

## Phénotype et fonctions des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire

Thierry Walzer  
Christophe Arpin  
Laurent Belœil  
Jacqueline Marvel

Une des caractéristiques du système immunitaire adaptatif est sa capacité de répondre de manière plus rapide et plus efficace à des pathogènes déjà rencontrés dans le passé. Cette mémoire associée au système immunitaire représente un sujet d'études fondamentales particulièrement important puisqu'il sous-tend le principe même de la vaccination. L'étude des diverses populations de lymphocytes qui portent la mémoire, ainsi que la compréhension des conditions nécessaires à leur production et à leur persistance dans l'organisme sont donc un enjeu majeur pour la fabrication de vaccins efficaces, notamment dans les domaines de la virologie et de la cancérologie.

**L**a réponse mémoire, secondaire ou anamnétique dirigée contre un antigène déjà rencontré, est caractérisée par sa rapidité et par son efficacité [1].

L'étude des fréquences de clonage [2] puis, plus récemment, l'identification directe des clones de cellules spécifiques d'un antigène donné grâce à la technologie des tétramères de CMH (complexe majeur d'histocompatibilité)-peptide [3], ont montré que ce phénomène est en partie lié à l'augmentation de la fréquence des lymphocytes T spécifiques de l'antigène à la suite de la réponse primaire. De plus, parmi les cellules spécifiques de l'antigène, la fréquence des cellules capables de proliférer et d'engendrer un clone de cellules effectrices à la suite de leur re-stimulation pourrait aussi être augmentée. La combinaison de ces deux phénomènes contribuerait ainsi au recrutement d'un plus grand nombre de lymphocytes spécifiques pour lutter contre une nouvelle infection par le pathogène. Enfin, les lymphocytes T mémoire (c'est-à-dire ayant survécu à

la réponse primaire contre l'antigène) possèdent des propriétés effectrices les rendant plus efficaces que les lymphocytes T naïfs (c'est-à-dire n'ayant jamais rencontré l'antigène) dans l'élimination de l'antigène [1].

### Identification des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire

L'étude des propriétés fonctionnelles des lymphocytes T mémoire nécessite de pouvoir les comparer aux lymphocytes T naïfs et donc de pouvoir discriminer ces populations. Dans un premier temps, les modifications phénotypiques (c'est-à-dire l'expression de marqueurs membranaires) provoquées par la rencontre avec l'antigène ont été utilisées. Toutefois, elles sont souvent partagées entre les cellules récemment activées et mémoire ou anergiques (c'est-à-dire ayant rencontré l'antigène mais ayant perdu une part plus ou moins importante de leur capacité de réponse [4]). De plus, ces modifications phénotypiques ne sont pas forcément stables [5]. Une deuxième approche

#### ADRESSE

T. Walzer, C. Arpin, L. Belœil, J. Marvel : Inserm U. 503, Immunobiologie fondamentale et clinique, CERVI, 21, avenue Tony-Garnier, 69365 Lyon Cedex 07, France.

a été d'étudier les caractéristiques des cellules capables de protéger l'organisme lors d'une ré-infection par des pathogènes. Toutefois, cette approche est compliquée par la variabilité des résultats obtenus. Malgré cela, certains marqueurs membranaires sont communément utilisés pour identifier les populations mémoire (Tableau I), tels que de forts niveaux des molécules CD44 et Ly6C chez la souris [6, 7] et la conversion de la molécule CD45 de l'isoforme RA vers l'isoforme RO chez l'homme [8].

### Diversité des populations de lymphocytes mémoire T CD8<sup>+</sup>

La difficulté d'identifier clairement les lymphocytes T mémoire dans des organismes sauvages ainsi que la fréquence extrêmement basse de lymphocytes T naïfs spécifiques d'un antigène chez ceux-ci ont longtemps limité la comparaison fonctionnelle entre ces deux types cellulaires. Pour pallier cette difficulté, des modèles de souris transgéniques pour le TCR qui possèdent des populations monoclonales homogènes de lymphocytes T ont été utilisés.

En effet, grâce à ces modèles, il est possible de suivre l'évolution phénotypique et fonctionnelle, à la suite de l'immunisation *in situ* ou chez des souris sauvages greffées, d'une population de cellules de spécificité antigénique connue. Toutefois, selon les systèmes, les propriétés des cellules restent hétérogènes. La plupart des études montrent que les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire produisent davantage de cytokines effectrices et plus rapidement que les lymphocytes T

CD8<sup>+</sup> naïfs, après stimulation par l'antigène *in vitro* [9, 14]. En revanche, selon les modèles, elles présentent des capacités prolifératives accrues [9, 12, 15], identiques [10, 16] ou diminuées [13] lorsqu'on les compare aux lymphocytes T CD8<sup>+</sup> naïfs. Dans un autre modèle transgénique, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire ne prolifèrent pas du tout lors d'une re-stimulation par l'antigène *in vitro* [11]. De même, dans certains systèmes, mais pas d'autres [10], les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire montrent des activités cytolitiques *ex vivo*, en l'absence de re-stimulation [11, 13].

La variété des phénotypes membranaires et des fonctions des populations de lymphocytes T mémoire peut s'expliquer par la diversité des modèles utilisés mais elle reflète aussi l'hétérogénéité des populations mémoire (Tableau II).

