

Dynamique de l' activation lymphocytaire T

Bertrand Bellier
UPMC CNRS UMR7211
Immunologie-Immunopathologie-immunothérapie
Pitié-Salpêtrière - Paris - France
bertrand.bellier@upmc.fr

- Le rapprochement cellulaire

- La synapse immunologique (BMC403)

- Les molécules de l'activation

- TCR: CMH-Ag + Co-récepteur CD4, CD8
- Mol co-stimulation
- Cytokines

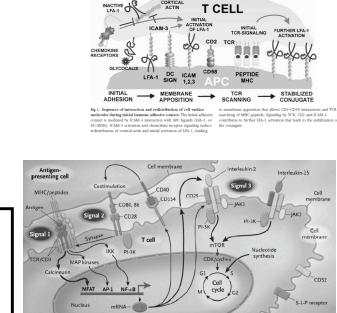
- Aspects quantitatifs et qualitatifs de l'activation

- Affinité de l'interaction
- Avidité de l'interaction
- Dynamique des interactions moléculaires

- et ses conséquences sur le développement de la réponse immunitaire

- Détermine le programme de différenciation T

Activation lymphocytaire T

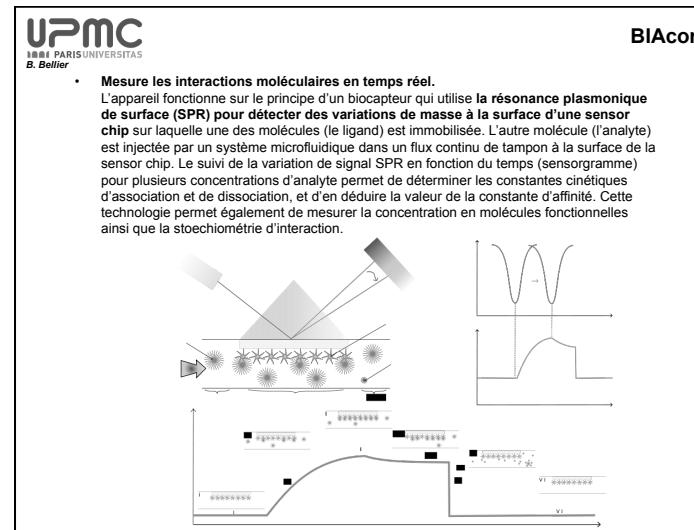
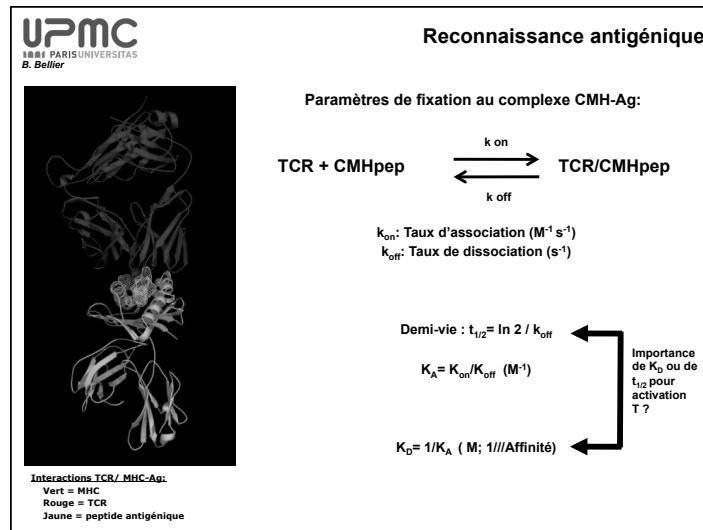


Plan

- Interactions moléculaires de la reconnaissance antigénique pour l'activation T
- Dynamique des interactions
- Conséquences des interactions sur la différenciation T

