

Récepteurs et médiateurs de l'immunité innée - Inflammation

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

Février 2006

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

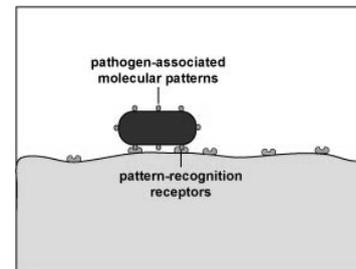
	Innate immune system	Adaptive immune system
Evolutionary history	Ancient (plants, insects, mammals) Billions of years old	Modern (jawed vertebrates) 400 million years old
Recognition	PAMPs (commonly carbohydrate and lipids)	Specific detail of molecular structure
Receptors	Fixed in genome (invariant) Rearrangement not necessary Non-clonal Diverse cellular distribution	Encoded in gene segments (variability) Rearrangement necessary Clonal Lymphocytes
Self-nonself discrimination	Perfect	Imperfect; hence, autoimmune disease, allergy and allograft rejection
Time to onset	Immediate	Delayed
Memory	No	Yes

Co-stimulation
Education
Cooperation

TRENDS in Parasitology

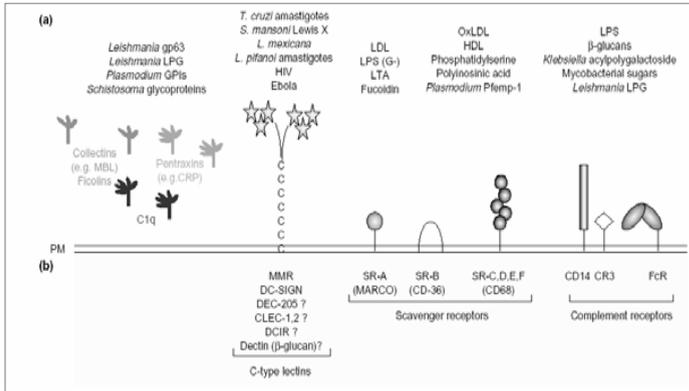
Fig. 1. Essential features of the innate and adaptive immune responses. Although differences between innate and adaptive immunity can be conveniently boxed, their mutual co-evolution means that they are functionally dependent on each other for optimal antiparasite responses. This figure is adapted from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

Reconnaissance des PAMPs par les PRR



- 1) Reconnaissance TLR-PAMPs
- 2) Activation des cellules
- 3) Sécrétion des chimiokines et cytokines pro-inflammatoires: TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8.

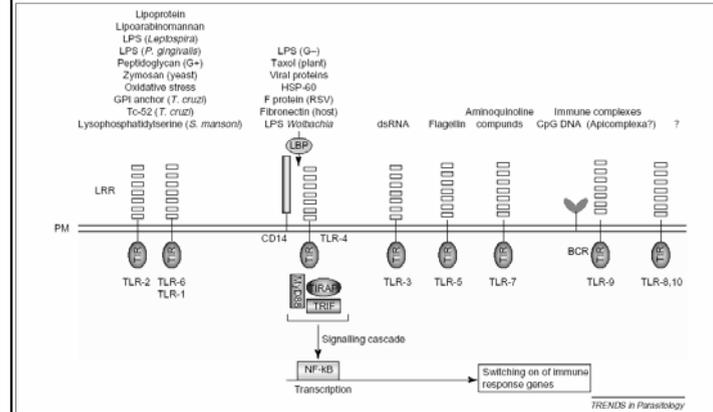
Les récepteurs de l'immunité innée (1)



(McGuinness D.H. et al, 2003, Trends in Parasitology 19:312)

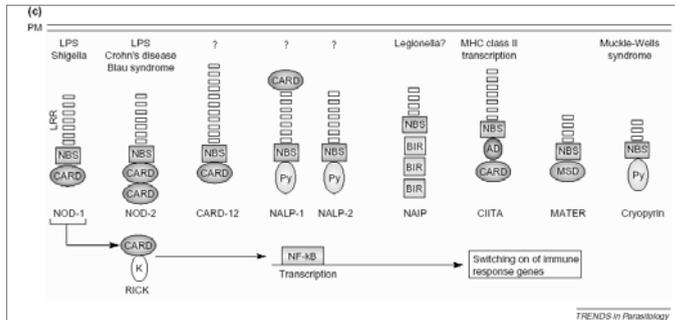
Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006

Les récepteurs de l'immunité innée (2)



Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006

Les récepteurs de l'immunité innée (3)



Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006

Les récepteurs « Toll-like »

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

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.

