Chapitre 2

Biomembranes

D. Le Complexe Majeur d'histocompatibilité (CMH) et l'expression de l'antigène sur les molécules du CMH

Faculté des sciences et technologie
Département de science de la nature et de la vie
3ère année biochimie
Responsable de la matière : Dr. Hamra Fatima

Cours 4 : Expression d'antigène

Le Complexe Majeur d'histocompatibilité (CMH) et l'expression de l'antigène sur les molécules du CMH

Introduction

Les antigènes peptidiques, pour être reconnus par les lymphocytes T, doivent au préalable être rendus accessibles à un récepteur pour l'antigène présent à la surface du lymphocyte T (TCR). Cette fonction de **présentation de l'antigène** (en réalité un peptide) est assurée par les molécules du **C**omplexe **M**ajeur d'**H**istocompatibilité (CMH).

L'extrême diversité (**polymorphisme génétique**) du CMH en fait également le déterminant principal de l'acceptation (**histocompatibilité**) ou du rejet des greffes entre donneur et receveur différents, ce qui fut à l'origine de sa découverte par Jean Dausset et de sa dénomination. Le CMH humain est dénommé HLA (**H**uman **L**eukocyte **A**ntigen) car la première molécule d'histocompatibilité identifiée avait été repérée comme un antigène leucocytaire.

Les différences génétiques entre les molécules du CMH des individus se traduisent en physiologie par des différences d'aptitude à répondre efficacement à une stimulation antigénique donnée et en pathologie par des différences de susceptibilité à de nombreuses maladies. A cet égard, le polymorphisme du complexe HLA conduit à une variabilité interindividuelle à présenter un peptide donné, donc à induire la réponse de lymphocytes T spécifiques. Outre cette fonction dans l'immunité adaptative impliquant les lymphocytes T, certaines molécules codées par des gènes du CMH ont aussi un rôle important dans l'**immunité innée**.

Définition

Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) est une région du génome dont les gènes codent pour les molécules d'histocompatibilité qui sont présentent à la surface de cellules présentatrices d'antigène et qui assurent la présentation des antigènes aux lymphocytes T afin de les activer. Certains des gènes faisant partie du CMH n'ont pas de fonction de présentation de l'antigène mais codent pour

d'autres molécules jouant un rôle dans les défenses immunitaires. Tous ces gènes du CMH sont présents sous une forme poly-allélique à expression codominante. Le complexe majeur d'histocompatibilité humain est appelé le système HLA qui est présent au niveau du bras court du chromosome 6. Ces gènes sont extrêmement polymorphique au sein de l'espèce humaine et ceci d'autant plus que chaque individu possède un haplotype (combinaison de gènes) de la mère et un haplotype du père. La probabilité de trouver la même combinaison chez deux individus est quasiment inexistante : les molécules sont propres à chacun. L'interaction entre le peptide et le CMH est extrêmement peu spécifique, permettant aux molécules du CMH de présenter des milliers de peptides différents. Un peptide peut se fixer sur des molécules différentes, on parle de reconnaissance dégénérée.

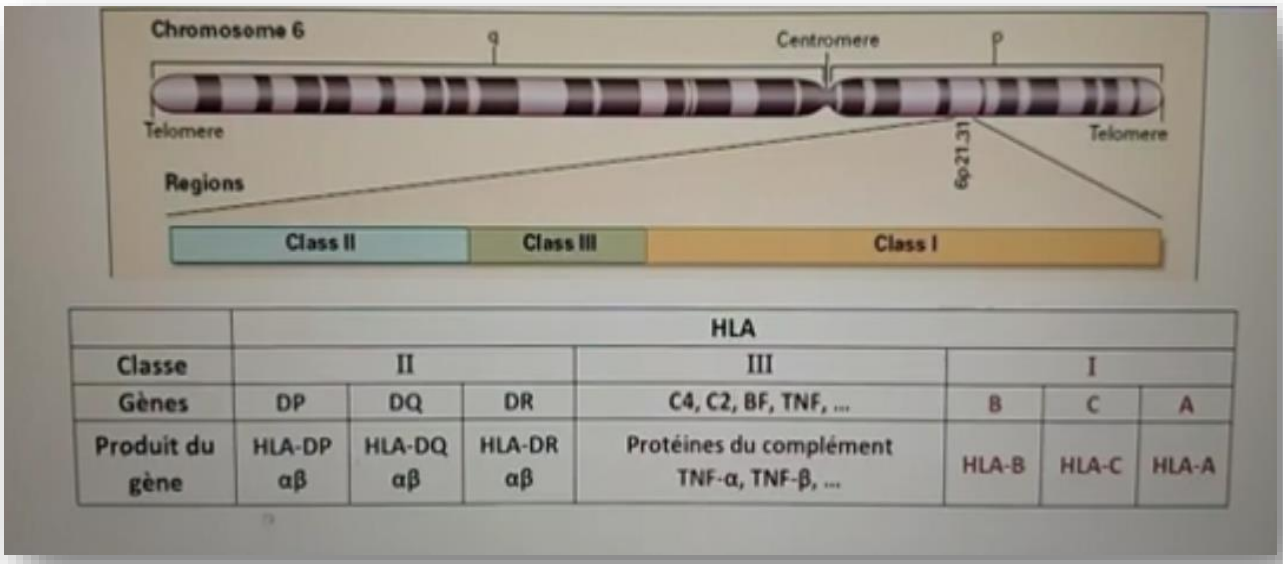
2. Structure et expression des gènes et produits de classes du CMH

