



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Année 2008-2009

Professeur Philippe Kourilsky

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Le soi et l'autre :

Compatibilité et incompatibilité immunologiques

Amphithéâtre Maurice Halbwachs



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

1^{ère} partie : Le CMH : Gènes et molécules.

I. Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité

II. La biosynthèse des antigènes majeurs de Classe I

III. La biosynthèse des antigènes majeurs de classe II

IV. Les molécules du CMH-I non classiques

V. Les interactions entre CMH-I et ligands

CONCLUSION



III. La biosynthèse des antigènes majeurs de classe II

- CMH-I : faire rapport aux TCD8⁺ sur les événements intracellulaires.
- CMH-II : faire rapport aux TCD4⁺ sur le milieu extracellulaire.

- CMH-II : Expression moins ubiquitaire (APC).
Circuits intracellulaires différents. Régulation par le pH.

Jensen PE. Recent advances in antigen processing and presentation. Nat Immunol. 2007 Oct;8(10):1041-8.

Vyas JM, et al. The known unknowns of antigen processing and presentation. Nat Rev Immunol. 2008 Aug;8(8):607-18.



A. Source de peptides :

- **Phagocytose**
- **Pinocytose**
- **Internalisation d'antigènes liés à des anticorps (notamment : cellules B)**
- **Autophagie**
- **Importance de la thiol reductase des lysosomes (GILT) pour réduire les ponts S-S et permettre la dégradation.**



- **Les lysosomes sont riches en protéases. Peu de spécificité apparente.**
- **Dans le cortex thymique, la cathepsine L pourrait (comme le thymoprotéasome) intervenir dans la sélection positive des TCD4+**

Honey K, et al. Cathepsin L regulates CD4+ T cell selection independently of its effect on invariant chain: a role in the generation of positively selecting peptide ligands. J Exp Med. 2002 May 20;195(10):1349-58.

- **Les CMH-II lient probablement des polypeptides partiellement dépliés (apprêtement guidé par le CMH)**

Mimura Y. et al. Folding of an MHC class II-restricted tumor antigen controls its antigenicity via MHC-guided processing. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Apr 3;104(14):5983-8.



B. Etapes de la biosynthèse de CMH-II:

1. Une chaperonne spécialisée : la chaîne invariante (Ii)

- **Ii contient un segment non structuré qui sert de substitut au peptide et se loge dans la poche de l'hétérodimère en formation.**
- **Ii subit une série de clivages → CLIP (cathepsine S).**
- **Echange CLIP / peptide accéléré (catalysé) par HLA-DM**



2. Rôle de HLA-DM et HLA-DO :

- **Contrôle de qualité par HLA-DM (catalyse de plusieurs cycles d'échanges de peptides)**
 - . Liaison de HLA-DM à un état conformationnel de CMH-II (notion de la « poche ouverte »)
 - . Le contrôle porte sur la stabilité des complexes (lien démontré entre stabilité et immunodominance).

- **HLA-DO se lie à HLA-DM : Rôle mal compris.**
 - . Pourrait être spécifique des cellules B
 - . Mais trouvé aussi dans les DC primaires.



C. Etanchéité ou non-étanchéité des circuits CMH-I et CMH-II

- **Problématique de la présentation croisée pour le CMH-I : d'une manière ou d'une autre, sous une forme ou une autre, l'antigène arrive de l'extérieur.**

Burgdorf S, et al. Distinct pathways of antigen uptake and intracellular routing in CD4 and CD8 T cell activation. Science. 2007 Apr 27;316(5824):612-6

- . **Endocytose médiée par le récepteur mannose : endosomes précoces et présentation aux TCD8⁺ (protéasome dépendant).**
- . **Pinocytose ou SCR (scavenger receptors) : lysosomes et TCD4⁺**



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

- **La présentation croisée implique plutôt des antigènes non apprêtés que des peptides optimisés, portés par divers vecteurs (protéines de choc thermique).**
- **Intervention du système de rétro-translocation à partir du RE (ERAD).**
- **Canaux intercellulaires (gap junctions) pour transfert de peptides.**

Neijssen J, et al. Gap junction-mediated intercellular communication in the immune system. Prog Biophys Mol Biol. 2007 May-Jun;94(1-2):207-18.



