

Cours d'Immunologie n°2
Jeudi 31 Janvier 2008 de 8h30 à 10h30
Professeur: Hèlène Moins-Teisserenc
Ronéotypeuse: Charlotte WEMMERT

Complexe Majeure D'Histocompatibilité

*Toutes les diapos du cours sont disponibles sur le
site de Clément:
<http://clement.ad.free.fr/fac/fac.html>*

Plan du cours

I- Introduction

- A-CMH= Complexe Majeur D'Histocompatibilité
- B-Bases génétiques du rejet de greffe

II-Généétique

- A-Description du système HLA
- B-Caractéristiques du système HLA
- C-Polymorphisme des molécules du CMH
- D-HLA: nomenclature
- E-Codominance et transmission par haplotype

III-Fonctions du CMH

- A-Structure du CMH
- B-Présentation antigénique
- C-Les deux types de récepteurs
- D-Phénomène de restriction allogénique
- E-Géométrie de la cavité présentatrice
- F-Les molécules du CMH sont une cible des pathogènes pour échapper à la réponse immune
- G-Intéraction cellules cibles/lymphocytes T CD8+

IV-Apprêtement antigénique

- A-Apprêtement des antigènes pour une fixation sur les molécules HLA de classe I
- B-Apprêtement des antigènes pour une fixation sur les molécules HLA de classe II
- C-Caractéristiques de la présentation antigénique

V-Sélection thymique

VI-Immuno-surveillance par les NK

VII-Immunologie des greffes

- A-Greffe et réponse allogénique
- B-Immunologie des greffes
- C-Greffe de moëlle

VIII-HLA et maladies

I- Introduction

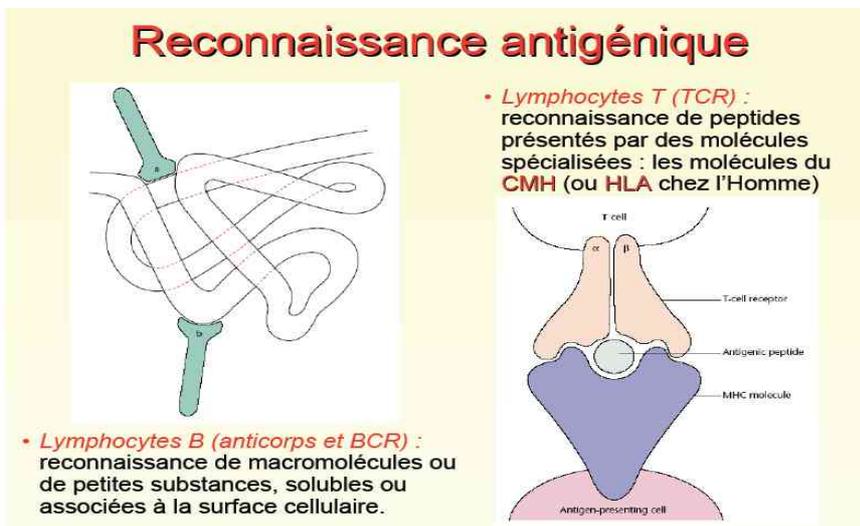
Le CMH a un rôle **dans le mécanisme de rejet et dans le mécanisme de la prise de greffe.**

L'organisme a 3 possibilités de se défendre contre un pathogène qui va l'affecter :

- **la barrière physico-chimique** : la peau, les muqueuses, le pH acide dans l'estomac par exemple.
- **l'immunité innée** qui correspond à l'activation d'un certain nombre de cellules qui, à chaque fois qu'elles rencontrent un pathogène, vont se «comporter» toujours de la même manière pour éliminer ce pathogène (macrophages, les cellules Natural Killer).
- **l'immunité adaptative ou spécifique** qui, elle, a pour caractéristique l'établissement d'une mémoire (principe de vaccination: on fait une injection, ce qui permet la mise en place d'une immunité mémoire. A la suite d'une deuxième rencontre avec le même antigène, la réponse immunitaire sera plus rapide et plus importante).

Pour la réponse spécifique ou innée, on a deux types de récepteurs qui permettent de reconnaître de manière spécifique des antigènes étrangers mais aussi des antigènes du soi.

- On a des **lymphocytes B** qui expriment à leur surface des **immunoglobulines de surface** qu'on appelle **BCR**. Lorsque ces immunoglobulines sont sécrétées, cela donne des anticorps.
- On a également des **lymphocytes T** qui ont un **récepteur T** pour l'antigène



A- CMH = Complexe Majeur d'Histocompatibilité

- **Complexe**: il s'agit d'un ensemble de gènes présents au niveau du bras court du chromosome 6 chez l'homme. Il s'agit d'un ensemble de plus de 200 gènes qui codent pour des produits très divers.

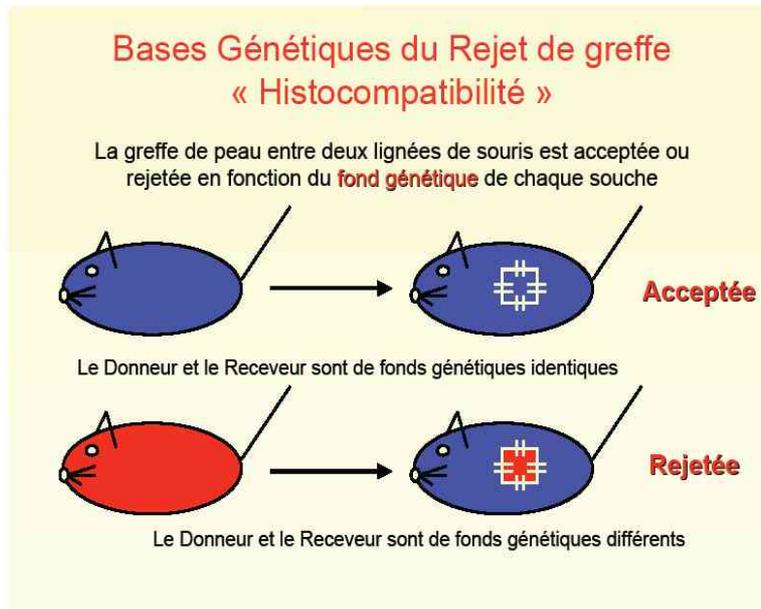
Il s'agit de la première région du génome humain qui a été séquencée.

- **Majeur:** les produits codés par les gènes sont à l'origine de différences allogéniques importantes entre individus de la même espèce.

Allogénie: réponses immunitaires qui se passent entre sujets de la même espèce (ex: lorsque l'on greffe un individu A avec un organe d'un individu B, on va avoir une réaction de type allogénique).

- **Histocompatibilité:** à l'origine de phénomènes de rejet de greffe entre sujets incompatibles.

B-Bases génétiques du Rejet de Greffe



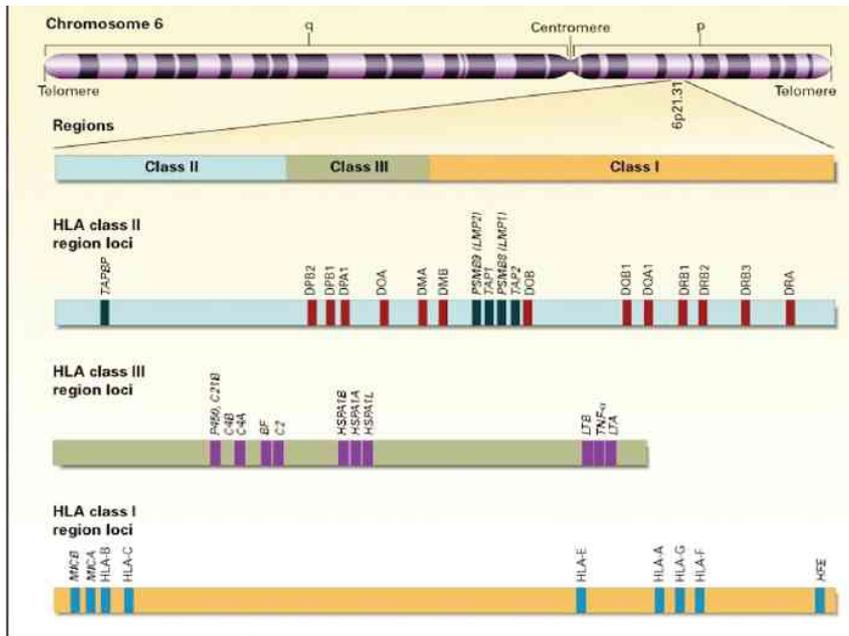
On s'est aperçu dès les années trente que lorsque l'on a deux souris de laboratoire qui ont un fond génétique identique et que l'on fait une greffe de peau d'une souris bleue dans l'exemple à une autre souris bleue, la greffe de peau est acceptée.

Par contre, lorsque donneur et receveur sont de fonds génétiques différents, la greffe de peau était rejetée.

Lorsque l'on s'est aperçu de ce phénomène, on a cherché à comprendre pourquoi la greffe était rejetée dans certains cas et dans d'autres non: on a alors compris que **l'on avait un système de protéines codées par des gènes qui déterminait si la greffe allait être rejetée ou pas = CMH** (appelé système H2 chez la souris et HLA chez l'homme).

II- Génétique

A-Description du système HLA



Sur le bras court du chromosome 6, on a 3 régions qui codent pour un ensemble de gènes:

- ***HLA de classe I***: on a plusieurs loci et l'on va s'intéresser ici tout particulièrement au **locus A, B et C**.

Ces 3 gènes vont coder pour la **chaîne α de la molécule HLA**.