Les gènes du CMH sont répartis en trois classes :

- Les **gènes de classe 1** codent pour les molécules de classes 1 du CMH. Les plus importants sont les gènes **HLA-A**, **HLA-B** et **HLA-C** qui codent pour les molécules du même nom. Les molécules de classes I du CMH permettent la présentation du peptide antigénique aux lymphocytes T CD8.
- Les **gènes de classe 2** codent pour les molécules de classes 2 du CMH. Les plus importantes sont les gènes **HLA-DP**, **HLA-DQ** et **HLA-DR** qui codent pour les molécules du même nom. Les molécules de classes II du CMH permettent la présentation du peptide antigénique aux lymphocytes T CD4.
- Les **gènes de classe 3** codent pour des molécules n'intervenant pas dans la présentation de l'antigène.

Remarque : il est important de préciser que les molécules du CMH de classe I et de classe II ne présentent que des peptides et donc des molécules de nature protéique ; certains polysaccharides peuvent tout de même être présentés.

L'interaction entre le peptide et le CMH est extrêmement **peu spécifique**, permettant aux molécules du CMH de présenter des milliers de peptides différents. Un peptide peut se fixer sur des molécules différentes, on parle de **reconnaissance dégénérée**.



	HLA						
Classe	II			III	I		
Gènes	DP	DQ	DR	C4, C2, BF, TNF, ...	B	C	A
Produit du gène	HLA-DP αβ	HLA-DQ αβ	HLA-DR αβ	Protéines du complément TNF-α, TNF-β, ...	HLA-B	HLA-C	HLA-A

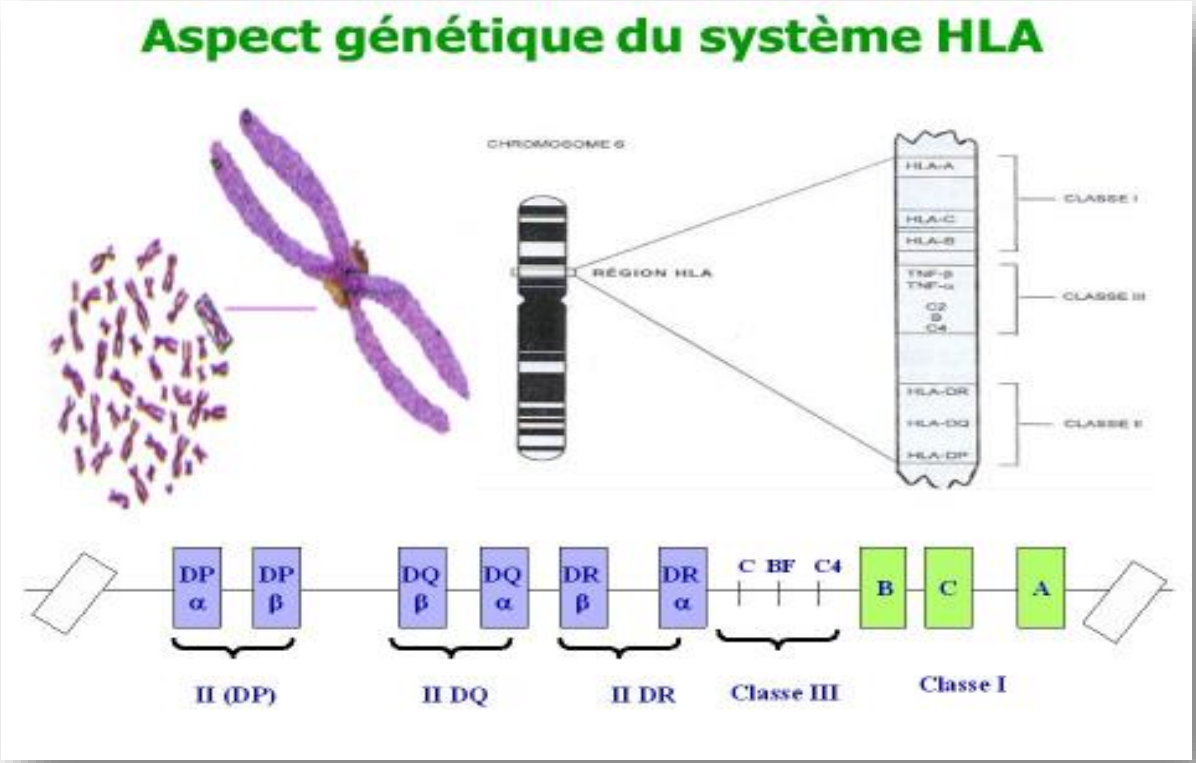


Figure 1 : Organisation générale de la région du CMH

2. Les différents types de CMH

Il existe des CMH de classe I et de classe II (cf tableau ci-après).

2.1 Le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH-I)

a) Caractéristiques

Les molécules du CMH-I codées par ces gènes sont présentes sur **toutes les cellules nucléées de l'organisme** (donc pas les globules rouges) à des taux variables (expression la plus importante au niveau des lymphocytes). Ces cellules ont pour fonction de présenter les molécules d'Ag à une série de lymphocyte T, les **LT-CD8** qui deviendront des **LT cytotoxiques**.

