Les récepteurs de l'immunité innée

Dr. Isabelle CREMER
MCU Université Paris 6
U255 INSERM « Immunologie Cellulaire et Clinique »
Centre de Recherche Biomédicales des Cordeliers. Paris 6ème
Tél: 01 53 10 04 06
E-mail: isabelle.cremer@u255.bhdc.jussieu.fr

IF2005 IF-IIIa
Février 2005

Plan du cours

Introduction: Qu'est-ce-que l'immunité innée?

Les composants microbiens reconnus par les molécules de l'immunité innée

Virus, bactéries , mycobactéries, parasites, champignons, levures

Les familles de molécules ou de récepteurs de l'immunité innée

1. Les protéines de la phase aigüe
   - La CRP
   - Les collectines et les ficolines
2. Les lectines de type C
3. Les récepteurs « scavengers » (poubelles)
4. Les récepteurs du complément
5. Les récepteurs « Toll-like » = TLR
6. Les récepteurs intracellulaires (NOD)

Introduction

Qu'est-ce-que l'immunité innée?

Définition: L'immunité innée est un mécanisme de défense non spécifique contre les pathogènes et qui est utilisé par l'hôte immédiatement ou dans les quelques heures qui suivent l'exposition à un antigène.
La plupart des cellules du système immunitaire expriment des récepteurs appelés « **Pattern-Recognition Receptors »:PRR**.

Ces récepteurs reconnaissent des molécules aux motifs **structuraux très conservés** présents sur l'enveloppe des micro-organismes mais absents des cellules eucaryotes.

Ces structures reconnues sont appelées « **Pathogen-Associated Molecular Patterns »:PAMPs.**

Comparaison entre immunité innée et adaptative

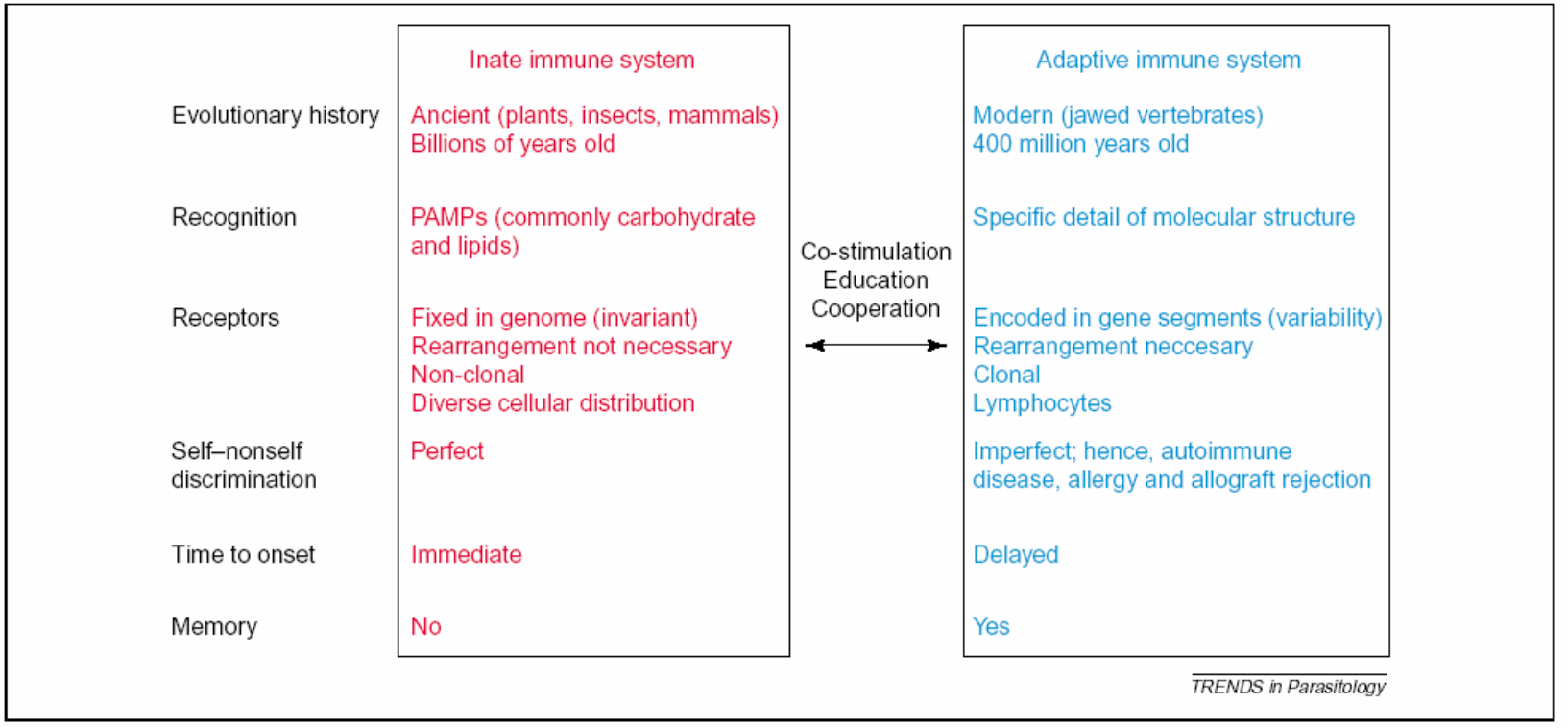


Fig. 1. Essential features of the innate and adaptive immune responses. Although differences between innate and adaptive immunity can be conveniently boxed, their mutual co-evolution means that they are functionally dependent on each other for optimal antiparasite responses. This figure is adapted from Ref. [1]. Abbreviation: PAMPs, pathogen-associated molecular patterns.

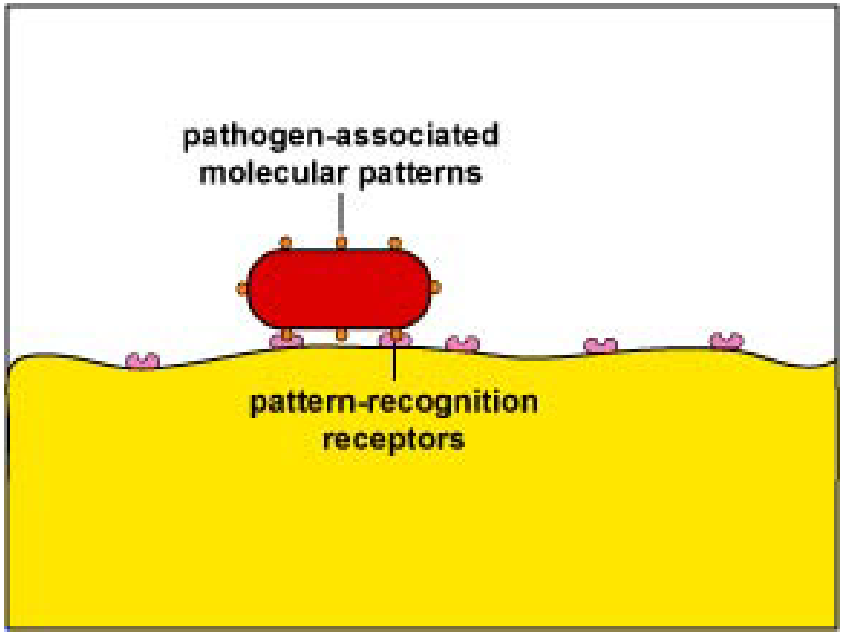
D'après McGuinness D.H. *et al*. 2003. Trends in Parsitology 19:312

Cellules et protéines impliquées

La réponse immunitaire innée implique:

- les cellules phagocytaires (neutrophiles, monocytes et macrophages);
- les cellules qui sécrètent des médiateurs inflammatoires (basophiles, éosinophiles et mastocytes);
- les cellules « natural killer »(NK);
- les molécules comme les protéines du complément, les protéines de la phase aigüe (protéines plasmatiques) et les cytokines pro-inflammatoires.

Reconnaissance des PAMPs par les PRR



1) Reconnaissance TLR-PAMPs
2) Activation des macrophages et autres leucocytes
3) Sécrétion des cytokines pro-inflammatoires: TNF-alpha, l'Il-1 et l'Il-6.

Les composants microbiens reconnus

Les PAMPs

Les PAMPs ont 3 caractérisques communes qui font d'eux des cibles idéales pour l'immunité innée:

1) Ils sont produits uniquement par les micro-organismes, et pas par les cellules du soi. Ceci permet une distinction entre le « soi » et le « non soi » infectieux

2) Ils sont invariants entre les micro-organismes d'une classe donnée. Ceci permet qu'un nombre limité de « PRR » détecte la présence d'une infection microbienne. (exemple: le lipide A du LPS étant très conservé, toutes les bactéries Gram- seront détectées)

3) Ils sont essentiels pour la survie des micro-organismes. Des mutations ou la perte d'un PAMP sont létales, ou diminuent leur capacité d 'adaptation; des mutants d'échappement à la réponse immunitaire ne pourront être générés.

Les PAMPs

Les PAMPs sont:

- le LPS de la paroi des bactéries Gram -,
- le peptidoglycane et l'acide lipotéichoïque de la paroi des bactéries Gram +
- le sucre mannose (commun dans les glycolipides et les glycoprotéines microbiens mis rares dans les cellules humaines)
- le N-formylméthionine trouvé dans les protéines bactériennes
- l'ARN double brin des virus
- le β-glucane des parois fongiques
- les motifs CpG d'ADN bactérien
- la flageline, la piline
- les lipoprotéines

Les PAMPs peuvent également être reconnus par des **récepteurs solubles** circulant dans le sang qui fonctionnent comme des opsonines et initient les voies d'activation du complément.

Il est supposé que le système de l'immunité innée peut reconnaître environ 10^3 sructures moléculaires différentes.

Les PAMPs:questions

- La reconnaissance des PAMPs est un système très ancien. La plupart d'entre eux sont également reconnus par les plantes et les invertébrés.

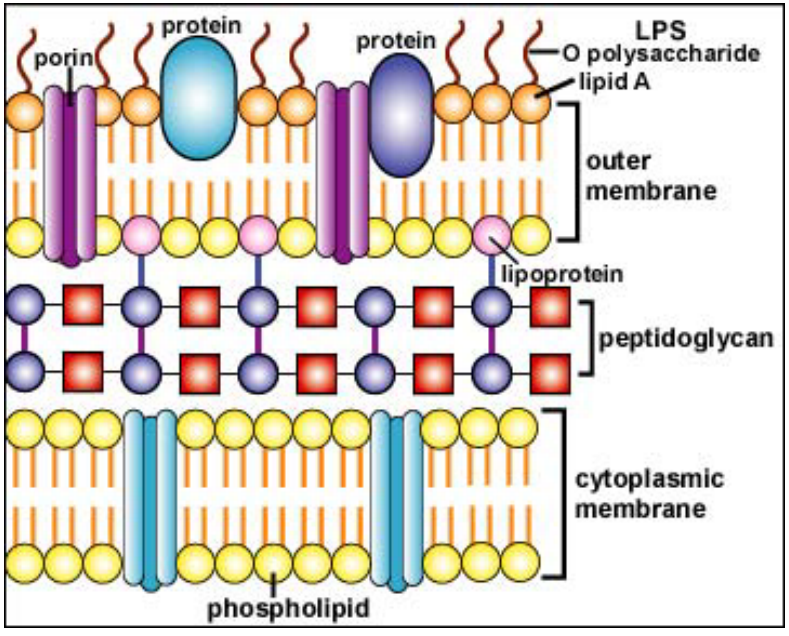
- Les PAMPs ne sont pas spécifiques des micro-organismes pathogènes, ils sont également produits par les micro-organismes non-pathogènes (commensaux).
En conséquence, les PRR ne peuvent pas distinguer entre les micro-organismes pathogènes et commensaux.