=> on a donc d'emblée 3 molécules d'HLA de classe I potentielles qui vont être produites

Comme on a 2 chromosomes, on a donc au total **6 molécules d'HLA de classe I qui peuvent être produites** (2 molécules HLA-A, 2 molécules HLA -B, et 2 molécules d'HLA-C).

- on a ensuite la région ***HLA de classe II***, avec la région qui va codée pour la **HLA-DR**: la chaîne α va être codée par le gène DRA et la chaîne β va être codée par le gène DRD1.

Remarque : on a donc 2 chaînes pour la classe II mais on a également 2 chaînes pour la classe I mais la chaîne β pour la classe I est codée par un autre chromosome.

On a d'autres molécules HLA de classe II comme la molécule HLA-DQ codée par les gènes DQA1 et DQB1, ainsi que la molécule DPB1 et DPBA

=> **on a 4 différentes molécules HLA de classe II**

- ***HLA de classe III***: ne contient pas à proprement dit les gènes du CMH. Les gènes de cette région codent pour des protéines qui sont importantes dans l'immunité:
 - **protéines qui constituent la fraction du complément**
 - gènes qui codent pour les « ***hitch-hock protein*** », qui sont importantes dans les phénomènes d'immunité.

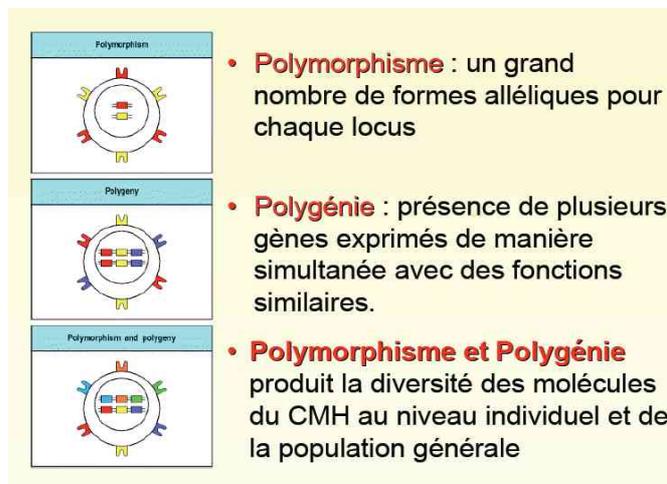
On a également d'autres gènes:

-gènes de structure des molécules d'HLA

-gènes qui codent pour des molécules qui vont aider à la fonction des molécules HLA

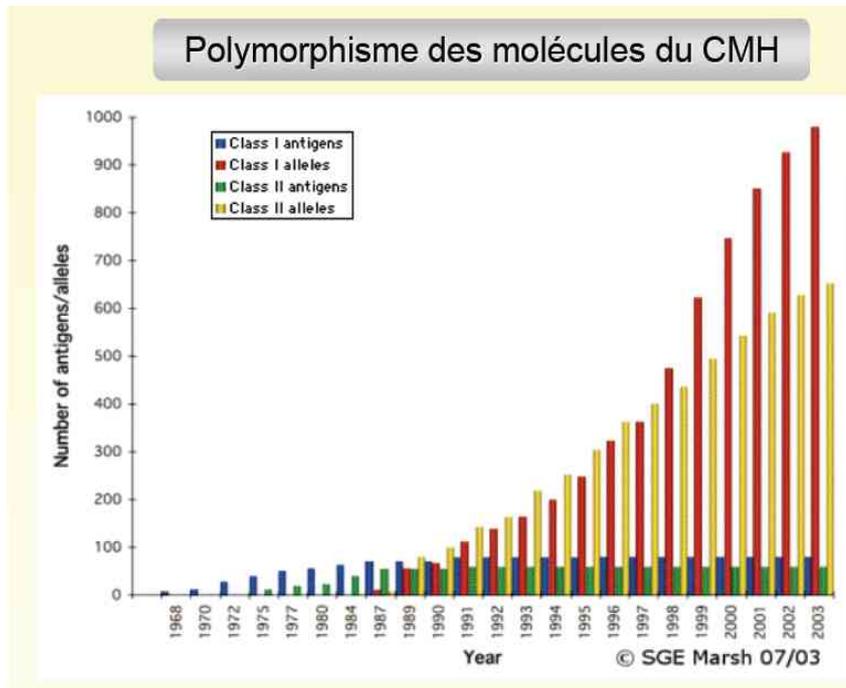
B-Caractéristiques du système HLA

- **grand polymorphisme**: on a par exemple 3 locus pour la classe I et 3 locus pour la classe II et dans chaque locus on a un grand nombre de formes alléliques (ce qui compliquera les choses lorsque l'on voudra faire des greffes compatibles car il faudra trouver des sujets qui ont les mêmes allèles HLA).
- **Transmission en haplotypes**: l'haplotype est un bloc de gènes situé sur un chromosome. L'ensemble de ces gènes est étroitement lié au niveau du chromosome 6, ce qui fait que quand on aura une méiose, l'ensemble des allèles HLA sera transmis en bloc père à enfant et mère à enfant =>on aura **relativement peu de crossing-over**.
- **codominance**: le système CMH est un système pluri-allélique et il y a en fin de compte aucun allèle dominant sur l'autre.



C-Polymorphisme des molécules du CMH

Polymorphisme des molécules du CMH



On a sur ce diagramme le polymorphisme en fonction des allèles et des antigènes.

Quand on a commencé à décrire le polymorphisme, le séquençage n'existait pas. C'est en étudiant des personnes polytransfusées ou des femmes enceintes que l'on s'est aperçu qu'elles développaient des anticorps anti-HLA spécifique dirigés soit contre une spécificité HLA du père soit contre une spécificité HLA de l'enfant pour les femmes enceintes (foetus = mini-greffe allogénique). Cette production n'a aucun effet délétère sur le foetus. Chez une personne polytransfusée, il va y avoir également production d'anticorps dirigés contre les antigènes portés par les globules rouges qui proviennent d'un donneur.

Au début, ces anticorps que l'on étudiait dans le sérum de ces personnes servaient pour définir les spécificités HLA d'un sujet = typage sérologique (typage assez grossier). Puis il y a eu l'apparition des techniques biomoléculaires avec la PCR et le séquençage, qui sont des techniques plus sensibles pour détecter les polymorphismes, ce qui explique que l'on a l'impression que les polymorphismes ont augmentés de 1970 à 2003 (ce sont en fait les techniques de détection qui se sont améliorées).

Quelques petites définitions.....:

- **POLYGENIE** : plusieurs gènes CMH de classe I et classe II vont coder pour différents types de molécules du CMH avec chacun leur répertoire peptidique propre (en fonction de l'allèle HLA, ce ne seront pas les mêmes peptides qui seront présentés).
- **POLYMORPHISME**: on prend deux sujets; si l'on regarde leur typage sérologique, on voit que ce sont deux personnes HLA identiques. Néanmoins, au niveau *moléculaire*, on ne peut pas savoir avec certitude, avec ce typage sérologique, que ce sont deux personnes totalement HLA-identique : on va donc utiliser les techniques de la biologie moléculaire: on prend les séquences de ces deux sujets et nucléotide par nucléotide ou acide aminé par acide aminé, on va regarder, position par position, les concordances. On va alors définir un niveau de variabilité entre les

deux séquences que l'on analyse.

On va donc trouver des variants, la **variabilité étant le support du polymorphisme**.

Lorsque l'on a dans une séquence un acide aminé qui change par ex, avant de dire que c'est un nouvel allèle, il faut faire une étude dans la population: en effet, il faut que ce variant soit présent dans plus de 1% de la population pour être considéré comme un allèle.

Le CMH correspond à la région la plus polymorphe du génome humain (région où il existe le plus de disparité entre les sujets).

Polymorphisme des molécules HLA

Dans le génome humain : l'une des région les plus étudiées

 Les gènes les plus polymorphes.

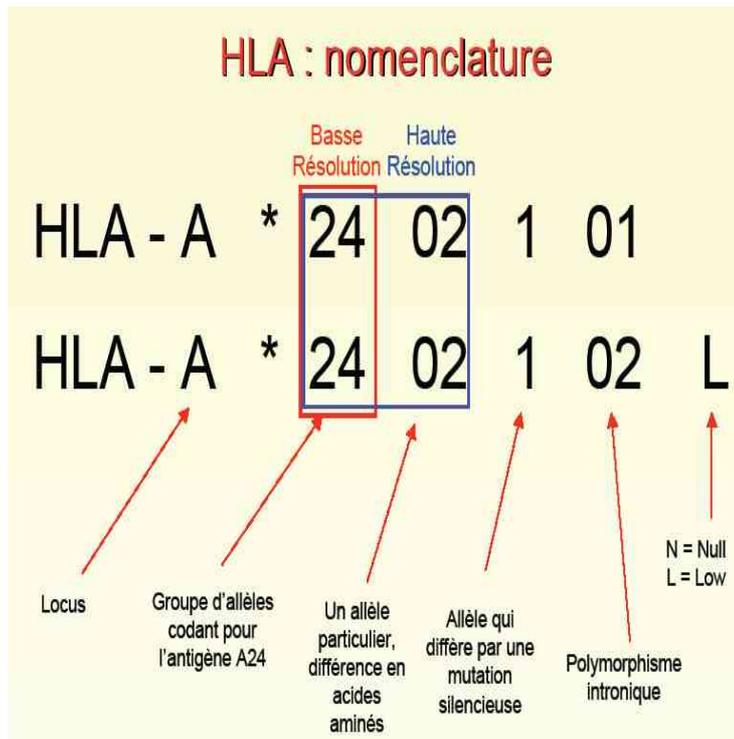
Janvier 2006 : 2153 allèles différents

=> HLA de Classe I : 1394
=> HLA de Classe II : 759

Classe I					
A	B	C	E	F	G
429	748	217	8	20	23
Classe II					
DRA	DRB	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1
3	511	32	69	23	121
Machinerie d'Apprêtement					
TAP1	TAP2	DMA	DMB	DOA	DOB
7	4	4	7	12	9

RQ: TAP = gènes localisés dans le CMH qui vont participer à la fonction des molécules HLA.

