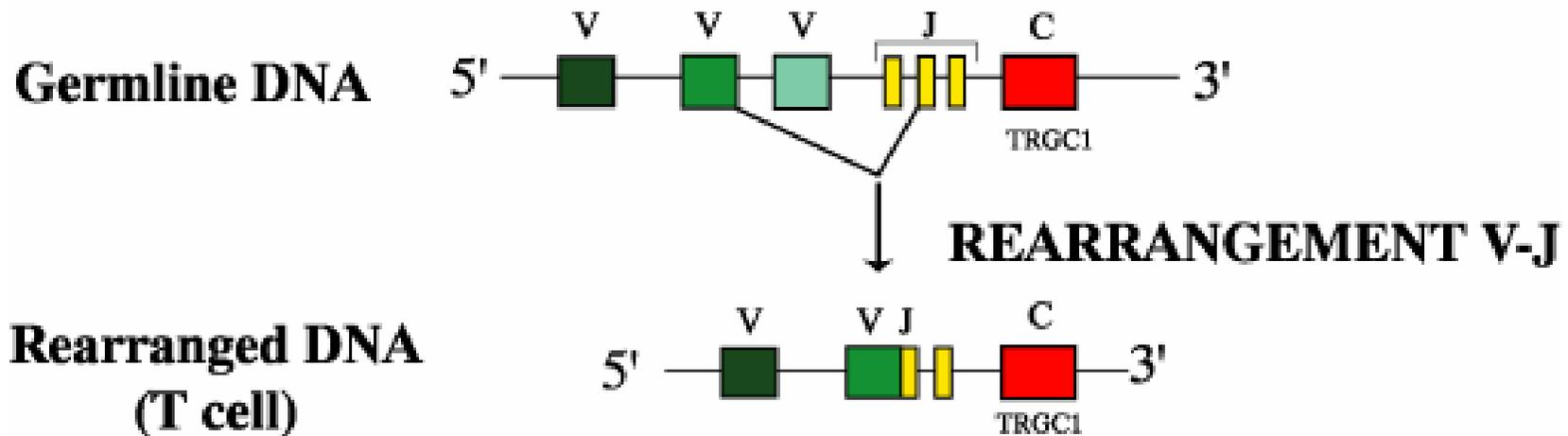
rearranged DNA

recombination

germline DNA



## TRG locus at 7p14



**20-30 POTENTIAL RECOMBINATIONS**

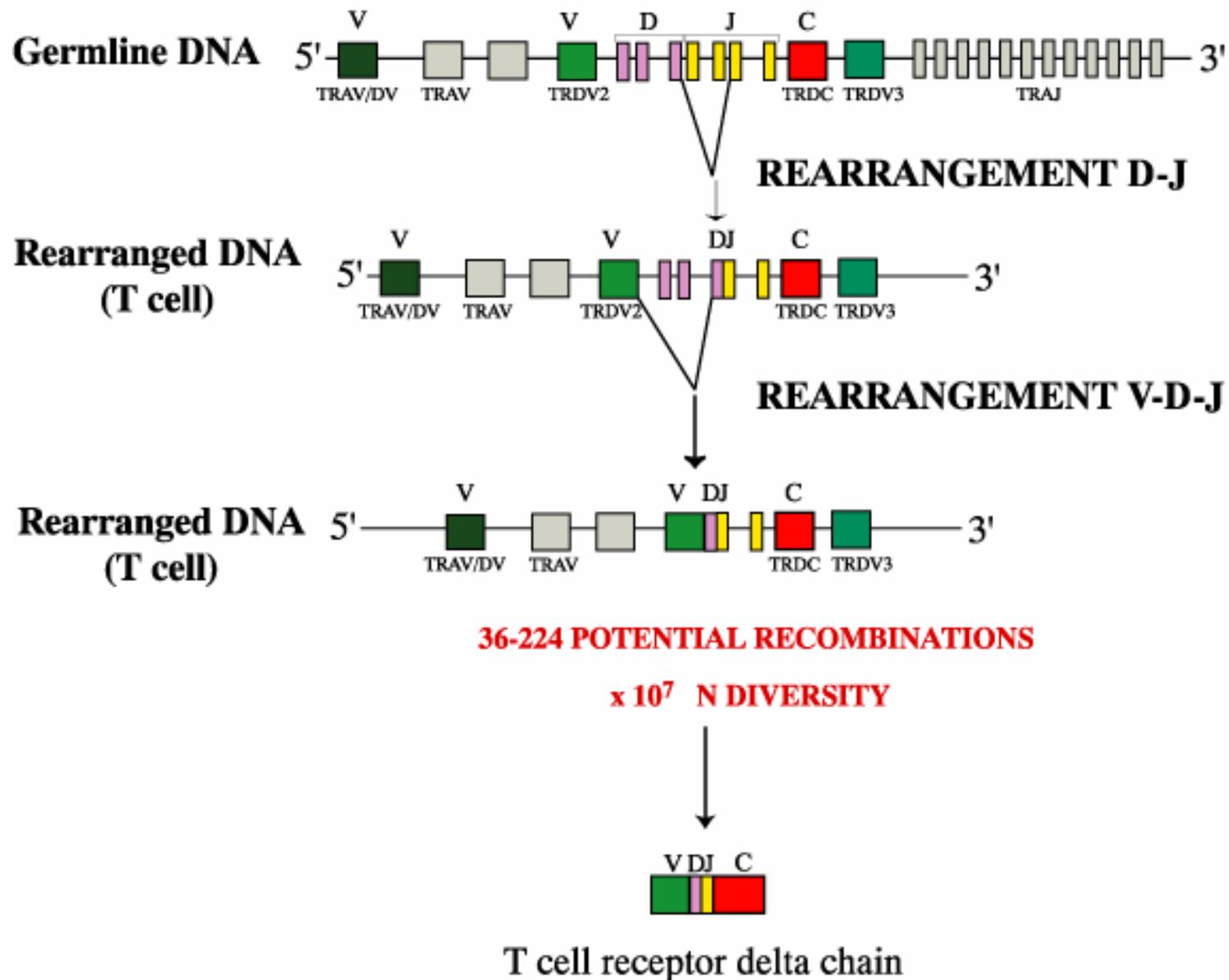
**$\times 10^3$  N DIVERSITY**



T cell receptor gamma chain

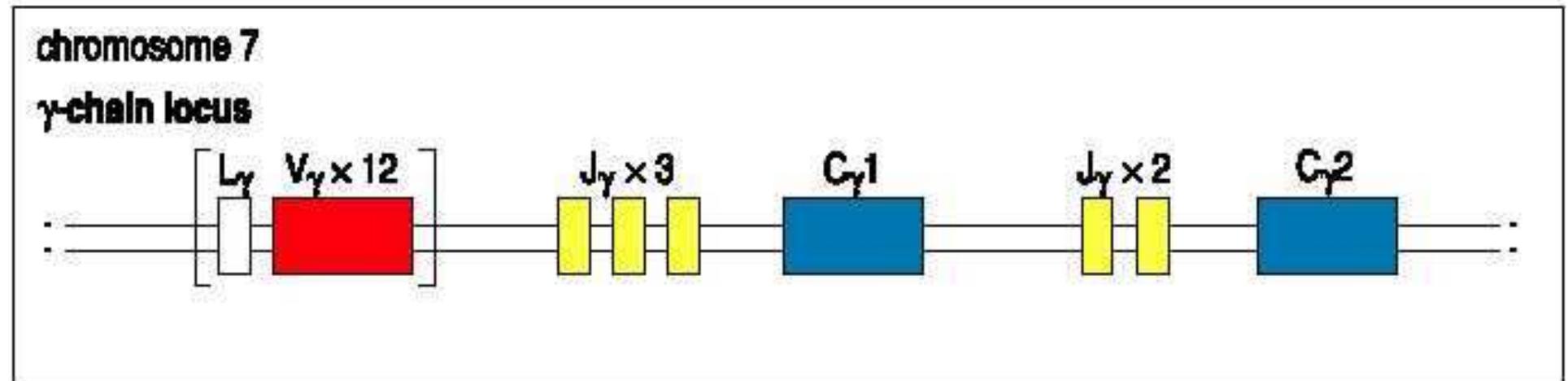
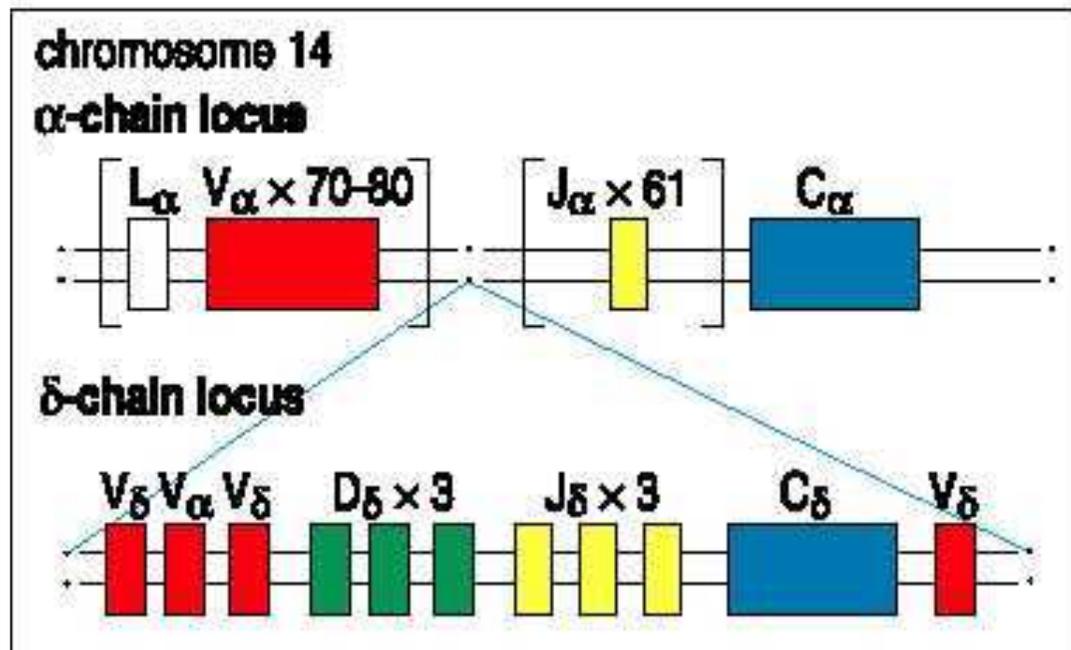
**$10^4$  DIFFERENT GAMMA CHAINS**

## TRD locus at 14q11.2



**10<sup>8</sup> DIFFERENT DELTA CHAINS**

Figure 3.5



# Cinétique d'Expression

- Les premiers réarrangés puis exprimés sont les gènes  $\gamma\delta$  puis  $\alpha\beta$
- Exclusion allélique pour la chaîne  $\beta$
- Possibilité d'expression de 2 chaînes  $\alpha$  pour un même lymphocyte T

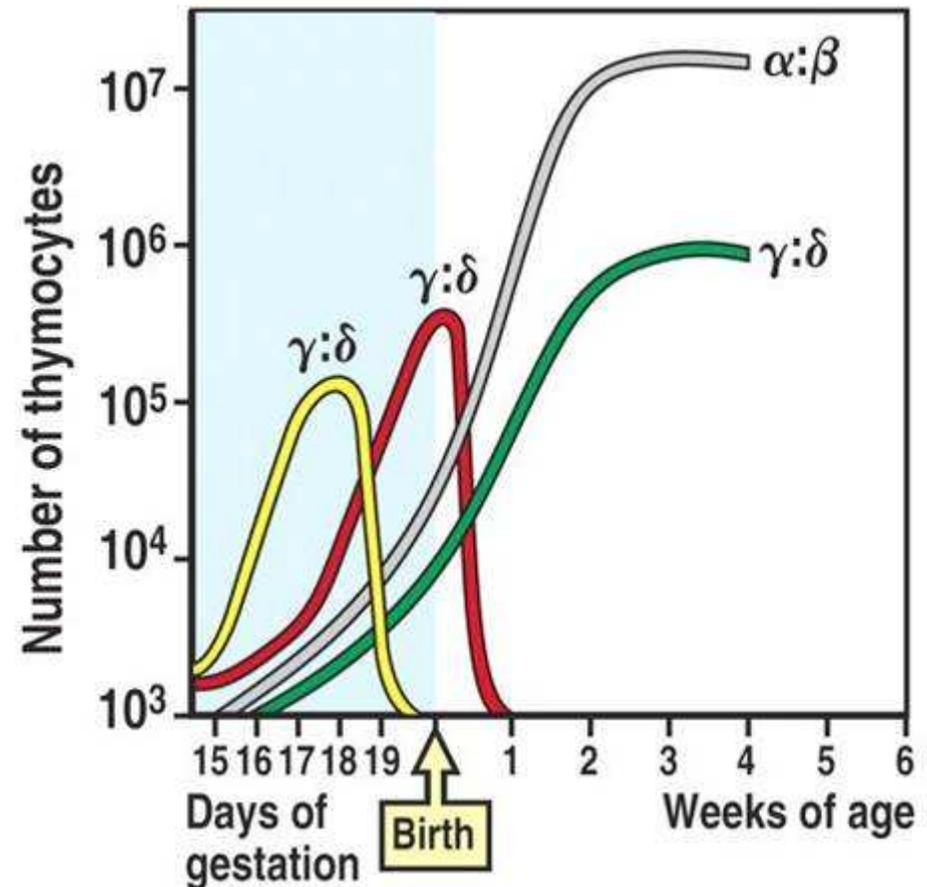


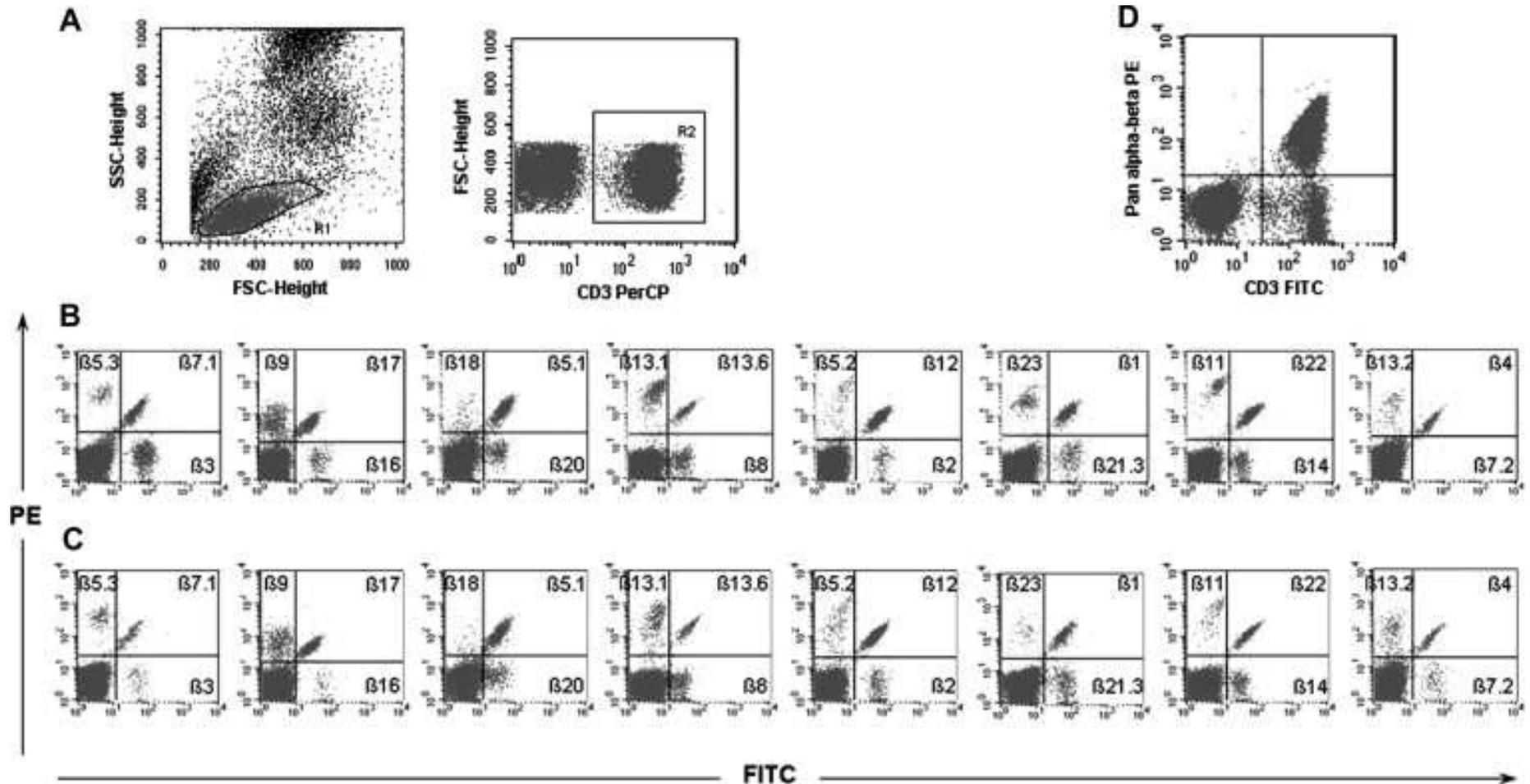
Figure 5-9 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

# Lymphocyte T $\gamma\delta$

- 1-5% dans le sang
- + frqt dans la peau, l'intestin et le tractus gynéco
- Répertoire théorique très large avec peu de gènes ( $10^{17}$  à  $10^{20}$ )
- Oligoclonal dans le sang périphérique
- Reconnaissance MICA ou MICB (exprimée à la surface de cellules soumises à un stress), phospholipides, HSP.  
interface I. innée et I acquise
- Rôle dans les infections à mycobactéries, à listeria

