

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

Stéphanie Graff-Dubois  
Immunobiology of Antigen presentation  
INSERM UMR-S945 Faculté de Médecine Hôpital Pitié-Salpêtrière  
[stephanie.graff-dubois@upmc.fr](mailto:stephanie.graff-dubois@upmc.fr)  
01 40 77 99 11

08 février 2011

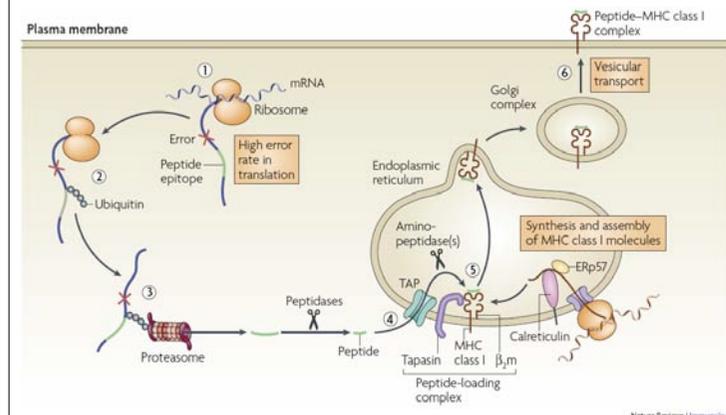
## Introduction

- 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

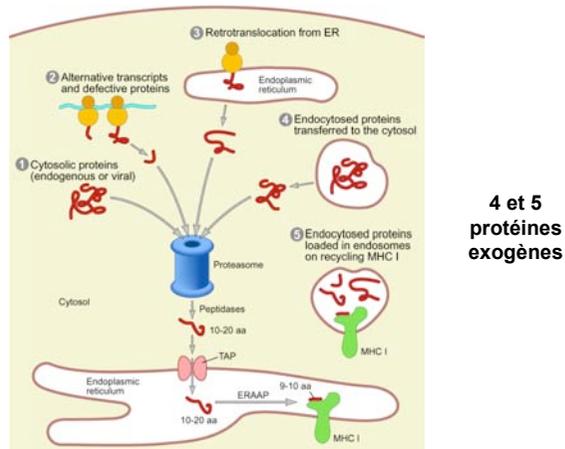
- Rapportent les événements intracellulaires tels que les infections virales, la présence de bactéries intracellulaires, une transformation tumorale...
- Reconnues par lymphocytes T CD8
- 6 étapes de biosynthèse:
  - L'acquisition de peptides antigéniques (DRIPs)
  - Ubiquitylation du fragment peptidique (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



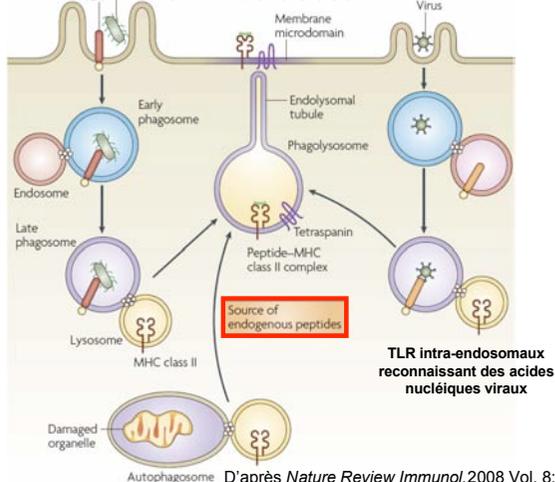
D'après *Annual Rev. Immunol.* 2005 Vol. 23: 975-1028