D-HLA: nomenclature



En tant que futurs médecins, on peut être amené à demander des typages HLA.

- Quand on fait un typage HLA avec l'utilisation de la sérologie, on va nous rendre un résultat avec deux chiffres: si l'individu est HLA 24, ce sera noté HLA-A 24 = typage de basse résolution.

Dès lors que l'on a un typage avec plus de deux chiffres, cela voudra dire que l'on a utilisé des techniques biomoléculaires (plus on rajoute de chiffres, plus on définit des polymorphismes complexes).

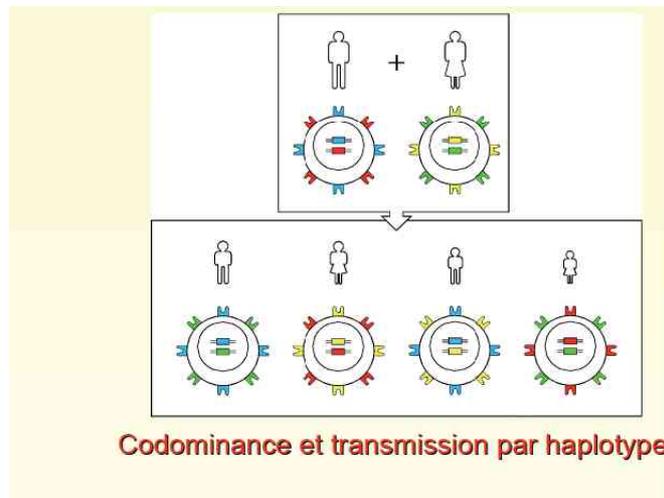
- Pour le typage haute résolution, on a donc recours à la biologie moléculaire. On fait une étude au niveau des exons, et on a donc un polymorphisme nucléotidique qui va engendrer un polymorphisme pour les acides aminés.
- Si l'on va plus loin, on peut définir des variants des nucléotides mais qui vont aboutir à des mutations silencieuses (pas de changements d'acide aminé). Le polymorphisme silencieux ne se voit pas au niveau des acides aminés mais ces mutations peuvent quand même avoir des conséquences puisqu'il peut engendrer des modifications de l'expression des gènes par exemple.
- Si l'on va encore plus loin, on peut également s'intéresser au polymorphisme dans les introns.
- L= nul cela correspond à des variants de molécules de classe I ou II qui ont un gène tout à fait normal sans codon-stop mais pour une raison qui mérite d'être analysée, la protéine ne va pas être exprimée.
Peut-être que cela donne une protéine mal formée, ou une protéine qui ne va pas migrer vers le cytoplasme par exemple.....

En général, nous verrons les résultats en basse résolution.

Si nous travaillons dans un service de greffe, on pourra avoir des résultats en haute-résolution.

Nous pourrions voir la nomenclature complète si nous travaillons en génétique, pour connaître les mutations qui peuvent être responsables de maladies autosomiques par exemple puisque la spécificité HLA peut être impliquée dans la susceptibilité de certaines maladies autosomiques.

E-Codominance et transmission par haplotype:



On voit sur ce schéma la transmission et la répartition parent-enfant.

Ceci peut nous servir lors de greffes intra-familiales, pour déterminer les meilleurs donneurs au sein de la fratrie.

On peut faire le typage des parents pour vérifier qu'on ne s'est pas trompé dans le typage de la fratrie.

RQ: le système HLA a été utilisé pour faire des tests de paternité.

III-Fonctions du CMH:

Il y a **4 fonctions**: trois physiologiques et une pathologique

- Rôle important dans la **réponse adaptative**: cela nous permet de **reconnaître le Soi et le Non-Soi** (le virus par ex.) = le **Self et le Non-Self**

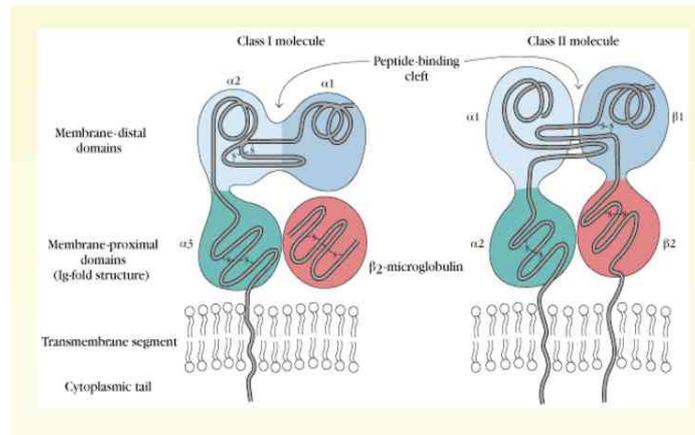
Le Soi varie beaucoup, on n'exprime pas les mêmes protéines lorsque l'on est un nourrisson et un vieillard par exemple. Cette notion de Soi et de Non-Soi est donc un peu «limite».

Notion de Soi et de danger: de plus en plus, le système immunitaire adaptatif permet la reconnaissance de virus mais aussi **capte des signaux de danger émis par la cellule infestée par le virus**.

On a aussi cette notion de danger lorsque l'on est en présence de pathologies tumorales: on s'aperçoit de plus en plus que le système immunitaire joue un **rôle important dans la surveillance au cours du développement de tumeurs notamment**.

- **Sélection thymique**
- **Surveillance exercée par les cellules Natural Killer** (cette fonction concerne surtout les molécule de classe I)
- **Situation allogénique**: greffes/transplantations

A-Structure du CMH:



Les molécules de classe I et de classe II se ressemblent beaucoup.

On dit que ces molécules appartiennent à la **super-famille des Immunoglobulines** (ce sont souvent des molécules qui sont impliquées dans les réponses immunitaires et qui sont organisées en domaines extracellulaires d'à peu près 100 acides aminés globulaires: on en a trois pour la chaîne α de classe I, deux pour la chaîne α de classe II et deux pour la chaîne β de classe II; on également un domaine intramembranaire et un domaine intracytoplasmique).

On a donc 2 chaînes: α et β

- pour la molécule de classe I, la chaîne β est la $\beta 2$ microglobuline, qui est codée au niveau du chromosome 15
- pour les molécules de classe II, on a une chaîne α et une chaîne β codées par des gènes au niveau du CMH

B-Présentation antigénique:

En terme d'expressions et de fonctions, les molécules de classe I et de classe II sont assez différentes.

- Cellules de classe I : elles sont **ubiquitaires**, présentes sur la plupart des cellules nucléées, mais néanmoins très peu exprimées dans le SNC. On a aussi des localisations au niveau de la cornée (c'est pour cela que pour le greffes de cornée, on ne demande pas de compatibilité HLA très importante).

Elles présentent des peptides qui sont propres à la cellule: ces peptides ont été attrapés au niveau du cytoplasme de la cellule: ce sont donc des peptides propres à la cellule et dans la grande majorité des cas, on a une **présentation des peptides du Soi** (protéines qui ont achevé leur durée de vie dans le cytoplasme, qui vont être dégradées en peptides et présentées par la cellule aux molécules de classe I).

En général, ces peptides du Soi ne sont pas reconnus par le système immunitaire car la cellule T que l'on aura en face *n'aura pas été sélectionnée pour reconnaître ces peptides.*

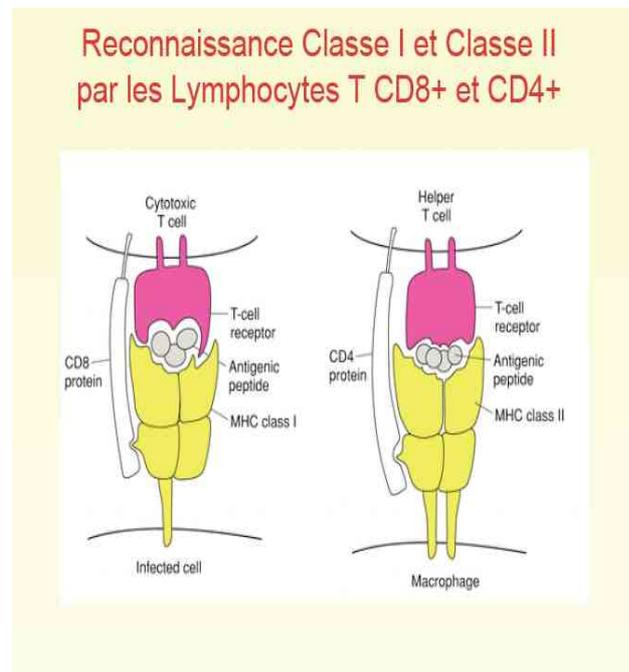
Mais les peptides endogènes peuvent être des peptides d'origine virale (les virus ayant besoin de cellules pour se répliquer, les protéines virales sont donc générées à l'intérieur des cellules).

- Molécules de classe II: elles ont une **expression beaucoup plus restreinte**, qui se limitent **aux cellules dites de «présentation de l'antigène»** (cellules dendritiques, lymphocytes B, macrophages et les lymphocytes T seulement s'ils sont activés).

Ces cellules présentent majoritairement des peptides issus de protéines d'origine extracellulaire (qui proviennent de bactéries, de parasites, de cellules infectées...).