Chaque individus possèdent sur ces cellules nucléées 6 types de molécules de classe 1 du CMH (deux molécules HLA-A, deux molécules HLA-B et deux molécules HLA-C) mais exprimés plusieurs milliers de fois. Comme dit précédemment chaque individu possède un haplotype de la mère et un haplotype du père, mais dans chacun de ces haplotypes certains des gènes peuvent être identiques, autrement dit un individu peut posséder deux gènes HLA-A identiques (idem pour HLA-B et HLA-C). Chacun d'entre nous possèdent ainsi **6 types de molécules** de classe 1 du CMH différentes **au plus** et **3 types de molécules au moins**.

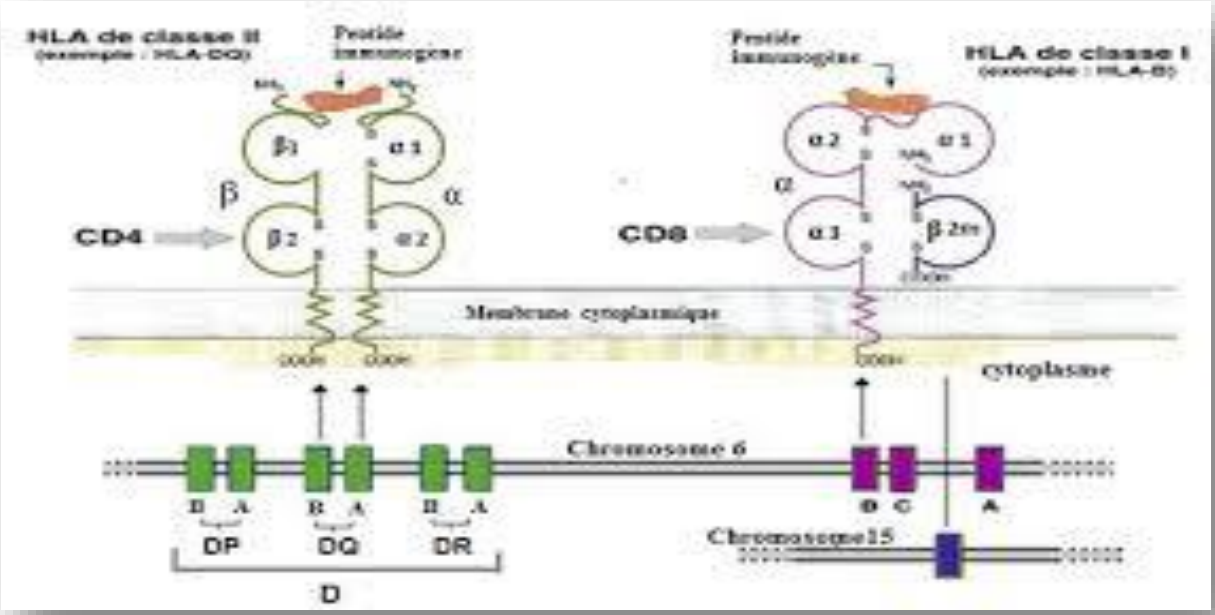
b) Structure des molécules du CMH-I

Ces molécules de classe 1 sont composées de **deux chaînes polypeptidiques α et β**, qui présentent toutes deux des domaines « immunoglobuline-like » et qui sont associées de manière **non covalente** :

- La **chaîne α** (ou chaîne lourde) est codée par les gènes HLA-A, HLA-B et HLA-C. Elle est **polymorphique** et donc varie suivant les 6 gènes que l'individu possède. Elles présentent trois domaines « immunoglobuline-like » : **α1**, **α2** et **α3**.
- La **chaîne β** (ou chaîne légère) qui est **non-polymorphique**, autrement dit elle est la même pour tout le monde. Elle est codée par un autre **gène non présent dans le CMH** et assure un maintien de la conformation. Cette chaîne est dite **β2-microglobuline** et possède un domaine « immunoglobuline-like » : **β2m**.

Les molécules du CMH-I sont constituées de **4 parties** caractéristiques :

- La **région de liaison au peptide antigénique** ou **région PBR** (pour *Peptide Binding Region*) est formée par les domaines **α1** et **α2** qui forment une cavité dans laquelle ira se loger le peptide antigénique.
- La **région immunoglobuline-like** est formée par les domaines **β2m** et **α3** et est la région qui fixe le **CD8**.
- La **région transmembranaire** qui est unique, la chaîne β2m ne présentant pas de segment transmembranaire.
- La **région intra-cytoplasmique** qui également unique pour les mêmes raisons que pour la région transmembranaire.