**4 et 5 protéines exogènes**

## 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

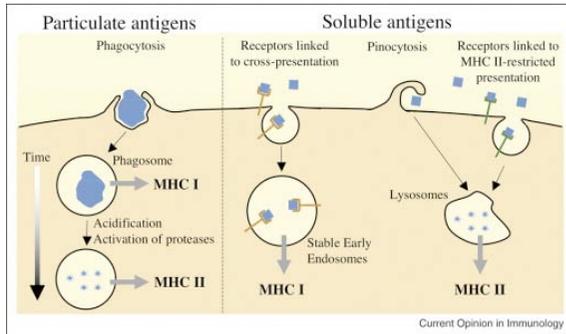


D'après *Nature Review Immunol.* 2008 Vol. 8: 607-618

## Les voies de la présentation croisée

- 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

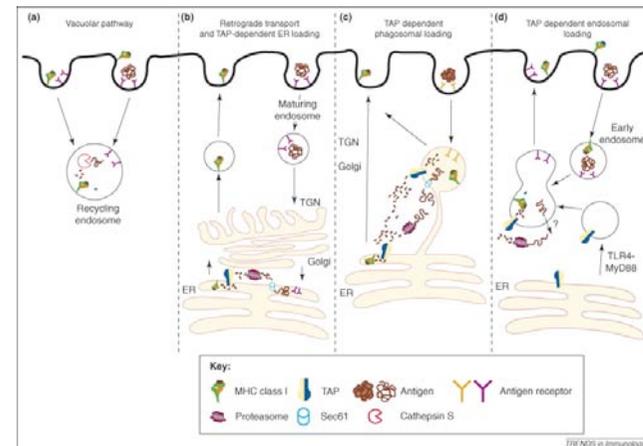
–Voies indépendantes des TAP et du protéasome