L'existence d'au moins deux sous-populations de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire a été démontrée chez l'homme par le groupe de A. Lanzavecchia [17]. Les auteurs ont discriminé – sur la base de l'expression du récepteur de chimiokine CCR7 – deux populations de lymphocytes T mémoire de phénotype CD8<sup>+</sup> CD45RA<sup>-</sup> présentes dans le sang. Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> CD45RA<sup>-</sup> CCR7<sup>-</sup> (TEM pour *effector memory T cells*) montrent des capacités effectrices directement *ex vivo* (c'est-à-dire sécrétion d'IFN- $\gamma$  et présence de granules cytoplasmiques de perforine, suggérant une activité cytolitique). Au contraire, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> CD45RA<sup>-</sup> CCR7<sup>+</sup> (TCM pour *central memory T cells*) possèdent certaines caractéristiques fonctionnelles de lymphocytes mémoire (c'est-à-dire

prolifération accrue à la suite d'une stimulation antigénique et activation des cellules dendritiques) mais n'exercent pas de fonctions effectrices directement *ex vivo*. Ces cellules expriment des molécules de recirculation vers les ganglions lymphatiques [17]. De plus, après stimulation polyclonale *in vitro*, elles peuvent se différencier en cellules effectrices de type CCR7<sup>-</sup>, ce qui suggère que ces deux populations représentent deux stades successifs de différenciation. Les cellules TCM et TEM pourraient avoir des fonctions complémentaires: les TEM combattraient très rapidement les pathogènes à leur site d'entrée tandis que les TCM permettraient de soutenir la réponse plus tardivement et de régénérer la population des TEM [18].

Des sous-populations de cellules T CD8 mémoire similaires au TCM/TEM décrites chez l'homme ont été mises en évidence dans différents systèmes expérimentaux murins. Notamment, le groupe de L. Lefrançois [19] a montré qu'à la suite d'une infection par le virus de la stomatite vésiculaire, deux types de lymphocytes T CD8 spécifiques du virus persistent après l'infection au sein de la souris: (1) des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> possédant des caractéristiques effectrices (c'est-à-dire activité cytolitique *ex vivo* et production d'IFN- $\gamma$ ) très proches de celles des TEM qui persistent essentiellement dans les organes non lymphoïdes des souris; (2) des lymphocytes T CD8 proches des TCM produisant de l'IFN- $\gamma$  mais n'étant pas cytolitiques et qui persistent dans la rate. L'expression de CCR7 par ces sous-populations de CD8 mémoire n'a pas été étudiée.

Dans notre système expérimental de souris transgéniques pour le TCR F5, deux populations de cellules à phénotype mémoire peuvent être discriminées selon leur niveau d'expression des molécules CD44 et CD122 (chaîne  $\beta$  des récepteurs de l'IL-2 et de l'IL-15). Ces deux populations pourraient correspondre aux TEM et aux TCM humains. En effet, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire qui expriment des niveaux intermédiaires de la molécule CD44 sont de phénotype CD122<sup>-</sup>, expriment de forts niveaux d'ARNm codant pour CCR7 et sécrètent de faibles quantités d'IFN- $\gamma$  *ex*

**Tableau I.** Phénotype membranaire des différents types de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> chez l'homme et chez la souris.

|               | Marqueurs   | T CD8 naïfs | T CD8 activés | T CD8 Mémoire |
|---------------|-------------|-------------|---------------|---------------|
| <b>Homme</b>  | CD45 RO     | -           | +++           | +++           |
|               | CD45 RA     | +++         | -             | -             |
|               | CD44        | -           | ++            | ++            |
|               | CD25        | -           | +++           | -             |
| <b>Souris</b> | CD44        | +           | +++           | ++            |
|               | CD43 (1B11) | -           | ++            | +/-           |
|               | CD25        | -           | +++           | -             |
|               | CD122       | -           | ++            | ++ ou -       |
|               | Ly6C        | -           | ++            | ++            |

**Tableau II.** Caractéristiques de différentes sous-populations de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> identifiées chez l'homme et chez la souris.

|   |  | Naïve                               | TCM                                      | TEM                                      |
|---|--|-------------------------------------|--|--|
| Phénotype                                       |  | CCR7<br>CD45RA <sup>+</sup>         | CCR7 <sup>+</sup><br>CD45RA <sup>-</sup> | CCR7 <sup>-</sup><br>CD45RA <sup>-</sup> |
| <b>Homme</b>                                    | Fonctions effectrices                              |                                     |  |  |
|   | IFN $\gamma$                                       | -                                   | -  | ++                                       |
|   | immédiates   | -                                   | -  | ++                                       |
| Prolifération en réponse à l'Ag <i>in vitro</i> |  | +                                   | +++                                      | +++                                      |
|   |  | Naïve                               | TCM-like                                 | TEM-like                                 |
| Phénotype                                       |  | CCR7 + CD44Lo<br>CD122Lo<br>CD122Lo | CCR7+<br>CD44Int                         | CCR7-CD44Hi<br>CD122Hi                   |
| <b>Souris</b>                                   | Production d'IFN $\gamma$                          | -                                   | +  | +++                                      |
|   | Prolifération en réponse<br>à l'Ag <i>in vitro</i> | +                                   | +++                                      | +/-                                      |
|   | Persistance <i>in vivo</i>                         | +                                   | +  | +++                                      |

*in vivo* tandis que les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire de phénotype CD44<sup>high</sup> CD122<sup>+</sup> expriment de faibles niveaux d'ARNm codant pour CCR7, sont partiellement exclus des ganglions lymphatiques et sécrètent de fortes quantités d'IFN- $\gamma$  *ex vivo* (Tableau II).

