

# Les récepteurs TCR

## 1. Introduction

Les cellules T sont un sous-ensemble de lymphocytes qui jouent un rôle crucial dans la réponse immunitaire. Le récepteur des cellules T (TCR) est un complexe de protéines membranaires intégrales à la surface des cellules T, qui participe à l'activation des cellules T en réponse à un antigène. L'activation du TCR est déclenchée par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) qui présentent des peptides antigéniques aux complexes TCR et favorisent une série de cascades de signalisation cellulaire, qui aboutissent finalement à la prolifération cellulaire, à la différenciation, à la production de cytokines et/ou à la mort cellulaire induite par l'activation.

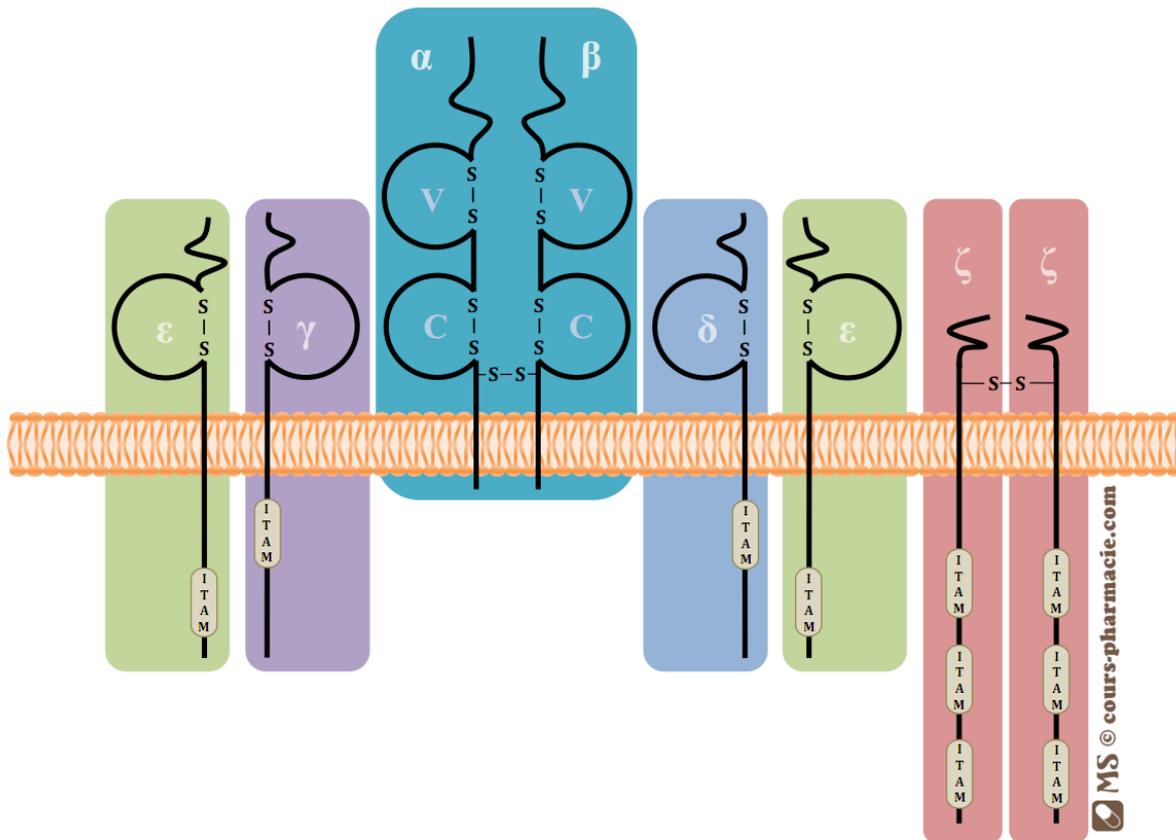
## 2. Le Complexe TCR/CD3

Le TCR est constitué de six chaînes polypeptidiques différentes qui forment l'hétérodimère TCR responsable de la reconnaissance du ligand. Les molécules CD3 (CD3 $\epsilon$ , CD3 $\gamma$ , CD3 $\delta$  et CD3 $\zeta$ ), assemblées avec l'hétérodimère TCR, possèdent un motif de séquence caractéristique pour la phosphorylation de la tyrosine, connu sous le nom de motifs d'activation basés sur la tyrosine des immunorécepteurs (ITAM). Les polypeptides TCR eux-mêmes ont des queues cytoplasmiques très courtes, et les molécules CD3 sont responsables de la médiation de tous les événements de signalisation proximaux. L'interaction du complexe TCR/CD3 joue un rôle central dans la médiation des événements de reconnaissance cellulaire allant de l'assemblage des récepteurs à la signalisation en passant par l'expression à la surface des cellules.