## 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

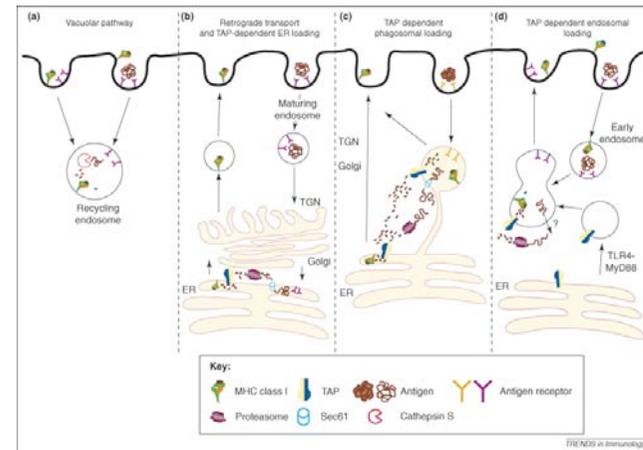


D'après *Trends Immunol.* 2008 Sep;29(9):436-43

## 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

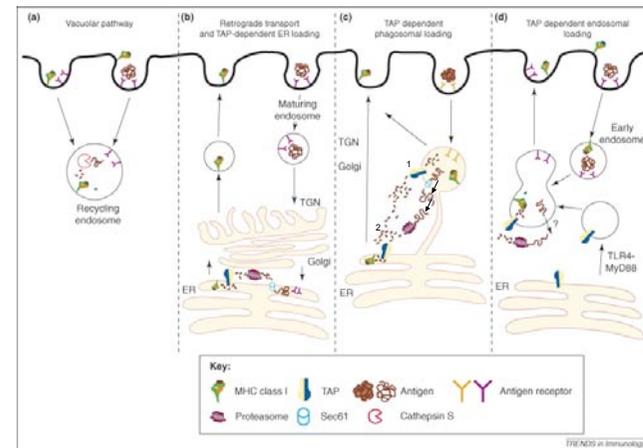


D'après *Trends Immunol.* 2008 Sep;29(9):436-43

## 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

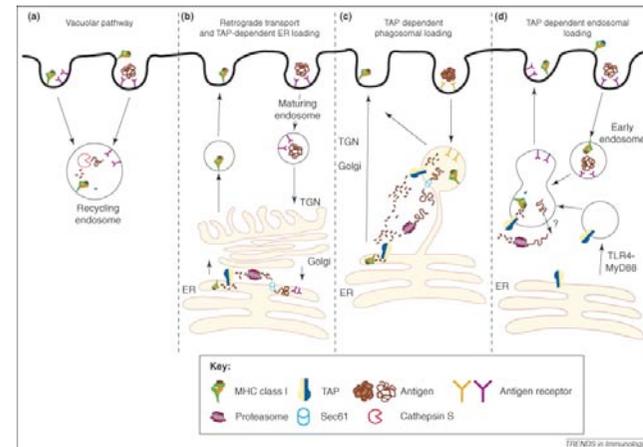


D'après *Trends Immunol.* 2008 Sep;29(9):436-43

## Les voies de la présentation croisée

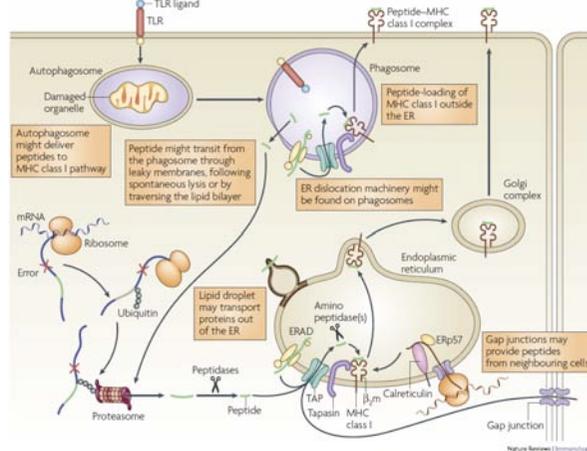
- La nouvelle voie endosomale dépendante des TAP (d):
  - Le TAP est recruté vers l'endosome précoce par le signal TLR4/MyD88.
  - Les AGs endocytés sortent de l'endosome par un transporteur inconnu.
  - Protéolyse par le protéasome et retrotranslocation des peptides via les TAP de l'endosome où ils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

## Les voies de la présentation croisée



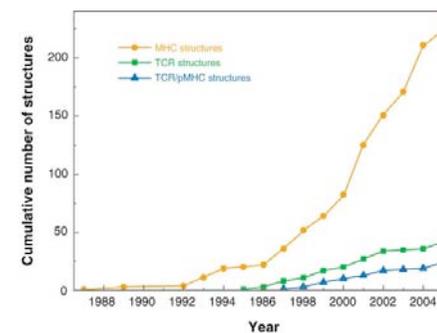
D'après *Trends Immunol.* 2008 Sep;29(9):436-43

## 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

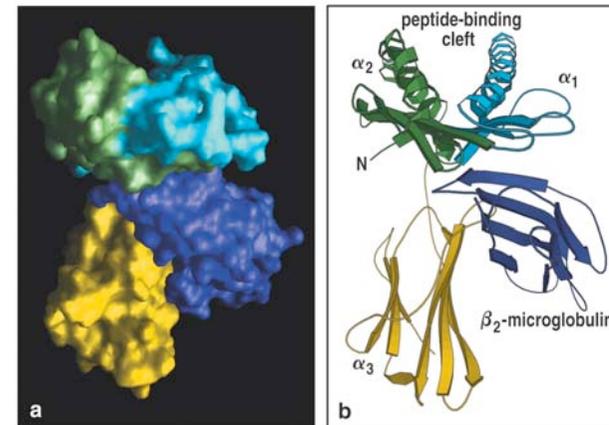


Rudolph MG, et al. 2006.  
*Annu. Rev. Immunol.* 24:419-66

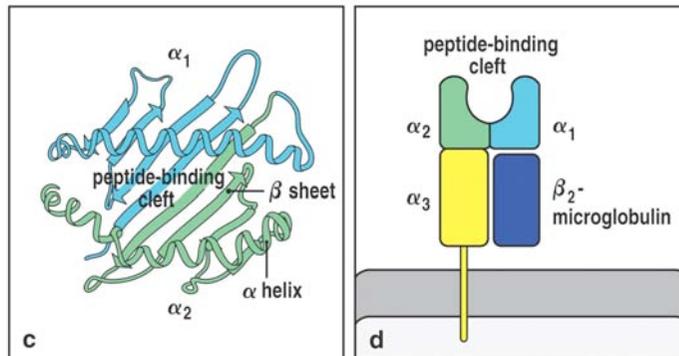
## Structure du CMH I

- Hétérodimère de 2 chaînes liées de façon non covalente
  - chaîne lourde  $\alpha$  (43 kDa) composée de 3 domaines  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ .
  - chaîne légère  $\beta_2$  microglobuline (12kDa)
- Les domaines  $\alpha_3$  et  $\beta_2$  microglobuline présentent des similarités dans leur séquence en aa avec les domaine C des Ig
- Les domaines  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  forment la poche à peptide composée de 2 hélices  $\alpha$  surmontant un plancher de 8 feuillettes  $\beta$  anti parallèles.