Cependant, il faut noter que, chez la souris, la population de cellules CD44<sup>high</sup> est elle-même hétérogène. En effet, ces populations contiennent des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire « classiques », c'est-à-dire se différenciant à la suite d'infections par des pathogènes [11, 20, 21] mais aussi des cellules qui se développent en l'absence de stimulation antigénique (c'est-à-dire les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> homéostatiques, voir plus loin) [22]. De plus, une sous-population de cellules CD44<sup>high</sup> chez la souris et CCR7 chez l'homme exprimant des NKR inhibiteurs (récepteurs inhibiteurs des cellules NK) a été identifiée (lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire Tm1) [23, 24]. Cette population s'accumule au cours du temps, ce qui pourrait être dû, en partie au moins, à l'inhibition partielle de l'AICD (apoptose induite à la suite de l'activation par l'antigène) par les NKR inhibiteurs [24]. Ces différents résultats montrent donc que de nombreux sous-types de lymphocytes T mémoire peuvent être engendrés suivant les modèles d'étude. Les relations entre ces différents sous-types ne sont pas encore clairement établies. Si ce phénomène semble refléter une forte flexibilité

de la réponse immunitaire, il soulève la question des conditions nécessaires à la production de ces diverses sous-populations.

### Production des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire

Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire sont engendrés lors de la réponse primaire contre l'antigène [1]. Cette réponse est caractérisée par une phase d'expansion massive des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> spécifiques de l'antigène, suivie d'une phase de déléation pendant laquelle la majorité des cellules activées meurt [2, 3]. A l'issue de cette réponse, une population de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> spécifiques de l'antigène [2, 3] correspondant aux lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire émerge. Les données actuelles suggèrent que les lymphocytes T mémoire dérivent de lymphocytes T effecteurs qui auraient survécu à la réponse primaire [25, 26]. En particulier, par une approche génétique utilisant un gène rapporteur sous le contrôle du promoteur du granzyme B, il a été montré que les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire se différencient à partir de cellules ayant produit l'ARNm codant pour le granzyme (c'est-à-dire cytotoxiques) pendant la réponse primaire [25]. Le granzyme est une protéine spécifique des lymphocytes cytotoxiques et essentielle à leur activité cytolytique. Ces données

suggèrent que la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes T effecteurs puis mémoire à la suite de l'activation par l'antigène serait linéaire. Dans ce contexte, le groupe de A. Lanzavecchia a proposé que, selon l'intensité du signal TCR (durée, dose d'antigène, nombre d'interactions avec les cellules dendritiques et stade de différenciation de ces dernières) et le signal fourni par les cytokines, les cellules T répondant à l'antigène seraient progressivement poussées vers des stades de différenciation de plus en plus avancés jusqu'au stade effecteur cytolytique (figure 1A) [18]. Dans ce modèle, les cellules TCM et TEM, et éventuellement d'autres types de cellules T mémoire, dériveraient de cellules effectrices ayant atteint des stades de différenciation distincts suivant la dose d'antigène et de cytokines disponible au cours de la réponse primaire. Cependant, plusieurs publications récentes ont remis en question ce modèle. En effet, le groupe de S.P. Schoenberger a montré qu'un contact aussi bref que deux heures avec l'antigène *in vitro* est suffisant pour induire la prolifération des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> naïfs et leur différenciation en lymphocytes effecteurs cytotoxiques [27]. De même, des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> stimulés *in vitro* pendant 24 h par l'antigène, puis transférés *in vivo* en absence d'antigène, sont capables de proliférer, de se différencier en cellules effectrices (c'est-à-dire sécré-