- On a des molécules non-classées qui présentent d'autres types d'antigènes (non protéiques) de type lipidique et glucidique notamment dans le contexte d'infections microbactériennes et de tuberculose.

C-Les deux types de récepteurs:

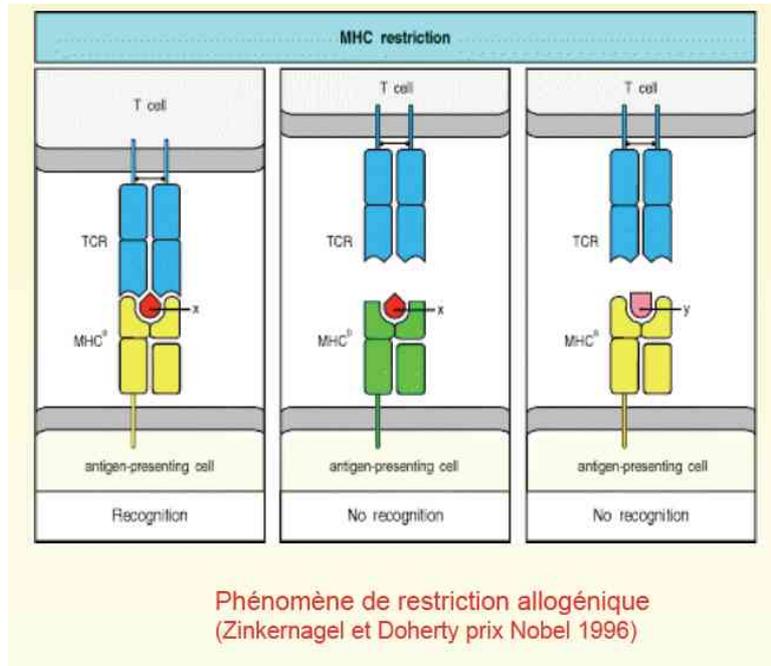


Les récepteurs T reconnaissent les peptides antigéniques **uniquement sous forme peptidique**, c'est-à-dire qu'ils ne reconnaissent pas la protéine entière mais **un peptide issu de la protéine**. **Ce peptide doit absolument être présenté par la molécule HLA.**

Les lymphocytes T (LT) portant la molécule CD8 (= LT cytotoxique) reconnaissent une molécule HLA de classe I présentant un peptide d'origine endogène.

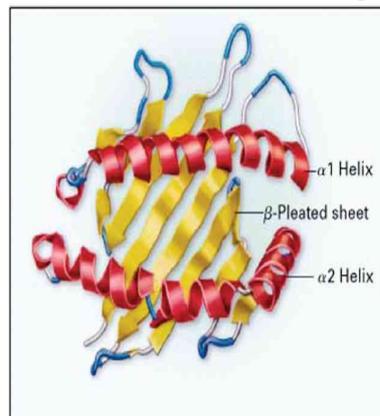
Les LT helper ou auxillaires portant la molécule CD4 reconnaissent le peptide antigénique lorsqu'il est porté par la molécule HLA de classe II. Ce peptide provient d'une structure exogène.

D-Phénomène de restriction allogénique:



Phénomène de restriction allogénique: le récepteur T reconnaît à la fois la molécule HLA et son peptide : si l'on a un autre allèle HLA, qui peut présenter le même peptide, le récepteur ne le reconnaît pas car il faut une double reconnaissance. De même, si l'on change le peptide et que l'on a la bonne molécule HLA, il n'y aura pas de reconnaissance.

Poche de présentation du peptide: (molécule HLA cristallographiée; vue du dessus)

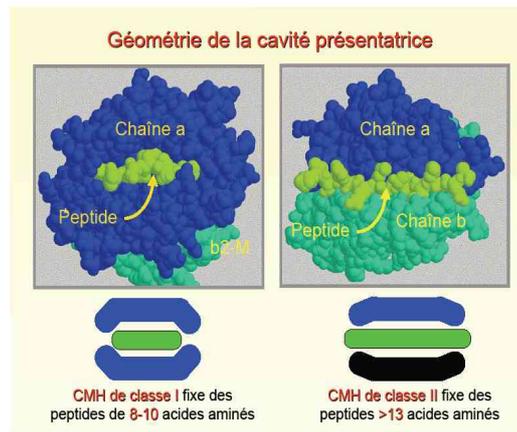


Cette poche de présentation est formée par un *plancher de feuillet β* et par des *hélices α* , ce qui forme une sorte de noeud.

L'ensemble de cette structure va permettre au peptide de se loger dans la poche de présentation.

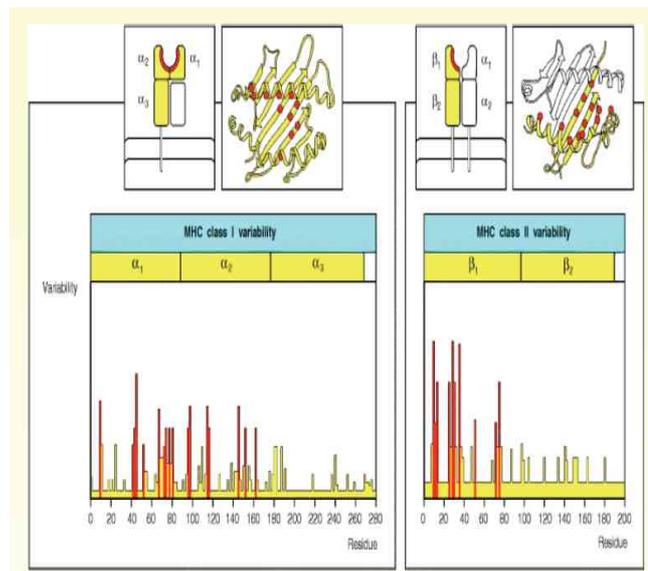
Chaque molécule du CMH ne peut présenter qu'un seul peptide à la fois mais chaque molécule du CMH peut présenter de nombreux peptides différents au cours de sa vie.

E-Géométrie de la cavité présentatrice:



- CMH de classe I (on a en foncé les hélices α et en clair le peptide): la molécule a une cavité relativement fermée et n'autorise la fixation que de peptides de moins de 10 acides aminés.
- CMH de classe II: la poche de présentation est beaucoup plus ouverte. On peut avoir des peptides qui font plus de 20 acides aminés, quitte à ce qu'ils se fassent ensuite découpés par des protéases au niveau extracellulaire.

Variations des sièges des polymorphismes:



Les variations entre les différents allèles se localisent surtout au niveau de la poche de présentation.

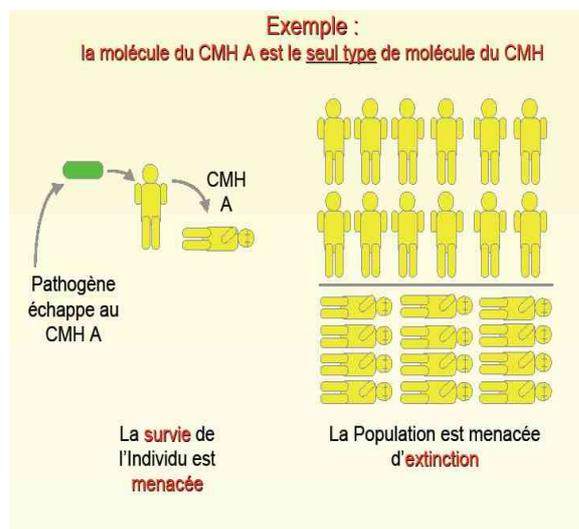
Ceci a une conséquence majeure: **les acides aminés présents dans cette poche de présentation vont être très importants pour la fixation du peptide et on peut donc comprendre que c'est pas n'importe quel peptide qui va se présenter qui va être reconnu par n'importe quel HLA.**

F-Les molécules du CMH sont une cible des pathogènes pour échapper à la réponse immune

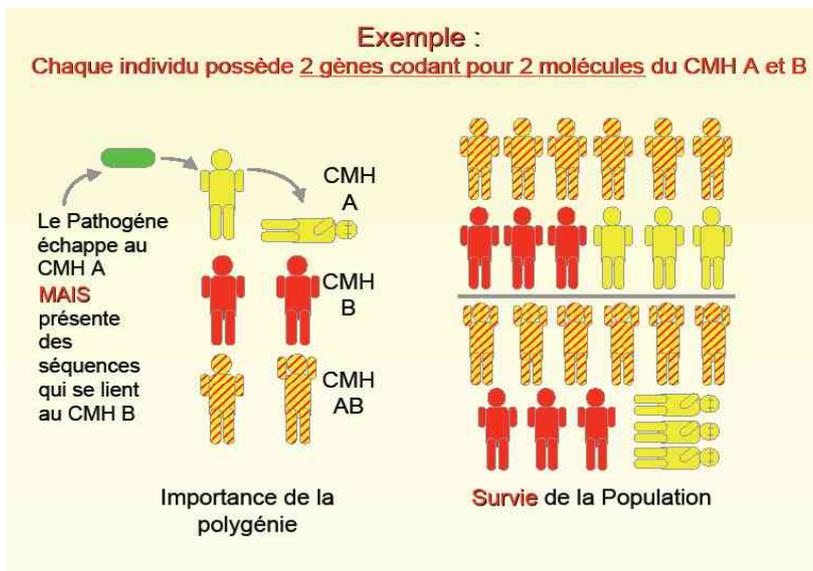
- Les Ly. T sont activés par l'association d'un peptide antigénique et d'une molécule du CMH.
- Forte pression de sélection sur les pathogènes pour échapper à la Réponse Immune.
- Le MHC a évolué pour contrer les capacités d'évasion des pathogènes :
 - Plus d'une molécule du CMH chez chaque individu
 - Différences entre les molécules du CMH entre les individus

Les virus peuvent muter pour que le peptide issu du virus ou des protéines du virus se fixe moins bien sur la molécule HLA: la cellule infectée n'aura donc pas à sa surface des antigènes « visibles » pour les molécules HLA.