## Structure du CMHI



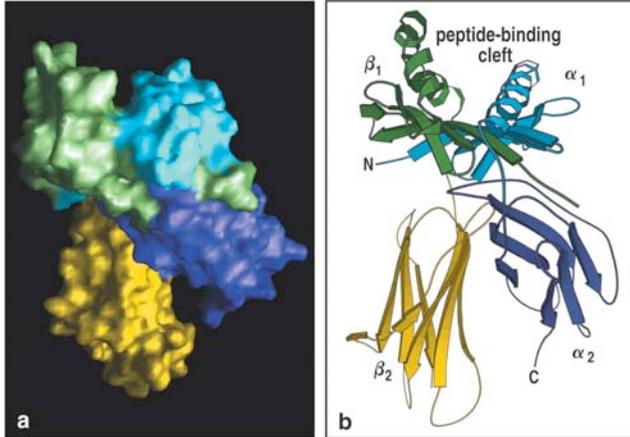
## Structure du CMHII



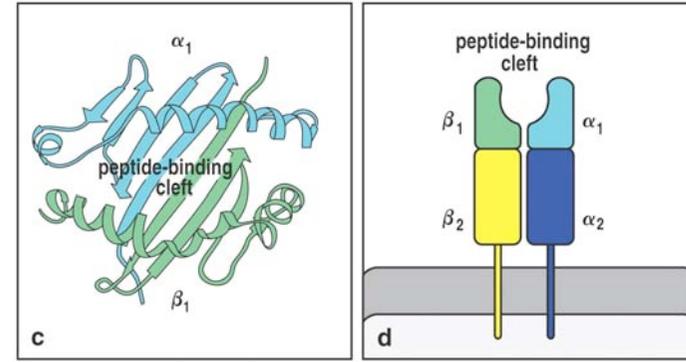
## Structure du CMHII

- 2 chaînes glycoprotéiques transmembranaires
  - chaîne  $\alpha$  (34 kDa) composée des domaines  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$
  - chaîne  $\beta$  (29kDa) composée des domaines  $\beta_1$  et  $\beta_2$
- Les domaines  $\alpha_2$  et  $\beta_2$  présentent des similarités dans leur séquence en aa avec les domaines C des Ig
- Les domaines  $\alpha_1$  et  $\beta_1$  forment la poche à peptide composée de 2 hélices  $\alpha$  surmontant un plancher de 8 feuillettes  $\beta$  anti parallèles. Contrairement au CMHI, la poche est ouverte à ses extrémités.