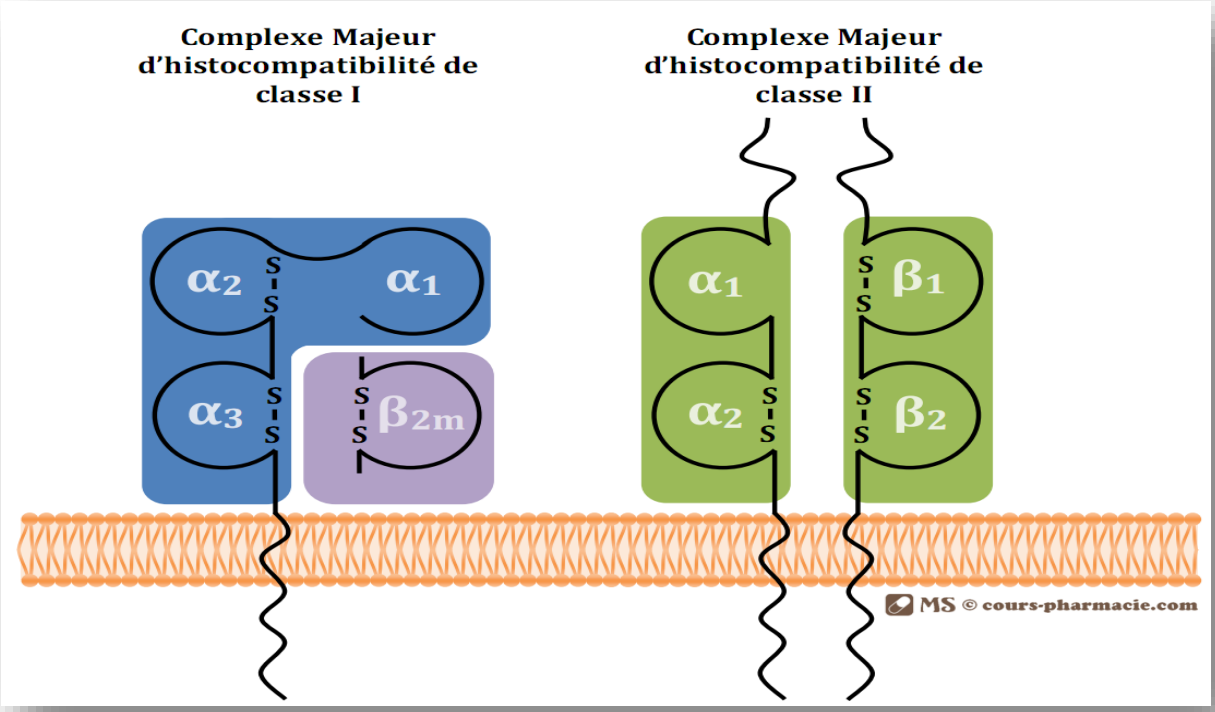


Figure 2 : Différents types de CMH (classe I et II)

C) Formation du complexe et mécanismes d'action

Les molécules du CMH-I vont présenter les peptides antigéniques produits dans la cellule, correspondant soit aux antigènes du soi (protéines tumorales), soit aux antigènes provenant de **virus** mais synthétisé par la cellule. Autrement dit, on considère ici des **peptides**

endogènes provenant du **cytoplasme**. Les molécules antigéniques vont être dégradées par le **protéasome** en **peptides de taille bien définit** (9 acides aminés).

La chaîne lourde α et la chaîne légère β vont être synthétisées de manière indépendante dans le réticulum endoplasmique de la cellule nucléé. Le complexe formé de la chaîne α et de la chaîne β2- microglobuline nécessitera une association avec des **protéines chaperonnes** qui serviront à maintenir la conformation ; parmi elles on compte la calréticuline, la calnexine et la tapasine.

Ce complexe protéine s'associera ensuite à deux molécules présentes dans la membrane du réticulum et qui y forment un transporteur, ce sont les molécules **TAP-1** et **TAP-2**. Ce canal permettra le passage de peptides antigéniques formés dans le cytoplasme lors de la digestion préalable par le protéasome. Une fois dans la lumière du réticulum un peptide antigénique se fixera dans la région de liaison au peptide antigénique, les protéines chaperonnes se détacheront du complexe qui pourra ainsi migrer vers la membrane plasmique via l'appareil de Golgi.

NB : **TAP (T**ransporter **A**ssociated with **A**ntigen **P**rocessing).