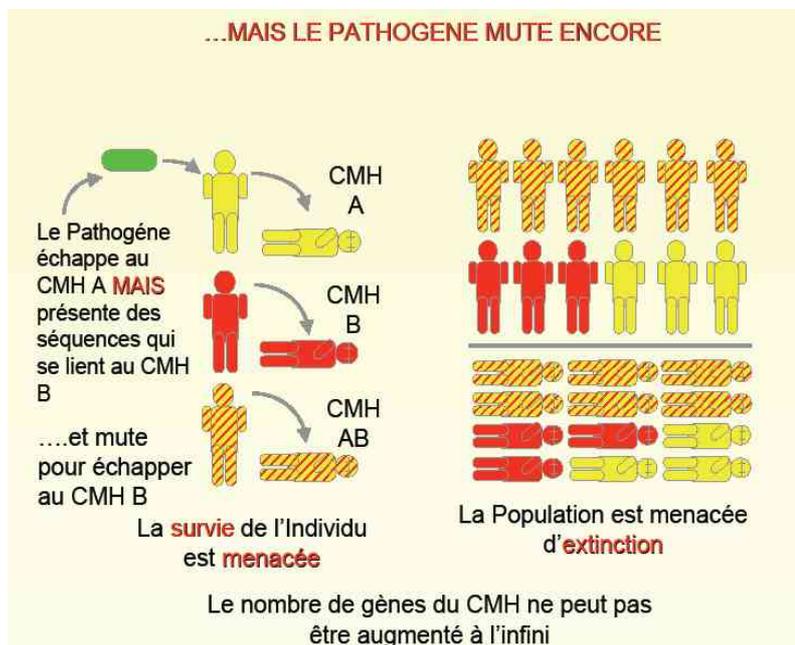
Le CMH a donc évolué pour essayer de contrer cette « stratégie », d'où le polymorphisme et la variabilité allélique très importante.



Si l'on imagine que l'on a qu'un seul gène HLA = allèle A (seul type de molécule du CMH) et qu'aucun des peptides du pathogène ne peut se fixer à cette molécule parce qu'il y a incompatibilité entre la cavité de présentation et la séquence peptidique généré par ce virus ==> la survie de la population est menacée.



Si l'on a maintenant deux gènes qui codent pour deux molécules A et B, et que le pathogène échappe à la molécule A mais se fixe à la molécule B, les individus porteurs de l'allèle B vont survivre (qu'ils soient porteurs non seulement de l'allèle B seul mais aussi porteurs des deux allèles A et B en même temps).



Si le pathogène mute et qu'il peut désormais échapper à la forme A et à la forme B, la survie de la population est de nouveau menacée.

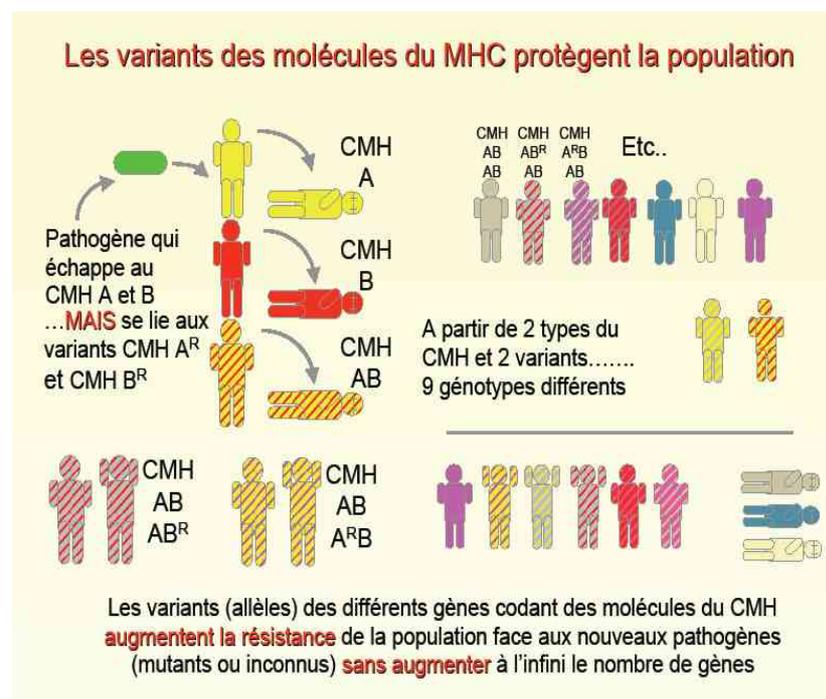
Or, on ne peut pas augmenter indéfiniment le nombre de gènes (sinon les chromosomes seraient beaucoup trop grands): on va donc « utiliser » le polymorphisme => on va avoir plusieurs allèles pour chaque locus.

Les populations ont BESOIN d'exprimer plusieurs variants de chaque type de molécule du CMH

- Le rythme de réplication des pathogènes est **plus rapide** que celui de la reproduction humaine.
- Pour une période donnée, un pathogène peut muter ses gènes plus fréquemment que l'Homme et peut donc facilement échapper système immunitaire
- Le nombre de gènes codant des molécules du CMH est **limité**.

Pour contrer la flexibilité des pathogènes :

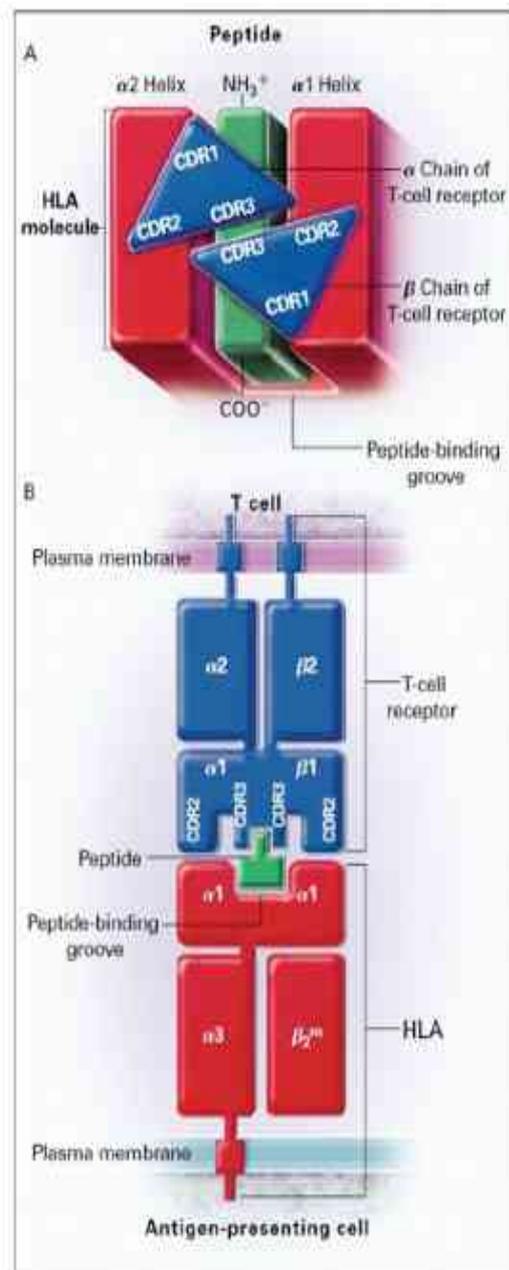
- Le CMH a développé des variants de chaque type de molécules du CMH.
- Ces variants ne protègent pas nécessairement **tous** les individus mais protégeront la **population** de **l'extinction**.



On a ici deux loci (A et B) et deux allèles pour le locus B ainsi que deux allèles pour le locus A, ce qui conduit à la « création » de 9 génotypes différents, ce qui permet la protection de la quasi-totalité de la population.

C'est donc très importants de posséder plusieurs loci et plusieurs allèles par locus pour pouvoir se protéger contre l'ensemble des pathogènes.

G-Intéraction cellules-cibles/lymphocytes T CD8+:

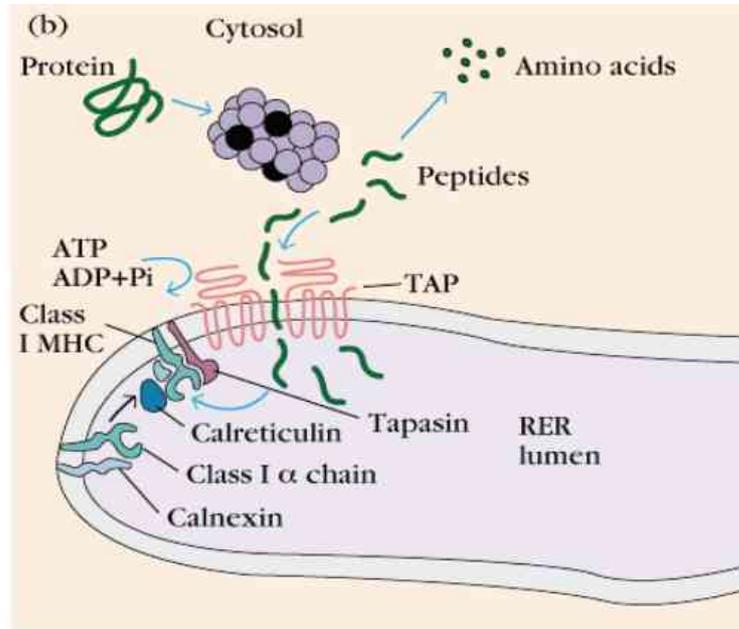


Le récepteur T pour l'antigène est un élément qui contient des régions extrêmement polymorphe et ce sont ces régions polymorphes qui vont interagir avec le peptide.