-Or, l'organisme est en contact constant avec une micro-flore commensale, sans qu'il n'y ait d'inflammation continue, ce qui serait létal pour l'organisme hôte.

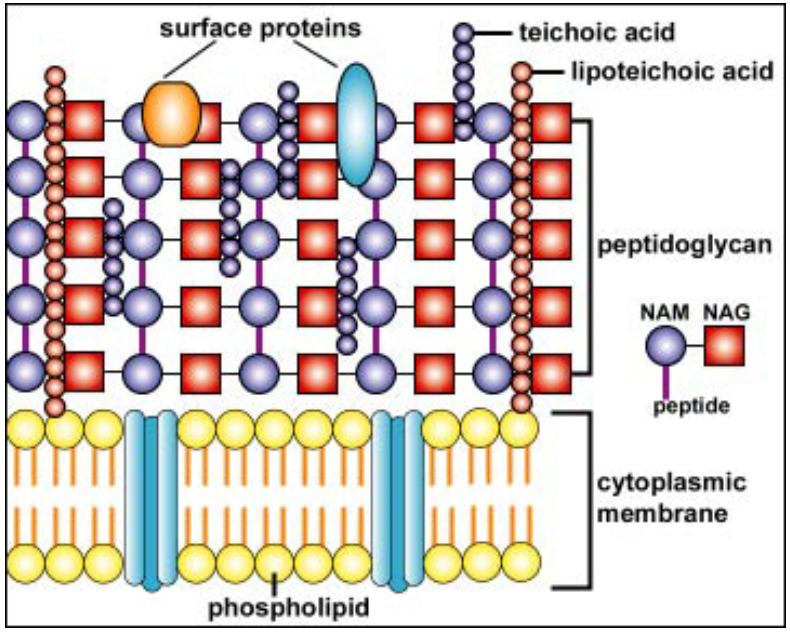
-Les mécanismes qui permettent la discrimination entre PAMPs des micro-organismes pathogènes ne sont pas connus, pas plus que les mécanismes permettant la tolérance des micro-organismes non pathogènes (hypothèses étudiées: compartimentalisation, cytokines anti-inflammatoires dites « tolérogènes » comme le TGF-β et l'IL-10).

Paroi des bactéries

Gram -

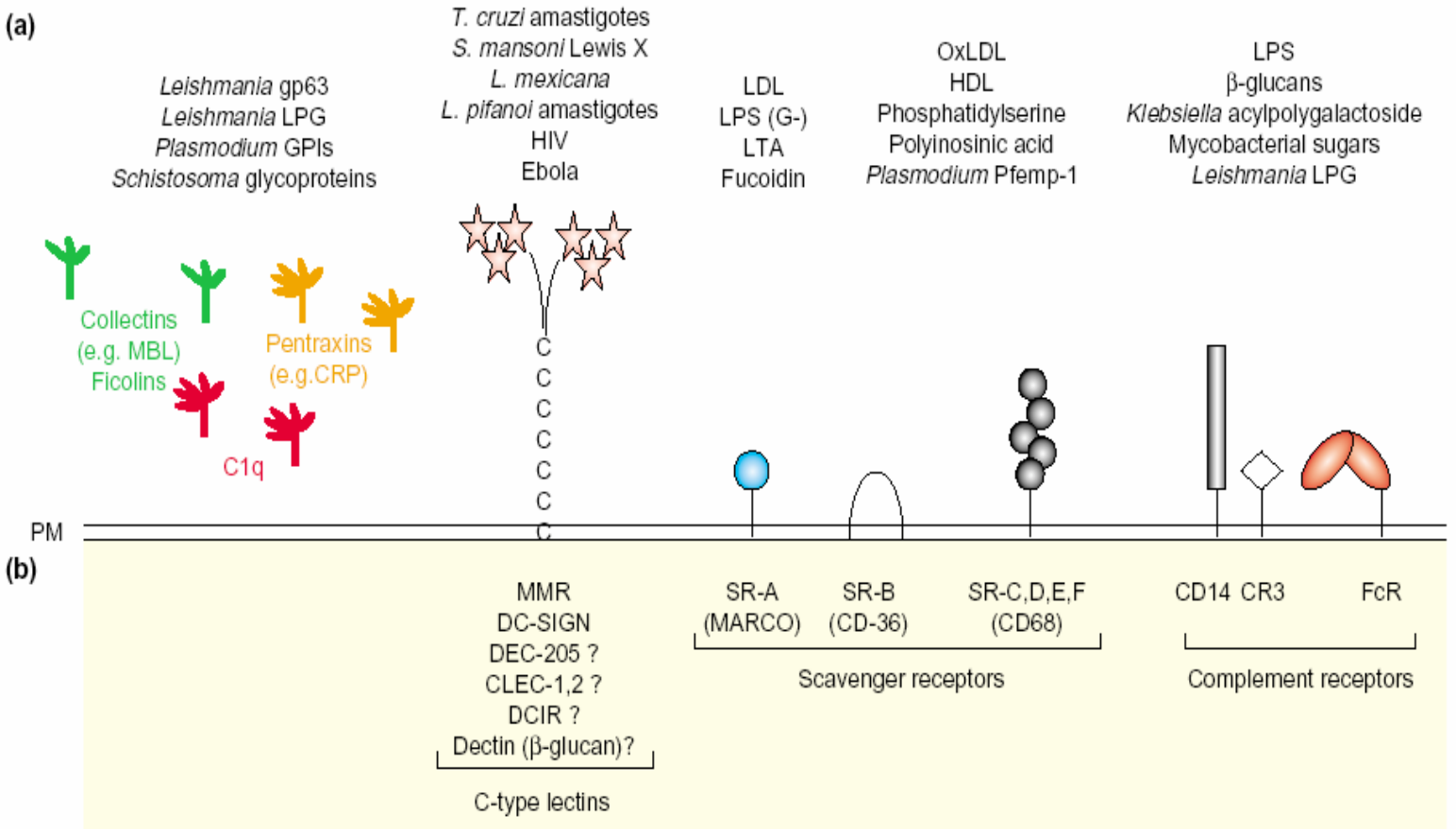


Gram +



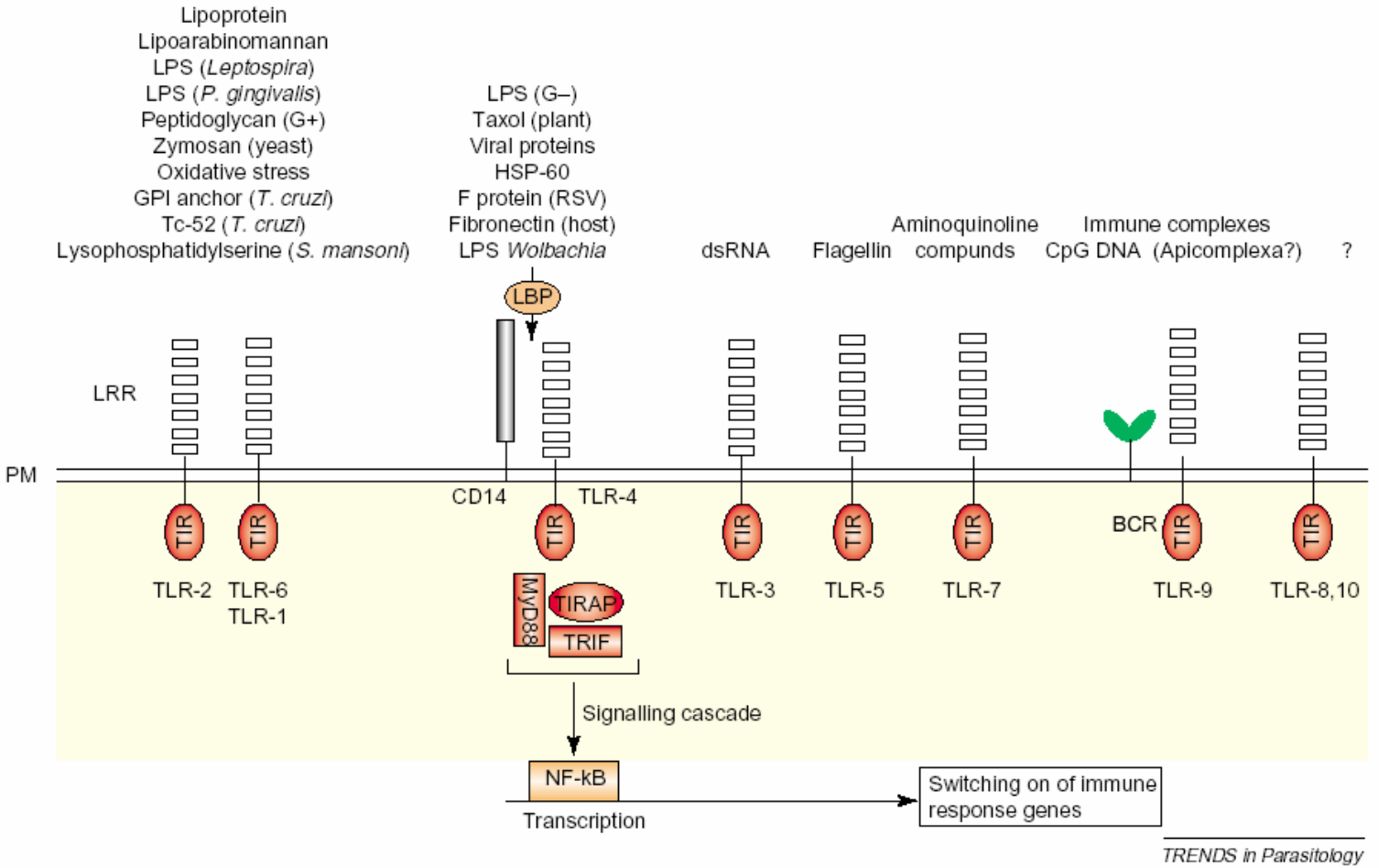
Les familles de molécules et de récepteurs de l'immunité innée

Les récepteurs de l'immunité innée (1)