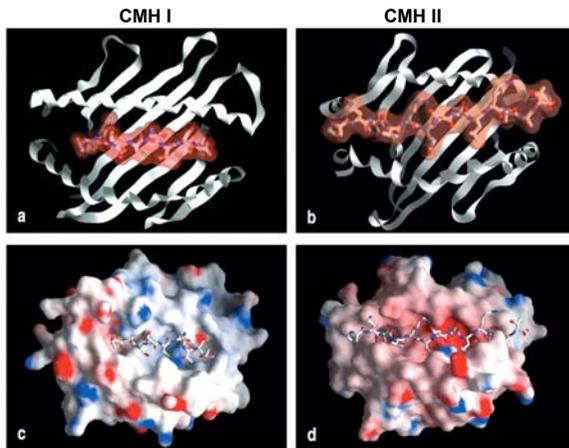
## Structure du CMHII



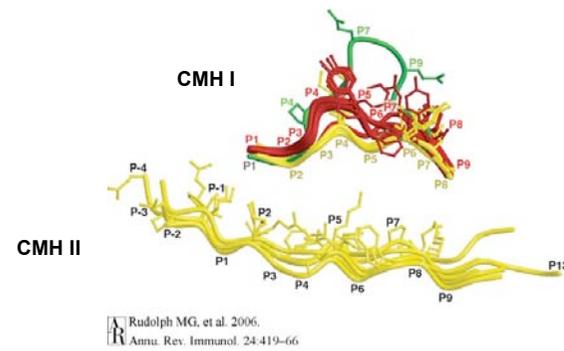
## Structure du CMHII



## 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 I 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

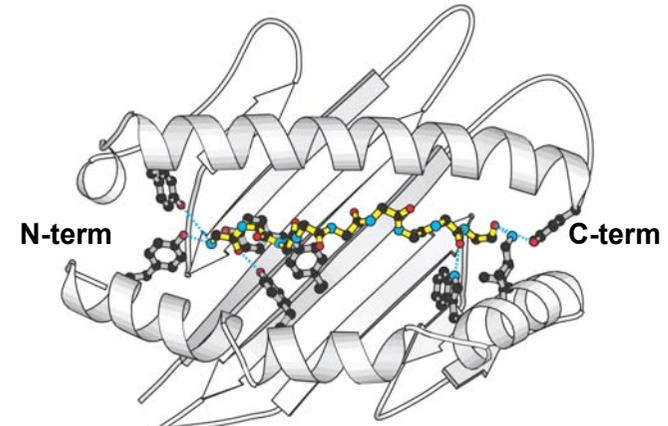


Figure 3-23 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

## Le complexe pCMH I

Acides aminés d'ancrage

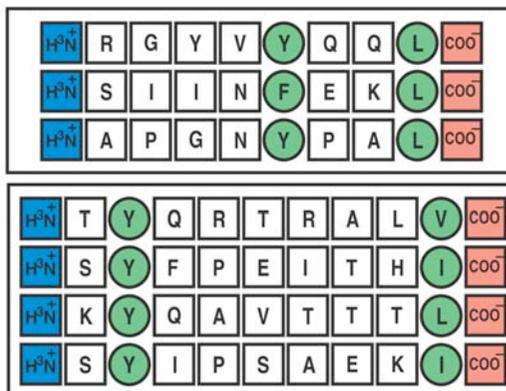


Figure 3-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

## 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

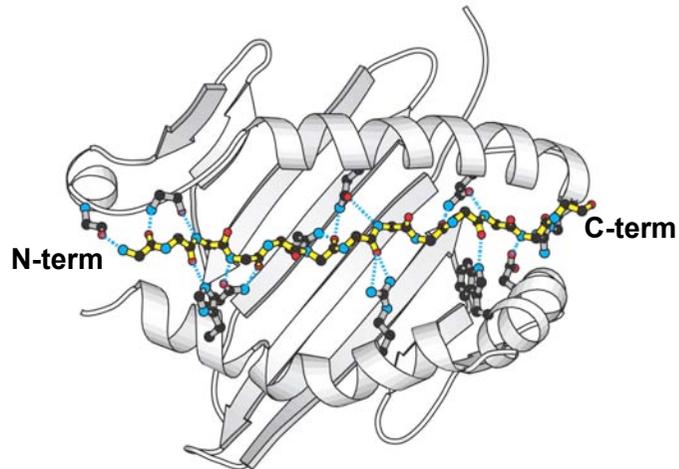


Figure 3-25 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

### Le complexe pCMH II

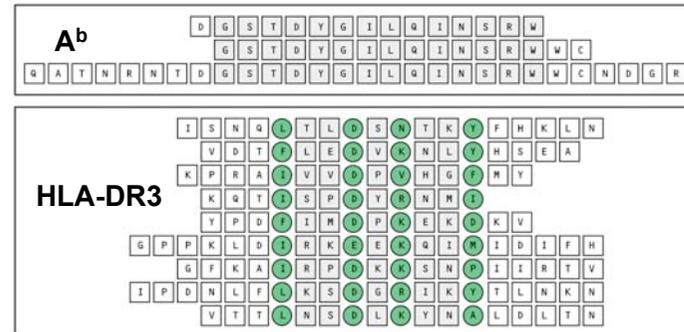


Figure 3-26 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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

### Liaison du TCR au complexe pCMH

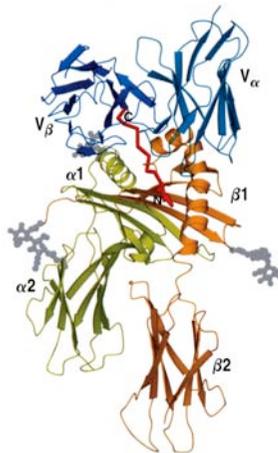


Figure 3-28 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

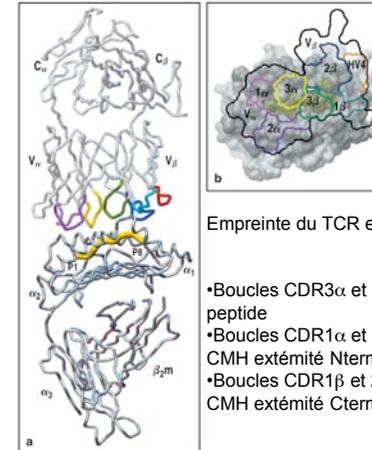
### Affinité de liaison du TCR au complexe pCMH

- Affinité d'un TCR pour le complexe p-CMH spécifique faible (AC réponse I<sup>aire</sup>):  $K_D = \frac{[TCR]}{[p-CMH] \cdot [TCR-p-CMH]}$  entre 1 et 100  $\mu$ M
- 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 $\epsilon$  (étape précoce de la signalisation)

## Liaison du TCR au complexe pCMH

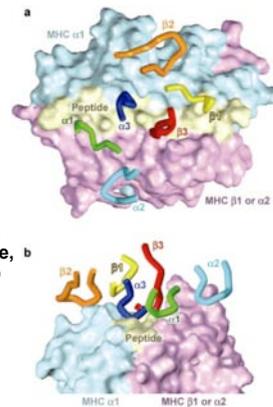


Empreinte du TCR en surface du pCMH:

- Boucles CDR3 $\alpha$  et 3 $\beta$  → centre du peptide
- Boucles CDR1 $\alpha$  et 2 $\alpha$  → hélices  $\alpha$  du CMH extrémité Nterm du peptide
- Boucles CDR1 $\beta$  et 2 $\beta$  → hélices  $\alpha$  du CMH extrémité Cterm du peptide

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

## Liaison du TCR au complexe pCMH

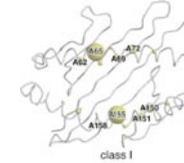


mouse TCR bound to the MHCII protein, IA<sup>b</sup>, engaged by the peptide, 3K FEAQKAKANKAVD

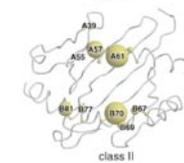
Marrack P, et al. 2008. Annu. Rev. Immunol. 26:171-203

## Liaison du TCR au complexe pCMH

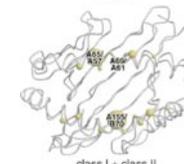
CMH I



CMH II



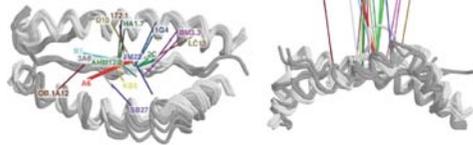
CMH I + CMH II



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

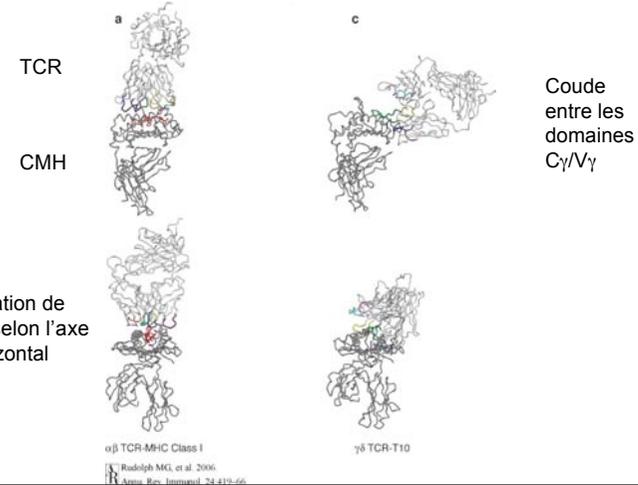


Rudolph MG, et al. 2006. Annu. Rev. Immunol. 24:419-66

Inclinaison globale du TCR par rapport au pCMH

2 axes colorés sont figurés pour chaque TCR: domaine V $\alpha$  et domaine V $\beta$

## Liaison du TCR au complexe pCMH



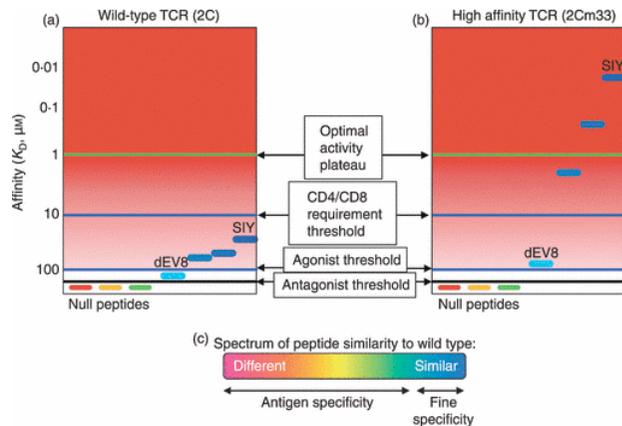
## La cross-réactivité

- Interaction TCR/p-CMH
  - Flexibilité +++
  - Un TCR peut reconnaître jusqu'à 10<sup>5</sup> 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)

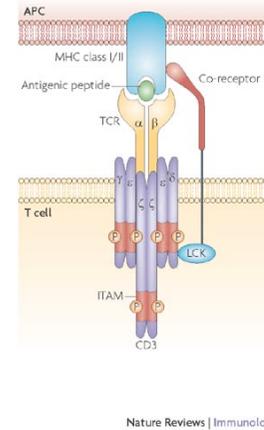
## De l'engagement du TCR à l'activation T

- 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<sub>D</sub>)
- 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

