

## Aspects fondamentaux des lymphocytes T cytotoxiques (classiques et non classiques)

La fonction des CTL a longtemps été étudiée comme une propriété exclusivement effectuée par la population de lymphocytes T CD8<sup>+</sup>. Cependant, des sous-populations de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> aux capacités cytotoxiques ont également été identifiées. J'ai donc choisi de présenter dans ce chapitre ces deux populations de lymphocytes T cytotoxiques ayant un TCR, dit « conventionnel » :  $\alpha\beta$ .

### II.1. Activation et différenciation des lymphocytes T cytotoxiques

Avant d'aborder l'activation et la différenciation des lymphocytes T en cellules cytotoxiques, je souhaite faire un bref rappel sur le développement de ces lymphocytes T.

Les progéniteurs lymphoïdes, issus de la cellule souche hématopoïétique, vont quitter la moelle osseuse afin de pénétrer dans le thymus et y poursuivre leur différenciation. Les cellules en différenciation dans le thymus, aussi appelés thymocytes, subiront une sélection positive et une sélection négative qui permettront de s'assurer que les lymphocytes T qui sortiront du thymus : seront, premièrement, capables de reconnaître les cellules présentatrices de l'antigène et deuxièmement, ne réagiront pas contre le soi. À la sortie du thymus, les lymphocytes T qui sont alors naïfs (n'ayant jamais rencontrés l'antigène dont ils sont spécifiques) vont gagner, *via* la circulation sanguine, les organes lymphoïdes secondaires. Ces sites favorisent la rencontre entre les lymphocytes T et les antigènes provenant de pathogènes présentés à la surface des cellules présentatrices de l'antigène, en condition pathologique. En absence d'interaction antigénique spécifique, les lymphocytes T naïfs vont circuler entre les différents organes lymphoïdes secondaires.

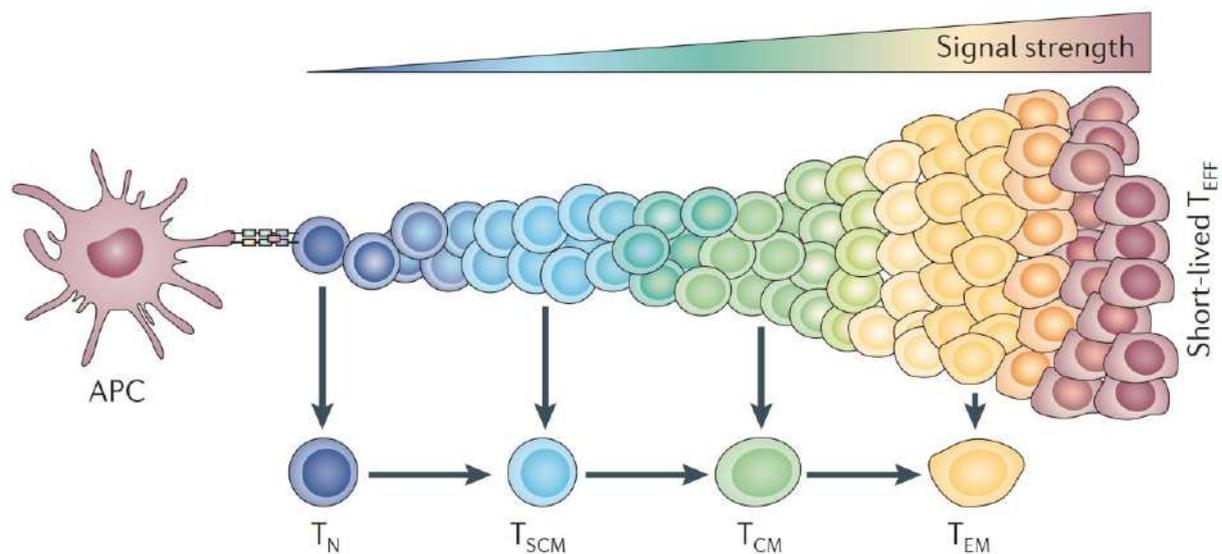
#### II.1.a Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup>

Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> constituent une branche puissante du système immunitaire adaptatif, permettant une éradication spécifique de cellules infectées ou encore de cellules tumorales. Dès 1975, l'importance de la fonction cytotoxique médiée par des cellules a été démontrée par la déplétion des lymphocytes exprimant CD8 $\alpha$  et CD8 $\beta$  par des anticorps<sup>63-65</sup>. Par la suite, la restriction au CMH de classe I pour leur sélection, activation et fonction a été identifiée<sup>66</sup>.

Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> naïfs ne sont pas encore armés pour exercer leur activité effectrice. Ce n'est qu'au contact de cellules présentatrices d'antigènes et à l'aide de lymphocytes T CD4<sup>+</sup>

Th1 *via* les cytokines IL-2 et IFN $\gamma$ <sup>67</sup> ou l'interaction CD40/CD40L<sup>68</sup>, que les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> s'activent pour produire les molécules effectrices telles que les molécules lytiques<sup>69</sup>, les cytokines ou encore les récepteurs de mort. S'en suit une expansion clonale. Cette expansion est conduite par des quantités importantes d'IL-2 produites par les lymphocytes T eux-mêmes. L'IL-2 fonctionne alors dans un mode autocrine et paracrine en se fixant sur le récepteur à l'IL-2, celui-ci étant sur-exprimé lors de l'activation.

Par ailleurs, suite à l'activation d'un lymphocyte T naïf, une génération d'une multitude de sous-populations ayant différents phénotypes et propriétés fonctionnelles est mise en place. Un modèle linéaire et progressif de différenciation a alors été proposé sur la base de l'expression de CCR7, CD45RA et CD45RO (**Figure 4**).

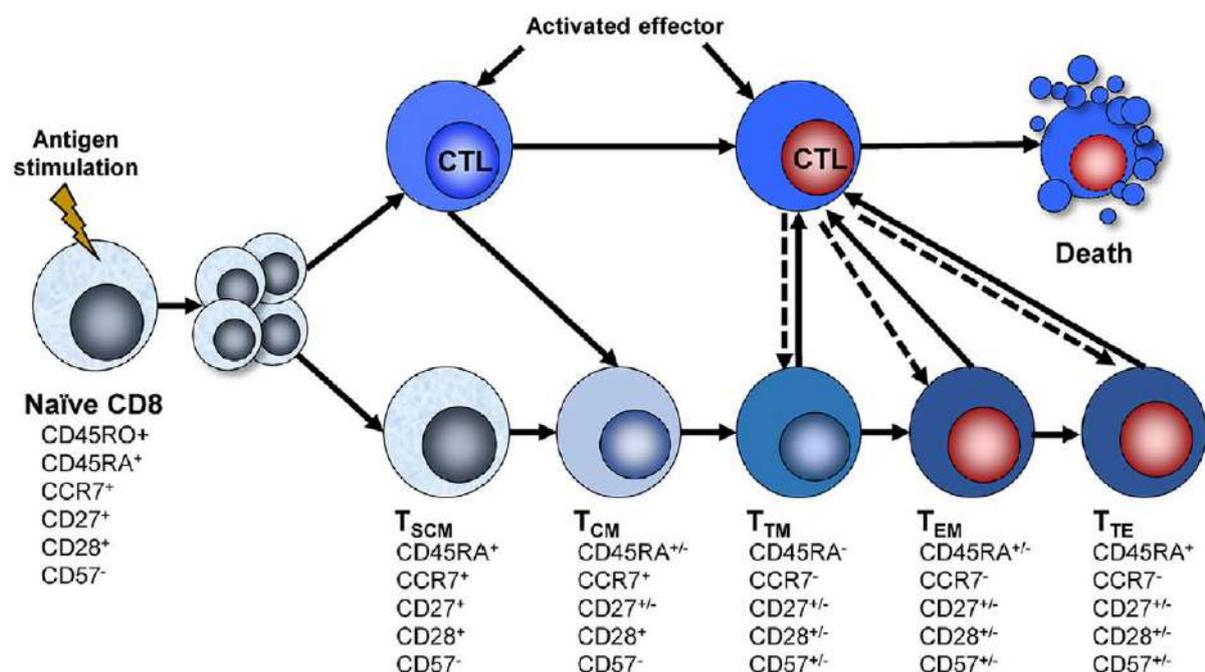


**Figure 4.** Modèle progressif de différenciation des lymphocytes T naïfs après reconnaissance de l'antigène présenté par une APC<sup>70</sup>.