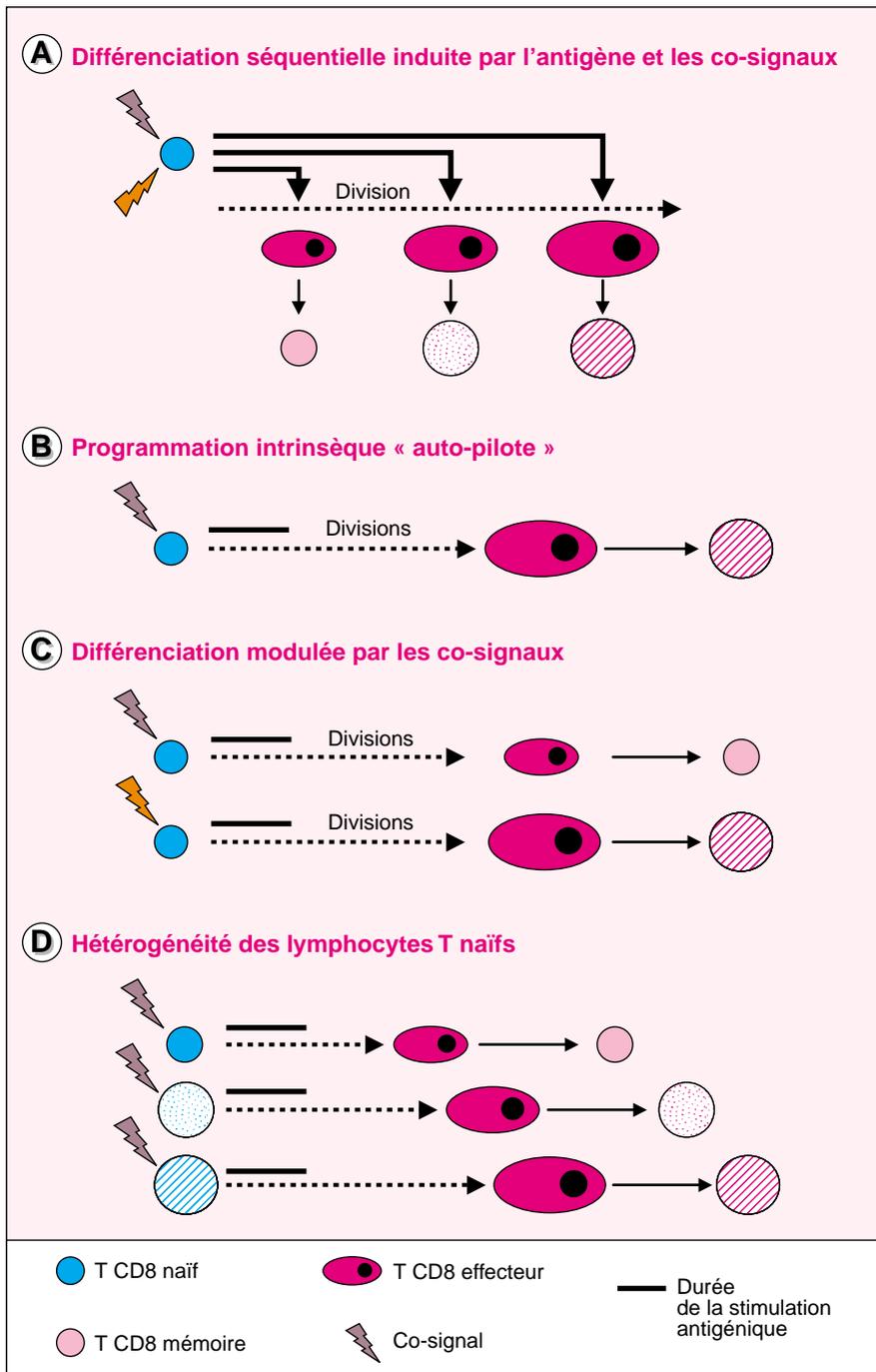


Figure 1. **Différents modèles de production des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire.** Les différents modèles présentés découlent des résultats obtenus dans différents systèmes expérimentaux; ils ne sont pas mutuellement exclusifs. Dans le modèle (A), selon la durée de la stimulation antigénique et le niveau de co-stimulation (état physiologique de la cellule dendritique et cytokines), différents types de lymphocytes T effecteurs seraient engendrés qui donneraient ensuite naissance à différents types de lymphocytes T mémoire. Dans le modèle (B), une très courte période de stimulation par l'antigène serait suffisante pour induire l'activation des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, étape après laquelle ils seraient capables d'enclencher un programme de différenciation « auto-piloté », c'est-à-dire ne nécessitant plus la présence de l'antigène, pour se différencier en cellule effectrice puis en lymphocyte mémoire. Dans ce modèle, un seul type de population mémoire serait engendré. Dans le modèle (C), à la suite de la stimulation par l'antigène, les lymphocytes T seraient conduits à emprunter des voies de différenciation indépendantes selon la nature des co-signeaux (type de cellule présentatrice, contexte cytokinique) présents durant la phase de stimulation. Dans le modèle (D) les lymphocytes T naïfs seraient physiologiquement hétérogènes avant la rencontre avec l'antigène en fonction de leur TCR. À la suite d'une stimulation antigénique dans des conditions expérimentales données, ils engendreraient différents types de cellules effectrices et mémoire. Les modèles A, C et D permettent d'expliquer la production de différentes populations de lymphocytes T CD8 mémoire.

tant de l'IFN- $\gamma$ ) et de produire des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire [28]. Ces auteurs montrent également qu'en faisant varier la dose d'antigène utilisée pour activer les cellules *in vitro*, ils n'influencent pas le nombre de divisions effectuées par les cellules mais plutôt la fréquence de cellules capable de se diviser. En d'autres termes, la dose d'antigène utilisée module le nombre de cel-

lules T CD8 recrutées. Cependant, les cellules recrutées se divisent de la même façon quelle que soit la dose d'antigène présente. L'ensemble de ces résultats a conduit au modèle de différenciation programmée proposé par R. Ahmed [28]. Dans ce modèle, après une stimulation brève par l'antigène, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> activés seraient capables de mettre en place un programme de différen-

ciation complet de la cellule naïve vers la cellule effectrice et enfin la cellule mémoire (figure 1B). Dans ce cas, il n'y aurait pas d'intermédiaire de différenciation mais plusieurs destins possibles pour la cellule naïve à la suite de l'activation par l'antigène: la différenciation programmée en effecteur puis en cellule mémoire ou, le cas échéant, l'anergie ou la mort programmée. Ce

