Rôles fonctionnels du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

Ghislaine Bernard

Ebauche uniquement

Inserm
Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Université Nice Sophia Antipolis

CHU NICE

Quelques définitions (1)…

- Gène : région d'un chromosome contenant l'information nécessaire pour permettre la synthèse d'une protéine
- Allèle : se dit de deux caractères situés sur des chromosomes homologues ex: groupe sanguin A, B, O
- Haplotype : moitié du patrimoine génétique sur une région donnée et hérité de l'un des parents
- Génotype : définition d'un individu selon ses gènes A/A ou A/O
- Phénotype : définition d'un individu selon le produit de ses gènes A
- Crossing-over ou enjambement : durant la méïose on assiste à la réduction du nb de chromosomes qui seront répartis dans les cellules filles (gamètes) pendant cette étape il existe des échanges de matériels génétiques (recombinaisons) entre 2 chromosomes homologues

Ébauche uniquement

Quelques définitions (2)…

- Autogreffe : tissu d'un individu greffé sur lui-même (peau, moelle, veine…)
- Allogreffe : greffe entre individus d'une même espèce
- Greffe syngénique : greffe réalisée entre individus génétiquement identiques (souris de la même souche et jumeaux monozygotes)
- Xénogreffe : greffe réalisée entre individus d'espèce différente

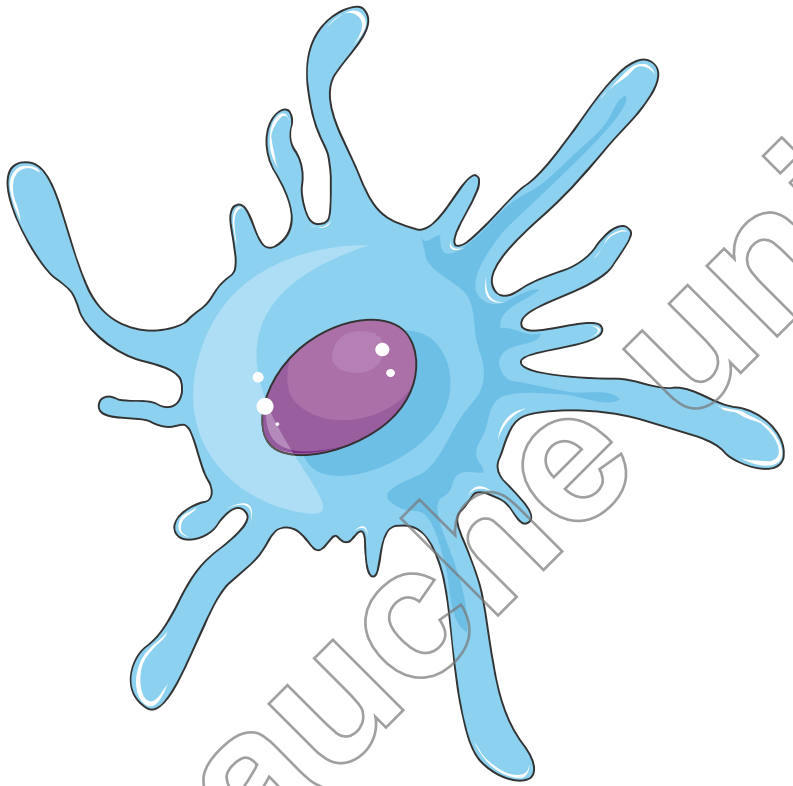
Ébauche uniquement

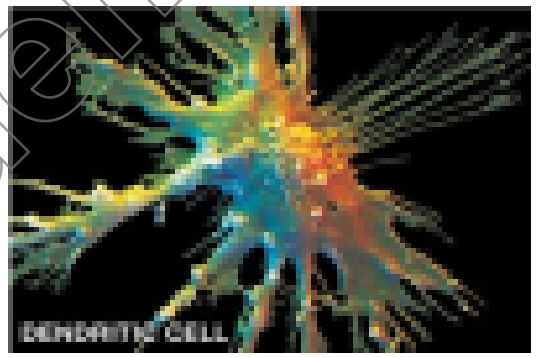
Introduction

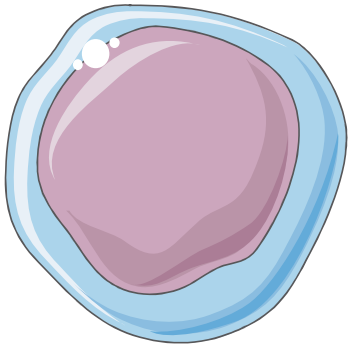
- Les antigènes peptidiques, pour être reconnus par les lymphocytes T doivent au préalable devenir accessible à un récepteur pour l'antigène présent à la surface du lymphocyte T = TCR
- La fonction de présentation des antigènes est assurée par les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilté = CMH

Ébauche uniquement

Cellules dendritiques







Lymphocyte T

Ébauche uniquement

Introduction

- La caractéristique majeur du CMH est son **extrême diversité**
- Identifié sur les leucocytes chez l'homme = HLA Human Leucocyte Antigen
- Le polymorphisme conduit à une variabilité interindividuelle très importante pour présenter un peptide donné
- Le CMH détermine l'acceptation ou le rejet de greffes entre donneur et receveur différents

Ébauche uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

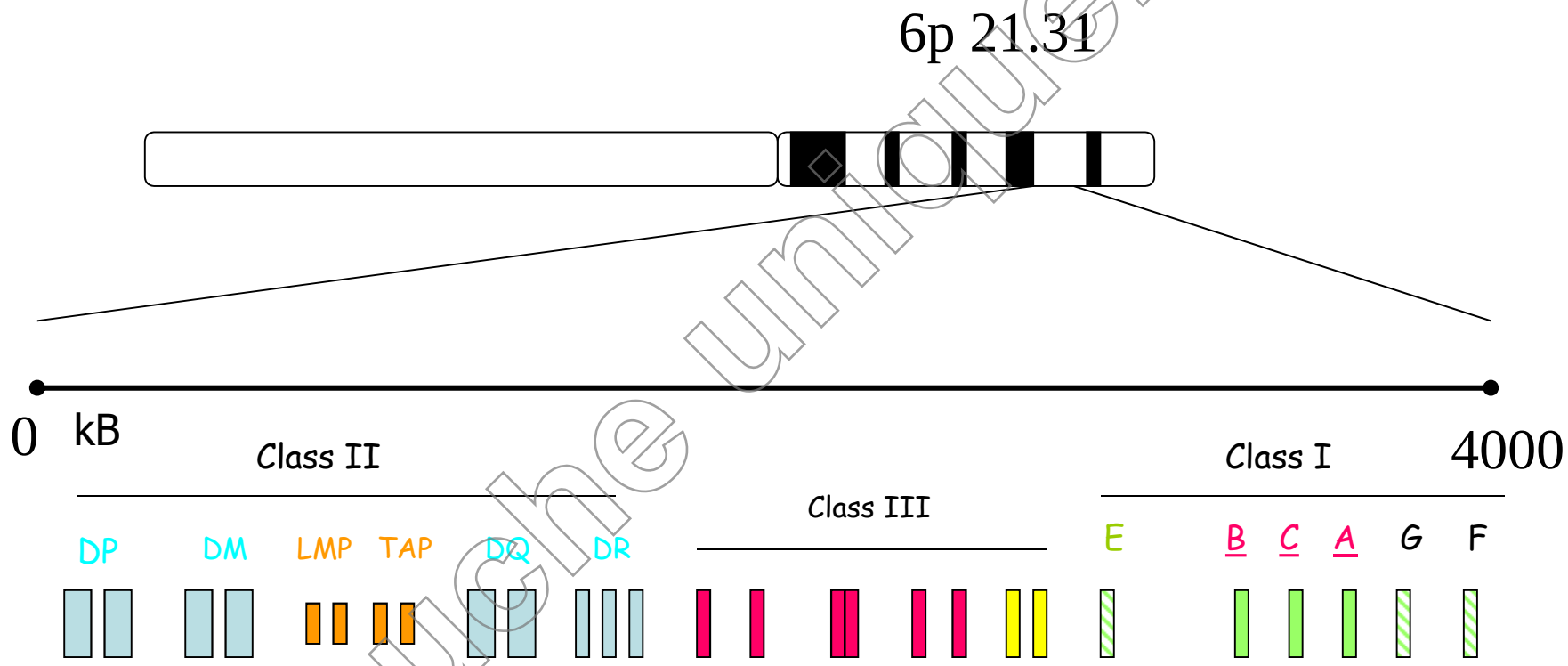
Déséquilibre de liaison : certains allèles
Sont observés, en association avec d'autres,
plus importante que leur fréquence
calculée ex A1, B8, DR3, DQ2 DPB1*0101

Classe III : complément, TNF

Ébauche uniquement

Glycoprotéines hétérodimériques

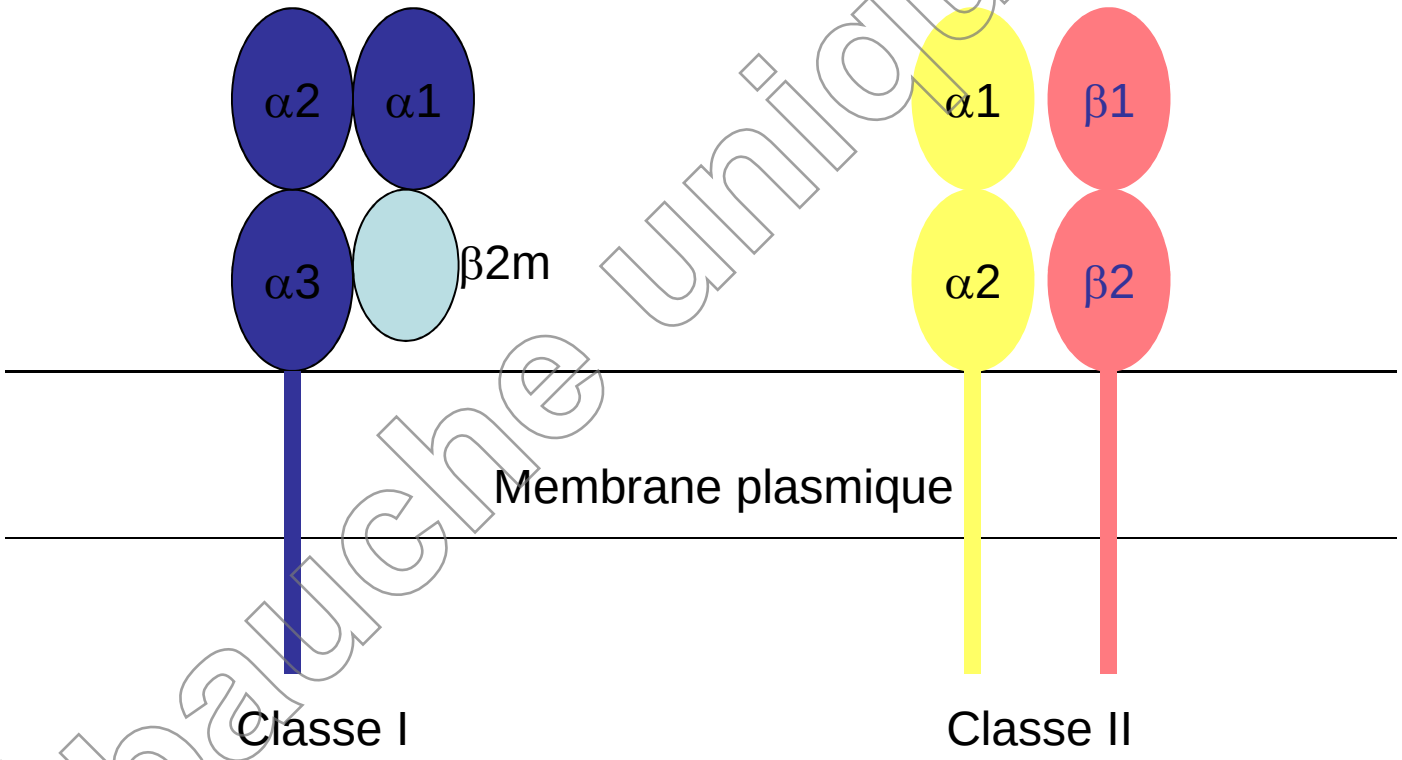
La chaîne lourde est codée par des gènes situés sur le bras court du chromosome 6 (région MHC)



La chaîne légère (b2 microglobuline) est codée sur chromosome 12

Ébauche uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité



Ébauche uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

- Depuis sa découverte chez la souris en 1936 le CMH a été un des systèmes les plus étudié
- En 1958, Jean Dausset découvrait un système de « groupes sanguins »sur les globules blancs. Technique agglutination. Prix Nobel en 1980
- Etudes internationales « Workshop »

1ère en 1964 6 sérums testés!

Introduction de la microlymphotoxicité par P.Terasaki

Ébauche uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

- 2ème Workshop JJ van Rood

Analyse de cellules, analyses familiales

71 participants

- 3 ème Workshop R. Ceppelini

11 familles, 21 donneurs non apparentés, 476 sérums

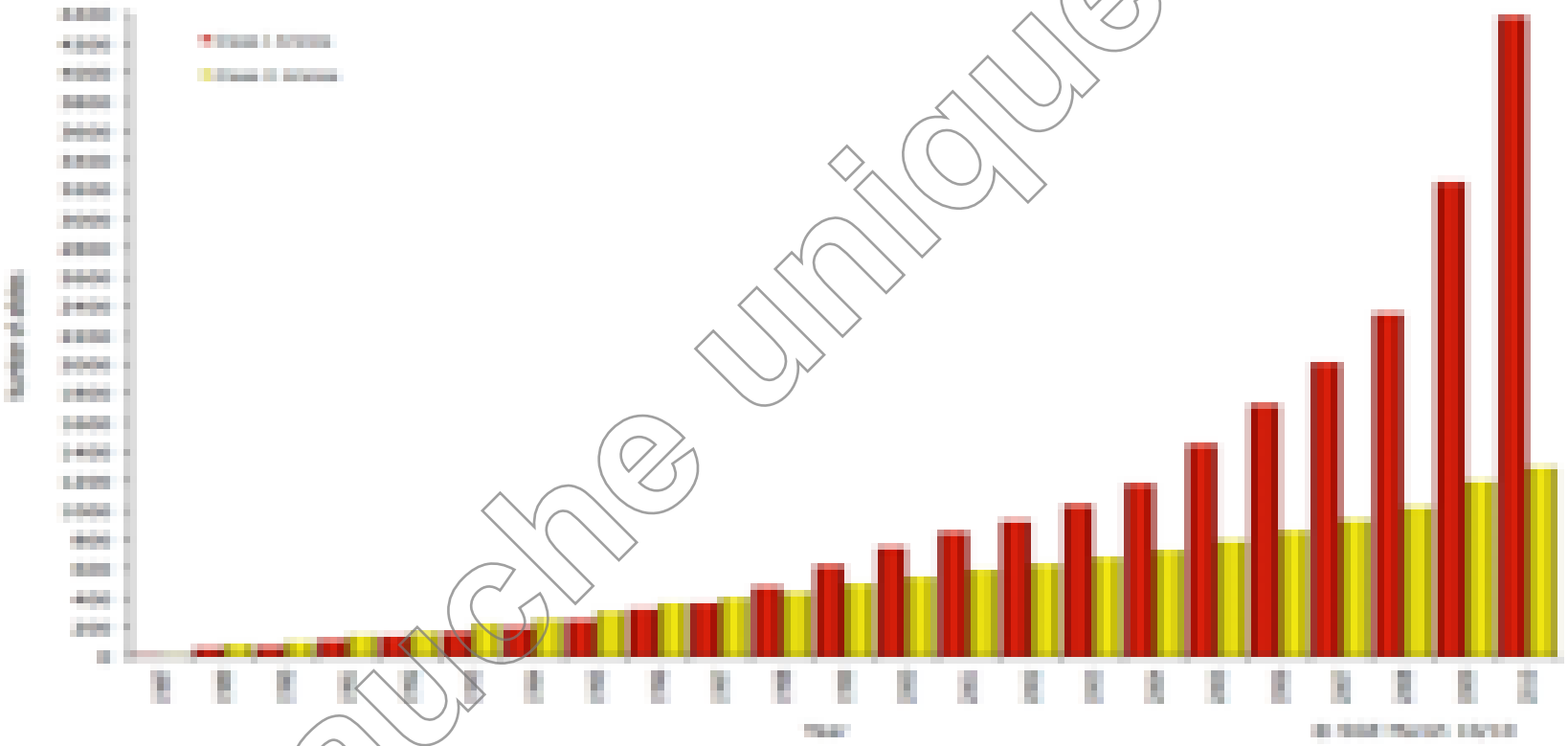
110 participants

Un seul système génétique avec 2 loci

Terme HLA est consacré

Ébauche uniquement

Polymorphisme CMH



Ébauche uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

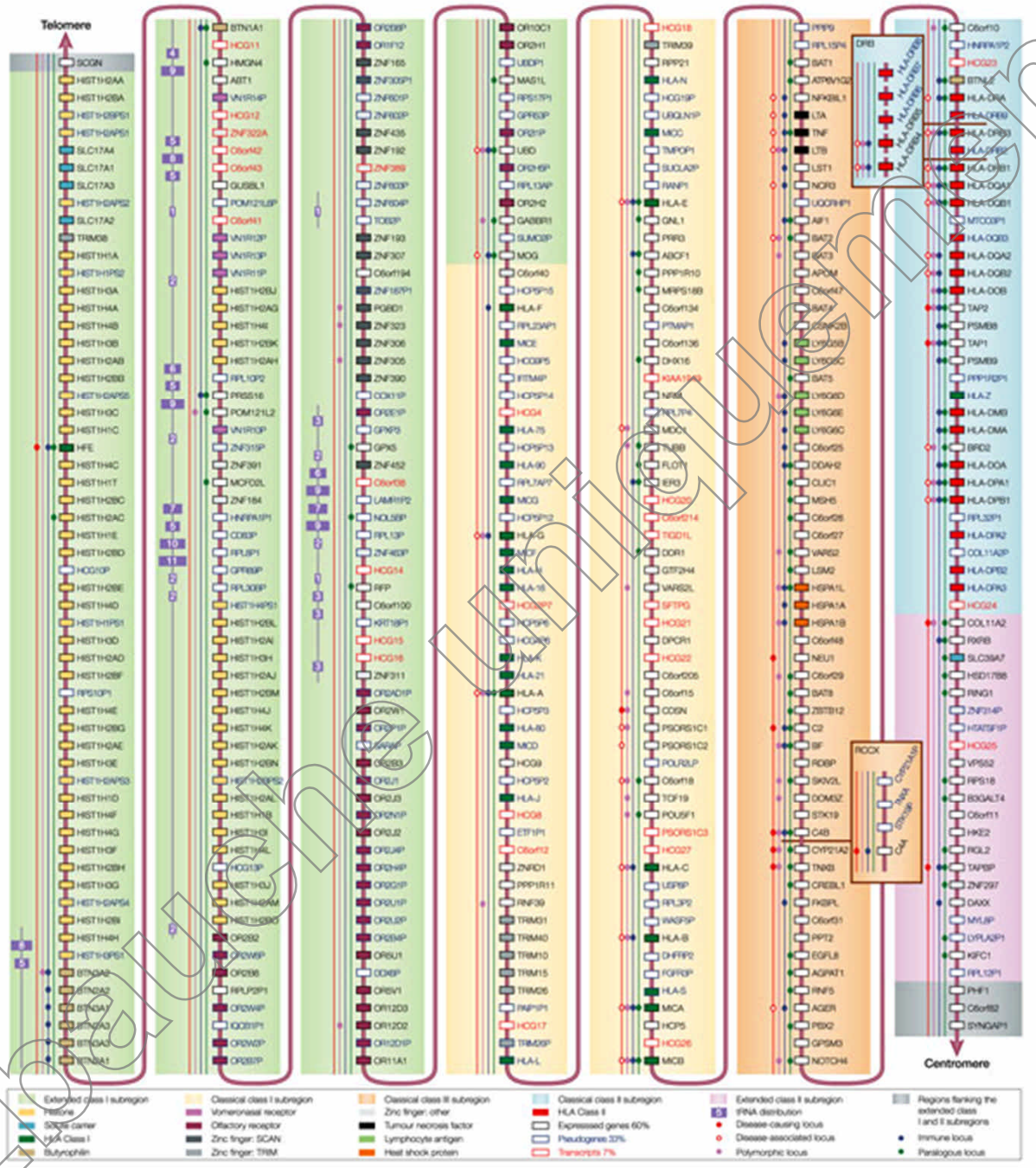
- Les antigènes HLA sont des glycoprotéines hétérodimériques
- Classe I : une chaîne lourde de 45 kD et une chaîne légère de 12 kD la β2 microglobuline
- Classe II : une chaîne lourde α 34 kD et une chaîne légère β 29 kD