Les lymphocytes T naïfs ( $T_N$ ) expriment l'isoforme CD45RA, CD62L et CCR7, permettant leur circulation mais aussi l'entrée dans les organes lymphoïdes secondaires<sup>71</sup>. Le signal TCR lors de la reconnaissance de l'antigène présenté par l'APC, mais aussi des signaux de co-stimulation, sont intégrés par le lymphocyte T afin d'initier le programme de prolifération et de différenciation. Une première étape de différenciation est le changement d'isoforme de CD45 en CD45RO<sup>72</sup>. Parmi les deux sous-populations exprimant CD45RO, l'une correspond aux lymphocytes T centraux mémoires ( $T_{CM}$ ) exprimant CCR7, tandis que l'autre perd l'expression de celui-ci et correspond aux lymphocytes T effecteurs mémoires ( $T_{EM}$ )<sup>73</sup>. Du côté fonctionnel, cette différence phénotypique permet aux  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  de patrouiller à la recherche de cibles

au niveau des organes lymphoïdes et des tissus périphériques, respectivement<sup>74</sup>. Enfin, au bout de la chaîne de différenciation se trouve les lymphocytes T effecteurs ( $T_{EFF}$ ) à courte durée de vie en grande quantité. Plus récemment, l'identification d'une nouvelle sous-population a été décrite, il s'agit des lymphocytes T mémoires de type cellule souche ( $T_{SCM}$ ). En effet, ces cellules ont la capacité de se renouveler ainsi que la possibilité de générer toutes les sous-populations mémoires et effectrices<sup>75</sup>. Par ces capacités et leur phénotype proche des cellules naïves, le modèle de différenciation débute à partir des  $T_N$  qui se différencient en  $T_{SCM}$ , puis  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  pour finir en  $T_{EFF}$  (**Figure 5**).

Ce modèle progressif s'est enrichi au fur et à mesure de l'identification de nouveaux marqueurs permettant l'identification de nouvelles sous-populations ou la proposition de nouveaux modèles. Le modèle retenant mon attention est une différenciation des lymphocytes T  $CD8^+$  naïfs à la fois en cellules effectrices CTL et en  $T_{SCM}$ . Les  $T_{SCM}$  enclenchent les voies de différenciations des différents types de cellules mémoires, mais ces voies ne sont pas complètement linéaires avec un retour possible des CTL vers  $T_{SCM}$ . Il est aussi possible que des T en transition ( $T_{TM}$ ) peuvent se différencier en CTL sans passer par  $T_{EM}$ <sup>76</sup>.



**Figure 5.** Modèle discontinu de différenciation des lymphocytes T<sup>76</sup>.

Enfin, cette armée de lymphocytes T  $CD8^+$  effecteurs antigène-spécifiques, ayant acquis l'expression des molécules lytiques, quitte le tissu lymphoïde pour migrer sur le site de

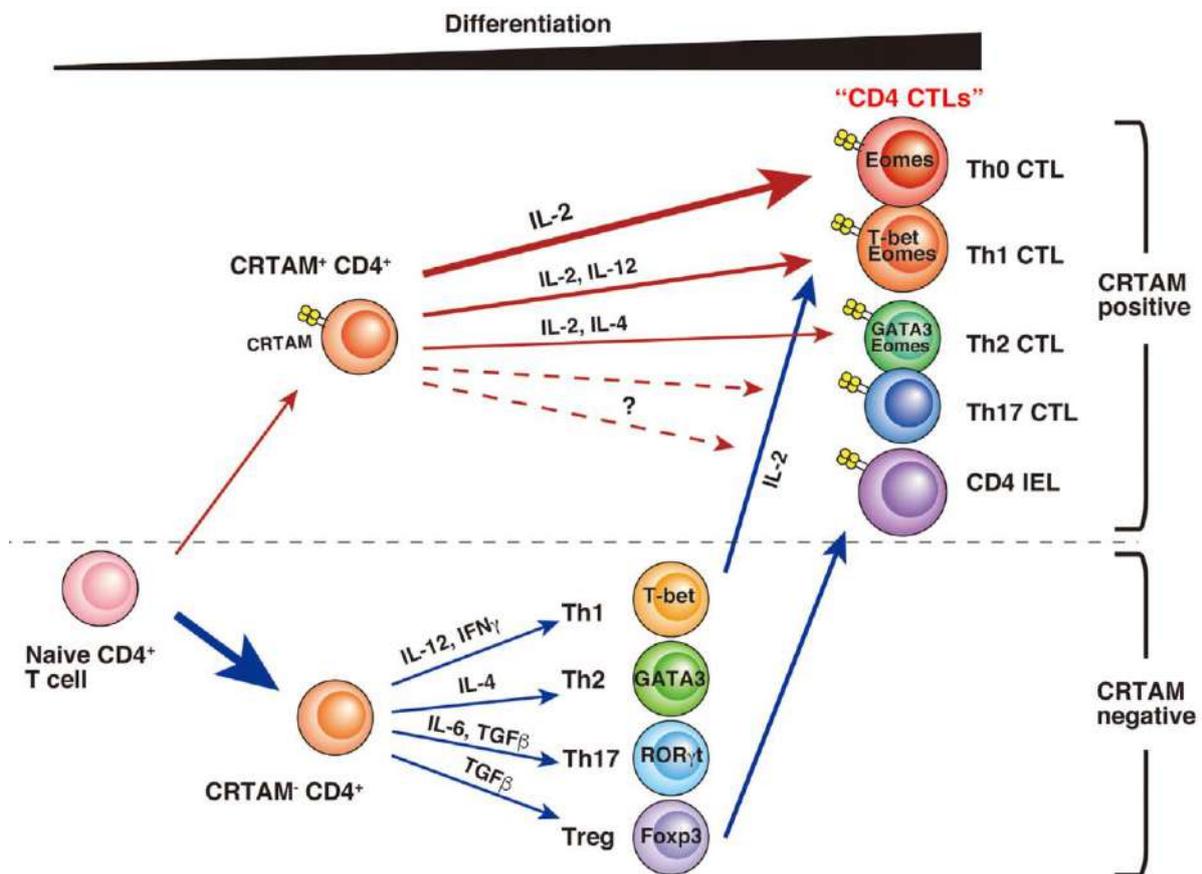
l'inflammation. Ainsi les CTL peuvent alors tuer les cellules altérées en dégranulant leurs molécules lytiques de manière polarisée<sup>77,78</sup> ou par fixation de récepteurs de mort exprimés à la surface des cellules cibles et/ou par la sécrétion de cytokines ayant des actions antivirales et anti-tumorales. Ces différentes voies de cytotoxicité possibles seront décrites plus en détails dans la partie II.2 portant sur les fonctions effectrices des lymphocytes T cytotoxiques.