modèle ne permet cependant pas d'expliquer comment des lymphocytes T mémoire de phénotype différents (*voir plus haut*) peuvent être engendrés. Une possibilité pourrait être que suivant les conditions dans lesquelles l'antigène est présenté aux lymphocytes T naïfs pendant la période de stimulation initiale (type de cellules présentatrices, type et quantité de cytokines présentes dans le milieu), le programme de différenciation suivi par les cellules T soit différent. En faveur de cette hypothèse, Huang *et al.* ont récemment montré que suivant les cytokines (IL-4 ou IL-2) présentes dans le milieu de culture des lymphocytes T CD8 activés *in vitro* avec l'antigène pouvaient ensuite acquérir ou non l'expression de CD122 et persister à long terme lorsqu'ils étaient transférés dans des receveurs syngéniques (*figure 1C*) [29]. Une autre possibilité serait que, suivant le TCR qu'ils expriment, les lymphocytes T naïfs sont dans un état physiologique différent qui les prédispose à engendrer, à la suite d'une stimulation antigénique, différents types de lymphocytes T effecteurs et mémoire (*figure 1D*). Cette hypothèse résulte entre autre de la différence de comportement des clones de lymphocytes T CD8 transgéniques lorsqu'on les transfère chez un hôte dont le système immunitaire est déplété (souris *Rag<sup>-/-</sup>* ou souris irradiées). Certains sont en effet capables de prolifération homéostatique (*voir plus loin*) et d'autres pas [22]. Les bases d'une telle hétérogénéité pourraient être diverses. Un des paramètres pourrait être la disponibilité plus ou moins importante de complexes CMH-peptide du soi capables d'interagir avec le TCR des cellules naïves. Cette interaction est essentielle à la survie des cellules naïves, mais conduirait également au maintien d'un métabolisme glycolytique plus important de ces cellules [30] qui pourrait favoriser leur activation par l'antigène chez un hôte normal ou leur prolifération homéostatique chez un hôte dont le système immunitaire est déplété.

La « prolifération homéostatique » est un phénomène qui peut être mis en évidence lorsque des lymphocytes T naïfs sont transférés en petites quantités chez des hôtes lymphopéniques.

Dans ces conditions, il a en effet été montré que ces cellules prolifèrent lentement et acquièrent progressivement un phénotype de lymphocytes T mémoire CD44<sup>high</sup> CD122<sup>+</sup> et des fonctions effectrices [20, 31, 32] bien que ces dernières semblent moins fortes que celles de cellules effectrices engendrées à la suite d'une stimulation par l'antigène [20]. Cette différenciation homéostatique est dépendante de cytokines comme l'IL-7 ou l'IL-15 [33-35] et également de l'interaction du TCR des cellules T avec les complexes CMH-peptide du soi ayant servi à les sélectionner positivement dans le thymus [36, 37]. Chez des hôtes irradiés, cette prolifération homéostatique combinée à la production de nouveaux lymphocytes naïfs permet de reconstituer un nombre normal de lymphocytes [32]. Dans certains cas, le phénotype et la fonction de type mémoire des cellules CD8 semblent perdurer [20, 31] alors que dans d'autres les lymphocytes T mémoire réacquièrent les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles de cellules naïves [32]. Cette « dédifférenciation » est corrélée avec la reconstitution du système immunitaire de l'hôte.

L'existence de cette voie de différenciation soulève deux questions importantes. La première concerne son rôle. Dans une situation physiologique, la prolifération homéostatique pourrait permettre lors de lymphopénies transitoires induites par une infection virale ou un stress, de régénérer des cellules naïves à partir des cellules mûres résiduelles à la périphérie. De plus, les fonctions effectrices développées par ces cellules pourraient, pendant la phase de lymphopénie, participer au contrôle d'éventuelles infections par des virus exogènes ou latents. En effet, chez des souris génétiquement modifiées (souris *CD25<sup>-/-</sup>* ou transgénique pour l'IL-15), la sous-population de cellules CD44<sup>high</sup> CD122<sup>+</sup> qui s'accumule à la suite de ces modifications permet de contrôler une infection par le virus HSV2 (*herpes simplex virus de type 2*) ou la bactérie *Listeria monocytogenes* [38, 39]. Ce phénomène n'est pas associé à une activation de lymphocytes T spécifiques de l'antigène mais résulterait plutôt de la production précoce d'IFN- $\gamma$  par les cellules CD44<sup>high</sup> CD122<sup>+</sup> en réponse aux cyto-

kines, IL-15 et IL-12, produites à la suite de l'infection. Ces résultats suggèrent que certains lymphocytes T CD44<sup>high</sup> CD122<sup>+</sup> participent à la réponse immunitaire contre les pathogènes mais par des mécanismes plutôt propres à l'immunité innée. Ils n'excluent cependant pas que dans d'autres conditions expérimentales cette sous-population de cellules à phénotype mémoire réponde de manière spécifique de l'antigène ou alternativement que d'autres sous-populations de cellules mémoire ayant un phénotype membranaire identique réponde de cette manière. Les données actuelles sont trop partielles pour pouvoir trancher ces questions.