Ébauche uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

- Les gènes codant pour le CMH sont localisés sur le bras court du chromosome 6 chez l'homme (6p21.3)
- La région couvre 4 millions de paires de bases = 0,1% du génome et contient 100 gènes

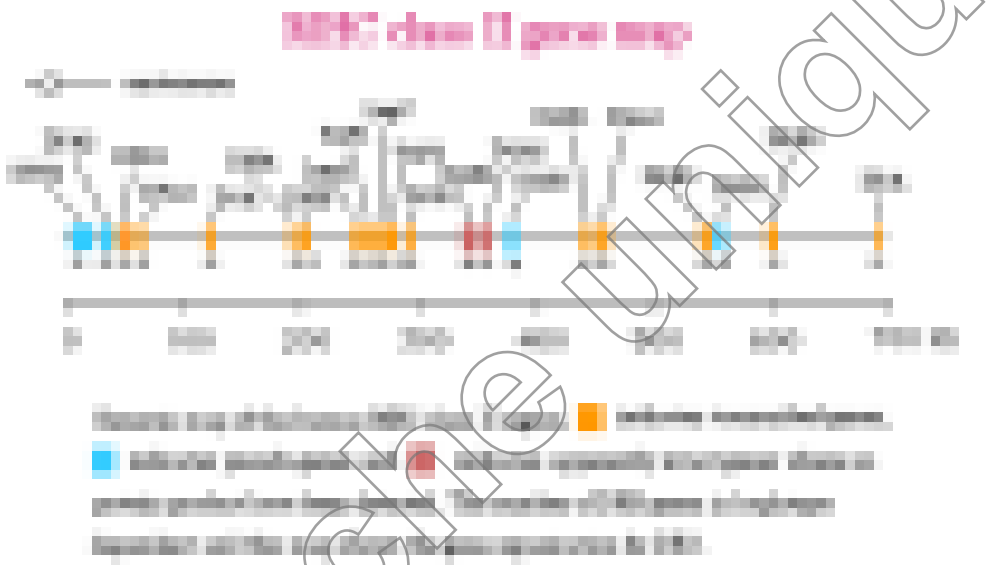
Ébauche uniquement



Nature Reviews | Genetics

Éducation uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

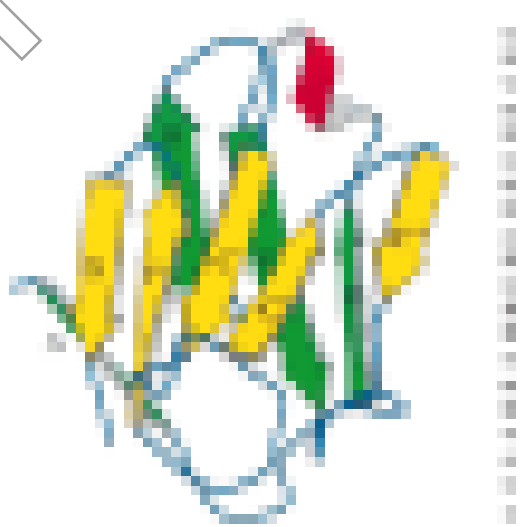


Ébauche uniquement

La superfamille des Immunoglobulines

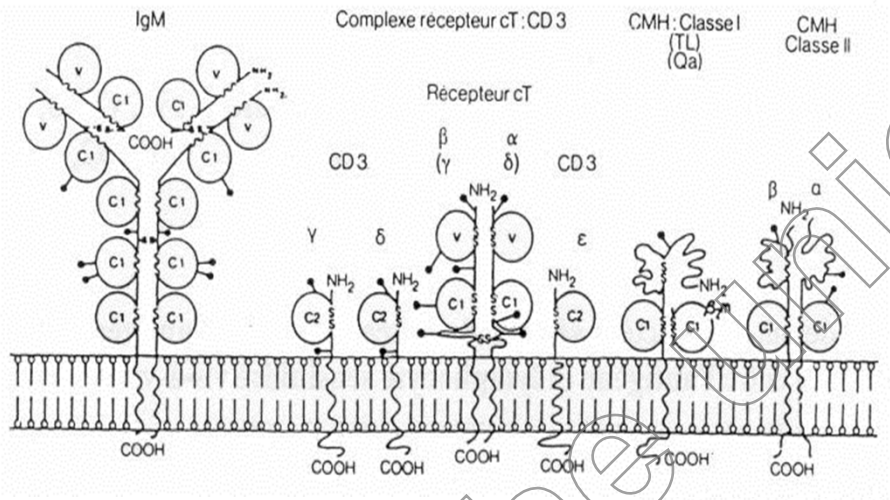
- Domaine d'immunoglobuline est la structure de base de la famille
- 2 feuillets b anti-parallèles qui forme une structure en

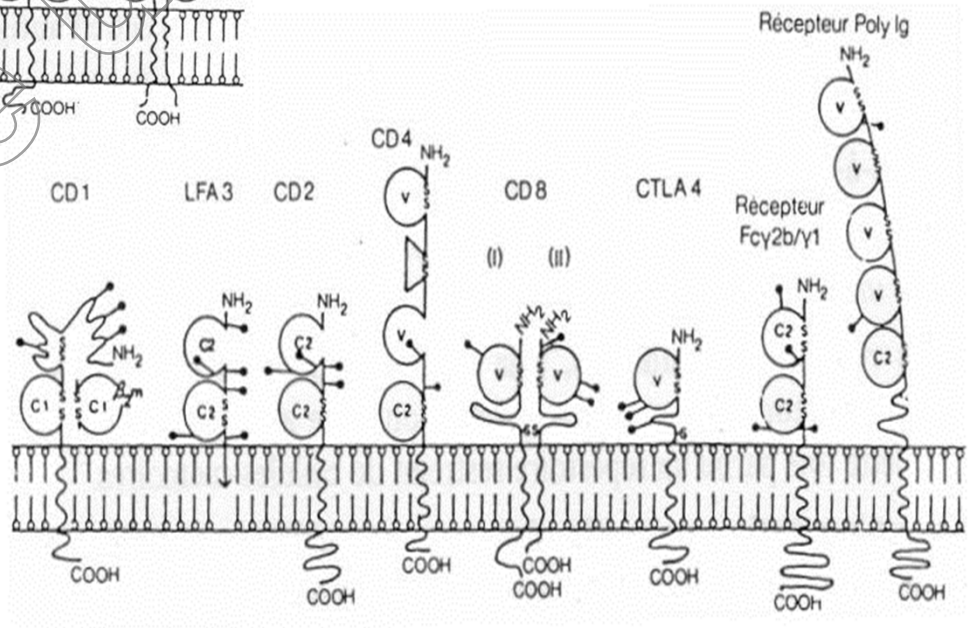
« tonneau»



Ébauche uniquement

Superfamille des immunoglobulines





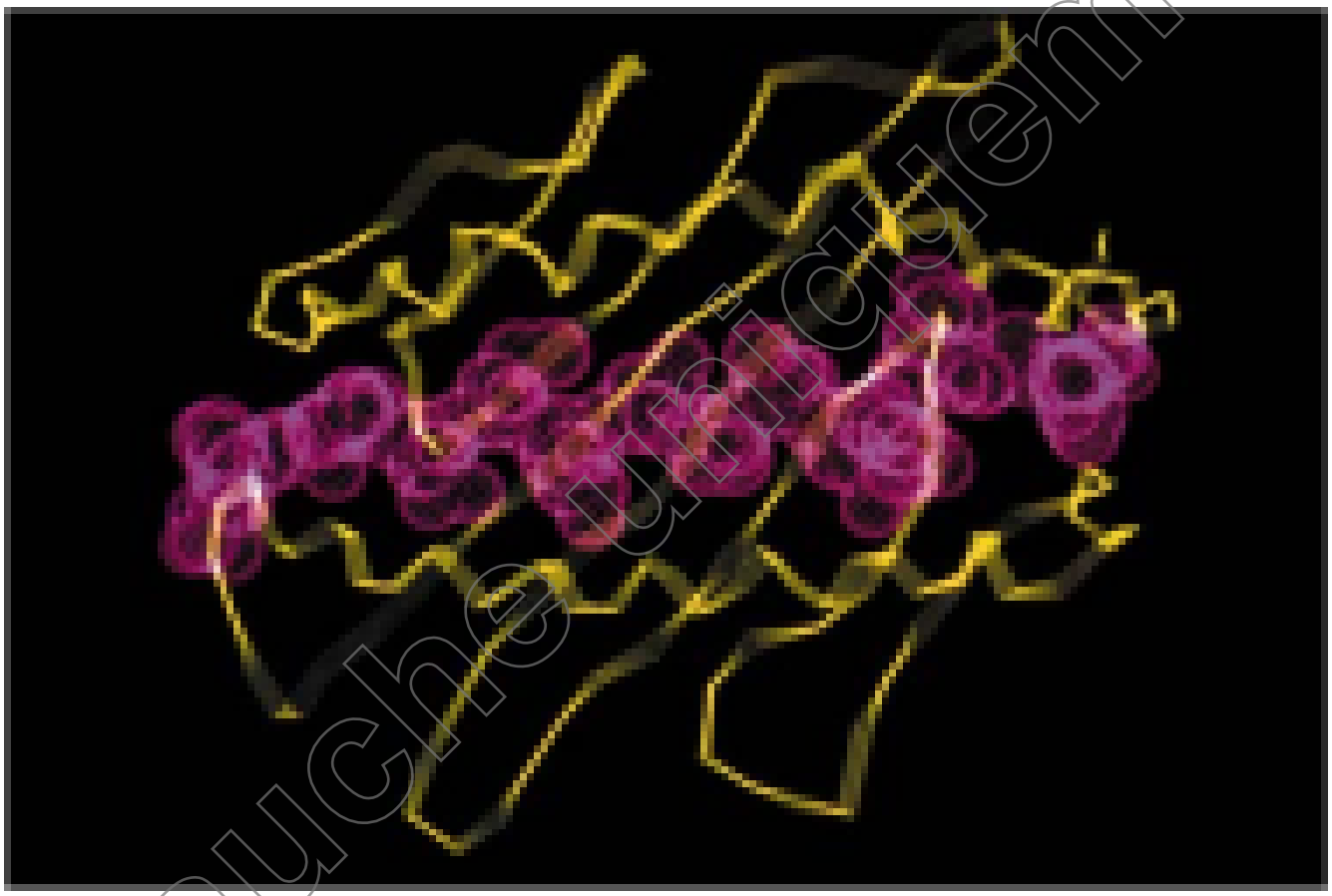
Ébauche Uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

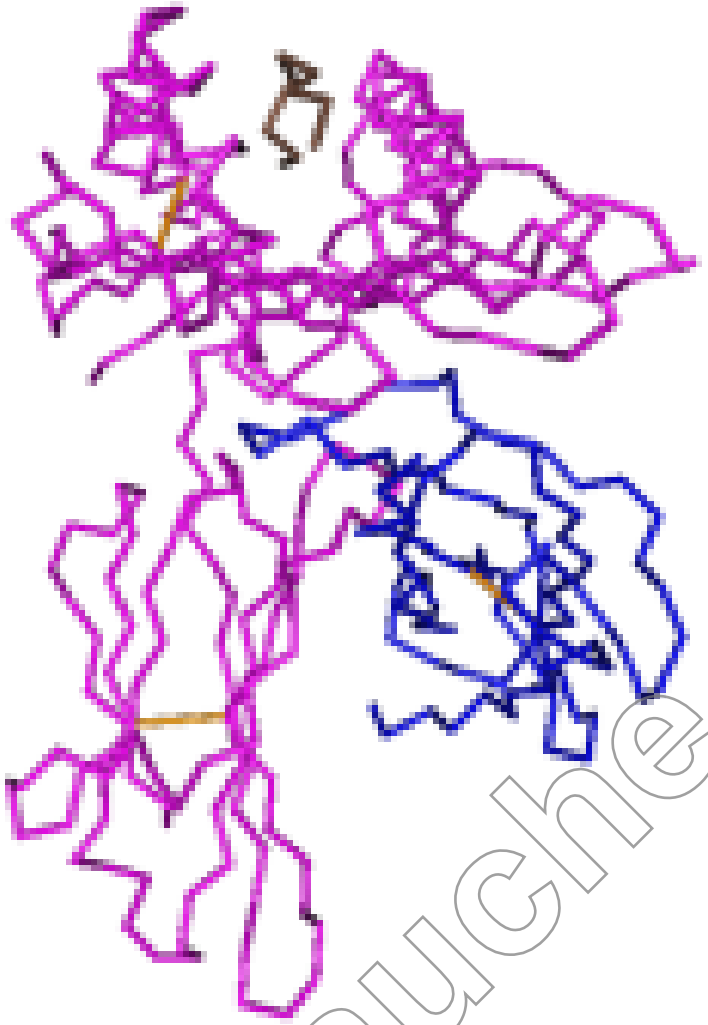
Type cellulaire	Classe I	Classe II
Lymphocyte T	+++	inductible
Lymphocyte B	+++	++
Macrophage	+++	+
Cellules dendritiques	+++x10	+++x10
Granuleux	++	-
Endothelium	++	inductible
Hepatocytes	+	-
neurones	-	-

Ebauche uniquement

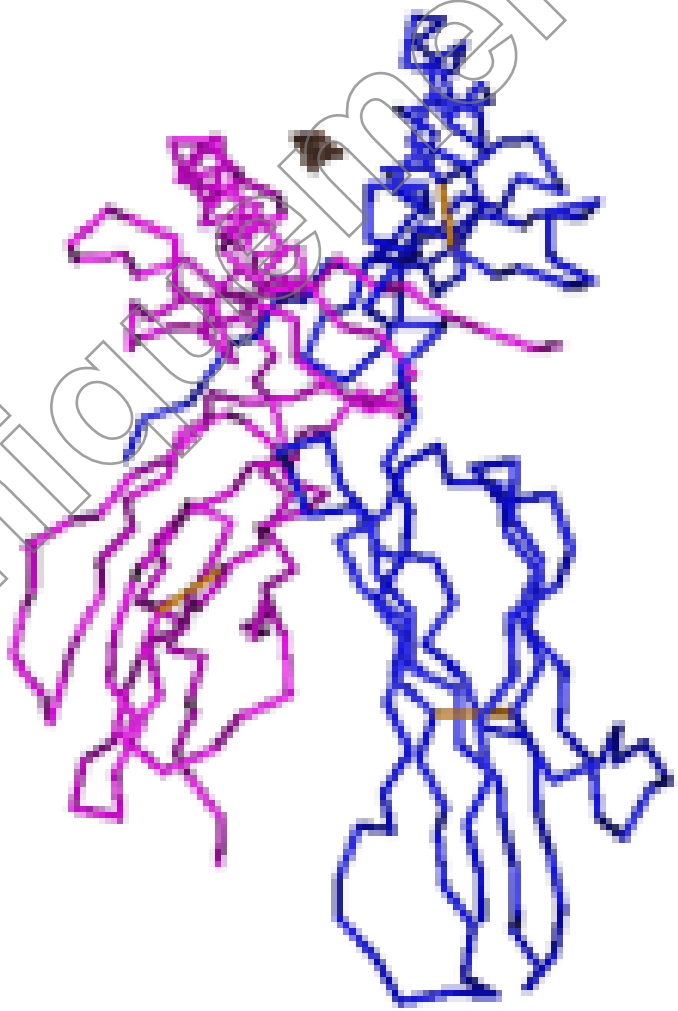
Structure 3D des antigènes HLA de classe I



