

# 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

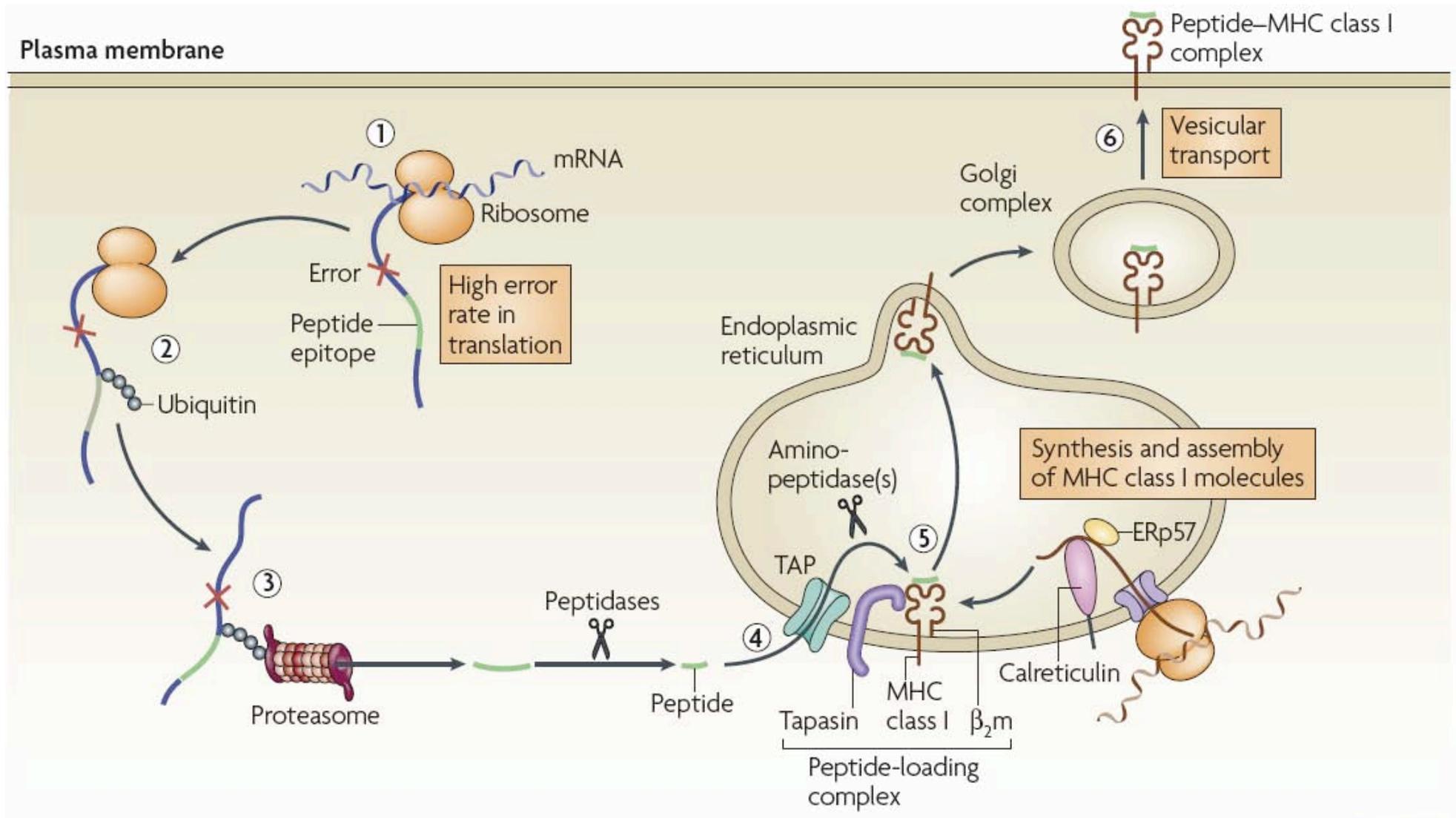
# Introduction

- 