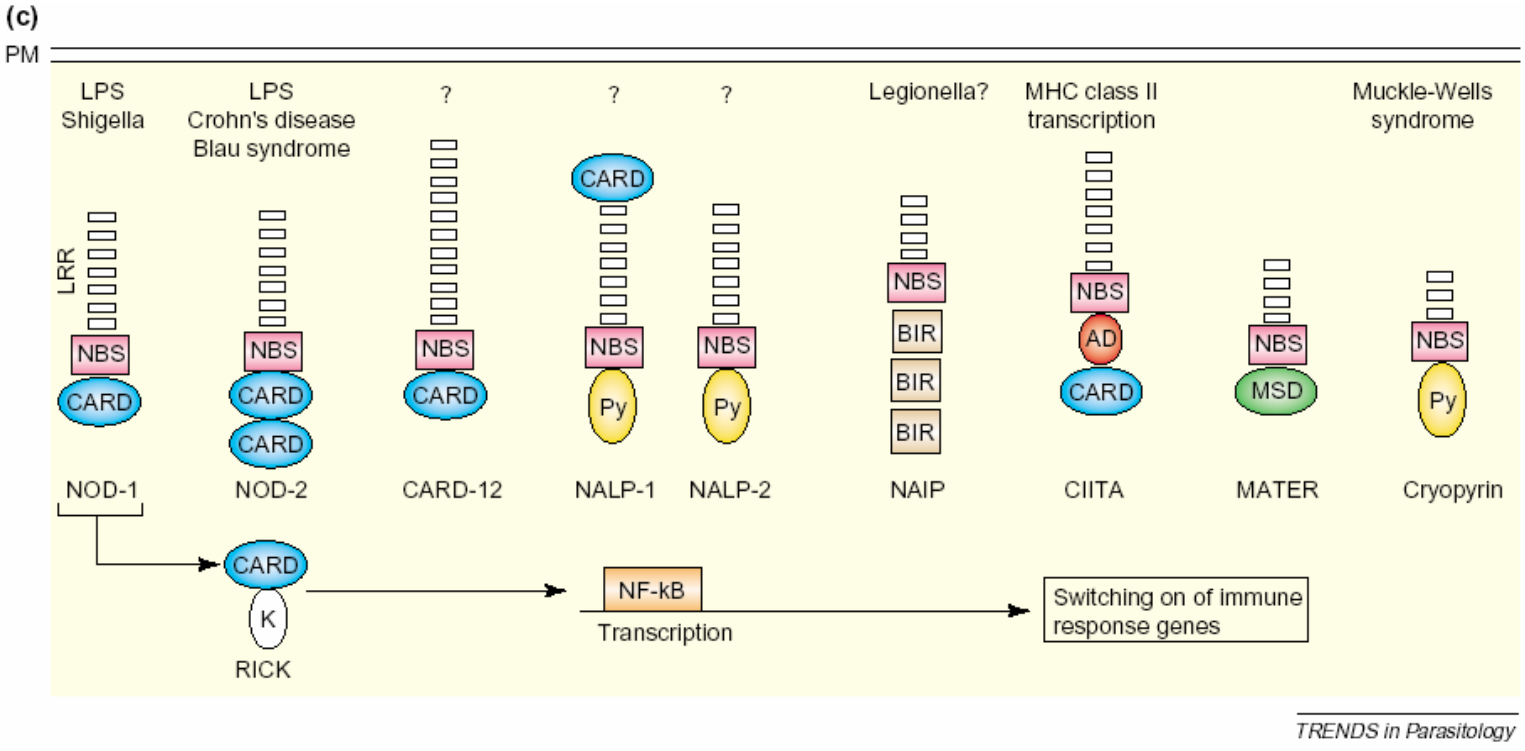


D'après McGuinness D.H. *et al*. 2003. Trends in Parsitology 19:312

Les récepteurs de l'immunité innée (2)



Les récepteurs de l'immunité innée (3)



1. Les protéines de la phase aigüe

Définition Protéines plasmatiques dont la concentration est augmentée (x 1000) par les cytokines pro-inflammatoires.

Les cytokines pro-inflammatoires stimulent les hépatocytes qui synthétisent et sécrètent les **protéines de la phase aigüe**. Cette réponse est la première défense du système immunitaire et permet la reconnaissance de substances étrangères.

Les protéines importantes sont - la protéine C réactive (CRP),
- les collectines (dont la protéine de liaison du mannose, MBP).
- les ficolines

Elles fonctionnent comme des **PRR solubles**.

La CRP

La CRP se lie aux phospholipides membranaires microbiens. Elle fonctionne comme une opsonine, collant les microorganismes aux phagocytes, et active la voie classique du complément (voir cours complément).

La CRP est formée de 5 sous-unités polypeptidiques identiques groupées autour d'un site de fixation du calcium, pour former la **pentraxine**.

Les collectines et les ficolines

-Protéines plasmatiques qui lient les résidus carbohydrates présents à la surface des bactéries et des virus, et **activent la phagocytose**.

-Elles ont des structures similaires:

Elles sont formées de sous-unités trimériques contenant des régions « collagen-like » et des domaines C-terminaux globulaires. Ces domaines sont des domaines de lectines de type C pour les collectines et des domaines « fibrinogen-like » pour les ficolines.

Elles fonctionnent comme des opsonines, collant les microorganismes aux phagocytes, et activent le complément par la voie des lectines. Les produits issus de la voie d'activation du complément, en réponse induisent l'inflammation, la cytolyse par les macrophages et attirent les phagocytes.

Structure des collectines et des ficolines

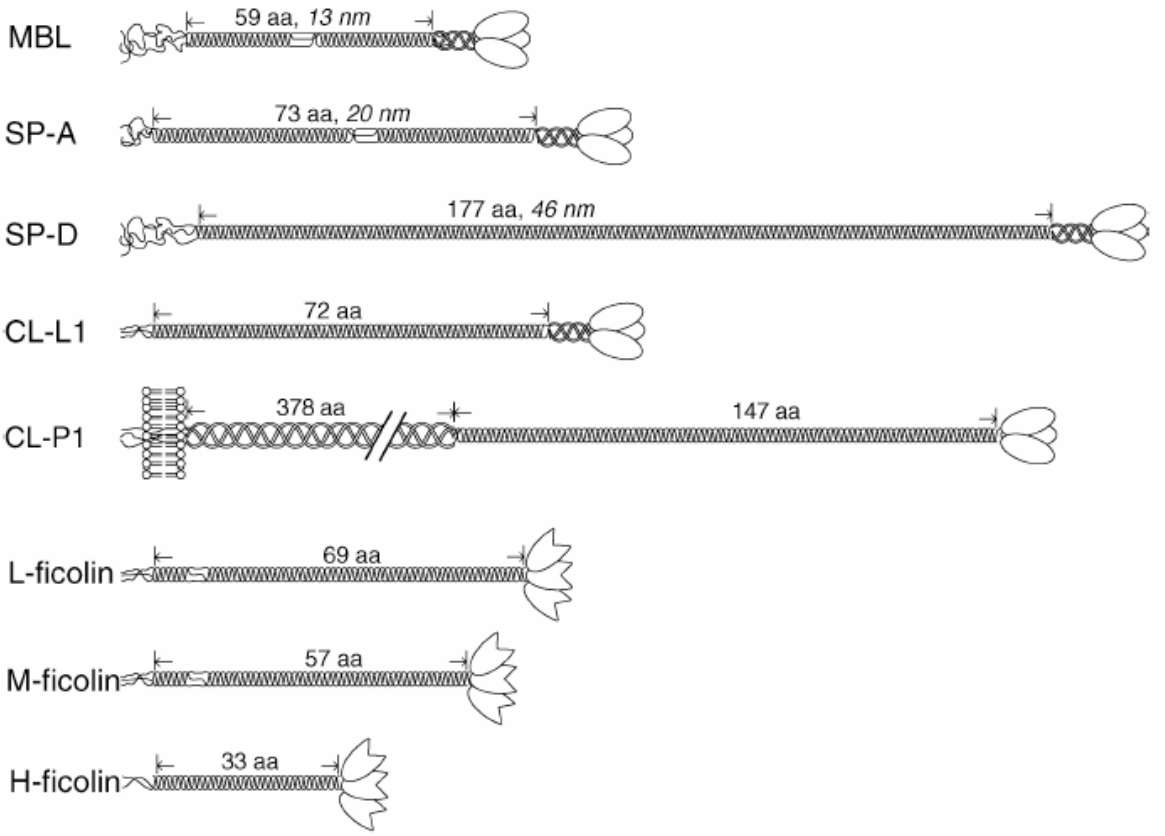


Figure 2 The subunit structures of collectins and ficolins. The molecules are drawn approximately to scale, except for CL-P1, which has a long α-helical coiled-coil next to the membrane. Interruptions in the collagen structures are indicated. [Modified from (6).]

D'après Holmskov U. *et al*. 2003. Annu. Rev. Immunol. 21:547

2. Les lectines de type C

Famille de protéines qui lient des résidus glucidiques spécifiques sur des glycoprotéines ou des glycolipides. Certaines lectines comme la PHA ou la conA sont mitogéniques.

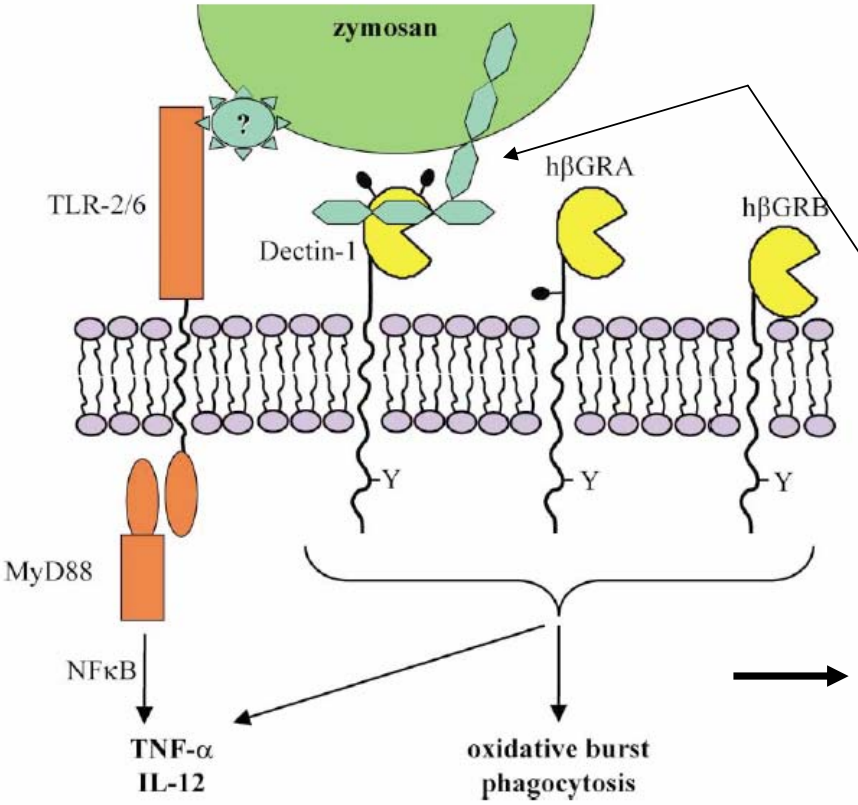
Les lectines de type C sont des lectines membranaires caractérisées par un domaine de reconnaissance des carbohydrates (**CRD** : « Carbohydrates Recognition Domain »).
Le CRD interagit avec des glycoprotéines possédant un mannose ou un galactose, et cette interaction est dépendante du Ca^{2+}.

Elle sont exprimées essentiellement par les macrophages et les cellules dendritiques. Elles induisent la **phagocytose** et la **présentation antigénique**.

Membres de cette famille:

- Dectine (récepteur au β-glucan)
- MMR « mannose macrophage receptor » (endocytose)
- DC-SIGN
- Dec 205 (endocytose)

Dectine (récepteur au β-glucane)



Zymosan: particule insoluble de la paroi des champignons dont le β-glucan est un des composants.

β-glucan: polymères de glucose composants majeurs de la paroi de la plupart des champignons, (certaines plantes et bactéries).

→ La dectine possède un motif ITAM dans sa partie cytoplasmique, qui est phosphorylé après fixation du β-glucan.

D'après Brown G. D. *et al*. 2003. Immunity 19:311

MMR « mannose macrophage receptor »

MMR: **Récepteur d'endocytose**. Contient plusieurs domaines de liaison des carbohydrates.

Il fixe des oligosaccharides avec différentes affinités:

mannose = fucose > Nacétylglucosamine = glucose.