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

- **Problème de la rapidité de dégradation des oligopeptides potentiellement présentables de façon croisée.**

Lev A, et al. The exception that reinforces the rule: crosspriming by cytosolic peptides that escape degradation. *Immunity*. 2008 Jun;28(6):787-98.

- **Domaine encore controversé. Lié à la biologie particulière des cellules dendritiques.**
- **Phénomène important pour la compréhension de la tolérance au soi.**

Luckashenak N, et al. Constitutive crosspresentation of tissue antigens by dendritic cells controls CD8+ T cell tolerance in vivo. *Immunity*. 2008 Apr;28(4):521-32



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

1^{ère} partie : Le CMH : Gènes et molécules.

I. Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité

II. La biosynthèse des antigènes majeurs de Classe I

III. La biosynthèse des antigènes majeurs de classe II

IV. Les molécules du CMH-I non classiques

V. Les interactions entre CMH-I et ligands

CONCLUSION



IV. Les molécules du CMH-I non classiques

- Presque toutes sont apparentées aux CMH-I (classe Ib), oligomorphes ou monomorphes, de fonction parfois proche de l'immunité innée.

Rodgers JR, Cook RG. MHC class Ib molecules bridge innate and acquired immunity. Nat Rev Immunol. 2005 Jun;5(6):459-71

- Filiations d'ancienneté variable, avec déploiements (et contractions) génétiques propres à certaines espèces.

- . Gènes anciens : CDI, HFE, MIC, ULBP
- . Gènes d'âge moyen : HLA-E
- . Gènes jeunes : HLA-F, HLA-G



A. CDI

Barral DC, Brenner MB. CD1 antigen presentation: how it works. Nat Rev Immunol. 2007 Dec;7(12):929-41

1. Les CDI présentent des antigènes lipidiques et surveillent les voies endocytique pour les capter (endogène / exogène ; soi / non-soi)

- **3 groupes chez l'homme :**
 - 1. CDI a, b, c.**
 - 2. CDI d**
 - 3. CDI e**

avec une certaine spécialisation (cf. antigène des M. tuberculosis)



2. Biosynthèse des CDI et chargement des antigènes lipidiques :

- **L'assemblée des CDI est semblable à CMH (calnexine, calreticuline. ER⁺p57).**

- **CDIb et CDId s'associent à des lipides endogènes.**

(Stabilisation de la molécule) (rôle possible de MTP = protéine de transfert des triglycérides des microsomes pour CDId)

- **Transit vers la membrane via le Golgi.**

- **Recyclage dans les divers endosomes, avec échange de lipides.**



- Séquences adresses différentes → recyclage dans différents compartiments.
 - * CD1a : endosomes précoces et membrane plasmique.
 - * CD1b et CD1c : endosomes tardifs, lysosomes et membrane plasmique.
 - * CD1c : endosomes précoces et tardifs.

- Dans l'environnement particulier des endosomes tardifs et des lysosomes, l'échange de lipides implique des protéines de transfert comme les saposines A, B, C et D (rôle du pH).



- **Les trafics des CDI croisent les trafics intracellulaires des lipides.**
 - * **Les cellules absorbent des lipides (largement véhiculés par le sang avec des transporteurs) pour leurs besoins métaboliques.**
 - . **LDL récepteur et Apo E**
 - . **« Scavengers » récepteurs.**
 - . **Lectines de type C.**
 - + **phagocytose.**



■ **Expression des CDI.**

- * dans les APC : stimulation de T α β ; T γ δ et NKT
- * dans d'autres cellules : cibles ?
- * Lien avec les NK

- ▶ **CMH-I et II :** . stratégie de surveillance générale via peptides.
- CDI :** . stratégie de surveillance générale via lipides,
avec échantillonnage diversifié selon les compartiments
d'antigènes lipidiques du soi et du non-soi;
. Rôle dans les cancers et les pathologies auto-immunes.