### 2.1. Le complexe TCR

Les composants structurels du complexe TCR ont été révélés dans les années 1980 grâce à des recherches intenses et aux progrès des techniques de biologie moléculaire et de biochimie<sup>12</sup>. Le complexe TCR est constitué de chaînes TCR $\alpha/\beta$  et de sous-unités CD3 $\gamma/\delta/\epsilon/\zeta$ , qui s'associent par le biais d'interactions hydrophobes<sup>13,14,15</sup>. La recombinaison somatique VDJ permet la génération de chaînes TCR $\alpha$  et TCR $\beta$  bêta distinctes, et les hétérodimères TCR $\alpha/\beta$  sont responsables de la reconnaissance des antigènes en se liant aux complexes peptide-CMH<sup>16,17</sup>. Le CD3 transmet le signal déclenché par le TCR par l'intermédiaire des motifs d'activation à base de tyrosine des immunorécepteurs (ITAM) dans sa queue cytoplasmique, mais il ne participe pas directement à la reconnaissance des antigènes<sup>18,19</sup>. Les ITAM sont des duplications en tandem d'une séquence contenant de la tyrosine (YXXL/I), et les chaînes

CD3 $\gamma/\delta/\epsilon$  contiennent chacune un ITAM, tandis que la chaîne CD3 $\zeta$  en contient trois<sup>20,21</sup>. En conséquence de l'engagement du TCR, la phosphorylation de l'ITAM est induite par les protéines tyrosine kinases (PTK), ce qui permet à d'autres molécules effectrices d'interagir avec le complexe TCR.



**Fig1.** Structure du récepteur TCR

## 2.2. Protéines tyrosine kinases (PTK)

L'importance de la phosphorylation de la tyrosine dans la signalisation du TCR a été révélée par des études utilisant des inhibiteurs de PTK. L'engagement du TCR déclenche l'activation et le recrutement des PTK, y compris les PTK de la famille Src comme Lck et Fyn et la PTK de la famille Syk, la chaîne zêta de la protéine 70 associée au TCR (ZAP-70)<sup>24</sup>. Des données provenant de souris dépourvues de Lck ou de Fyn montrent que Lck est crucial pour le développement des cellules T, tandis que Fyn n'est pas essentiel au développement des cellules T, car d'autres kinases de la famille Src peuvent compenser Fyn<sup>25,26,27</sup>. La Lck est régulée par une phosphorylation médiée par la kinase Src C-terminale au niveau de son résidu Y505, qui fait passer la Lck à un état inactif<sup>28</sup>. La tyrosine phosphatase CD45 déphosphoryle la phosphorylation inhibitrice à Y505 et déphosphoryle l'autophosphorylation régulatrice

positive à Y394, bien que moins efficacement<sup>29,30,31</sup>. Cette régulation étroite de l'activité de Lck protège contre l'hyperactivation des lymphocytes T et l'auto-immunité, maintenant ainsi l'homéostasie des lymphocytes T<sup>29,31</sup>. Lck ou Fyn activée phosphoryle les résidus tyrosine des ITAM dans les sous-unités CD3. La phosphorylation de la tyrosine de CD3 $\zeta$  fournit le site de liaison pour ZAP-70 via son domaine SH2, puis Lck ou Fyn active ZAP-70 par phosphorylation<sup>24,32</sup>. Par conséquent, le recrutement de ZAP-70 au complexe TCR activé entraîne la formation d'un complexe de signalisation à la membrane plasmique en recrutant d'autres protéines par phosphorylation ou activation.

### **2.3.Voies de transmission du signal**

Une série de protéines effectrices peuvent exercer leurs effets grâce à leur recrutement par les protéines adaptatrices LAT et SLP76 ; certaines sont déjà présentées de façon détaillée dans d'autres chapitres, car elles ne sont pas spécifiques de l'activation lymphocytaire :

