

## **Lymphocytes NK (“Natural Killer”)**

*Sophie Caillat Zuckman, Eric Vivier, Gilles Thibaut*

I-Introduction .....	2
II-Characteristiques générales des cellules NK .....	2
III-Origin et maturation des cellules NK.....	2
IV-Fonctions des cellules NK.....	3
IV-1.Cytotoxicité.....	3
IV-2. Production de cytokines .....	3
V-Reconnaissance des cellules cibles .....	4
V-1.Les récepteurs inhibiteurs .....	4
V-2.Les récepteurs activateurs .....	5
V-3.Mécanismes d’activation/inhibition :.....	5
V-4.Spécificité des récepteurs NK.....	5
VI-Conclusion.....	6

## **I-Introduction**

Les cellules NK sont des lymphocytes historiquement appelées « cellules tueuses naturelles » en raison de leur capacité apparemment spontanée à lyser des cellules tumorales ou infectées en l'absence d'immunisation spécifique préalable.

Cette propriété les distingue des autres lymphocytes tueurs, les lymphocytes T CD8 cytotoxiques, qui exercent, par l'intermédiaire de leur TCR, une cytotoxicité spécifique vis-à-vis de cellules présentant un épitope antigénique donné. Les cellules NK sont un des composants de l'immunité dite « innée ».

## **II-Caractéristiques générales des cellules NK**

Les cellules NK ont une morphologie de grands lymphocytes granuleux, avec un cytoplasme riche en granules lytiques.

Elles sont caractérisées par l'expression des molécules CD56, CD16 (Fc $\gamma$ RIIIA) et NKp46, et par l'absence d'expression de surface des membres de la famille CD3, ce qui les distingue des lymphocytes T. Cependant, les cellules NK sont hétérogènes sur le plan phénotypique. Différentes sous-populations de cellules NK expriment en effet des marqueurs de maturation et de différenciation distincts.

Les cellules NK sont présentes :

- dans la circulation sanguine, où elles représentent 5 à 15% des lymphocytes
- dans les organes lymphoïdes (rate, amygdales, ganglions périphériques)
- dans certains tissus (foie, poumon, placenta...) où elles exercent un rôle de sentinelle

Leur renouvellement dans le sang est d'environ deux semaines.

## **III-Origine et maturation des cellules NK**

Les cellules NK sont issues des progéniteurs hématopoïétiques CD34+ et se développent majoritairement dans la moelle osseuse (voir chapitre 2).

A la différence des lymphocytes T, les cellules NK n'ont pas besoin de développement intrathymique, même si le thymus est un site possible de leur maturation.

Les sites et les étapes du développement des cellules NK ne sont pas précisément connus. Des interactions avec les cellules stromales de la moelle osseuse, et avec certains facteurs solubles (c-kit ligand, Flt-3 et IL-15) sont nécessaires pour leur développement.

Certaines cytokines (surtout IL-2, IL-12, IL-18 et IL-15) ont un rôle majeur dans la maturation et la différenciation des cellules NK.

Contrairement à ce que l'on a cru pendant longtemps, les cellules NK doivent subir un processus « d'éducation » (appelé aussi « tuning », « licensing » ou « arming ») qui va leur permettre de distinguer les cellules saines des cellules anormales qui seront leurs cibles. Ce

processus requiert une interaction initiale de certains de leurs récepteurs avec les molécules CMH-I du soi. Cette interaction autorise que seules les cellules NK ainsi éduquées pourront ensuite être fonctionnellement compétentes, c'est-à-dire s'activer face à une cellule anormale.

#### **IV-Fonctions des cellules NK**

Les cellules NK sont des cellules « sentinelles » ayant pour vocation d'éliminer rapidement les cellules anormales (tumorales ou infectées), tout en respectant les cellules saines. La mise en place des fonctions NK est rapide car contrairement à celle des lymphocytes T et B, elle ne nécessite pas d'étape de prolifération ni de différenciation.

##### **IV-1.Cytotoxicité**

La cytotoxicité directe des cellules NK vis-à-vis des cellules anormales est leur fonction la mieux connue. Elle peut s'exercer par différents mécanismes, en général similaires à ceux employés par les lymphocytes T CD8 comme la cytotoxicité dépendante de la perforine. Suite à la reconnaissance de la cellule cible, la cellule NK dégranule : elle libère à la synapse le contenu de ses granules cytoplasmiques, en particulier la perforine qui forme des pores dans la membrane de la cellule cible.