Une fois l'inflammation contrôlée, un phénomène de contraction opère afin de retrouver un nombre basal de lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, tout en gardant un pool de cellules mémoires afin que le système immunitaire soit réactif en cas de réponse secondaire au pathogène en question.

#### *II.1.b Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup>*

Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> ont initialement été décrits comme ayant essentiellement un rôle de « helpers ». Puis des sous-populations de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> « régulateurs » ont été découvertes. Même si prépondérantes parmi l'ensemble des lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, et fortement décrites dans la littérature, une sous-population de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> possède aussi une fonction cytotoxique. En effet, l'identification de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> dotés d'un potentiel cytotoxique direct, dans un contexte antigénique CMH de classe II restreint, remonte aux années 1970<sup>79</sup>. Tout d'abord, cette fonctionnalité a été considérée comme un artefact, les clones CD4<sup>+</sup> à activité lytique étant issus d'une culture *in vitro* à long terme<sup>80</sup> ou générés *in vivo* chez des souris déficientes en CD8<sup>81</sup>. Par la suite, l'identification de CD4 CTL *ex vivo* dans le sang périphérique de patients infectés de manière chronique par des virus divers tels que le cytomegalovirus (CMV), le virus d'Epstein Barr (EBV) ou le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) a prouvé l'existence de ces cellules dans l'organisme<sup>82-84</sup>. La présence de ces dernières a été également mise en évidence dans d'autres pathologies, dans certaines infections bactériennes<sup>85</sup>, dans des maladies inflammatoires et également des pathologies auto-immunes<sup>86</sup>. Enfin, l'activité cytotoxique de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> a aussi été démontrée envers des cellules tumorales (mélanome) exprimant le CMH de classe II<sup>87</sup>. Ainsi la génération de cette population ne semble pas liée à un type de maladie mais à la chronicité de celle-ci. En effet, ces CD4 CTL sont décrits comme présentant un phénotype de cellules « terminalement » différenciées, ce qui est caractéristique d'une stimulation antigénique prolongée.

Concernant la différenciation de ces lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, plusieurs études ont révélé des origines variées. Vraisemblablement, les CD4 CTL peuvent se développer à partir de Th0<sup>88,89</sup>, Th1<sup>90,91</sup>, Th2<sup>92</sup>, Th17<sup>93</sup>, et Treg<sup>94</sup>. Néanmoins, les CD4 CTL dérivés de Th1 représentent la plus grande majorité des CD4 CTL. Afin d'éclairer l'origine des CD4 CTL, une étude récente a identifié la molécule CRTAM comme étant un marqueur précoce de cette population<sup>95</sup>. Après stimulation de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> naïfs, les auteurs ont purifié la population CRTAM<sup>+</sup> et l'ont caractérisée comme étant capable de sécréter de l'IFN $\gamma$  mais aussi granzyme B et perforine. De plus, ces cellules présentent une activité cytotoxique, ce sont donc des CD4 CTL. Malheureusement, l'expression de CRTAM est transitoire et à ce jour aucun marqueur spécifique des CD4 CTL n'a été identifié. Les auteurs ont ainsi proposé un modèle de différenciation des CD4 CTL dans une revue (**Figure 6**).



