

Présentation croisée et reconnaissance des complexes CMH/peptide par le TCR

Dr. Stéphanie Graff-Dubois
MCU UPMC,
INSERM U698: Immunopathologie cardiovasculaire
Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard, Paris.
tel: 01 40 25 85 95
Stephanie.graff-dubois@crc.jussieu.fr

09 février 2010

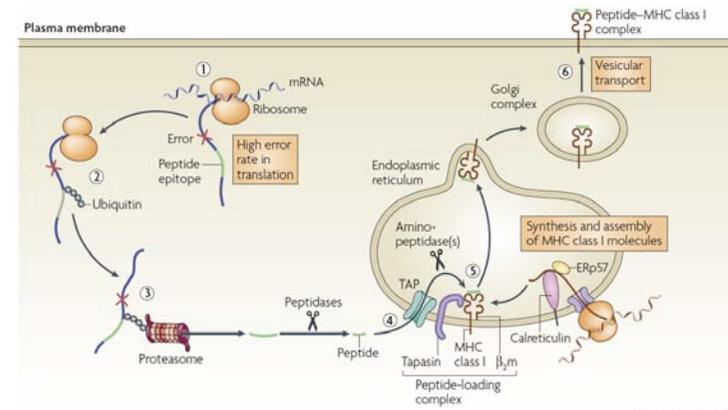
Introduction

- Bases moléculaires de l'interaction TCR/CMH-peptide:
 - Présentation des antigènes par les molécules de CMH
 - Les voies → les types d'Ags, la machinerie cellulaire impliquée
 - Les interactions CMH-peptide: structure moléculaire et nature des liaisons
 - Liaison du TCR au complexe CMH-peptide
 - Structure du TCR
 - Importance du peptide
 - Cinétique de liaison
- L'activation du lymphocyte T
 - Implications thérapeutiques:
 - vaccination anti-infectieuse ou anti-tumorale
 - Reconnaissance allogénique (rejet de greffes)

Molécules de CMH de classe I

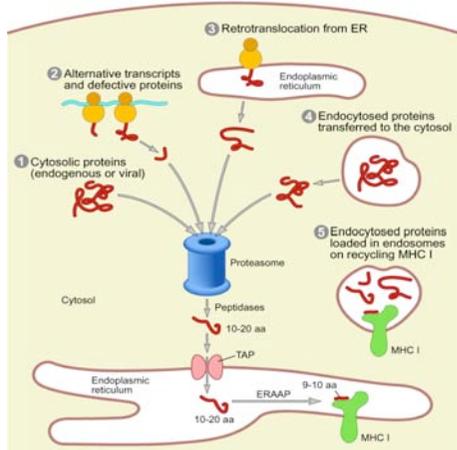
- Rapportent les événements intracellulaires tels que les infections virales, la présence de bactéries intracellulaires, une transformation tumorale...
- Reconnues par lymphocytes T CD8
- 6 étapes de biosynthèse:
 - L'acquisition de peptides antigéniques (DRIPs)
 - Ubiquitylation du fragment peptidique (ubiquitine)
 - Protéolyse (protéasome)
 - Redirection des peptides vers le RE (TAP)
 - Chargement des molécules de CMHI (complexe de chargement peptidique)
 - Export du complexe CMHI/peptide vers la membrane plasmique

Chargement et présentation des antigènes par les CMH de classe I



D'après *Nature Review Immunol.* 2008 Vol. 8: 607-618

Les différentes sources d'antigènes pour les CMH de classe I



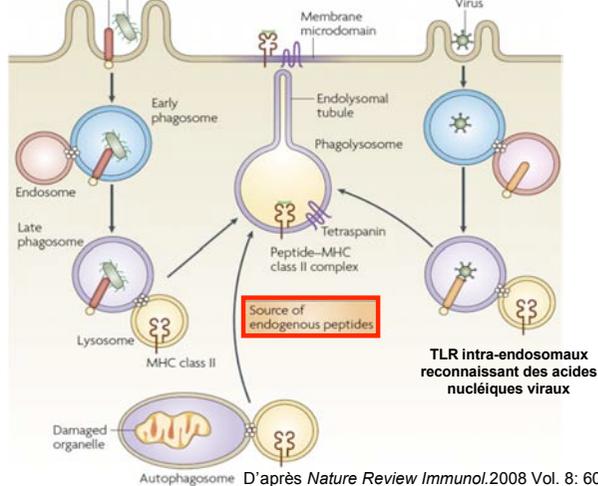
4 et 5
protéines
exogènes

D'après *Annual Rev. Immunol.* 2005 Vol. 23: 975-1028

Molécules de CMH de classe II

- Échantillonnage du milieu extracellulaire et présentation aux lymphocytes TCD4
- Etapes:
 - Endocytose de pathogènes via des récepteurs (TLR, mannose récepteur)
 - Maturation du phagosome (précoce vers tardif)
 - Fusion du phagosome ou de l'autophagosome (source de peptides endogènes) avec le lysosome → phagolysosome
 - Export des CMHII vers la membrane plasmique via les tubules endolysosomaux