Ces ligands sont présents sur des bactéries, champignons, cellules infectées par des virus et parasites.

Après fixation du ligand sur ce récepteur, le micro-organisme est phagocyté, et le récepteur recyclé à la surface cellulaire.

DC-SIGN

DC-SIGN: « Intracellular adhesion molecule (ICAM)-3-grabbing non-integrin receptor ».

- récepteur exprimé spécifiquement par les cellules dendritiques
- ligands: ICAM-2 exprimé par les cellules endothéliales
  ICAM-3 exprimé par les lymphocytes T naïfs
  Glycoprotéine d'enveloppe (gp120) du VIH
  Glycoprotéine B d'enveloppe du cytomégalovirus
  Lipoarabinomannan de *mycobactérium tuberculosis*

3. Les récepteurs « scavengers »

- Famille de 3 classes de récepteurs membranaires multi-domaines:
SR-A, SR-B et SR-C. Pas de structure commune aux 3 classes

-Liaison à des ligands polyanioniques et à des lipoprotéines de faible densité

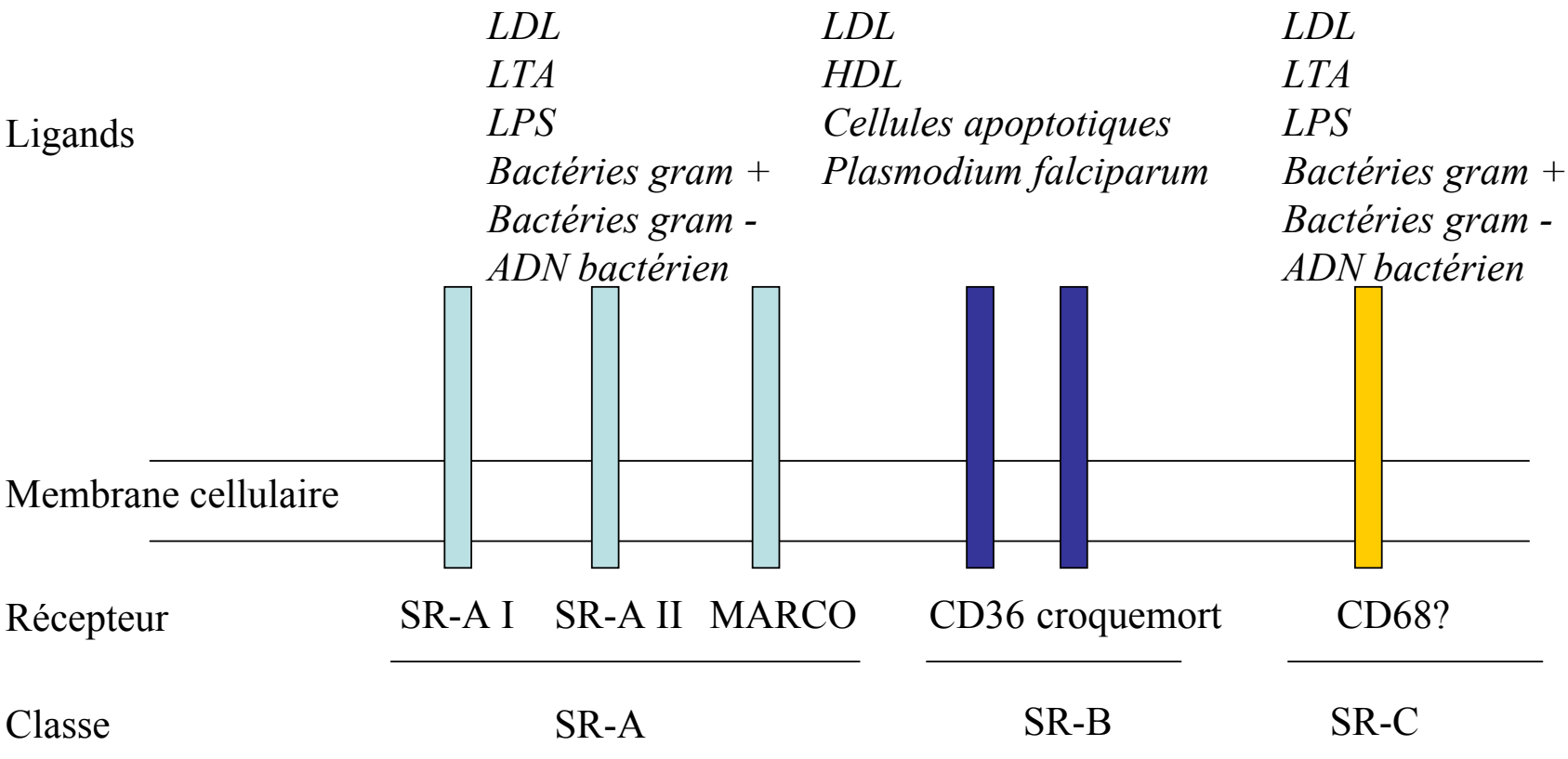
-Récepteurs exprimés par les cellules myéloïdes (macrophages et cellules dendritiques) et certaines cellules endothéliales

-Rôle dans la clearance des corps apoptotiques

-Rôle dans la fixation et la phagocytose des micro-organismes

-Rôle dans le métabolisme lipidique

SR-A, B et C


Ligands
LDL
LTA
LPS
Bactéries gram +
Bactéries gram -
ADN bactérien
LDL
HDL
Cellules apoptotiques
Plasmodium falciparum
LDL
LTA
LPS
Bactéries gram +
Bactéries gram -
ADN bactérien
Membrane cellulaire
Récepteur
SR-A I
SR-A II
MARCO
CD36 croquemort
CD68?
Classe
SR-A
SR-B
SR-C

4. Les récepteurs du complément

Récepteur	Ligand	Expression	Fonction
CR1/CD35	C3b,C4b	Macrophages, monocytes, polynucléaires Lymphocyte T et B	Phagocytose, clairance des complexes immuns,
CR2/CD21	C3d,C3dg	Lymphocyte B	Corécepteur de l'activation B, récepteur de l'EBV
CR3/Mac-1/ CD11b	C3bi, ICAM-1 Micro-organismes	Macrophages, monocytes, NK, neutrophiles	Phagocytose
CR4/CD11c	C3bi	Macrophages, monocytes, NK, neutrophiles	Phagocytose

5. Les récepteurs « Toll-like »

Toll est un gène de drosophile essentiel pour l'**ontogénèse** et la **résistance antimicrobiennne**.

Plusieurs homologues de *Toll* ont été identifiés et clonés dans les vertébrés et ont été nommés les « Toll-like receptors » (**TLR**).

La famille des récepteurs « Toll-like » comprend des protéines transmembranaires phylogénétiquement conservées qui sont essentielles pour l'immunité innée.

Caractéristiques des TLR

1) Les TLR sont une famille de récepteurs transmembranaires

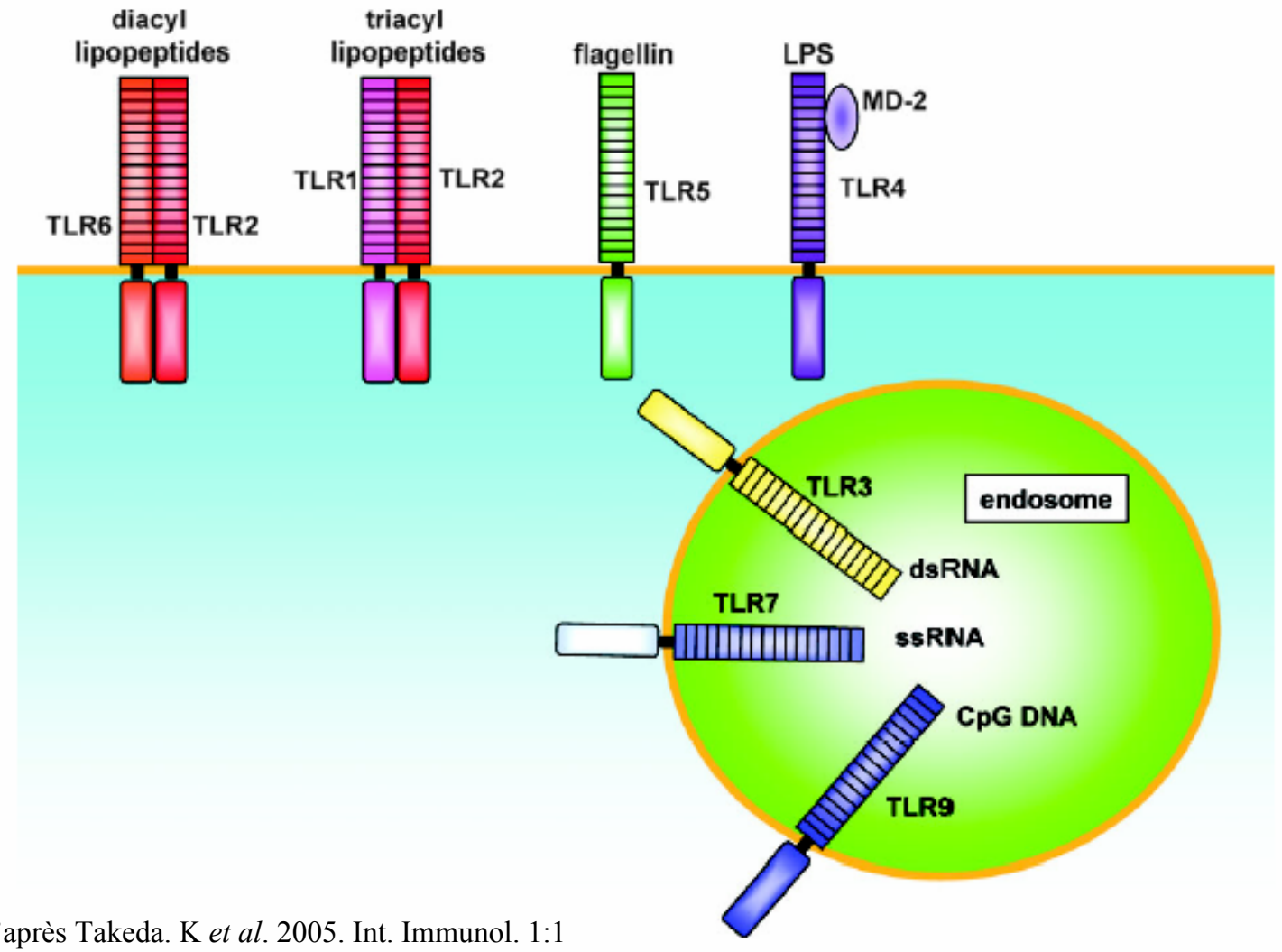
2) 11 récepteurs ont été identifiés chez les mammifères ayant des fonctions distinctes dans la reconnaissance des PAMPs