Comment ce peptide arrive-t-il au niveau des molécules HLA? => c'est ce qu'on appelle l'apprêtement antigénique.

IV-Apprêtement antigénique:

A-Apprêtement des antigènes pour une fixation sur les molécules HLA de classe I:

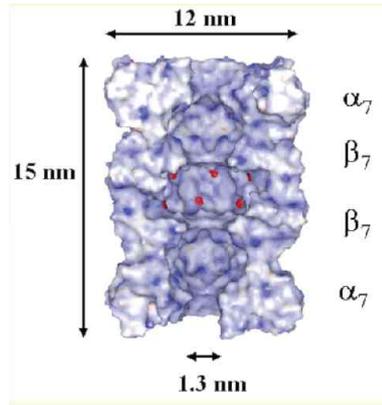


On a le cytoplasme et le RE.

On a par ex une protéine du Soi ou bien une protéine qui provient d'une infection virale.

Ces protéines vont être marquées par de petites molécules qui sont les ubiquitines et ces petites molécules vont permettre **l'adressage de cette protéine vers le protéasome** qui est une enzyme multicatalytique qui permet de découper en peptides la protéine et de générer des acides aminés qui pourront resservir dans la cellule.

Protéasome:



Le protéasome se présente sous la forme d'un gros cylindre, les sites catalytiques étant présents à l'intérieur du cylindre.

Le protéasome génère en général des peptides qui font entre 8 et 10 acides aminés, ce qui convient très bien pour les molécule HLA de classe I.

Les molécules HLA de classe I ont donc été transcrites et traduites au niveau des ribosomes et elles arrivent ensuite au niveau du réticulum endoplasmique.

Sans peptide, ces molécules sont instables. Pour pouvoir les stabiliser, il y a un ensemble de protéines chaperonnes (ex: calnexin; calréticuline) qui vont se lier à la chaîne α de la molécule et permettent ainsi la stabilité de l'ensemble.

Ensuite, la β_2 microglobuline va arriver et va stabiliser un peu plus le complexe.

L'ensemble de ce complexe va se lier à une molécule qui s'appelle la **Tapasin** qui va permettre de faire **un pont entre la molécule de classe I et la molécule Tap.**

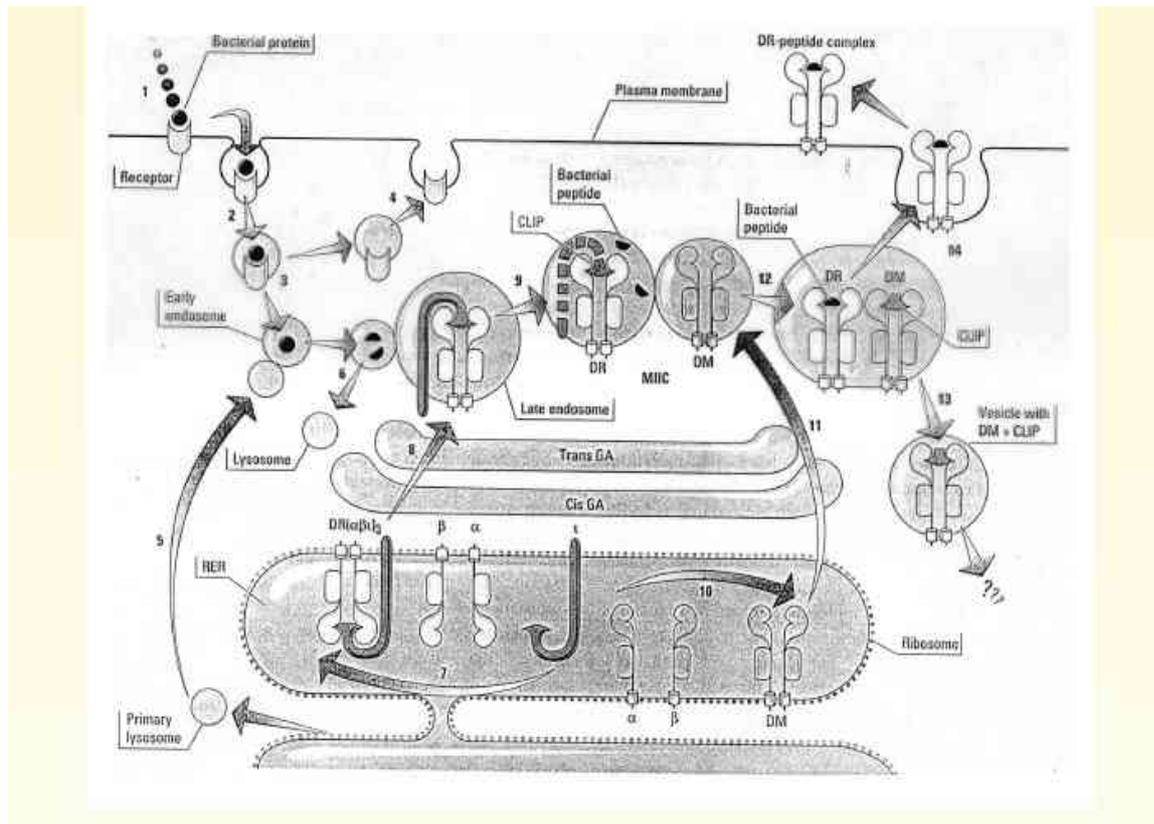
On s'est aperçu que cette molécule Tap permet la translocation ATP-dépendante des peptides du cytoplasme vers le réticulum endoplasmique. Et le fait que l'on a cette molécule Tapasin qui sert de pont permet une proximité entre l'arrivée du peptide au niveau de la lumière du réticulum endoplasmique et la molécule HLA de classe I. **Les peptides vont donc s'approcher de la molécule HLA et en fonction de l'allèle responsable de la cavité, ils vont s'essayer et vont voir s'ils peuvent rentrer dans la cavité de la poche de présentation.** Si c'est impossible, ils s'en vont et un autre peptide va s'essayer, etc. **Dès qu'un peptide de bonne affinité trouve son bon allèle, l'ensemble va être stabilisé, et la molécule HLA stabilisée va se débarrasser de ses protéines chaperonnes et de la Tapasin et va migrer vers le Golgi et être exprimée à la surface de la cellule.**

Remarque:

- Le protéasome est formé de sous-unités; certaines possèdent des unités catalytiques qui permettent le découpage en peptides et deux de ces sous-unités sont codées par des gènes du CMH.
- La molécule Tap 1 et Tap2 sont codées par des gènes du CMH, ainsi que la Tapasin.

==> le CMH code pour des molécules de structure (molécules HLA) mais aussi pour des molécules qui servent à la fixation des peptides antigéniques.

B-Apprêtement des antigènes pour une fixation sur les molécules HLA de classe II:



Les molécules HLA de classe II présentent des peptides originaires de protéines extracellulaires (numéro 1).

On a un **récepteur** au niveau de la cellule (une immunoglobuline de surface qui a une réactivité contre un épitope d'une protéine extracellulaire...). Quand on a une protéine, par ex bactérienne, qui va se fixer sur le récepteur, **l'ensemble va être endocyté, va migrer vers les endosomes**, vers les compartiments plus profonds de la cellule (numéro 2).

La protéine va alors se désolidariser de son récepteur qui peut être recyclé à la surface et resservir (numéro 4).

Pendant ce temps-là, la protéine va arriver dans les **endosomes précoces** y rester (numéro 3).

Au niveau de la molécule HLA de classe II, qui est au niveau du réticulum endoplasmique comme la classe I, on a la chaîne α et β . **Cette molécule est également très instable puisqu'elle n'a pas encore de peptide**, et cette molécule **va se fixer à une autre molécule qui a une forme de tuba et qu'on appelle la chaîne invariante**. Cette chaîne a trois fonctions: elle **stabilise la molécule de classe II** qui n'a pas encore son peptide, elle **bouche la cavité de présentation du peptide** et donc d'une certaine manière elle empêche la fixation prématurée d'un peptide qui peut être présent dans le réticulum endoplasmique et qui est destiné aux molécule de classe I, et enfin elle a une **séquence qui permet l'adressage de l'ensemble de ce complexe à travers le cis et le trans golgi pour migrer au niveau des endosomes tardifs**.

La protéine antigénique qui est dans les endosomes précoces, va être **progressivement dégradée** (car plus on va vers les endosomes tardifs, plus le pH est acide et plus les enzymes peuvent découper les protéines) et donc on va avoir la **fusion de ces deux compartiments pour donner le**

compartiment M2C (compartiment riche en molécule CMH de classe II) (*numéro 9*).

On a alors la **rencontre de la molécule HLA de classe II avec le peptide antigénique**.

Dans ce compartiment, **la chaîne invariante va être progressivement dégradée mais il va rester un petit fragment au niveau de la poche de présentation; ce fragment est appelé « Clip »**.

Grâce à la molécule **HLA DM** (les gènes codant pour cette molécules étant des gènes du CMH), qui ressemble à une molécule HLA de classe II sauf qu'elle n'est pas ou peu présente à la surface des cellules, **les peptides antigéniques vont être « charger » sur la molécule HLA de classe II**.