Les différentes sources d'antigènes pour les CMH de classe II

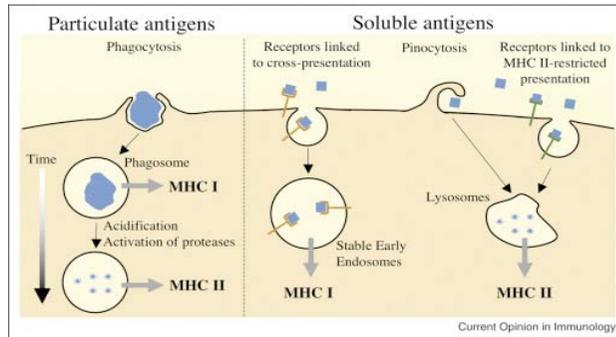


D'après *Nature Review Immunol.* 2008 Vol. 8: 607-618

Les voies de la présentation croisée

- Présentation croisée reste très controversée
- AG solubles ou particulières exogènes captés par la DC par endocytose et phagocytose puis processés pour la présentation par des molécules de CMH I au T CD8
- Des AGs très stables seraient plus favorablement présentés aux T CD8 (rôle des protéines chaperonnes HSP)
- L'utilisation de Rrs particuliers pour la capture des AGs conditionnerait leur éventuelle cross-présentation
- Pour les AGs phagocytés, les propriétés du phagosome vont influencer l'efficacité de présentation croisée de l'APC BMDCs > Mφ: Ph neutre et faible activité protéolytique des BMDCs qq temps après la phagocytose favorise la présentation croisée.

Les voies de la présentation croisée



Ags particulaires dépendante du temps

Ags solubles dépendante de leur mode d'endocytose

Les voies de la présentation croisée

•2 grands types:

–Voies dépendantes des TAP et du protéasome: les AGs doivent atteindre le cytosol

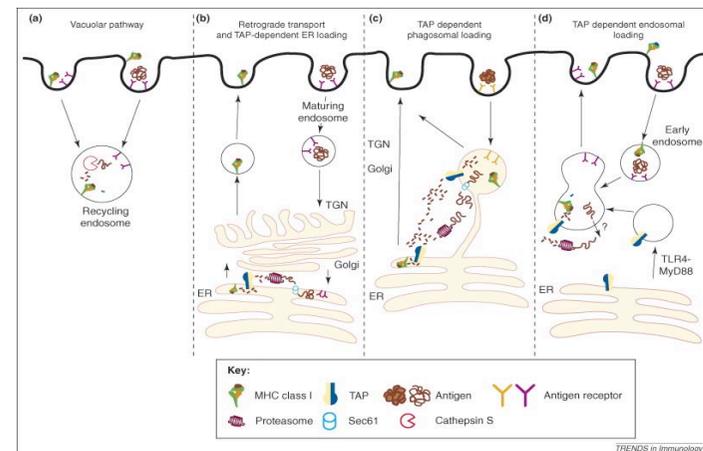
–Voies indépendantes des TAP et du protéasome

Les voies de la présentation croisée

• Le transport vacuolaire indépendant des TAP (a):

- Les AGs endocytosés sont fragmentés par des cystéines protéases (cathépsine S) dans les endosomes.
- Le peptide est chargé sur des CMH I recyclés au sein même de l'endosome.
- Les nouveaux complexes CMH I/peptide sont exportés à la membrane plasmique.
- Utilisé pour un nombre restreint d'Ags clivables dans les endosomes
- Accumulation de CMH I dans les endosomes des pDCs.