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

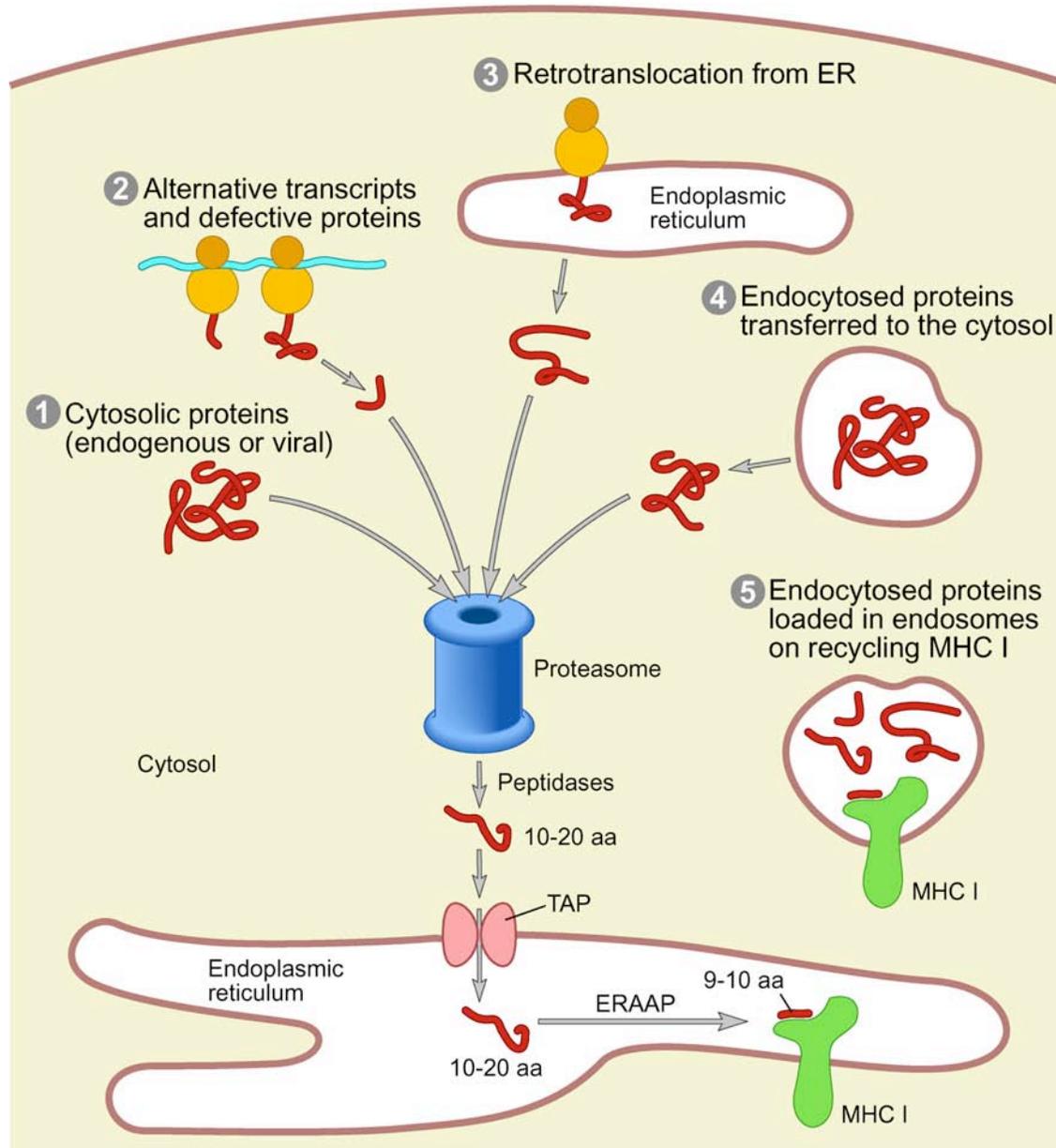
# Chargement et présentation des antigènes par les CMH de classe I