**Figure 6.** Modèle de différenciation des CD4 CTL proposé par Takeuchi et Saito<sup>96</sup>.

Dans l'ensemble, les mécanismes de lyse des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> cytotoxiques semblent fortement similaires à ceux des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques. En revanche, comparés aux CD8 CTL, les CD4 CTL présentent un délai dans leur activité de lyse avec une efficacité sur des

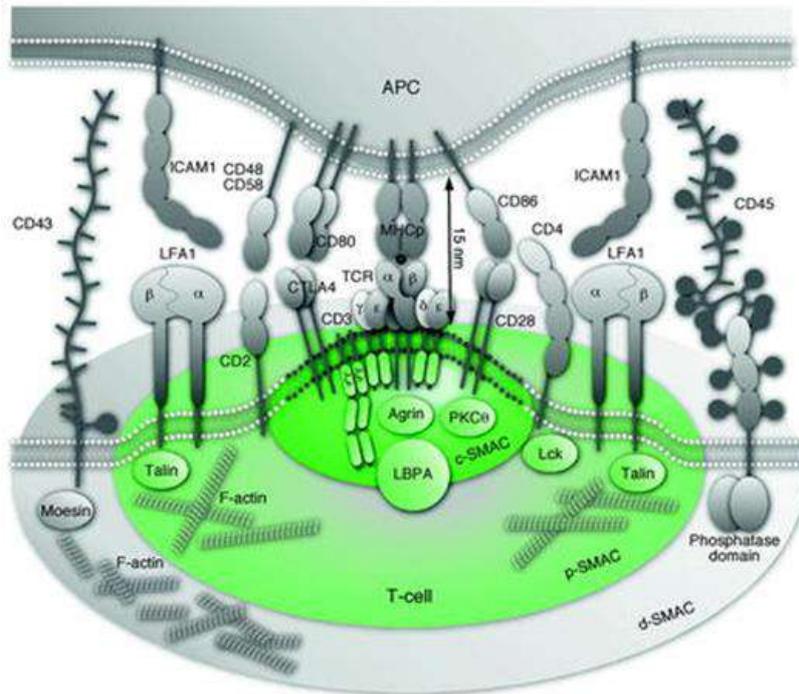
temps plus long<sup>97</sup>. Ainsi, dans le cas de cellules altérées exprimant le CMH de classe II, les CD4 CTL vont pouvoir compléter l'action cytotoxique des CD8 CTL. Ils pourraient même agir comme une « roue de secours » en cas d'un défaut de mise en place ou d'activité des CD8 CTL.

## II.2. Fonctions effectrices des lymphocytes T cytotoxiques

Les outils pour éliminer les cellules cibles sont multiples avec une possibilité de tuer par contact direct (la synapse lytique) ou indirect (les cytokines). Toutefois l'arme principale utilisée par les CTL est le contact direct avec la délivrance des granules contenant les molécules lytiques.

### *II.2.b La synapse lytique*

La synapse lytique est une synapse immunologique spécialisée dans la fonction cytotoxique. La synapse immunologique a fortement été étudiée pour le contact entre un lymphocyte T et une cellule présentatrice de l'antigène (APC), ce qui a permis de définir son architecture. Ainsi cette synapse est caractérisée par une structure en forme d'œil avec au centre le c-SMAC puis en périphérie le p-SMAC et enfin le d-SMAC (**figure 7**)<sup>98-100</sup>. Les composants majeurs du c-SMAC sont les molécules clés pour la reconnaissance et l'activation des lymphocytes T, comme l'interaction TCR/CD3 avec le complexe peptide/CMH, et le co-récepteur CD28 ou CTLA4 avec CD80/CD86. En revanche, le p-SMAC est composé de molécules d'adhésion permettant le maintien de la structure de la synapse, avec par exemple LFA-1 interagissant avec ICAM-1 et CD2 avec CD48/CD58. Le d-SMAC est défini comme étant une région enrichie en molécules possédant des domaines extracellulaires très longs, comme CD45<sup>101</sup> et CD43<sup>102</sup>. Il a été déterminé que l'alignement de ces récepteurs est initialement dû à la taille de leur ecto-domaine, supporté par le modèle de ségrégation<sup>103</sup>. Ainsi le concept général de l'organisation synaptique est que le c-SMAC permet la reconnaissance de l'APC suivie par l'activation du lymphocyte T, tandis que le p-SMAC et le d-SMAC permettent la conjugaison T-APC et la stabilisation de l'architecture de la synapse immunologique.