3) Les TLR reconnaissent souvent plusieurs ligands différents

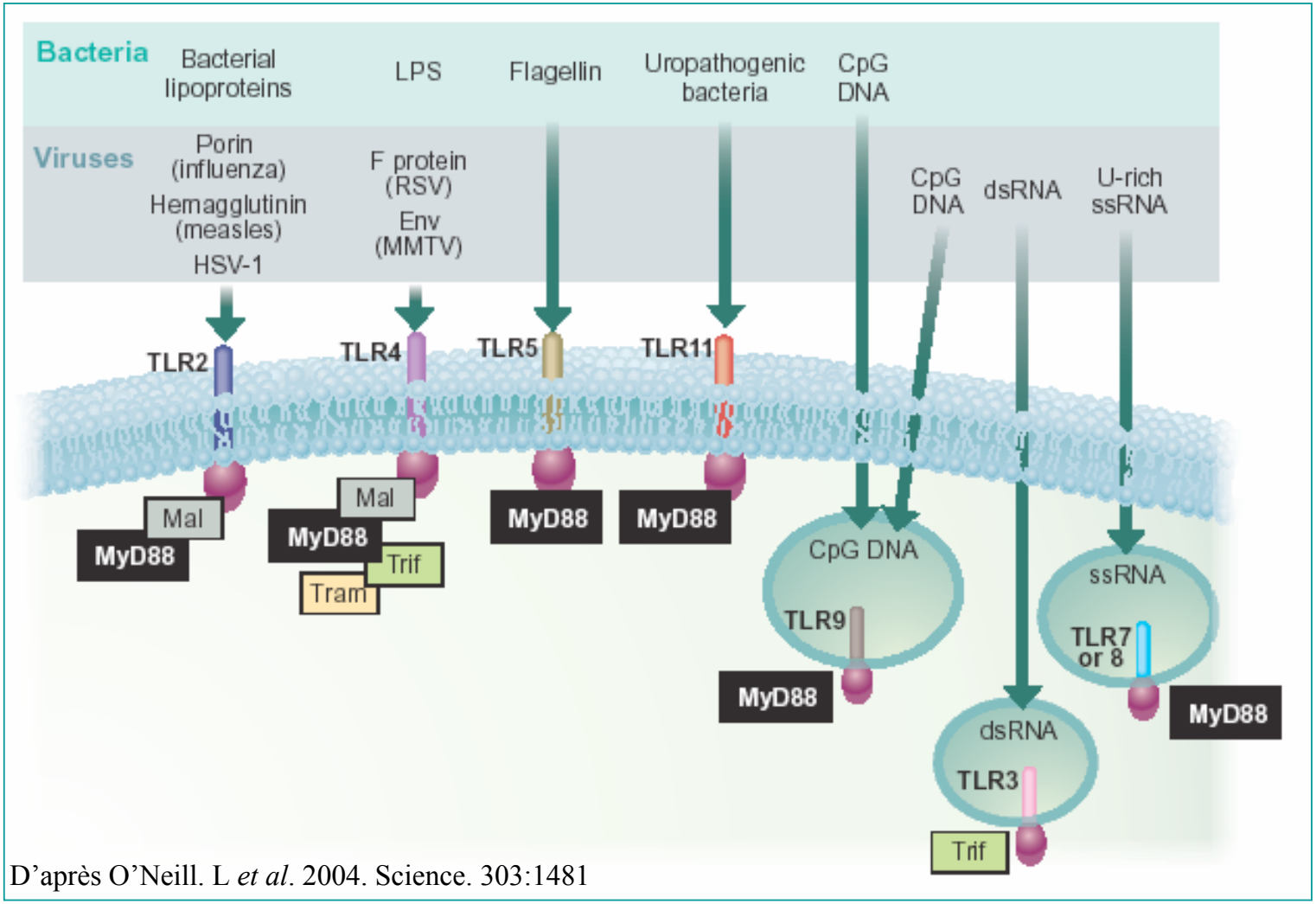
4) Certains ligands ne sont toujours pas identifiés

5) Certains TLR requièrent des protéines accessoires pour reconnaître leur ligand

Les TLR cellules de mammifères et leurs ligands

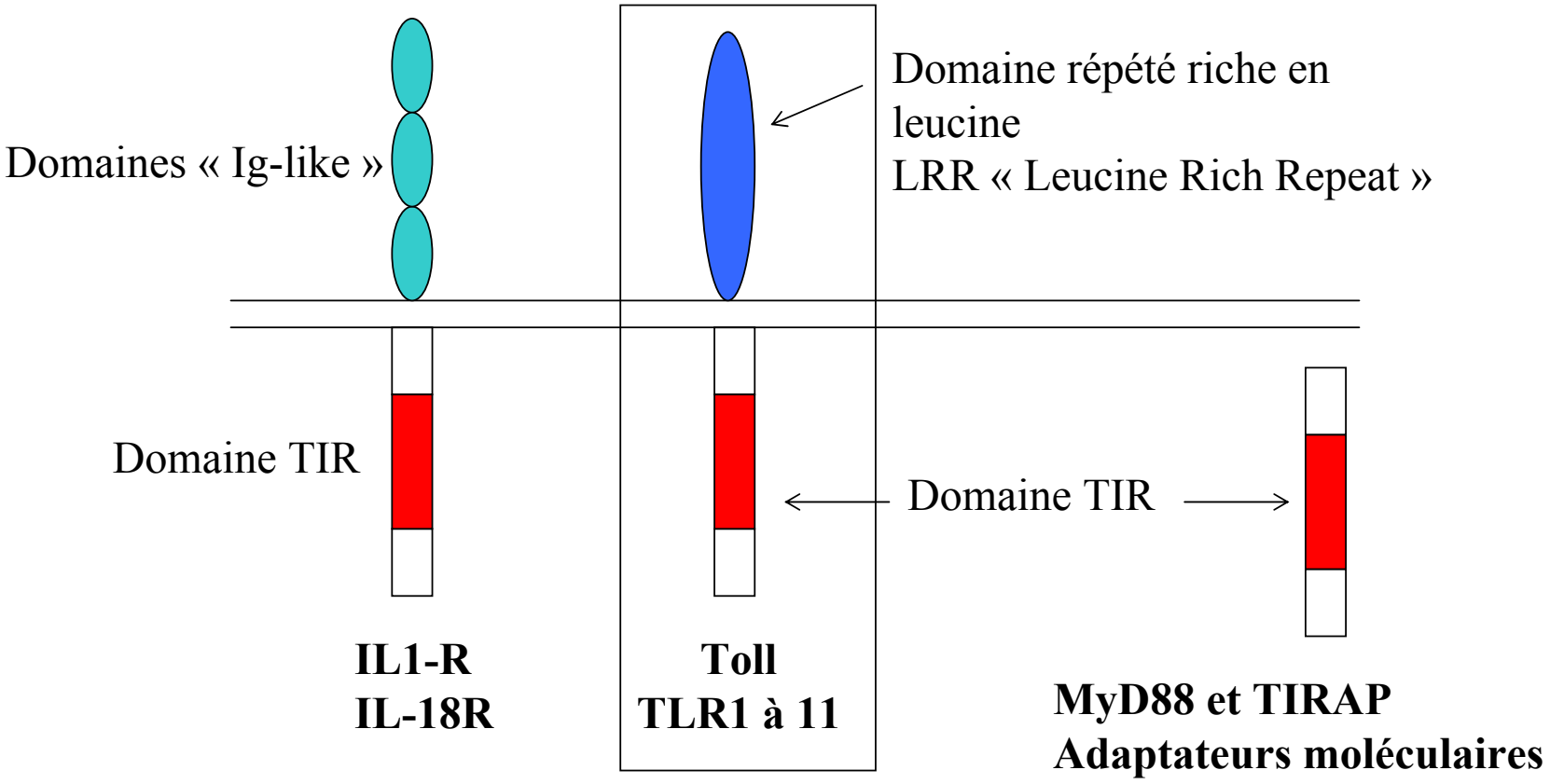


D'après Takeda. K *et al*. 2005. Int. Immunol. 1:1



D'après O'Neill. L *et al*. 2004. Science. 303:1481

Structure des récepteurs de la famille IL-1R/TLR



Domaine **TIR**: Toll/Interleukin-1R domain. Interaction homotypiques entre TLR et adaptateurs moléculaires contenant des domaines TIR

Transduction du signal

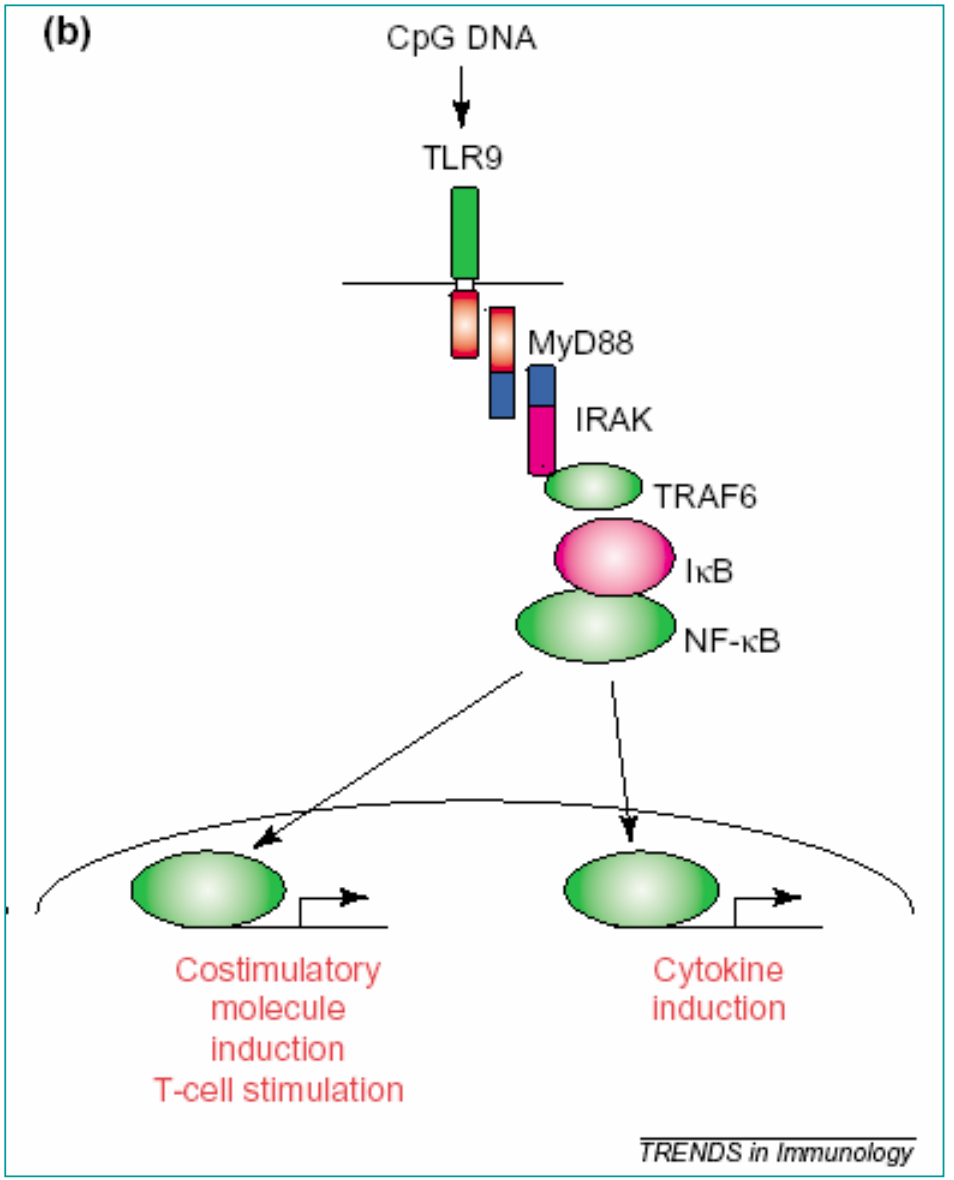
Structures conservées des pathogènes: PAMP