B. HLA-E

- **HLA-E est exprimé dans la plupart des tissus, y compris dans le placenta et présente un ensemble limité de peptides (sites d'ancrage 2 et 9).**

- **Peptides présentés issus de :**
 - * **La séquence signal du CMH-Ia et Ib.**
 - * **Grp94 / HSP60 bactérien.**
 - * **+ antigènes bactériens et viraux (CMV, HCV).**
 - * **+ antigène de la prostate, etc.**



- **La présentation est dépendante de TAP. Clivage du peptide signal déjà clivé de CMH-I par la signal-peptide peptidase (= SPPase) membranaire avec relarguage (ou relocalisation) dans le cytosol → protéasome.**

- **L'expression à la surface de HLA-E et sa fonction sont indépendantes des peptides liés :**
 - ▶ **L'expression de HLA-E sert d'indicateur**
 - * **à la fonctionnalité de TAP**
 - * **à l'expression des autres CMH I**



■ **Fonction duale de HLA - E.**

- * **Signaler aux cellules NK, NKT et au TCD8+ la diminution de la synthèse des CMH-I (infections virales, tumeurs) via les récepteurs CD94-NKG2A, B, C.**
- * **CTL conventionnelles à partir d'un répertoire de peptides limités.**
- * **Le CMV détourne la surveillance NK grâce à un peptide de UL40 qui induit l'engagement de HLA-E avec NKG2A et B.**
- * **Mécanismes directs (reconnaissance du peptide) ou indirects (reconnaissance de conformation).**

C. HLA-G

- **HLA-G : oligomorphe – 5 allèles.**
- **Epissage alternatif produisant 7 mARN (dont 3 codant des formes solubles).**
- **Structure cristallographique : proche de CMH-I, surtout HLA-E.**

Clements CS, et al. Crystal structure of HLA-G: a nonclassical MHC class I molecule expressed at the fetal-maternal interface. Proc Natl Acad Sci USA. 2005 Mar1;102(9):3360-5.



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

- **Présentation de peptides, mais répertoire restreint.**
- **Exprimé dans de nombreux tissus, mais surtout dans les organes et les sites « privilégiés ».**
- **Formes solubles détectables dans le plasma.**
- **Doté de nombreuses fonctions suppressives.**



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

1^{ère} partie : Le CMH : Gènes et molécules.

I. Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité

II. La biosynthèse des antigènes majeurs de Classe I

III. La biosynthèse des antigènes majeurs de classe II

IV. Les molécules du CMH-I non classiques

V. Les interactions entre CMH-I et ligands

CONCLUSION



V. Les interactions entre CMH-I et ligands

1. Ancres peptidiques et poches d'ancrage dans la fente des CMH

- Analyse :

{	des séquences des peptides liés à une molécule de CMH. des structures des CMH.
---	---

- Pratiquement pas de CMH stable et vide.
- Existence de résidus d'ancrage préférés.
- Existence de poches d'ancrage variées dans la fente des CMH.



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2009

- **Codes structuraux déduits de la séquence.**
 - **Séquençage du mélange des peptides élués.**
 - **Bases de données (compilation de peptides individuels).**

- ➔ Chaque allèle est corrélé à un motif peptidique.**

- **Codes structuraux déduits de la structure tridimensionnelle des fentes :**
 - **Près de 200 structures 3D disponibles.**
 - **Repérage des poches.**
 - **Caractéristiques des poches : volume, résidus chargés, etc.**
 - **Classification des poches (A à F).**

Cf. : <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>



Peters B, Sette A. Integrating epitope data into the emerging web of biomedical knowledge resources. Nat Rev Immunol. 2007 Jun;7(6):485-90

- **Bases : « SYFPEITH1 » ; « IMGT » ; « MHCBN » ; Antigen ; HLA Ligand ; « Data Base » ; « IEDB »**

- **Permet d'interpréter certaines spécificités.**
 - * **Liaison de peptides formylés par H2-M3 chez la souris :
Spécificité forte à l'extrémité N terminale.
1 seul point d'ancrage avec décalage du peptide. Pas totalement spécifique.
Sources majeures de peptides : peptides mitochondriaux endogènes
et bactériens exogènes.**

 - * **Liaison de peptides issus de séquences signal par HLA-E
(poche A : Ser vs. Trp et thr).**



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2009

- **Permet de comprendre la congruence des spécificités dans la voie de production des peptides.**
 - * **Éléments de spécificités lâche dans le protéasome et TAP.**
 - * **Il existe quelques allèles de TAP, notamment chez le poulet.**

- **Idem pour CMH-II.**



2. Ancres lipidiques et poches d'ancrage de CDI :

- Structures comparables, mais poches hydrophobes chez CDI plutôt qu'hydrophobes chez CMHI.
- CDI d (souris) 2 poches A' et F' (entrée étroite).
CDI b (souris) 4 poches A' F' C' et T' (Tunnel) (≤ 60 C)
CDI a (souris) 2 poches A' et F' (A' fermé ≤ 23 C) (F' alky / ou peptide).