- la protéine GRB2 ouvrant la voie des MAP kinases *via* l'activation de RAS;
- la protéine p85 ouvrant la voie de la PI3 kinase ;
- la PLC $\gamma$  permettant la formation du DAG et de l'IP3, donc ouvrant la signalisation calcique ;
- la PKC $\theta$ , qui est à l'origine de la formation d'un complexe CBM, spécifique de l'activation lymphocytaire ; ce complexe est formé de la protéine CARMA1 (*CARD [Caspase recruitment domain] and membrane-associated guanylate kinase*), de la protéine BCL10 (*B-cell lymphoma 10*, une protéine adaptatrice à domaine CARD) et de la protéine MALT1 (*Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation gene 1*). Ce complexe est à l'origine de l'activation de la kinase NIK (*NF $\kappa$ B inducing kinase*), qui est elle-même à l'origine de l'activation du facteur de transcription NF $\kappa$ B ;
- la tyrosine kinase cytoplasmique ITK (*IL2-induced tyrosine kinase*), elle-même à l'origine du recrutement de la protéine VAV1 (du nom du sixième oncogène découvert par Barbacid), qui est un GEF permettant l'activation de petites protéines G de la famille RHO comme RAC1 et CDC42 ; ces protéines sont impliquées dans l'adhésion et la migration des cellules, par l'intermédiaire de protéines d'interaction avec le cytosquelette d'actine que l'on appelle les protéines WASP (*Wiskott-Aldrich syndrome proteins*). Cette voie est à l'origine de l'activation intracellulaire des intégrines en promouvant leur agrégation

#### **2.3.1. Activation du TCR**

L'activation du TCR est régulée par divers récepteurs de co-stimulation. De nombreux récepteurs transmembranaires modulent des éléments spécifiques de la signalisation du TCR. On constate que le CD28 renforce la prolifération et la différenciation des cellules T naïves induites par le TCR. Une fois qu'il s'est lié à B7-1 ou B7-2, CD28 fournit à la cellule T une capacité d'adhésion initiale qui lui permet de s'approcher des membranes des cellules T et des APC. En outre, le CD45 régule la signalisation du TCR en modulant l'état de phosphorylation des tyrosines kinases comme Lck et Fyn, et en s'opposant à l'impact des protéines inhibitrices, ce qui favorise l'activation des cellules T.

### **2.3.2. Cascades de signalisation du TCR**

Lors de l'engagement du TCR par l'antigène présenté sur les molécules du CMH, la kinase Lck de la famille Src est activée par l'interaction du CMH-II et du CD4 ou du CD8, et se dirige vers les ITAM sur les sous-unités  $\epsilon$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$  et  $\zeta$  du complexe TCR/CD3. Les ITAM phosphorylées recrutent la protéine kinase associée à la chaîne zéta (ZAP-70) sur le complexe TCR/CD3 où elle est activée, ce qui favorise le recrutement et la phosphorylation des protéines adaptatrices ou d'échafaudage en aval. Le linker pour l'activation des cellules T (LAT) et la protéine leucocytaire SLP-76 sont deux substrats principaux de ZAP-70. La LAT et la SLP-76 phosphorylées entraînent le recrutement d'un certain nombre d'autres protéines impliquées dans l'activation de la mobilisation du calcium, la voie de Ras et la réorganisation du cytosquelette.

#### **a. Mobilisation du calcium**

La phospholipase  $C\gamma 1$  (PL- $C\gamma 1$ ) est une protéine essentielle qui est recrutée par la LAT tyrosine-phosphorylée lors de la stimulation du TCR. La PL- $C\gamma 1$  activée est responsable de la production du second messager diacylglycérol (DAG) et inositol triphosphate (IP3) par hydrolyse du phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate (PIP2) au niveau de la membrane plasmique. Le DAG active un certain nombre de protéines, comme les différentes isoformes de la protéine kinase  $C\theta$  (PKC $\theta$ ), et les voies MAPK/Erk, favorisant toutes deux l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B, tandis que l'IP3 se lie aux récepteurs IP3 (IP3R) à la surface du réticulum endoplasmique (RE) et libère le  $Ca^{2+}$  du RE. Cet événement déclenche l'ouverture des canaux  $Ca^{2+}$  activés par la libération de  $Ca^{2+}$  (CRAC), permettant l'afflux de  $Ca^{2+}$  extracellulaire. La calmoduline liée au calcium ( $Ca^{2+}$ /CaM) active la protéine phosphatase calcineurine en perturbant les effets inhibiteurs de la calmoduline. L'activation de la calcineurine entraîne la déphosphorylation du facteur nucléaire d'activation des cellules T

(NFAT), ce qui lui permet d'entrer dans le noyau, où il coopère avec d'autres facteurs de transcription pour promouvoir la transcription du gène IL-2.