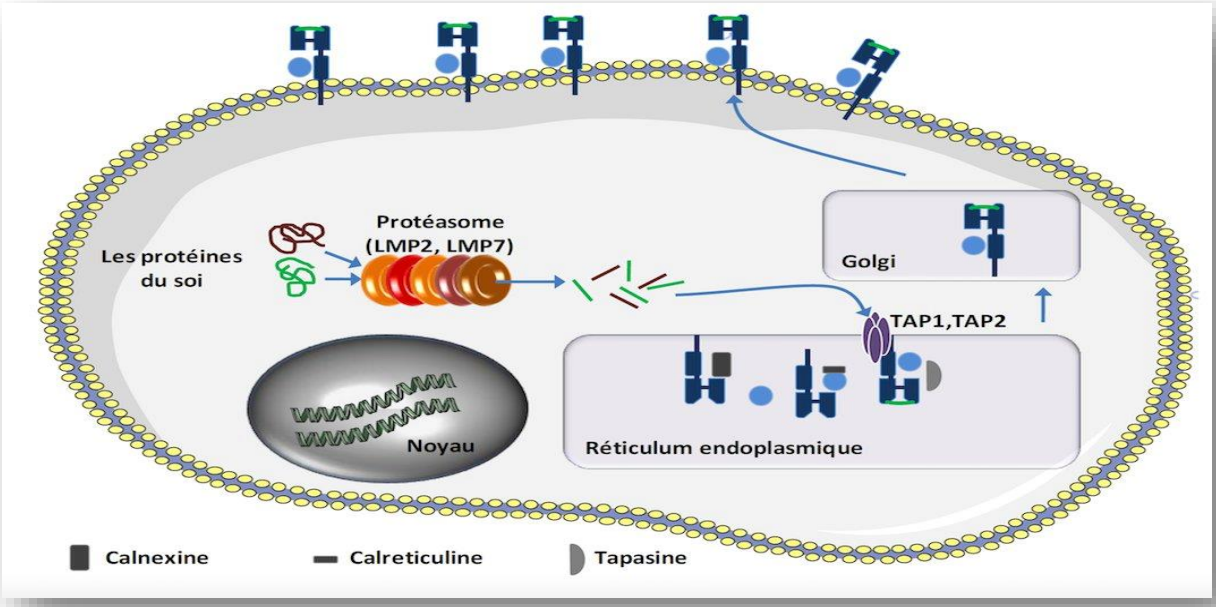


Figure 3 : Assemblage de la molécule HLA de classe I et chargement du peptide

2.2 Le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II)

a) Caractéristique

Les molécules du CMH II codées par ces gènes sont présentes sur un nombre de cellules beaucoup plus restreint : les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les cellules épithéliales du thymus. On appelle ces cellules les **cellules présentatrices d'antigènes** (ou **CPAG**) qui ont pour fonction de présenter les molécules d'Ag à une série de lymphocytes T, les **LT-CD4** qui deviendront des **LT helpers** (ou **LT auxiliaire**).

Comme dit précédemment les gènes de classe 2 les plus important sont les gènes **HLA-DP**, **HLA-DQ**, **HLA-DR**. En générale chaque individu possède au maximum 6 molécules du CMH de classe 2 différentes, mais parfois on observe la présence d'un gène HLA-DR supplémentaire, de cette manière certaines personnes ont 2, 3 ou 4 gènes HLA-DR et possèdent ainsi **6**, **7** ou **8 molécules du CMH-2 au maximum** et **3 au minimum**.

b) Structure des molécules du CMH II

Ces molécules de classe 2 sont également composées de **deux chaînes polypeptidiques α** et **β**, qui présentent toutes deux des domaines « immunoglobuline-like », qui sont associées de manière **non covalente** et qui sont cette fois-ci **codées toutes les deux par le CMH** :

- La chaîne α présente deux domaines « immunoglobuline-like » : **α1** et **α2**.
- La chaîne β présente deux domaines « immunoglobuline-like » : **β1** et **β2**.

Les molécules du CMH-II sont constituées de **4 parties** caractéristiques :

- La **région de liaison au peptide antigénique** ou **région PBR** (pour *Peptide Binding Region*) est formée par les domaines α1 et β1 qui forment une cavité dans laquelle ira se loger le peptide antigénique.

- La **région immunoglobuline like** est formée par les domaines **α2** et **β2** est la région qui fixe le **CD4**.
- La **région transmembranaire** constituée de deux segments, un provenant de la chaîne α et l'autre de la chaîne β.
- La **région intra-cytoplasmique** est également constituée de deux segments pour les même raisons que la région transmembranaire.

c) Formation du complexe et mécanismes d'action

Les molécules du CMH-II vont présenter les peptides antigéniques produits à l'extérieur de la cellule, correspondant soit à des agents pathogènes soit à des corps apoptotiques. Autrement dit, on considère ici des **peptides exogènes** provenant du **milieu extracellulaire** et internalysés par endocytose. L'antigène sera cette fois-ci dégradé par le **système endo-lysosomal** en **peptide de taille variable** (entre 12 et 25 acides aminés).

La chaîne α et la chaîne β vont être synthétisées de manière indépendante dans le réticulum endoplasmique de la cellule présentatrice d'antigène et vont former un complexe avec la **chaîne invariante**. Cette chaîne invariante possède un segment transmembranaire et un fragment appelé **fragment CLIP** qui s'associera avec la région de liaison au peptide antigénique. Dès lors que ce complexe est formé, il migrera vers l'appareil de Golgi qui formera une vésicule endocytique caractéristique, la **vésicule de classe II** (**CIIV**). Cette vésicule sera responsable de la dégradation de la chaîne invariante par des cathepsines, mais sans dégrader le fragment CLIP qui bloquera alors la cavité.

Au niveau de ces vésicules de classe II se trouvent d'autres molécules jouant un rôle indispensable dans l'expression des molécules du CMH-II à la membrane plasmique, ce sont les protéines **HLA-DM**. En effet elle permet le remplacement du fragment CLIP par un fragment antigénique. La structure en cavité ouverte des molécules du CMH-II permet une certaine variabilité dans la taille du peptide qui s'y associera. Une fois le peptide chargé, le complexe sera envoyé à la membrane plasmique des phagocytes, monocytes, cellules dendritiques …).

