



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**



# **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**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## INTRODUCTION

- **Thème général du cours 2008 – 2009 : étude comparative des individus au sein d'une même espèce.**

**(Le cours 2007 – 2008 « Les systèmes immunitaires dans l'évolution des espèces » portait sur les comparaisons entre les espèces).**



■ **Les différences génétiques entre individus au sein d'une même espèce.**

**- Chez l'Homme :**

- . **Plusieurs millions de nucléotides différents entre deux génomes.**
- . **Plusieurs milliers de maladies génétiques répertoriées.**
- . **Un nombre considérable de polymorphismes génétiques ayant une incidence phénotypique.**

**- Dans toutes les espèces :**

**Existence d'un grand nombre de variants génétiques (animaux, végétaux, bactéries, etc.) (notion de clade, virus à variabilité élevée).**



■ **Les différences immunologiques entre individus.**

- **Initialement évaluées par le rejet des greffes, dont on sait maintenant qu'il est une conséquence « accidentelle » de la fonction princeps des antigènes majeurs d'histocompatibilité.**
- **Plus de 99.9 % des humains sont immunologiquement différents.**
- **Pas lié exclusivement à l'immunité adaptative ; trouvé chez des invertébrés dotés seulement d'immunité innée (éponges, cas des plantes).**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## ■ Questions:

### 1 - Sur les différences génétiques :

- . Leur émergence fait-elle, ou non, l'objet de sélection(s) ?
- . Si oui, par quel(s) mécanismes ?
- . Meilleure survie du fœtus.
- . Préférence d'accouplement.
- . Meilleure survie individuelle ou sociale.



COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## **2 - Sur les différences immunologiques :**

- . En quoi les systèmes immunitaires sont-ils différents ?**
- . Quels sont les mécanismes de reconnaissance des différences (greffes) ?**
- . Quels sont les mécanismes de non- reconnaissance des différences (fœtus, tumeurs) ?**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

- Pourquoi les systèmes immunitaires sont-ils différents ?
- L'émergence des différences fait-elle, ou non, l'objet de sélection(s) ?
- Si oui, par quel(s) mécanismes ?
  - . Meilleure survie du fœtus.
  - . Préférence d'accouplement.
  - . Meilleure survie individuelle ou sociale.
- Y a-t-il congruence entre les mécanismes génétiques et immunologiques ?





*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

■ **Les principaux acteurs immunologiques.**

- **Chez les mammifères, une affaire liée principalement au CMH, et aux cellules T.**
- **Beaucoup d'éléments nouveaux depuis 10 ans.**
- **Rappel sur CMH et cellules T.**
- **Rappel sur cellules NK et immunité innée.**



## **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**



## Introduction

- **Le rejet de greffe est une conséquence « accidentelle » de la fonction première des antigènes d’histocompatibilité et de leur polymorphisme.**
- **Le vocabulaire en porte la trace.**
- **Au premières études, sérologiques, sur les antigènes, H-2 de la souris et HLA de l’homme, ont succédé les analyses moléculaires : clonage des gènes des protéines, des loci génétiques, des génomes, dans différentes espèces.**
- **Développements majeurs de la biologie cellulaire et de l’immunologie cellulaires (rôle de l’imagerie).**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
—1530—

Chaire d'Immunologie Moléculaire

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## **1<sup>ère</sup> 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**



## **I. Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité**

- **La région génétique qui code pour les antigènes « majeurs » (HLA chez l'homme, H-2 chez la souris).**
- **L'identification d'une région particulière repose sur une cohérence supposée, en raison d'une certaine conservation évolutive.**
- **La non-dispersion des gènes codant pour les antigènes majeurs appelle l'attention sur les autres gènes de la région.**
- **La « région » contient des gènes très polymorphes et d'autres qui le sont peu ou pas.**



- **Les antigènes majeurs, dans toutes les espèces, ont une structure caractéristique :**
  - . 2 hélices  $\alpha$  posées sur un plateau de feuillets  $\beta$  définissant une poche ;
  - . Le tout reposant sur deux domaines de types Ig.
  