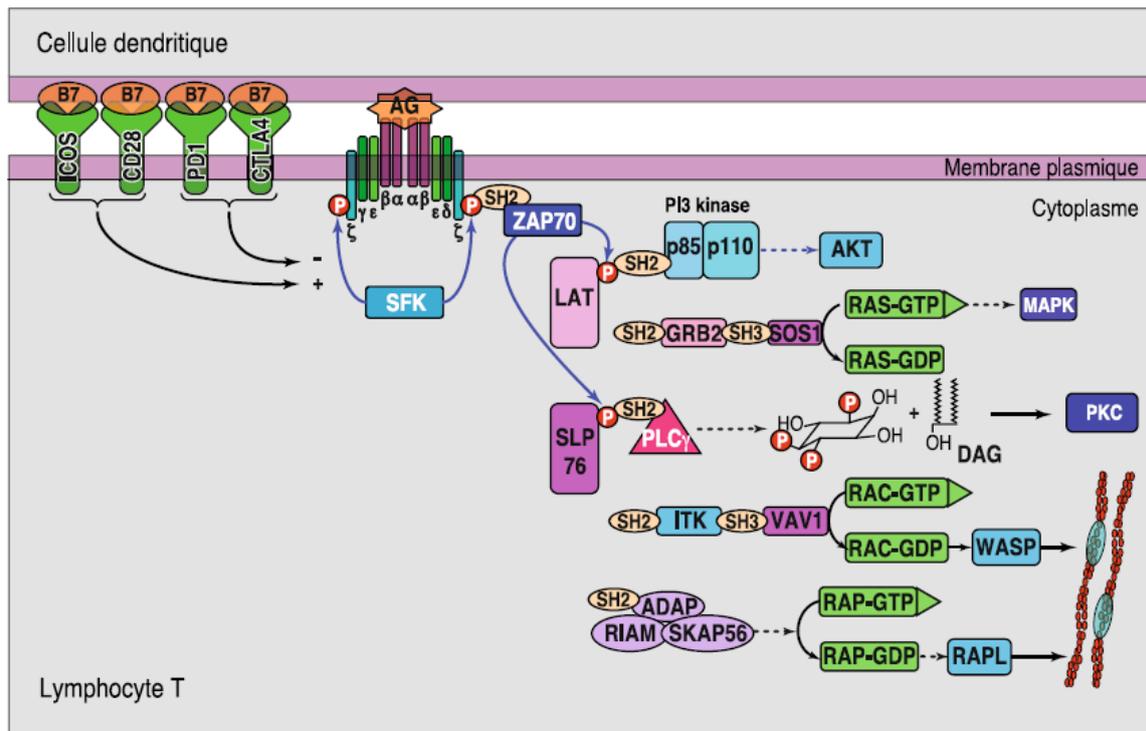
### **b. Activation de Ras**

L'activation de Ras se produit par le recrutement de ses facteurs d'échange SOS et Ras à la membrane. Le LAT tyrosine-phosphorylé se lie à plusieurs membres de la famille des protéines adaptatrices GRB2 (growth factor receptor-binding protein 2), tels que GRB2, GRB2-related adaptor protein (GRAP) et GRB2-related adaptor protein-2 (GADS), pour faciliter l'assemblage de complexes de signalisation macromoléculaires nécessaires à l'activation efficace des cellules T. L'interaction entre le LAT et la protéine adaptatrice GRB2 est un facteur d'activation important. L'interaction de LAT tyrosine-phosphorylée avec GRB2 fournit un mécanisme par lequel GRB2 et ses associés à GRAP sont recrutés à la membrane plasmique et activent potentiellement Ras. L'activation de Ras entraîne l'activation d'un certain nombre de sérine/thréonine kinases : Raf1, MEK (MAPK/ERK Kinase) et des kinases à double spécificité qui sont responsables de l'activation éventuelle de la superfamille des protéines kinases activées par les mitogènes (MAPKs). Les MAPK activent des kinases (et d'autres) en cascades de signalisation qui aboutissent à l'activation des facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et AP-1, tous deux nécessaires à la transcription de plusieurs gènes clés impliqués dans la réponse immunitaire des cellules T.