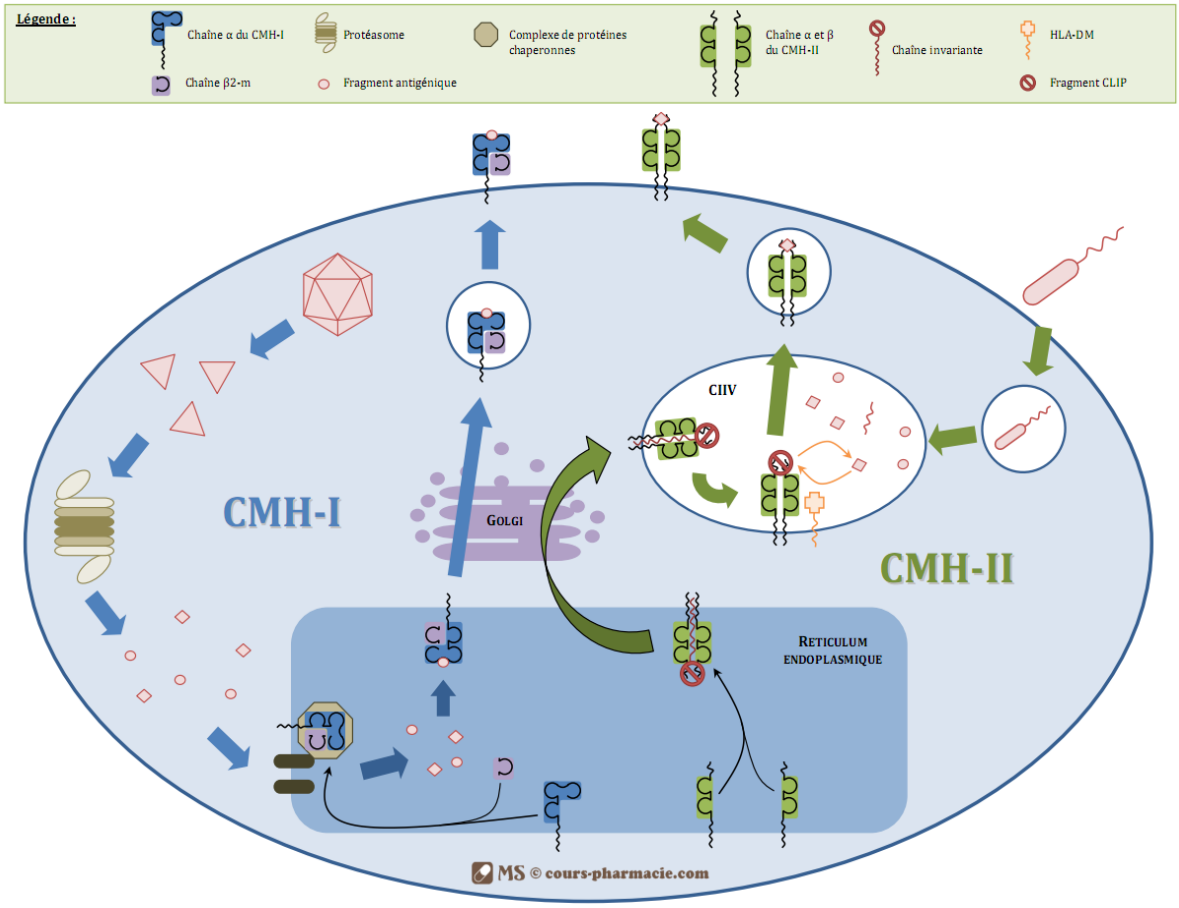


Figure 4 : Adressage des antigènes endogènes pour une présentation membranaire

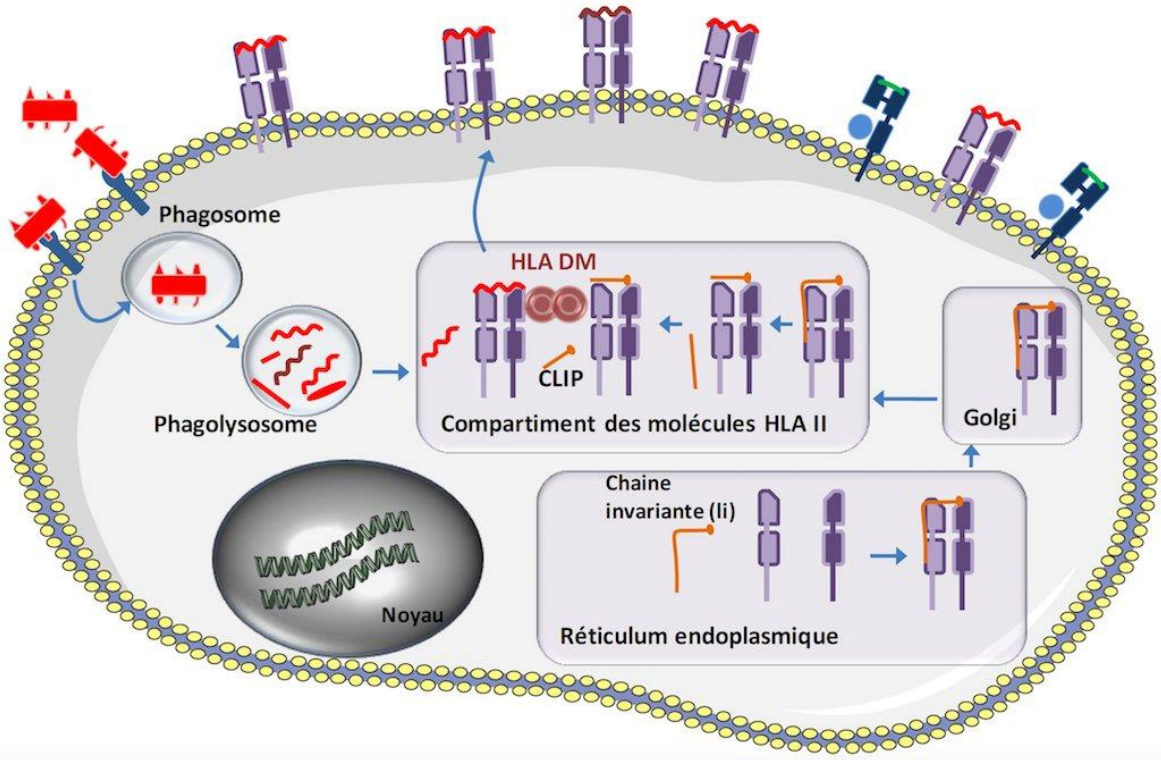


Figure 5 : Assemblage de la molécule HLA de classe II et chargement du peptide

3) Les molécules CD1

A côté des molécules de classe 1 et de classe 2 du CMH, il existe d'autres molécules ayant la capacité de présenter des antigènes, ce sont les **molécules CD1**. Ces molécules sont structurellement proches des molécules de classe 1 du CMH mais elles sont **invariantes**, bien qu'il en existe plusieurs isotypes. Elles ont la caractéristique de présenter des **lipides** et des **glycolipides** qui seront reconnu par le TCR présenté par les **cellules NKT** et les lymphocytes présentant un **TCR-γδ**. Parmi les lipides reconnus on compte les glycosphingolipides d'origine bactérienne, ou d'origine endogène produit lors de l'interaction avec des bactéries.

NB : **TCR-γδ (cell récepteur du lymphocyte gama et segma)**

4. Fonction des molécules HLA (rôle biologique)

Les principales fonctions du CMH sont :

1/ La régulation des fonctions de cytotoxicité des cellules NK (Natural Killer)

Certaines molécules CMH classe I régulent la cytotoxicité des cellules NK. Les cellules NK possèdent à leur surface des récepteurs d'activation ainsi que des récepteurs d'inhibition de la cytotoxicité. Etant donné que de nombreuses cellules tumorales ou infectées par des virus ont une expression des molécules CMH I diminuée, le signal d'activation de la cytotoxicité NK prédomine, ce qui conduit à la destruction de ces cellules anormales.

1/ Présentation de peptides antigéniques aux lymphocytes T :

Si le CMH est impliqué dans le contrôle du rejet de greffe, la principale fonction biologique des molécules du CMH est de fixer les peptides antigéniques et de les présenter à la surface cellulaire aux lymphocytes T.