Les voies de la présentation croisée

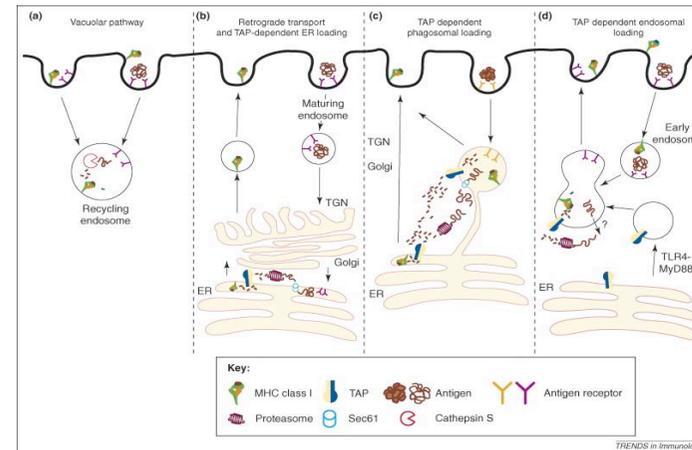


D'après Trends Immunol. 2008 Sep;29(9):436-43

Les voies de la présentation croisée

- Le modèle de la translocation rétrograde (b)
 - Dépendant du TAP et du protéasome
 - Les AGs solubles sont directement redirigés vers le RE, suivant le retro-transport du réseau trans-golgien et l'appareil de Golgi.
 - Une fois dans le RE, l'AG est retro-transloqué dans le cytosol via la machinerie ERAD (ER associated dégradation) puis présenté selon la voie classique des protéines endogènes sur les CMH I.

Les voies de la présentation croisée

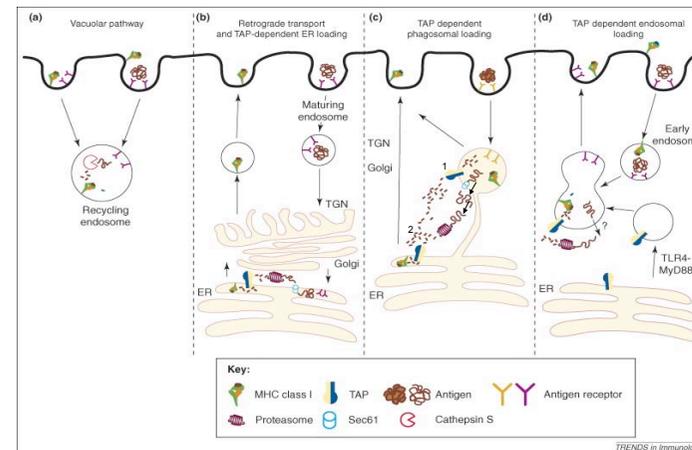


D'après *Trends Immunol.* 2008 Sep;29(9):436-43

Les voies de la présentation croisée

- La voie phagosomale dépendante des TAP (c):
 - Cette voie s'appuie sur la présence de composants du RE dans les phagosomes.
 - Les AGs phagocytés utilisent le canal Sec61 (translocon) pour sortir du phagosome.
 - Ils sont ensuite segmentés par le protéasome et réimportés dans le phagosome pour être chargés sur les CMH I qu'ils contiennent (1).
 - Une fois chargés, les CMH I transitent vers la membrane plasmique.
 - Les AGs phagocytés qui sont sortis vers le cytoplasme peuvent également rejoindre la voie classique de présentation CMH I (2).