Nature Reviews | Immunology

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

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



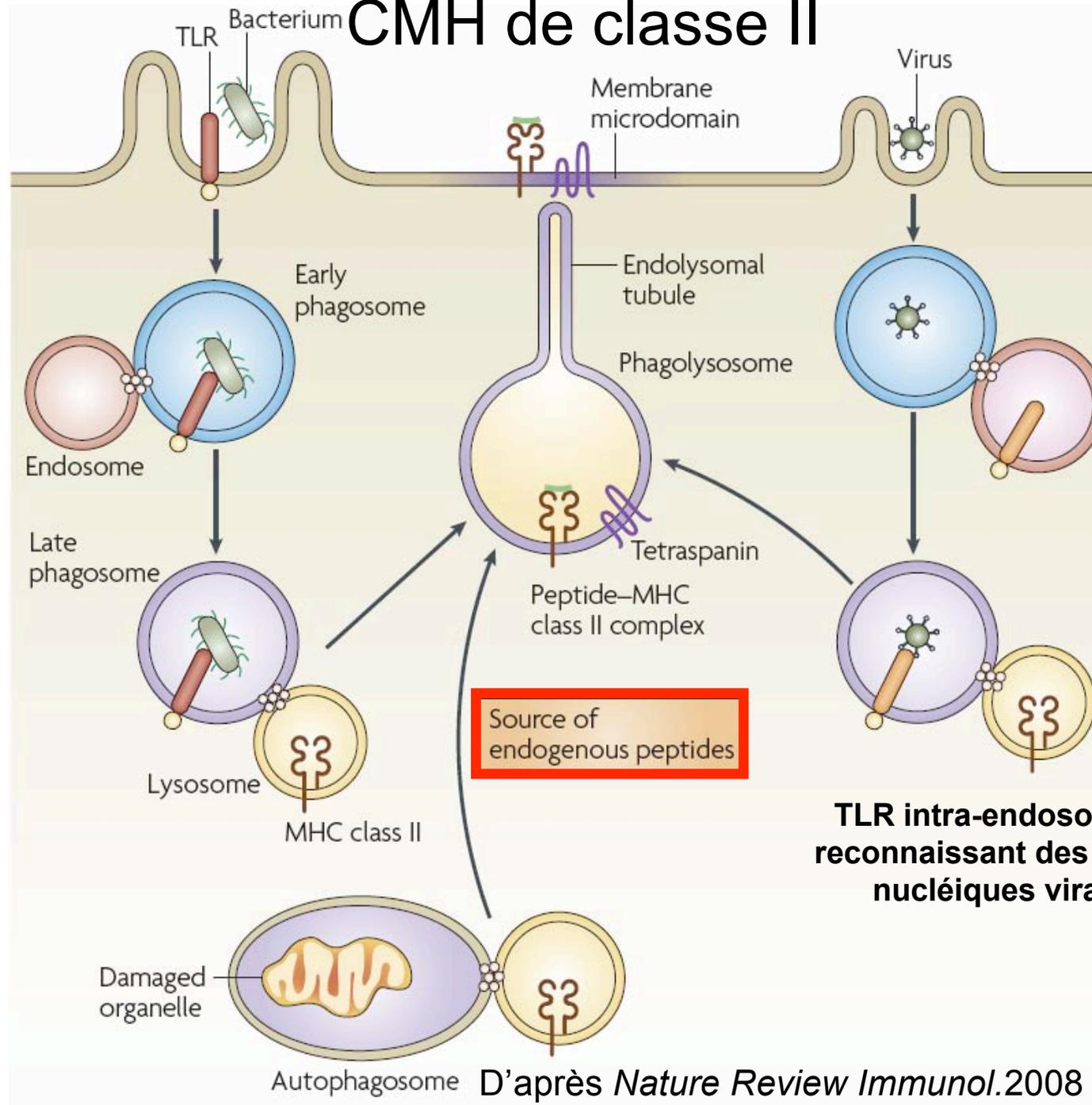
**4 et 5  
protéines  
exogènes**

# 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 endolysosomiaux

# Les