# Moyens d'étude des LyT

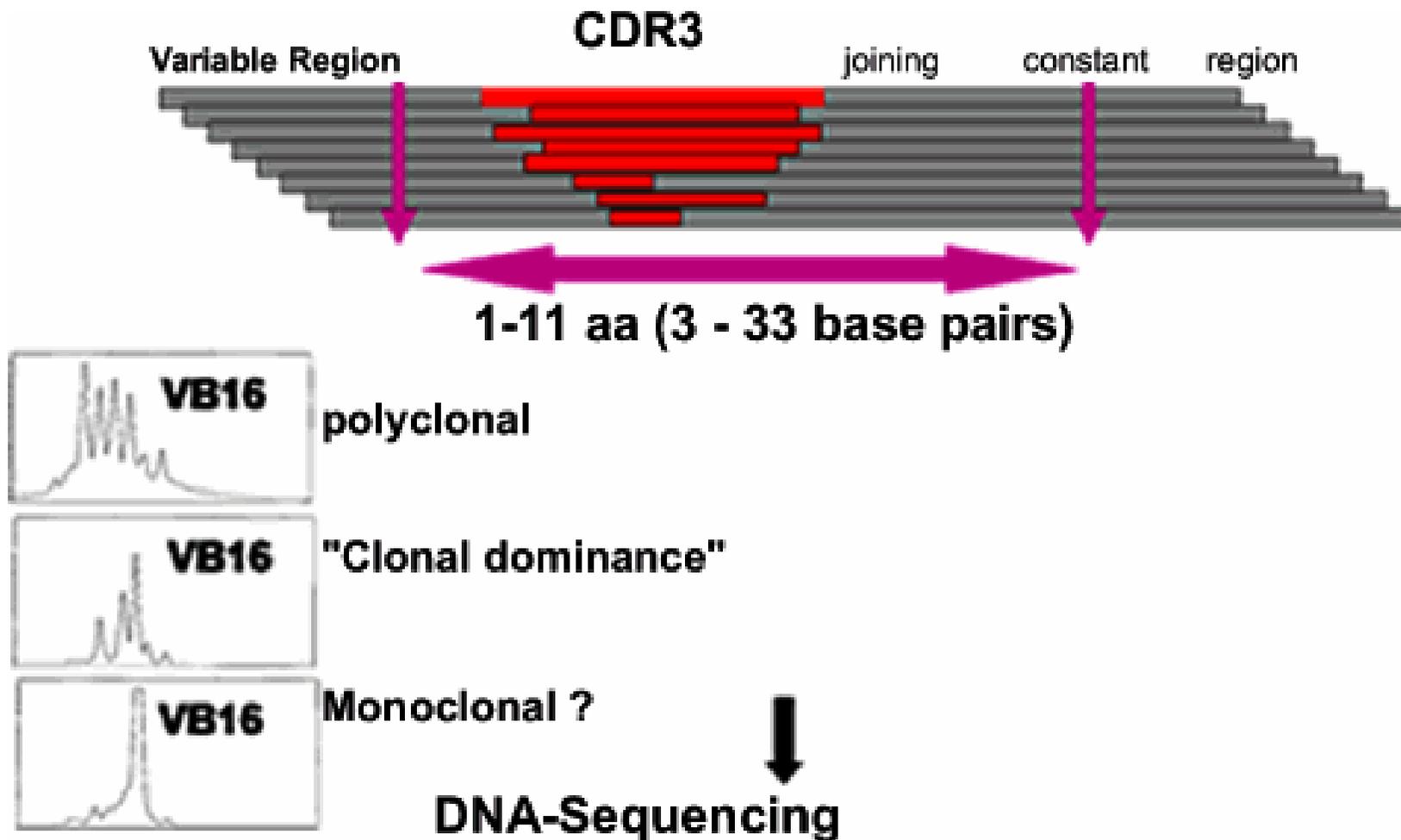
- Acmc CD3, antiV $\beta$ , antiV $\alpha$ , V $\gamma$  ou V $\delta$



Loizon S, Boeuf P, Tetteh JK, Goka B, Obeng-Adjei G, Kurtzhals JA, Rogier C, Akanmori BD, Mercereau-Puijalon O, Hviid L, Behr C  
 Vbeta profiles in African children with acute cerebral or uncomplicated malaria: very focused changes among a remarkable global stability.  
 Microbes Infect. 2007 ;9:1252-9.

# Moyens d'étude des LyT

- Immunoscope



# Le complexe CD3

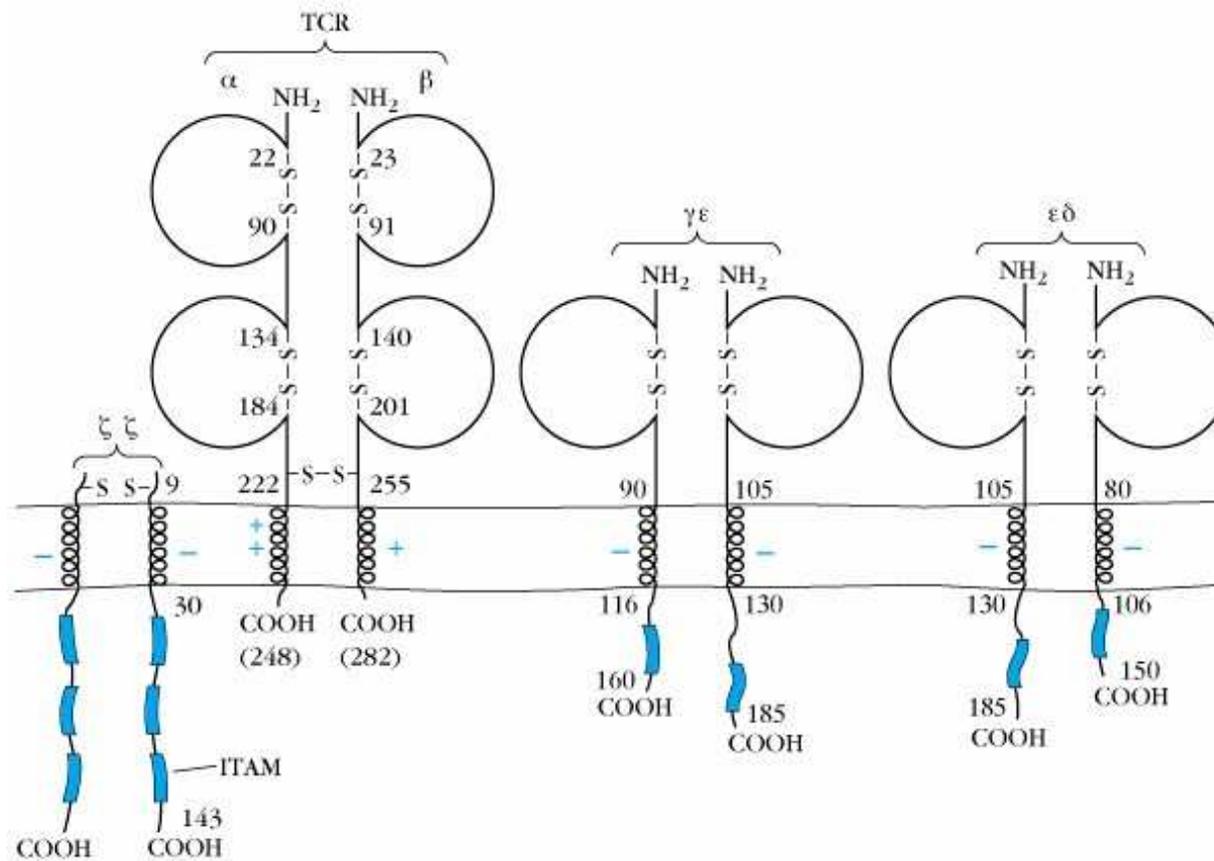
- 5 sous-unités non polymorphiques  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ , et  $\eta$
- domaine extracellulaire de 79 à 104 aa de type Ig pour  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$
- domaine intracellulaire ARAM (Antigen recognition activation motif) ou ITAM (Immunoreceptor family tyrosine-based activation motif).

# Complexe TCR CD3

11q23

20-26 kDa

16 kDa



# Motif ITAM et Tyrosine Kinase

- Commun à de nombreux récepteurs CD3, CD79, Chaîne  $\beta$  ou  $\gamma$  du FC $\gamma$ IR (CD64), Chaîne  $\gamma$  du FC $\gamma$ IIIR (CD16).
- Association avec des Protéine Tyrosine Kinases PTK qui doivent être déphosphorylées (PT phosphatase CD45) pour être actives.
- p56<sup>lck</sup>, p72<sup>syk</sup>, p59<sup>fyn</sup>, ZAP-70

# Mécanismes de régulation de l'activation des Tyrosine kinases Src

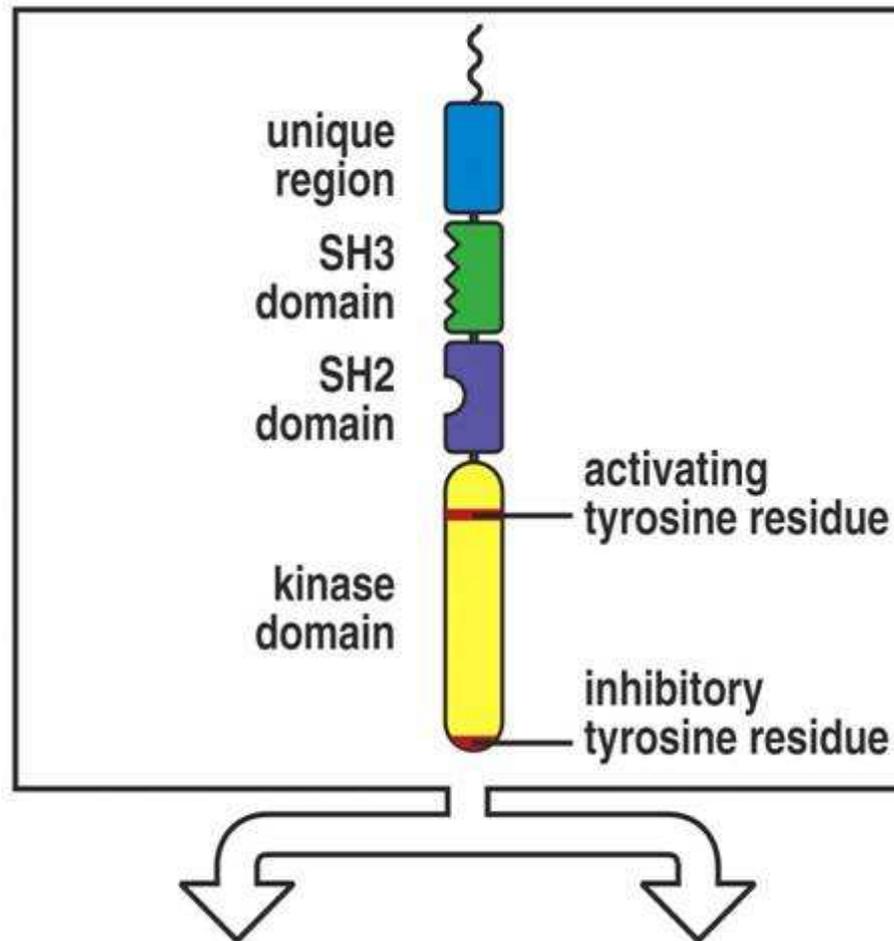


Figure 6-11 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

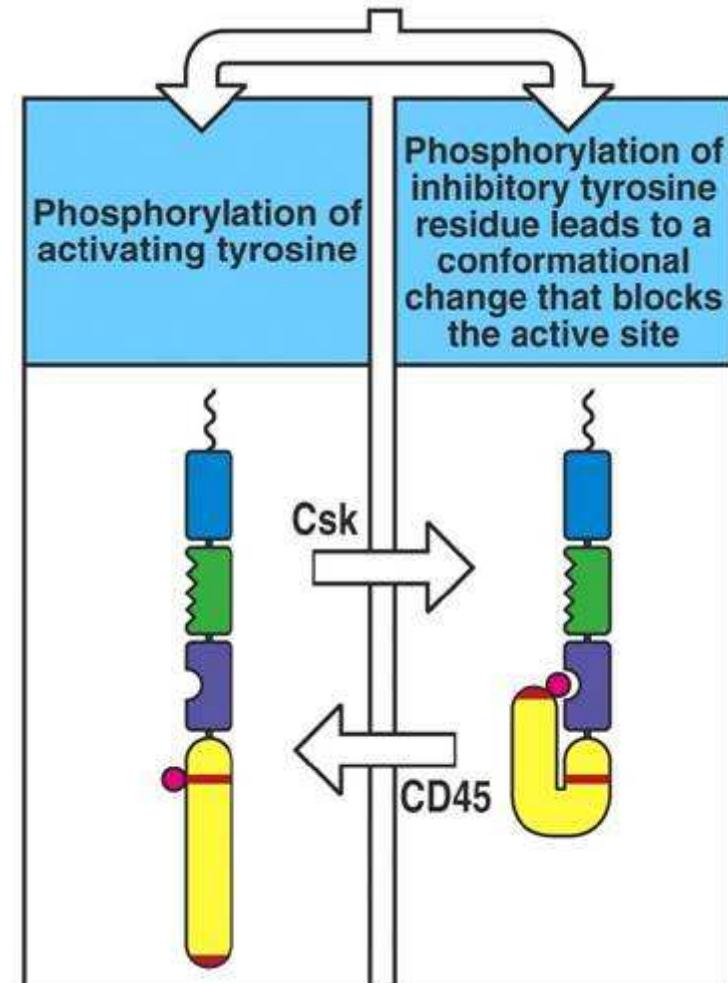
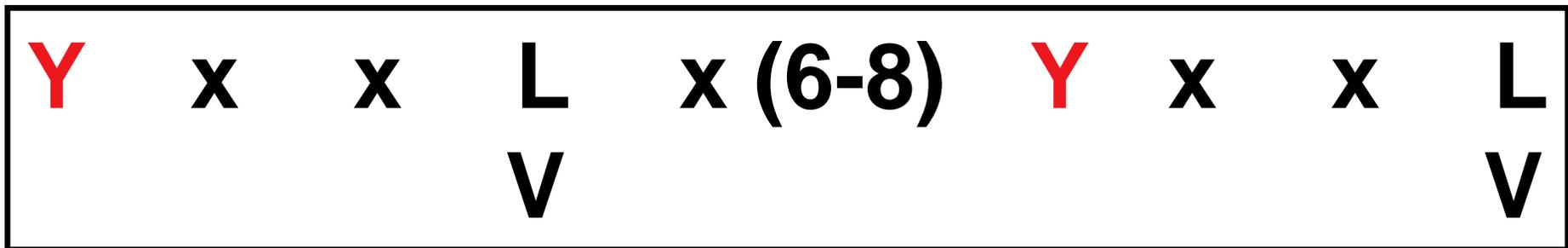


Figure 6-11 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Csk : C-terminal Src Kinase

# Motif ITAM

- 2 Tyrosines (Y) séparées par 10 à 12 AA
- Après reconnaissance les tyrosines sont phosphorylées par des tyrosines kinases de la familles des Sarc Kinases
- Une tyrosine est activatrice permettant la fixation d'une autre Tyrosine kinase Src
- L'autre peut être inhibitrice bloquant la fixation d'une Tyrosine kinase Src si elle est à l'extrémité C de la molécule



