

Lymphocytes T4 et T8

Le sang périphérique est un lieu de passage pour les lymphocytes ; on y trouve les trois lignées T, B et NK à divers niveaux de différenciation, mais toujours au stade mature.

Les lymphocytes T constituent 70 à 85 % des lymphocytes sanguins totaux, les lymphocytes T CD4 sont les plus représentés (50 % des lymphocytes totaux), le reste est constitué par les lymphocytes T CD8 (25 à 50 % des lymphocytes totaux).

La cytométrie en flux (CMF) permet l'identification et l'évaluation des différentes sous-populations lymphocytaires. L'utilisation d'anticorps monoclonaux directement couplés aux fluorochromes permet la reconnaissance d'un déterminant antigénique à la surface des cellules.

Les antigènes membranaires ont été groupés en classes de différenciation ou CD. À chaque classe correspond une réactivité particulière.

Les lymphocytes T sont des cellules hétérogènes, d'importance majeure dans la réponse immunitaire. Ils sont issus de la cellule souche CD34 et se différencient dans le thymus où ils acquièrent séquentiellement plusieurs antigènes (CD7, CD3, CD2, CD5, CD4, CD8...) dont le profil d'expression est la base de leur classification. Les marqueurs CD7, CD3, CD2, CD5 sont exprimés sur tous les lymphocytes T matures, et pendant toute leur durée de vie, on les appelle les marqueurs pan-T. Parmi eux, le CD3 est le seul spécifique, aussi est-il le plus couramment utilisé pour définir l'appartenance d'une cellule à cette lignée ; il fait partie intégrante du complexe du récepteur T (TCR) mis en jeu dans la reconnaissance de l'antigène et l'activation des lymphocytes T.

En dehors du thymus, la majorité des lymphocytes T expriment soit CD4, soit CD8, mais ces deux antigènes sont retrouvés simultanément présents ou absents sur de rares populations à l'état normal.

Les lymphocytes T qui sortent du thymus sont naïfs et au repos ils n'ont pas encore rencontré l'antigène ; ils donnent ensuite naissance à des lymphocytes mémoires T mémoire-activés qui patrouillent l'organisme à la recherche de l'antigène et l'éliminent le cas échéant. Ces lymphocytes sont identifiables par l'expression différentielle d'antigènes comme CD45RA (naïfs), CD45RO (mémoires).

Le CD4 définit, dans le sang périphérique, une sous-population de lymphocytes T appelés auxiliaires ou *helpers/inducers* (lymphocytes T4). La molécule est pré-

sente en très faible quantité sur les monocytes sanguins, les macrophages et certaines cellules dendritiques. C'est le récepteur des molécules HLA de classe II des cellules présentant l'antigène. Il est utilisé comme récepteur cellulaire de haute affinité par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ; une interaction spécifique ayant lieu entre la glycoprotéine d'enveloppe gp 120 du VIH et la molécule CD4.

Il est important de rechercher les lymphocytes T CD4 par un double marquage avec CD3 pour ne pas compter les monocytes également CD4 positifs.

La molécule CD8 correspond à une sous-population de lymphocytes thymodépendants définis comme cytotoxiques/suppresseurs. Cet antigène se fixe aux molécules HLA de classe I, ce qui se traduit par une augmentation de l'adhésion entre les lymphocytes T CD8 et les cellules cibles. Cette fixation facilite aussi l'activation des lymphocytes T au repos.

De même, les lymphocytes T CD8 doivent vérifier la condition CD3+ CD8+ afin de ne pas inclure les lymphocytes NK (CD3-/CD8+) qui expriment aussi CD8 à des niveaux faibles.

La technique utilisée est basée le plus souvent sur le principe de quadruple marquage avec un seul tube CD4/CD8/CD3/CD45. Celui-ci se fait directement sur le sang total ; il est suivi d'une étape de lyse des globules rouges avant analyse sur le cytomètre.

L'utilisation du CD45, marqueur pan-leucocytaire exprimé fortement par les lymphocytes, permet de sélectionner la population à étudier et d'éliminer les interférences dues aux érythroblastes, aux hématies mal lysées et aux débris cellulaires.