**Figure 7.** Architecture de la synapse immunologique conventionnelle.

Représentation schématique des principaux composants clés de la structure de la synapse immunologique dans le c-SMAC (vert intense), le p-SMAC (vert) et le d-SMAC. Adapté de Yokosuka T. et Saito T.

Toutefois, la structure de la synapse lytique formée par les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques n'est pas complètement similaire à la synapse immunologique formée par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup>. En effet, il a été démontré qu'à la synapse entre un lymphocyte T CD8<sup>+</sup> cytotoxique et sa cible, deux domaines distincts sont formés : un domaine de signalisation (correspondant au c-SMAC) et un domaine sécrétoire où convergent le centre organisateur des microtubules (MTOC) et les granules lytiques<sup>77</sup>.

En outre, l'équipe de Griffiths a récemment démontré un rôle clé de la dynamique du cytosquelette d'actine dans la synapse lytique. Dans un premier temps, un fort enrichissement de l'actine corticale est observé au contact de la cible, puis très rapidement, une « déplétion » de l'actine au centre de la zone de contact est effectuée afin de permettre le docking du MTOC et le passage des granules lytiques pour leur exocytose<sup>104</sup>. Effectivement, il a été démontré, pour les cellules NK, que les granules lytiques présents au niveau de l'aire synaptique passaient au travers des mailles du cytosquelette d'actine<sup>105</sup>.

### II.2.a Les granules lytiques

La délivrance des granules lytiques est un mécanisme rapide pouvant advenir en l'espace de quelques minutes. Ceux-ci sont des endo-lysosomes spécialisés contenant de multiples protéines (**Tableau 2**).

Contenu protéique des granules lytiques	Fonctions relatives	Protéines lysosomales membranaires	Fonctions relatives
Perforine	Formation de pores	Lamp 1 & 2	Glycoprotéines
Granulysine	Agent antimicrobien, activation de la caspase 9	CD63	Traffic vésiculaire
Calreticuline	Fixation au Calcium et à la perforine	H <sup>+</sup> -ATPase	Acidification du granule
Granzymes (A, B, H, K & M)	Sérines protéases	Cathepsine D & L	Protéases
Cathepsine C	Activation des granzymes	Récepteur au mannose 6-phosphate	Traffic protéique
Cathepsine B	Protection envers la perforine	β-hexosaminidase	Enzymes
		β-glucuronidase	

**Tableau 2.** Récapitulatif des principales protéines composant les granules lytiques.

Les molécules lytiques contenues dans ces vésicules spécialisées sont la perforine, la granulysine et les granzymes. La dégranulation peut être détectée par l'exposition au niveau de la membrane cellulaire de glycoprotéines lysosomiales comme Lamp-1<sup>106</sup>.

La perforine joue un rôle décisif dans l'induction de la lyse des cellules cibles. L'importance de cette molécule est attestée à la fois par des études sur des modèles de souris KO et chez des patients atteints de mutations sur le gène correspondant. Les souris déficientes en perforine développent des lymphomes spontanés<sup>39</sup> tandis que les patients déficients en perforine développent des réponses immunes cytotoxiques diminuées mais des réponses cytokiniques exacerbées face à des infections par des pathogènes intracellulaires<sup>107</sup>. La perforine a une forte homologie de séquence avec la protéine C9 du complément qui est connue pour former des pores dans les membranes cellulaires<sup>108</sup>. Il a donc été proposé que la perforine induit la mort des cellules cibles en créant des pores dans les membranes plasmiques permettant l'entrée d'autres molécules lytiques dans la cellule cible<sup>109,110</sup>. La formation de ces pores n'est pas suffisante pour entraîner la mort de la cellule cible mais permet l'entrée des granzymes et de la granulysine dans celle-ci. Différents modèles d'entrée des granzymes et granulysine ont été proposés : le premier étant l'entrée par les pores de perforine, le deuxième serait une internalisation des molécules lytiques<sup>111</sup> et le dernier serait une entrée de calcium par les pores de perforine déclenchant la fonction de réparation cellulaire de la cible permettant l'internalisation des molécules lytiques<sup>112,113</sup>.

Les granzymes sont des sérines protéases impliqués dans les détériorations cellulaires des cellules cibles. Une fois entrés dans la cellule cible, par un mécanisme discuté plus haut, les granzymes induisent l'apoptose rapide de la cellule cible<sup>114</sup>. A ce jour, 5 granzymes ont été

identifiés chez l'Homme : A, B, H, K et M. Les principaux sont les granzymes A et B ayant une forte activité pro-apoptotique.