Pour ceci, la molécule HLA DM va migrer et va arriver au compartiment M2C: on va alors avoir une **association transitoire entre la molécule HLA DM et la molécule HLA classe II avec son clip**. Cette association va **changer la conformation de la molécule HLA classe II**: cette molécule va donc **libérer le clip** et le peptide antigénique va donc venir se fixer sur la molécule HLA.

On va avoir un ensemble d'échanges, c'est-à-dire que le peptide va essayer de se fixer, et s'il n'y arrive pas, clip va revenir; HLA DM va ensuite revenir, re-séparer la molécule HLA de la molécule clip et un autre peptide va pouvoir s'essayer, etc.

Une fois que le bon peptide est présenté à la molécule de classe II, HLA DM est recyclée et la molécule HLA classe II va migrer au niveau de la surface cellulaire.

C-Caractéristiques de la présentation antigénique: « vous lirez quand vous réviserez ...»

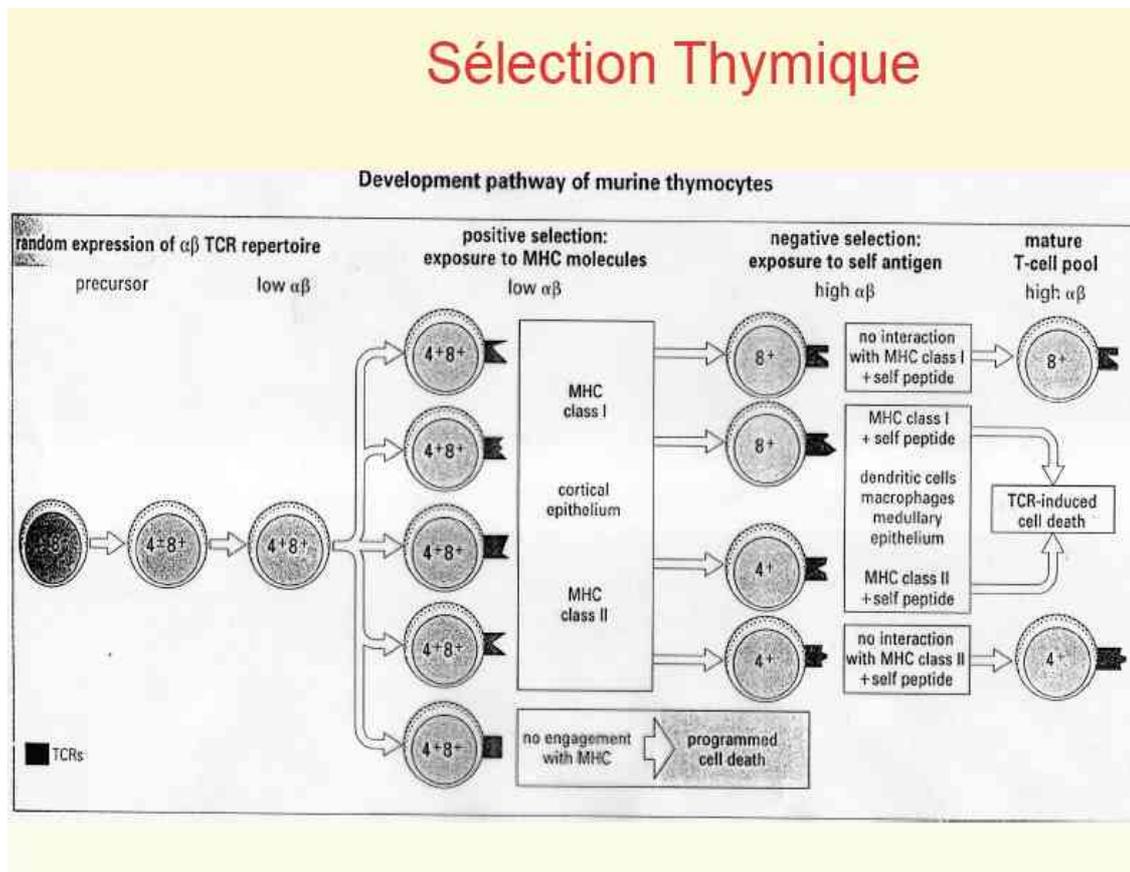
- **Chaque molécule du CMH ne présente qu'un peptide à la fois**
 - Un lymphocyte T ne répond qu'à un seul complexe CMH/peptide.
- **Chargement intracellulaire des peptides**
 - Les peptides sont issus de différents compartiments cellulaires.
- **Faible affinité et large spécificité**
 - Plusieurs peptides peuvent être présentés par une molécule du CMH.
- **Dissociation lente du complexe CMH/peptide**
 - Présentation antigénique suffisamment longue pour activer les lymphocytes T.
- **Peptide nécessaire pour une expression stable**
 - Pas (ou peu) de molécules du CMH « vides » à la surface cellulaire.
- **Les molécules du CMH ne présentent que des peptides**
 - Les lymphocytes T ne répondent qu'à des antigènes protéiques (et non lipidiques, nucléiques ou des sucres...).

V-Sélection thymique:

Autre fonction des molécules HLA de classe I et II.

Cette sélection thymique est très importante, elle se localise dans le thymus (*logique...*).

Cette sélection nous permet d'avoir dans notre organisme des LT qui normalement ne sont pas autoréactifs et qui sont capables de cibler n'importe quel pathogène extérieur.



Les lymphocytes sont des cellules du système hématopoïétique (localisé dans la moëlle osseuse). Ces lymphocytes vont arriver au **niveau du cortex du thymus** et **ces lymphocytes T n'ont pas encore leur TCR** (récepteur T). **Ils sont double-positif (CD4+; CD8+).**

Au moment où ils vont arriver dans le cortex, **les gènes qui codent pour le récepteur T à l'antigène vont se réarranger et générer une diversité incroyable de TCR** (on va en avoir des milliards de différents). Cette génération de TCR se fait de manière *stochastique, hasardeuse* (n'importe quelle séquence de TCR va être générée, ce qui fait que les différents lymphocytes seront capables de reconnaître tout et n'importe quoi dans la nature).

Au niveau du cortex, il existe **des cellules épithéliales qui expriment des molécules de classe I et de classe II**. Il va y avoir **interaction de l'ensemble de ces lymphocytes T avec l'ensemble de ces cellules épithéliales**. Les cellules qui ont un récepteur T pour l'antigène capable d'interagir avec les molécules HLA vont pouvoir survivre. Parmi ces récepteurs, certains sont capables d'interagir plus efficacement avec les molécules de classe I, d'autres avec les molécules de classe II => **si une cellule CD4+/CD8+ reconnaît mieux un allèle HLA classe I, le marqueur CD4 va être « down-régulé », hypoexprimé, et les cellules T ne vont plus exprimer que CD8.**

De même, si une cellule double-positif reconnaît mieux les HLA de classe II, le marqueur CD8 va s'hypoexprimer et à la sortie on a des lymphocytes T simple positif CD4.

====>On obtient des LT simple-positif qui reconnaissent les molécules de classe I ou de classe II
=> C'est la Sélection Positive

Si le TCR ne reconnaît aucune molécule HLA, la cellule va mourir par apoptose.

Ensuite, ces LT simple positif (futurs LT cytotoxiques (CD8+; détruisent les cellules infectées) et futurs LT helper (CD4+; aident les cytotoxiques grâce à des cytokines à tuer les cellules-cibles et aident les lymphocytes B à sécréter des anticorps)) vont arriver **au niveau de la médullaire** où l'on va alors se débarrasser des lymphocytes qui sont autoréactifs. **On va supprimer les cellules qui vont interagir avec une trop forte affinité avec les cellules de la médullaire** (si elles interagissent trop fortement avec les cellules de la médullaire, c'est qu'elles réagissent avec les peptides du soi, car en général les cellules de la médullaire n'expriment que des peptides du soi).

====> Sélection négative

Ne vont donc sortir de la médullaire que les cellules de classe I ou de classe II qui sont CD4+ ou CD8+ et qui ne sont pas autoréactives.

VI-Immuno-surveillance par les NK:

Les LT CD8 reconnaissent les peptides dans le contexte des molécules HLA classe I.

En fin de compte, les molécules HLA classe I participent à la reconnaissance des cellules par d'autres lymphocytes qui sont les **lymphocytes Natural Killer, qui sont à la frontière entre l'immunité innée et acquise.**

Les molécules HLA de classe I sont très importantes pour la fonction des NK: **on a une cellule-cible qui exprime de manière normale une molécule HLA de classe I; les cellules NK possèdent différents récepteurs qu'on appelle des récepteurs inhibiteurs. Ces récepteurs inhibiteurs reconnaissent les molécules HLA de classe I.**

Il existe différents récepteurs inhibiteurs qui reconnaissent une molécule de classe I donnée.

Toujours est-il que l'on a en général des NK qui sont capables de reconnaître à la surface des cellules des molécules HLA de classe I.

Si ce NK, avec son récepteur inhibiteur, interagit avec la molécule de classe I, il va recevoir un signal d'inhibition de lyse et ne détruira pas la cellule (contrôle que nos cellules expriment bien la classe I car certains virus, lorsqu'ils infectent les cellules, « obligeront » la cellule qu'ils ont infectée à ne pas exprimer les HLA de classe I, pour échapper à la réponse immunitaire).

Dans le cas où la cellule est infectée par un virus et où elle n'exprime plus les HLA de classe I, le récepteur inhibiteur du NK ne rencontrera rien et il n'y aura alors pas de signal d'inhibition de lyse et on a alors un récepteur activateur porté par les NK qui va entrer en jeu, qui va se fixer sur un ligand (dont on ne connaît pas la nature) et qui va provoquer la lyse de la cellule.