La source des peptides, leur trajet intracellulaire avant association aux molécules CMH ainsi que le type de lymphocyte T auxquels ils sont présentés varient selon la classe de molécule HLA considérée :

→ **Les molécules de classe I présentent aux lymphocytes T CD8** :

Les protéines du cytosol acheminées vers des complexes multicatalytique appelés protéasomes qui les clivent générant des peptides de 8 à 11acides aminés. Les peptides sont transloqués dans le réticulum endoplasmique par un système transporteur.

Dans le réticulum endoplasmique, le peptide va se fixer sur le dimère ɑ/ß2 macroglobuline. La molécule HLA Classe I qui a donc chargé un peptide peut ensuite suivre la voie d'exportation à la surface et expression à la membrane cellulaire en passant par l'appareil de Golgi ou se fait la glycosylation de la chaine α

NB : Certaines protéines exogènes, non synthétisées par la cellule peuvent être présenté par la voie des molécules de classe I. On parle de la présentation croisée (cross présentation)

→ **Les molécules de classe II présentent aux lymphocytes T CD 4** :

Des protéines ou des particules du milieu extérieur, fixée par un récepteur ou captée par endocytose, est internalisée dans des endomoses et clivée en peptides.

Les chaines ɑ et ß des molécules HLA classe II néosynthétisées s'associe dans le réticulum endoplasmique, passent par l'appareil de golgi ou les chaines ɑ et ß sont glycosylées ensuite dans le compartiment des molécules HLA classe II qui fusionne avec la voie endosomale (endosome, lysosome). A ce niveau chaque molécules HLA de classe II va charger un peptide issu de la voie endosomale, quitte le compartiment et est transportée à la surface.

BN : Les molécules HLA classe II présentent également des peptides du soi issus de la dégradation des protéines du soi du milieu extracellulaire, protéines membranaire.