# Mécanisme d'activation du TCR-CD3

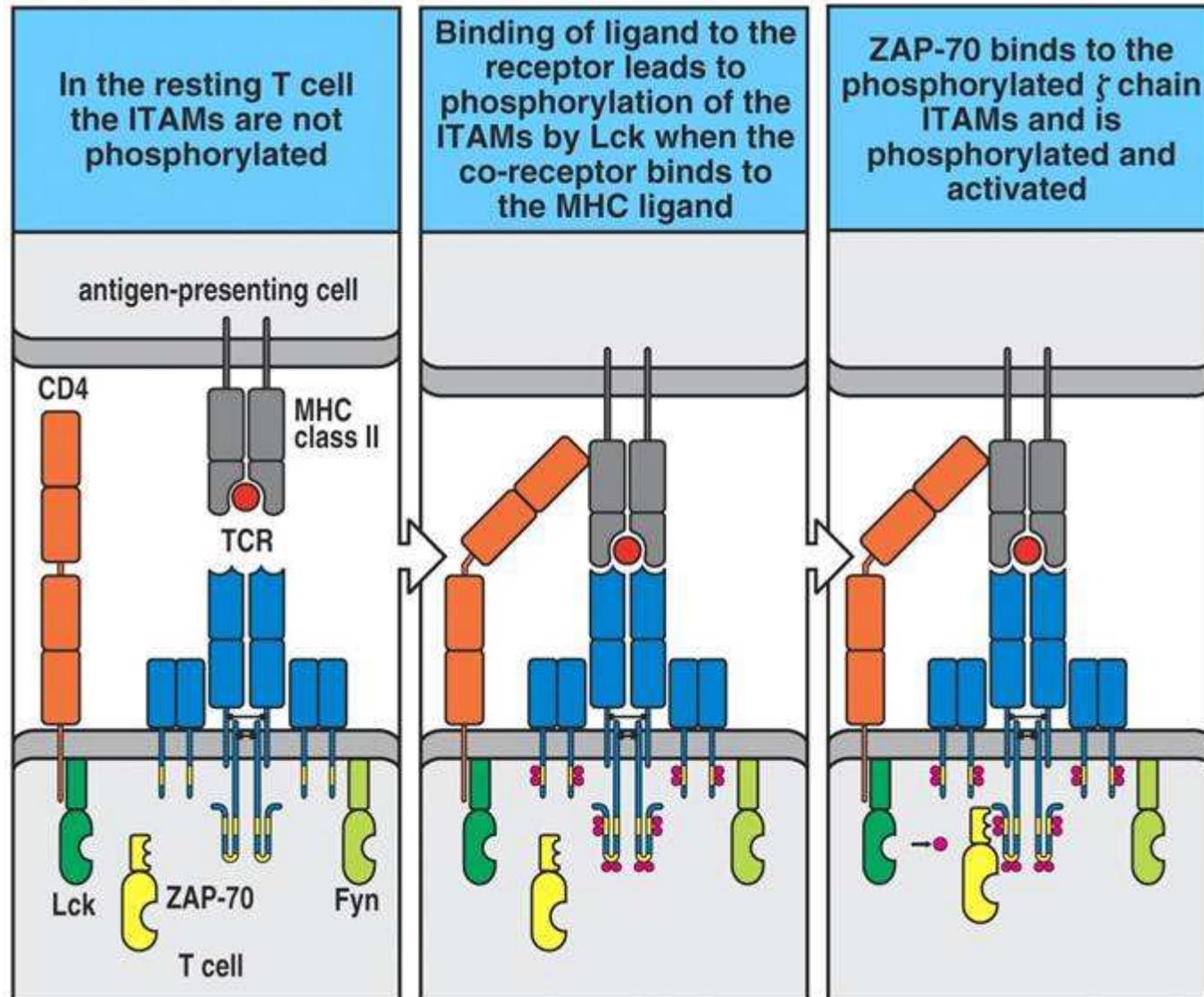


Figure 6-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

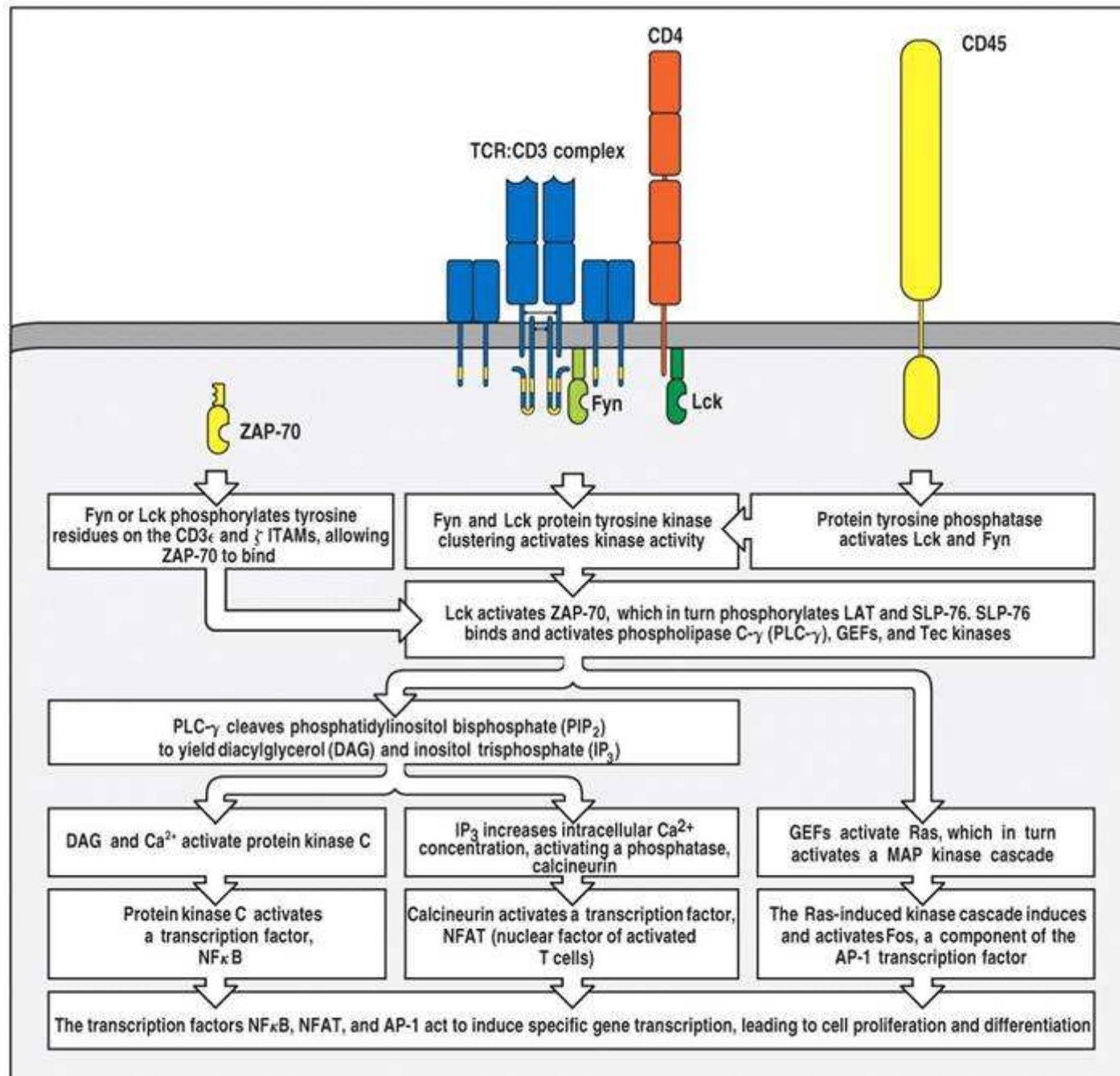
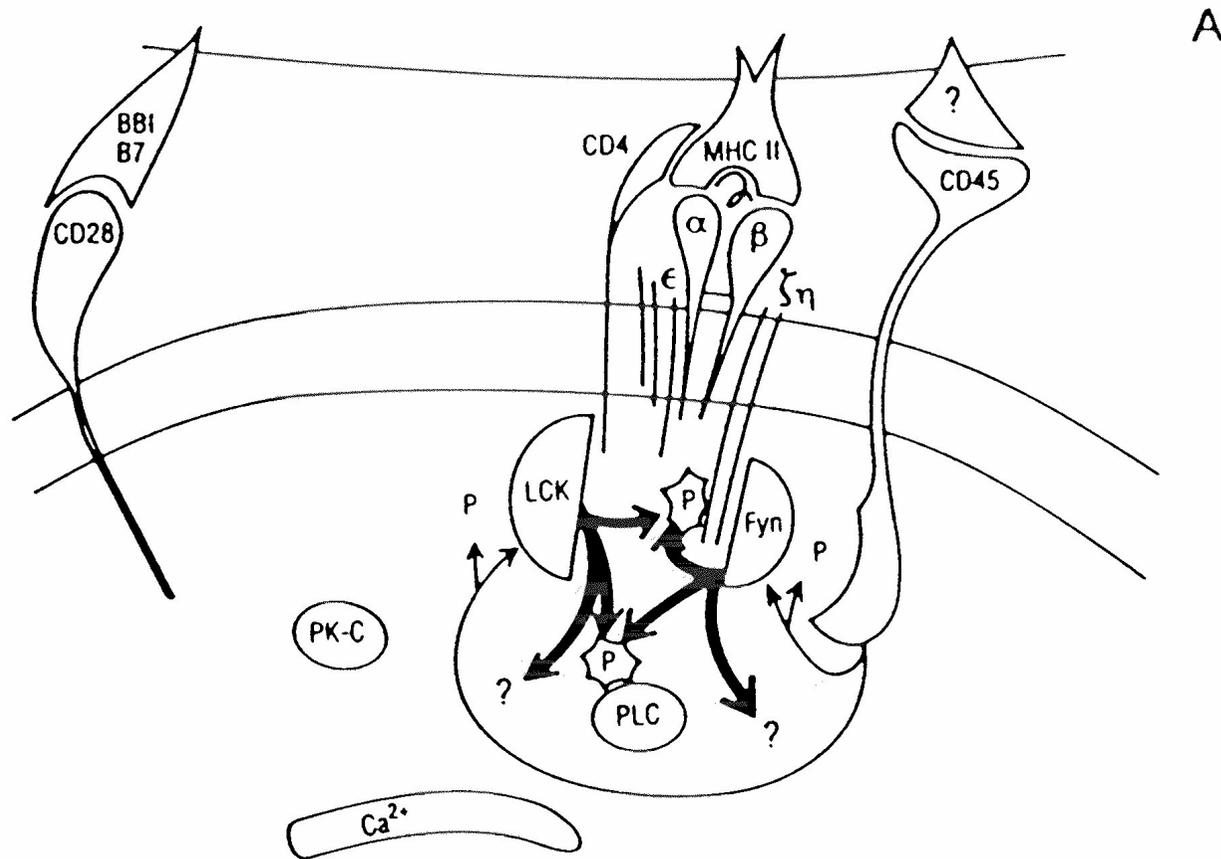
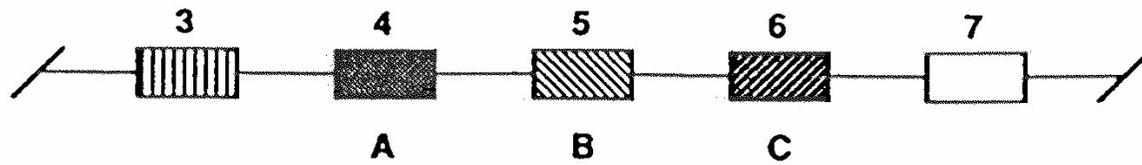


Figure 6-16 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Complexe TCR-CD3-CD45



# Molécule CD45



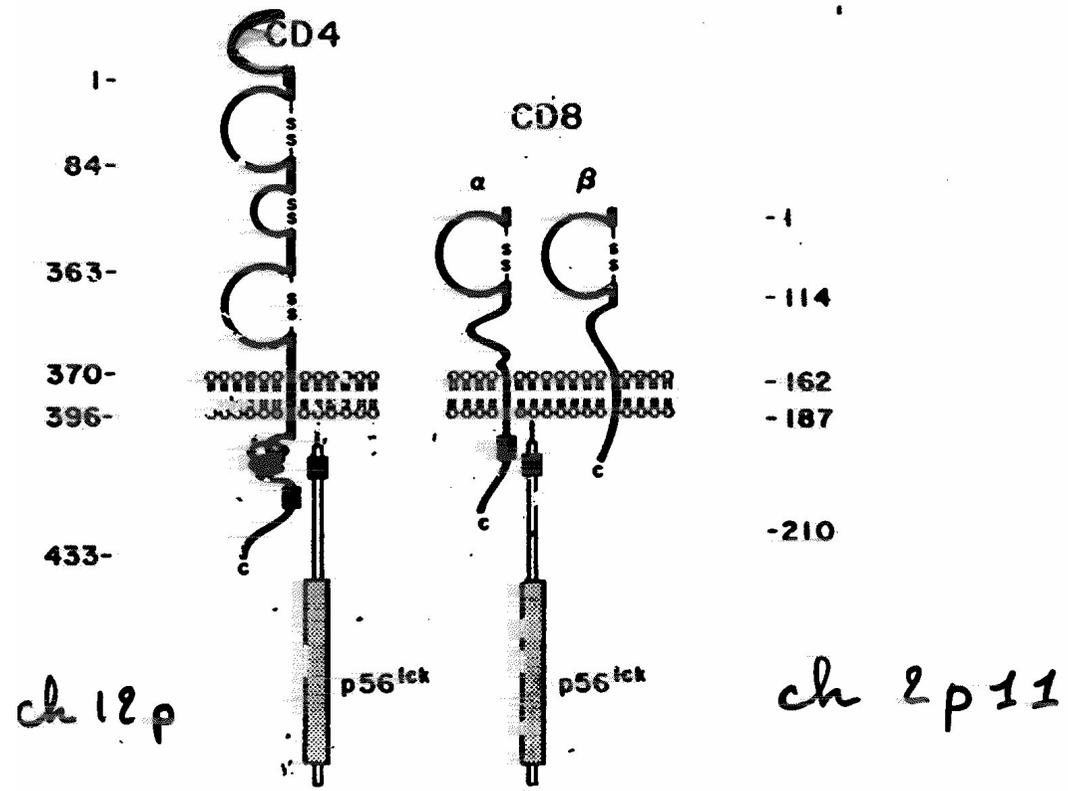
		<u>CD45RA</u>	<u>CD45RB</u>	<u>CD45R0</u>
ABC		+	+	
AB		+	+	
AC		+		
BC			+	
A		(+)		
B			(+)	
C				
NULL				+

# Co-molécules de reconnaissance

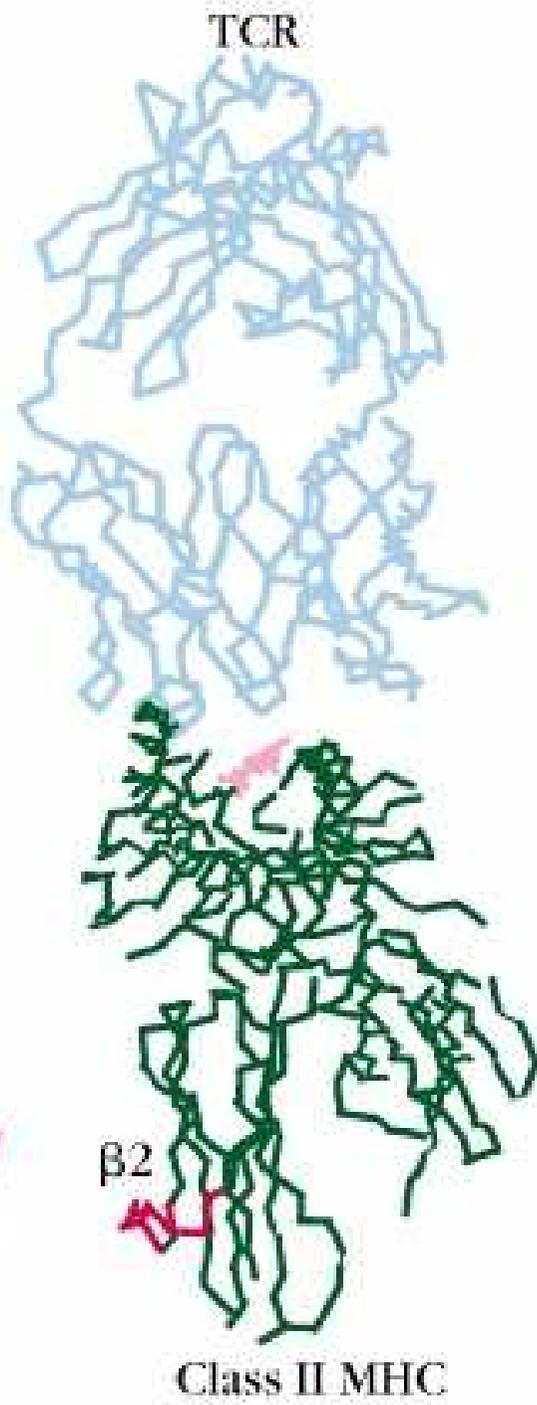
- Affinité faible du TCR :  $10^{-4}$  à  $10^{-5}$
- Co-molécules de reconnaissance CD4 et CD8
- Expression mutuellement exclusive dans le sang périphérique co-expression sur 80% des thymocytes.
- Rôle d'adhérence et d'activation

# CD4 et CD8

- Superfamille des Ig
- CD4 4 domaines extracellulaires
- CD8 1 domaine extracellulaires
- CD4 ©T et Mono
- CD8 hétérodimère
- CD4 CMH classe II
- CD8 CMH classe I
- Association p56<sup>lck</sup>.

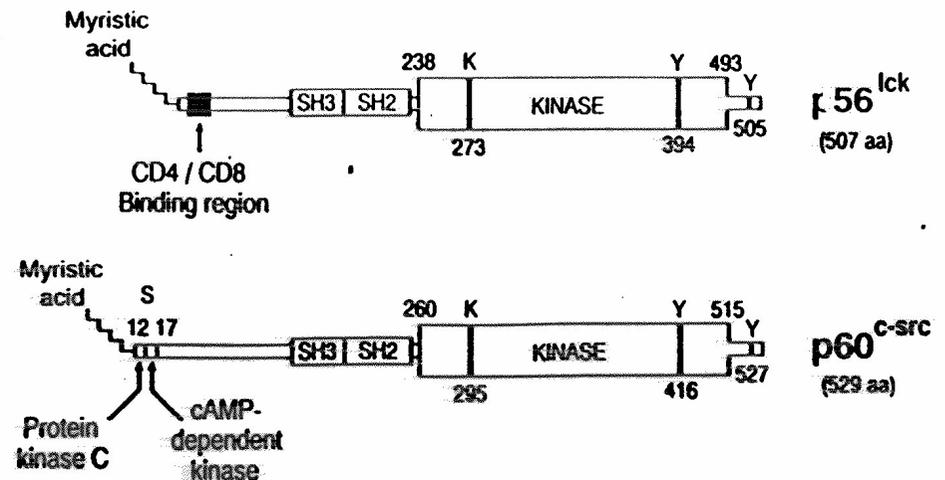


(a)

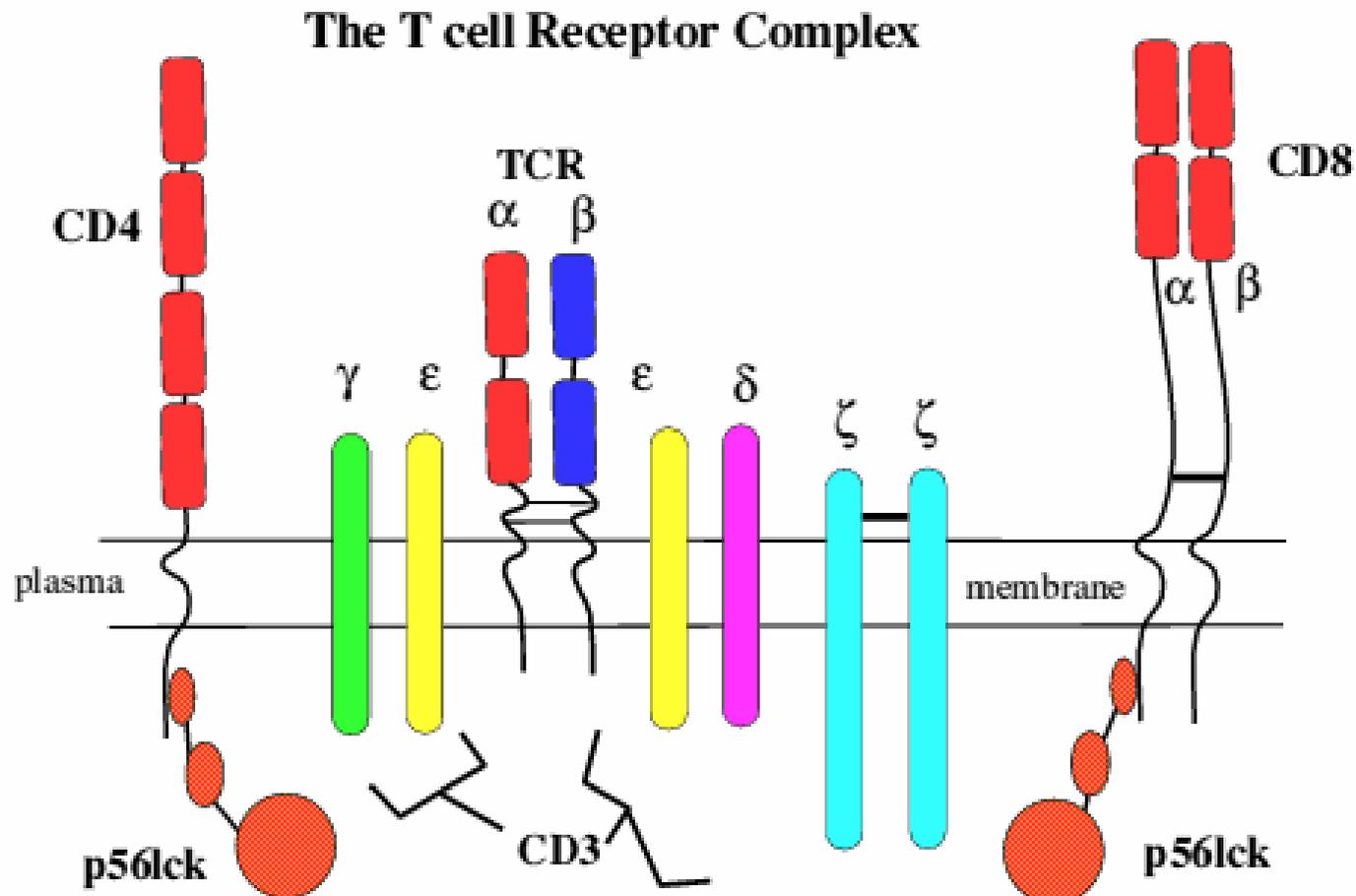


# Tyrosine Kinase p56<sup>lck</sup>

- PTK famille des Src
- Déphosphorylation pour être active
- Acide myristique liaison à la bicouche lipidique
- Site de liaison CD4 ou CD8
- Site actif SH2