Les voies de la présentation croisée

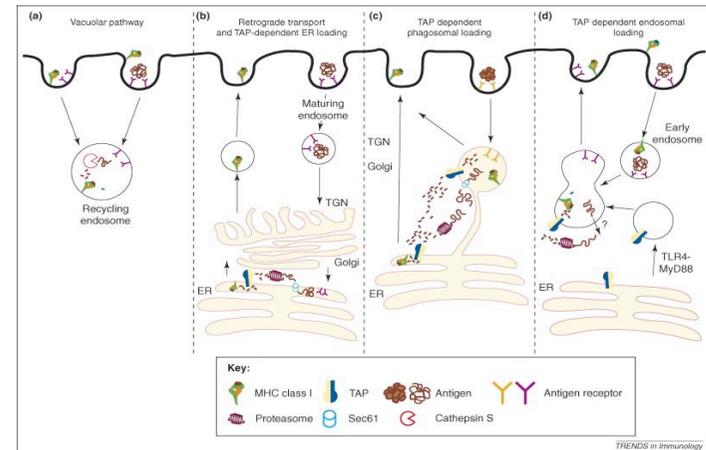


D'après *Trends Immunol.* 2008 Sep;29(9):436-43

Les voies de la présentation croisée

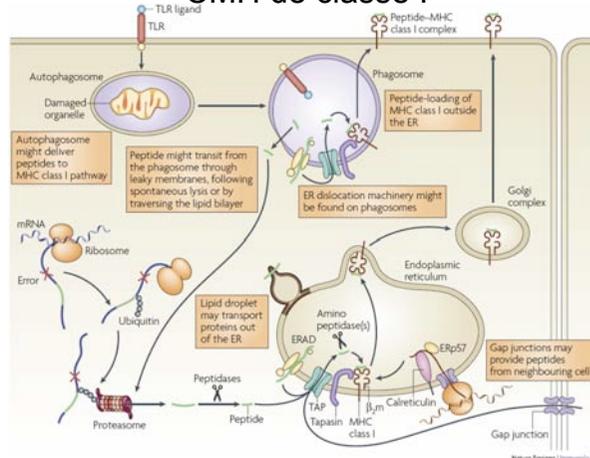
- La nouvelle voie endosomale dépendante des TAP (d):
 - Le TAP est recruté vers l'endosome précoce par le signal TLR4/MyD88.
 - Les AGs endocytés sortent de l'endosome par un transporteur inconnu.
 - Protéolyse par le protéasome et retrotranslocation des peptides via les TAP de l'endosome où ils sont chargés sur des CMH I recyclés.
 - Les nouveaux complexes sont exportés vers la membrane plasmique.

Les voies de la présentation croisée



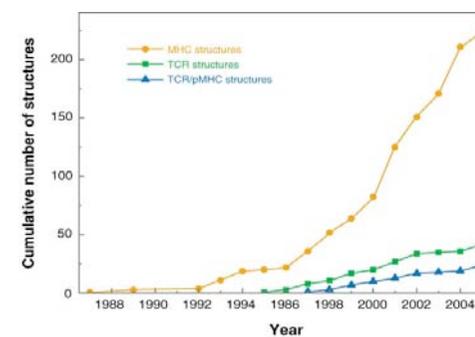
D'après *Trends Immunol.* 2008 Sep;29(9):436-43

Les voies d'accès possibles des peptides aux CMH de classe I



D'après *Nature Review Immunol.* 2008 Vol. 8: 607-618

Données structurales: apport des cristaux



Rudolph MG, et al. 2006.
Annu. Rev. Immunol. 24:419-66

Structure du CMH I

- Hétérodimère de 2 chaînes liées de façon non covalente
 - chaîne lourde α (43 kDa) composée de 3 domaines α_1 , α_2 , α_3 .
 - chaîne légère β_2 microglobuline (12kDa)
- Les domaines α_3 et β_2 microglobuline présentent des similarités dans leur séquence en aa avec les domaine C des Ig
- Les domaines α_1 et α_2 forment la poche à peptide composée de 2 hélices α surmontant un plancher de 8 feuilletts β anti parallèles.

Structure du CMHI

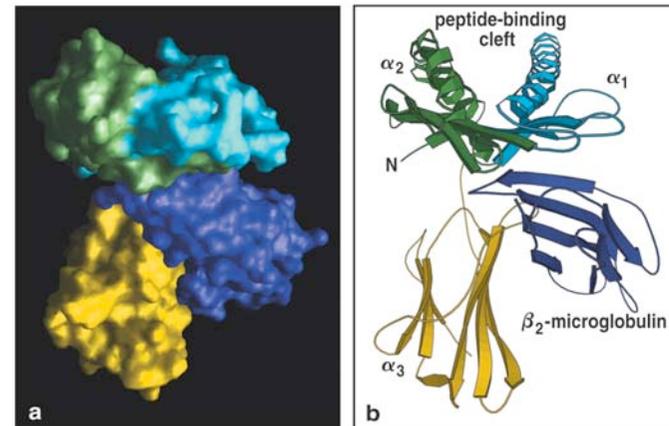


Figure 3-20 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. © Garland Science 2005

Structure du CMHI

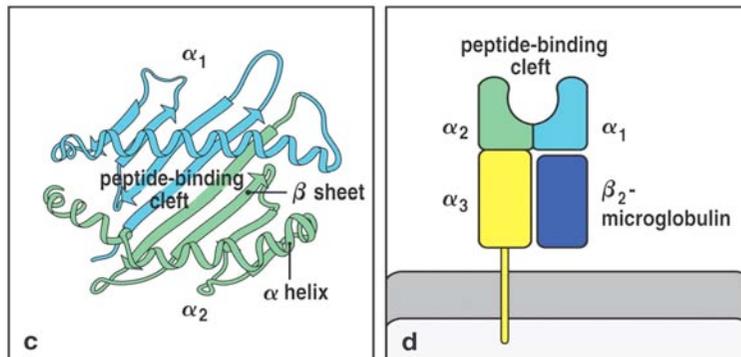
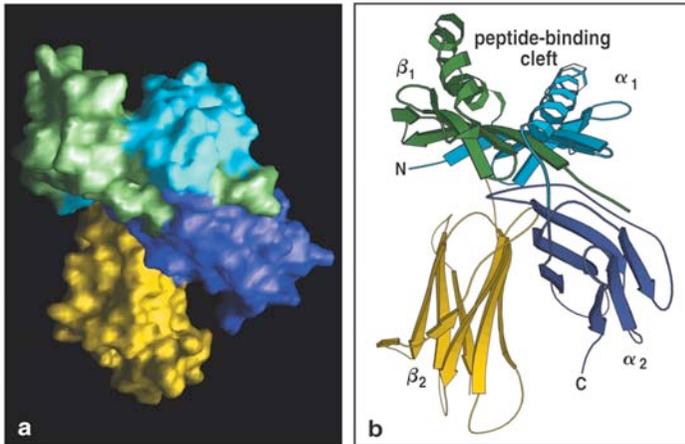