Bases moléculaires de la reconnaissance antigénique

Influence des paramètres de l'interaction TCR/CMH-Ag

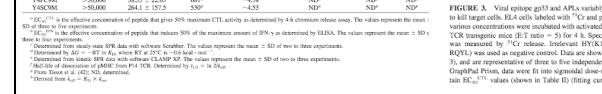
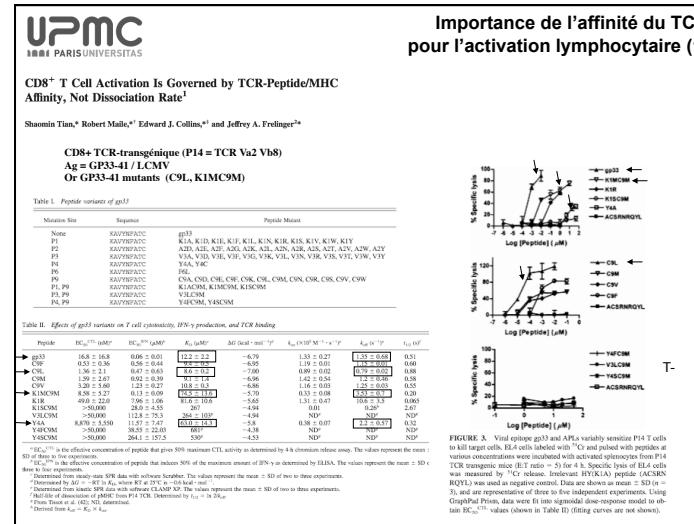


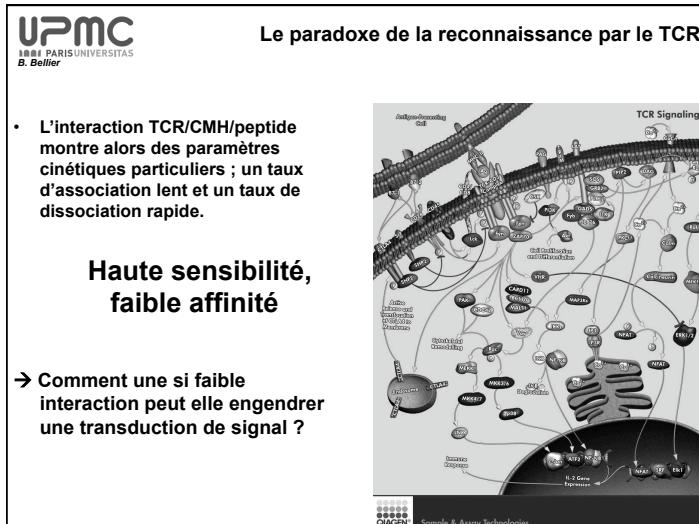
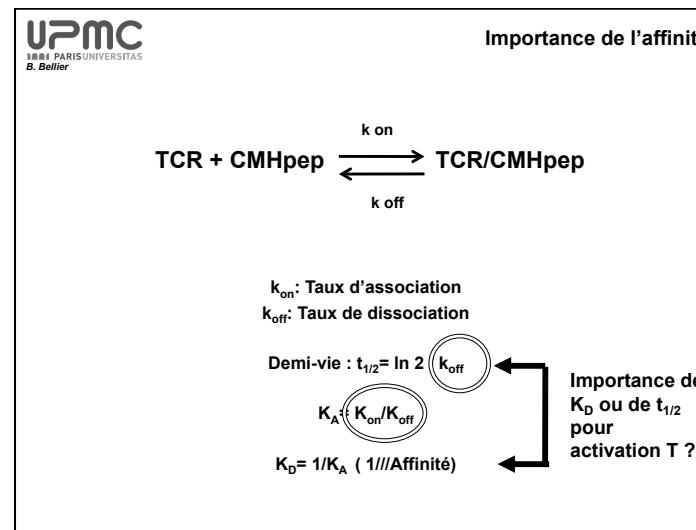
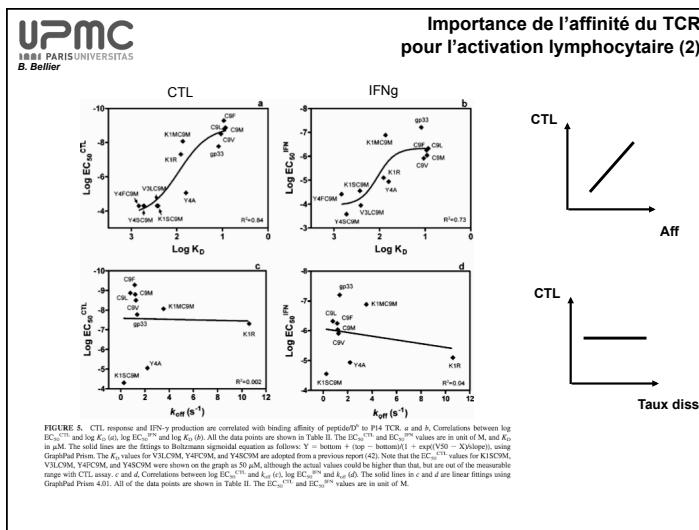
UPMC
IAMI PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Table I. Binding measurements for wild-type T-cell receptors.