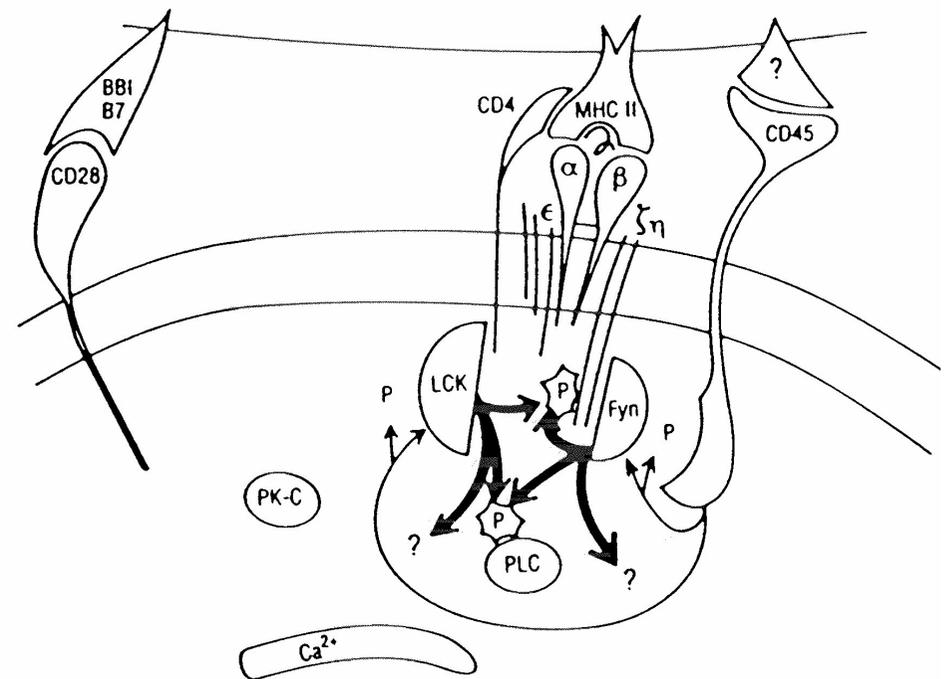


# Proximité du TCR et de CD4 ou CD8

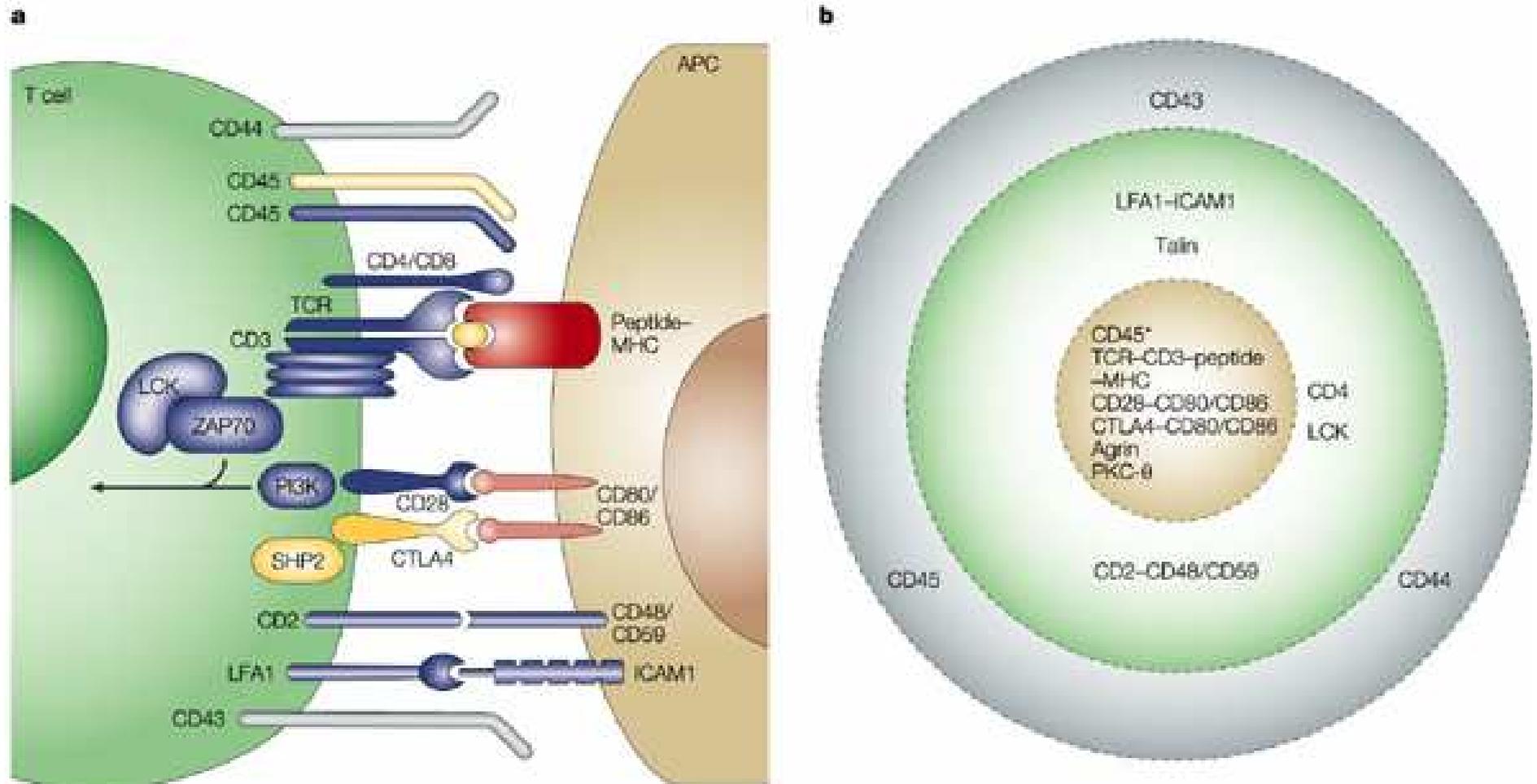


# Autres couples d'adhérence

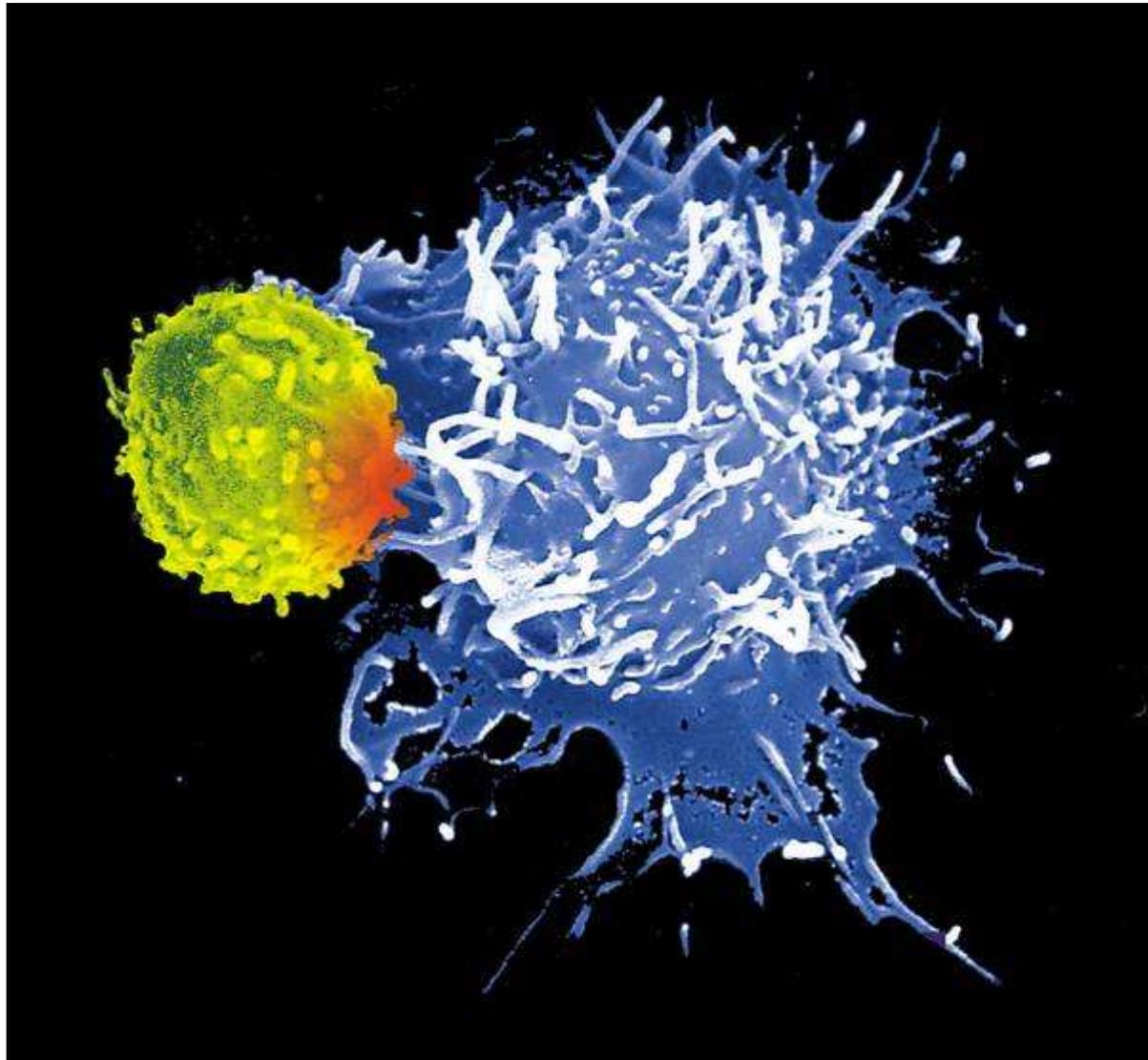
- CD2/LFA-3 (CD58)
- LFA-1 (CD11a/CD18)  
/ICAM-1 (CD54)
- VLA4/VCAM-1
- CD28/CD80 ou CD86
- CD40/CD40L
- Etc...