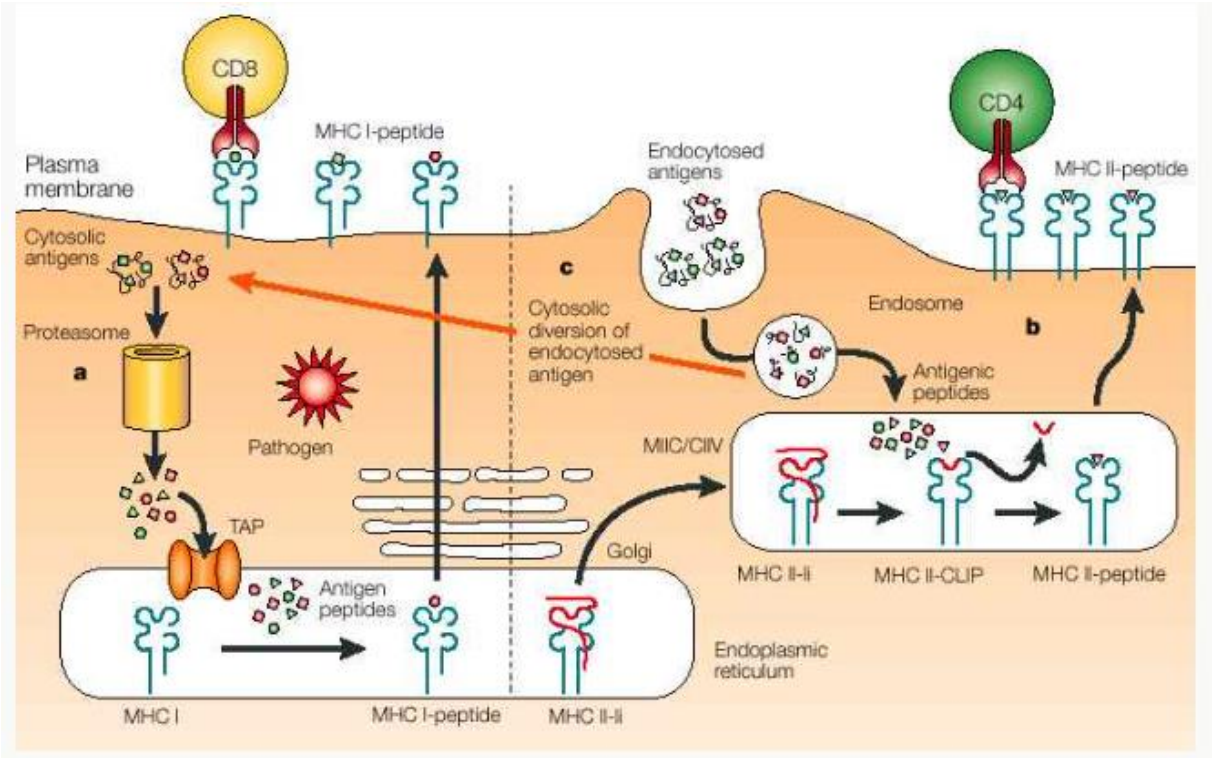


Figure 6 : Apprêtement des Ag sur les molécules du CMH de classe I et II.

Les DC sont capables de présenter les peptides selon trois voies d'apprêtement différentes : les Ag exogènes sur les molécules du CMH de classe II et de classe I (la cross-présentation), les Ag endogènes sur les molécules de classe I.

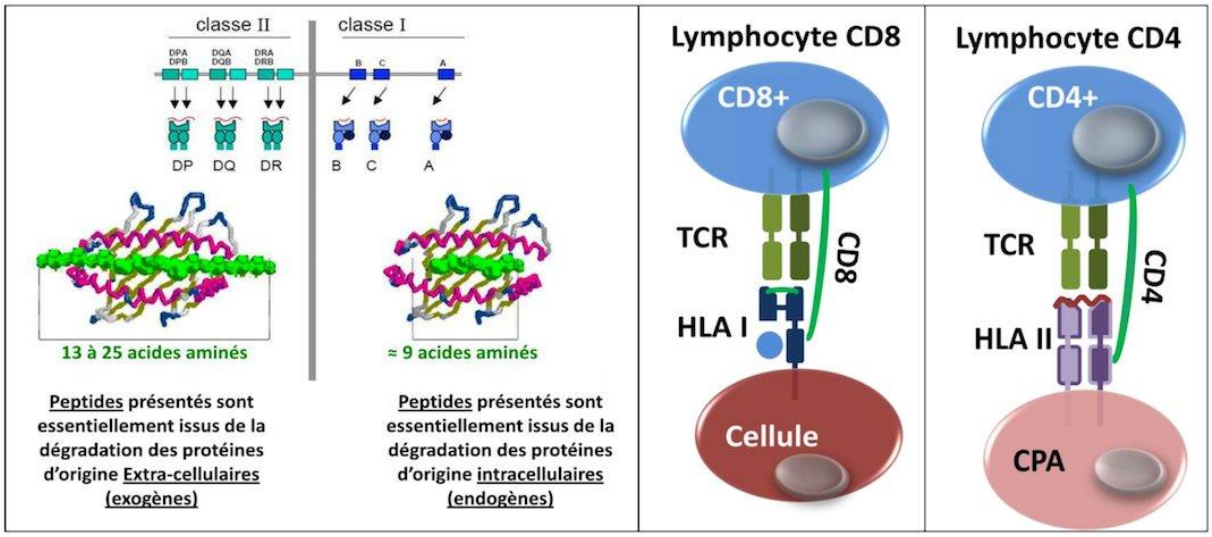


Figure 7 : Les molécules de classes I et II présentent aux lymphocytes T CD 4 et T CD8

6. Marqueur CD:

Les lymphocytes et les leucocytes expriment à leur sur face des molécules marqueurs «antigènes» qui permettent une classification des populations de cellules. Pour ces marqueurs, une nomenclature systématique et unique a été développée, le système CD (cluster of differentiation ou classes de différenciation).

7. Marqueurs de virulence

La pathogénicité de certaines bactéries repose sur de nombreux facteurs de virulence. Parmi eux **les adhésines**, qui sont ancrées dans le peptidoglycane. Ces facteurs sont des complexes multiprotéiques, ils s'insèrent de façon permanente dans les membranes plasmiques formant ainsi des pores transmembranaires qui permettent le passage des exotoxines dans le cytoplasme de la cellule cible.

Exemple de marqueurs de virulence « les colicines »

Les colicines forment une famille d'antibiotiques naturels produits par des bactéries gram-négatives

Le mode d'action de toutes les colicines peut être divisé en trois étapes ;

- La colicine se lie d'abord à un récepteur sur la membrane externe de la bactérie cible,
- traverse ensuite l'enveloppe bactérienne
- finalement rejoindre la cible cellulaire où elle va exercer son activité létale.

Le groupe le plus important, est celui des colicines A qui forment des pores ioniques dans la membrane cytoplasmique des bactéries, induisant une dépolarisation de la cellule.

L'addition de ces colicines à des bactéries provoque un flux sortant massif du K+ intracellulaire.