	TCR	Peptide/MHC	K_D 1-50 μM				Paramètres
			k_{on} (per second)	k_{off} (per second)	$t_{1/2}$ (seconds)	K_D (μM)	
Affinité							
TCR /CMH-Ag:	CT26	AH1(HA5)I β ^d	54 000	0.11	6.3	1.9	3
	P14	gp33/41 β ^d	400 000	0.975	2.4	2.4	3
	2C	p72 α 2 β ^d	8300	0.027	25.7	3.3	3
	2C	Q19/I β ^d	6350	0.025	26.8	3.9	3
	CT26	AH1/I β ^d	61 000	0.35	2.0	5.7	3
	OT-I	OVA/K β ^b	3720	0.022	31.5	5.9	3
	OT-I	QV61(44)I β ^c	900	0.099	7.7	10	3
	CT26	AH1/H(44)I β ^d	16 000	0.28	2.4	1.8	3
	3C	SIV β ^b	22 000	0.464	1.5	27.4	3
	2C	SIV β ^b	6610	0.538	1.2	81.4	3
	B7	Tax/HLA-A2	220	0.185	3.7	84.1	3
	A6	Tax/HLA-A2	49 000	0.13	5.2	1.2	3
	G10	HIV β 1 δ 2/HLA-A2	33 000	0.06	13.2	2.2	10
	GK8	Flt3L/HLA-A2	31 000	0.09	7.4	3	10
	JM22	Flt3L/HLA-A2	31 000	0.16	4.2	5.2	12
	G16	HIV β 1 δ 2/HLA-A2	340 000	0.16	4.2	5.2	11
	CMV	pp65/HLA-A2	70 000	0.44	1.5	6.3	14
	gp100/HLA-A2	31 000	0.23	2.9	7	12	
	AHH1 12.2	pp65/HLA-A2	26 200	0.295	2.3	11.3	9
	LC33	FLR/HHLA-B8	33 800	0.42	1.7	12.5	13
	AM3	EDB/HHLA-A2	7000	0.21	3.2	28	12
	IG4	NY-ESO-1/HLA-A2	40 000	0.128	6.4	32	16
	TE1	tel/HLA-A2	3500	0.14	4.8	40	12
	LC13	FLR/HHLA-B8	2620	0.35	2.0	132	15
	172.10	MBP1-11(I β) β ^A	37 200	0.219	3.1	5.9	17
	3L2	MBP1-11(I β) β ^A	5357	0.06	10.8	12	18
	193.44	MBP1-11(I β) β ^A	5130	0.16	4.2	31	17
	2B4	MCC1/I β ^b	633	0.057	11.7	90	2
	MAW 13	M-HSP/HHLA-DR3	4000	0.12	5.6	30	12
	AHL2.23	C-HSP/HHLA-DR4	4400	0.16	4.2	36	12
	IAI2	M-BP/HHLA-DR4	2100	0.17	3.9	81	12
	2E1	M-BP/HHLA-DR4	5900	0.73	0.9	121	12

K_D : équilibrium binding constant; k_{on} : association rate; k_{off} : dissociation rate; MHC: major histocompatibility complex; $t_{1/2}$: half-life of the interaction; TCR: T-cell receptor.
Measurements performed at 25°.