La seconde question concerne la contribution de la différenciation homéostatique à la production de la population de cellules à phénotype CD44<sup>high</sup> CD122<sup>+</sup> chez des individus normaux. En d'autres termes, quelle proportion de la population de cellules ayant ce phénotype correspond en fait à des cellules n'ayant jamais vu l'antigène pour lequel elles sont spécifiques et donc pas à des cellules mémoire ? Ces questions représentent un des enjeux majeurs dans le domaine de la mémoire immunitaire. En effet, elles impliquent non seulement d'identifier les paramètres autres que l'antigène conduisant à la production de ces cellules CD8 CD44<sup>high</sup> CD122<sup>+</sup> (cytokines, NKR inhibiteurs) mais également de comprendre la fonction de ces différents types de cellules dans la réponse immune et dans l'homéostasie lymphocytaire.

## Persistence des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire

Plusieurs facteurs influencent la survie des cellules mémoire : l'antigène, le CMH et les cytokines (*Tableau III*). Le rôle de l'antigène dans la persistance des lymphocytes T CD8 mémoire a été controversé pendant de nombreuses années. En effet, même en utilisant un critère de mesure identique (c'est-à-dire la protection contre une infection par un virus) pour mesurer la mémoire, selon les systèmes expérimentaux la persistance de l'antigène était plus ou moins indispensable à l'établisse-

**Tableau III.** Différents facteurs influençant la persistance des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoire.

|           | T CD8 naïfs | T CD8 mémoire |
|-----------|-------------|---------------|
| Antigène  | -           | +/-           |
| TCR/CMH   | ++          | +/-           |
| Cytokines | IL-7        | IL-7/IL-15    |

ment d'une protection à long terme. Par exemple, dans le cas du virus LCMV (virus de la chorioméningite lymphocytaire), la protection est dépendante de la persistance de l'antigène ou pas en fonction du site de re-infection [40]. Ces résultats pourraient s'expliquer si, en fonction du site d'infection, la protection résultait de la présence de différentes sous-populations de cellules mémoire dont les fonctions effectrices, la localisation au sein de l'organisme ou la survie serait plus ou moins dépendante de la persistance de l'antigène. Cette hypothèse est soutenue par l'hétérogénéité des cellules mémoire anti-LCMV du point de vue de leurs fonctions effectrices. En effet, certaines cellules CD8 spécifiques du LCMV nécessitent une re-stimulation *in vitro* pour acquérir la fonction cytolytique alors que d'autres ont cette fonction directement *ex vivo* [10, 41]. Ce dernier type de lymphocytes mémoire pourrait être capable de combattre très rapidement le virus quel que soit le site d'infection. Ce point est renforcé par les données du groupe de Lefrançois qui a montré qu'une sous-population de lymphocytes T CD8 mémoire similaire (c'est-à-dire possédant une activité cytolytique immédiate *ex vivo*) était maintenue principalement dans les tissus non lymphoïdes [19]. Cependant, la dépendance de ces cellules vis-à-vis de l'antigène pour leur persistance n'a pas été définie.

Une autre approche pour évaluer la persistance de la mémoire a été de mesurer la stabilité de la taille de la population de cellules à phénotype mémoire ou sa prolifération. Le rôle du TCR et de différentes cytokines dans le contrôle de ces paramètres a été étudié. Ces expériences ont permis de montrer que les lymphocytes T mémoire étaient peu ou pas dépendants d'un engagement de leur TCR par les complexes CMH-peptide contrairement aux lymphocytes T CD8 naïfs [42, 43]. Ces résultats

confirment l'existence de sous-populations de cellules mémoire ayant une persistance indépendante de l'antigène. Dans le cas de l'infection par le LCMV, il a également été montré que ces cellules T CD8 mémoire pouvaient combattre efficacement l'infection si le virus était injecté par voie intrapéritonéale [40].

Finalement, différentes cytokines sont impliquées dans l'homéostasie des cellules T CD8 mémoire. L'IL-15 est essentielle à la persistance des cellules T CD8 mémoire mais pas des lymphocytes T CD8 naïfs. En particulier, les cellules de type CD8<sup>+</sup>CD44<sup>high</sup>CD122<sup>+</sup> sont absentes des souris *IL15*<sup>-/-</sup> ou *IL15R $\alpha$* <sup>-/-</sup> [44, 45], ce qui montre qu'une stimulation chronique par cette cytokine est nécessaire pour leur survie. *In vivo*, cette cytokine induit une prolifération lente de cette population de cellules mémoire qui est en partie inhibée par l'IL-2 [33, 46]. L'IL-7 participe également au maintien des cellules T CD8 mémoire mais, contrairement à l'IL-15, cette cytokine agit également sur les lymphocytes CD8 naïfs [35]. Différentes sous-populations de cellules mémoire pourraient être dépendantes de différentes cytokines pour leur survie et donc leur persistance. Par exemple, chez les souris transgéniques pour le TCR F5, les cellules de type CD44<sup>int</sup>CD122<sup>-</sup> qui sont engendrées par l'immunisation avec le peptide spécifique ont une durée de vie comparable à celle de cellules T naïves. En revanche, les cellules CD8 CD44<sup>high</sup>CD122<sup>+</sup> engendrées de façon dépendante ou non de l'antigène chez les mêmes souris persistent à long terme. L'acquisition de la chaîne  $\beta$  du récepteur de l'IL-15 (CD122) semble corrélée avec la persistance à long terme des lymphocytes T CD8 mémoire. Des données récentes suggèrent que les cytokines présentes au cours de la réponse à l'antigène des lymphocytes T effecteurs influencent l'expression de cette chaîne par les cellules mémoire

qui en dérivent [29]. Ces résultats impliquent que, pour un antigène donné, les conditions d'immunisation pourraient influencer le type de population de lymphocytes T CD8 mémoire engendrée et donc la persistance de la mémoire. L'identification des paramètres permettant l'expression du récepteur de l'IL-15 à la surface des cellules CD8 mémoire pourrait donc peut-être permettre d'améliorer dans certains cas la persistance des cellules CD8 mémoire.