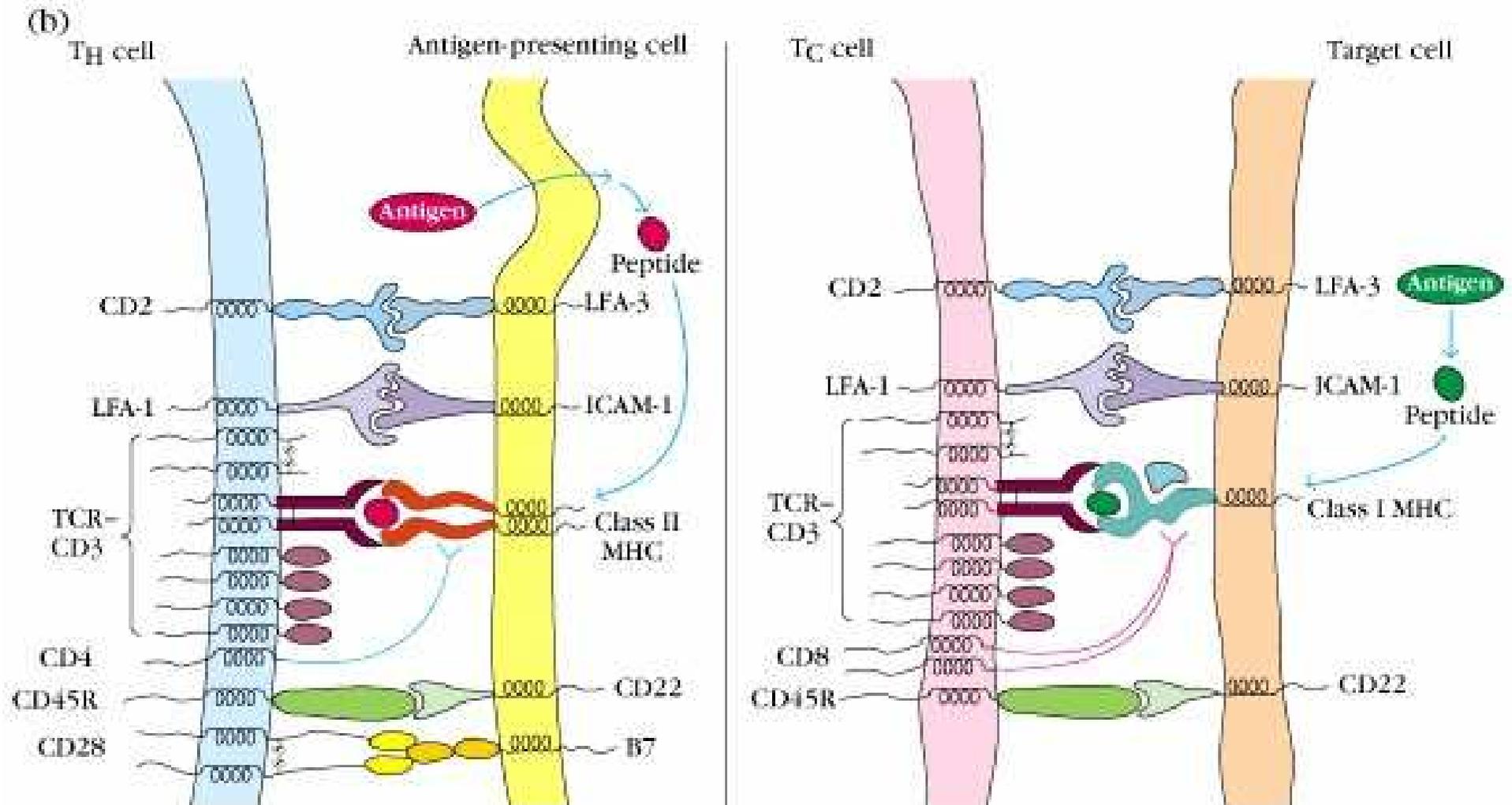


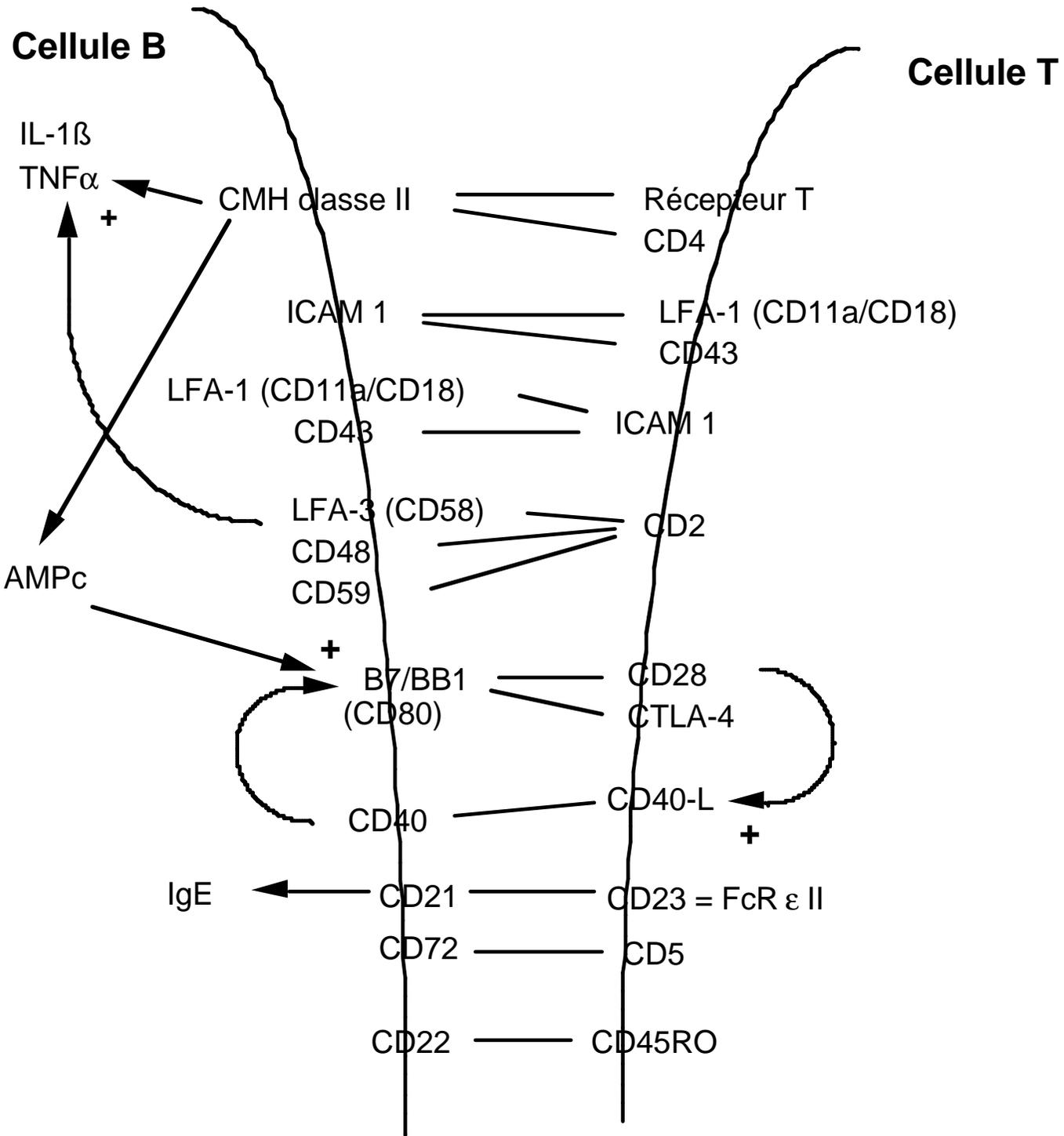
# Synapse immunologique



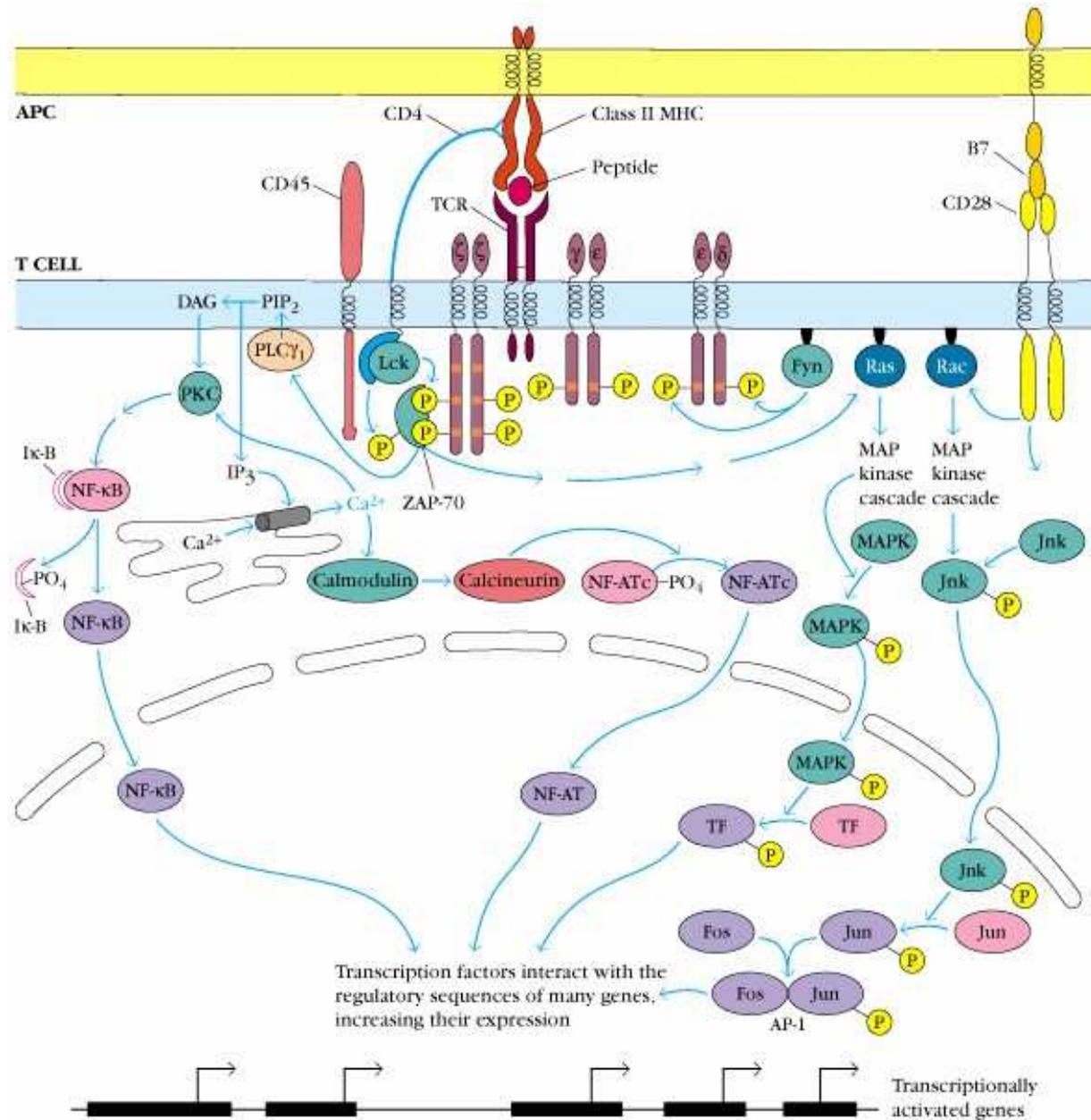
# Synapse immunologique







# Activation intracellulaire



## **2° partie : Ontogénie des cellules T**

# Ontogenèse et Différenciation T

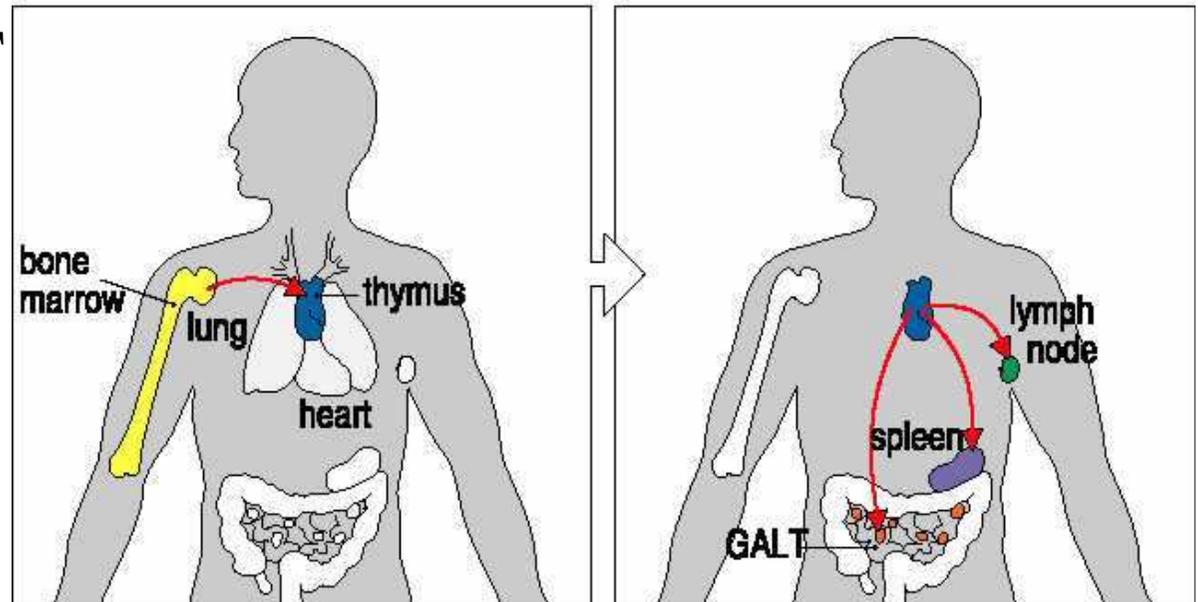
D'où proviennent les lymphocytes T ?

Comment se différencient-ils ?

Quelles sont leurs fonctions ?

# Définition

- Étapes entre une © souche médullaire et un lymphocyte T mature
- Étape intrathymique = acquisition d'un récepteur
- Etape extrathymique = fonction effectrice.



# Le thymus

- Organe bilobé lympho-épithélial du médiastin antérieur dérivé des 3<sup>o</sup> et 4<sup>o</sup> poches branchiales
- Colonisation par pro-thymocytes du foie fœtal ou de la moelle osseuse dès la 7<sup>o</sup> semaine de gestation
- Développement est complet vers la 20<sup>ème</sup> semaine de gestation
- Organisation en lobes et lobules
- Cortex et médullaire centrale.

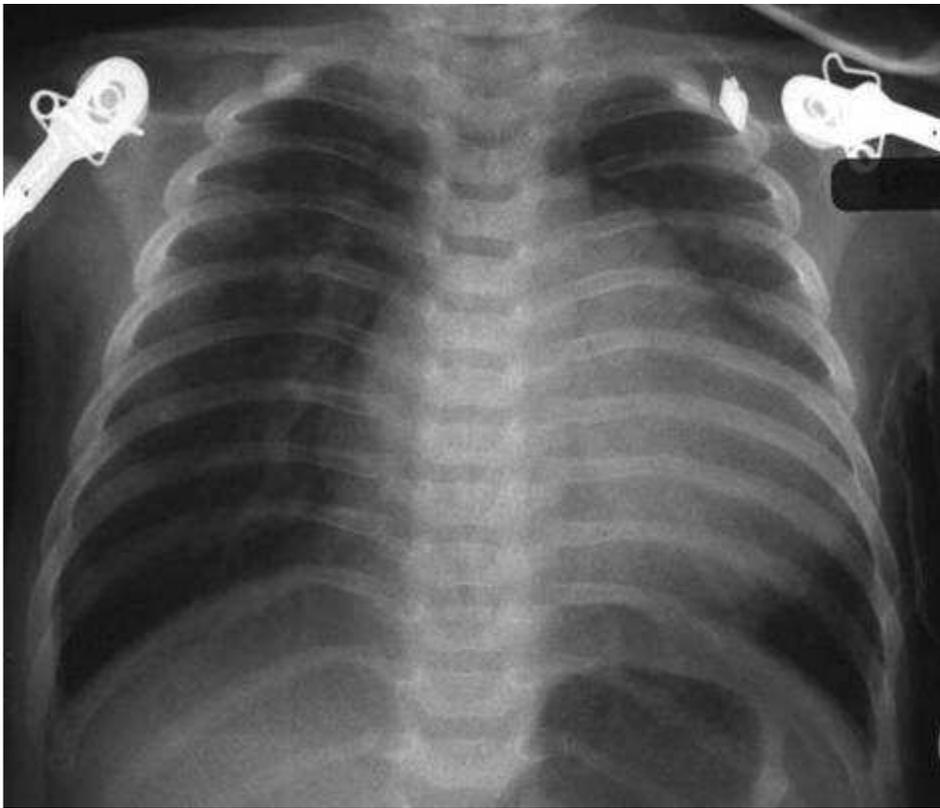
# Absence de thymus = syndrome de Di George

- Anomalies thymique, cardiaque et parathyroïdienne (hypocalcémie), dysmorphisme facial
- Diminution ou absence de lymphocytes T CD3+ par aplasie ou hypoplasie thymique
- Localisation chromosomique : 22q11.2 (délétion fréquente 1/4000 naissances)
- Défaut de la protéine TBX1, membre de la famille T-box transcription-factor, importante dans le développement des arcs branchiaux.