D'autres mécanismes cytotoxiques conduisant à la mort de la cellule cible par apoptose sont possibles :

- interactions Fas (sur la cible)-Fas ligand (sur la cellule NK),
- interactions TRAIL-TRAIL récepteur
- libération de Granzyme B (serine estérase des granules)
- sécrétion de  $TNF\alpha$  (Tumor Necrosis Factor alpha)

##### **IV-2. Production de cytokines**

Les cellules NK produisent en particulier de l'IFN- $\gamma$ , mais aussi du  $TNF-\alpha$ , de l'IL-10, du GM-CSF et les  $\beta$ -chimiokines, CCL3 (MIP-1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP-1 $\beta$ ) et CCL5 (RANTES). Ces cytokines participent :

- à la régulation de la réponse inflammatoire, par exemple par le recrutement et l'activation de macrophages et de cellules dendritiques
- au contrôle direct de la réplication virale par la production d'IFN- $\gamma$
- au contrôle du type de réponse adaptative (orientation Th1/Th2/Treg)

Plutôt que de les confiner à l'immunité innée, on considère maintenant que les cellules NK occupent une position clé à l'interface entre immunité innée et immunité adaptative.

## **V-Reconnaissance des cellules cibles (Figure 22).**

Les cellules NK sont capables d'éliminer rapidement les cellules anormales (ex: tumorales ou infectées par un pathogène intracellulaire), tout en respectant les cellules saines. Cette capacité résulte d'un équilibre dynamique entre différents signaux activateurs et inhibiteurs transmis par des récepteurs membranaires.

Les gènes des récepteurs NK sont en configuration germinale, et n'effectuent pas de réarrangements géniques, à la différence des gènes codant le TCR ou le BCR.

Les cellules NK reconnaissent:

- le soi manquant (absence de molécules CMH de classe I) grâce à des récepteurs inhibiteurs
- des molécules de « détresse » sur les cellules anormales grâce à des récepteurs activateurs.

Ces récepteurs exercent leur fonction (inhibitrice ou activatrice) lorsqu'ils reconnaissent leurs ligands sur les cellules partenaires. L'intégration de la somme des signaux activateurs et inhibiteurs transmis par les récepteurs régule l'activation de la cellule NK suite à son interaction avec une cellule partenaire. La résultante de ces signaux détermine si la cellule NK va exercer ou non ses fonctions de cytotoxicité et/ou de sécrétion de cytokines vis-à-vis de la cellule cible.

### **V-1.Les récepteurs inhibiteurs**

Les plus étudiés d'entre eux reconnaissent les molécules CMH de classe I du soi exprimées à la surface de quasiment toutes les cellules saines. En situation normale (non pathologique), les cellules NK « voient » le CMH de classe I sur les cellules saines et sont inhibées. Ce mécanisme garantit que les cellules saines soient préservées de la cytotoxicité NK.

Une baisse d'expression des molécules CMH de classe I est perçue comme une modification de l'équilibre des signaux inhibiteurs/activateurs, et conduit à l'activation des fonctions effectrices NK. C'est la théorie du « soi manquant ».

Une baisse d'expression des molécules CMH de classe I peut survenir :

- lors d'infection virale ou de transformation tumorale (mécanisme fréquent d'échappement à la réponse T cytotoxique des CD8).
- dans la situation de l'allogreffe, dans laquelle les cellules du greffon expriment des molécules CMH de classe I allogéniques, non reconnues par les récepteurs inhibiteurs spécifiques des molécules CMH de classe I du soi.

## **V-2. Les récepteurs activateurs**

Outre l'expression des molécules CMH de classe I, les cellules NK surveillent l'expression de ligands de leurs récepteurs activateurs à la surface des cellules cibles. Même si l'expression des molécules du CMH de classe I est normale, l'apparition ou la surexpression de ces ligands bouleverse l'équilibre des signaux activateurs/inhibiteurs, et conduit à l'activation des cellules NK.

## **V-3. Mécanismes d'activation/inhibition :**

Les récepteurs activateurs sont associés à la membrane à une molécule adaptatrice qui porte un motif ITAM (Immunoreceptor Tyrosine based Activation Motif) dans son domaine intracytoplasmique. Lorsque le récepteur reconnaît son ligand spécifique sur la cellule cible, le motif ITAM est phosphorylé, ce qui déclenche une activation en cascade de phosphorylases kinases intracellulaires, conduisant à la cytotoxicité.

Les récepteurs inhibiteurs portent un motif ITIM (Immunoreceptor Tyrosine based Inhibitory Motif) dans leur domaine intracytoplasmique. La phosphorylation de ce motif, suite à la reconnaissance des molécules CMH de classe I par le récepteur, conduit à l'activation de phosphatases intracellulaires qui transmettent des signaux inhibiteurs et empêchent la cytotoxicité.

## **V-4. Spécificité des récepteurs NK**

### **V-4-a. Récepteurs spécifiques du CMH de classe I**

La diversité de spécificité des récepteurs spécifiques du CMH-1 résulte probablement d'une pression de sélection exercée au cours de l'évolution par les virus, qui peuvent induire une baisse d'expression du CMH de classe I portant sur un groupe d'allèles, ou un locus CMH particulier.

Ils appartiennent schématiquement à deux familles, donc chacune comprend des isoformes inhibitrices et activatrices.