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2009

3. Structure du CMH-I du poulet (BF2* 2101)

Koch M, et al. Structures of an MHC class I molecule from B21 chickens illustrate promiscuous peptide binding. *Immunity*. 2007 Dec;27(6):885-99

- **Le poulet exprime un seul gène de CMH-I.**
- **Dans l'haplotype B21 (mais pas dans B15), la fente a une cavité centrale de grande taille.**
- **Arg α 9 a une flexibilité de conformation inhabituelle.**
- **Pas de motif linéaire des peptides liés (combinaison ?)**
- **Association possible à la résistance contre la maladie de Mareck.**



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2009

4. Flexibilité des ligands

- **Peptides de longueur non optimale (protubérances, extrémités flottantes)**
- **Ligands inhabituels :** peptides glycosylés (MUC – 1)
métaux lourds
- **Dimorphisme et conformationnel du peptide lié.**

Rückert C, et al. Conformational dimorphism of self-peptides and molecular mimicry in a disease-associated HLA-B27 subtype. J Biol Chem. 2006 Jan 27;281(4):2306-16



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2009

5. Souplesse conformationnelle des CMH

- **Accessibilité des molécules en cours de biosynthèse : existence de plusieurs états de transition, révélés ou transitoirement stabilisés par l'interaction avec les chaperonnes.**
- **Accessibilité des molécules formés vs. Processus d'échange de ligands et de contrôle de qualité.**

Ex : CD1b et pH

Relloso M, et al. pH-dependent interdomain tethers of CD1b regulate its antigen capture. *Immunity*. 2008 Jun;28(6):774-86.



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2009

Complexité de l'analyse des paramètres dynamiques de l'association CMH-ligand.

- **Un peptide est lié par deux types d'interactions non covalentes.**
 - **Un réseau conservé de liaisons H entre l'armature du peptide et des résidus non polymorphes du CMH restreint la conformation du peptide.**
 - **Interactions spécifiques des séquences du CMH et du peptide.**



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2009

- **Les deux sont sensibles aux états conformationnels stables ou transitoires des CMH.**
 - **Certains de ces états sont induits par de chaperonnes, cofacteurs ou récepteurs lors de contacts distants du peptide et / ou de la fente du CMH.**
 - ➔ **Des mesures « élémentaires » comme celles de K-on ou du K-off sont contextuelles.**



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

1^{ère} partie : Le CMH : Gènes et molécules.

I. Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité

II. La biosynthèse des antigènes majeurs de Classe I

III. La biosynthèse des antigènes majeurs de classe II

IV. Les molécules du CMH-I non classiques

V. Les interactions entre CMH-I et ligands

Conclusion



Conclusion

Un système de surveillance qui analyse en permanence tous les compartiments cellulaires dans quasiment toutes les cellules, et qui :

- **Fonctionne par échantillonnage dynamique ;**
- **Dépend, dans une certaine mesure, du type de cellule ;**
- **Est, pour une partie, spécialisé vis-à-vis de l'environnement microbien (infectieux) ;**
- **Signale le normal et l'anormal au réseau sentinelle formé principalement par les cellules T.**



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

Conclusion

Comment est assurée la spécificité du système de surveillance pour la détection des « anomalies » ?

- **Spécificité de l'interaction (CMH – peptide) ↔ (TCR).**
- **Autres éléments de spécificité (spatio-temporelle notamment).**

Conclusion

La nécessaire dégénérescence des interactions :

**Mason D. A very high level of crossreactivity is an essential feature of the T-cell receptor.
Immunol Today. 1998 Sep;19(9):395-404**

- 10^8 cellules T naïves chez la souris.
- Pour 7 acides aminés dans un peptide de 9 :

$$(20)^7 = 1.28.10^9$$

dans un univers de $(20)^9 \approx 5.10^{11}$ peptides



LE SOI ET L'AUTRE

Compatibilité et Incompatibilité immunologiques

Introduction

1ère partie : Le CMH : Gènes et molécules.

2ème partie : Reconnaissances moléculaires et cellulaires.

3ème partie : Identité immunologique, alloréactivité et rejet des greffes.