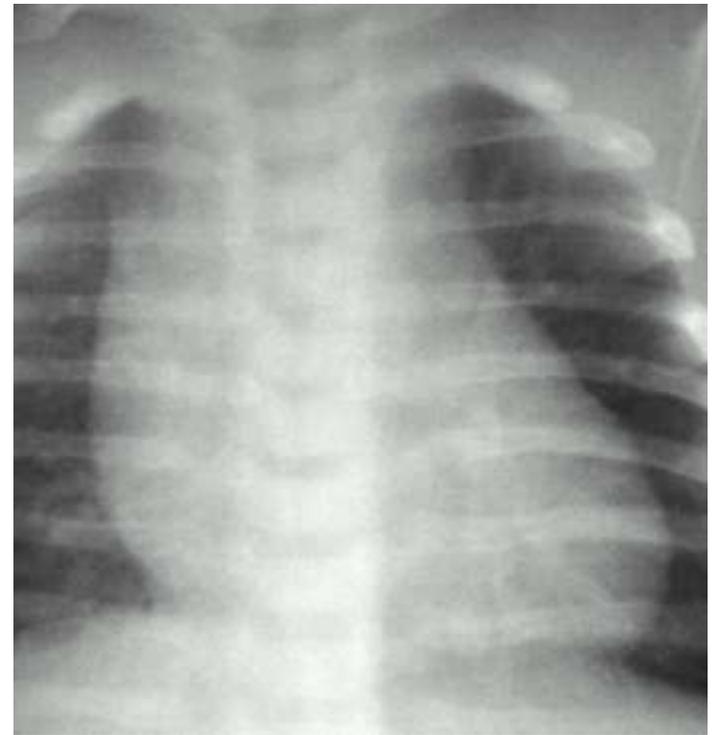
# Dysmorphisme facial



# Cardiomégalie et absence thymus

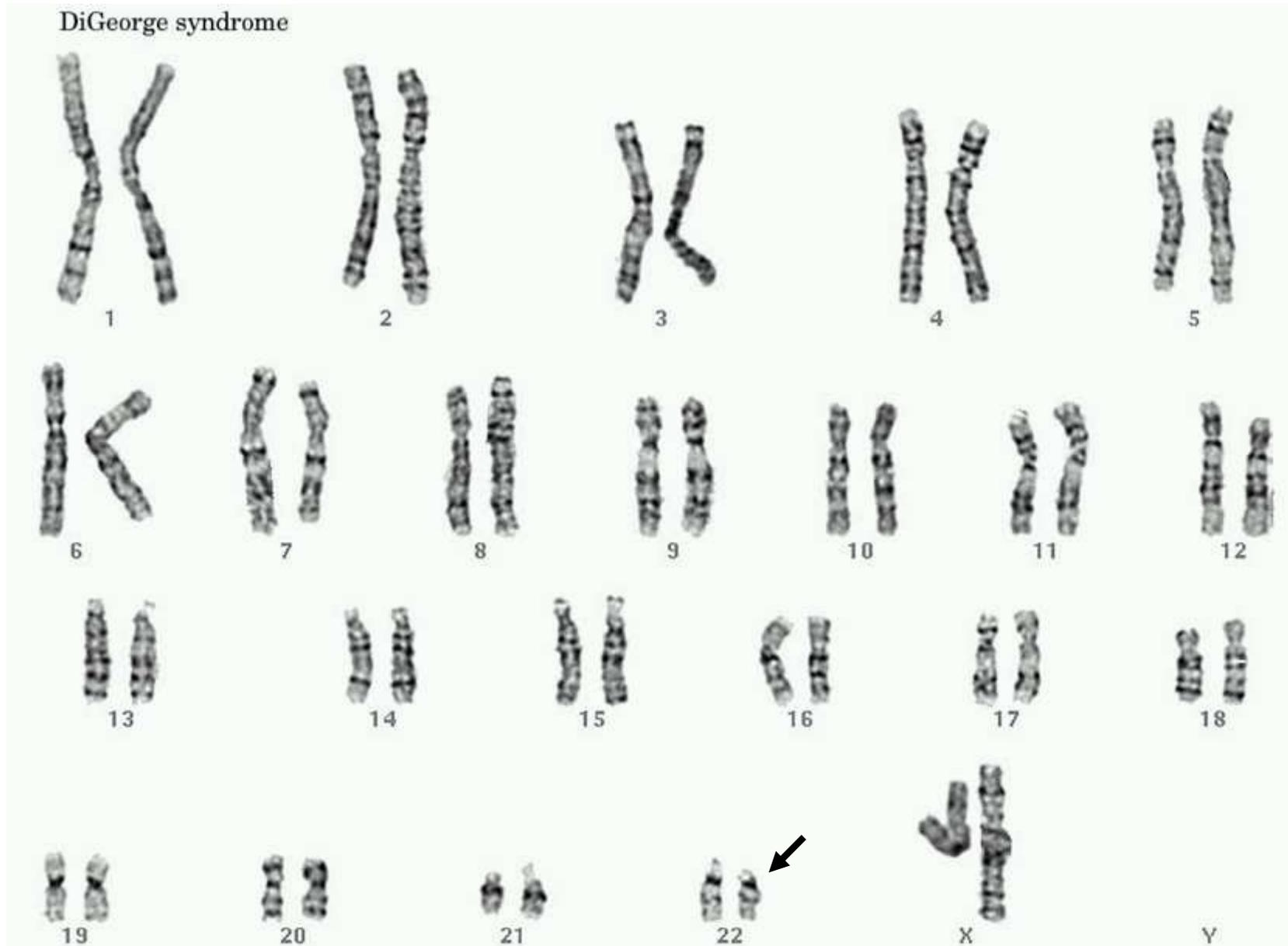


Patient



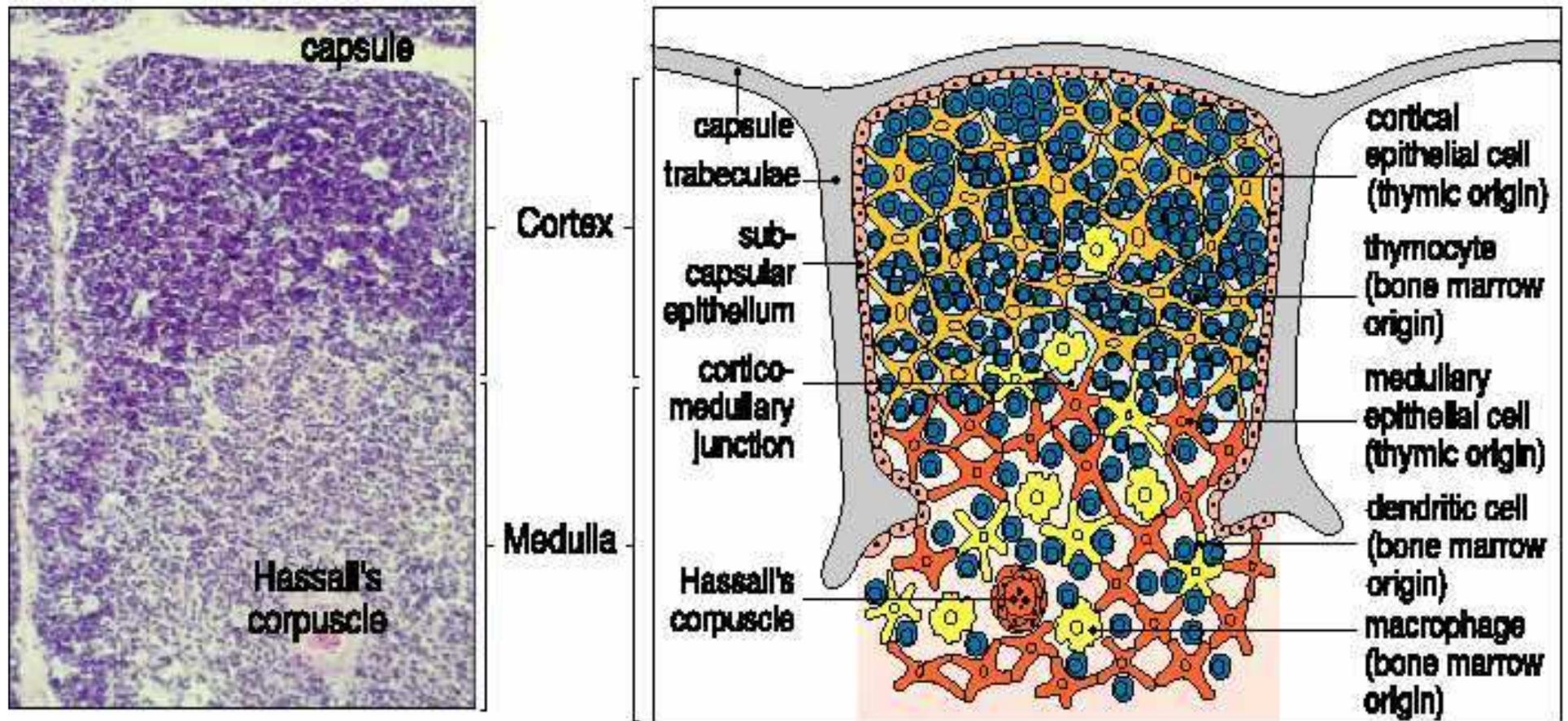
Enfant sain

# Délétion d'une bande sur le bras long du ch 22



# Organisation d'un lobule thymique

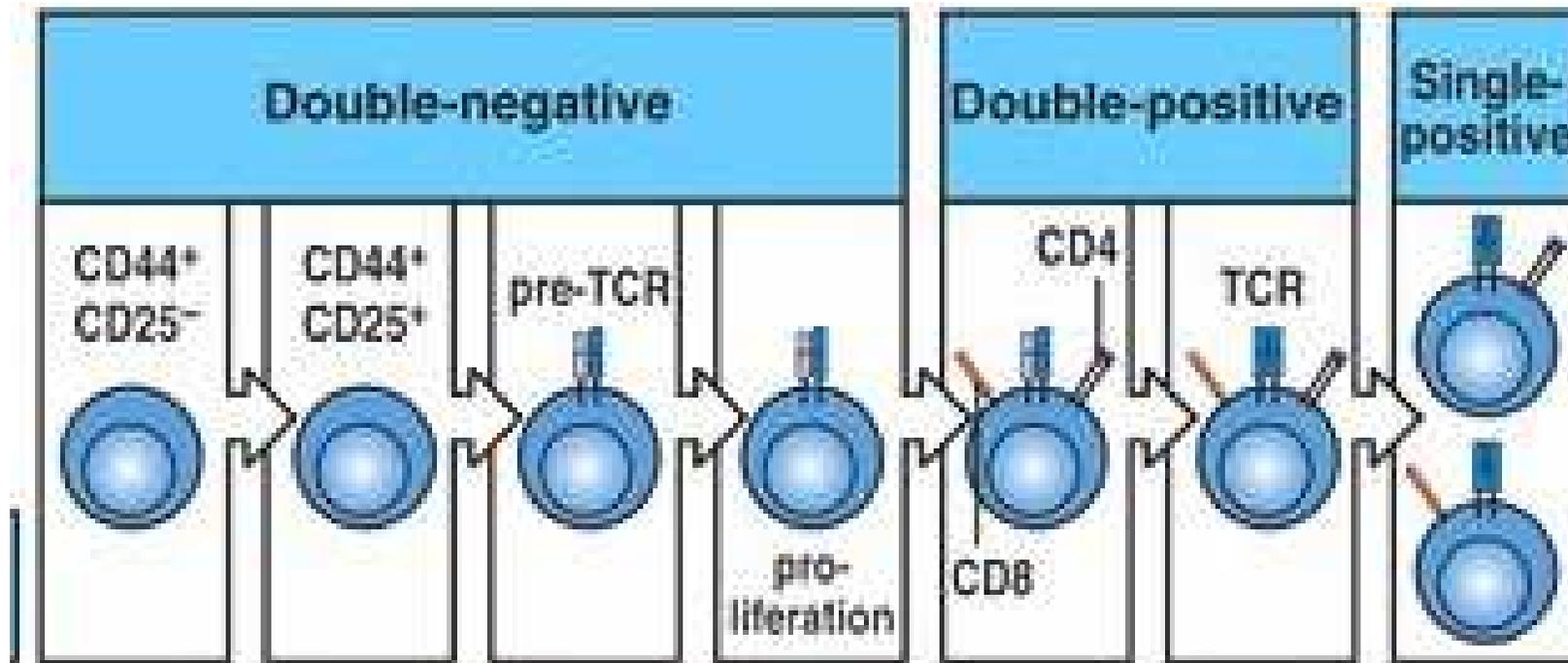
Figure 5.3



# Cellules accessoires du Thymus

- origine épithéliale : © de l'épithélium thymique : cellules dendritiques corticales et cellules nourricières "nurse cells";
- origine médullaire osseuse : © dendritiques interdigitantes médullaires et macrophages de la médulla et de la jonction cortico-médullaire
- Rôle de nutrition et de sélection

# Caractéristiques des thymocytes



Prothymocytes 3 à 5%

10%

80%

# Autres marqueurs des thymocytes

- CD1a (ex T6) sur les thymocytes corticaux
- CD2 → LFA-3
- CD5
- CD3

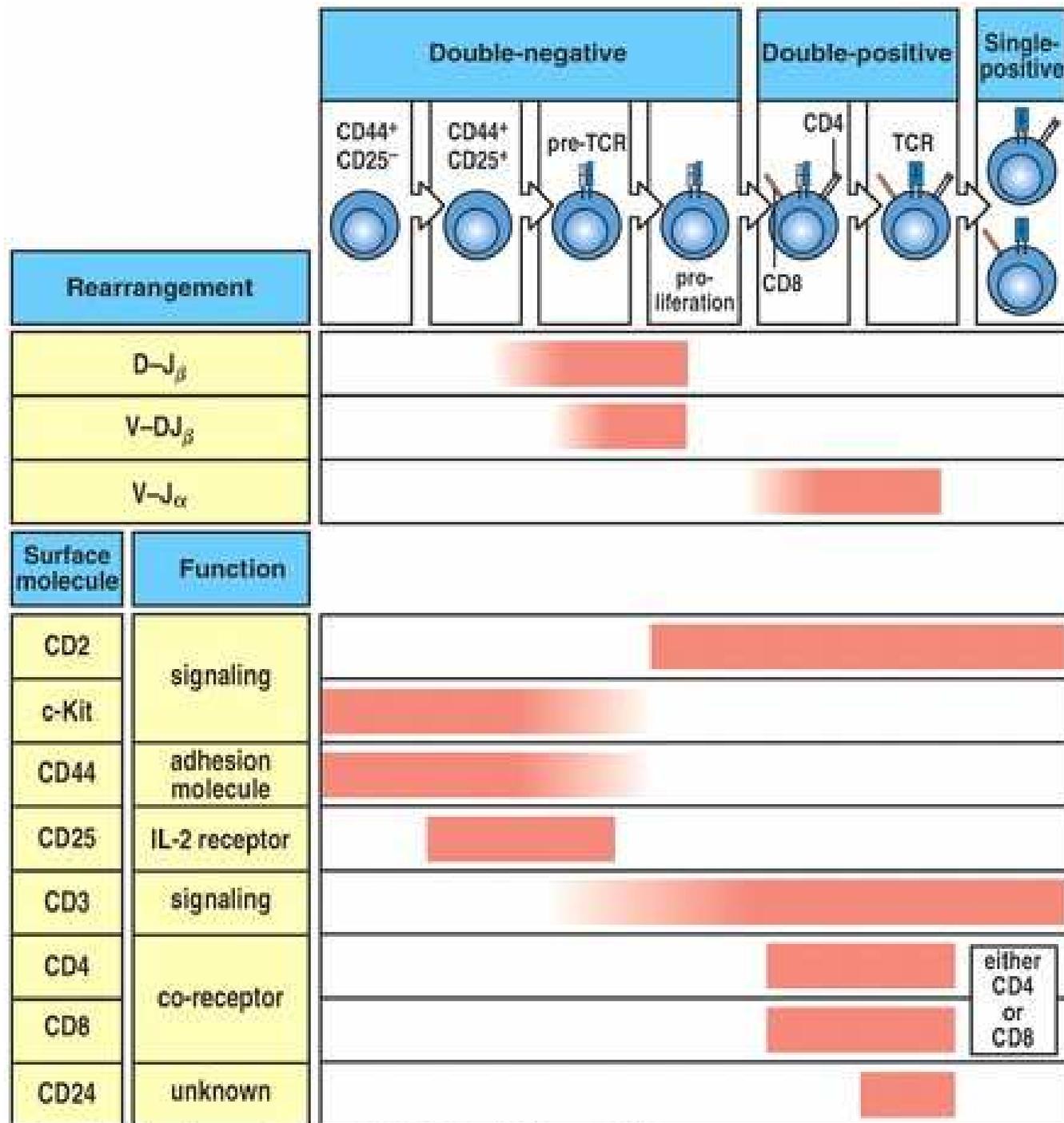


Figure 5-19 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

# Ontogenèse T Etape intra-thymique

- Prothymocytes entrée :  $10^6$  par jour
  - CD4<sup>low</sup>, CD34, CD44 C-kit<sup>+</sup> (SCF)
- Prolifération  $50 \times 10^6$  par jour © preT IL-7, IL-2, SCF
- Réarrangement chaîne  $\gamma$  ou  $\beta$
- Expression récepteur preTCR :  $\beta/p33$
- Expression TCR
- Sélection positive puis négative

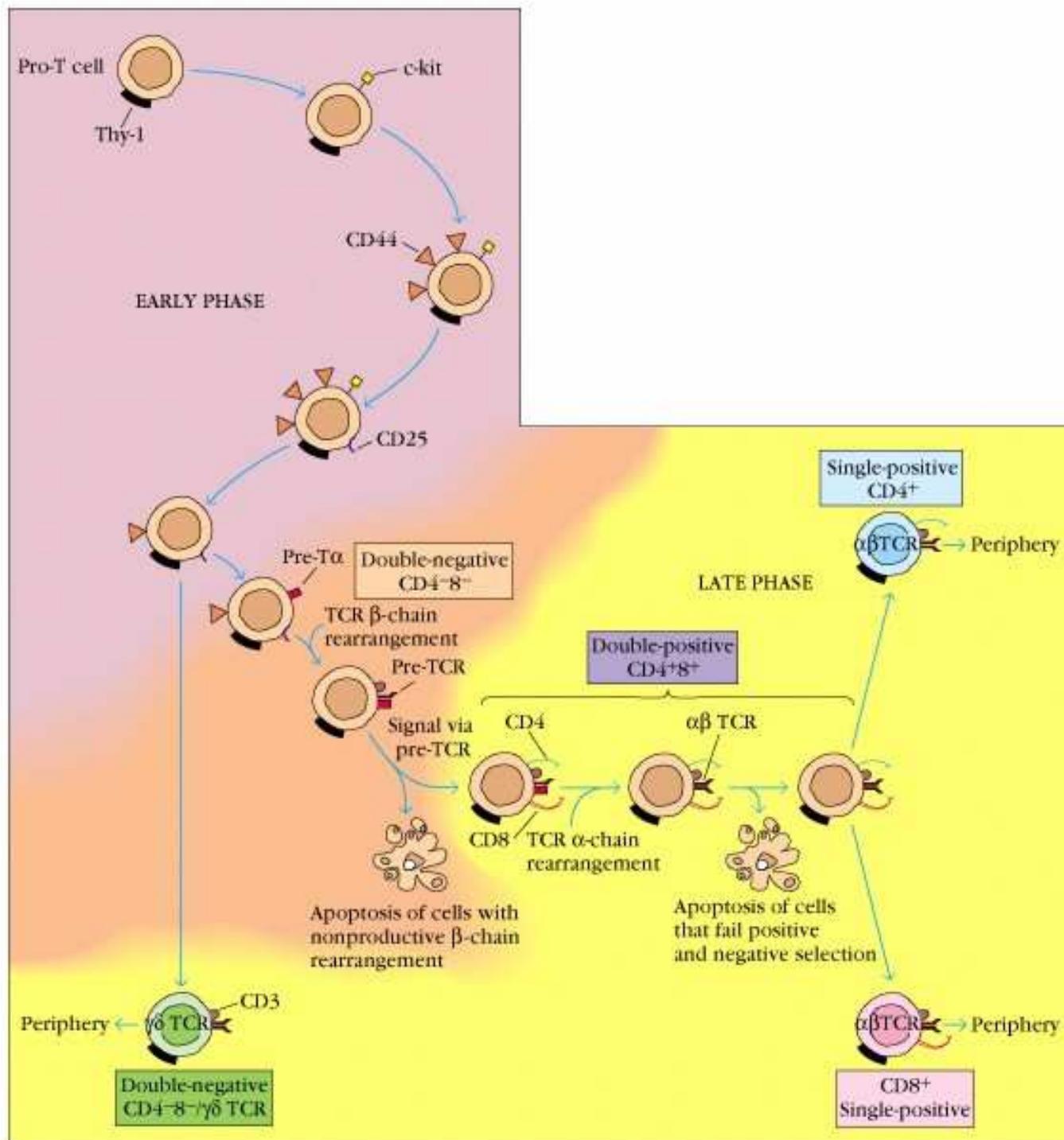
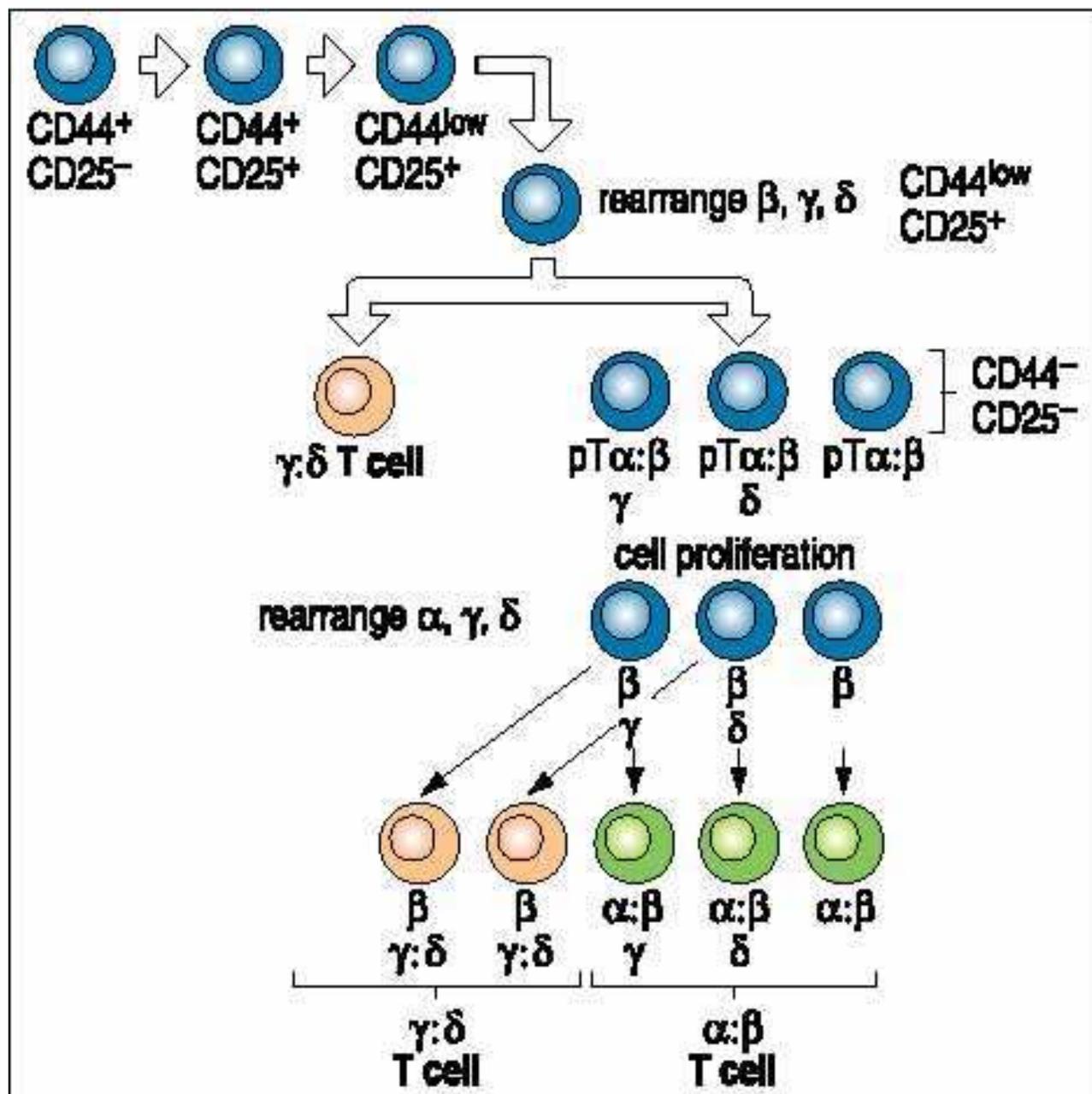
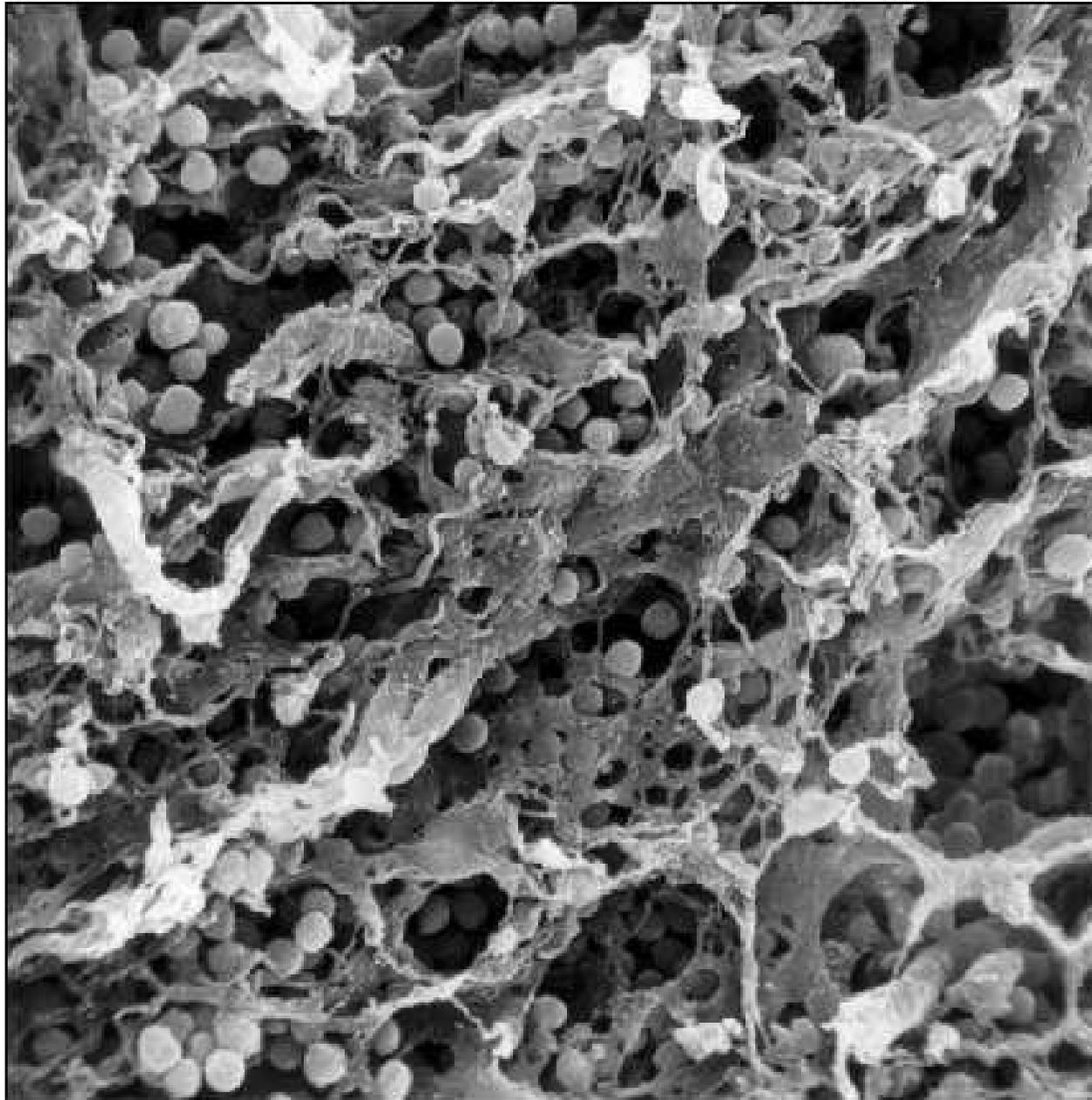


Figure 5.5



**Figure 5.2**



# Etape de sélection

- Après acquisition d'un récepteur fonctionnel
- Sélection positive dans le cortex des thymocytes reconnaissant les antigènes CMH du soi
- Sélection négative pour éliminer les thymocytes autoréactifs.