TLR

Cellule dendritique
Macrophage

Réponse immunitaire innée

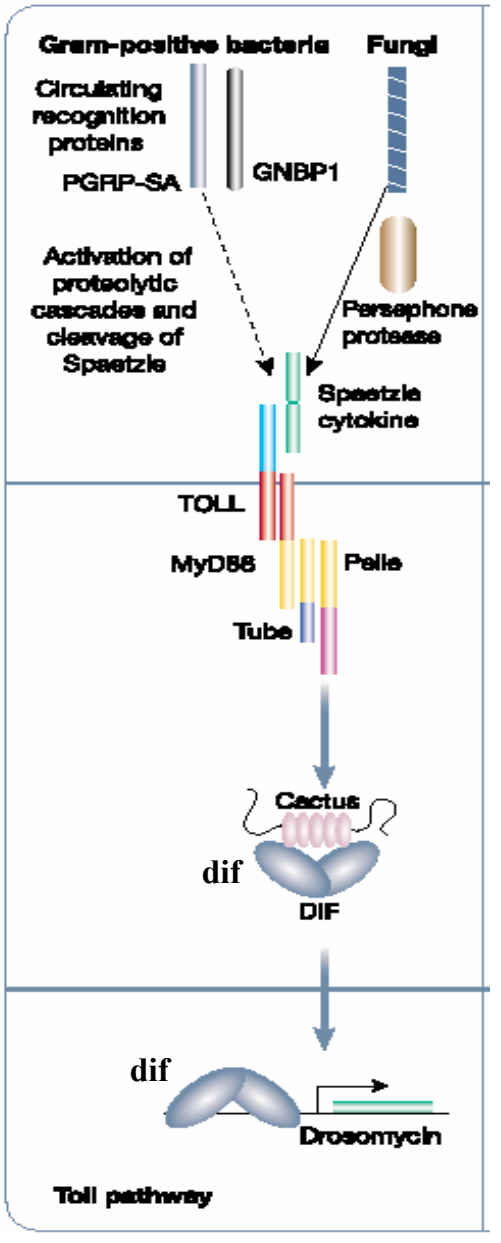
Production de:
-Cytokines inflammatoires
-Chimiokines
-IFN de type I



D'après Kaisho. T *et al*. 2001. Trends Immunol. 22:78

Le récepteur Toll chez la drosophile

Après fixation des ligands sur le récepteur Toll, la voie de transduction faisant intervenir l'adaptateur moléculaire MyD88 est activée, induisant la translocation de dif (*Drosophila* Immunity Factor) (famille des protéines NF-κB) dans le noyau et l'activation de la transcription de peptides antimicrobiens comme la drosomycine et la défensine.



D'après Hoffmann J.A. *et al*. 2003. Nature 426:33

Molécules impliquées dans les voies de signalisation des TLR

Adaptateurs moléculaires (domaine TIR):

MyD88: utilisé par tous les TLR
Trif = TICAM-1
TIRAP = MAL
TRAM

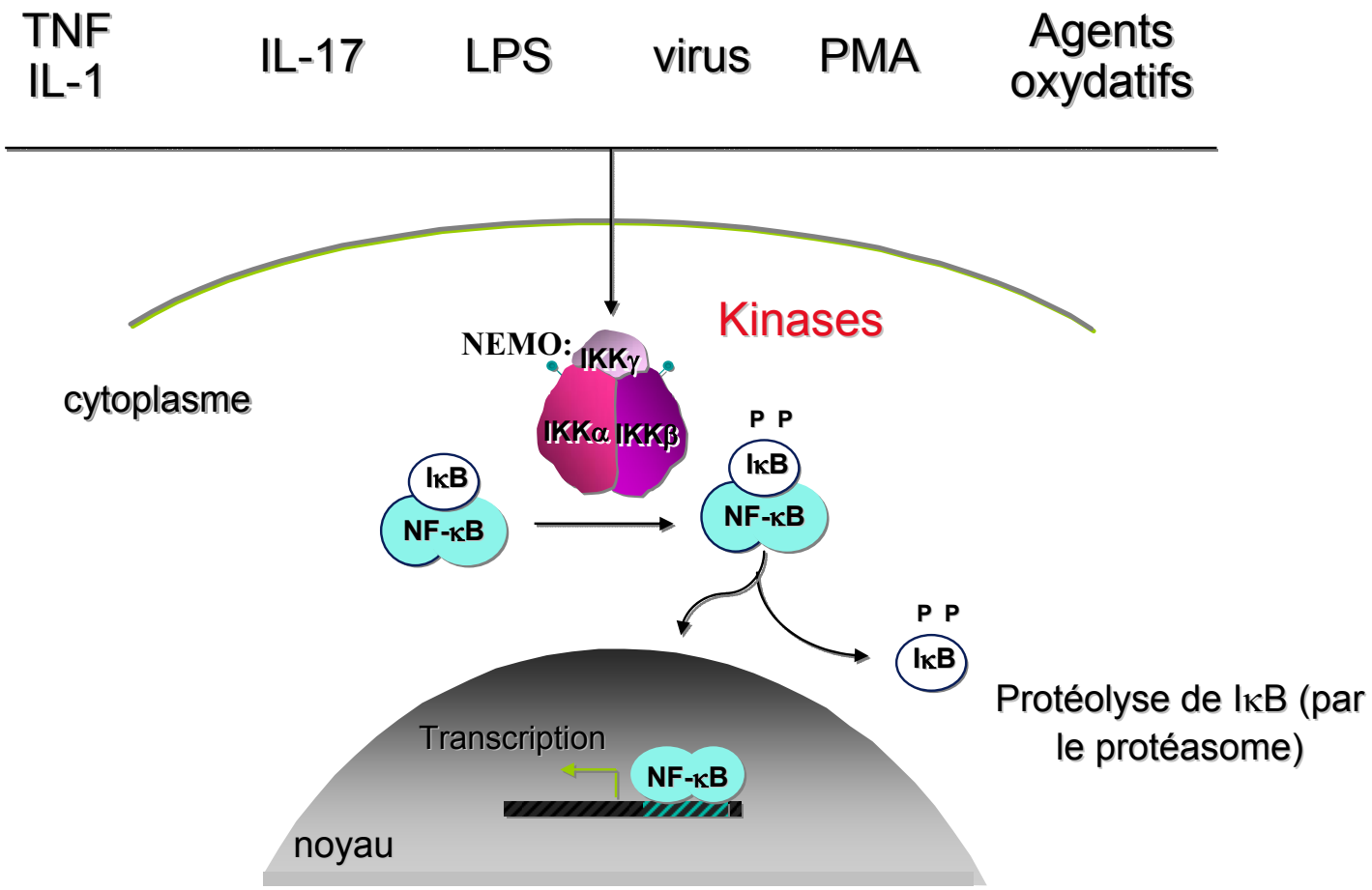
} Recrutement de combinaisons différentes d'adaptateurs moléculaires

Kinases:

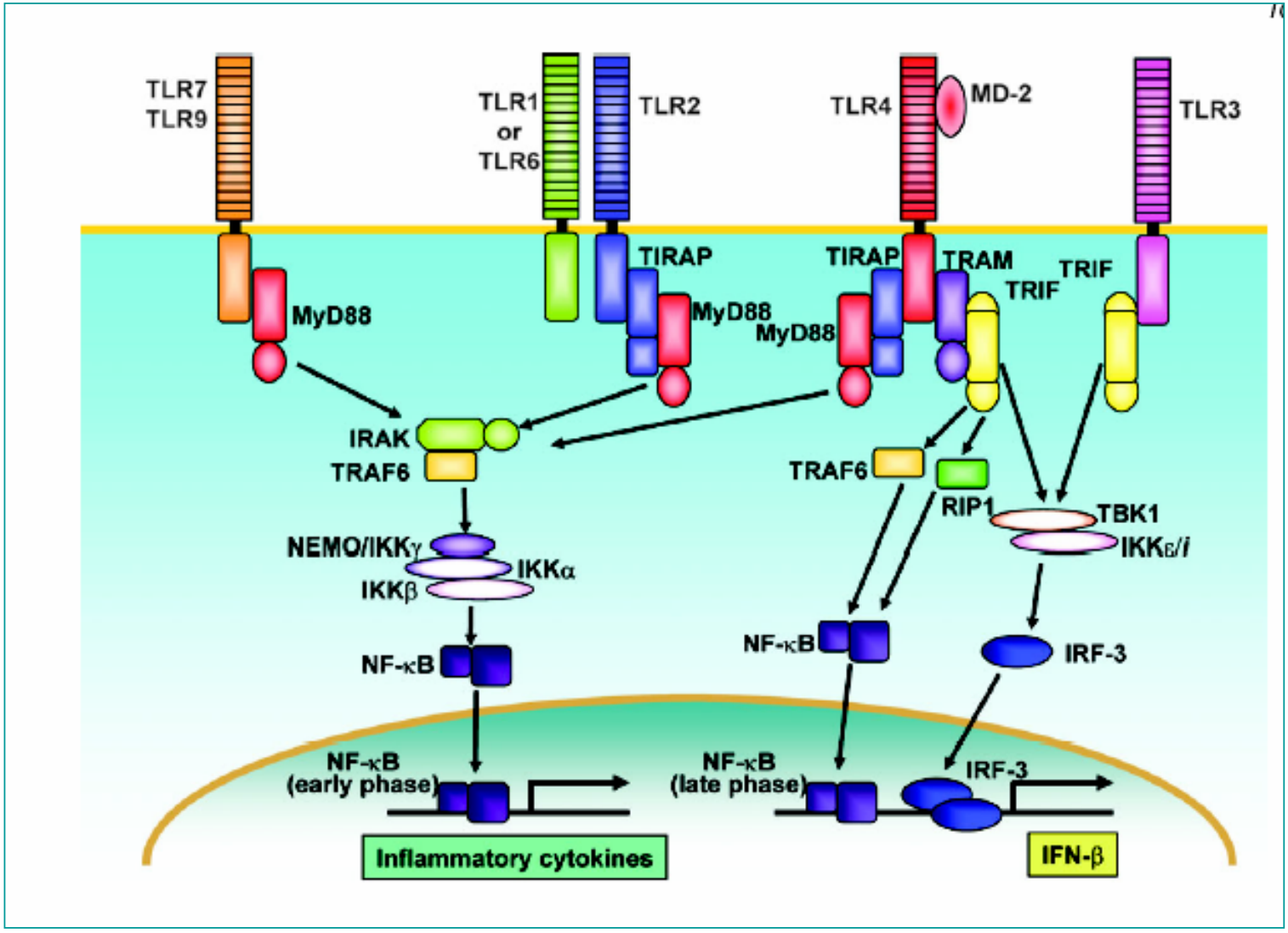
Famille de kinases IRAK (IL-1 Receptor Associated-Kinases): IRAK-1 et IRAK-4
Après phosphorylation, se dissocient des récepteurs et s 'associent à TRAF6
Activation de la kinase TAK-1 (TGF Activated Kinase) , et activation de NF-κB

TOLLIP: « Toll Interacting Protein » ,
TIRAP «: Toll/IL-1R domain-containing Adaptor Protein »
IRAK: IL-1R Associated-Kinase;protéine kinase
TRAF6: « TNFReceptor-Associated Factor 6 »
JNK: « c-Jun N terminal Kinase »
TAK1: «TGF Activated Kinase »
P38: MAP kinase