Le granzyme A induit un processus apoptotique au sein de la cellule cible *via* une voie indépendante de caspases<sup>115</sup>. Il agit *via* de multiples mécanismes parmi lesquels l'induction de cassure dans l'ADN cellulaire, l'inhibition des mécanismes de réparation de l'ADN ou encore la destruction de la laminine ou de l'histone 1. Son action majeure réside dans le clivage d'un complexe associé au réticulum endoplasmique appelé le complexe SET. Ce clivage va libérer des protéines telles que NM23-H1 (nonmetastatic protein 23 homologue 1) qui vont induire la dégradation de l'ADN<sup>116</sup>.

Les granzymes B humains et murins, bien que tous deux très pro-apoptotiques, agissent *via* des mécanismes différents<sup>117</sup>. Le granzyme B humain agit majoritairement *via* le clivage de la molécule Bid (membre de la famille des molécules pro-apoptotiques)<sup>118</sup>. Ce clivage entraîne, entre autre, la libération par les mitochondries de cytochrome c<sup>119</sup> qui conduit à l'activation d'un grand nombre de caspases<sup>120</sup>. Le granzyme B peut également agir directement sur la caspase-3 et la caspase-8 induisant, entre autre, la fragmentation de l'ADN cellulaire<sup>121-124</sup>.

Les granzymes H, K et M sont appelés granzymes orphelins. Leurs fonctions chez l'Homme ne sont pas encore complètement définies. Par exemple le granzyme K est une protéase qui induit l'apoptose par un mécanisme Bid-dépendant<sup>112</sup> tandis que le granzyme M semble induire la mort cellulaire *via* le clivage des Ezrins (des protéines liant l'actine à la membrane plasmique) et l' $\alpha$ -tubuline<sup>125</sup>.

Enfin, la granulysine, exprimée 3 à 5 jours après l'activation des CTL, a une activité cytotoxique sous la forme protéique de 9 kDa envers les bactéries intracellulaires et les cellules tumorales<sup>126,127</sup>. Elle pourrait agir *via* la libération de cytochrome c par les mitochondries et l'activation de la caspase-3<sup>112</sup>. De plus, par une homologie aux protéines « saposine-like », elle posséderait aussi une action « perturbatrice » de la membrane<sup>128</sup>. Ainsi différents modèles d'entrée de la granulysine ont été proposés : une entrée par les pores formés par la perforine mais aussi une entrée de manière perméante à la membrane<sup>129</sup>.

### *II.2.c Les cytokines*

Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques sécrètent des cytokines comme l'IFN $\gamma$  et le TNF $\alpha$  qui ont une action cytotoxique quand elles sont sécrétées à proximité des cellules cibles.

L'**IFN $\gamma$**  est une cytokine produite majoritairement par les cellules NK, les cellules NKT, les lymphocytes Th1 et les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques. Sa nécessité dans le système immunitaire est illustrée par l'occurrence de tumeurs et phénomènes inflammatoires ou auto-immuns quand sa production et/ou sécrétion<sup>130,131,132</sup> est déficiente, de même si son récepteur est déficient<sup>133</sup>. L'IFN $\gamma$  peut directement inhiber la réplication virale et possède des propriétés anti-tumorale, immuno-stimulatrice et immuno-modulatrice<sup>134</sup>. Cette cytokine peut aussi promouvoir la présentation antigénique et l'activité lysosomale des macrophages, l'activation des APC, l'up-régulation des molécules du CMH de classe I, l'adhésion et la fixation nécessaire pour la migration leucocytaire, l'activité des cellules NK et la différenciation Th1 (par l'up-régulation du facteur de transcription T-bet)<sup>135,136</sup>.

Le premier rôle du **TNF $\alpha$**  est l'orchestration des cellules immunitaires lors de l'inflammation. Le TNF $\alpha$  est aussi capable d'induire l'apoptose et l'inflammation, ainsi que d'inhiber la réplication virale et le développement tumoral. Cette cytokine est majoritairement produite par les macrophages mais aussi par d'autres cellules immunitaires comme les lymphocytes T. Une augmentation locale de la concentration en TNF $\alpha$  cause les signes typiques de l'inflammation : *rubor, calor, tumor, dolor* (rougeur, chaleur, gonflement et douleur respectivement)<sup>137</sup>. Une régulation anormale de la production de TNF $\alpha$  peut causer une variété de pathologies humaines, dont des cancers<sup>138</sup>. La fixation du TNF $\alpha$  au récepteur du TNF de type 1 (exprimé par la plupart des cellules) peut amener à l'activation des domaines de mort, induisant ainsi l'apoptose dans la cellule cible<sup>139</sup>. En particulier, cette cytokine semble être impliquée dans la mort des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> induite par l'activation (AICD), régulant ainsi la conclusion de la réponse immunitaire pour retourner à l'état d'homéostasie cellulaire. Cependant, la mort induite par le TNF joue seulement un rôle mineur comparé à ses autres fonctions dans le processus inflammatoire.