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamer

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- κ B) dans le noyau et l'activation de la transcription de peptides antimicrobiens comme la drosomycine et la défensine.

(Hoffmann J.A. *et al.* 2003. Nature 426:33)
Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006

9

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Généralités sur les TLR

- 1) Famille de 11 récepteurs transmembranaires, en surface ou intracellulaires
- 2) Fonctions dans la reconnaissance des PAMPs, de façon spécifique
- 3) Reconnaissance d'un ou plusieurs ligands différents
- 4) Certains ligands ne sont toujours pas identifiés
- 5) Certains TLR requièrent des protéines accessoires pour leurs fonctions

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006

10

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

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

Domaines « Ig-like »

Domaine répété riche en leucine
LRR « Leucine Rich Repeat »

Domaine TIR

IL1-R
IL-18R

Toll
TLR1 à 11

MyD88 et TIRAP
Adaptateurs moléculaires

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

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006

11

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Structure des TLR et leurs ligands

Lipoprotéines acétylées (bactéries gram +)

Lipide A du LPS (bactéries gram -)

ARNdb

ARNsb

ADN hypométhylé bactérien

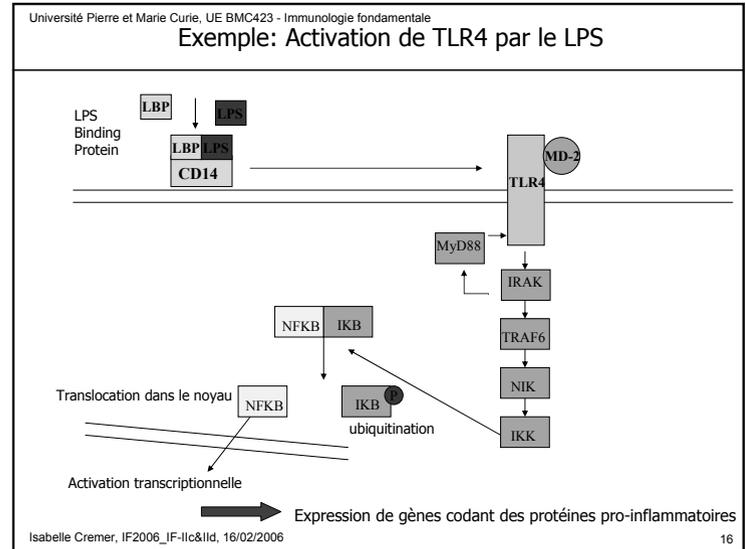
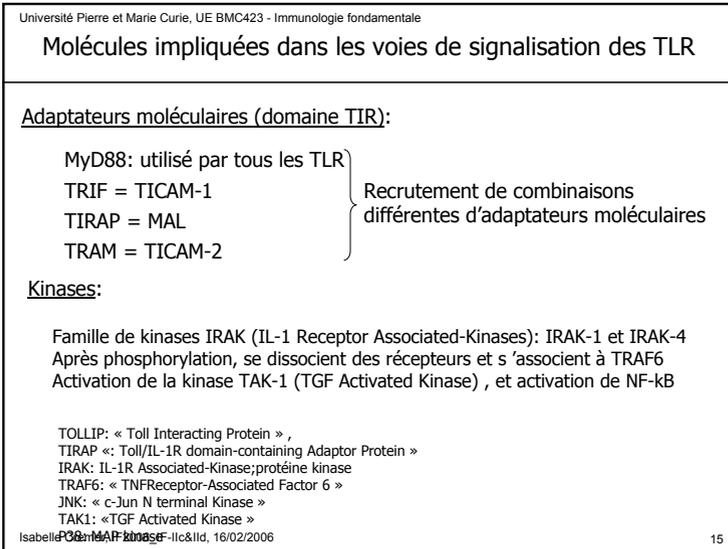
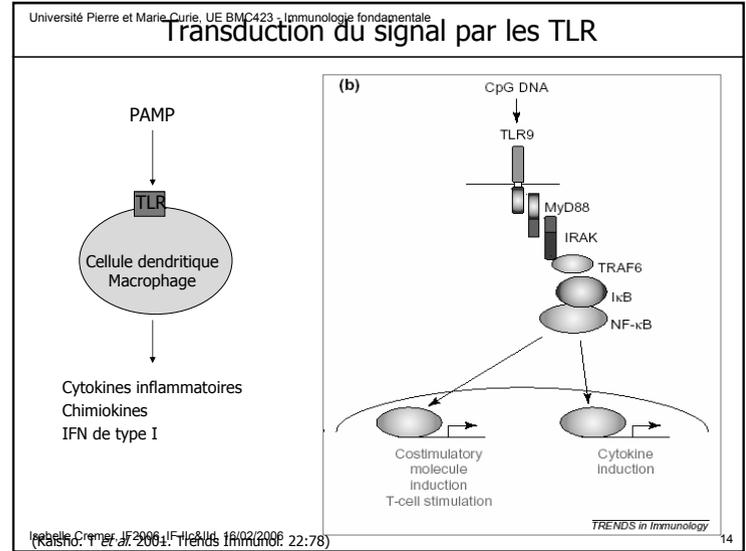
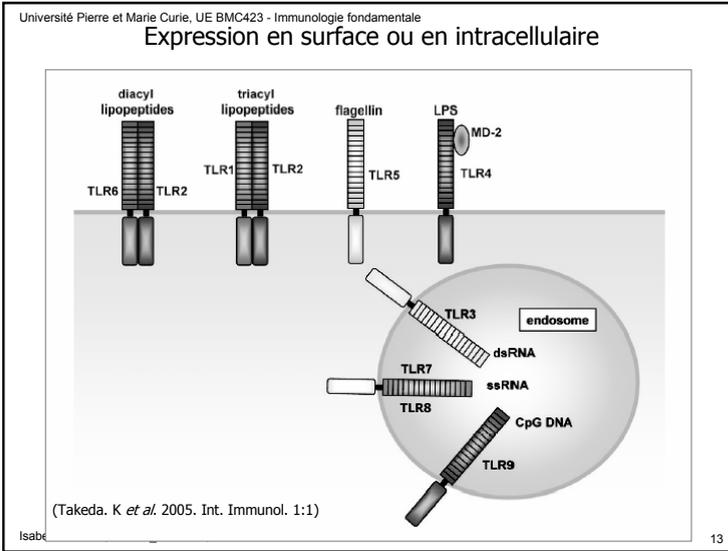
QuickTime™ et un décompresseur TIFF (LZW) sont requis pour visionner cette image.

Domaine **LRR**: très conservé, site de fixation des ligands ou de fixation des co-récepteurs

Domaine **TIR**: formation du complexe de signalisation

(Hoffmann et al. 2006, Nature Immunol 7: 381-388)

12



Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Mutations dans la voie de réponse au LPS

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)

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006 17

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

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

	Réponse au LPS	PG	Susceptibilité accrue aux infections bactériennes
<i>TLR4</i> ^{-/-}	non	normal	Gram-
<i>TLR2</i> ^{-/-}	normal	non	Gram+
<i>MyD88</i> ^{-/-}	non	non	Gram- et Gram+
+/+	normal	normal	non

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006 18

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Vue générale des voies de signalisation par les TLR

(Van Duin et al., 2005, Trends in Immunol.)