- **Les antigènes CMH-I et CMH-II diffèrent par 2 traits structuraux :**
  - . Poche fermée (I) vs poche ouverte (II).
  - . 2 chaînes, avec 3 + 1 modules (I) vs 2 + 2 (II).



- **Lorsqu'on recherche des analogues des antigènes majeurs du CMH (homologie de séquence et / ou homologie de structure), on trouve de nombreux gènes dans le CMH mais aussi hors du CMH.**
- **Plus abondants pour CMH-I que CMH-II.**
- **Fonctions diverses, généralement peu ou pas polymorphes.**
- **Baptisés « antigènes non classiques ». Non impliqués dans le rejet des greffes.**
- **A distinguer des antigènes mineurs d'histocompatibilité, situés hors du CMH.**



## **Le CMH minimal du poulet (Locus B)**

**Kaufman, J. The Avian MHC, Avian Immunology, Elsevier Ltd (2008)**

- **Locus petit et compact : 11 gènes dans 44 kb, 19 gènes dans 92 kb.**
  
- **Contient des gènes codant pour :**
  - . **CMH-I et IIB**
  - . **TAP, DM, C4**
  - . **CDI (à 50 kb)**
  
- **D'autres gènes appartenant au CMH des mammifères sont localisés en dehors du locus, sur d'autres chromosomes.**





## **Le CMH de la souris (Locus ou complexe H-2)**

- **Beaucoup plus grand : environ 1200 kb sur le chromosome 17.**
- **Plus de gènes mais moins dense.**
- **Divisé en 3 régions :**
  - . **Région classe I**    **CMH I classiques et non classiques, etc.**
  - . **Région classe II**    **CMH II A et B, DM, DO, LMP, TAP etc.**
  - . **Région classe III**    **C, Factor B, TNF, LT, etc.**
- **Beaucoup de gènes non classiques (surtout CMH I) sur d'autres chromosomes.**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## **Le CMH de l'homme (Locus ou complexe HLA)**

**Trowsdale J. HLA genomics in the third millennium. *Curr Opin Immunol.* 2005 Oct; 17(5):498-504.**

- **Encore plus grand (2000 kb ou plus sur chromosome 6, plus de gènes mais moins dense.**
- **Divisible en 3 régions, organisation distincte de la souris,**
- **Beaucoup de gènes non classiques sur les chromosomes 1, 9, 12, 19.**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## Comparaison des CMH.

- Identification de 4 régions paralogues, issues d'une double duplication ancienne.

**Flajnik MF, Kasahara M. : Comparative genomics of the MHC: glimpses into the evolution of the adaptive immune system. *Immunity*. 2001 Sep;15(3):351-62**

**Kelley J, Walter L, Trowsdale J. Comparative genomics of natural killer cell receptor gene clusters. *PLoS Genet*. 2005 Aug;1(2):129-39**



## Le nombre d'allèles codant pour les antigènes majeurs.

<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/>

- **Imgt : The international immunogenetics information system**

- **Janvier 1999 : 980                      2003 : 1620                      2005 : 1972**

- **Juillet 2008 : 3201 allèles**

<b>HLA-I</b>	<b>2215</b>
<b>HLA-II</b>	<b>986</b>

- **Novembre 2008 : 3304 allèles**

<b>HLA-I</b>	<b>2292</b>
<b>HLA-II</b>	<b>1012</b>



COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## **1<sup>ère</sup> 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**



## II. La biosynthèse des antigènes majeurs de Classe I

### A. Généralités sur les CMH-I et II

- Une innovation majeure de l'immunité adaptative (cf. anticorps avec partie constante et partie variable).
- Protéines composites : récepteurs de spécificités dégénérée + une peptide.
- Une même poche peut recevoir de nombreux peptides différents, si ceux-ci ont des caractéristiques adaptées à la poche.
  - . Taille      CMH-I poche fermée : 8 – 10 aa  
                  CMH-II poche ouverte : 8 – 17 aa
  - . Acides aminés d'ancrage       $\longleftrightarrow$  « puits » au sein de la poche.