Les résultats sont rendus en pourcentage et en valeurs absolues. Bien qu'il n'y ait pas d'obligation, il est recommandé de réaliser la numération en simple plateforme plus précise : l'évaluation en pourcentage et en valeurs absolues a lieu en CMF grâce à des billes de calibration, contrairement à la technique double plateforme où l'analyse se fait sur deux automates : un compteur de cellules pour la numération en valeur absolue des lymphocytes et un cytomètre pour l'évaluation du pourcentage des différentes sous-populations. Cette technique donne des résultats moins précis car les erreurs de mesure sur les deux automates peuvent s'additionner ; elle reste cependant très largement utilisée.

On notera que les populations lymphocytaires du sang périphérique varient selon un rythme nyctéméral, en particulier les lymphocytes T CD4, qui atteignent une valeur minimale vers 8 heures le matin.

Les valeurs normales sont décrites dans le tableau 7.

Tableau 7. Valeurs normales des lymphocytes

Âge	< 6 mois	1 à 2 ans	3 à 4 ans	5 à 13 ans	Adultes
Lymphocytes/mm ³	2 500–13 500	4 000–9 000	2 500–8 000	1 800–5 000	1 300–3 000
Lymphocytes CD3/mm ³	2 300–7 900	1 500–6 000	1 000–4 400	1 000–2 800	900–1 900
Lymphocytes CD4+ /mm ³	1 500–5 100	800–4 000	600–3 000	600–1 700	500–1 200
Lymphocytes CD8+ /mm ³	600–2 500	500–2 000	200–1 800	300–1 400	300–800

Déficit immunitaire acquis : numération des CD4 chez les patients VIH

Le déficit quantitatif des lymphocytes T CD4 est l'élément majeur du déficit immunitaire induit par le VIH. Plusieurs mécanismes semblent entrer en jeu dans cette déplétion des CD4. L'effet cytopathogène direct ou indirect du virus est suggéré sans qu'aucune donnée objective de pathogénicité ait pu étayer cette hypothèse. Les cellules T CD4 infectées par le VIH expriment certains de ses antigènes à leur surface et sont la cible de puissantes réponses cytotoxiques spécifiques du virus. L'infection à VIH induit une activation des lymphocytes T en particulier des CD4, qui ont alors une durée de vie raccourcie par des phénomènes d'apoptose responsables de la mort de cellules innocentes. Enfin, associé au déficit quantitatif en lymphocytes T CD4, il existe un déficit fonctionnel caractérisé par un défaut de production d'IL2 et un défaut de fonction auxiliaire de l'immunité à médiation cellulaire (fonction auxiliaire Th1) définissant un état d'anergie des lymphocytes T CD4. Cette anergie a plusieurs origines : l'hyperactivation du système immunitaire et des lymphocytes T CD4 ainsi que la liaison de la gp 120 au CD4. Ces anomalies justifient le développement de l'immunothérapie par IL2 associés aux antirétroviraux.

L'infection par le VIH est caractéristique par son évolution en plusieurs phases. Lors de la primo-infection de quelques semaines associée à une production virale intense, les lymphocytes T4 diminuent transitoirement, puis reviennent à un taux subnormal correspondant à une phase de relative stabilité des lymphocytes T CD4 associée à un contrôle partiel de la réplication virale, alors que les CD8 augmentent et restent élevés. Pendant la phase suivante de latence clinique, de durée variable (quelques mois à plus de 10 ans), les CD4 baissent progressivement, les CD8 restent stables longtemps puis diminuent à leur tour.

Une valeur de CD4 inférieure à 200/mm³ est un critère de sida. À ce stade, la baisse des défenses immunitaires est responsable de la survenue d'infections opportunistes et de tumeurs. La trithérapie a considérablement modifié cette évolution naturelle, les CD4 revenant à des taux subnormaux, d'abord aux dépens des

T mémoires, puis des T naïfs ; ces améliorations durables ne sont cependant pas définitives.

Le taux de CD4 est un paramètre majeur d'évaluation du statut immunitaire des patients VIH. Il sert parmi d'autres marqueurs, comme la charge virale, à décider de la mise en route d'un traitement prophylactique contre diverses infections opportunistes et à définir l'arrêt de ces traitements.