19

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Régulation de la production des IFN de type I par les TLR

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

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006 20

Conséquences de l'activation des TLR

Inflammation: Production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires TNF- α , IL-6, IL-12 et IL-8

Réponse antivirale: Production d'IFN de type I, IFN- α et IFN- β

Activation de l'immunité adaptative: Production IFN de type I, IL-12, augmentation de l'expression des molécules de co-stimulation (CD80, CD86) et maturation des CPA (rôle important des cellules dendritiques)

L'inflammation

Cytokines et autre médiateurs de l'inflammation

« Inflammare: « rubor et tumor cum calore et delore » (Celsus)
« Inflammation: rougeur et oedème avec chaleur et douleur »

L'inflammation permet d'orienter les éléments actifs du système immunitaire vers les lieux de l'infection:

- 1- Appel de sang vers la région infectée: vasodilatation
- 2- Augmentation de la perméabilité des capillaires (contraction des cellules endothéliales)
- 3- Migration des leucocytes: polynucléaires neutrophiles et macrophages (ayant une fonction de phagocytose). Rôle des molécules d'adhésion et chimiokines.

Médiateurs de l'inflammation:

Chimiokines: Petits polypeptides, contrôlent la migration cellulaire (chémotactisme)

Médiateurs enzymatiques du plasma: 4 systèmes interconnectés

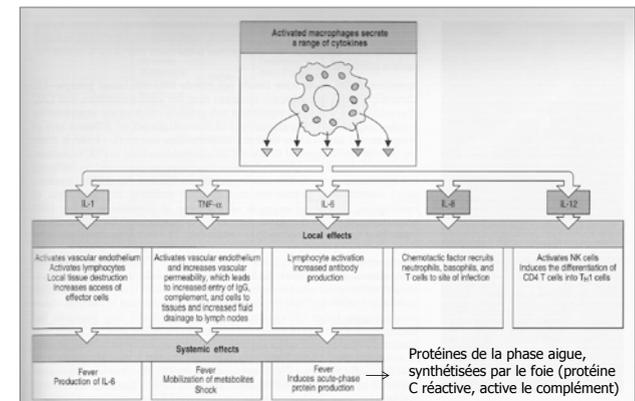
1. Système des kinines --> bradykinine
 2. Système de la coagulation sanguine --> fibrinopeptides
 3. Système fibrinolytique --> plasmine --> activation du complément
 4. Système du complément
- } ↑ perméabilité vasculaire
douleur
chémotaxie des PN

Lipides médiateurs de l'inflammation:

PAF, prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes

Cytokines médiatrices de l'inflammation: IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α

Cytokines inflammatoires sécrétées par les macrophages activés



Le système du complément

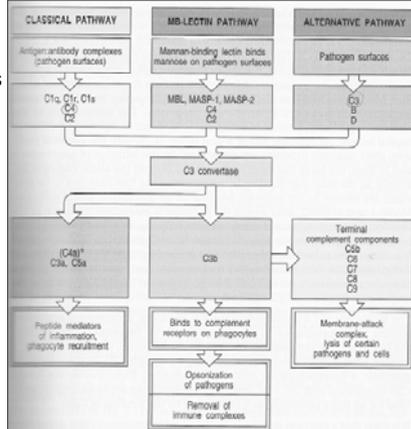
Fonctions:

Lyse des cellules, bactéries, virus

Oponisation favorise la phagocytose des Ag particulaires

Liaison à des récepteurs du complément à la surface des cellules du SI permet inflammation, sécrétion de cytokines, dégranulation

Elimination des complexes immuns de la circulation



Activation de l'immunité adaptative

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

- Elles expriment des PRR et notamment des TLR

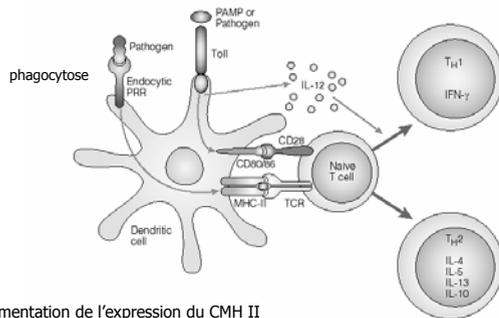
- Ces cellules ont un rôle majeur de couplage entre l'immunité innée et adaptative

- 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 TLR 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.