II. Activation T : un système dynamique

Modèle de « Kinetic proofreading »

• Modèle de McKeithan (1995)
 • S'inspire du modèle développé par Hopfield (1974) afin d'expliquer la remarquable exactitude de la réPLICATION de l'ADN et de la synthèse protéique.

• L'hypothèse du modèle :

- 1) Le complexe récepteur-ligand spécifique ou non spécifique C0 est converti via une série d'intermédiaires Ci en un complexe actif CN. Chacune de ces étapes requiert de l'énergie et implique la phosphorylation sur tyrosines.
- 2) La dissociation du complexe emmène à la réversion des modifications, par le biais de phosphatases par exemple.
- 3) Le taux de dissociation de complexes non spécifiques est suffisamment haut, afin que la dissociation intervienne avant que ce complexe génère des signaux.

Des complexes initiaux C0 formés entre le TCR (T) et le complexe CMH/peptide (Mx) doivent subir N modifications avant de générer un complexe actif CN. À chaque étape, le complexe peut se dissocier amenant à une complète réversion des sous-unités à leur état basal. Pour une totale activation, les signaux doivent être générés à partir du complexe final C. D'après (McKeithan 1995).

Stimulation réitérative du lymphocyte:

- Activation du lymphocyte T si interaction TCR/CMH-Ag suffisante (seuil d'activation)
- Interactions :
 - Force d'interaction (Affinité)
 - Temps d'interaction (Koff)
 - Nombre d'interactions (x n; Avidité)
- Activation progressive des molécules de signalisation (phosphorylation) : seuil d'activation
- Seuil critique pour initier une activation fonctionnelle
- Si interaction insuffisante (K_{off} faible, dissociation du complexe TCR/CMH-Ag) avant initiation de l'activation: les groupements phosphates seront éliminés par les phosphatases cellulaires

Seuil d'activation: T naïf vs T mémoire

?

Beads H-2Kb+OVA
TCR-transgenic T cells (K_A constant)

seuil d'activation

T naïf T mémoire

seuil d'activation

T naïf T mémoire

• Proliferation of OT-1 CD8⁺ LNC in response to Kb/OVA₂₅₇₋₂₆₄ and rIL-2 is predominantly due to the CD44^{high} subset of cells. A LNC (5×10^4) sorted CD44^{high}/CD8⁺ and CD44^{low}/CD8⁺ from OT-1 mice were cultured with 1×10^5 latex beads coated with H-2K^b at 1.7 µg protein/ 10^5 beads and pulsed with OVA₂₅₇₋₂₆₄ peptide at the indicated concentration.