Figure 3-20 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. © Garland Science 2005

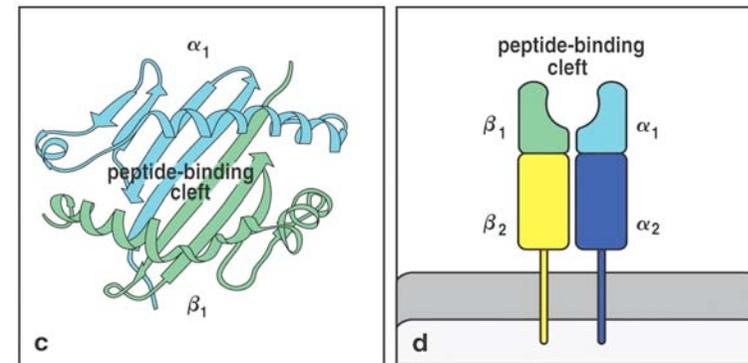
Structure du CMHII

- 2 chaînes glycoprotéiques transmembranaires
 - chaîne α (34 kDa) composée des domaines α_1 et α_2
 - chaîne β (29kDa) composée des domaines β_1 et β_2
- Les domaines α_2 et β_2 présentent des similarités dans leur séquence en aa avec les domaines C des Ig
- Les domaines α_1 et β_1 forment la poche à peptide composée de 2 hélices α surmontant un plancher de 8 feuilletts β anti parallèles. Contrairement au CMHI, la poche est ouverte à ses extrémités.

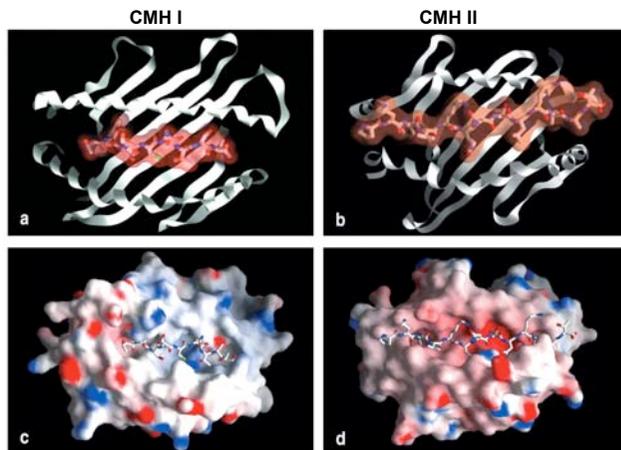
Structure du CMHII



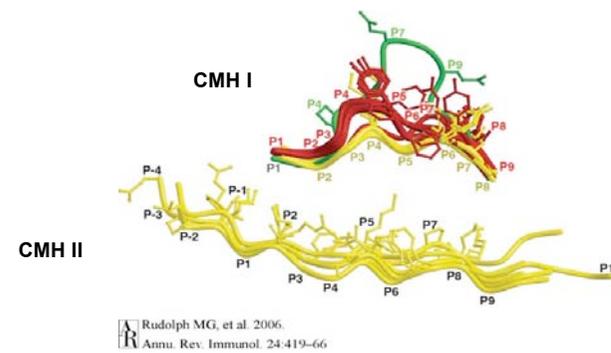
Structure du CMHII



Le complexe CMH-peptide



Le complexe CMH-peptide



Le complexe pCMH I

- Des groupements tyrosine communs à toutes les molécules de CMH I forment des liaisons hydrogène avec les parties N-terminale et C-terminale du peptide
- Les peptides se lient au CMH via des résidus communs: aa d'ancrage, commun à tous les peptides liant un même allèle. Ces résidus ne sont pas forcément identiques mais possèdent des propriétés similaires (hydrophobe ou aromatique...)