Ébauche en cours

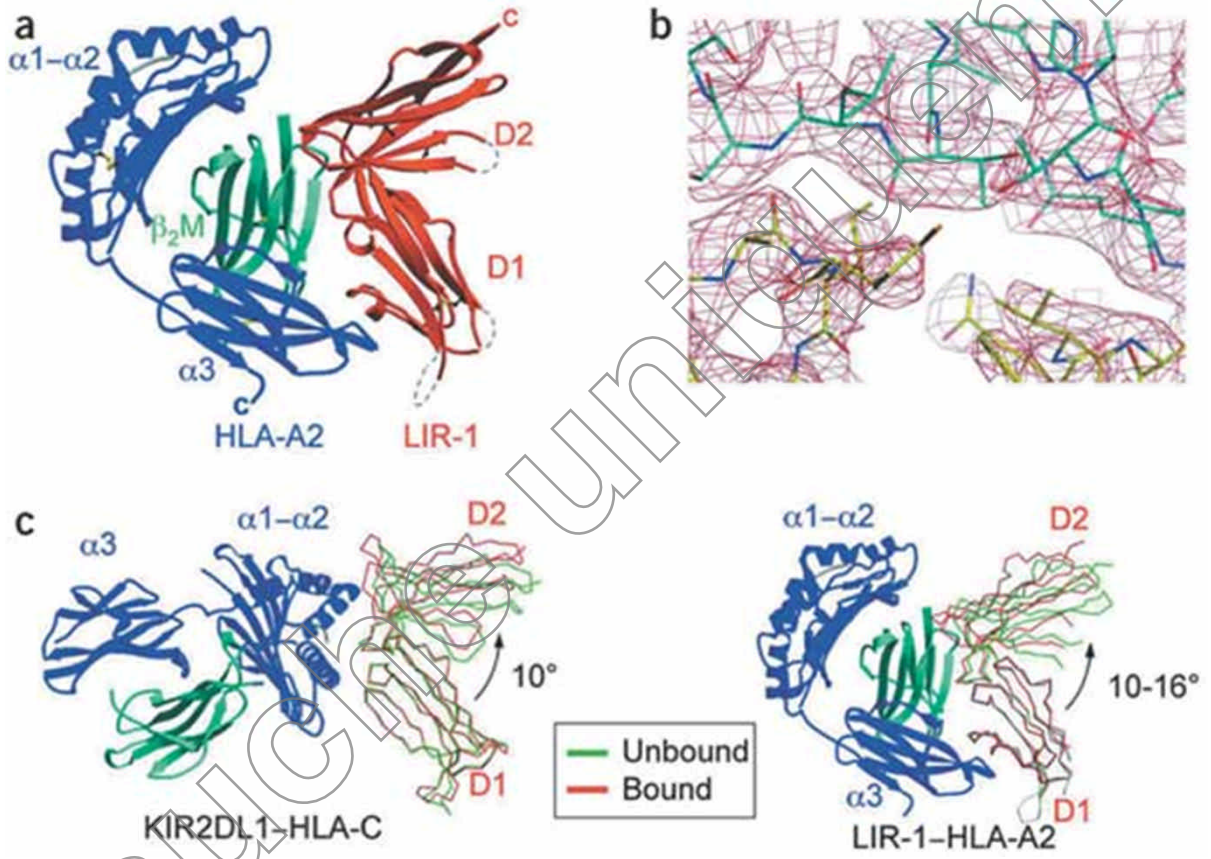


Classe I



Classe II

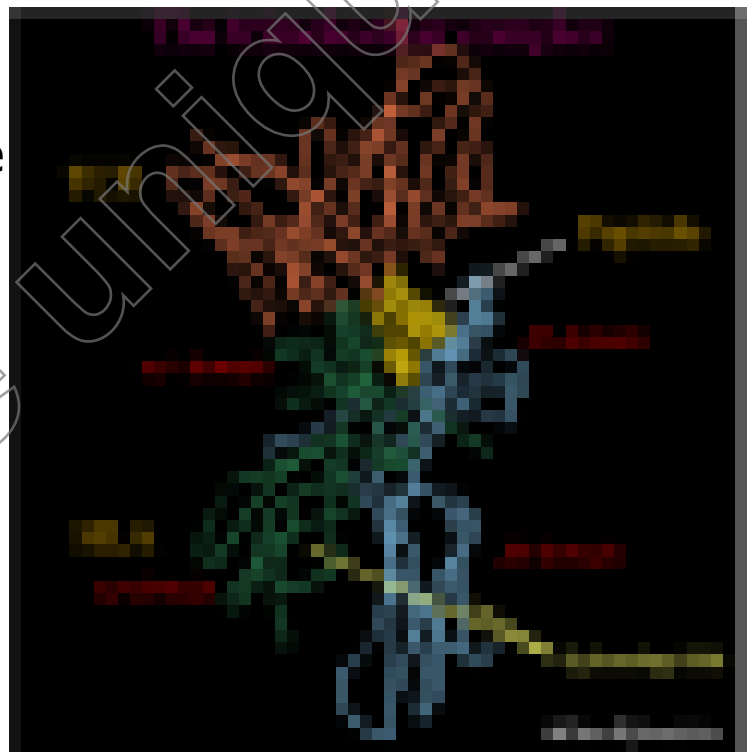
Ébauche uniquement



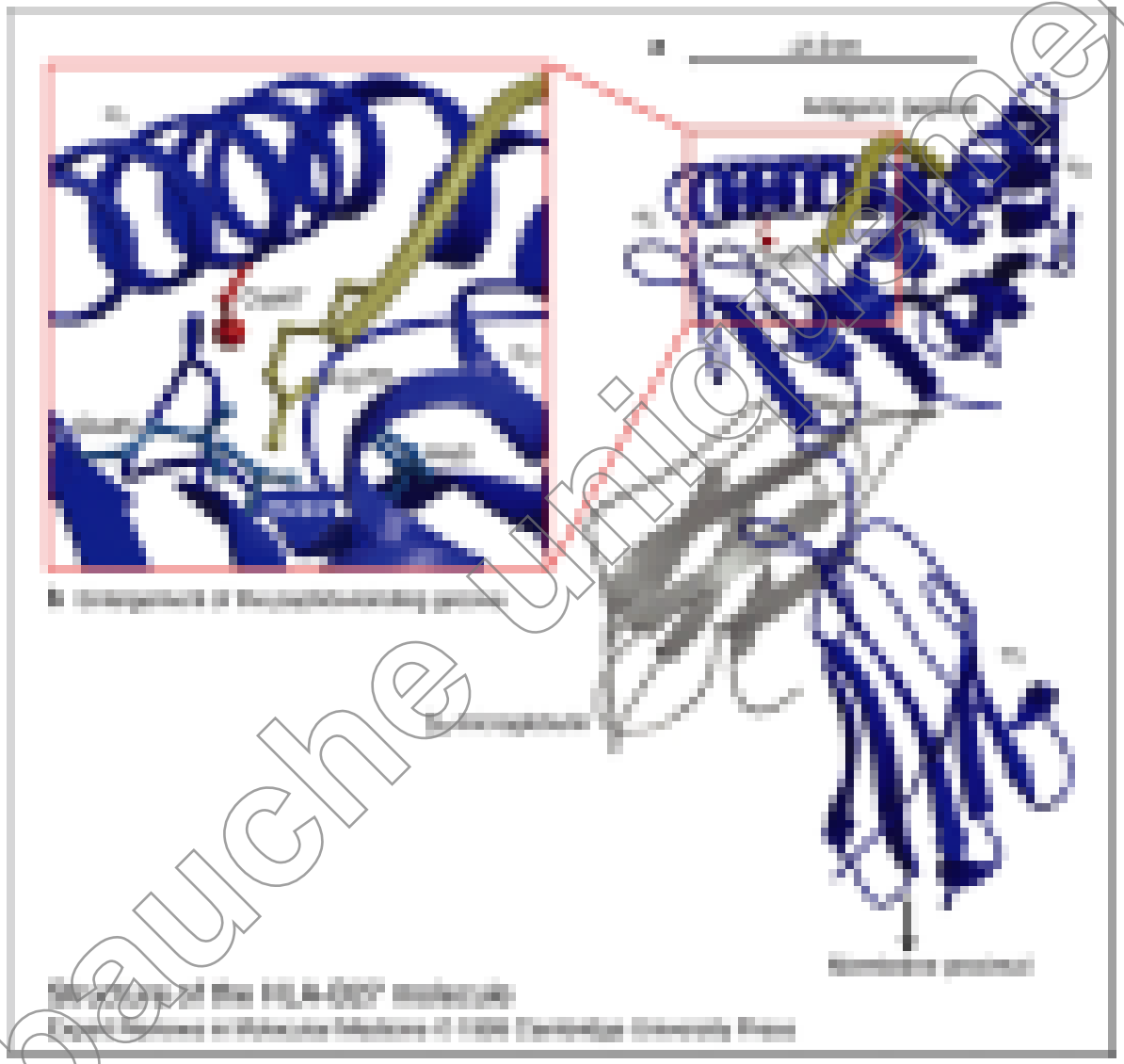
Ébauche uniquement

Rôle Fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

- Régulation de la réponse Immune
- Les lymphocytes T reconnaissent l'antigène complexé au CMH I ou II
- demi-vie du complexe 24 h
- Chaque allèle possède un ensemble unique de peptides qu'il peut lier
- Chez un individu normal la majorité des molécules du CMH porte des antigènes du soi (CMH Vide est instable)



Ébauche uniquement



Ébauche Uniquement

Les voies de l'apprêtement des antigènes

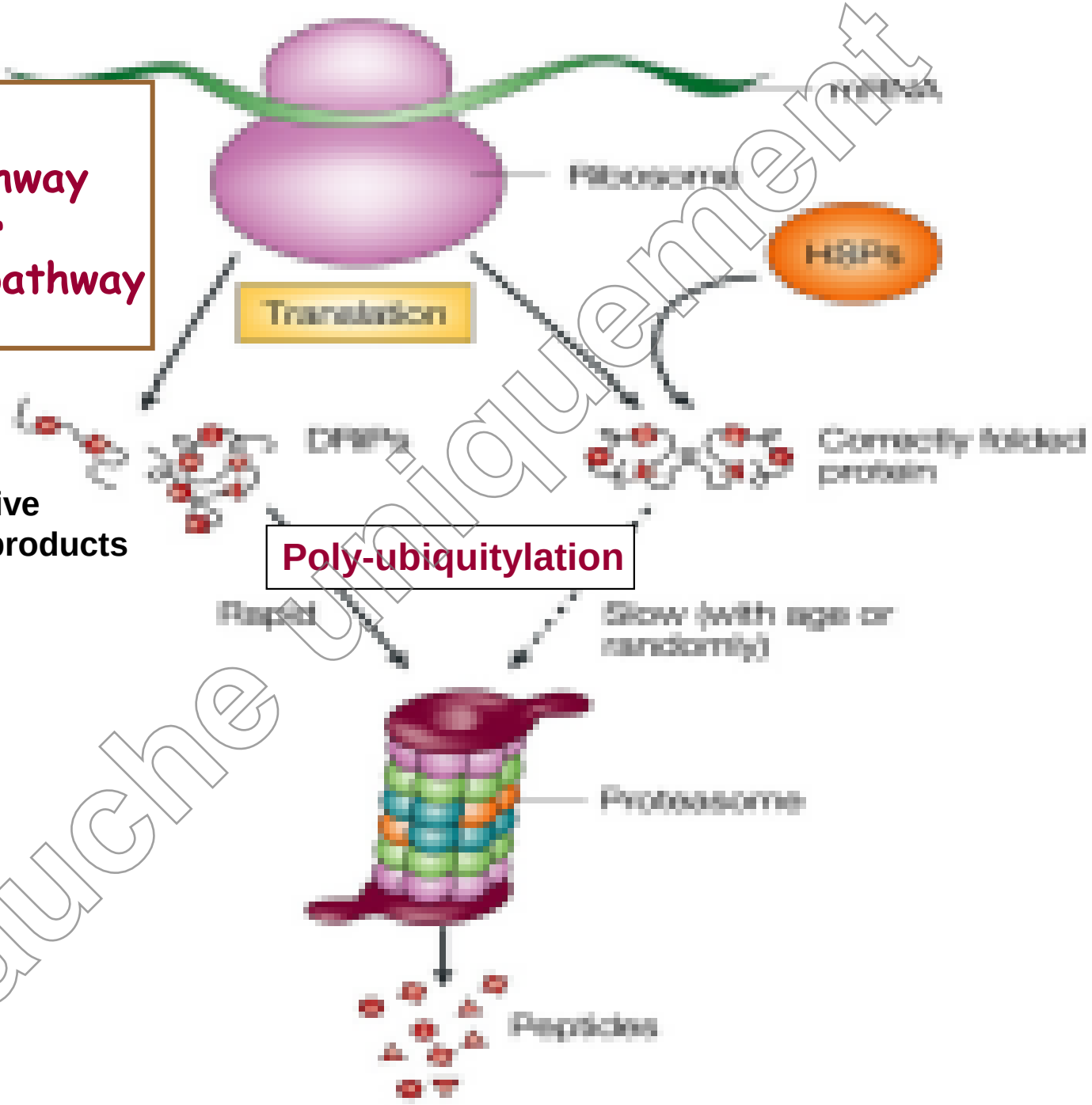
• Les 2 classes de molécules du CMH sont spécialisées pour présenter des antigènes d'origine différente

- les molécules de classe I présentent des antigènes synthétisés par une voie endogène (ag viraux). Les molécules du CMH I sont instables en l'absence de peptide. Les peptides sont longs de 8 à 10 Aa

- les molécules de classe II présentent des antigènes dérivés de Protéines exogènes (bactéries, protéine capside virale). Peptides 9 à 12 Aa

Ébauche uniquement

The class I intracellular pathway uses an ancestor protein sorting pathway

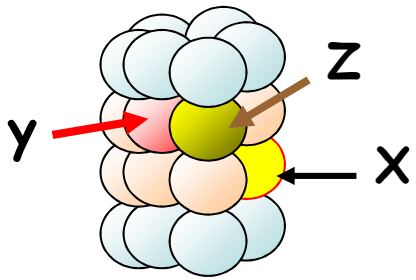


Ébauche uniquement

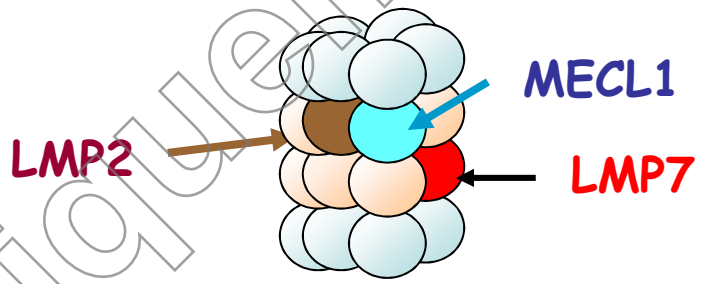
Interferon γ and MHC Class I presentation

House keeping proteasome

20S



immunoproteasome

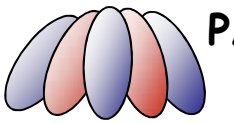


+ Low MWt polypeptide 2 & 7
+ Multicatalytic endopeptidase complex

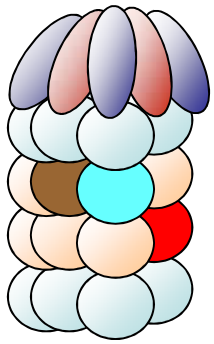
IFNγ

Increases
The surface density of
HLA Cl 1

Proteasome activator
PA 28 α & β



26S



Leucin-aminopeptidase Cytosol

ER aminopeptidase 1 (endoplasmic ret.)

Ébauche uniquement

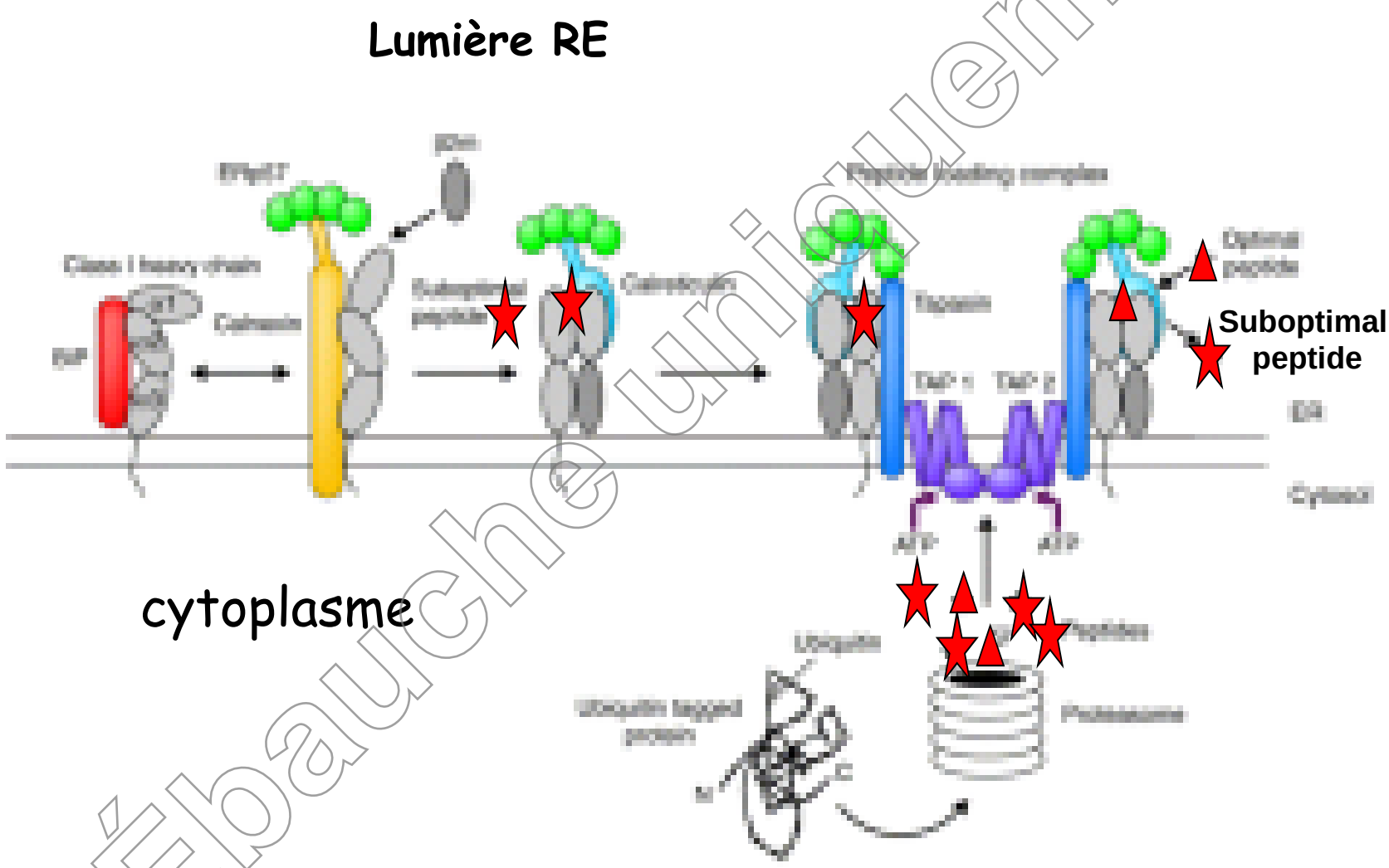
Les voies de l'apprêtement des antigènes

•Les molécules du CMH I bien que présentes sur la plupart des tissus et cellules connaissent une régulation de leur expression:
Les cytokines telles que l'IFNγ induisent une puissante surexpression des molécules HLA en augmentant la transcription des molécules participant au transport et à l'apprêtement des antigènes

- LMP-2
- LMP-7
- MECL –1
- Thimet Oligopeptidase
- Erp57 (oxireductase)
- ERAP-1 (Endoplasmic Reticulum Aminopeptidase –1)
- PA28 α
- PA28 β
- TAP-1 (transporter associated with antigen processing –1)
- TAP-2
- Béta 2 Microglobuline
- Tapasine
- Calreticuline
- Calnexine

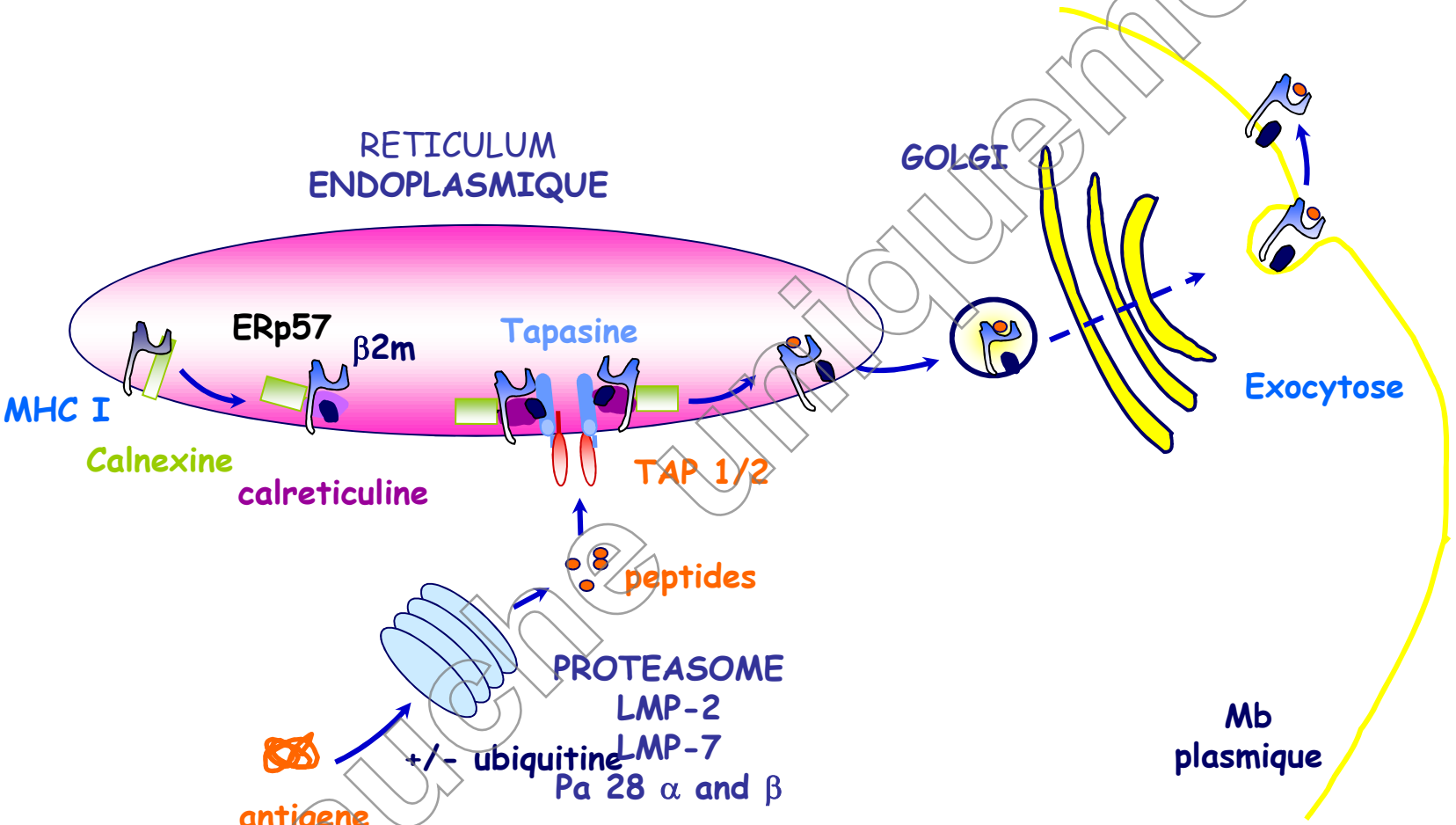
Ebauche uniquement

Réticulum endoplasmique et molécules chaperones de la préparation des molécules HLA