RQ: on observe le phénomène dans les tumeurs: les cellules tumorales qui vont métastaser et qui résistent le mieux sont celle qui ont « down-régulé » les HLA de classe I et les NK sont le seul moyen

de se débarrasser de ces cellules.

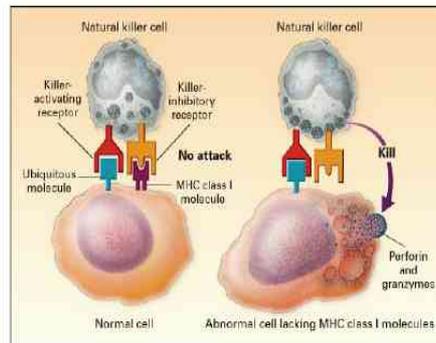
Immuno-surveillance par les NK

- Défaut d'expression des molécules du CMH :

- Infections virales.
- Processus tumoral.

- Les cellules Natural Killer (NK) :

- Lymphocytes répondant aux pathogènes intracellulaires en tuant les cellules infectées.
- Capables de tuer les cellules tumorales.
- Activité cytotoxique non restreinte par le CMH, bloquée par l'expression des molécules du CMH sur la cible.
- Forte activité cytotoxique et de production de cytokines ($IFN\gamma$) en absence de molécules du CMH sur la cible.



VII-Immunologie des greffes:

Fonction physio-pathologique des molécules du CMH.

- **Autogreffe** : donneur et receveur même individu
- **Greffe syngénique** ou isogreffe: individus génétiquement identiques (jumeaux monozygotes)
- **Allogreffe** : individus génétiquement différents de la même espèce
- **Xénogreffe** : individus d'espèces animales différentes

Autogreffe: ex: cancer du sein.

Si l'on veut faire une chimiothérapie extrêmement lourde, les agents chimiques vont

détruire la tumeur mais également les cellules à renouvellement rapide dont le système hématopoïétique.

Avant de faire cette chimiothérapie lourde, on leur prélève de la moëlle que l'on va garder. On leur fait ensuite leur chimiothérapie qui va donc détruire leur système hématopoïétique. Pour le reconstituer, on va alors leur redonner de la moëlle.

A-Greffe et réponse allogénique:

- Il va y avoir une **confrontation entre le système immunitaire d'un individu et les tissus ou cellules qui proviennent d'un individu de la même espèce.**

Ex: lorsque l'on greffe un rein, les cellules immunitaires du receveur vont peut-être rentrées en interaction avec quelque chose qu'elles vont trouver étrangères à la surface des cellules rénales.

- Problème: Produits du CMH
 - en effet, il existe un **polymorphisme très important** et la première chose que le système immunitaire reconnaît ce sont les différences entre les HLA => il faut donc **une compatibilité tissulaire. On a donc des difficultés à harmoniser les couples Donneurs/Receveurs.**
- il y a également une fréquence et une intensité très importante de la réponse allogénique: en effet cette réponse se fait dès la première injection (dans le cas d'une transfusion par ex.) et est d'emblée maximale.

B-Immunologie des greffes:

- Première transplantation rénale en 1956
- Transplantation d'organe (2001)
 - environ 2000 greffes rein/an (~ 1/3 liste attente, durée d'attente moyenne ~ 16 mois)
 - 400 transplantations cardiaques
 - 800 transplantations hépatiques
- Greffe de CSH (2001)
 - 800 allogreffes de CSH
 - 3000 autogreffes de CSH

C-Greffe de moëlle:

- **La leucémie est une maladie tumorale de notre tissu hématopoïétique:** il y a un clône de cellules qui viennent de la moëlle et qui est cancéreux. L'idée est donc de faire une énorme chimiothérapie/radiothérapie très lourde pour pouvoir se débarrasser de ces cellules leucémiques. Evidemment, on va aussi se débarrasser de toutes les cellules hématopoïétiques.
- On va donc faire **des greffes avec un donneur volontaire pour restaurer l'hématopoïèse du patient.** Or, on s'est aperçu que la greffe de moëlle était en elle-même une thérapie contre la leucémie: **quand on injecte une moëlle osseuse à un patient, on transfère à ce patient des LT matures car dans la moëlle, on a passage de lymphocytes T matures, pleinement actifs.**
- On s'est également aperçu que la grosse complication de la greffe de moëlle n'était pas le rejet: en effet, le système immunitaire de notre receveur a tellement souffert de la chimiothérapie qu'il n'y a pratiquement plus de LT du receveur. **Quand on fait une greffe, on apporte donc les cellules immunitaires du donneur: mais ces cellules peuvent réagir contre les cellules du receveur => Réaction de Greffon contre l'Hôte (GvH). On a une attaque cutanée, une attaque des cellules digestives.... qui conduit à la mort du greffé.**
- Pour éviter cette complication, **l'idée était de prendre cette greffe de moëlle et de retirer les LT du donneur et de ne donner que des moëlles T-déplétées.** On s'est rendu compte que les patients ne faisaient donc plus de réaction de GvH mais ils faisaient de plus en plus de rechute de leur leucémie. **On s'est aperçu qu'en retirant les LT du donneur, on retirait les LT qui avaient une capacité allo-réactive dirigée contre les tissus du receveur mais on retirait aussi potentiellement les LT qui avaient une action anti-leucémique (= effet GvL pour Graft Versus Leukemia).**
- **Maintenant, on essaye donc de garder les LT spécifiques de la leucémie.**

- **La greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques**
 - Remplacer le système immunitaire du Receveur par celui du Donneur.
 - Obtenir un effet anti-tumoral des lymphocytes (T ou NK) du Donneur (effet GvL pour Graft versus Leukemia).
 - => Rétablir une immunité complète : anti-pathogènes et anti-tumoral
- **Problème : la réaction du Greffon contre l'Hôte (GvH)**
 - Les cellules T du Donneur deviennent réactives contre les cellules du Receveur.
- **Solutions :**
 - Supprimer les lymphocytes T du Greffon :
 - => **baisse** de la fréquence des GvH mais **augmentation** des rechutes
 - Injecter des lymphocytes T spécifiques de la tumeur :
 - => **identifier des antigènes tumoraux** (type tumoral, typage HLA)
 - Injecter des cellules NK

VIII-HLA et maladies:

On a deux types de relation entre HLA et maladies:

- on a ce qu'on appelle les **maladies associées à HLA**: ce sont des maladies dans la population.
- **Maladies liées à HLA**: maladies à l'intérieur de la famille.

Disease	Associated HLA Marker*	Relative Risk of Disease†
Ankylosing spondylitis	B27	87.4
Reactive arthropathy, including Reiter's syndrome	B27	37.9
Rheumatoid arthritis	DR4	4.2
Behçet's syndrome	B51	3.8
Systemic lupus erythematosus	DR3	5.8
Insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus	DR3	5.5
	DQ8†*0201‡	2.4
	DR4	6.4
	DQ8†*0302‡	9.5
	DR2	0.19
	DRB*1501‡	
	DRB*0101‡	
	DQB1*0602‡	0.15
Idiopathic Addison's disease	DR5	6.3
Graves' disease	DR3	3.7
Hashimoto's disease	DR11	3.2
Postpartum thyroiditis	DR4	5.3
Celiac disease	DR3	10.8
	DQB1*0201‡	
	DQA1*0501‡	
	DR7	6.0-10.0
	DR2, DQR1*0201‡	
	DR11, DQA1*0601‡	
Dermatitis herpetiformis	DR3	15.9
Sicca syndrome	DR3	9.7
Myasthenia gravis	DR3	2.5
	B8	3.4
Idiopathic membranous glomerulonephritis	DR3	12.0
Goodpasture's syndrome	DR2	15.9
Multiple sclerosis	DR2	4.1
	DRB1*1501‡	
	DRB5*0101‡	
	DQB1*0602‡	
Periostitis vulgaris (among Ashkenazi Jews)	DR4	14.4
Pсориаз vulgaris	Cw6	13.3
Rheumatoid arthritis	A29	109.0

HLA et Maladies

- Maladies auto-immunes : Réponse immunitaire dirigée contre des antigènes du Soi.
- Développement de pathologies auto-immunes :
 - gènes de **susceptibilité** qui peuvent conduire à des dysfonctionnements de la **tolérance au Soi**
 - **facteurs environnementaux**, comme les infections, qui peuvent activer les lymphocytes T autoréactifs.
- Gènes du CMH : prédisposant pour certaines pathologies auto-immunes

On s'est aperçu qu'il y avait des maladies qui étaient plus fréquentes chez des individus qui avaient un **typage HLA donné**: la maladie la plus connue est la *spondylarthrite ankylosante* (« colonne vertébrale bambou ») qui touche l'homme jeune. On s'est aperçu que cette maladie était **associée à HLA B27** (plus de 80% des personnes portant HLA B27 sont atteints de la spondylarthrite ankylosante.)

Parmi les maladies auto-immunes, on retrouve le diabète, la sclérose en plaque....

Le problème est qu'on ne comprend pas très bien quel est le rôle de ces molécules, de ces allèles particuliers dans la physiologie de la maladie (peut-être que ces molécules présentent mieux les peptides du soi...).

====> **l'allèle HLA est un marqueur génétique de la maladie liée à un défaut d'un gène localisé à côté du locus HLA.**

Dans une famille donnée, la mutation associée à un gène se transmet en même temps que l'allèle HLA donné: prenons un patient qui a une mutation génétique quelconque et qui est HLA B7 par ex., si l'on regarde dans la fratrie la possibilité d'avoir des frères et soeurs qui puissent un jour développer la maladie, *on va juste regarder si l'on a HLA B7.*