Les Killer cell Ig-like Receptors (KIR) appartiennent à la superfamille des immunoglobulines et sont codés par une famille multigénique. Les différents membres de la famille KIR diffèrent par leur nombre de domaines extra-cellulaires (2 ou 3, d'où leur dénomination KIR2D ou KIR3D), et par la taille de leur fragment intracytoplasmique (long L ou short S, d'où leur dénomination KIR2DL, KIR3DL, suivie ensuite d'un numéro pour chaque membre du sous-groupe : KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3...).

Chaque récepteur est spécifique d'un groupe d'allèles du CMH de classe I. Par exemple :

- KIR2DL1 reconnaît environ la moitié des allèles HLA-C, ceux qui portent une Arginine en position 80 de leur séquence, alors que KIR2DL2 et KIRDL3 reconnaissent l'autre moitié des allèles HLA-C qui portent une Lysine en position 80.
- KIR3DL1 reconnaît une majorité d'allèles HLA-B.

- KIR2DL4 reconnaît la molécule CMH de classe I non classique HLA-G, exprimée spécifiquement sur les cellules du trophoblaste.

Les ligands des formes activatrices sont parfois les mêmes que ceux des formes inhibitrices.

Les récepteurs CD94/NKG2 (A, B, C, E) appartiennent à la famille des C-lectines.

Ils reconnaissent les molécules CMH de classe I non classiques HLA-E, qui sont exprimées à condition que les molécules classiques HLA-A, B ou C soient également produites par la cellule. L'expression de HLA-E représente un contrôle de qualité supplémentaire des cellules saines puisqu'elle reflète le niveau d'expression des molécules CMH de classe I classiques.

#### **V-4-b. Récepteurs non spécifiques du CMH de classe I**

Il existe une grande variété de récepteurs ou co-récepteurs activateurs, spécifiques de ligands distincts. Tous ne sont pas exprimés sur les mêmes cellules NK. En fait, les NK utilisent de manière variable tout un panel de récepteurs pour stimuler leurs fonctions effectrices.

Parmi les plus importants :

- CD16 est un récepteur pour le fragment Fc des IgG (Fc $\gamma$ RIIIA). Il est responsable du phénomène de cytotoxicité dépendante des anticorps (**Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity** : ADCC) grâce auquel les cellules NK peuvent détecter et détruire des cellules cibles recouvertes d'anticorps (opsonisées).
- Les autres récepteurs activateurs des cellules NK reconnaissent des ligands exprimés sur les cellules dites en «détresse». Ces molécules d'alerte sont exprimées lors d'une infection virale, d'une transformation tumorale, mais également après des lésions de l'ADN ou un stress génotoxique...

Plusieurs récepteurs activateurs agissent le plus souvent de manière synergique pour induire les fonctions effectrices NK.

Parmi les plus importants:

- les récepteurs de la famille NCR (NKp30, NKp44 et NKp46)
- les récepteurs CD94/NKG2D, DNAM-1 et NKp80 jouent un rôle important dans la défense anti-virale et anti-tumorale

#### **VI-Conclusion**

Les cellules NK ont un rôle majeur dans l'élimination des cellules anormales. Grâce à leurs récepteurs inhibiteurs, elles jaugent (surveillent) l'expression de surface des molécules CMH de classe I, qui reflète le bon état physiologique des cellules de l'organisme. Des avancées géantes dans l'identification de leurs récepteurs et de leurs mécanismes d'action laissent

envisager leur utilisation prochaine en thérapeutique contre les tumeurs ou dans le cadre des allogreffes.

### **A retenir**

- Les cellules NK (cellules « tueuses naturelles ») exercent leurs fonctions en absence d'immunisation spécifique préalable.
- Elles sont caractérisées par l'expression des molécules NKp46, CD56 et CD16, et par l'absence d'expression des marqueurs CD3 (lymphocytes T) et CD19 (lymphocytes B).
- Leur compétence fonctionnelle est acquise au cours de leur maturation par interaction de certains de leurs récepteurs avec les molécules du CMH de classe I du soi. On parle de « tueurs par défaut »
- Elles exercent des fonctions de cytotoxicité directe ou dépendante des anticorps (ADCC) et de production de cytokines (IFN- $\gamma$ , TNF, chimiokines...) vis-à-vis des cellules tumorales ou infectées, tout en respectant les cellules saines.
- Cette distinction cellules anormales/cellules saines est possible grâce à des signaux transmis par des récepteurs inhibiteurs (KIRL, CD94/NKG2A...) sensibles à l'absence d'expression des molécules du CMH de classe I, et des récepteurs activateurs (NCR, CD16, NKG2D...) détectant la présence de molécules de « détresse ».

Figure 22. Cytotoxicité NK dépendante.

Ce schéma représente, à gauche, comment les cellules saines exprimant des molécules de classe I du CMH sont protégées de la lyse NK par la balance positive de liée à l'engagement des KIR inhibiteurs à ces molécules.

A droite, on voit qu'une cellule malade active les récepteurs activateurs des cellules NK en raison d'une perturbation de la balance reconnaissance CMH de classe I/reconnaissance activateurs.