Ébauche uniquement

Les voies de l'apprêtement des antigènes : Classe I



Ébauche uniquement

The proteasome needs peptidases To finish peptides trimming

Leu aminopeptidase

Cleaves at position 1 neutral but not charged residues

Tripeptidyl peptidase 2

Cleaves triplets of AA from the N terminal

Thimet oligopeptidase

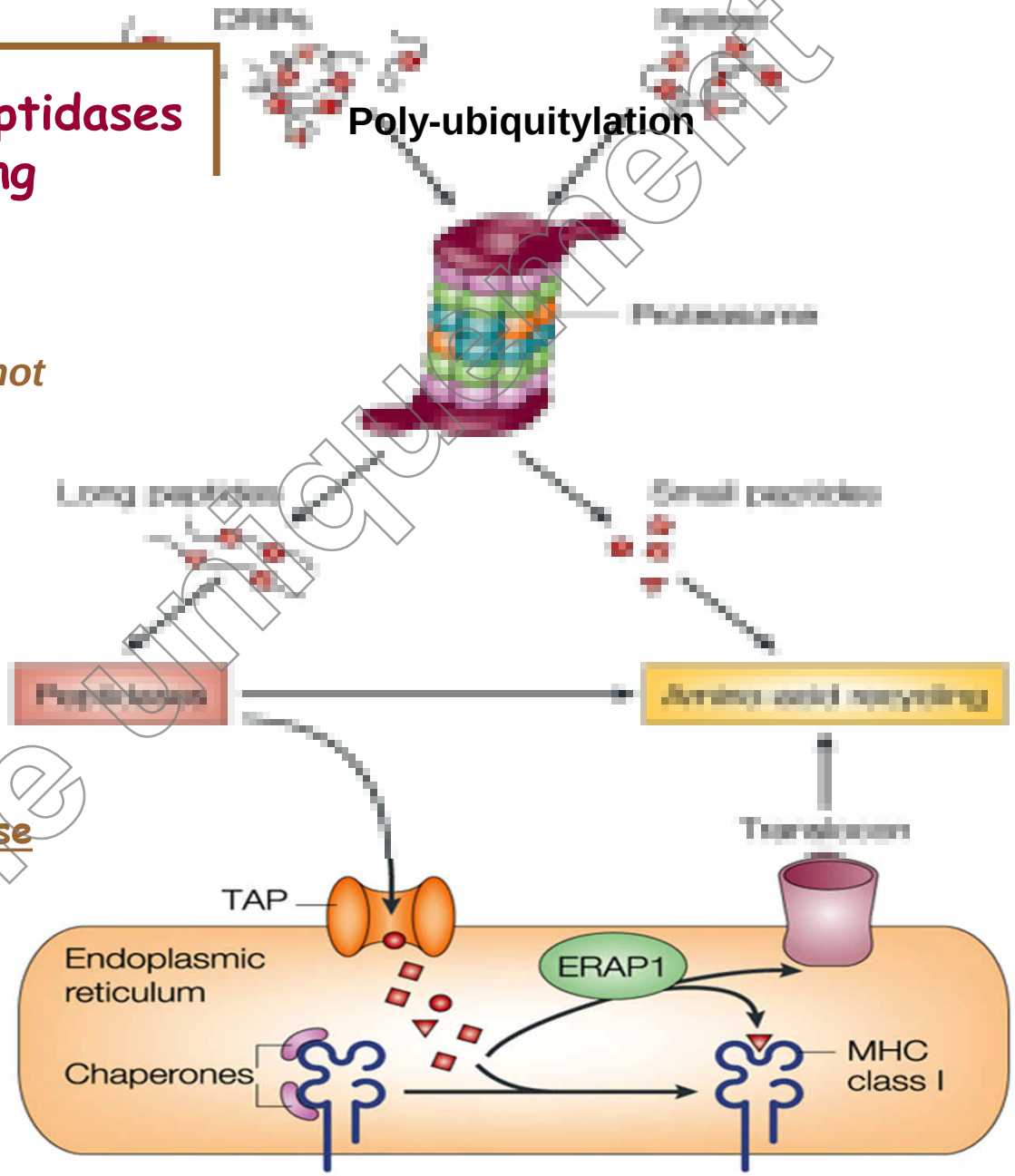
Cleaves peptides of 6-17 residues

Puromycin sensitive aminopeptidase

Cleaves hydrophobic / basic residues at pos 1 or –1

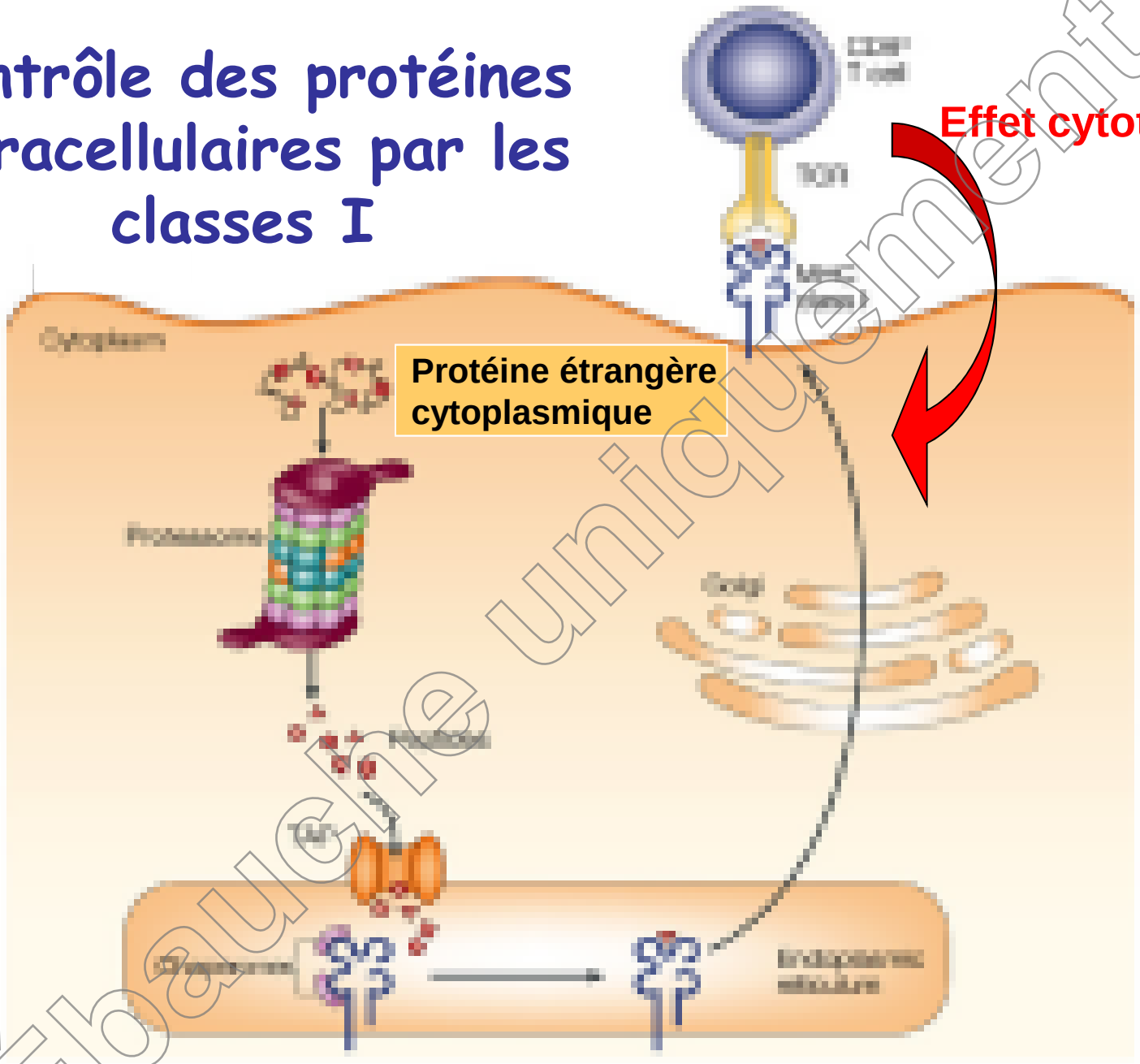
ER aminopeptidase (ERAP 1)

Cleves peptides with > 7 residues



Educline Uniquement

Contrôle des protéines intracellulaires par les classes I

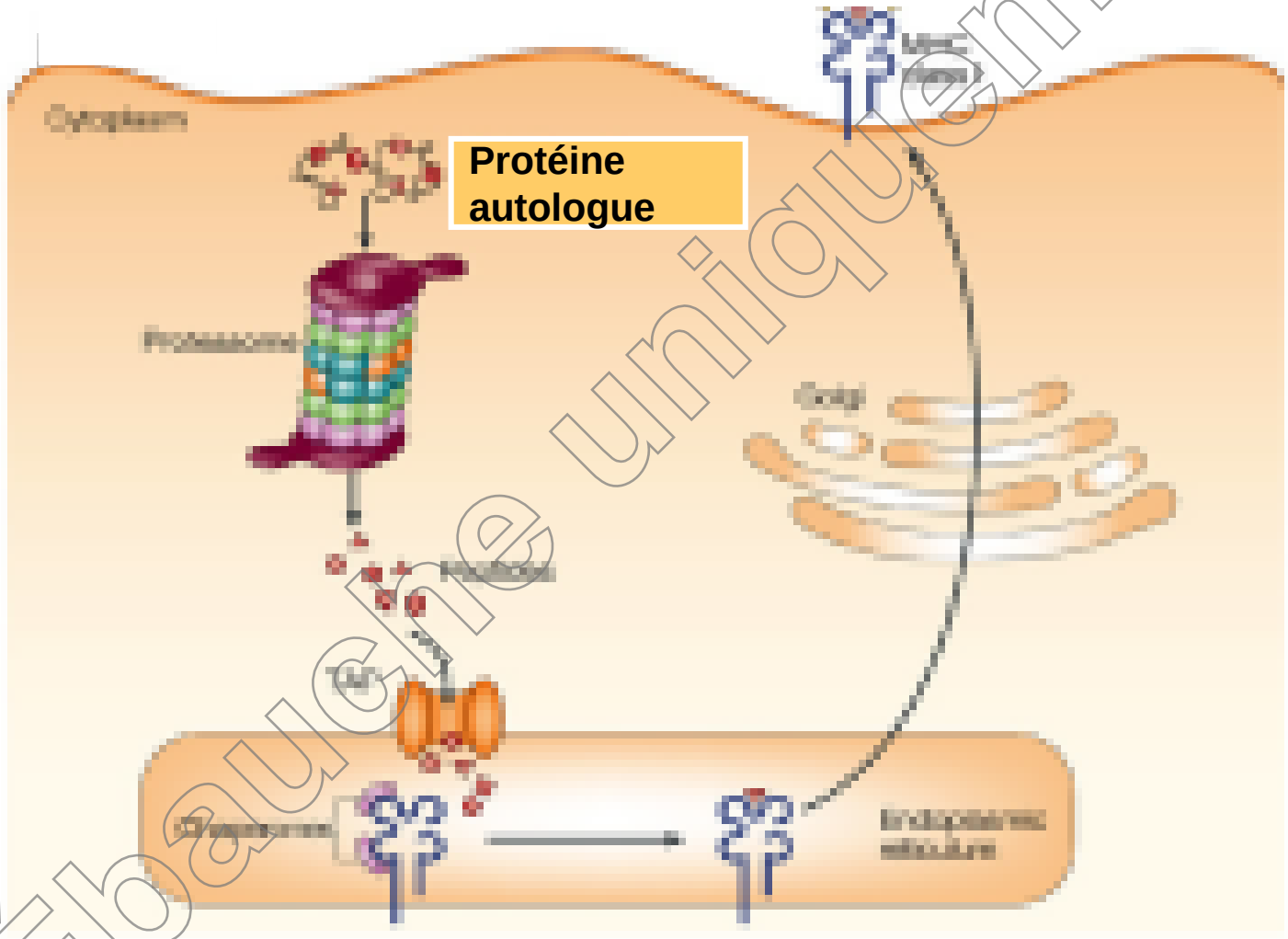


Ébauche uniquement

Contrôle des protéines intracellulaires par les classes I

T déleté ou tolérisé

Pas de mort



Ébauche uniquement

Régulation de l'expression des molécules HLA classe I

- IFN gamma : induit l'augmentation de synthèse des molécules HLA
- Les virus
- Les tumeurs

Ébauche uniquement

Les voies de l'apprêtement des antigènes

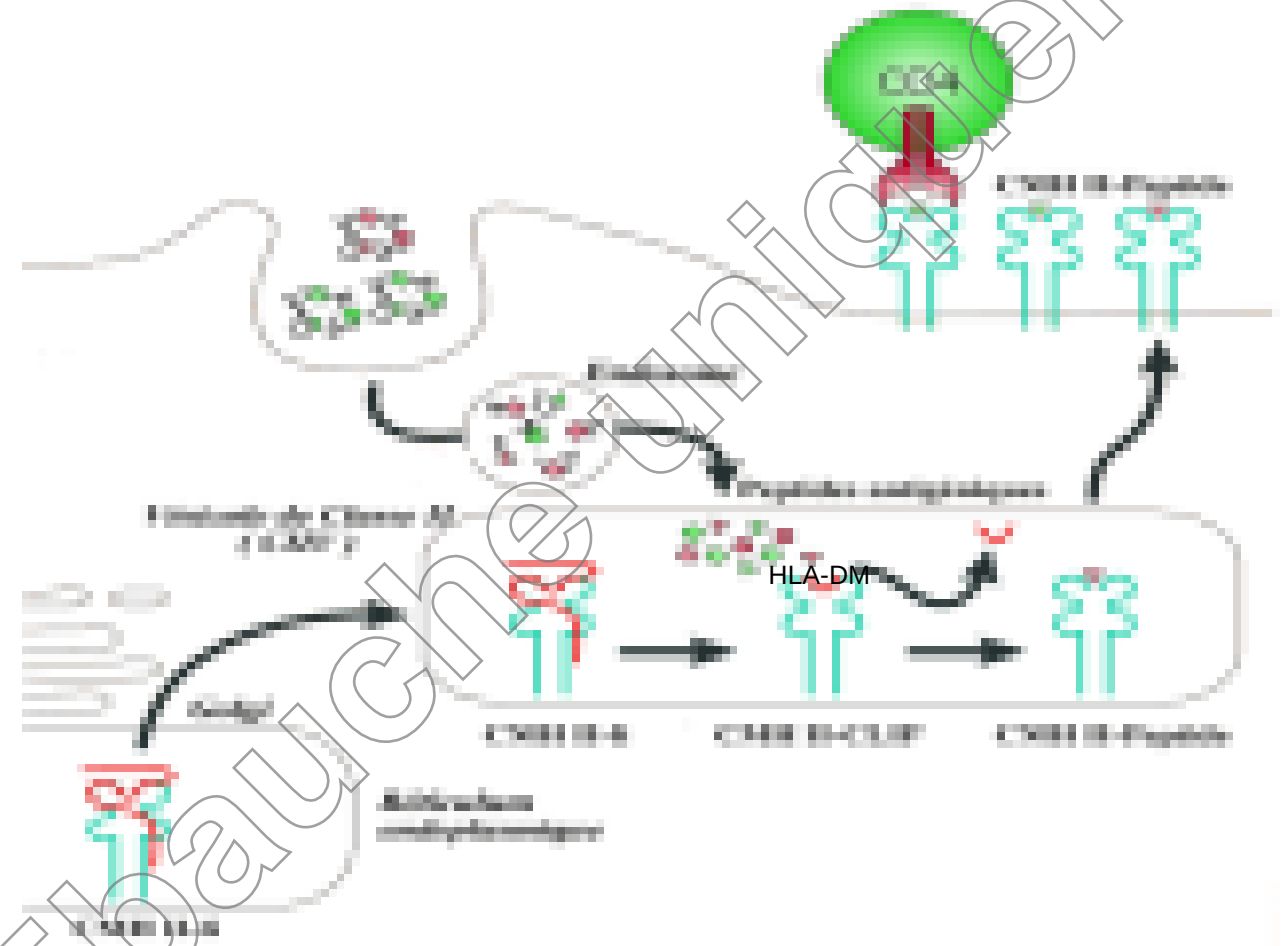
• Les 2 classes de molécules du CMH sont spécialisées pour présenter des antigènes d'origine différente

- les molécules de classe I présentent des antigènes synthétisés par une voie endogène (ag viraux). Les molécules du CMH I sont instables en l'absence de peptide. Les peptides sont longs de 8 à 10 Aa

- les molécules de classe II présentent des antigènes dérivés de Protéines exogènes (bactéries, protéine capside virale). Peptides 9 à 12 Aa

Ébauche uniquement

Apprêtement des antigènes par les classes II



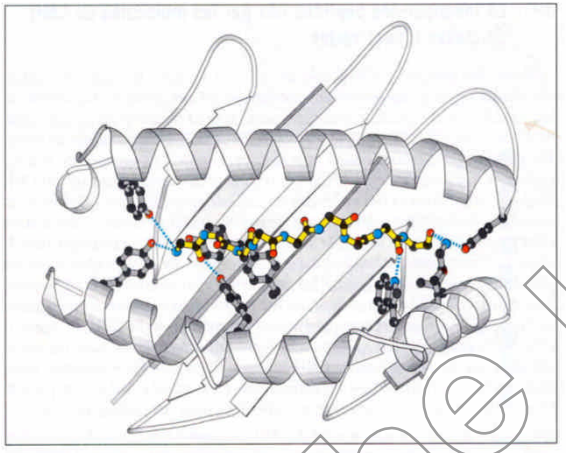
CLIP =Class II associated Invariant Chain Peptide