La mesure des CD4 est effectuée au diagnostic et pendant la surveillance de la maladie, tous les 3 à 6 mois selon le stade évolutif ; pour être prise en compte, une variation doit s'observer sur deux prélèvements consécutifs. De nombreuses études ont montré une forte corrélation entre le nombre absolu de cellules CD4+ au moment du diagnostic et le développement ultérieur en sida. Ce risque survient lorsque le nombre absolu de cellules CD4 se situe entre 0 et 500/mm³.

La réponse immunitaire à l'infection à VIH peut se traduire par une augmentation des lymphocytes T CD8, qui n'est pas considérée comme un facteur de mauvais pronostic. Elle annoncerait plutôt une survie prolongée et une survenue plus rare d'infections opportunistes. Ces lymphocytes, tout au long de l'infection, sont considérablement activés, exprimant alors des marqueurs d'activation comme les molécules HLA-DR et le CD38.

Lors d'infections virales intercurrentes, on peut voir une augmentation transitoire des lymphocytes T8. Enfin, une lymphopénie T CD8+ peut se voir en phase évoluée de sida.

Déficits immunitaires primitifs

Les déficits immunitaires primitifs sont habituellement classés en fonction de la lignée atteinte : thymocytes et lymphocytes T, lymphocytes B et agammaglobulinémies, DICS (déficits immunitaires combinés sévères) si atteinte des cellules T et B, déficits en cellules phagocytaires, déficits en diverses molécules (adhésion, récepteurs).

Ces affections sont relativement rares et doivent être suspectées devant des infections à répétition chez un sujet jeune.

Le bilan initial doit comporter une numération formule sanguine, un dosage des différentes classes d'immuno-

globulines et une analyse des sous-populations lymphocytaires avec quantification des populations T CD4, T CD8, B et NK. Il peut également être utile d'évaluer, au sein de la population CD4 et CD8, la présence de lymphocytes T naïfs, mémoires et leur niveau d'activation.

L'exploration des sous-populations lymphocytaires T est souvent informative et des anomalies fonctionnelles des lymphocytes sont fréquemment retrouvées.

Maladies autoimmunes

Le diagnostic et l'exploration des maladies auto-immunes reposent actuellement sur la recherche d'auto-anticorps et également sur l'étude des sous-populations lymphocytaires T du sang périphérique.

Une hyperlymphocytose T CD4 est souvent observée au cours des maladies autoimmunes. Elle intéresse principalement les lymphocytes CD4 mémoire CD4/CD45RO. Elle peut être associée à une diminution des lymphocytes CD8.

Une baisse de la fraction des CD8 suppresseurs a été constatée dans la sclérose en plaques, le lupus érythémateux disséminé, le syndrome d'hyper-IgE, l'eczéma atopique sévère, la maladie de Kawasaki et les anémies hémolytiques autoimmunes.

Variations des sous-populations lymphocytaires T lors des infections et de certains traitements

Les infections bactériennes, en particulier la brucellose et la tuberculose, ainsi que l'infection à *Cryptococcus* peuvent entraîner une diminution durable des lymphocytes T CD4+. Certaines thérapeutiques entraînent une lymphopénie T CD4+ : drogues cytotoxiques telles que carboplatine, épirubicine, méthotrexate, pentostatine utilisées dans le traitement de la leucémie à tricholeucocytes ; la fludarabine peut aussi accroître le risque d'infections opportunistes ; les corticoïdes, les interférons et les opiacés peuvent également induire une lymphopénie T CD4+.

Une augmentation des lymphocytes T8 témoigne d'une activation du système immunitaire. Elle peut être observée au cours des infections virales, des rejets de greffe, du syndrome de fatigue chronique.

VIH

 Carcelain G, Autran B.
Mécanismes immunopathologiques de l'infection à VIH.
In : Girard PM, Katlama C, Pialoux G.
Sida.
Paris : Doin, 1998 ; pp. 21-34.
Ronot X, Grunwald D, Mayol JF, Boutonnat J.
La cytométrie en flux.
Paris : Lavoisier, 2006 ; 457 p.