Figure 5.14

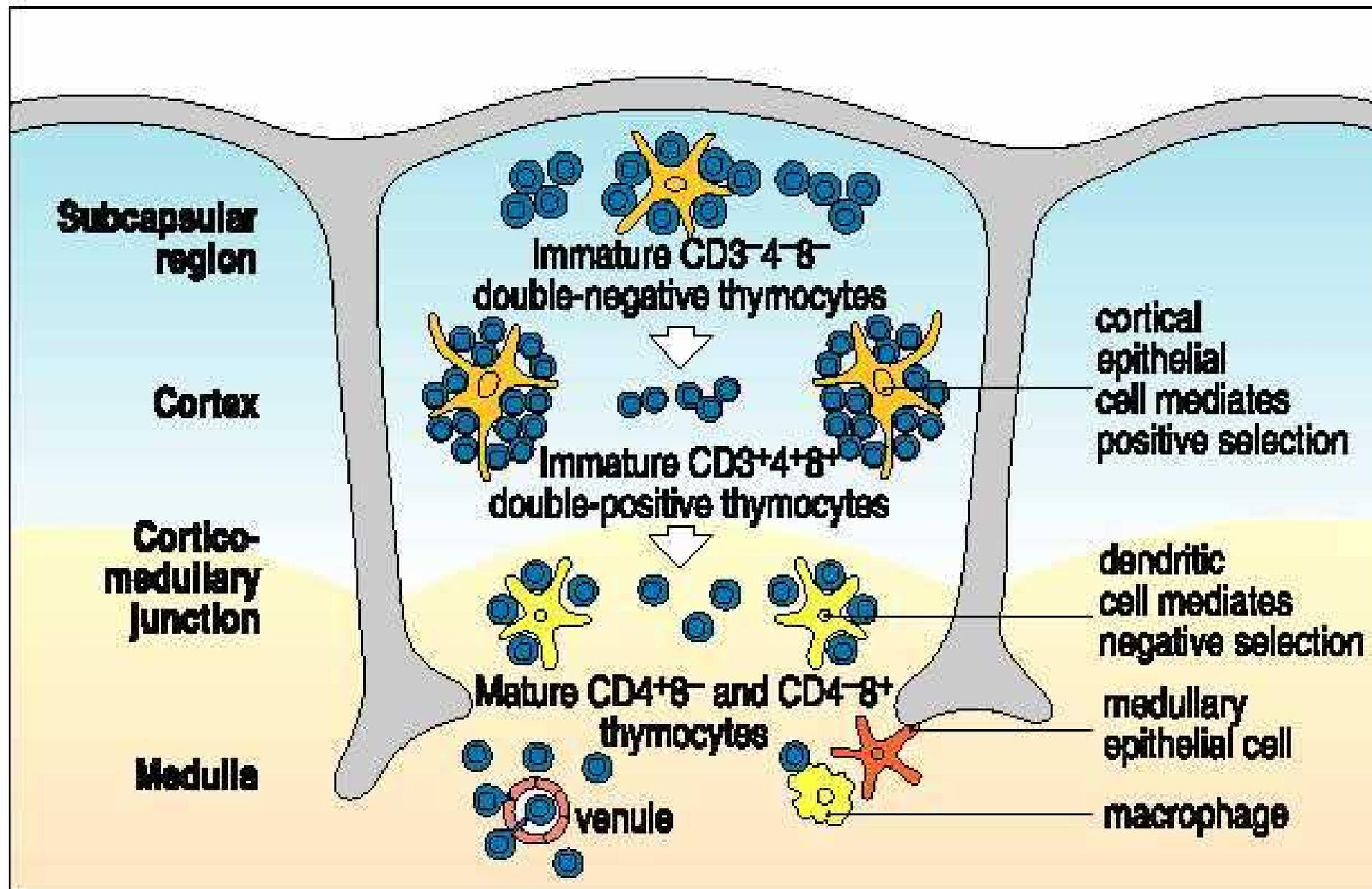
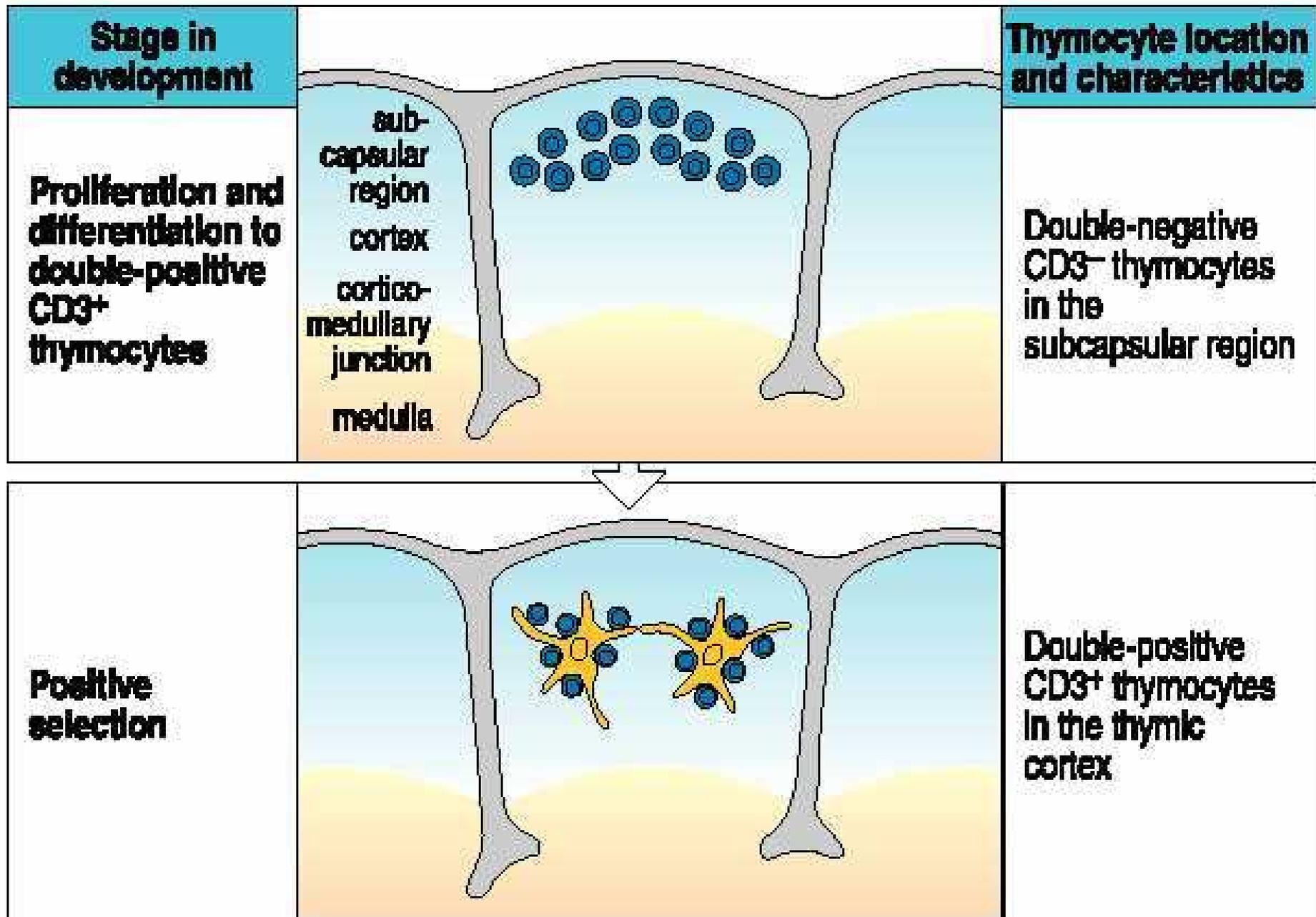
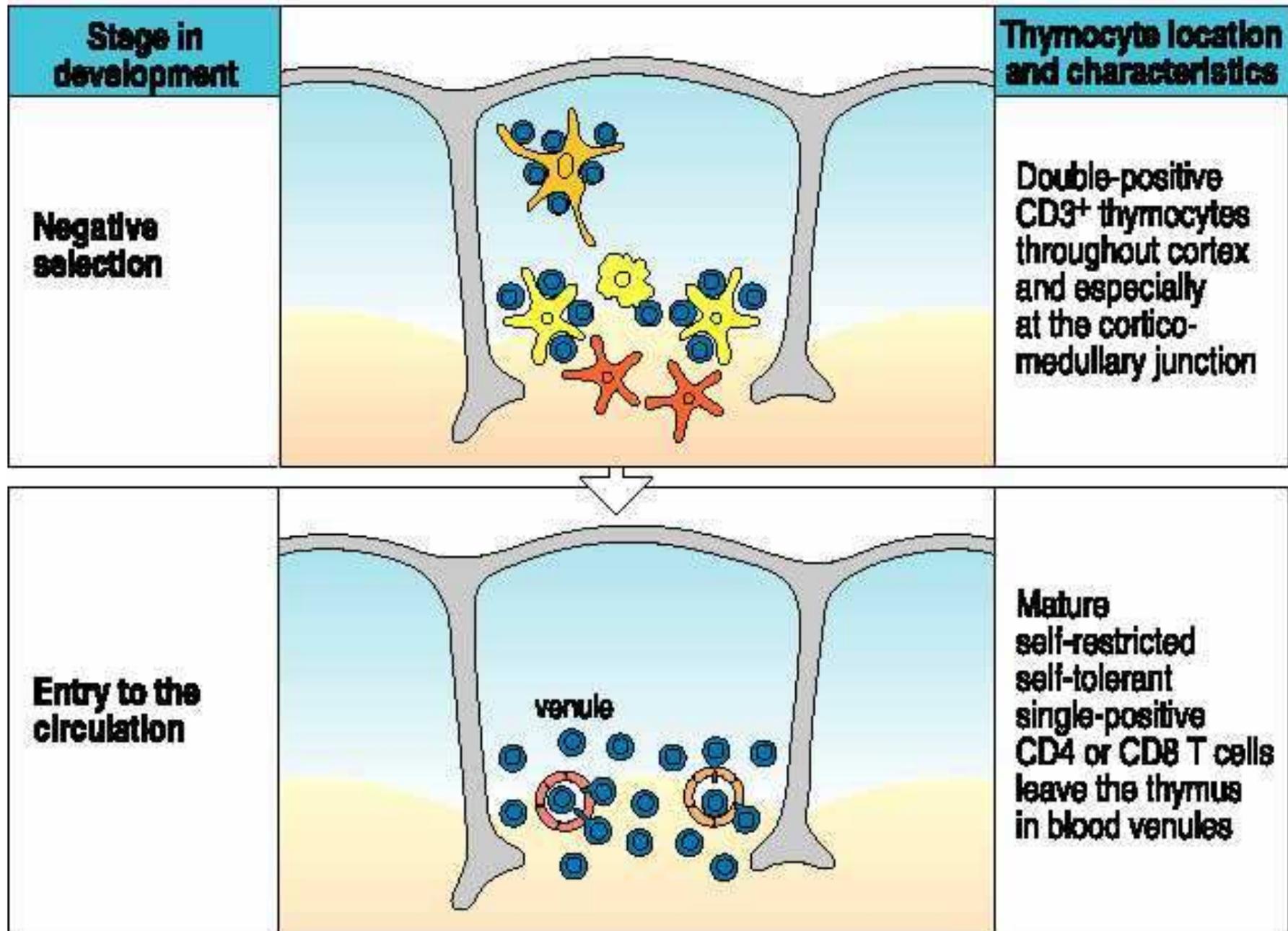


Figure 5.18a



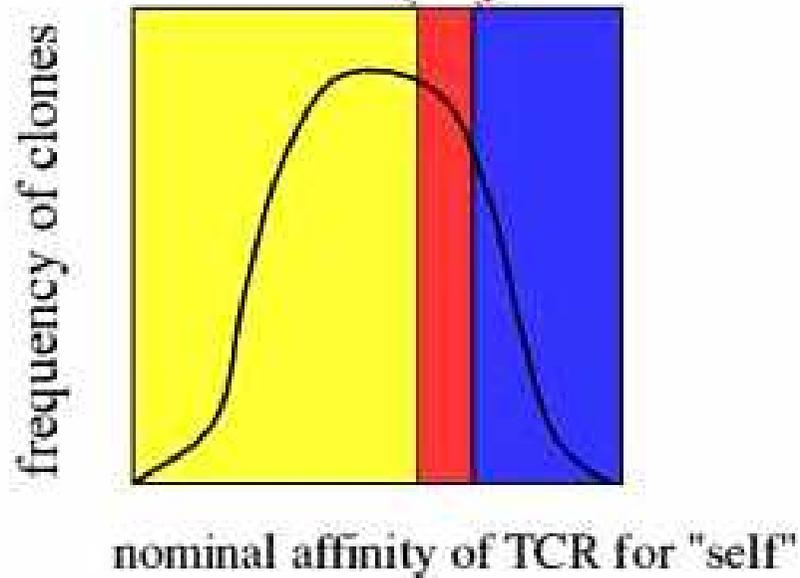
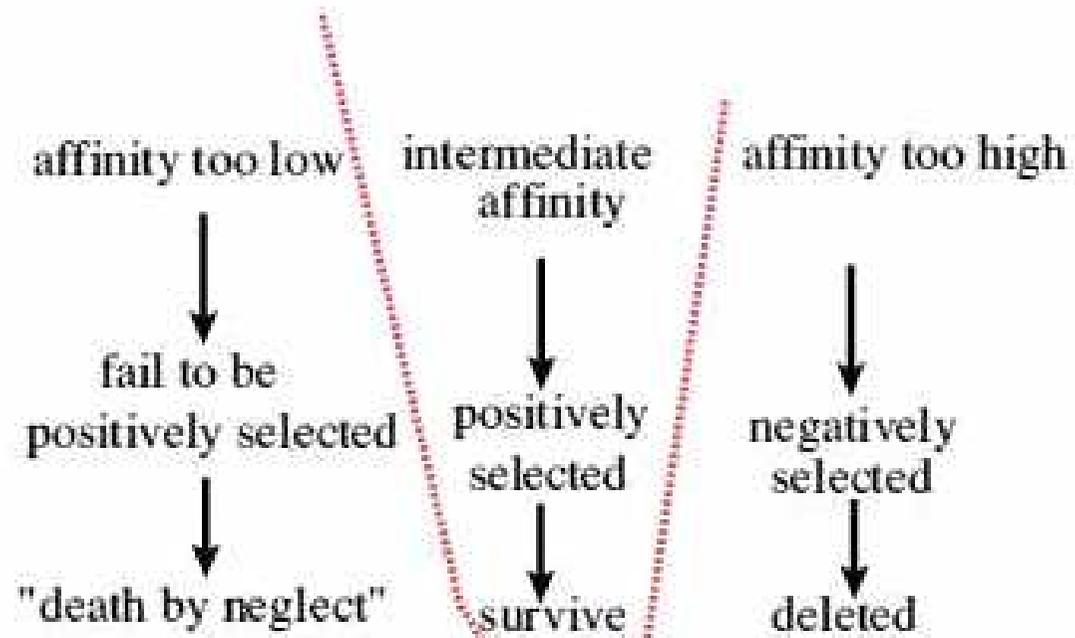
**Figure 5.19b**