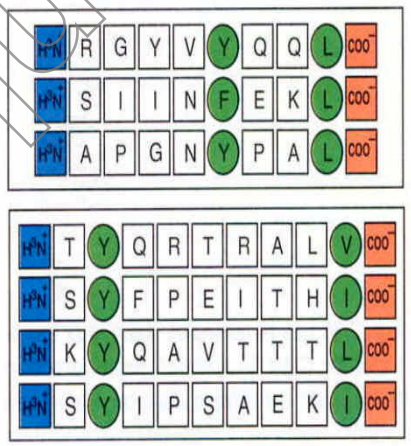
Ébauche uniquement

Apprêtement des antigènes par les classes II

Ébauche uniquement

Le CMH de classe I lie des peptides 8-10 AA par ses deux extrémités

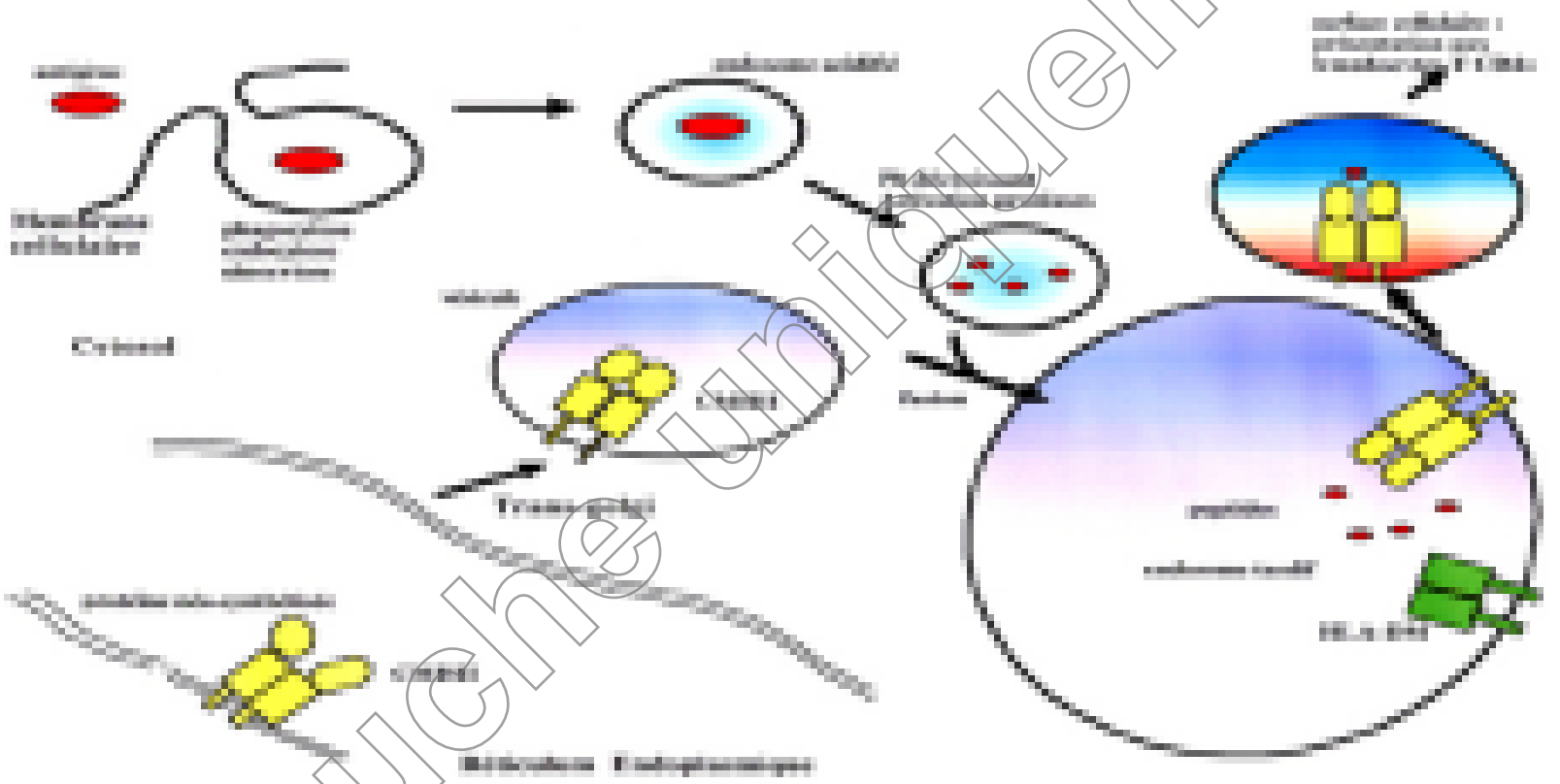




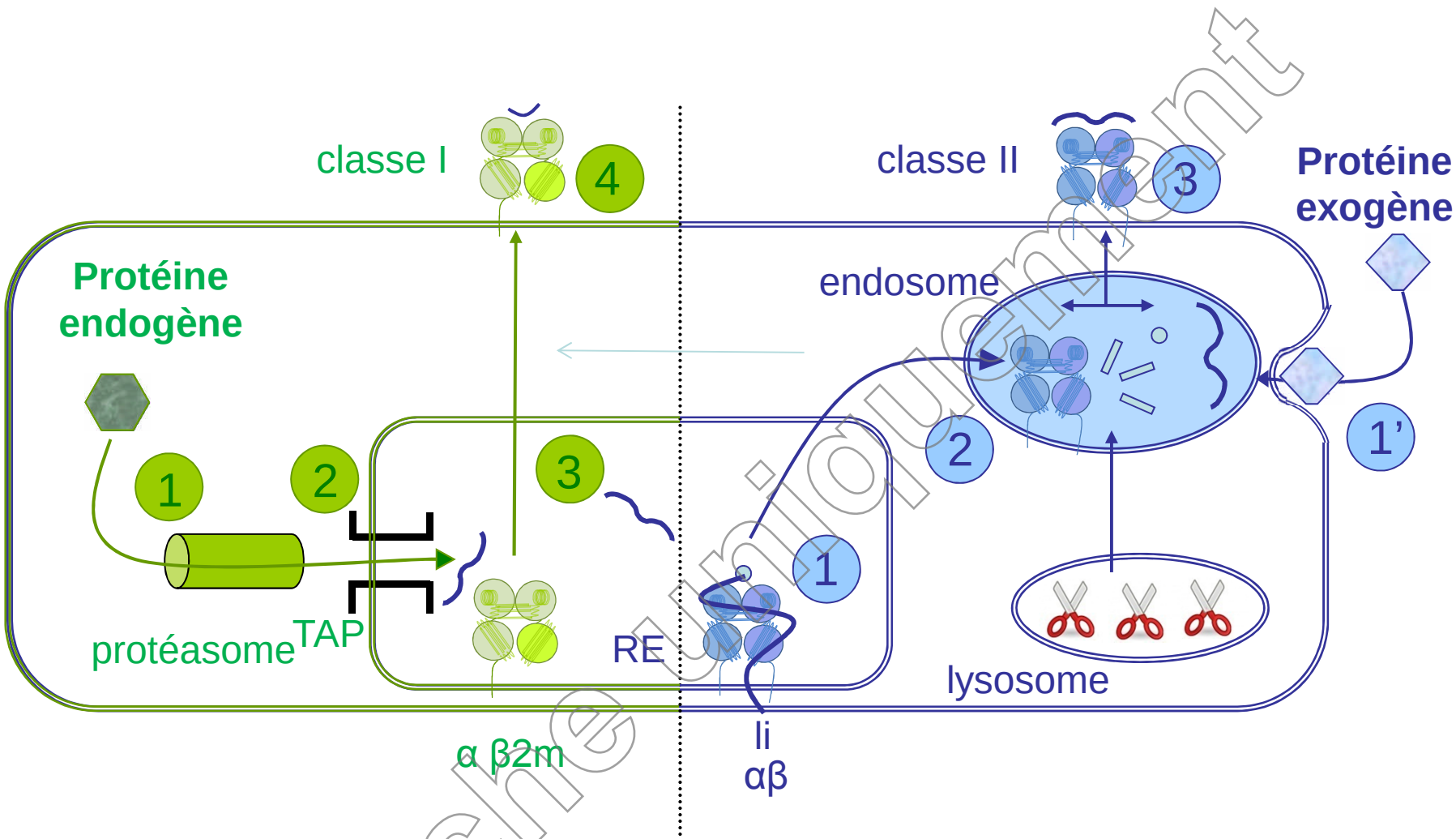
Les résidus d'ancrage sont différents entre peptides qui se lient à différents allèles,mais sont similaires pour tous les peptides qui se lient à un même CMH de classe I

Ébauche uniquement

APPRETEMENT ET PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE PAR CMH II

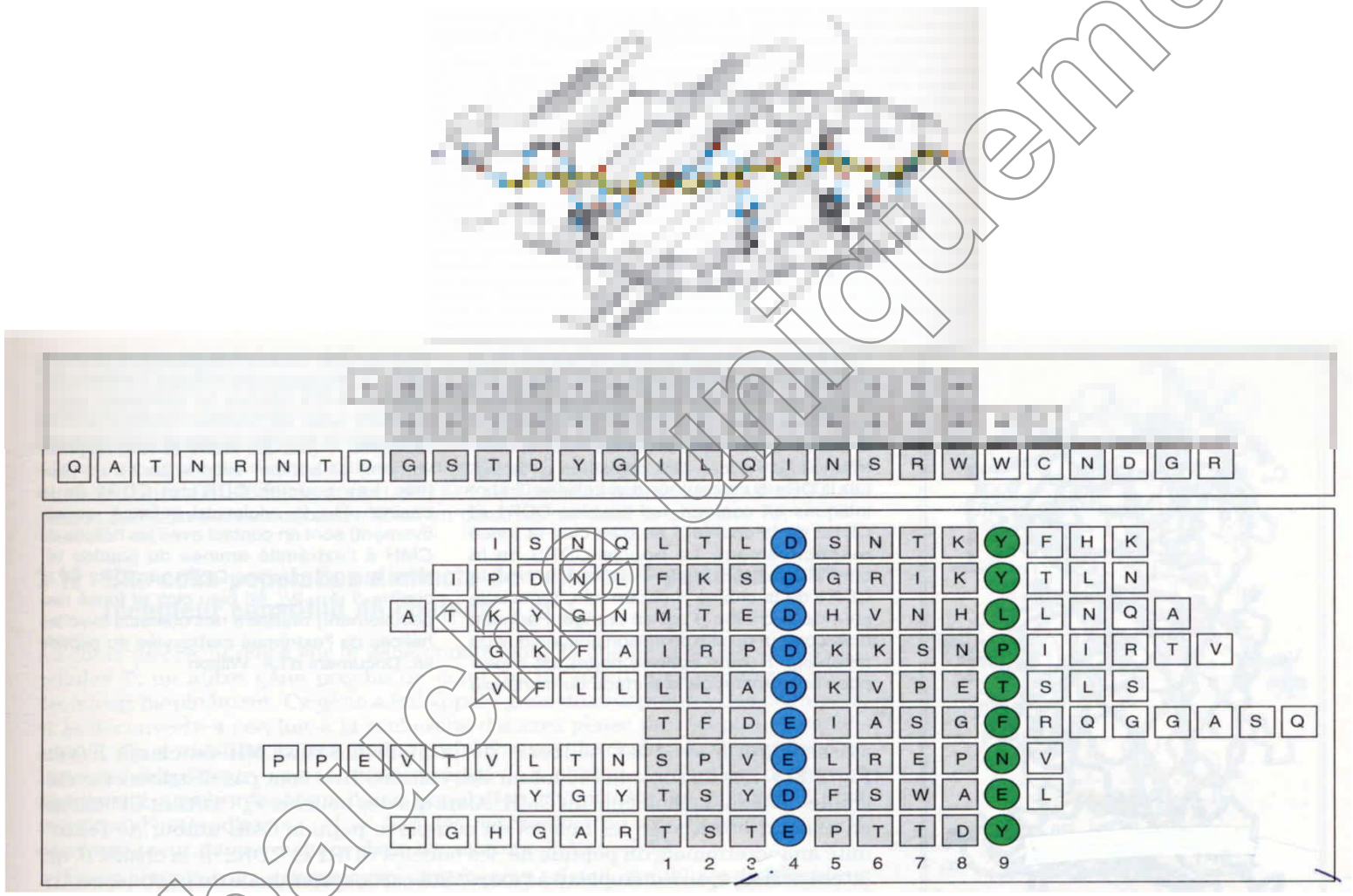


Ébauche uniquement



Ébauche uniquement

Le CMH de classe II lie des peptides d'au moins 13 AA sur toute la longueur de la poche



Les peptides qui se lient aux molécules de classe II sont variables en longueur et leurs résidus d'ancrage sont à différentes distances de l'extrémité du peptide

Ebauche uniquement

Ébauche uniquement

Techniques de détermination des antigènes HLA

Techniques sérologiques
- Grossesse, transfusion, transplantation
-Absorption sur plaquettes dépourvues en classe II

Techniques cellulaires
- Réponse prolifératives allogénique
 # MHC classe I

Techniques de biochimie
-Electrophorèse en gel 2 dimension

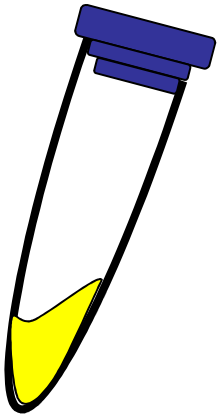
Techniques de biologie moléculaire

Ébauche uniquement

Principe du typage HLA
Technique de microlymphotoxicité

Patient

= cellules mononucléées



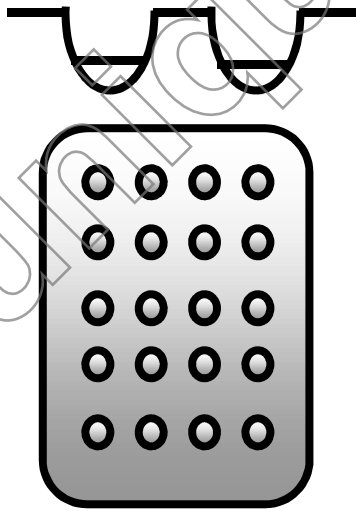
Anti serum

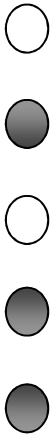
AS 1
2
3
4
5

Cellules

+ anti sérum

+ complément





Lecture

Plaque de TERASAKI

Ly. 1, 2, … 50

Lymphocytotoxicité

Ébauche uniquement

Préparation des cellules mononucléées

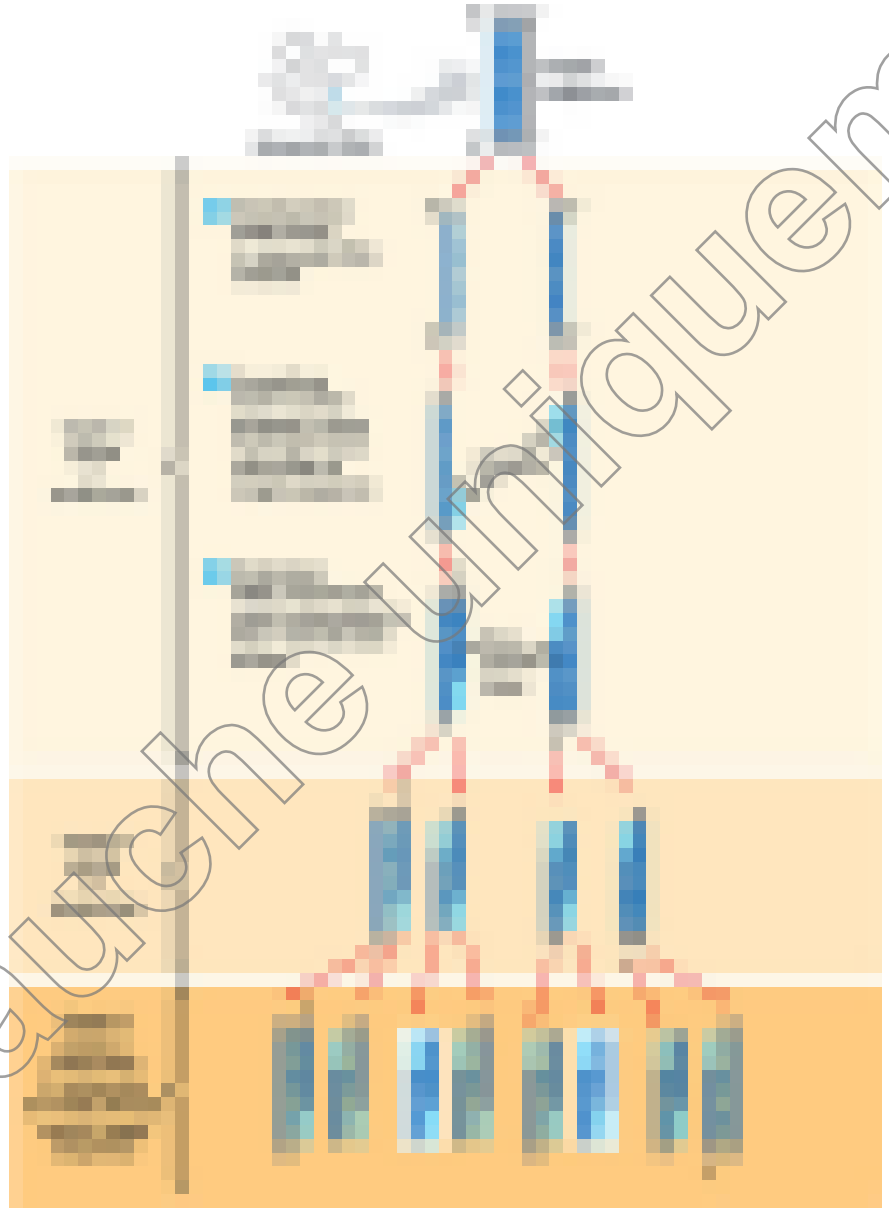
1

2

3

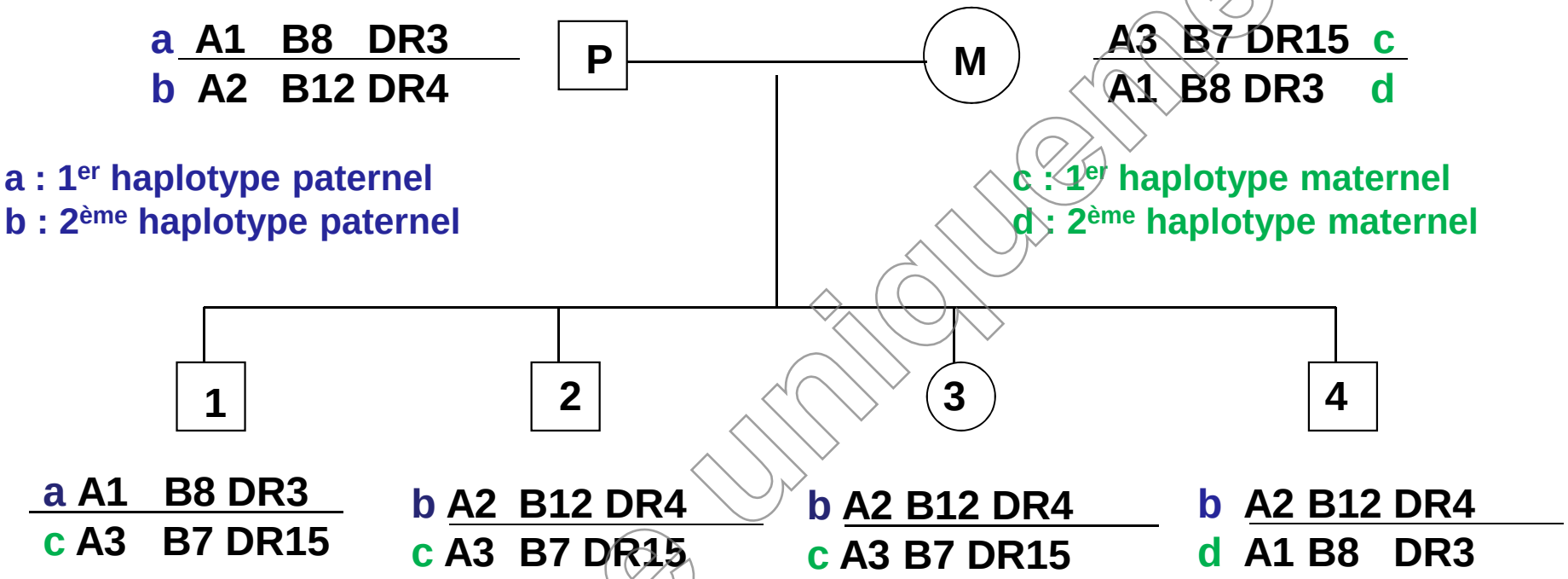
Ébauche uniquement

Méthodes de typage basées sur la PCR = Polymerase Chain reaction



Ébauche uniquement

Transmission en bloc des gènes HLA (notion d'haplotypes)



Ex dans cette famille :
1 et 4 : deux haplotypes HLA différents
2 et 3 : identiques HLA pour les 2 haplotypes parentaux
1 et 2 : haplo-identiques HLA

Si un individu a n frères et soeurs, la probabilité qu'il ait au moins l'un d'entre eux HLA identique est de p=1-0,75n.

Ebauche uniquement

B1

Rejet de greffe

- Niveau de réponse immunologique différents en fonction de l'organe : Cœur < Foie< Rein
- Classification basée sur le délai de survenue du rejet après la greffe : rejet hyperaigu (mins), rejet aigu qq jours à qq années, rejet chronique (plusieurs années après la greffe)
- Classification basée sur la cause : anticorps, cellules

Hyperaigu : anticorps seul

Aigu : cellules et/ou Ac

Chronique : cellules et /ou Ac

Ébauche uniquement

Diapositive 48

B1 Bernard; 18/05/2006

Ébauche uniquement

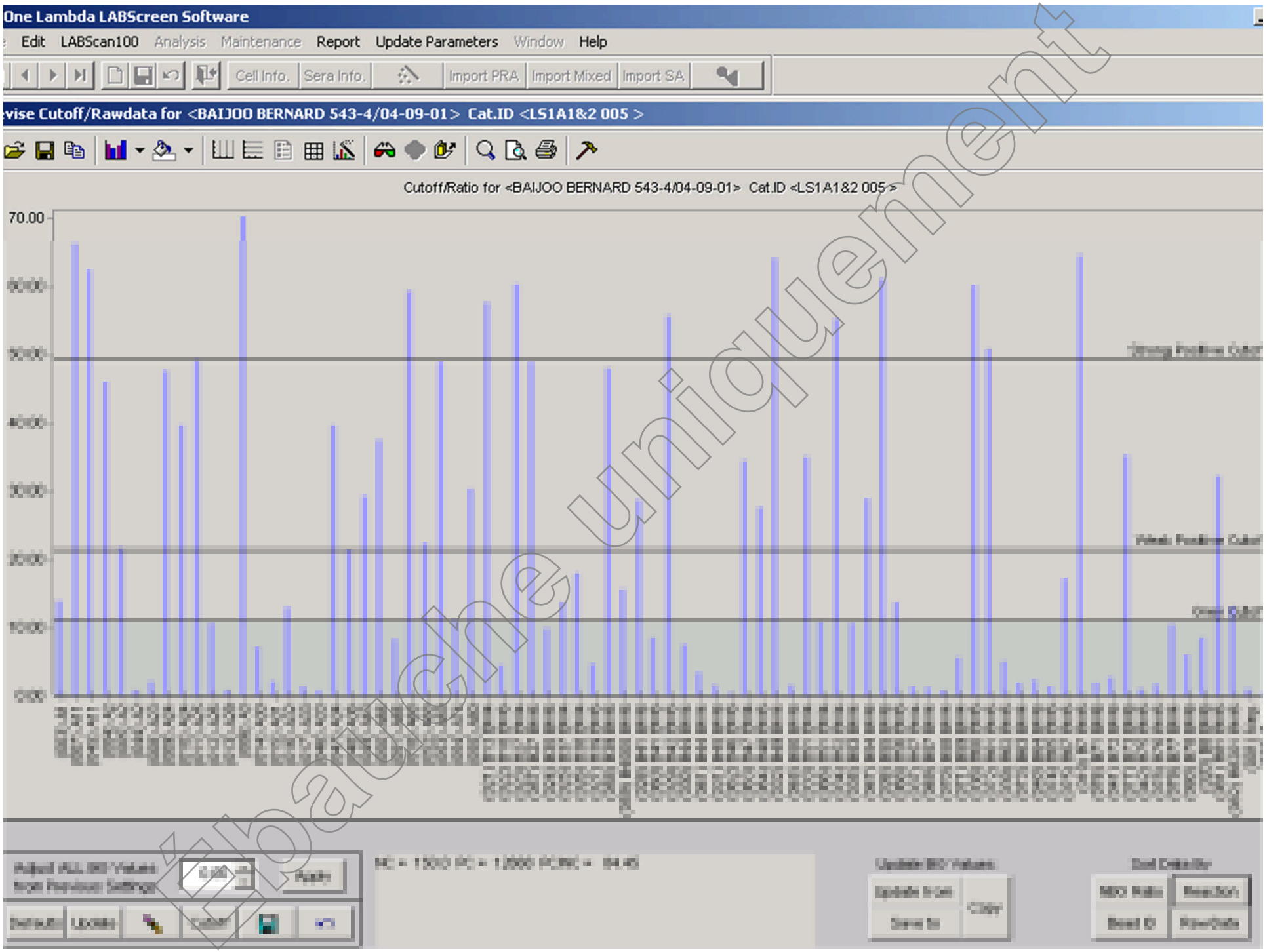
Rejet de greffe

- Comment prévenir le rejet ?