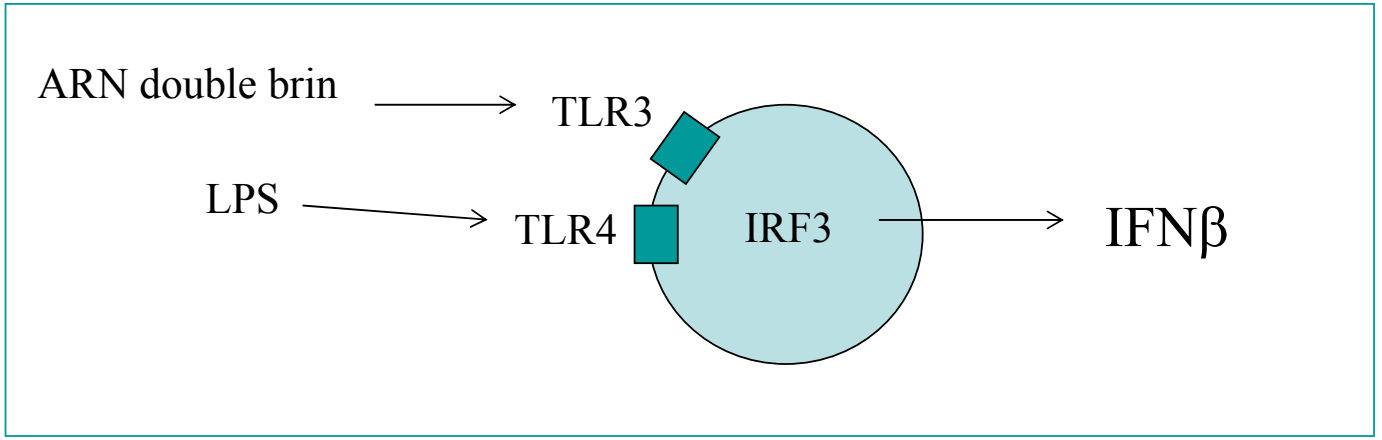
Activation de NF-kB



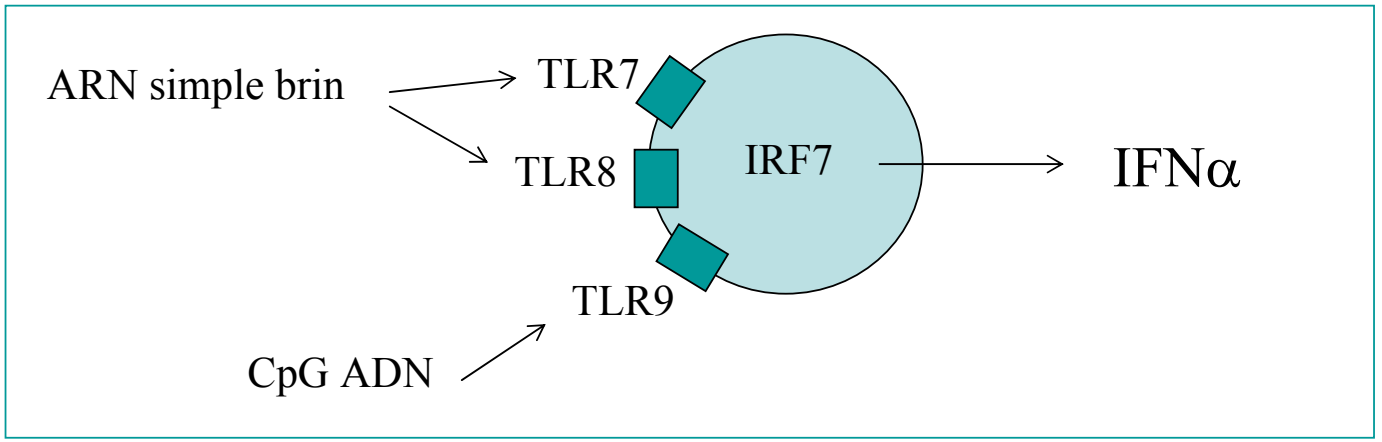
Les voies de transduction du signal par les TLR



D'après Takeda. K *et al*. 2005. Int. Immunol. 1:1



Activation IRF3 par kinase TBK-1, indépendante de MyD88, dépendante de Trif



MyD88 forme un complexe avec IRF7 et TRAF6 (mais pas avec IRF3)

TLR4

- 1er récepteur Toll caractérisé chez l'homme

- Exprimé par plusieurs types cellulaires dont les macrophages et les cellules dendritiques

-Fonctionne comme un récepteur de transduction du signal pour le LPS

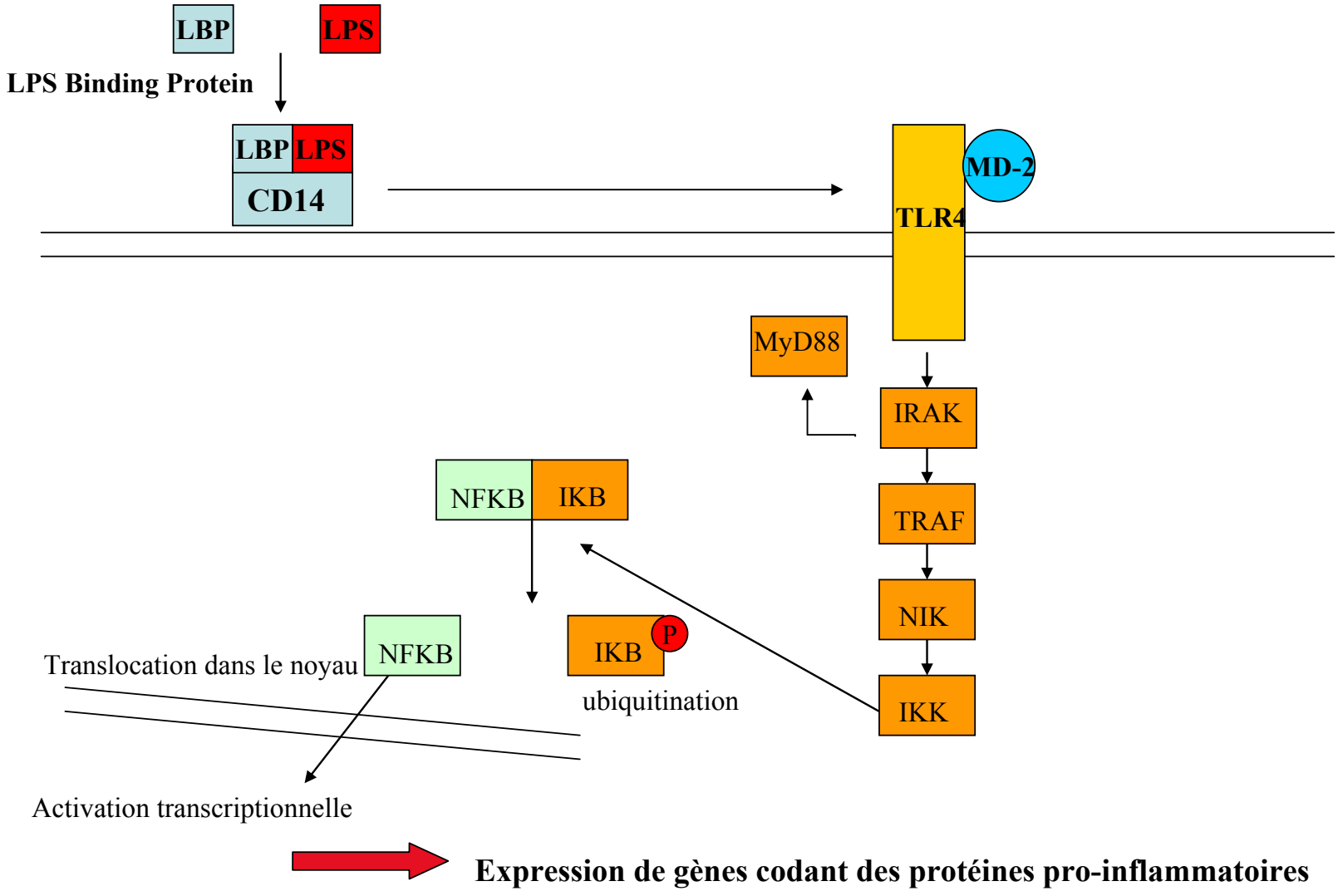
-Plusieurs molécules accessoires requises:

LBP (« LPS Binding Protein)

CD14 (récepteur de forte affinité pour le LPS) soluble ou ancré dans la membrane

MD-2: petite protéine dépourvue de région transmembranaire et exprimée à la surface cellulaire en association avec TLR4.

Activation des cellules phagocytaires par le LPS des bactéries Gram -



Mutations dans la voie de réponse au LPS

La mutation *lps* affecte le récepteur TLR4
Souris C3H/HeJ: mutation ponctuelle dans le domaine TIR du gène *TLR4*
Souris TLR4-/-
Souris CD14 -/-

⇒ Ces souris présentent une forte susceptibilité aux infections par les bactéries à gram négatif
Résistantes au LPS (absence de choc septique)

TLR2

- Particularité de reconnaître de nombreux PAMPs
  - peptidoglycane des bactéries Gram+
  - Lipoprotéines bactériennes
  - Lipoarabinomannan des mycobactéries
  - Glycosylphosphatidylinositol de *Trypanosoma Cruzii*
  - Zymosan

-TLR2 coopère avec au moins 2 autres TLR: TLR1 et TLR6

- L'hétérodimérisation TLR2/TLR1 et TLR2/TLR6 oriente une spécificité de reconnaissance des ligands

Les récepteurs TLR2 et TLR4 permettent de discriminer entre les infections bactériennes à Gram- et à Gram+

	Réponse au		Susceptibilité accrue aux infections bactériennes
	LPS	PG	
TLR4-/-	non	normal	Gram-
TLR2-/-	normal	non	Gram+
MyD88-/-	non	non	Gram- et Gram+
+/+	normal	normal	non

TLR9

- Particularité de reconnaître des séquences d'ADN bactérien contenant des dinucléotides CpG hypo- méthylés. Ces séquences sont abondantes dans l'ADN bactérien, et peu fréquentes dans l'ADN des vertébrés.

- Les séquences CpG hypo-méthylées ont des propriétés immunostimulantes.

- La signalisation par le CpG nécessite son internalisation dans des endosomes tardifs ou dans des compartiments lysosomaux.