4ème partie : La mère et son fœtus.

5ème partie : Préférences reproductives.

6ème partie : Le soi et l'autre : les moteurs de diversité.

Conclusions



2ème partie :

LE CMH : RECONNAISSANCES MOLECULAIRES ET CELLULAIRES

I. Analyse moléculaire des interactions impliquant le CMH

- A. Interactions (CMH-ligand) - TCR
- B. Interactions avec d'autres molécules des cellules T.
- C. Interactions avec les récepteurs des cellules NK.
- D. Interactions en cis vs. Interactions en trans.
- E. Les synapses immunologiques.

II. Signification immunologique des reconnaissances cellulaires

- A. Les cellules présentatrices (APC).
- B. Les différents types de cellules T.
- C. Les cellules NK.



I. Analyse moléculaire des interactions impliquant le CMH.

A. Interactions (CMH-ligand) - TCR

- **Les complexes (CMH-ligand) sont reconnus par le TCR, mais aussi par d'autres molécules (récepteurs NK etc.)**

- **Rappels sur la structure des TCR**
 - **TCR α β et γ δ**
 - **Régions CR 1, 2 et 3 (CDR3 « hypervariable ») (cf. anticorps).**
 - **Diversité**

- **Une vingtaine de structures cristallographiques de complexes tripartites.**



1. Caractéristiques générales (CMH-I et II classiques)

Rudolph MG, et al. How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors. Annu Rev Immunol. 2006;24:419-66

Godfrey DI, The fidelity, occasional promiscuity, and versatility of T cell receptor recognition. Immunity. 2008 Mar;28(3):304-14.

- **Le domaine V α est positionné sur l'hélice α 2 du CMH et sur l'extrémité N terminale du peptide. A l'inverse : V β sur α 1 et extrémité C terminale.**
- **Polarité globale assez semblable.**
Mais : pas de positionnement diagonal sur CMH-I (CD8) et orthogonal sur CMH-II (CD4).



- **CDR3 interagit souvent avec le ligand, mais CDRI et CDR2 peuvent interagir aussi, de même que CDR3 peut interagir avec CMH.**
 - **Mais : pas d'interaction systématique de CDRI et CDR2 avec CMH et de CDR3 avec le peptide.**

- **Triade conservée : résidus 65,69 ET 155 du CMH, contactés par tous les TcR.**

- **Surface de contact enfouie : 1200 à 2400 Å²**
 - **Complémentarité des surfaces médiocres.**
 - **Affinité faible (1 à 200 pM).**
 - **Contribution énergétique très variable des CDR (mutagenèse dirigée).**



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

- **Plasticité des boucles CDR vs ajustements conformationnels mineurs du CMH (mouvements de chaînes latérales pour éviter les conflits ou améliorer la complémentarité).**
- **Plasticité du peptide : exemple de la reconnaissance d'un peptide (EBV) protubérant : le peptide est « écrasé » par le TCR.**

Tynan FE, et al. A T cell receptor flattens a bulged antigenic peptide presented by a major histocompatibility complex class I molecule. Nat Immunol. 2007 Mar;8(3):268-76.



- HLA-B 3501 + peptide EBV Ilaa.
- Réponse CTL « publique ».
- Surface enfouie : $\bar{Y}\alpha \approx \bar{Y}\beta$ CDR3 α et β : 22 et 27 %
- Restriction HLA – B3508 (Leu 156 vs. Arg 156).
- Quelle sélection thymique ?
- Solution quasi unique pour le TcR (contrainte de rigidité) (immunodominance ?).

Venturi V, et al. The molecular basis for public T-cell responses? Nat Rev Immunol. 2008 Mar;8(3):231-8.



2. Cas des CMHI b

- **Beaucoup moins de structures tripartites disponibles**

- **HLA-E + peptide de CMV et TCR.**

Hoare HL, et al. Structural basis for a major histocompatibility complex class Ib-restricted T cell response. Nat Immunol. 2006 Mar;7(3):256-64.

- **(CD1d – α Galcer)-TCR de cellule NKT (TCR avec chaîne α invariante, biais pour les chaînes V β 8.2, 7 et 2 chez la souris).**

Borg NA, CD1d-lipid-antigen recognition by the semi-invariant NKT T-cell receptor. Nature. 2007 Jul 5;448(7149):44-9.



Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

3. Une grande diversité dans les stratégies de pontage des TCR avec le CMH- Ligand.

Godfrey DI, The fidelity, occasional promiscuity, and versatility of T cell receptor recognition. *Immunity*. 2008 Mar;28(3):304-14. FIG 2



4. Spécificités et dégénérescence des reconnaissances du ligand (peptide) et du CMH.

- **La réponse T contre un même peptide et un même CMH chez un même individu est diverse : plusieurs TCR, pontages différents, sans mimiques moléculaires.**
- **Contributions énergétiques des liaisons du TCR au CMH et au peptide : peu éclairantes.**
- **Un même TCR peut reconnaître plusieurs CMH + peptides : réactivité croisée et alloréactivité.**



■ **Comment le TCR ne reconnaît-il que des ligands portés par CMH ?
(≠ anticorps).**

*** Pure sélection thymique ou traits structuraux de reconnaissance du CMH ?**

*** Inscrit dans le génome ? (conservation des V) ?**

Van Laethem F, et al. Deletion of CD4 and CD8 coreceptors permits generation of alphabeta T cells that recognize antigens independently of the MHC. *Immunity*. 2007 Nov;27(5):735-50

Feng D, et al. Structural evidence for a germline-encoded T cell receptor-major histocompatibility complex interaction 'codon'. *Nat Immunol*. 2007 Sep;8(9):975-83.

Mazza C, et al. How much can a T-cell antigen receptor adapt to structurally distinct antigenic peptides? *EMBO J*. 2007 Apr 4;26(7):1972-83.

Dai S, et al. Crossreactive T Cells spotlight the germline rules for alphabeta T cell-receptor interactions with MHC molecules. *Immunity*. 2008 Mar;28(3):324-34.



- **En biaisant les élections thymiques, on parvient à obtenir des TCR qui reconnaissent des ligands sans CMH.**
- **Analyse des cellules T dans une souris où CMH-II est lié de façon covalente à un peptide : Population très cross réactive, interactions conservées modulées par la sélection négative.**



Identification d'empreintes sur CMH II de 3 TCR différents (peu à très cross-réactifs). Les interactions impliquant CDR 1 et CDR 2 se concentrent sur quelques acides aminés de V β 8 et de V α 4 à mesure que la réactivité croisée augmente.



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008-2009

- **Code structural ? « Codons » d'interactions dans les chaînes V inscrits dans le génome, ce qui expliquerait la conservation des V et leurs co-évolutions avec le CMH.**
- **De nombreuses autres structures seront nécessaires. Techniques de RMN.**

Varani L, et al. Solution mapping of T cell receptor docking footprints on peptide-MHC. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Aug 7;104(32):13080-5.



B. Interactions avec d'autres molécules des cellules T.

1. Association avec CD4 et CD8

- **CD4 : liaison avec une crevasse hydrophobe à la jonction $\alpha 2 \beta 2$ de CMH II**
- **CD8 (homodimère) ($\alpha \beta$) : base du domaine $\alpha 2$ de CMHI (très glycosylé).**
- **Le TCR à la place pour se lier.**
- **La queue intra-cytoplasme de CD4 et CD8 recrute Lck à proximité des TCR.**



C. Interactions avec les récepteurs des cellules NK.

- **Ly 49** Lectine de type C chez la souris (13 inhibiteurs, 10 activateurs)

- **KIR** de type IgG chez l'homme
 - + LILR (Leukocyte immunoglobulin like receptors) chez l'homme (PIR chez la souris)

 - + Les récepteurs CD94 – NKG2 (reconnaissance de HLA – E)

➔ Ly 49 et KIR : exemple d'évolution convergente.

- **Ly 49 : liaison avec une crevasse située sous la plateforme de présentation du peptide.**
- **KIR : reconnaissance du dessous de CMH (comme TCR)**

■ **CD94 – NKG2A / HLA – E (CD94 – NK62D / MICA)**

Kaiser BK, et al. Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 May 6;105(18):6696-701.

Hoare HL, et al. Subtle changes in peptide conformation profoundly affect recognition of the non-classical MHC class I molecule HLA-E by the CD94-NKG2 natural killer cell receptors. J Mol Biol. 2008 Apr 11;377(5):1297-303.