#### *II.2.d Les voies alternatives de l'activité cytotoxique*

La deuxième voie majoritairement impliquée dans l'activité cytotoxique des CTL CD8<sup>+</sup> est la voie Fas/FasL (Fas-ligand)<sup>140</sup>. FasL est un récepteur de mort appartenant à la super-famille des récepteurs au TNF<sup>141</sup>. Cette molécule est exprimée à la surface cellulaire ou sécrétée suite au clivage de la forme membranaire par une metalloprotéinase zinc-dépendante : la matrilysine<sup>142</sup>. L'interaction du récepteur Fas exprimé par la cellule cible avec FasL induit la cascade d'activation des caspases et l'apoptose de la cellule cible<sup>143</sup>. FasL est très peu exprimé

à l'état basal par les CTL mais son expression est induite quelques heures après la stimulation du TCR. Cette cinétique d'expression est à l'origine des 2 moyens d'action de cette voie. L'équipe de Griffiths suggère, en 1999, que FasL est stocké et sécrété avec la perforine et les granzymes et peut par conséquent induire la mort des cellules cibles<sup>144</sup>. Cependant, l'expression basale de FasL étant réduite, ce mécanisme est minoritaire et la cytotoxicité optimale induite par cette voie a lieu lorsque de nouveaux ligands sont synthétisés, soit quelques heures après la stimulation du TCR<sup>145</sup>.

De manière générale, il a été clairement démontré qu'à la fois les lignées cellulaires CD8<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup> humaines et murines cultivées peuvent utiliser à la fois les voies Fas/FasL et perforine/granzymes<sup>88,146,147</sup>. Cependant, les expériences de transplantation *in vivo* et les maladies de greffe contre l'hôte (GvHD) dépendant du CMH de classe I ou de classe II (effecteurs CD8 et CD4 respectivement) suggèrent que la voie perforine/granzymes domine l'activité cytotoxique dépendante du CMH classe I et que la voie Fas/FasL domine l'activité lytique dépendante du CMH classe II<sup>148,149</sup>.

### II.3. Questions ouvertes

Suite à ce chapitre peignant une vue générale sur l'activation et la différenciation des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>, ainsi que leurs mécanismes effecteurs, je choisis d'aborder ici les questions de mesures de l'activité cytotoxique de ces cellules effectrices. A l'heure actuelle, plusieurs tests de cytotoxicité ont été mis en place avec différents « readouts », mais de manière globale, tous ces tests permettent la mesure de l'activité de lyse au niveau de la population effectrice face à la population cible (exemples : relargage du chrome, marquage des cellules mortes en cytométrie en flux, etc.). En revanche, ils ne permettent pas d'identifier la participation de chaque cellule individuelle à l'activité de lyse mesurée. Ce qui soulève la question : est-ce que tous les lymphocytes T cytotoxiques participent de manière homogène à l'activité de lyse globale ? C'est-à-dire, est-ce qu'ils éliminent le même nombre de cibles au cours du temps ? Nous formulons l'hypothèse d'une hétérogénéité dans la capacité de lyse des CTL pour la mise en place, à la fois d'un partage entre les fonctions de lyse et de sécrétions de cytokines, mais aussi en rapport à la différenciation des lymphocytes T en cellules mémoires. En effet, une fois l'élimination complète de la population cible, n'y aurait-il pas un

lien entre une capacité de lyse importante ou réduite et la capacité de garder un pool de cellules mémoires ?

Par ailleurs, afin d'étudier plus en profondeur les acteurs moléculaires impliqués dans l'activité de lyse de lymphocytes T humains, les immunodéficiences primaires correspondant à une déficience naturelle d'une protéine représentent des modèles de choix. En effet, l'importance de la perforine et des molécules impliquées dans son acheminement a notamment été révélée par l'étude d'immunodéficiences primaires<sup>150,151</sup>. Mon laboratoire étudie depuis longtemps l'impact de la déficience de la protéine du syndrome de Wiskott-Aldrich, notamment au niveau des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> provenant de patients. Qu'en est-il de la fonction cytotoxique des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> ?