Le complexe pCMH I

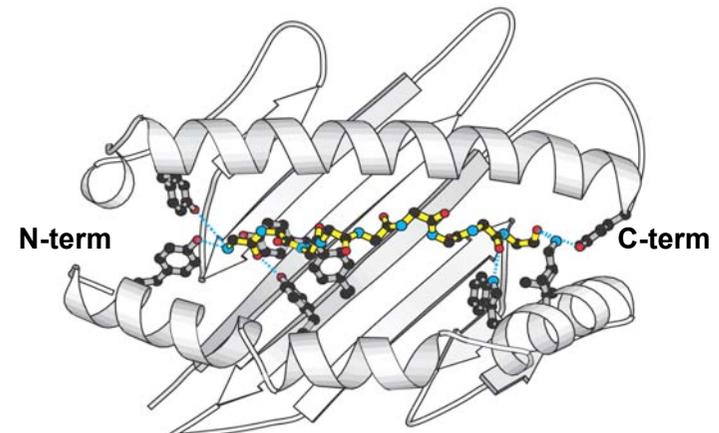


Figure 3-23 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Le complexe pCMH I

Acides aminés d'ancrage

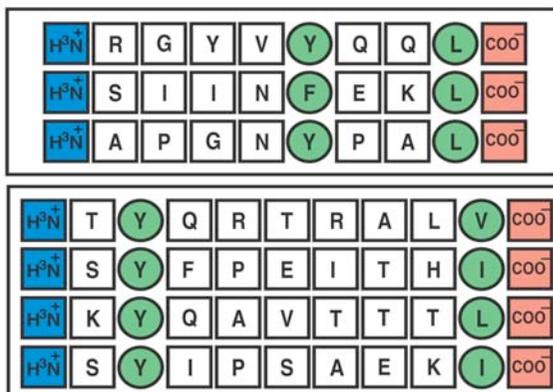


Figure 3-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Le complexe pCMH II

- Le peptide est lié au CMH II via une série de liaisons hydrogène qui se distribuent sur toute la longueur du peptide
- Le CMH II lie des peptides de longueur variable et les résidus d'ancrage apparaissent à des positions variables suivant le début de la séquence peptidique

Le complexe pCMH II

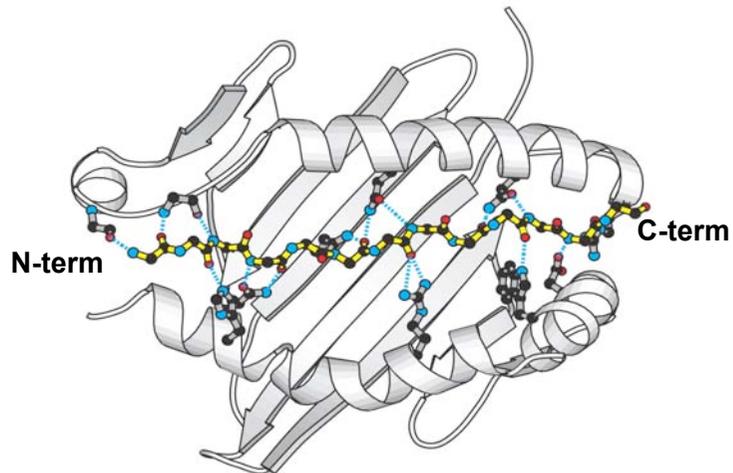


Figure 3-25. Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Le complexe pCMH II

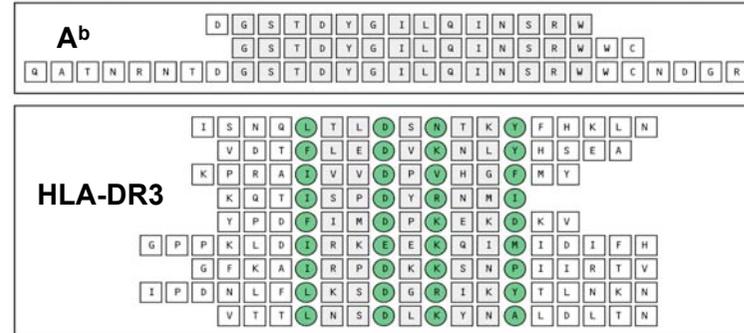


Figure 3-26. Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

P1= premier résidu d'ancrage
P4= aa chargé -
P9= aa hydrophobe

Liaison du TCR au complexe pCMH

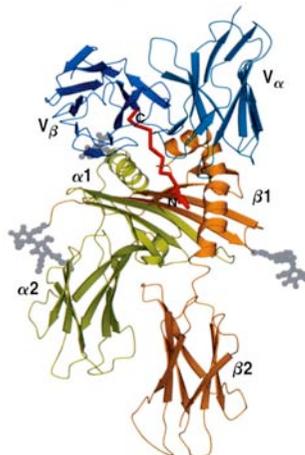


Figure 3-28. Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

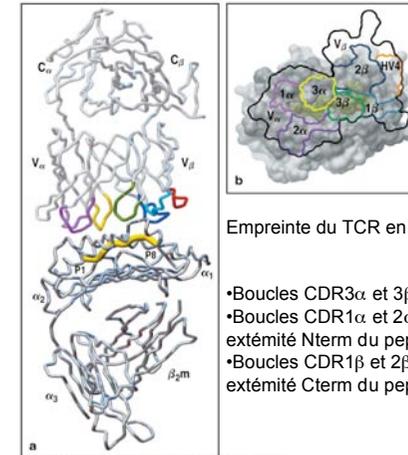
Affinité de liaison du TCR au complexe pCMH