Contrôle de l'immunité adaptative



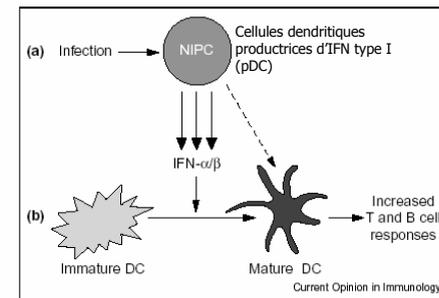
- Augmentation de l'expression du CMH II

- Augmentation de l'expression des molécules de co-stimulation CD80 et CD86

- Sécrétion IL-12

- Modification de l'expression des récepteurs de chimiokines (migration cellulaire)

Rôle des IFN dans l'induction de l'immunité adaptative



IFN- α/β links innate and adaptive immunity. (a) Virus infection results in the secretion of large quantities of IFN- α/β by NIPCs, and probably also results in the maturation of these cells into DCs. IFN- α/β acts both as an innate effector in the control of virus replication and as an activator of DCs. (b) Immature DCs exposed to IFN- α/β become potent APCs capable of initiating T and B cell responses.

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Régulation de l'activation des TLR

La signalisation par les TLR est normalement régulée
3 mécanismes de régulation sont connus:

récepteurs leurres solubles:

TLR2s et TLR4s

régulateurs transmembranaires:

ST2L
SIGIRR
TRAILR

régulateurs intracellulaires:

MyD88s	A20
IRAKM	IRF4
SOCS1	Dok1, Dok2
TOLLIP	

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006 29

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Action des régulateurs négatifs des TLR

Régulateurs membranaires

Régulateurs intracellulaires

(Liew F.Y. et al. 2005 Nature rev Immunol. 5:446)
Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006 30

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Mise en évidence expérimentale du rôle de régulateur négatif de Dok1 et Dok2

A

B

Figure 4. Mice lacking Dok-1 or Dok-2 are hypersensitive to LPS. (A) Serum concentration of TNF- α of 8-wk-old mice at 1 h after injection (1 hpi) with LPS to the peritoneal cavity or before it (0 hpi) was examined with ELISA and shown with SD ($n = 7-13$). The maximal p-value compared with the wild-type is indicated. (B) Mice at 8 wk of age ($n = 13$ for each) were injected with LPS as in A and monitored up to 7 d. Data representative of duplicate experiments are shown.

(Shiehcharant et al. 2005 J Exp Med 201:333) 31

Université Pierre et Marie Curie, UE BMC423 - Immunologie fondamentale

Les récepteurs Nods intracellulaires

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

Structure

NBS: « Nucleotide-binding site »
CARD: « Caspase Activating and Recruitment Domain »

Nod1 et Nod2 activent NF- κ B, après interaction avec la protéine kinase RICK (interaction par les domaines CARD).

Isabelle Cremer, IF2006_IF-Ilc&Ild, 16/02/2006 32

Fonction des récepteurs Nods

- 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.
- Localisation intracellulaire, dans les cellules épithéliales
- Pour la majorité des récepteurs Nods, les ligands ne sont pas connus.
- Nod1 et Nod2 reconnaissent des motifs de peptidoglycanes (bactéries gram+ pour Nod1 et Gram + et - pour Nod2).

Conclusions

Immunité innée:

- Reconnaissance de motifs PAMPs
- Transduction des signaux dans la cellule
- Phase effectrice 1: Induction de l'inflammation, phagocytose
- Phase effectrice 2: Induction de la maturation des CPA



Inflammation chronique: conséquences pathologiques
Importance de la régulation négative

Protocoles de vaccination ciblent les TLR (adjuvants)