Curtisger, JJ 1998

Affinité versus Avidité

force du signal

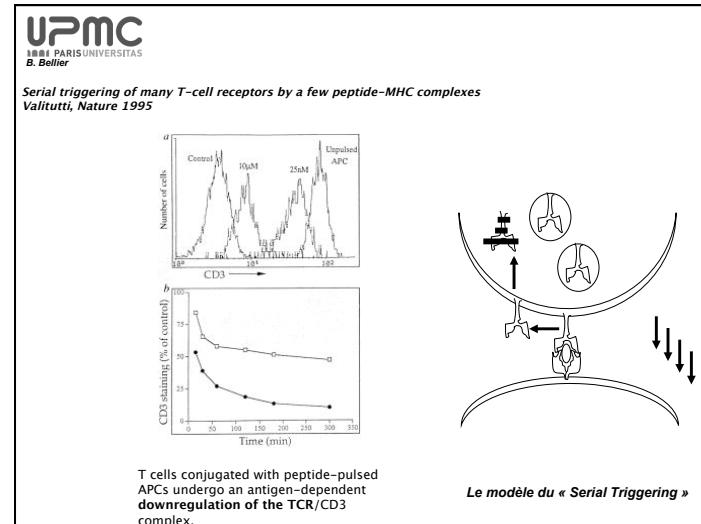
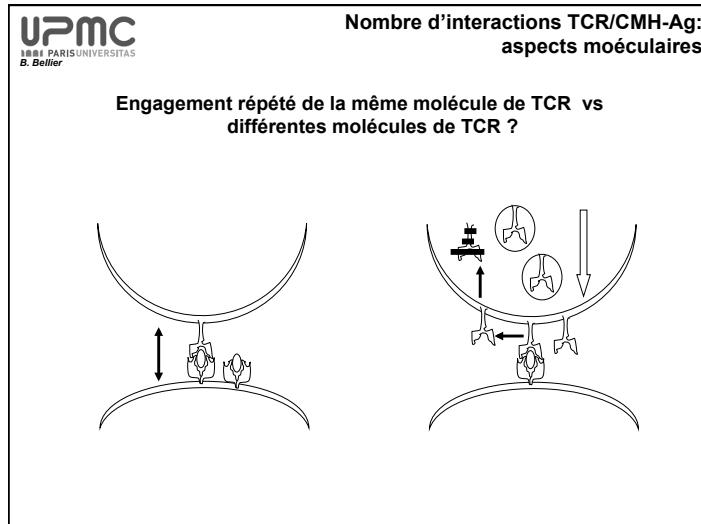
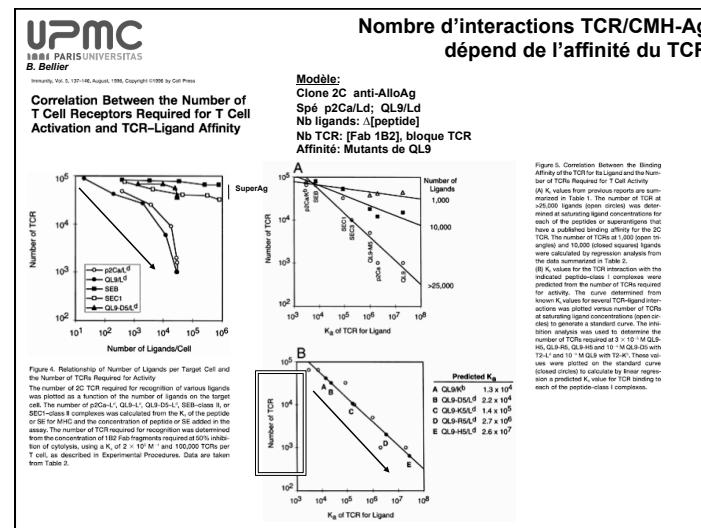
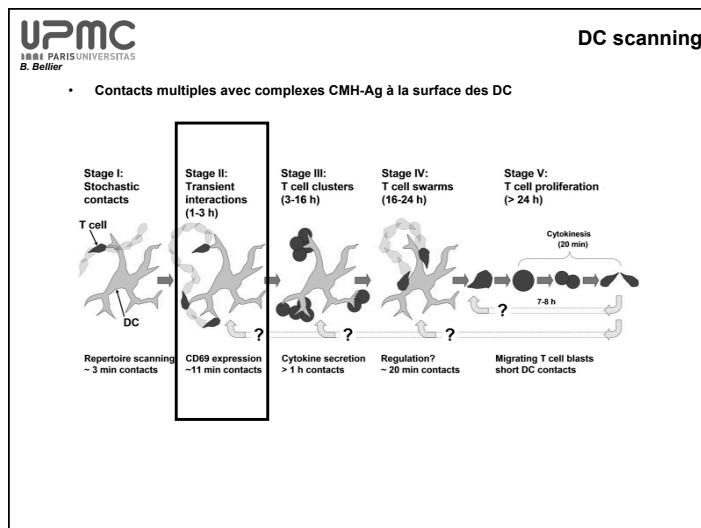
++++