- **CMH-I : exprimés sur la plupart des cellules de l'organisme.**
- **CMH-II exprimés sur les APC (ou inductibles dans certaines cellules).**
- **Les sources de peptides ne sont pas nécessairement les mêmes.**
- **Il n'existe pratiquement pas de CMH « vides » et stables à la surface des cellules → le peptide logé dans la poche fait partie du processus de biosynthèse.**



## **B. Les sources premières de peptides pour CMH-I**

- **Une cellule exprime  $10^4$  à  $10^5$  molécules de CMH-I**  
→ **potentiel d'expression de  $10^4$  à  $10^5$  peptides différents.**
- **Les peptides « présentés » constituent un échantillon des protéines internes de la cellule (mais : néosynthèse, stabilité, etc. Exemple : p53)**
- **Présentation de peptides issus de protéines virales dans l'heure qui suit l'infection.**





## **Quelques chiffres :**

- **Une cellule contient environ  $3 \cdot 10^9$  protéines (concentration intracellulaire : 300 à 400 mg/ml).**
- **25% des gènes codent pour une protéine du RE ou sécrétée.**
- **Demi-temps de vie moyen : 1 à 2 jours (10 min à plusieurs semaines).**
- **Une cellule synthétise  $3 \cdot 10^6$  protéines.**
- **Charge de peptides 100 CMH-I / min.**
- **Les taux d'erreurs dans les processus de transcription et de traduction des protéines sont élevés ( $10^{-3}$  par aa dans une protéine) et encadrés par des contrôles de qualité sophistiqués.**



- **Production de peptides par les protéines en cours de synthèse ou néosynthétisées.**

**Donohue, K.B. et al. Cross-priming utilizes antigen not available to the direct presentation pathway. Immunology. 2006 Sep;119(1):63-73.**

**Antigène cytosolique :  $\beta$ -galactosidase. La génération de peptides diminue après arrêt de la transcription en dépit de l'accumulation préalable de protéine stable. Arrêt en 30 minutes.**

- **Lien avec la règle de l'extrémité N-terminale (ubiquitine, démasquage d'un dégron = signal de dégradation rapide).**



## **L'hypothèse des protéines naissantes défectueuses.**

**Yewdell, JW. The DRiP hypothesis decennial: support, controversy, refinement and extension - Trends in Immunology, Vol 27-8, 2006, 368-373**

**Yewdell, JW. Plumbing the sources of endogenous MHC class I peptide ligands Current Opinion in Immunology, Vol 19-1, 2007, 79-86**

- **Jusqu'à 30% des protéines naissantes seraient défectueuses (séquence et/ou conformation) et vouées à la dégradation.**
- **Pauses dans la synthèse protéique ? Rôle des ARNt mineurs ? (1/3 des ~ 450 gènes de tARN sont situés dans le complexe HLA).**



## **Les sources non conventionnelles et peptides: les épitopes cryptiques**

- **Transcrits aberrants (y compris anti-sens).**
- **Epissage incomplet.**
- **Mutations dans introns.**
- **Extensions d'exons.**
- **Décalage du cadre de lecture (frameshift).**
- **Initiation interne de la traduction.**
- **Décodage d'un doublet.**
- **Initiation non AUG [ inhibition de ( e IF )  $2\alpha$  ]**
- **Elimination d'une séquence interne d'acides aminés et religation.**



- **Les produits aberrants sont immunologiquement pertinents et probablement très peu abondants (ex ARF : Yewdell J.W. et al. *New lane in the information highway: alternative reading frame peptides elicit T cells with potent antiretrovirus activity* J. Exp. Med. 2007 204: 2501-2504).**
- **Existerait-il des « immunoribosomes » spécialisés dans la capture de chaînes aberrantes ?**
- **L' ubiquitinylation pourrait être moins générale que prévu.**
- **Différences dans les anomalies ? Protéines très défectueuses (25 %) → protéasome 20S. Les autres (75%) → protéasome 26S.**