Suivi immunologique des patients

Cross match pré greffe

Ébauche uniquement



Reproduction uniquement

Réaction du greffon contre l'hôte GvHD

- Complication principale et limitante de le greffe de CSH. Observée dans 30% des cas greffes familiale géno-identique et plus de 80 % des greffes phéno-identiques
- Survient dans les 100 jours après la greffe : atteinte cutanée (paume des mains, plante des pieds) tube digestif (diarrhées +++) foie et poumon
- Risque et grade est d'autant plus grave que le situation de compatibilité est défavorable

Ébauche uniquement

Réaction du greffon contre l'hôte GvHD

- Observée au cours de la greffe de cellule souches hématopoïétiques
- Cellules souches hématopoïétiques = cellules immunocompétentes(lymphocytes T et B, monocytes, APC)
- Receveur Immunodéprimé (traité par chimiothérapie, radiothérapie)

Ébauche uniquement

Les sources de cellules souches

- Moelle osseuse : AG, hospitalisation
- Cellules souches périphériques : pas AG ni hospitalisation mais facteur de croissance G-CSF injecté au donneur
- Sang de cordon : nb fini de cellules, congélation

Ébauche uniquement

- Les cellules immunitaires du receveur

ne sont pas réactives ~~REJET~~

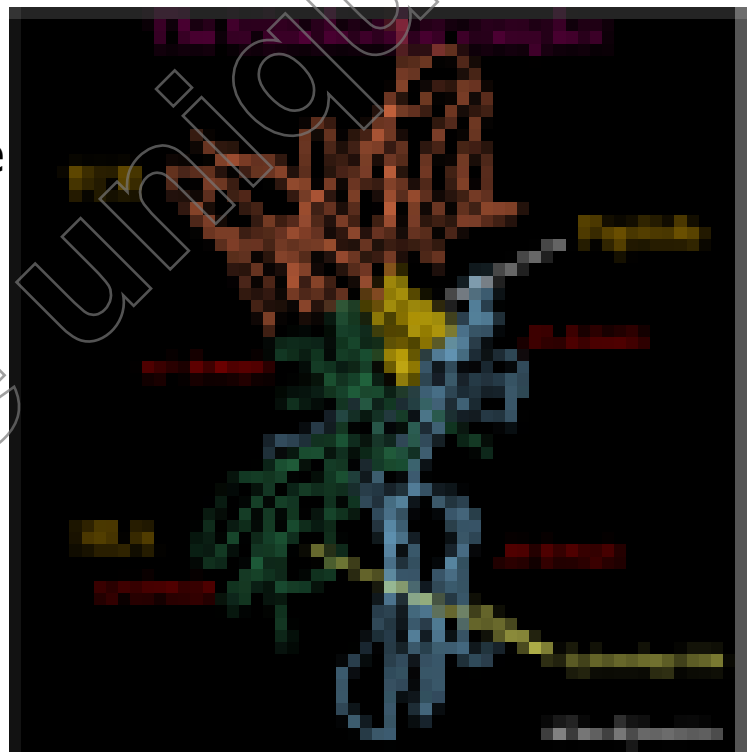
Les cellules du greffon sont actives, elles

Peuvent réagir contre l'hôte = maladie du greffon contre l'hôte

Ébauche uniquement

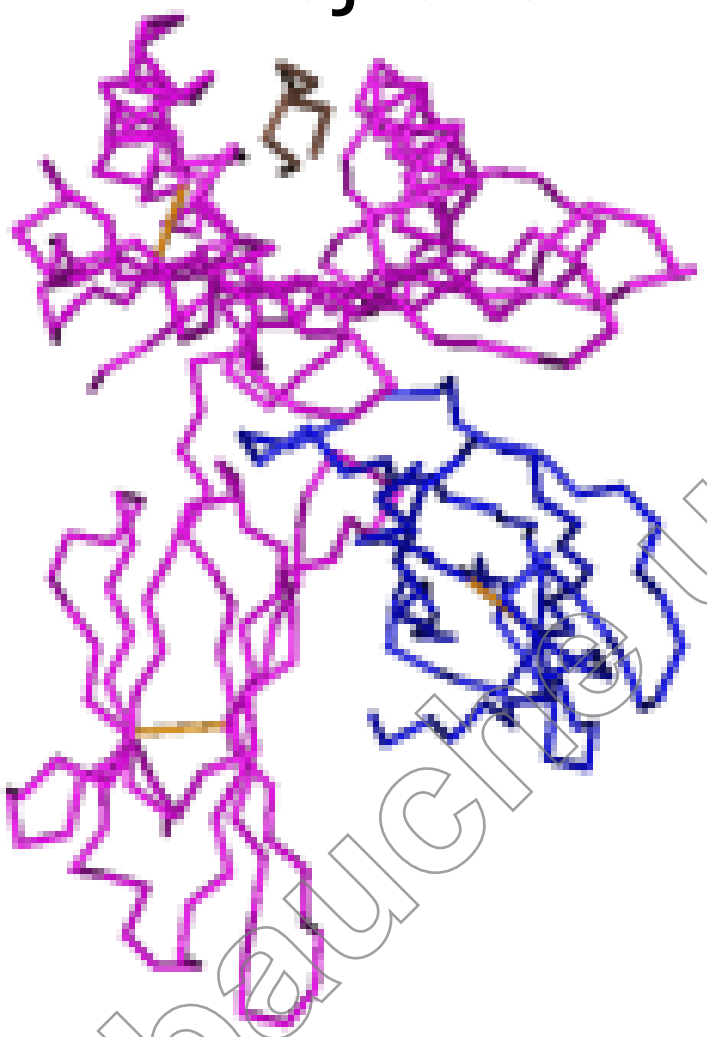
Rôle Fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

- Régulation de la réponse Immune
- Les lymphocytes T reconnaissent l'antigène complexé au CMH I ou II
- demi-vie du complexe 24 h
- Chaque allèle possède un ensemble unique de peptides qu'il peut lier
- Chez un individu normal la majorité des molécules du CMH porte des antigènes du soi (CMH Vide est instable)

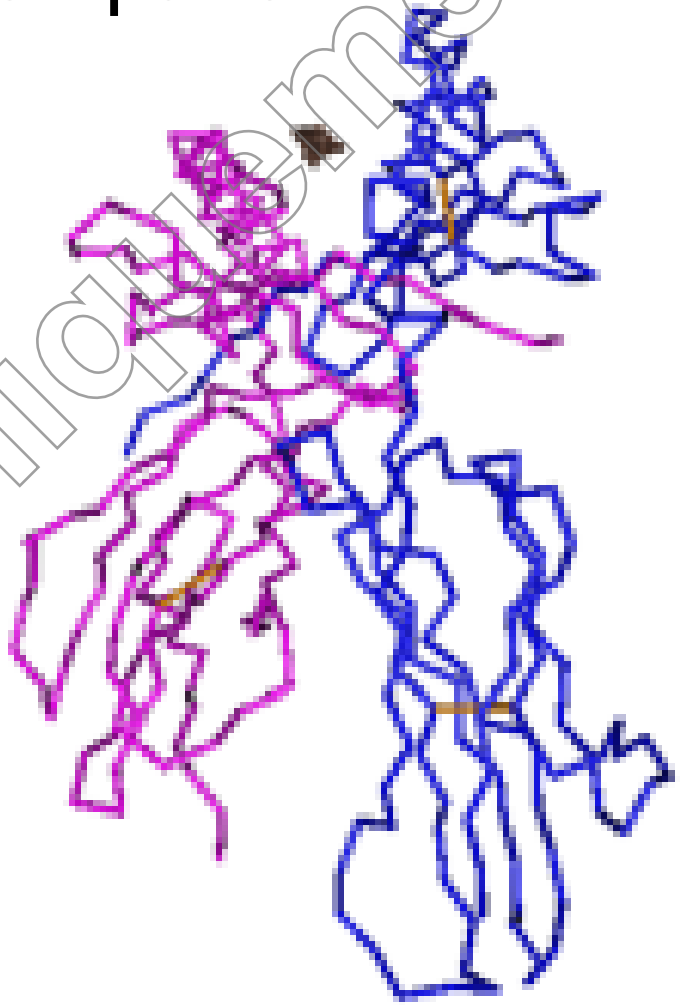


Ébauche uniquement

Rôle Fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité



Classe I



Classe II

Ébauche uniquement

Rôle fonctionnel du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

Type cellulaire	Classe I	Classe II
Lymphocyte T	+++	inductible
Lymphocyte B	+++	++
Macrophage	+++	+
Cellules dendritiques	+++x10	+++x10
Granuleux	++	-
Endothelium	++	inductible
Hepatocytes	+	-
neurones	-	-

Ebauche uniquement

Reconnaissance allogénique

- Voie directe :

Elle induit une réponse immune intense.

- haute densité de déterminants : les LT alloréactifs reconnaissent principalement les déterminants étrangers de la structure du CMH allogénique

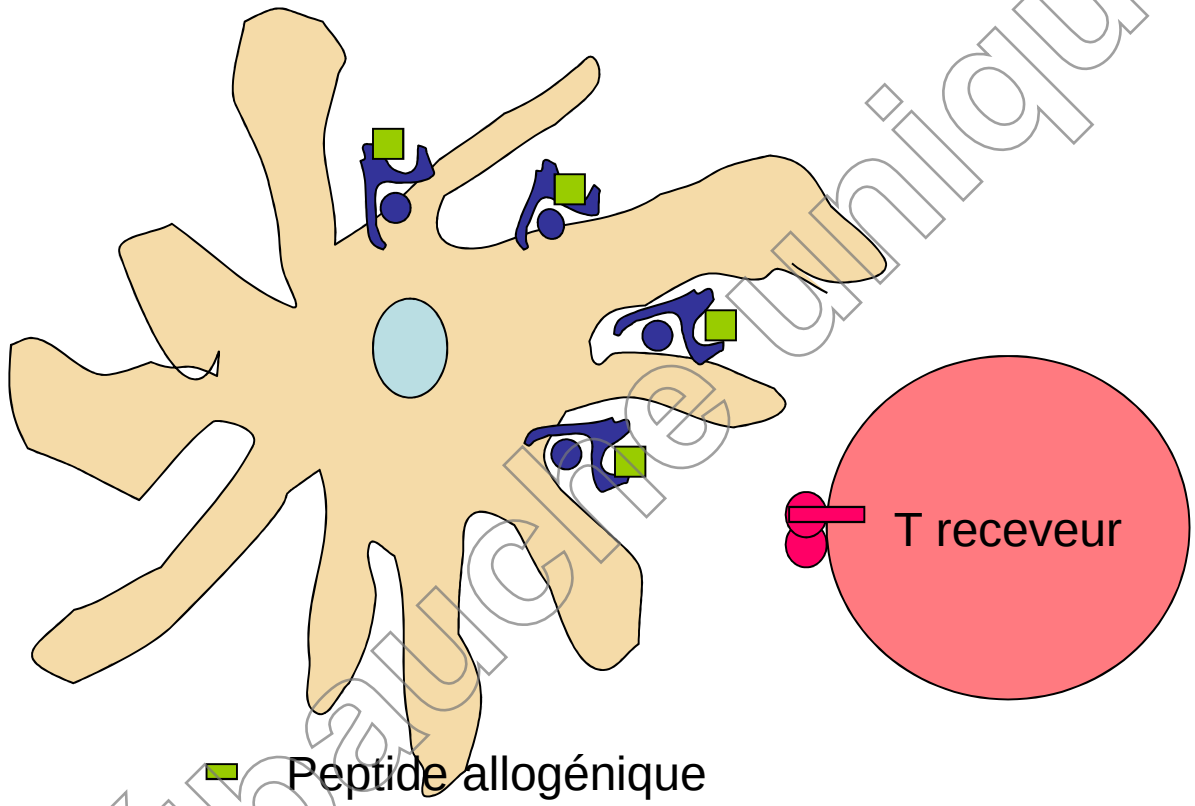
Peu Ag allo présenté mais bcp CMH

- multiples complexes binaires: peptides fixés par CMH allogénique sont variés et de nbreux clones T différents sont recrutés

Ébauche uniquement

Reconnaissance allogénique

- Voie directe : Prédomine dans rejet aigu et début de la réponse allogénique



Ébauche uniquement

Reconnaissance allogénique

- Voie indirecte :

Plus intense en phase de rejet chronique

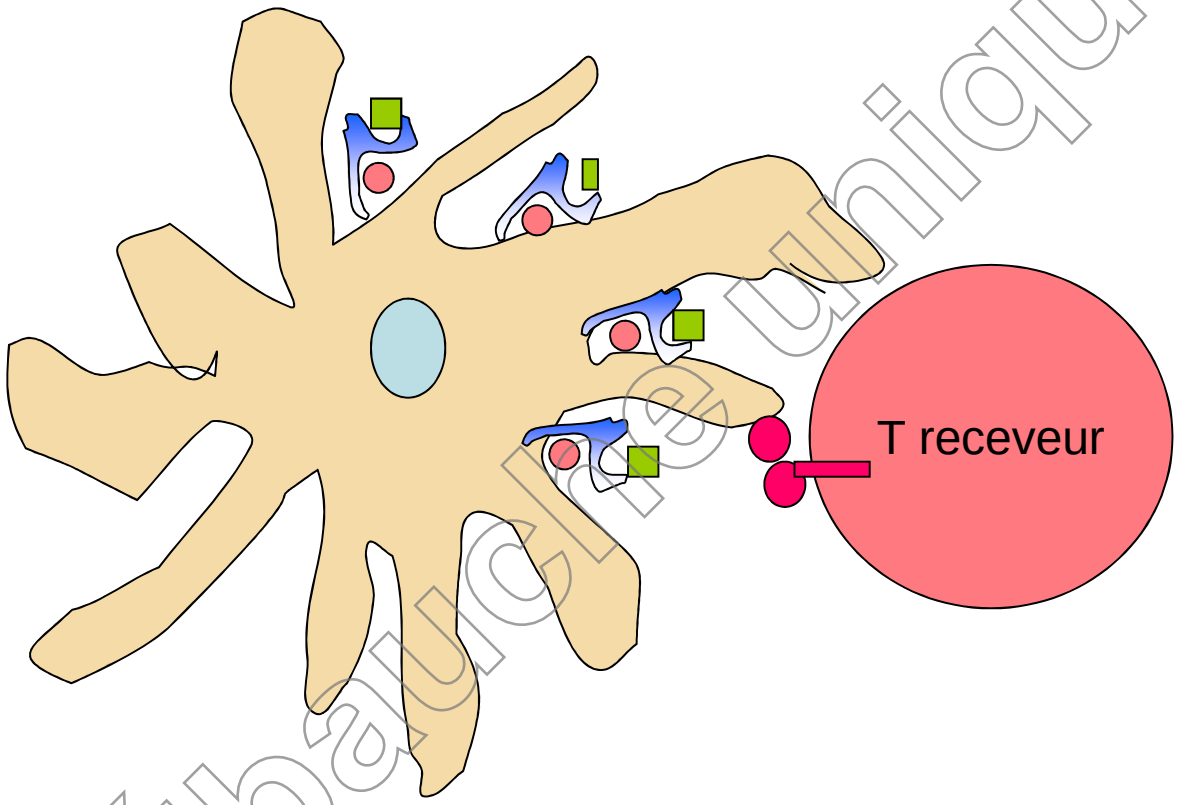
- disparition des CPA donneur ?

- Voie semi-directe : présentation simultanée du CMH donneur + peptide et CMH receveur +peptide

Ébauche uniquement

Reconnaissance allogénique

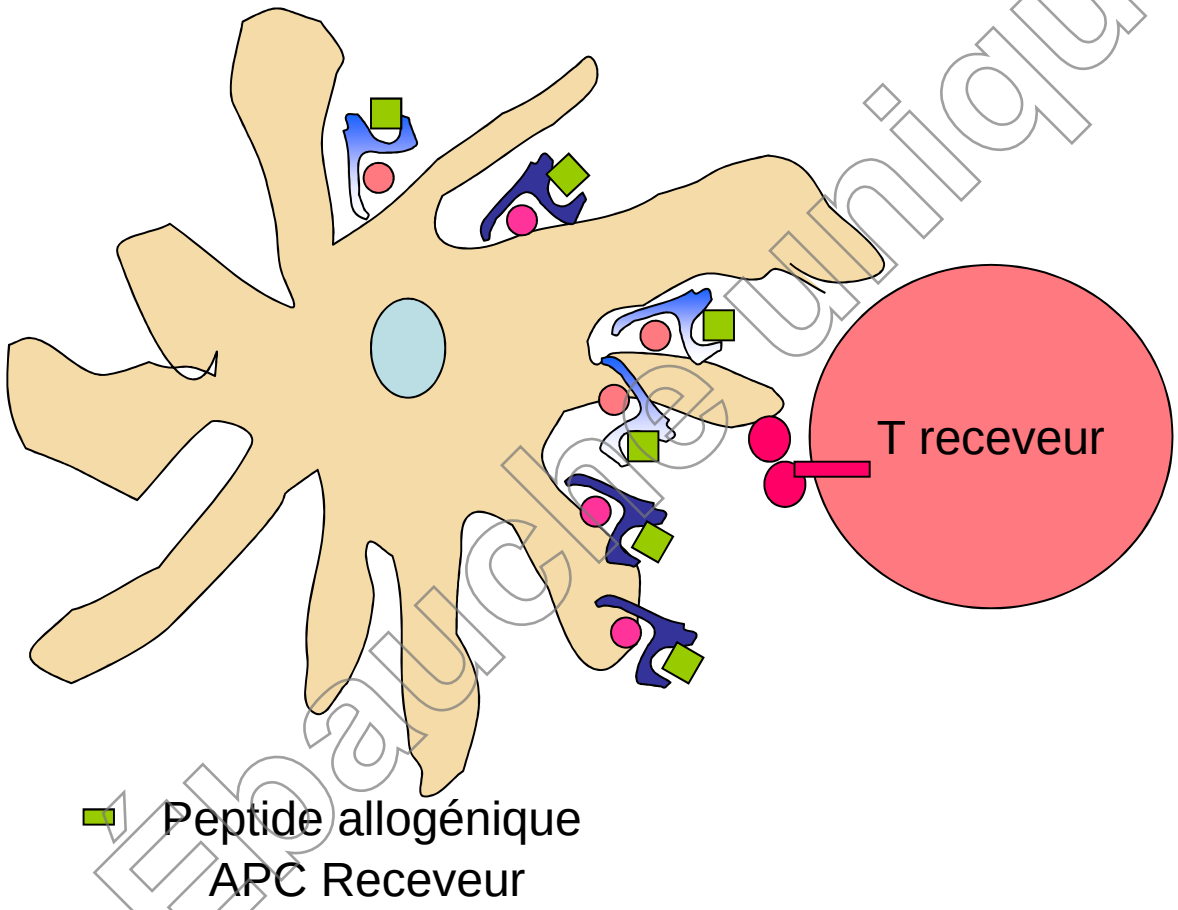
- Voie indirecte : Rejet chronique



Ebauche uniquement

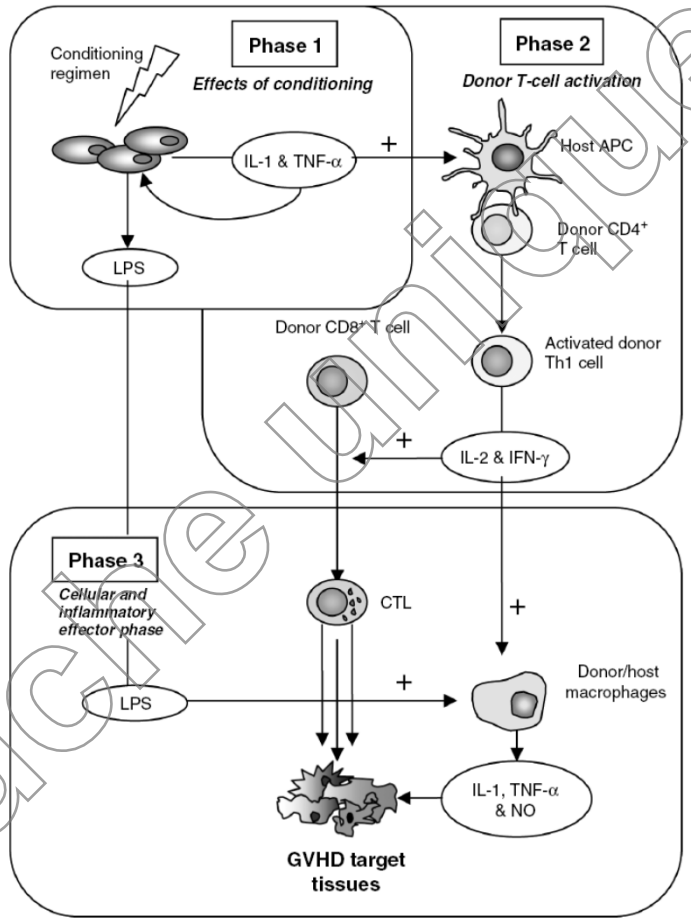
Reconnaissance allogénique

- Voie semi directe :