Petrie EJ, et al. CD94-NKG2A recognition of human leukocyte antigen (HLA)-E bound to an HLA class I leader sequence. J Exp Med. 2008 Mar 17;205(3):725-35.

Sullivan LC, et al. The heterodimeric assembly of the CD94-NKG2 receptor family and implications for human leukocyte antigen-E recognition. Immunity. 2007 Dec;27(6):900-11.



D. Interactions en cis vs. interaction en trans:

Held W, Mariuzza RA. Cis interactions of immunoreceptors with MHC and non-MHC ligands. Nat Rev Immunol. 2008 Apr;8(4):269-78. .

- **TCR-CMH : impossibilité structurale d'une interaction en cis.**
- **Ly49- CMH :**
 - **Différentes géométries des complexes en trans, avec deux conformations possibles (ouverte et fermée) de Ly 49**
 - **Interaction en cis sur la cellule NK : réduit de 3/4 (H2-D^d) la quantité de Ly49A disponible pour interaction en trans.**
 - **Même site de liaison sur CMH en cis et en trans : tige longue de Ly49.**



- **Même problématique avec les LILR chez l'homme (5 inhibiteurs + 4 activateurs).**
 - **Structure de LILRB I- HLA- A2. Site de contact sur HLA-A2 : alpha 3 – Beta 2 m.**
 - **Possibilité d'interagir en cis grâce à une flexibilité importante des régions qui connectent les 4 domaines de type IgG.**
 - **Rôle dans la régulation de la fonction effectrice des mastocytes.**
- ➔ **2 stratégies différentes : flexibilité de la tige ou des zones de connexion des domaines.**



- **Pas d'indication d'interaction en cis pour CD94 – NKG2 (liaison à alpha 1 – alpha 2 du CMH), ni pour les KIR (qui se lient sur le dessus comme le TCR).**

- **HFE (protéine de l'hématochromatose) contribue à l'homéostasie du fer en se liant au récepteur de la transferrine (TfR)**
 - **La structure du complexe indique une association en cis.**

 - **HFE « s'allonge » sur la membrane. Les hélices alpha des TfR se logent dans la fente (autrement vide).**

 - **HFE peut être reconnu par TCR (donc en position droite).**



Interactions avec des molécules vides de CMH I ?

- **Il existe une petite fraction de molécules vides à la surface, et une abondante littérature (ancienne) suggérant des associations entre elles, ou avec d'autres récepteurs, en cis ou en trans.**
- **Existence d'états de transition ouverts instables : opportunité pour association en cis de la chaîne lourde avec d'autres molécules :**
 - **Récepteur de l'insuline : anticorps anti alpha 1 65 85 : hypoglycémie.**
 - **CD25, IL-ISR alpha**

Arosa FA, Open conformers: the hidden face of MHC-I molecules. Trends Immunol. 2007 Mar;28(3):115-23.



E. Les synapses immunologiques :

Dustin ML. T-cell activation through immunological synapses and kinapses. Immunol Rev. 2008 Feb;221:77-89

Orange JS. The lytic NK cell immunological synapse and sequential steps in its formation. Adv Exp Med Biol. 2007;601:225-33

- **Un niveau supérieur d'organisation qui requiert de nouvelles méthodes et une modélisation.**

DeMond AL, Groves JT. Interrogating the T cell synapse with patterned surfaces and photoactivated proteins. Curr Opin Immunol. 2007 Dec;19(6):722-7.

Reichardt P, et al. The molecular makeup and function of regulatory and effector synapses. Immunol Rev. 2007 Aug;218:165-77.

Irvine DJ, et al. Patterned surfaces as tools to study ligand recognition and synapse formation by T cells. Curr Opin Immunol. 2007 Aug;19(4):463-9.

PROCHAIN COURS MERCREDI 5 DECEMBRE A 17H00

2ème partie :

LE CMH : RECONNAISSANCES MOLECULAIRES ET CELLULAIRES

I. Analyse moléculaire des interactions impliquant le CMH

- A. Interactions (CMH-ligand) - TCR
- B. Interactions avec d'autres molécules des cellules T.
- C. Interactions avec les récepteurs des cellules NK.
- D. Les synapses immunologiques.

II. Signification immunologique des reconnaissances cellulaires

- A. Les cellules présentatrices (APC).
- B. Les différents types de cellules T.
- C. Les cellules NK.