## Hypothèse de l'échantillonnage stochastique (aléatoire)

**Eisenlohr, LC. et al Rethinking peptide supply to MHC class I molecules  
Nature Rev. Immunology, 7, 403-410 (2007)**

- Dans un milieu intracellulaire concentré (300-400 mg/ml) les protéines naissantes sont interceptées par une machinerie complexe qui guide leur mise en forme dans un environnement isolé, tout en effectuant le contrôle de qualité.
  - . Etape initiale : protéines de choc thermique (régions hydrophobes).
  - . Les protéines partiellement compactées sont transférées aux chaperonines.
- Les décisions de contrôle de qualité ne sont pas faites dans la hâte.
  - . Processus lent.
  - . Protéines mutantes « imparfaites ».



- **Existence « d'agrégasomes »** agrégats de protéines mal formées qui se résolvent lentement –ou pas, et sont la cible de l'autophagie, et non de la digestion par le protéasome.  
  
→ La dégradation par le protéasome de protéine défectueuses ne peut-être l'unique source de peptides.
  
- **Alternative :** la sélection pour la dégradation immédiate est stochastique, sans rapport avec le potentiel de parvenir à la configuration correcte.



■ **Mécanisme proposé :**

- . **Des HSP sont associées aux ribosomes : critiques pour la prise en charge des protéines naissantes.**
  - . **Turn-over des HSP → 10 % des ribosomes dépourvus de HSP.**
  - . **Le protéasome 20S avec ses anneaux  $\alpha$  de structure analogue aux HSP prend en charge les protéines correspondantes.**
- **Le protéasome 20S : filet de sécurité, peut-être même un compétiteur des HSP si un certain niveau de turnover est utile à la cellule.**
- **Une deuxième vague de dégradation devrait provenir des protéines interceptées par le système de mise en forme. Fonction des degrons de la protéine.**





## **Quelques conséquences possibles :**

- **Surcharge probable de l'appareil de traduction pendant l'infection virale  
→ plus de présentation.**
- **Le protéasome 20S pourrait être plus efficace que le 26S (connection avec TAP ?).**
- **Protéines non cytosoliques dans le RE qui sont défectueuses et rétro-transloquées dans le cytosol (ERAD).**
- **Problématique de la phagocytose et de la présentation croisée.**



## **C. Etapes de la biosynthèse de CMH-I**

### **1. Production de peptides**

- **Source majeure : le protéasome. Sources alternatives (présentation croisée).**
  
- **Peptides produits : 2 à 25 aa.**
  
- **3 types de protéasomes :**
  - . **Protéasome « standard ».**
  - . **Immunoprotéasome .**
  - . **Thymoprotéasome.**



**Murata, S. et al. Thymoproteasome: probable role in generating positively selecting peptides  
Current Opinion in Immunology, Vol 20, 2, 192-196 (2008).**

■ **Protéasome standard 26S = proteasome 20.S + couvercle 19.S**

■ **Protéasome 20S**

. **4 anneaux heptameriques empilés (2  $\alpha$  7 + 2  $\beta$  7)**

. **3 sous-unités  $\beta$  ont une activité protéolytique biaisée.**

-  $\beta$  1      résidu acide                      - type caspase

-  $\beta$  2      résidu basique                      - type trypsine

-  $\beta$  5      résidu hydrophobe                      - type chymotrypsine

■ **Le clivage détermine l'extrémité C terminale des peptides, qui est un des points d'ancrage pour CMH-I (préférence : hydrophobe).**



Standard	$\beta$ 1	$\beta$ 2	$\beta$ 5	acide +	basique +	hydrophobe +
Immunoproteasome	$\beta$ 1 i	$\beta$ 2 i	$\beta$ 5 i	↘	+	+
Thymoproteasome	$\beta$ 1 i	$\beta$ 2 i	$\beta$ 5 t	↘	+	↘

Résidu P1 de la poche S1 de  $\beta$ 5 : hydrophile pour  $\beta$  5 t  $\neq$  hydrophobe