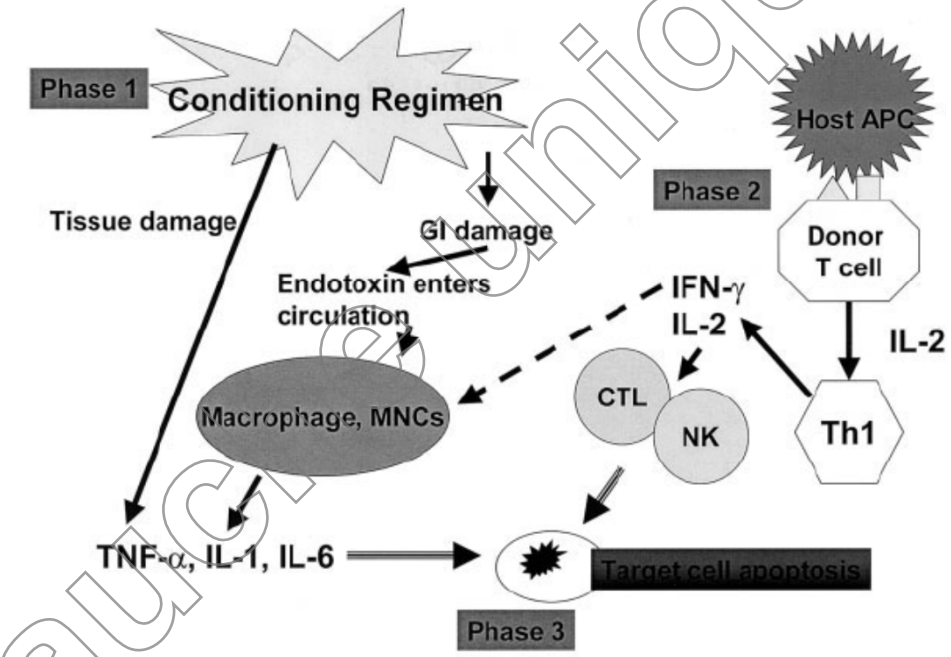
Ebauche uniquement

Les phases de la GvH aigue



Jaksch et al Scand.J.Immunol. 2005

Ébauche uniquement

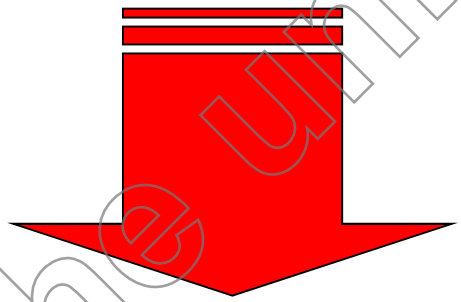


Ébauche uniquement

Avant la transfusion des cellules du donneur……

Conditionnement du receveur

Irradiation et Chimiothérapie



Grande toxicité pour les tissus de l’hôte :
muqueuse intestinale, foie + autres tissus

Ébauche uniquement

1ère phase = effet du conditionement

- En réponse à cette agression : production de cytokines, chémokines et induction de molécules d'adhérence = signaux délivrés au système immunitaire

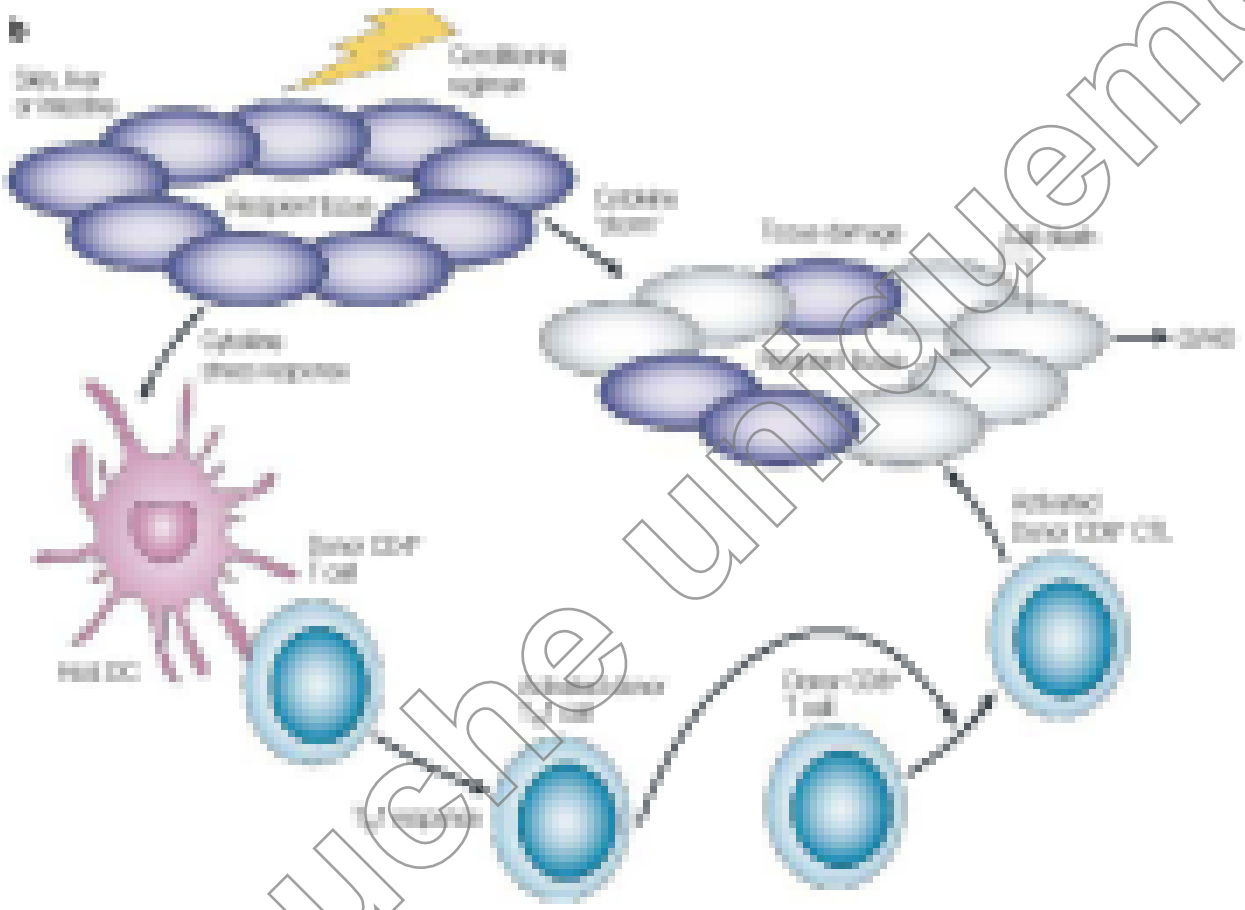
TNF α, IL-1

CMH I et II

Décharge de LPS provenant bact gram-

Niveau LPS sanguin corrélé avec intensité dommages intestinaux et intensification de la réponse inflammatoire

Ébauche uniquement



Parham et al. Nature reviews feb 2003

Ébauche uniquement

2ème phase activation des LT du donneur

- T du donneur reconnaissent Ag étrangers présentés par les DC du receveur
- DC présentes dans les tissus sont activées par TNF α, IL-1 et endotoxine (LPS)
- DC des organes lymphoïdes secondaires et des organes seraient cruciales pour recrutement des LT

Ébauche uniquement

Activation des LT

- Engagement du récepteur T
- Nécessité du second signal d'activation
- Les cytokines:

activation T induit la production de cytokines: IL2 et IFN-γ , différenciation des CTL et NK

- IL18 rôle complexe
- G-CSF : greffon cellules souches mobilisées par G-CSF : polarisation TH2

Ébauche uniquement

Activation des LT

- Engagement du récepteur T
- Nécessité du second signal d'activation
- Les cytokines:

activation T induit la production de cytokines: IL2 et IFN-γ , différenciation des CTL et NK

- IL18 rôle complexe
- G-CSF : greffon cellules souches mobilisées par G-CSF : polarisation TH2

Ébauche uniquement

The CD28/B7 families of coreceptors (Ig like superfamily)

Receptor	ligand
CD28	CD86
CTLA-4	CD80
ICOS	ICOS-L (B7RP1)
PD1	PDL-1
	PDL2
BTLA	B7x
TIM-3	?

Inhibitors / activators

Ébauche uniquement

The molecular events : surface receptors & ligands

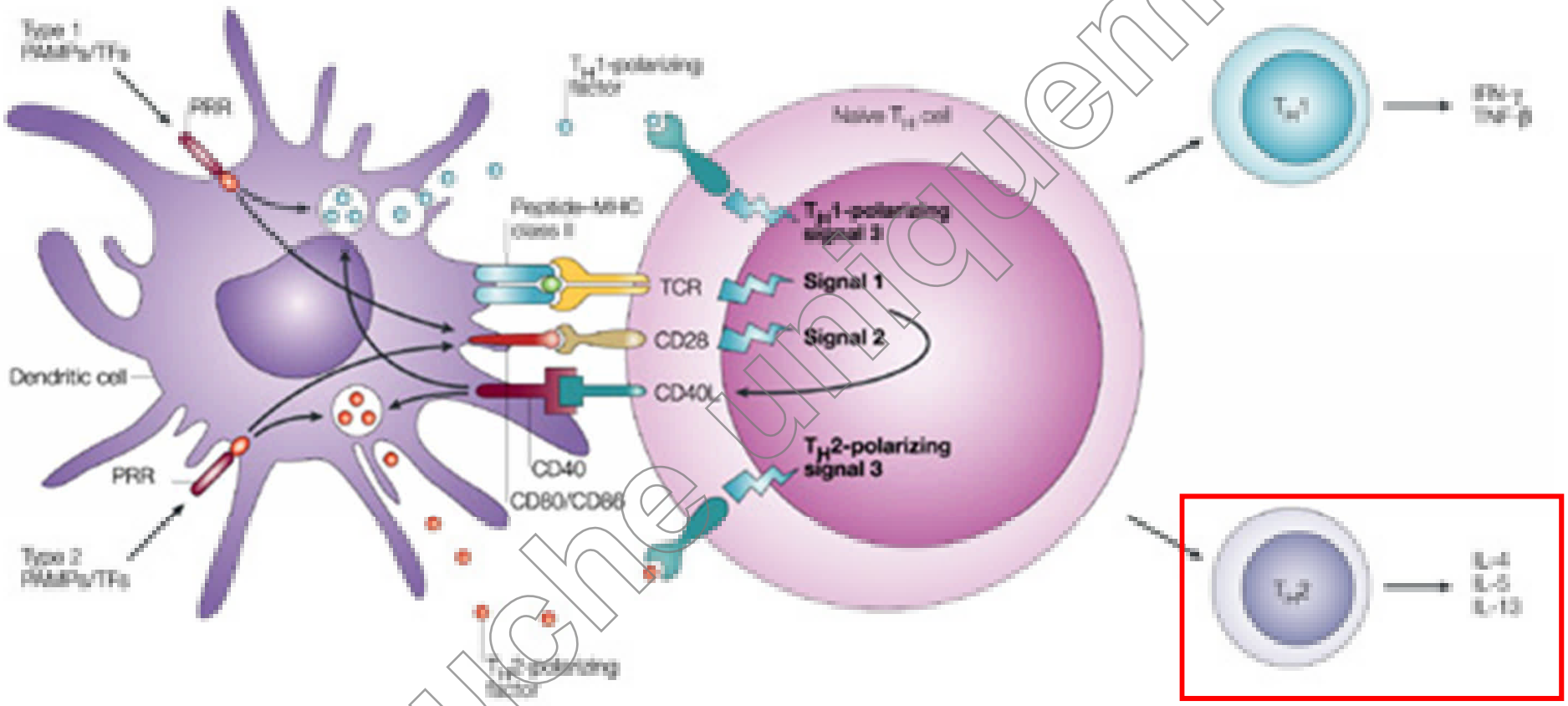
1. First signals : Ag recognition and initiation of the synapse

1. Coactivation signals : a) crucial signals

- CD28 – CD86/CD80
- CD154 – CD40
- ICOS – ICOSL
- CD100 – CD72

Ébauche uniquement

The 3 signals model for T cell functional polarization



GvH chronique?

Ébauche unique ment

Activation des LT

- Engagement du récepteur T
- Nécessité du second signal d'activation
- Les cytokines:

activation T induit la production de cytokines: IL2 et IFN-γ , différenciation des CTL et NK

- IL18 rôle complexe
- G-CSF : greffon cellules souches mobilisées par G-CSF : polarisation TH2

Ébauche uniquement

Activation des LT

- Les chémokines :

les chémokines inflammatoires (MIP 1a, MIP-2, MCP-1, MCP-3…) sont exprimées par les tissus endommagés = recrutement de cellules effectrices

Proposées comme marqueur de diagnostic précoce?

Ébauche uniquement

Les cellules natural Killers = NK

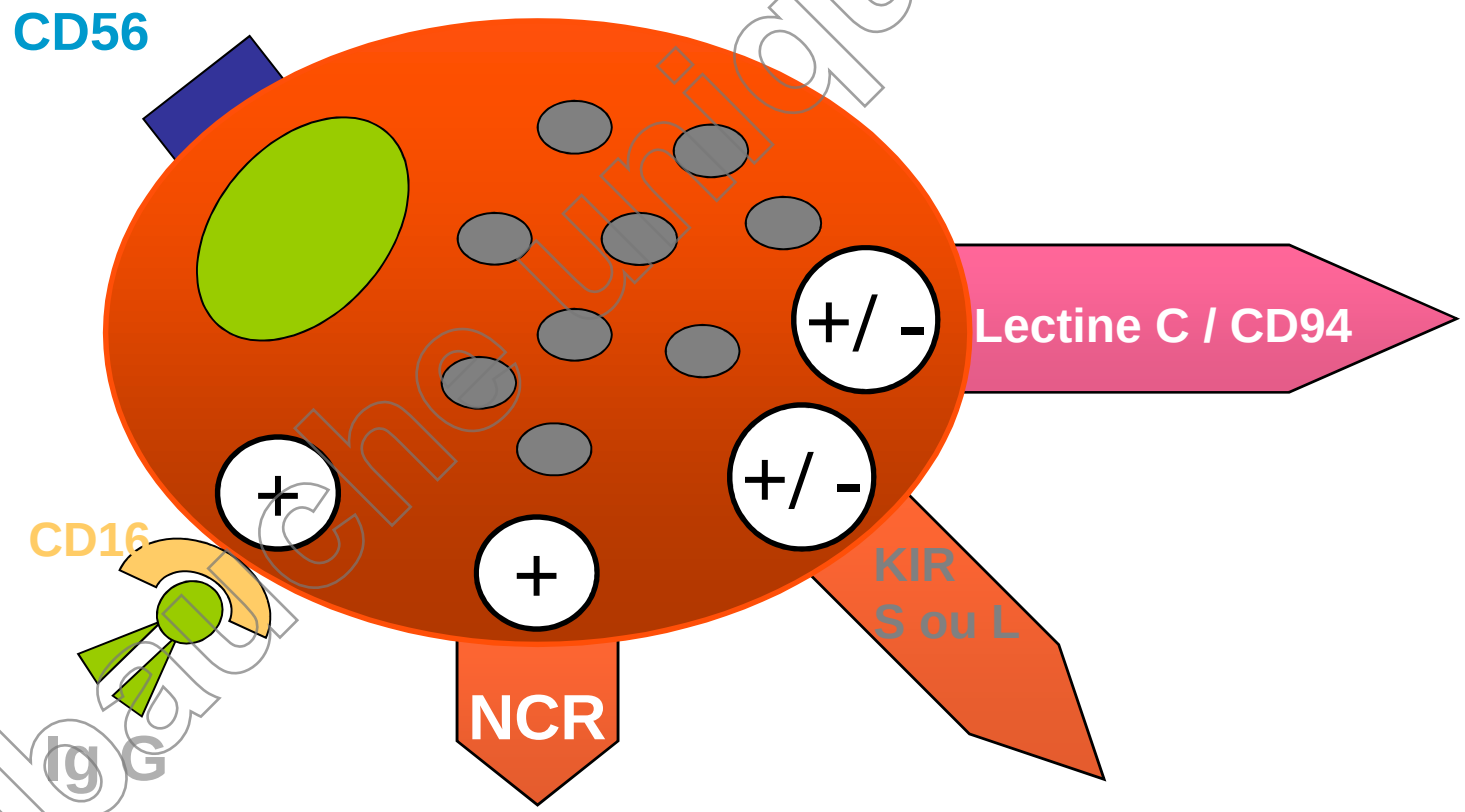
- Apparaissent très tôt après la greffe : production d'IFN-γ, TNF-α
- Lymphocytes sans marqueur T ou B
- Expriment CD16 (Ig Récepteur)
  CD56 (molécule adhérence)
- Rôle décisif dans réponse immune innée

(production cytokines)

- Répertoire NK stable pour un individu donné
- Cellules régulatrices
- Récepteurs pour CMH I
- Chaque cellule n'expriment pas tous les récepteurs

Ébauche uniquement

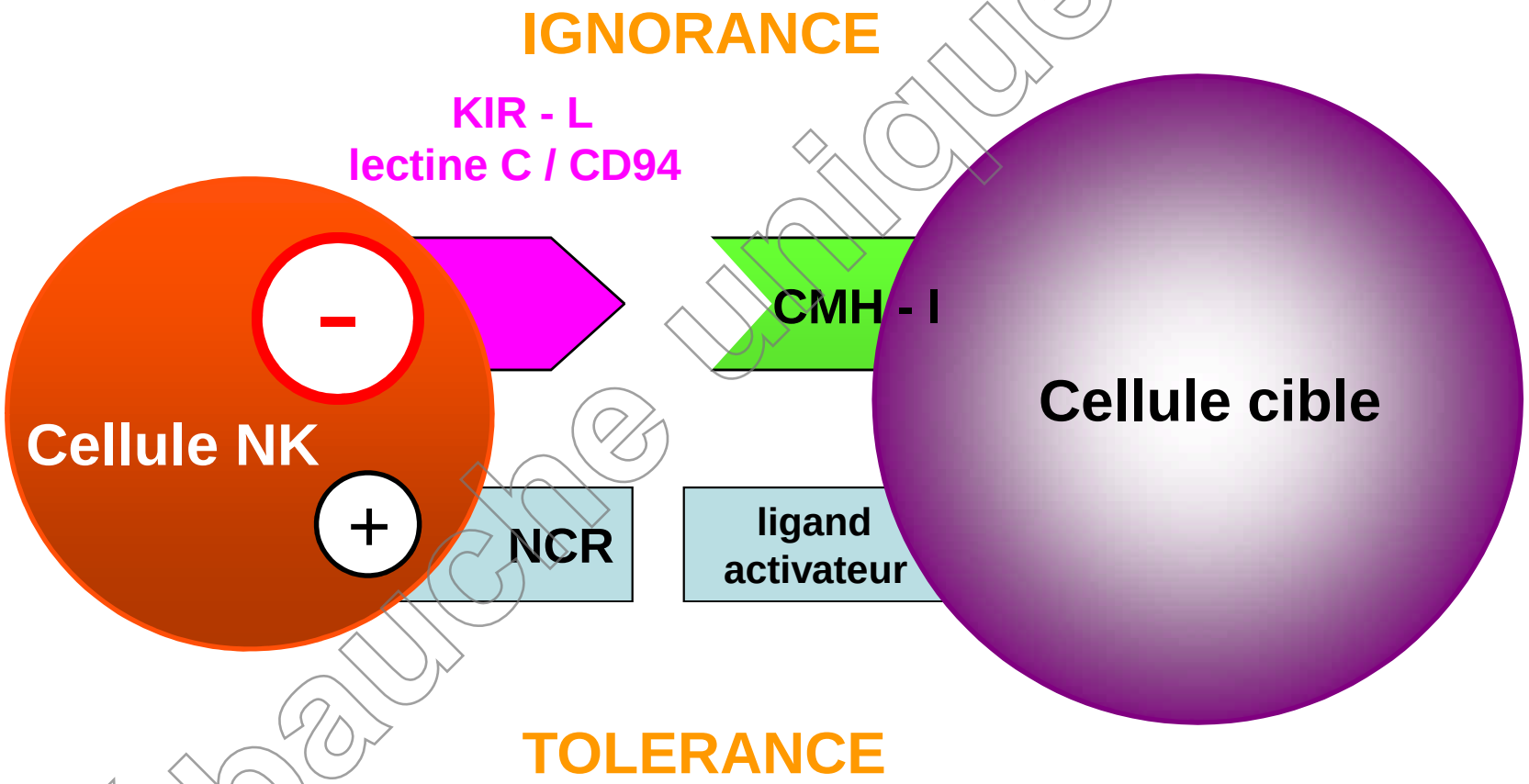
Caractéristiques phénotypiques des cellules Natural Killers