- Affinité d'un TCR pour le complexe p-CMH spécifique faible (AC réponse laire): $K_D = \frac{[TCR][p-CMH]}{[TCRp-CMH]}$ entre 1 et 100µM
- Etude par biacore (résonance plasmonique de surface)

Liaison du TCR au complexe pCMH

- Positionnement selon une diagonale
- Liaisons de faibles affinités initient l'interaction
- Configuration terminale assurée par la plasticité des boucles CDR
- Interaction TCR/p-CMH → changement de configuration de la chaîne CD3 ϵ (étape précoce de la signalisation)

Liaison du TCR au complexe pCMH

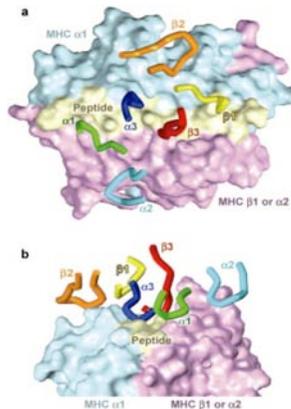


Empreinte du TCR en surface du pCMH:

- Boucles CDR3 α et 3 β → centre du peptide
- Boucles CDR1 α et 2 α → hélices α du CMH extrémité Nterm du peptide
- Boucles CDR1 β et 2 β → hélices α du CMH extrémité Cterm du peptide

Figure 3-27 Immunobiology, 6/e. © Garland Science 2005

Liaison du TCR au complexe pCMH

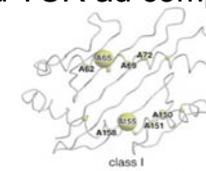


mouse TCR bound to the MHCII protein, IA^b, engaged by the peptide, 3K FEAQKAKANKAVD

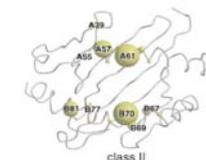
Marrack P, et al. 2008. Annu. Rev. Immunol. 26:171-203