Les TLR et le contrôle de l'immunité adaptative

- Les cellules professionnelles présentatrices d'antigène (CPA) sont les cellules dendritiques

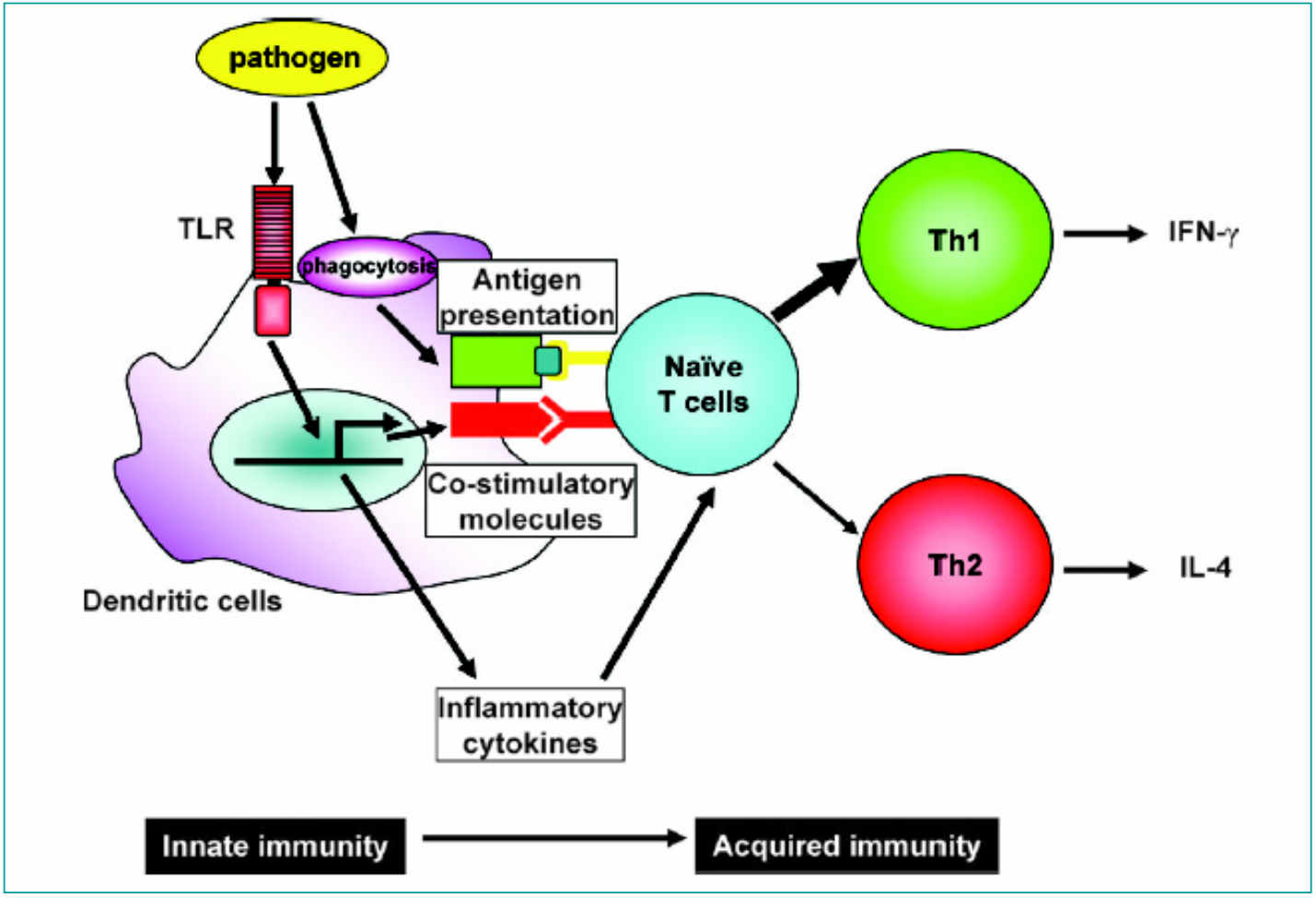
- Elles expriment des PRR et notamment des TLR

- Ces cellules ont un rôle majeur de couplage entre l'immunité innée et adaptative

- Les cellules dendritiques immatures localisées dans les tissus (en périphérie), qui sont les portes d'entrée des micro-organismes

- Après entrée d'un pathogène dans l'organisme, il y a une reconnaissance des PAMPs par les récepteurs des cellules dendritiques, ce qui induit leur maturation

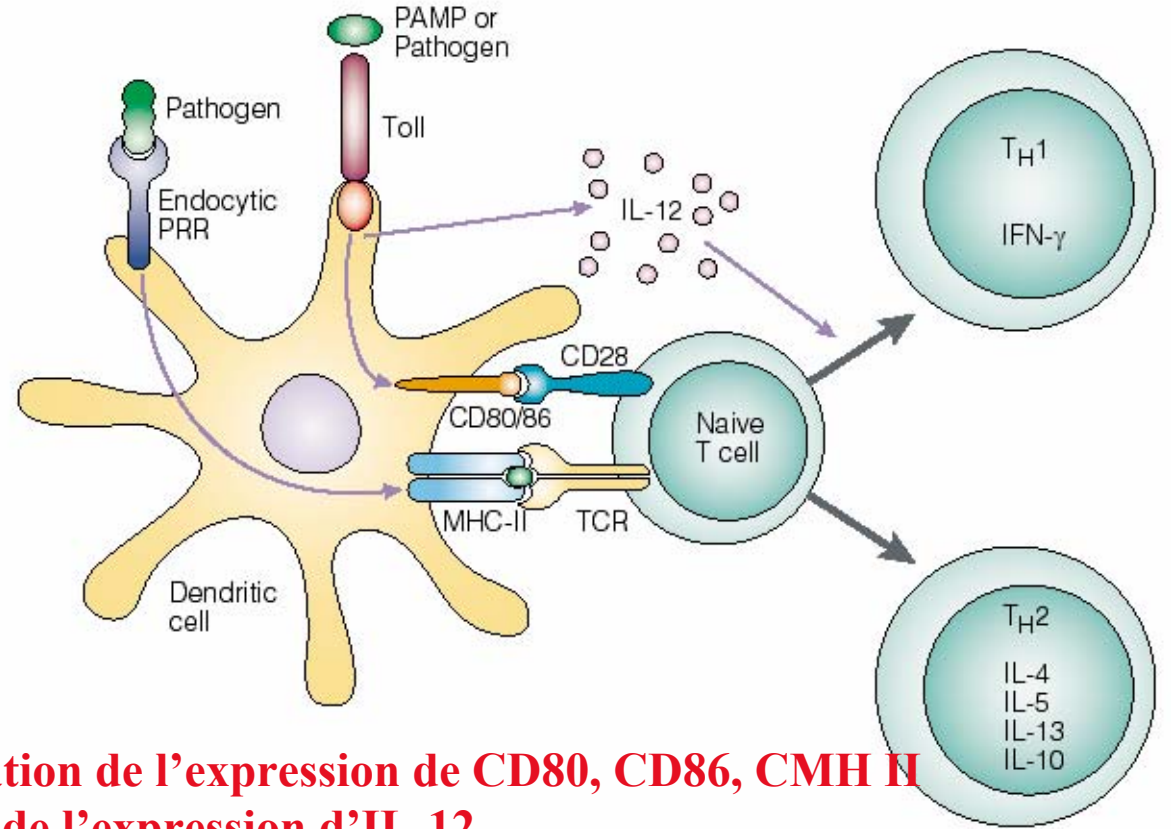
- Les cellules dendritiques matures expriment fortement les molécules de co-stimulation (CD40, CD80 et CD86) et migrent vers les organes lymphoïdes secondaires, où elles vont présenter les antigènes dérivant des pathogènes aux lymphocytes T naïfs, et les activer.



-Reconnaissance PAMP/Cellules dendritiques par TLR --> induit expression de molécules de costimulation par les DC et production de d'IFN de type I et de cytokines pro-inflammatoires
-Phagocytose
-Présentation des peptides antigéniques aux T naïfs.
-==> Développement immunité adaptative

D'après Takeda. K *et al*. 2005. Int. Immunol. 1:1

Rôle des TLR dans le contrôle de l'immunité adaptative

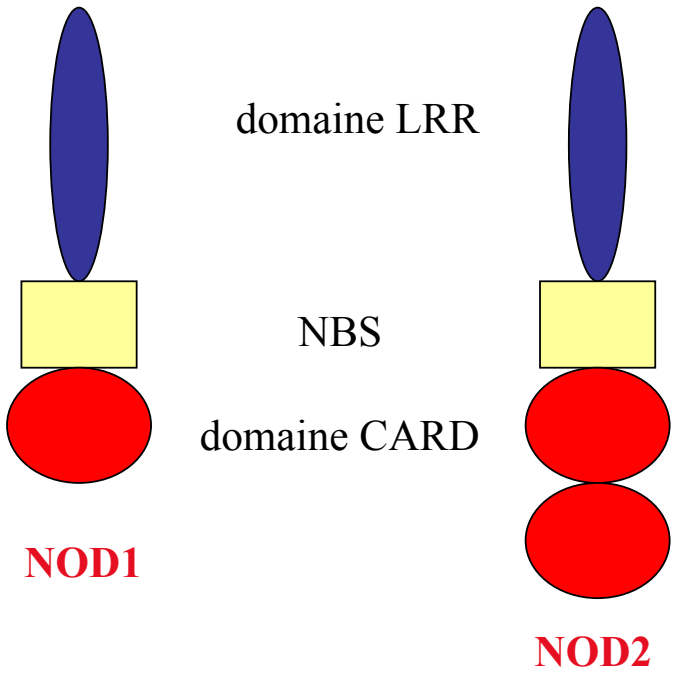


Augmentation de l'expression de CD80, CD86, CMH II
Induction de l'expression d'IL-12

D'après Medzhitov R. *et al*. 2001. Nature Rev. Immunol. 1:135

6. Les récepteurs NODs intracellulaires

NODs :« Nucleotide-binding Oligomerization Domain proteins »
Récemment caractérisés (2002), ils reconnaissent des PAMPs intracellulaires



NBS: « Nucleotide-binding site »

CARD: « Caspase recruitment Domain »

NOD-1 et NOD-2 activent NF-κB, après interaction avec la protéine kinase RICK (interaction par les domaines CARD).

Les récepteurs NODs intracellulaires

- Les gènes NOD, comme les TLR sont très anciens (ont été conservés au cours de l'évolution), et sont retrouvés dans des organismes divers incluant les plantes, les insectes et les mammifères.

-Chez l'homme, 8 membres de la famille des protéines NODs ont été identifiés.

-Pour la majorité des récepteurs NODs, les ligands ne sont pas connus.

-NOD-1 et NOD-2 sont exprimés par les cellules épithéliales et reconnaissent le peptidoglycane des bactéries à Gram-

Résumé. Familles de récepteurs

Table 1 | **Pattern-recognition receptors**

PRR	Protein/domain family	Ligands	Function	References
Secreted PRRs				
MBL	C-type lectin	Terminal mannose residues	Activation of the lectin pathway of complement	102
CRP, SAP	Pentraxins	Phosphorylcholine on microbial membranes	Opsonization, activation of classical complement pathway	103,104
LBP	Lipid-transfer protein family	LPS	LPS recognition	41
Cell-surface PRRs				
CD14	Leucine-rich repeats	LPS, peptidoglycan	Co-receptor for TLRs	42
Macrophage mannose receptor	C-type lectin	Terminal mannose residues	Phagocytosis	105
Macrophage scavenger receptor	Scavenger receptor cysteine-rich domain	LPS, dsRNA, oxidized LDL, anionic polymers	Phagocytosis, LPS clearance, and lipid homeostasis	106
MARCO	Scavenger receptor cysteine-rich domain	Bacterial cell walls	Phagocytosis	107
Intracellular PRRs				
PKR	dsRNA-binding domain, protein kinase domain	dsRNA	Activation NF-κB and MAP kinases; inhibition of translation and induction of apoptosis in virally infected and stressed cells	74
NODs	Leucine-rich repeats, Nucleotide-binding domain, CARD domain	Ligands for most NOD proteins are unknown. NOD1 and NOD2 were shown to recognize LPS	Activates NF-κB and MAP kinases; some family members may be involved in the induction of apoptosis. The exact function is unknown.	108,109

CARD, caspase-recruitment domain; CRP, C-reactive protein; LBP, lipopolysaccharide (LPS)-binding protein; LDL, low-density lipoprotein; MAP, mitogen-activated protein; MARCO, macrophage receptor with collagenous structure; MBL, mannan-binding lectin; NF-κB, nuclear factor-κB; PKR, double-stranded RNA (dsRNA)-activated protein kinase; PRR, pattern-recognition receptor; SAP, serum amyloid protein; TLRs, Toll-like receptors.