Affinité

Avidité

+
x n

sommation du signal



UPMC
IAP PARISUNIVERSITAS
B. Bellier

Nombre d'engagements

Serial triggering of many T-cell receptors by a few peptide-MHC complexes
Valitutti, Nature 1995

we measured at different antigen concentrations the number of complexes per APC and the number of TCRs downregulated after T-APC interaction. In one series of experiments, EBV-B cells were pulsed with different concentrations of **125 I-labelled peptide** and the number of peptide-DR complexes per cell was calculated at each peptide concentration Figure 3(a). In parallel experiments, the fraction of TCRs downregulated by APCs pulsed in the same conditions was measured Figure 3(b). From comparison of the two curves it is estimated that APCs pulsed with high peptide concentrations (20 micromolar) display approximately 7,500 complexes and induce downregulation of 93 percent of TCRs. Strikingly, APCs pulsed with a low peptide concentration (50 nM) display only approximately 100 peptide-DR complexes, yet they downregulate 62 percent of TCRs. The relationship between the number of peptide-DR complexes per APC and the number of TCRs downregulated per T cell is shown in Figure 3(c). This plot clearly shows that each peptide-DR complex must engage a large number of TCRs in successive rounds. This effect is dramatic at low complex density, where approximately 100 complexes can trigger up to 18,000 TCRs, but is less marked at high complex density, indicating that a single peptide-DR must be able to trigger 180 TCRs in successive rounds. This figure may increase at lower complex density and could be an underestimate as it is unlikely that all complexes present on an APC may be available to the responding T cell.

Nombre d'interactions TCR/CMH-Ag: aspects moléculaires

Minimum 1 à 50 complexes CMH-Ag sur APC pour activer LyT

Engagement multiple des TCR pour un complexe CMH-Ag

- N= 200 contacts répétitifs (Valitutti 1995)

Temps de contact cellulaire requis ? (Long / Court)

- Temps de contact TCR/CMH-Ag limité pour assurer des engagements répétés des TCR

UPMC
IAP PARISUNIVERSITAS
B. Bellier

Influence de la « demi-vie » de contact

L.J. Carreño et al. / Immunobiology 211 (2006) 47–64

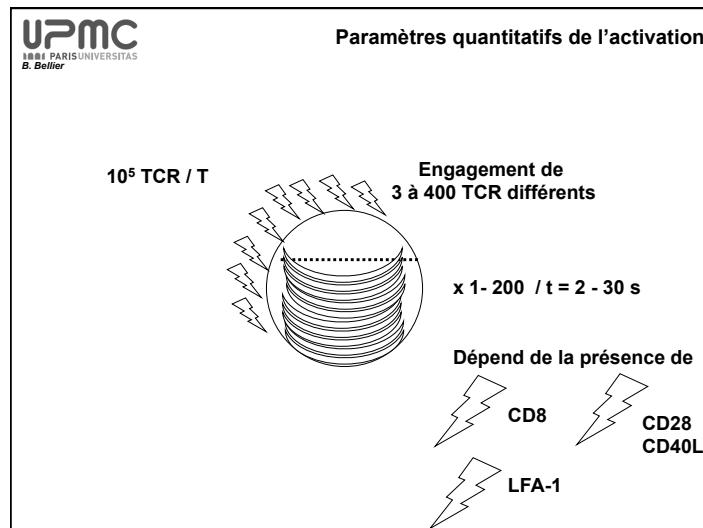
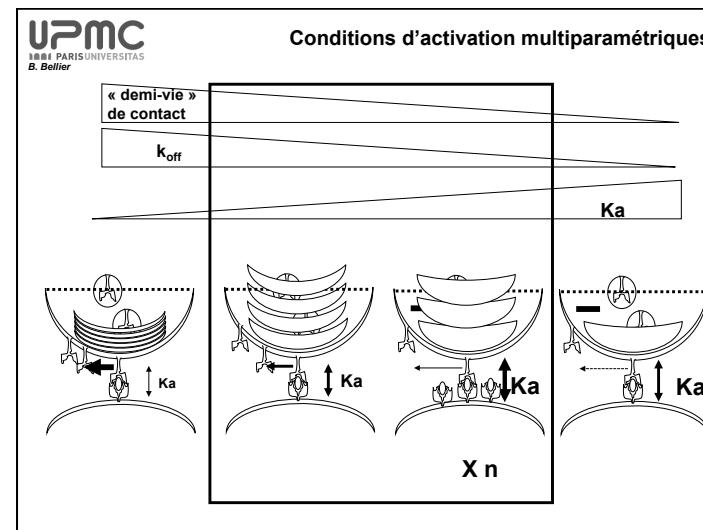
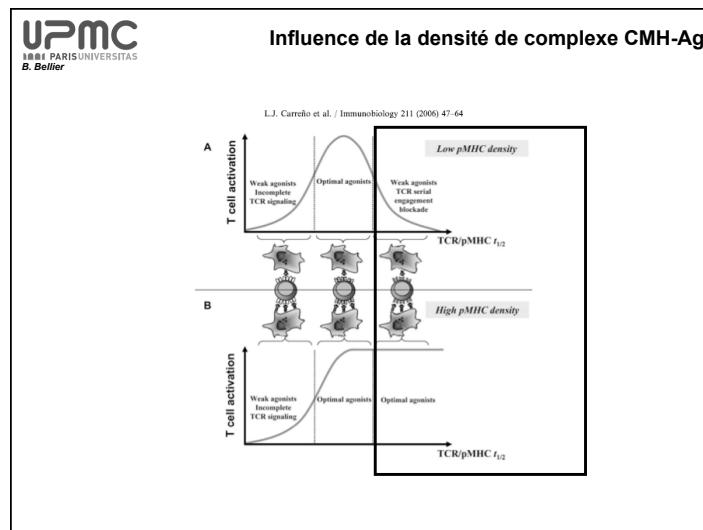
Fig. 2. T cell activation depends on TCR-pMHC interactions half-life and pMHC density. (A) When T cells interact with cognate pMHC at low densities on the APC, efficient activation takes place within an optimal range of TCR-pMHC interactions half-life. Interactions with short half-lives cannot complete necessary intracellular signals for T cell activation due to impairment on TCR kinetic proofreading. TCR-pMHC interactions with excessively long half-lives impair T cell activation due to TCR serial engagement blockade. At intermediate pMHC density, the plot of T cell activation versus TCR-pMHC half-life results in a Gaussian distribution with only pMHC that have intermediate half-lives can trigger the TCR (Carreño et al., 2006; Lanzavecchia et al., 2001; Coombs et al., 2002). (B) When T cells interact with cognate pMHC at high density on the APC, T cell activation can take place when the TCR-pMHC interaction is brief, because serial engagement blockade no longer applies (González et al., 2005). At high pMHC density the plot of T cell activation versus TCR-pMHC half-life results in a sigmoid distribution, in which pMHCs that interact with intermediate and long half-lives with the TCR behave as agonists.