- Thymoproteasome exprimé uniquement+ dans le cortex thymique :  
Rôle dans la sélection positive des T CD8<sup>+</sup>

Murata, S. et al. Regulation of CD8<sup>+</sup> T cell development by thymus-specific proteasomes. *Science*. 2007 Jun 1;316(5829):1349-53



## 2. Passage au travers de la membrane du RE

**Purcell AW, Elliott T. Molecular machinations of the MHC-I peptide loading complex. *Curr Opin Immunol.* 2008 Feb;20(1):75-81.**

- **Transport des peptides : TAP.**
  
- **Chaîne lourde CMH et  $\beta$ 2-m : transfert conventionnel (peptide signal).**
  - . **Chaîne lourde stabilisée par GRP78 et calnexine**
  - . **Association avec  $\beta$ 2-m**
  - . **Déplacement de la calnexine au profit de la calréticuline**  
(changement de conformation, et déglycosylation sur Asp 86)



- **Recrutement de ERp57 et de la tapasine dans le complexe de charge.**
  - . ERp57 = thiol oxydoreductase.  
Formation des ponts S-S et aide à la respiration conformationnelle (intervention possible de la PD1 = protéine disulphide-isomerase).
  - . ERp57 est liée par un pont S-S à la tapasine.
  - . Déplacement de la calnexine au profit de la calréticuline
  - . La tapasine relie l'ensemble au transporteur de peptides TAP.
  
- **Contrôle de la qualité des complexes CMH-peptides en formation par la tapasine (ou le complexe tapasine-ERp57).**



■ **Ajustement de l'extrémité N-terminale du peptide.**

- . Rôle mineur de la protéase cytoplasmique TPPIE
- . Rôle majeur de ERAAP, protéase du RE = ERAP 1 + ERAP 2 chez l'homme.

■ **Protection possible par la molécule du CMH-elle-même.**

**Blanchard N, Shastri N. Coping with loss of perfection in the MHC class I peptide repertoire. Curr Opin Immunol. 2008 Feb;20(1):82-8.**

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



### **3. Mutants, variants et répertoire des peptides présentés.**

- **0 TAP : circuit du peptide signal**
- **0 Tapasine : peptides associés de demi vie plus courte**
- **0 ERAAP : peptides protubérants, plus longs.**
- **HLA-B27 : + ou – indépendant de la tapasine. Stabilité des complexes réduite.**
- **HLA-B4402 (position 116) - tapasine : 0 expression.  
+ tapasine : chargé avec peptides de haute affinité.**
- **HLA-B4405 - tapasine : exprimé.**





▶ Intervention de plusieurs mécanismes non indépendants de contrôle de qualité (génériques et spécifiques) portant sur :

- La conformation de CMH - I
- La qualité de la liaison du peptide.

**Ex.** Stabilisation, par la tapasine, d'une forme plus ouverte de CMH-I, qui augmenterait le  $k_{\text{off}}$  des peptides liés, avec rétention des meilleurs.

Au moins deux filtres :

- Contrôle d'affinité, notamment par la tapasine.
- Les CMH-I qui perdent leur peptide sont retenues et recyclées (ré-intervention possible des ponts S-S etc.)



► **Existence d'allèles naturels :**

- **L'hydrophobicité de la poche pourrait dicter sa propension à rester dans une conformation plus ouverte et réduire sa dépendance vis-à-vis de la tapasine et d'autres chaperonnes.**
- **Le polymorphisme de la poche n'altère pas seulement le répertoire des peptides mais aussi le trafic intracellulaire et l'intervention des chaperonnes.**
- **Un avantage biologique à la présentation de peptides de plus faible affinité ? (tumeurs, infections virales ?) (les peptides trop longs représentent 5% du répertoire élué de HLA-B1801).**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
—1530—

Chaire d'Immunologie Moléculaire

*Professeur Philippe Kourilsky*

*Année 2009*

## **Prochain cours : Mercredi 26 novembre à 17h00**

**1<sup>ère</sup> 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**