### **c. Reorganisation du cytosquelette**

TCR signaling induces dramatic changes in cytoskeletal architecture. Antigen recognition by the T cell stimulates a burst of actin polymerization at the immunological synapse, generating a lamellipodial sheet structure that spreads over the surface of the APC. After TCR triggering, cytoskeleton modifications are regulated by two pathways that are organized by the LAT-SH2-domain-containing SLP76 complex. One pathway depends on the adaptor-scaffold complex Src kinase-associated phosphoprotein of 55 kDa (SKAP55)-adhesion and degranulation promoting adaptor protein (ADAP) that controls T-cell adhesion to the APC by upregulating leukocyte function-associated antigen 1 (LFA1) integrin avidity. The other depends on VAV1, through binding of its Src-homology 2 (SH2) domain to phosphorylated SLP76. Tyrosine phosphorylated VAV1 stimulates the Rho family GTPases, preferentially Rac1 and Rac2. This leads to a signaling pathway that controls actin polymerization through the Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) and the actin nucleating ARP2-ARP3

complex, clustering of TCRs and coalescence of glycolipid-enriched membrane microdomains (GEMs). This pathway, therefore, has a role in the organization of the 'signalosome' by concentrating receptors and signaling components.



**Fig. 2** – Récepteurs des cellules T et voies de signalisation associées.

Les récepteurs des cellules T sont constitués de deux groupes de chaînes  $\alpha\beta$ , qui reçoivent le signal des cellules présentatrices d'antigènes, du complexe CD3 (deux chaînes  $\epsilon$ , une chaîne  $\gamma$  et une chaîne  $\delta$ ) et du complexe CD247 (deux chaînes  $\zeta$ ) qui transmettent l'information. La phosphorylation des chaînes  $\zeta$  par une kinase de la famille SRC (SFK) permet le recrutement de la tyrosine kinase ZAP70, qui phosphoryle des protéines adaptatrices comme LAT et SLP76. Ces protéines activent, via la reconnaissance de leurs phosphotyrosines par des protéines à domaine SH2, la voie de la PI3 kinase, la voie des MAP kinases, la voie des seconds messagers IP3 et DAG. L'activation des récepteurs des cellules T permet également l'activation de voies originales mettant en jeu des petites protéines G de la famille RHO jouant un rôle dans l'adhésion et la migration cellulaire grâce à leurs actions sur le cytosquelette et grâce à leur possibilité d'activer les intégrines. Des récepteurs accessoires permettent de moduler la stimulation des cellules T via les protéines B7 des cellules dendritiques, soit positivement (CD28, ICOS), soit négativement (PDI, CDLA4).

### **3. Relation avec les maladies**

Les cellules T jouent un rôle particulièrement important dans l'immunité à médiation cellulaire, la défense contre les cellules tumorales, les organismes pathogènes à l'intérieur des cellules et les réactions de rejet. La dérégulation de la fonction des cellules T, que ce soit par défaut ou par excès, entraîne de graves conséquences pour l'organisme, notamment l'immunodéficience et l'auto-immunité.

Le TCR est un système extrêmement sensible. Très peu de complexes peptide-CMH sur l'APC sont nécessaires pour déclencher une réponse des lymphocytes T. La voie de signalisation du TCR nous aide à mieux comprendre les défauts de la régulation immunitaire qui conduisent à des maladies liées à l'immunité et la façon dont le système immunitaire pourrait être mieux manipulé pour surmonter des affections telles que le cancer, les infections et les maladies auto-immunes.

### **4. Conclusion**

Classiquement, la signalisation du récepteur des cellules T est décrite comme descendant du TCR, via le LAT, pour activer les facteurs de transcription qui sont nécessaires à la prolifération des cellules T et à la différenciation de la fonction effectrice. Il est maintenant clair que la signalisation se ramifie également latéralement via de multiples domaines adaptateurs et incorpore la polymérisation de l'actine qui provoque des réarrangements du cytosquelette. Les signaux sont propagés aux molécules associées à la membrane, telles que les intégrines, via le recrutement de petites GTPases à la membrane plasmique. À son tour, l'engagement des intégrines influence la persistance des micro-groupes contenant les molécules de signalisation et, par conséquent, l'étendue de la propagation du signal. La régulation de ces cascades de signalisation fixe le seuil d'activation des cellules T naïves de sorte qu'elles ne sont pas activées par les complexes peptide-MHC propres mais répondent uniquement aux complexes peptide-MHC étrangers. Les cellules T effectrices sont plus sensibles à la stimulation que les cellules T naïves et, par conséquent, ont un potentiel accru d'auto-réactivité et de pathologie immunitaire. Les régulateurs négatifs sont régulés à la hausse dans les cellules T effectrices pour contrecarrer cette sensibilité accrue à l'activation et maintenir la tolérance immunitaire