Influence du temps de contact

Serial triggering of TCRs: a basis for the sensitivity and specificity of antigen recognition
Salvatore Valitutti and Antonio Lanzavecchia

Agonist	Antagonist	
T1/2	3-10	0.5-1
#TCR	100	250
(par CMH ^p en 30min)		

Fig. 3. Serial TCR triggering or inactivation as a function of complexity and time required for TCR triggering. (a) Scatterplot showing the number of TCRs engaged by one peptide as a function of the half-life of TCR-peptide-MHC interaction. Each curve is calculated for times required for TCR triggering ranging 1-15 s (the time required for a TCR to become fully triggered (green, partially triggered (blue) or inactivated (red)). (b) as a function of the half-life of TCR-peptide-MHC interaction. It is assumed that ligating for 3-5 s results in full TCR triggering, agonist for 3-5 s in partial triggering and ligand for 1-3 s in TCR inactivation. Abbreviations see Fig. 1 legend.



Conclusions

- En résumé,
- le « **kinetic proofreading** » se focalise au niveau du récepteur individuel. En effet, pour devenir activé, un TCR lié doit compléter une série de modifications biochimiques (phosphorylations des ITAMs, association puis activation de la ZAP-70 (Zeta chain-associated protein of 70 kDa), recrutement et phosphorylation d'autres molécules de signalisation additionnelles), avant de se dissocier avec le complexe CMH/peptide.

Par contre, le modèle du « **serial triggering** » porte à discuter au niveau cellulaire. Puisque, dans des conditions physiologiques où la densité de CMH/peptide spécifique sur la CPA est faible, la demi-vie de liaison du complexe TCR/CMH/peptide doit être assez courte pour permettre à un seul peptide d'engager en série de multiples TCR requis pour l'activation de la cellule T.