Élaboré uniquement

Mécanisme de cytotoxicité

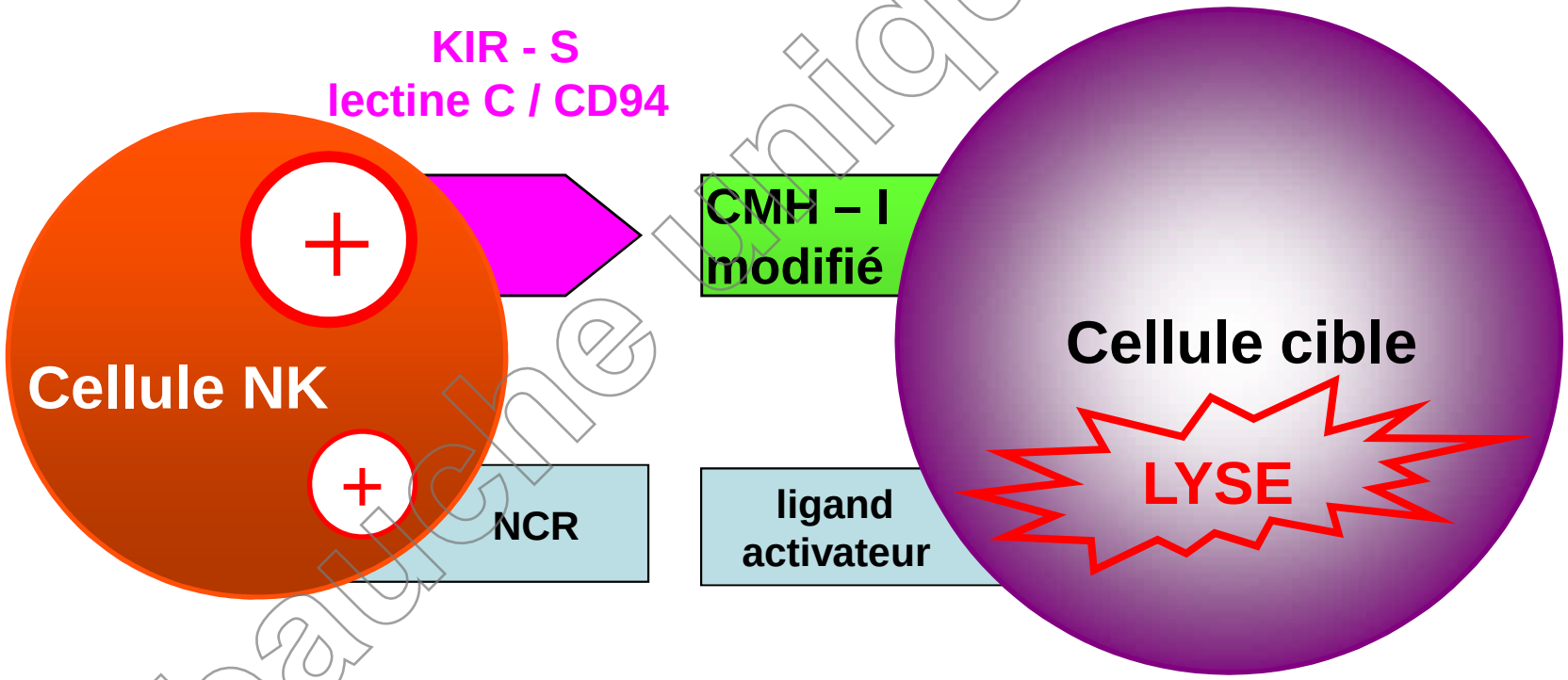
SIGNAL « OFF »



Ébauche uniquement

Mécanisme de cytotoxicité

SIGNAL « ON »



Ébauche uniquement

3ème phase : effecteurs cellulaires et inflammation

- Mise en jeu complexe d'effecteurs multiples :

  - sytème Perforine-Granzyme

LT et NK – Ca++ la perforine est polymérisée

⟶ pores dans la mb et le passage du granzyme activateur de caspases ⟶ mort cellulaire

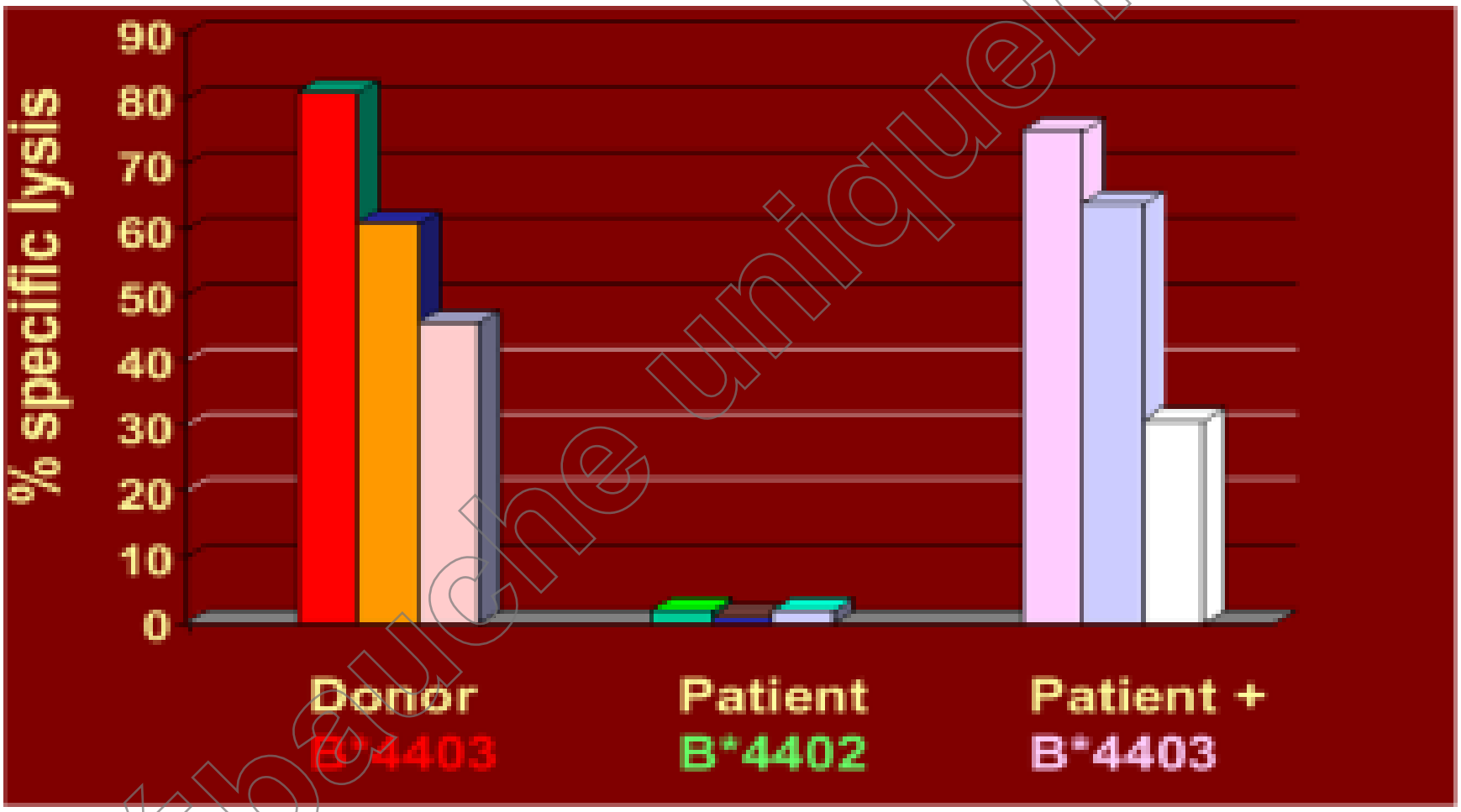
  - Fas /FasL : augmentation sur CD4 et CD8 Donneur

  - lésions dépendantes des cytokines

TNFα et nécrose tissulaire- IL1

Ébauche uniquement

Un seul acide aminé peut être la cible d'une réponse allogénique



Ébauche uniquement

Alignements des acides aminés pour les 3 groupes HLA-DP

		Polymorphic regions															
		A			B			C			D		E	F			
Groups	HLA-DPB1*	8	9	11	33	35	36	55	56	57	65	69	76	84	85	86	87
1	0901	V	H	L	E	F	V	D	E	D	I	E	V	D	E	A	V
	1001	—	—	—	—	—	—	—	—	E	—	—	—	—	—	—	—
	1701	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	M	—	—	—	—
2	0301	—	Y	—	—	—	—	—	—	—	L	K	—	—	—	—	—
	1401	—	—	—	—	—	—	—	—	—	L	K	—	—	—	—	—
	4501	—	—	—	—	—	—	—	—	E	L	K	—	—	—	—	—
3	0101	—	Y	G	—	Y	A	A	A	E	—	K	—	—	—	—	—
	0201	L	F	G	—	—	—	—	—	E	—	—	M	G	G	P	M
	0202	L	F	G	—	L	—	E	A	E	—	—	M	G	G	P	M
	0401	L	F	G	—	—	A	A	A	E	—	K	M	G	G	P	M
	0402	L	F	G	—	—	—	—	—	E	—	K	M	G	G	P	M
	0501	L	F	G	—	L	—	E	A	E	—	K	M	—	—	—	—
	0601	—	Y	—	—	—	—	—	—	—	L	—	M	—	—	—	—
	1101	—	Y	—	Q	Y	A	A	A	E	L	R	M	—	—	—	—
	1301	—	Y	—	—	Y	A	A	A	E	—	—	I	—	—	—	—
	1501	—	Y	G	Q	Y	A	A	A	E	L	R	M	V	G	P	M
	1601	L	F	G	—	—	—	—	—	E	—	—	M	—	—	—	—
	1901	L	F	G	—	—	—	E	A	E	—	—	I	—	—	—	—
	2001	—	Y	—	—	—	—	—	—	—	L	K	M	—	—	—	—
	2301	L	F	G	—	—	—	A	A	E	—	K	M	G	G	P	M
	4601	L	F	G	—	—	—	—	—	—	—	—	M	G	G	P	M

The six polymorphic pockets A-F encoded by HLA-DPB1 alleles[36-38] are aligned with *0901 as consensus. Dashes indicate sequence identity to the consensus at this position.[3] Only alleles belonging to immunogenicity groups 1-3 according to the classification from Table 2 are listed.

Zino *Blood* 2004

Ebauche uniquement

matching fonctionnel par analyse des cellules T alloréactives

- Analyse des cellules du patient avant greffe :

  - Culture mixte : remplacée par typage 4 digits DRB1

  - Précurseur cytotoxiques : remplacés par typage 4 digits classe I

- Analyse des cellules du patient après greffe :

  - utilisation des cellules T responsables de la réponse allogénique in vivo. Rejet aigu ou GvH

Ébauche uniquement

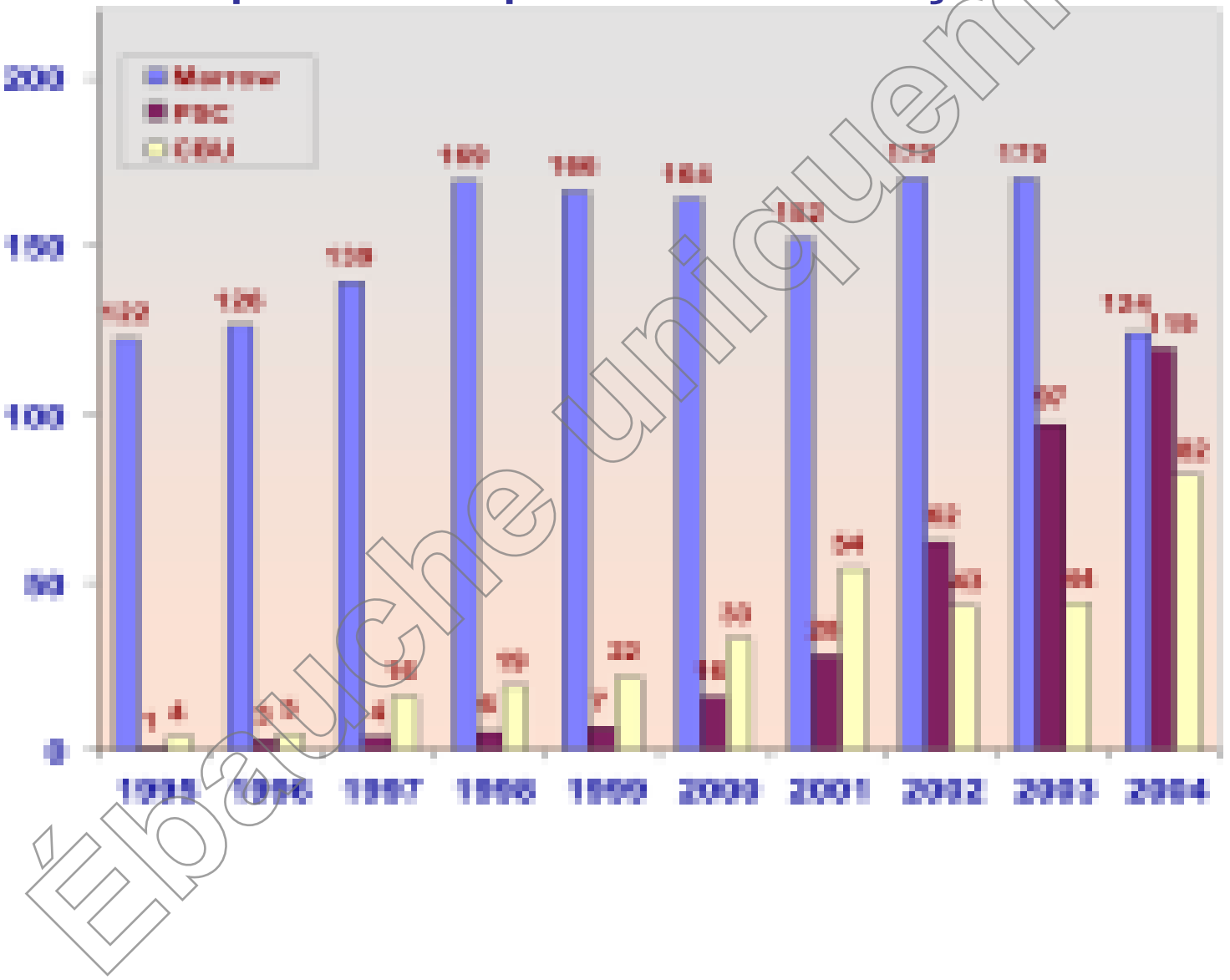
Les mismatchs permissifs

- Matching structural :
- HLA matchmaker (greffe d'organe)
- Histocheck (CSH)

- Matching fonctionnel
- Caractérisation des cellules T alloréactives

Ébauche uniquement

Evolution de l'origine des greffons de CSH pour les patients Français



Ébauche Uniquement

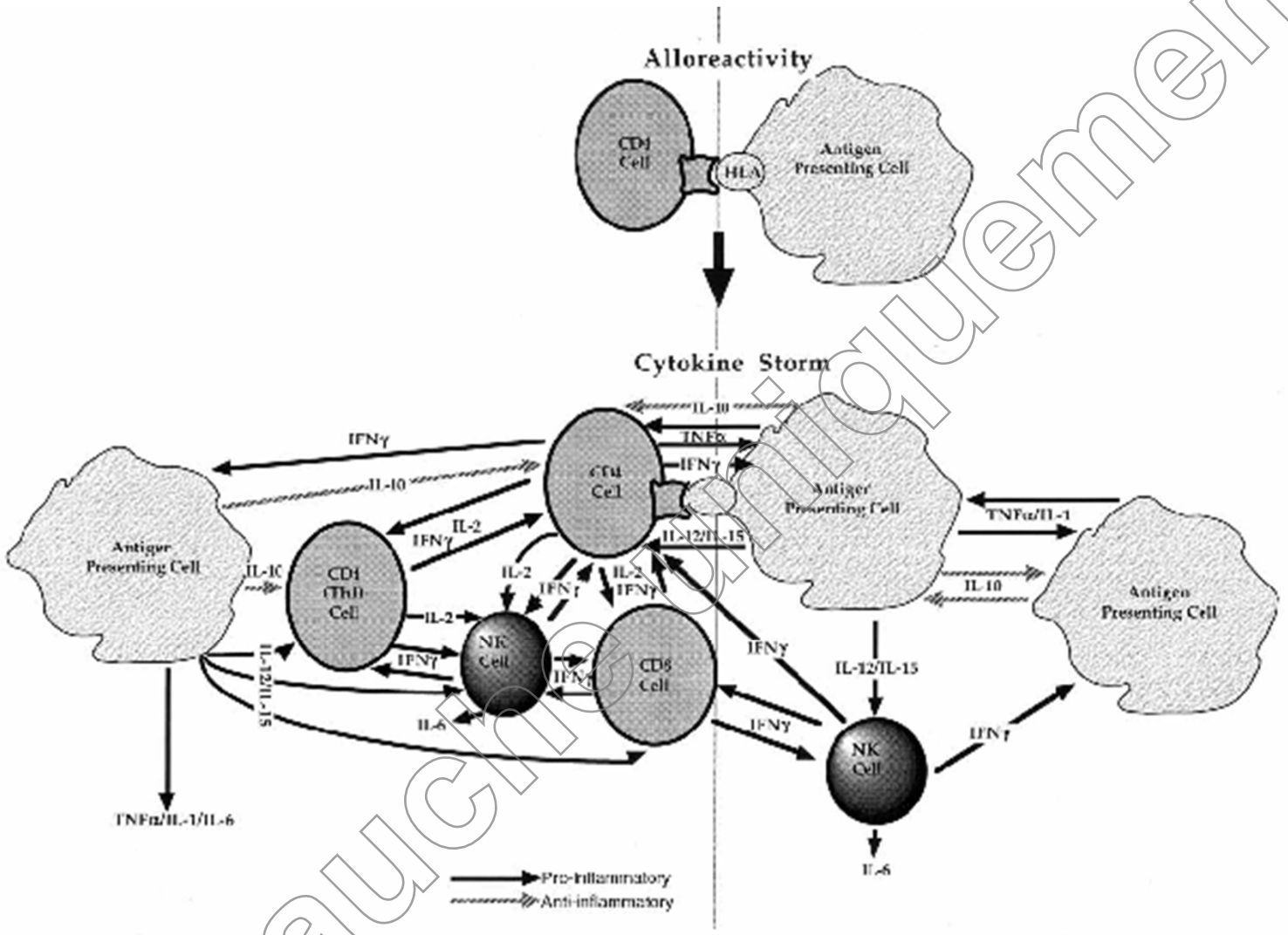
Prévention de la GvH

- Bonne compatibilité –CMH, mineurs, NK….
- Donneur et receveur HLA identiques 1er succès obtenu chez des jumeaux génétiquement identiques
- Compatibilité HLA est aussi nécessaire pour le fonctionnement du système immunitaire (Tc et cellules épithéliales)

Ébauche uniquement

Greffe

Receveur



Ébauche officiellement

Effet bénéfique de la Gvh : effet anti-leucémique

- Moelles déplétées en cellules T = Gvh ↘
- Mais nombre de rechutes ↗

- Effet des cellules T sur la tumeur amplifié par DLI

Ébauche uniquement