## Conclusions

En conclusion, l'existence de différentes sous-populations de lymphocytes T CD8 mémoire est clairement établie. Il reste maintenant à définir non seulement les caractéristiques fonctionnelles de ces cellules mais aussi les conditions nécessaires à leur production et à leur persistance. La tâche la plus importante d'un point de vue médical reste néanmoins de définir le rôle plus ou moins protecteur de ces sous-populations de CD8 mémoire vis-à-vis de différents pathogènes ■

## RÉFÉRENCES

- Ahmed R, Gray D. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science* 1996; 272: 54-60.
- Lau LL, Jamieson BD, Somasundaram T, Ahmed R. Cytotoxic T-cell memory without antigen. *Nature* 1994; 369: 648-52.
- Murali-Krishna K, Altman JD, Suresh M, et al. Counting antigen-specific CD8 T cells: a reevaluation of bystander activation during viral infection. *Immunity* 1998; 8: 177-87.
- Dubois PM, Pihlgren M, Tomkowiak M, Van Mechelen M, Marvel J. Tolerant CD8 T cells induced by multiple injections of peptide antigen show impaired TCR signaling and altered proliferative responses *in vitro* and *in vivo*. *J Immunol* 1998; 161: 5260-7.
- Bell EB, Sparshott SM. Interconversion of CD45R subsets of CD4 T cells *in vivo*. *Nature* 1990; 348: 163-6.
- Budd RC, Cerottini JC, MacDonald HR. Phenotypic identification of memory cytolytic T lymphocytes in a subset of Lyt-2<sup>+</sup> cells. *J Immunol* 1987; 138: 1009-13.
- Walunas TL, Bruce DS, Dustin L, Loh DY, Bluestone JA. Ly-6C is a marker of memory CD8<sup>+</sup> T cells. *J Immunol* 1995; 155: 1873-83.
- Beverly PC. Human T cell subsets. *Immunol Lett* 1987; 14: 263-7.