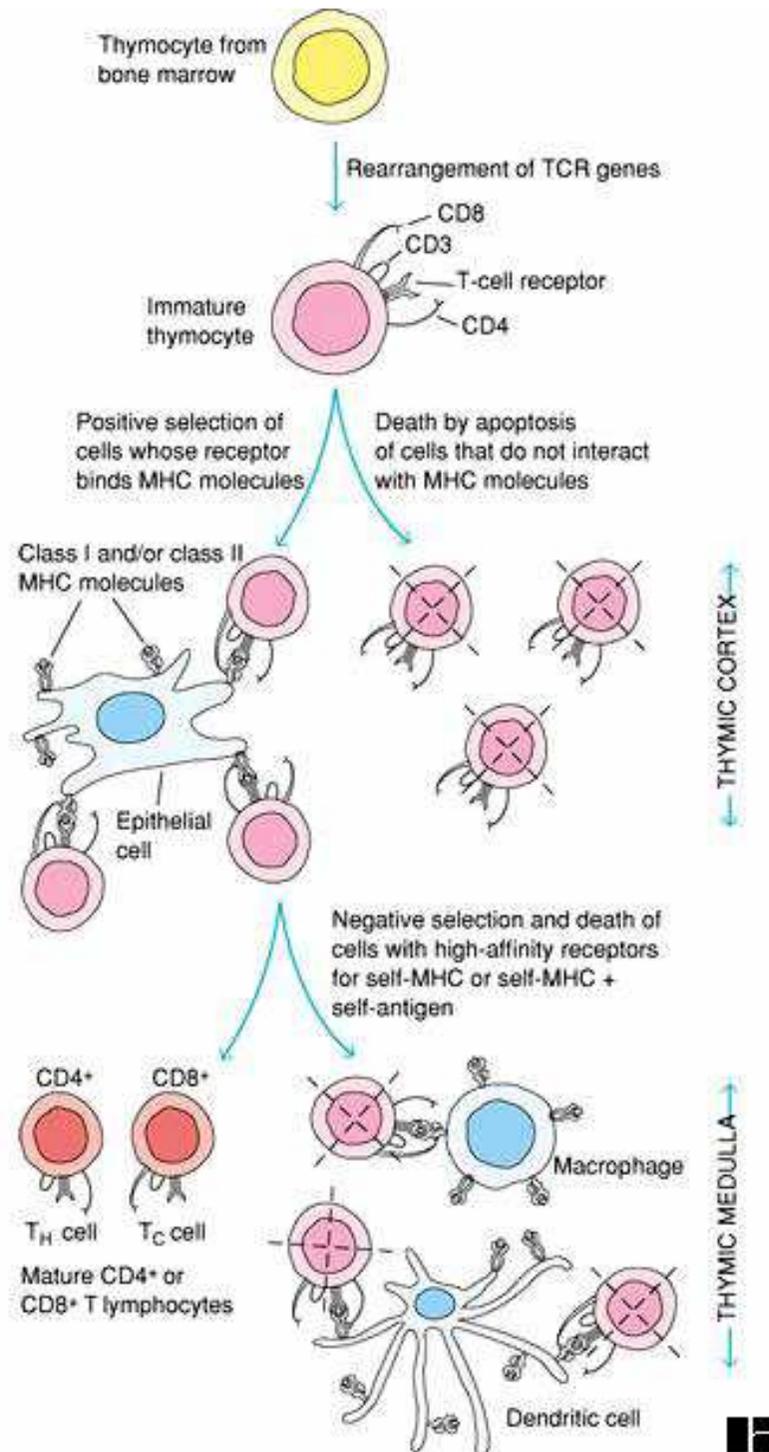
# Mécanismes de la sélection

- Apoptose : sélection positive
- Apoptose ou anergie : sélection négative
  - Protéine AIRE induisant les protéines du soi (APECED Sd polyendocrinopathie auto-immune de type1)
- Induction de © régulatrice CD4+CD25+
- Rôle de p56<sup>lck</sup>

# T cell selection



# Résumé de la différenciation intrathymique



# Régulation de la différenciation thymique

- Thymosine ou fraction 5 (30 peptides différents), induit l'expression de marqueurs T sur des cellules de la moelle osseuse, le peptide  $\alpha$  7 induit des cellules ayant une fonction suppressive, le peptide  $\alpha$ 1 induit des lymphocytes T auxiliaires.
- Thymopoiétine (2 peptides)
- Thymuline ou facteur thymique sérique entraîne la perte de la TdT (terminodesoxynucléotidyl transférase) au niveau des thymocytes.
- Le facteur thymique humoral
- IL-7, IL-2

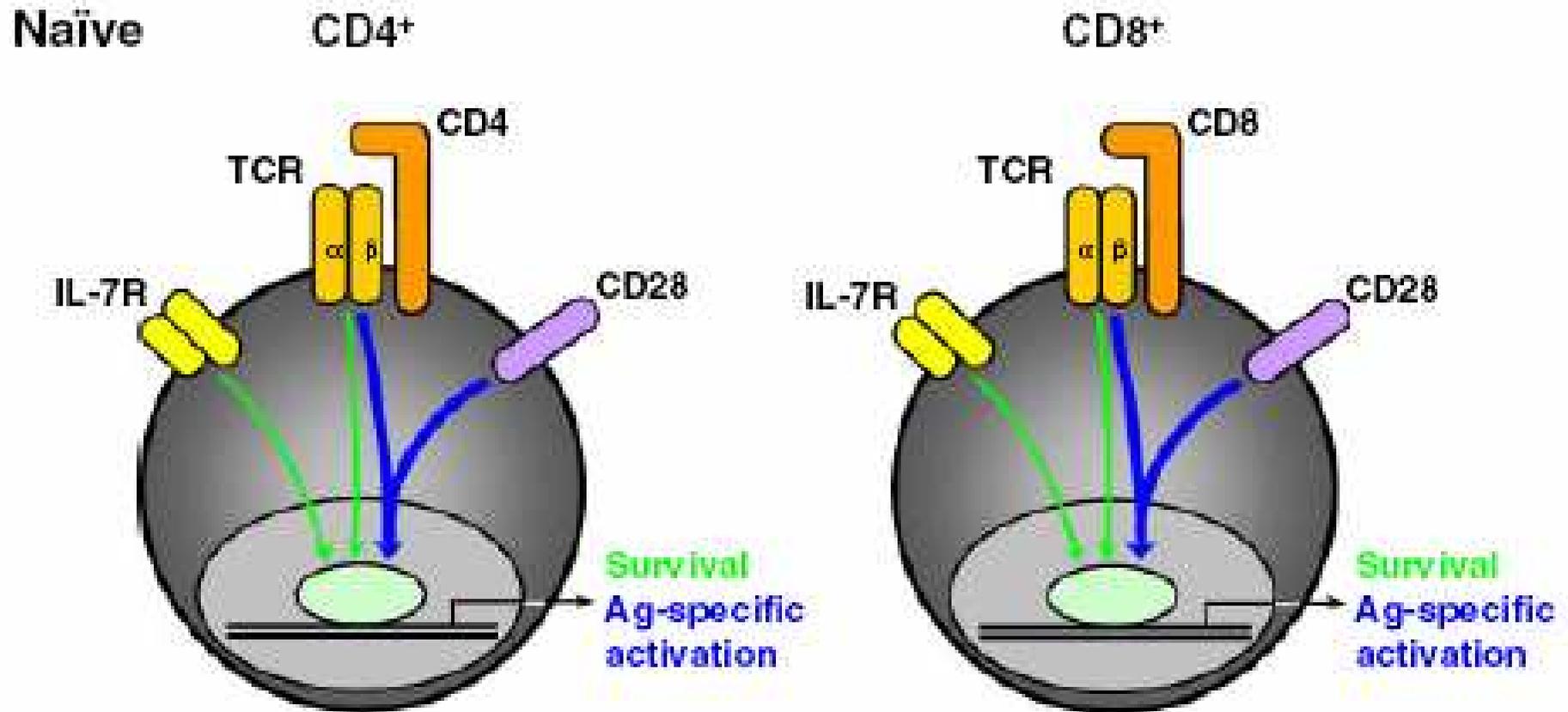
# Ontogenèse T Etape extra-thymique

- Dans les zones T des organes lymphoïdes secondaires
- Présentation des antigènes par des CPA
- Reconnaissance spécifique
- activation prolifération
- Fonctionnalité des lymphocytes T

# Lymphocytes T naïfs

- TCR  $\alpha\beta$ , CD3+, CD4+ ou CD8+
- CD45 RA
- CCR7+ et CD62L+ ce qui permet leur homing dans les organes lymphoïdes secondaires
- Survie grâce à des contacts self peptides/CMH et à l'IL-7 (CD127=IL-7R $\alpha$ ). Régulation du pool par l'IL-7
- Activation par des cellules dendritiques par le TCR et le CD28

# Survie et activation des ly T naïfs

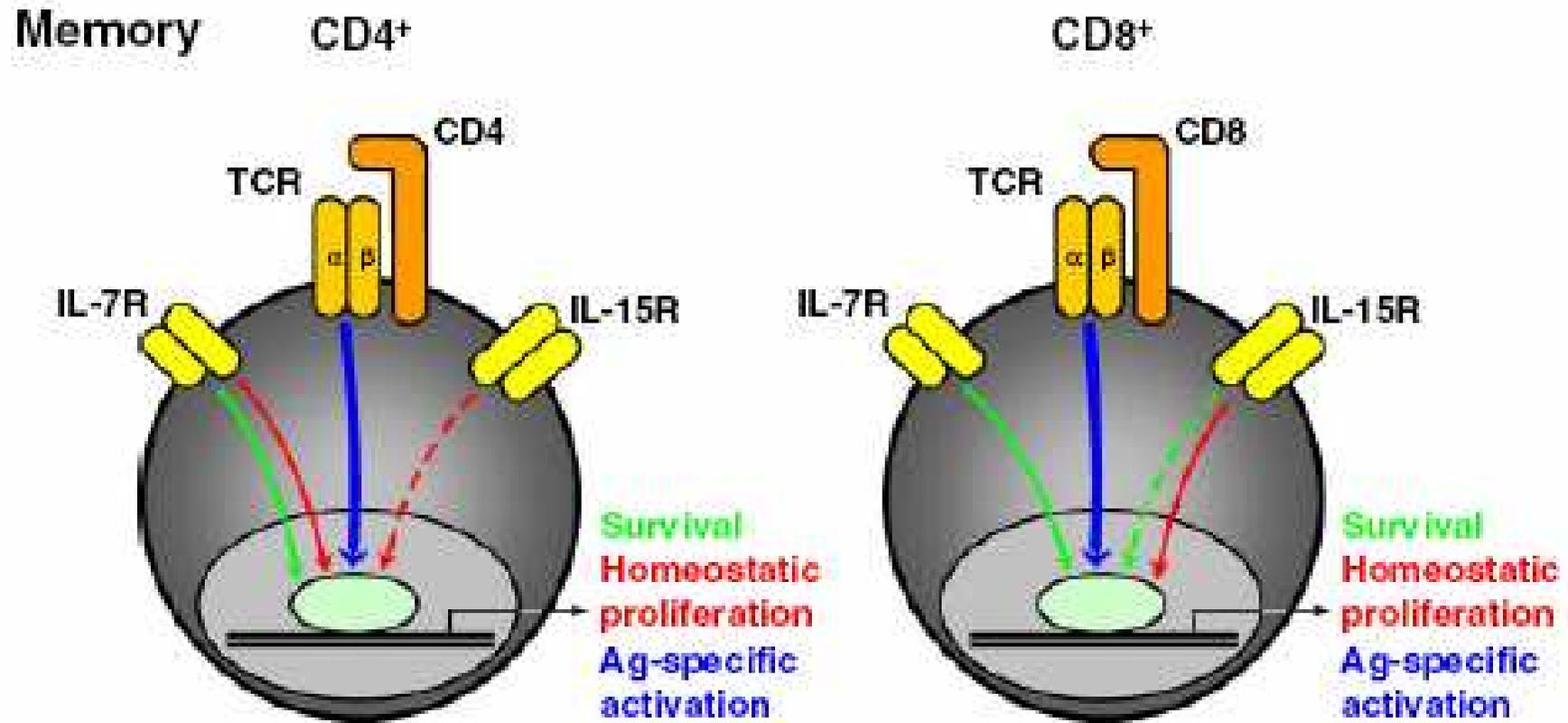


Homeostatic proliferation and survival of naïve and memory T cells. Boyman O, Létourneau S, Krieg C, Sprent J. Eur J Immunol. 2009 ;39:2088-94.

# Lymphocytes T mémoires

- TCR  $\alpha\beta$ , CD3+, CD4+ ou CD8+
- CD45 RO
- CCR7+ et CD62L+ ce qui permet leur homing dans les organes lymphoïdes secondaires
- Survie grâce à l'IL-7 (CD127+) et l'IL-15 (CD122 =IL-15R $\beta$ ). Régulation du pool par l'IL-7 et IL-15
- Division toutes les 2-3 semaines
- Activation par un signal TCR faible mais une costimulation par des cytokines (IL-2, IL-4, IL-7 et/ou IL-15)

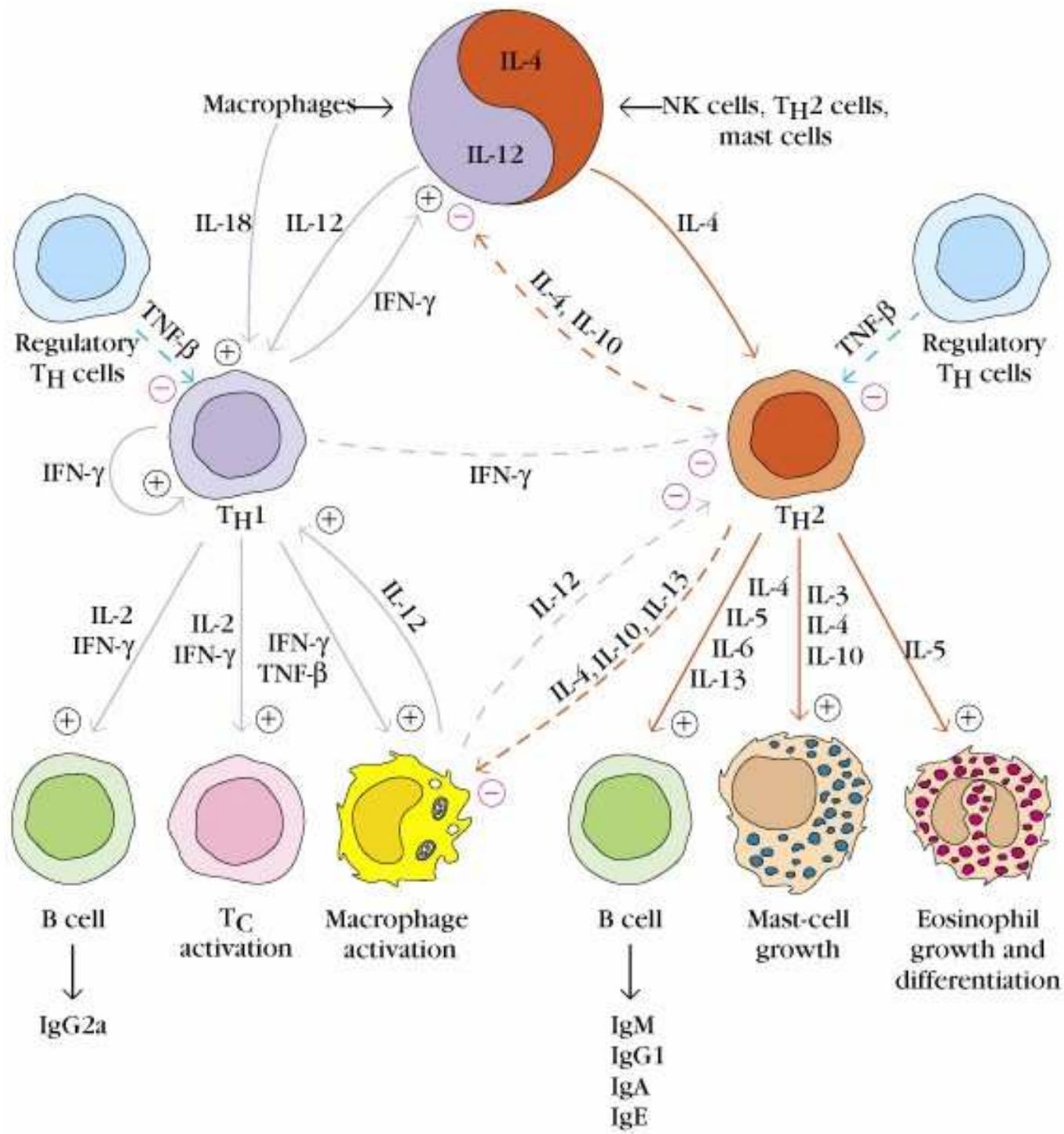
# Survie et activation des ly T mémoires



Homeostatic proliferation and survival of naïve and memory T cells. Boyman O, Létourneau S, Krieg C, Sprent J. Eur J Immunol. 2009 ;39:2088-94.

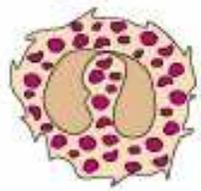
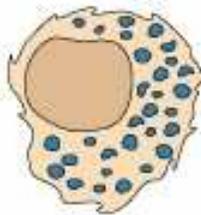
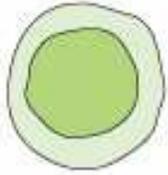
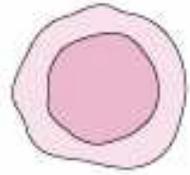
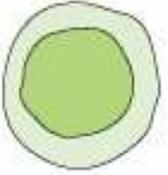
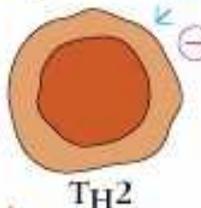
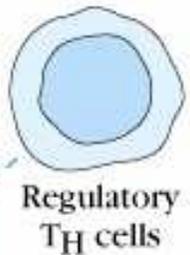
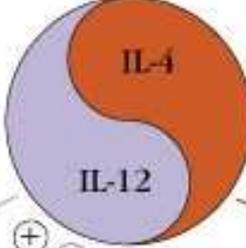
# Fonctions des lymphocytes T

- Fonction auxiliaires Th : production de cytokines qui vont piloter l'action des autres cellules de l'immunité Th0, Th1, Th2, Th3, Th17
  - Cellules naïves et mémoires
- Fonction cytotoxique
- Fonction régulatrice T reg CD4+CD25+, Th3, Tr1



Macrophages →

← NK cells, TH2 cells, mast cells



B cell  
↓  
IgG2a

Tc  
activation

Macrophage  
activation

B cell  
↓  
IgM  
IgG1  
IgA  
IgE

Mast-cell  
growth

Eosinophil  
growth and  
differentiation

IL-18

IL-12

IFN-γ

IFN-γ

IL-4, IL-10

IL-4

TNF-β

IFN-γ

IL-2  
IFN-γ

IL-2  
IFN-γ

IFN-γ  
TNF-β

IL-12

IL-12

IL-4, IL-10, IL-13

IL-4  
IL-5  
IL-6  
IL-13

IL-3  
IL-4  
IL-10

IL-5

# Lymphocytes T cytotoxiques

- Mécanisme par dégranulation et libération de perforine de granzyme A et B et de granulysine Ca-dépendant
- Expression de la molécule FASligand qui induit l'apoptose de la cible en se liant à la molécule Fas.

# Lymphocytes T régulateurs

- Ex suppresseurs
- T reg CD4+ CD25+
- Th3 IL-10 TGFβ
- Tr1 induit in vitro par l'IL-10
- Action par cytokines ou par contact direct

# Synapse immunologique