Liaison du TCR au complexe pCMH

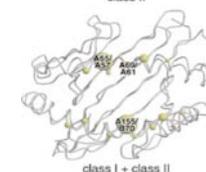
CMH I



CMH II



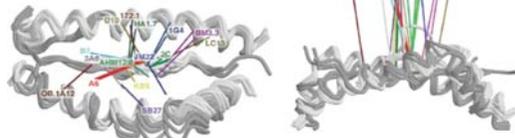
CMH I + CMH II



Formation de contacts conservés entre le TCR et les molécules de CMH I et CMH II

Liaison du TCR au complexe pCMH

Les TCR contactent le peptide au centre: positions P4 et P6



Rudolph MG, et al. 2006.
Annu. Rev. Immunol. 24:419-66

Inclinaison globale du TCR par rapport au pCMH

2 axes colorés sont figurés pour chaque TCR: domaine V α et domaine V β

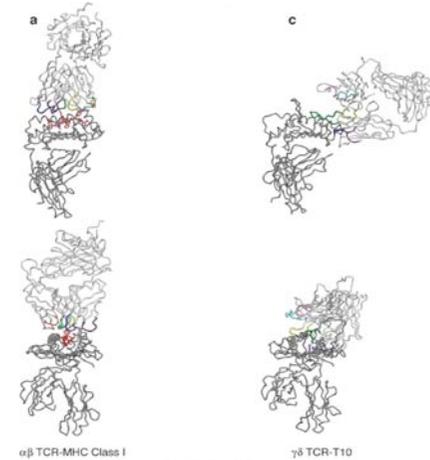
Liaison du TCR au complexe pCMH

TCR

CMH

Coude entre les domaines C γ / V γ

Rotation de 90° selon l'axe horizontal



Rudolph MG, et al. 2006.
Annu. Rev. Immunol. 24:419-66

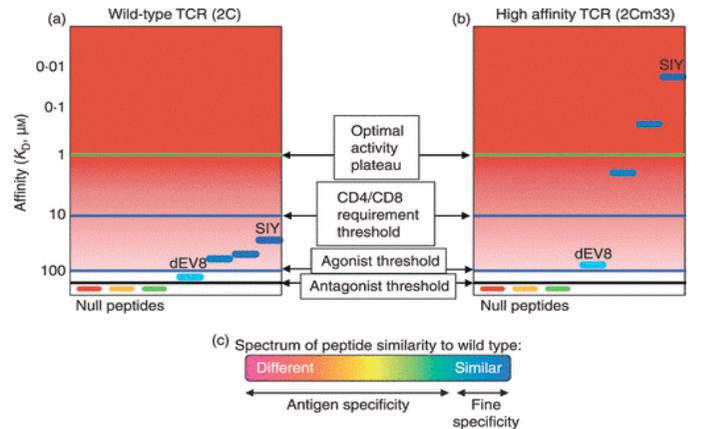
La cross-réactivité

- Interaction TCR/p-CMH
 - Flexibilité +++
 - Un TCR peut reconnaître jusqu'à 10⁵ p-CMH différents
 - Un seul p-CMH peut activer différentes cellules T
 - Cinétique d'association très lente
- Le TCR a évolué de façon à présenter un degré de cross-réactivité optimal: meilleur compromis entre
 - une fréquence importante de T spécifiques d'un AG donné (sélection positive)
 - une délétion clonale importante au moment de la sélection thymique (sélection négative)

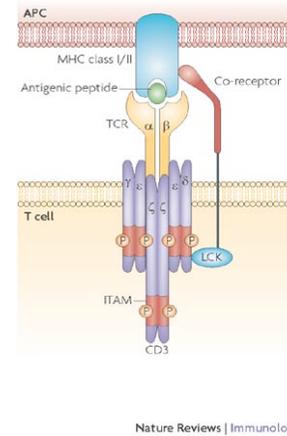
De l'engagement du TCR à l'activation T

- Pour un TCR donné, il existe une variété de peptides ligand qui vont présenter des capacités de stimulation variables, dépendant principalement de leur affinité (constante d'affinité K_D)
- TCR ayant une affinité faible pour le p-CMH est plus « spécifique » car plus sensible aux changements de structure du peptide pouvant influencer la densité des complexes p-CMH
- Les T de forte affinité peuvent lier un plus grand nombre de variants peptidiques et donc présenter une plus faible spécificité
- Un peptide présentant une affinité faible peut présenter un effet antagoniste ou agoniste partiel
- Un peptide présentant une affinité nulle ne stimulera pas le lymphocyte
- spécificité antigénique: capacité du TCR à distinguer des peptides structurellement différents
- spécificité fine: capacité du TCR à distinguer des peptides proches

De l'engagement du TCR à l'activation T



D'après *Immunology*, 2009 Feb;126(2):165-76



-Le corécepteur CD4 ou CD8 stabilise la liaison TCR/pCMH et rapproche la kinase LCK du complexe TCR/CD3

-LCK peut phosphoryler les motifs ITAM associés au CD3

-un TCR très affin peut être activé sans l'aide du co-récepteur

D'après *Nature Review Immunol.* 2008 Vol. 8: 895-900

Avidité du TCR: qualité de l'activation

- 2 modèles d'activation sont proposés:
 - Le serial triggering: Un unique p-CMH va se lier de façon séquentielle à plusieurs TCR (jusqu'à 200) ce qui suggère une demie vie courte du complexe TCR/p-CMH
 - Le kinetic proofreading: L'engagement du TCR avec son ligand ne conduit pas immédiatement à l'activation du TCR ce qui suggère une demie vie du complexe TCR/p-CMH suffisamment longue pour permettre une activation complète du TCR
- La demie vie du complexe TCR/p-CMH varie avec les concentrations et la localisation des molécules impliquées dans la transmission du signal d'activation
- L'avidité fonctionnelle prend en compte la densité des TCR, l'état d'activation du lymphocyte T et les interactions éventuelles avec les co-récepteurs. (évaluation par marquage tétramère)

Avidité du TCR: qualité de l'activation

- Les paramètres de l'avidité:
 - La quantité d'antigène présentée par l'APC: l'affinité d'un peptide pour un CMH donné corrèle avec la quantité de p-CMH présentée en surface
 - L'affinité du TCR pour le p-CMH peut compenser une faible affinité du peptide
 - La présence de co-récepteurs ou autres molécules de signalisation influence le seuil d'activation de la cellule T
 - TCR dont la signalisation est indépendante du CD8 = TCR de grande affinité pour le p-CMH (pbl de sélection négative?)
 - Les orientations de la liaison TCR/p-CMH seraient différentes entre la sélection du TCR et son engagement sur une APC
 - Réarrangement global du TCR après sa sélection = TCR induced fit

TCR induced fit: contribution des ligands peptidiques altérés