## RÉFÉRENCES

9. Tanchot C, Guillaume S, Delon J, *et al.* Modifications of CD8<sup>+</sup> T cell function during *in vivo* memory or tolerance induction. *Immunity* 1998; 8: 581-90.
10. Bachmann MF, Barner M, Viola A, Kopf M. Distinct kinetics of cytokine production and cytotoxicity in effector and memory T cells after viral infection. *Eur J Immunol* 1999; 29: 291-9.
11. Cho BK, Wang C, Sugawa S, Eisen HN, Chen J. Functional differences between memory and naive CD8 T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2976-81.
12. Pihlgren M, Arpin C, Walzer T, *et al.* Memory CD44<sup>int</sup> CD8 T cells show increased proliferative responses and IFN $\gamma$  production following antigenic challenge *in vitro*. *Int Immunol* 1999; 11: 699-706.
13. Zimmermann C, Prevost-Blondel A, Blasler C, Pircher H. Kinetics of the response of naive and memory CD8 T cells to antigen: similarities and differences. *Eur J Immunol* 1999; 29: 284-90.
14. Walzer T, Joubert G, Dubois PM, *et al.* Characterization at the single-cell level of naive and primed CD8 T cell cytokine responses. *Cell Immunol* 2000; 206: 16-25.
15. Pihlgren M, Dubois P, Tomkowiak M, Sjögren T, Marvel J. Resting memory CD8<sup>+</sup> T cells are hyperreactive to antigenic challenge *in vitro*. *J Exp Med* 1996; 184: 2141-51.
16. Curtsinger JM, Lins DC, Mescher MF. CD8<sup>+</sup> memory T cells (CD44<sup>high</sup>, Ly-6C<sup>+</sup>) are more sensitive than naive cells (CD44<sup>low</sup>, Ly-6C<sup>-</sup>) to TCR/CD8 signaling in response to antigen. *J Immunol* 1998; 160: 3236-43.
17. Sallusto F, Lenig D, Forster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999; 401: 708-12.
18. Lanzavecchia A, Sallusto F. Dynamics of T lymphocyte responses: intermediates, effectors, and memory cells. *Science* 2000; 290: 92-7.
19. Masopust D, Vezys V, Marzo AL, Lefrançois L. Preferential localization of effector memory cells in nonlymphoid tissue. *Science* 2001; 291: 2413-7.
20. Murali-Krishna K, Ahmed R. Cutting edge: naive T cells masquerading as memory cells. *J Immunol* 2000; 165: 1733-7.
21. Kambayashi T, Assarsson E, Michaelsson J, *et al.* Emergence of CD8<sup>+</sup> T cells expressing NK cell receptors in influenza A virus-infected mice. *J Immunol* 2000; 165: 4964-9.
22. Surh CD, Sprent J. Homeostatic T cell proliferation: how far can T cells be activated to self-ligands? *J Exp Med* 2000; 192: F9-F14.
23. Anfossi N, Pascal V, Vivier E, Ugolini S. Biology of Tm1 cells. *Immunol Rev* 2001; 181 (sous presse).
24. Ugolini S, Arpin C, Anfossi N, *et al.* Involvement of NKR1 in the survival of Tm1 cells, a NKR1<sup>+</sup> subset of memory-phenotype CD8<sup>+</sup> T cells. *Nat Immunol* 2001; 2: 430-5.
25. Jacob J, Baltimore D. Modelling T-cell memory by genetic marking of memory T cells *in vivo*. *Nature* 1999; 399: 593-7.
26. Opferman JT, Ober BT, Ashton-Rickardt PG. Linear differentiation of cytotoxic effectors into memory T lymphocytes. *Science* 1999; 283: 1745-8.
27. van Stipdonk MJB, Lemmens EE, Schoenberger SP. Naive CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation. *Nat Immunol* 2001; 2: 423-9.
28. Kaech SM, Ahmed R. Memory CD8<sup>+</sup> T cell differentiation: initial antigen encounter triggers a developmental program in naive cells. *Nat Immunol* 2001; 2: 415-22.
29. Huang LR, Chen FL, Chen YT, Lin YM, Kung JT. Potent induction of long-term CD8<sup>+</sup> T cell memory by short-term IL-4 exposure during T cell receptor stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3406-11.
30. Rathmell JC, Vander Heiden MG, Harris MH, Frauwirth KA, Thompson CB. In the absence of extrinsic signals, nutrient utilization by lymphocytes is insufficient to maintain either cell size or viability. *Mol Cell* 2000; 6: 683-92.
31. Cho BK, Rao VP, Ge Q, Eisen HN, Chen J. Homeostasis-stimulated proliferation drives naive T cells to differentiate directly into memory T cells. *J Exp Med* 2000; 192: 549-56.
32. Goldrath AW, Bogatzki LY, Bevan MJ. Naive T cells transiently acquire a memory-like phenotype during homeostasis-driven proliferation. *J Exp Med* 2000; 192: 557-64.
33. Ku CC, Murakami M, Sakamoto A, *et al.* Control of homeostasis of CD8<sup>+</sup> memory T cells by opposing cytokines. *Science* 2000; 288: 675-8.
34. Tan JT, Dudl E, Leroy E, *et al.* IL-7 is critical for homeostatic proliferation and survival of naive T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8732-7.
35. Schluns KS, Kieper WC, Jameson SC, Lefrançois L. Interleukin-7 mediates the homeostasis of naive and memory CD8 T cells *in vivo*. *Nat Immunol* 2000; 1: 426-32.
36. Goldrath AW, Bevan MJ. Low-affinity ligands for the TCR drive proliferation of mature CD8<sup>+</sup> T cells in lymphopenic hosts. *Immunity* 1999; 11: 183-90.
37. Ernst B, Lee DS, Chang JM, Sprent J, Surh CD. The peptide ligands mediating positive selection in the thymus control T cell survival and homeostatic proliferation in the periphery. *Immunity* 1999; 11: 173-81.
38. Yajima T, Nishimura H, Ishimitsu R, *et al.* Memory phenotype CD8<sup>(+)</sup> T cells in IL-15 transgenic mice are involved in early protection against a primary infection with *Listeria monocytogenes*. *Eur J Immunol* 2001; 31: 757-66.
39. Tsunobuchi H, Nishimura H, Goshima E, *et al.* Memory-type CD8<sup>+</sup> T cells protect IL-2 receptor alpha-deficient mice from systemic infection with herpes simplex virus type 2. *J Immunol* 2000; 165: 4552-60.
40. Kundig TM, Bachmann MF, Oehen S, *et al.* On the role of antigen in maintaining cytotoxic T-cell memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9716-23.
41. Selin LK, Welsh RM. Cytolytically active memory CTL present in lymphocytic choriomeningitis virus-immune mice after clearance of virus infection. *J Immunol* 1997; 158: 5366-73.
42. Murali-Krishna K, Lau LL, Sambhara S, *et al.* Persistence of memory CD8 T cells in MHC class I-deficient mice. *Science* 1999; 286: 1377-81.
43. Tanchot C, Lemonnier FA, Perarnau B, Freitas AA, Rocha B. Differential requirements for survival and proliferation of CD8 naive or memory T cells. *Science* 1997; 276: 2057-62.
44. Lodolce JP, Boone DL, Chai S, *et al.* IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation. *Immunity* 1998; 9: 669-76.
45. Kennedy MK, Glaccum M, Brown SN, *et al.* Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice. *J Exp Med* 2000; 191: 771-80.
46. Zhang X, Sun S, Hwang I, *et al.* Potent and selective stimulation of memory-phenotype CD8<sup>+</sup> T cells *in vivo* by IL-15. *Immunity* 1998; 8: 591-9.

## Summary

### Phenotype and functions of memory CD8 T cells

Immunological memory is the capacity of the immune system to respond faster and more efficiently against an antigen it has encountered in the past. T cell memory results not only from an increase in the frequency of antigen specific T lymphocytes but also from the enhanced responsiveness of primed cells. Different subsets of memory CD8 T cells have recently been described. Current knowledge on the phenotype of these cells as well as on the conditions leading to their generation and survival will be reviewed in this paper.

## TIRÉS À PART

J. Marvel.