différentes sources d'antigènes pour les

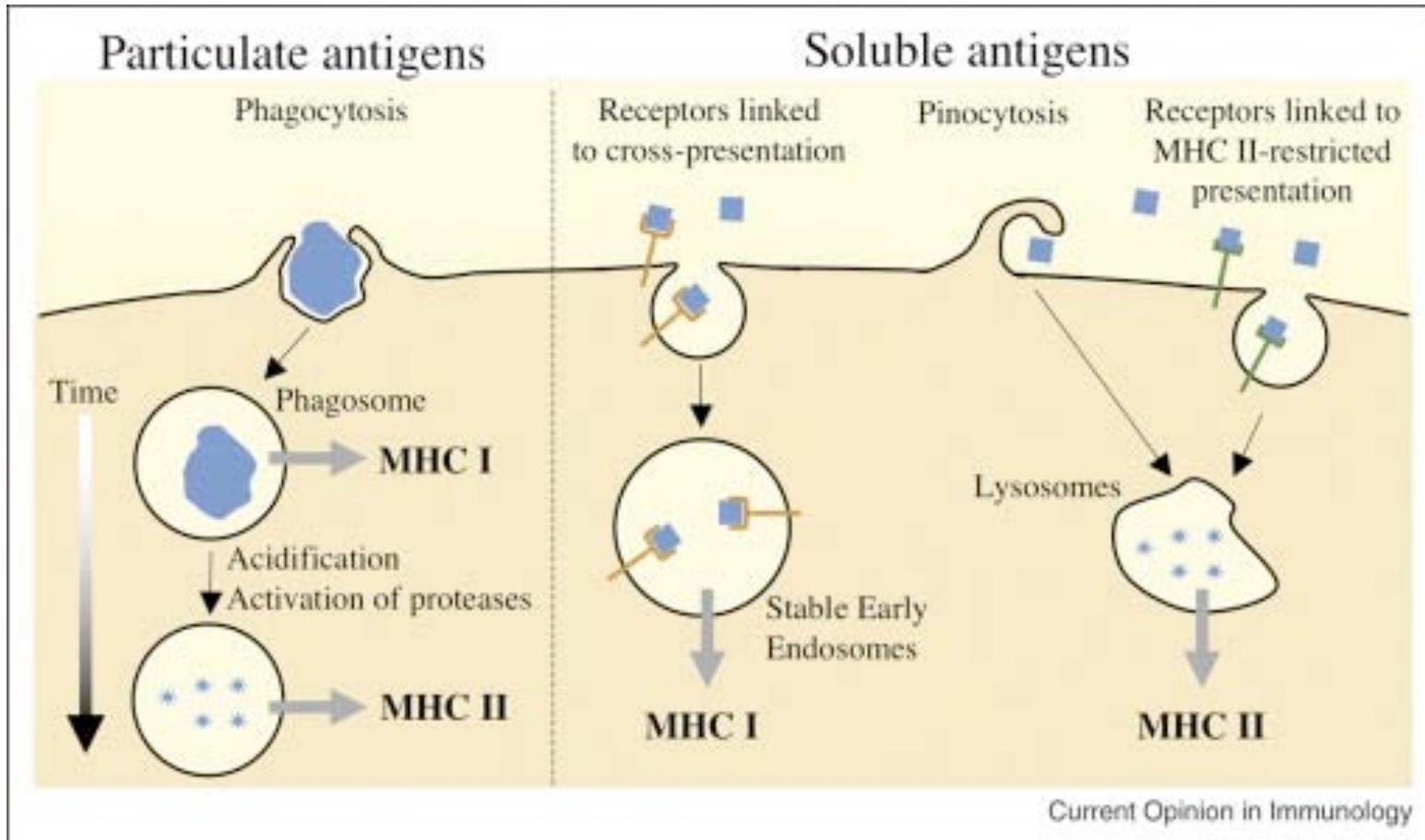
## CMH de classe II



# Les voies de la présentation croisée

- AG solubles ou particulaires 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 > M $\phi$ : 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:

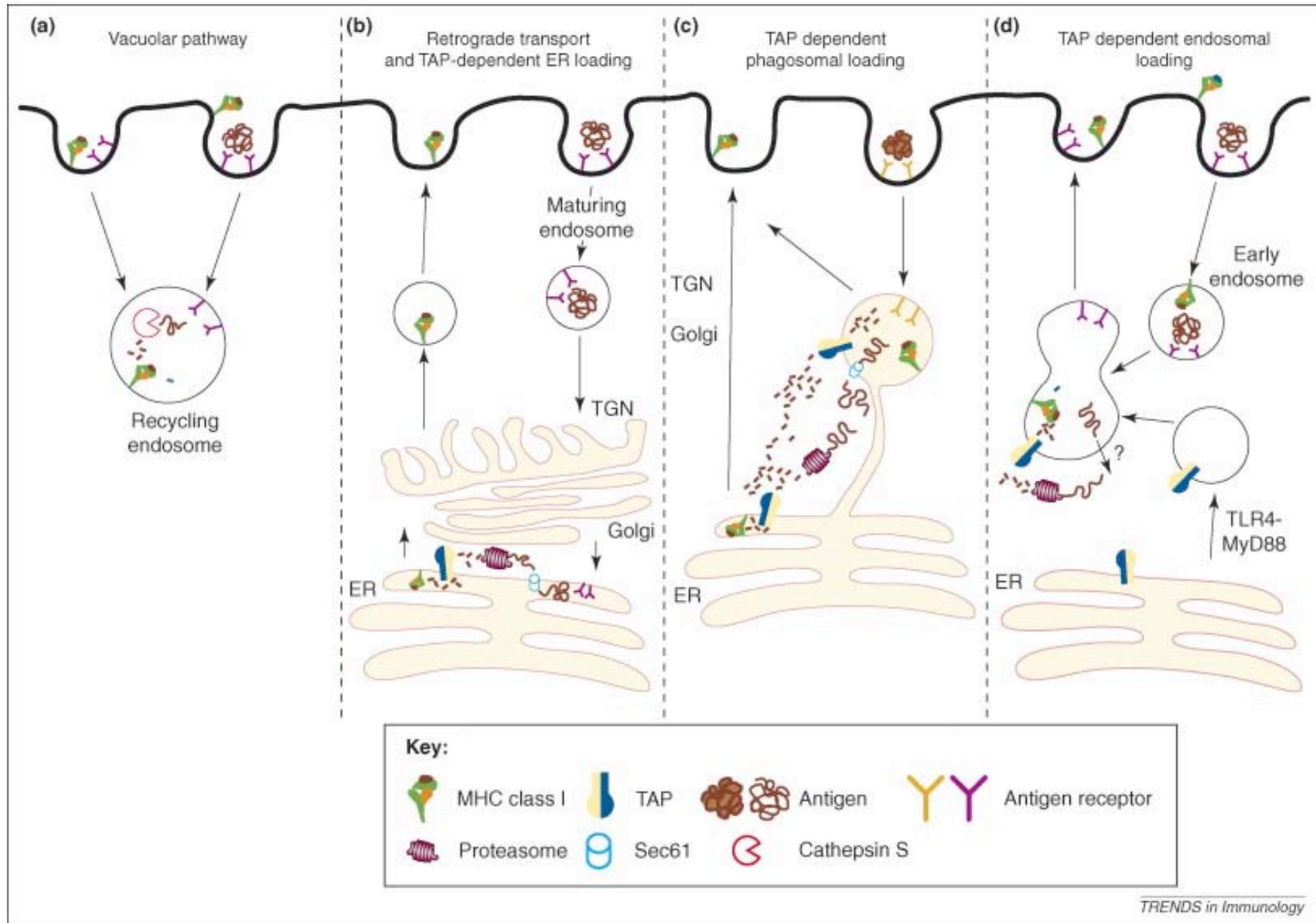
- Voies dépendantes des TAP et du protéasome: les AGs doivent atteindre le cytosol

- 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 CMHI/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.

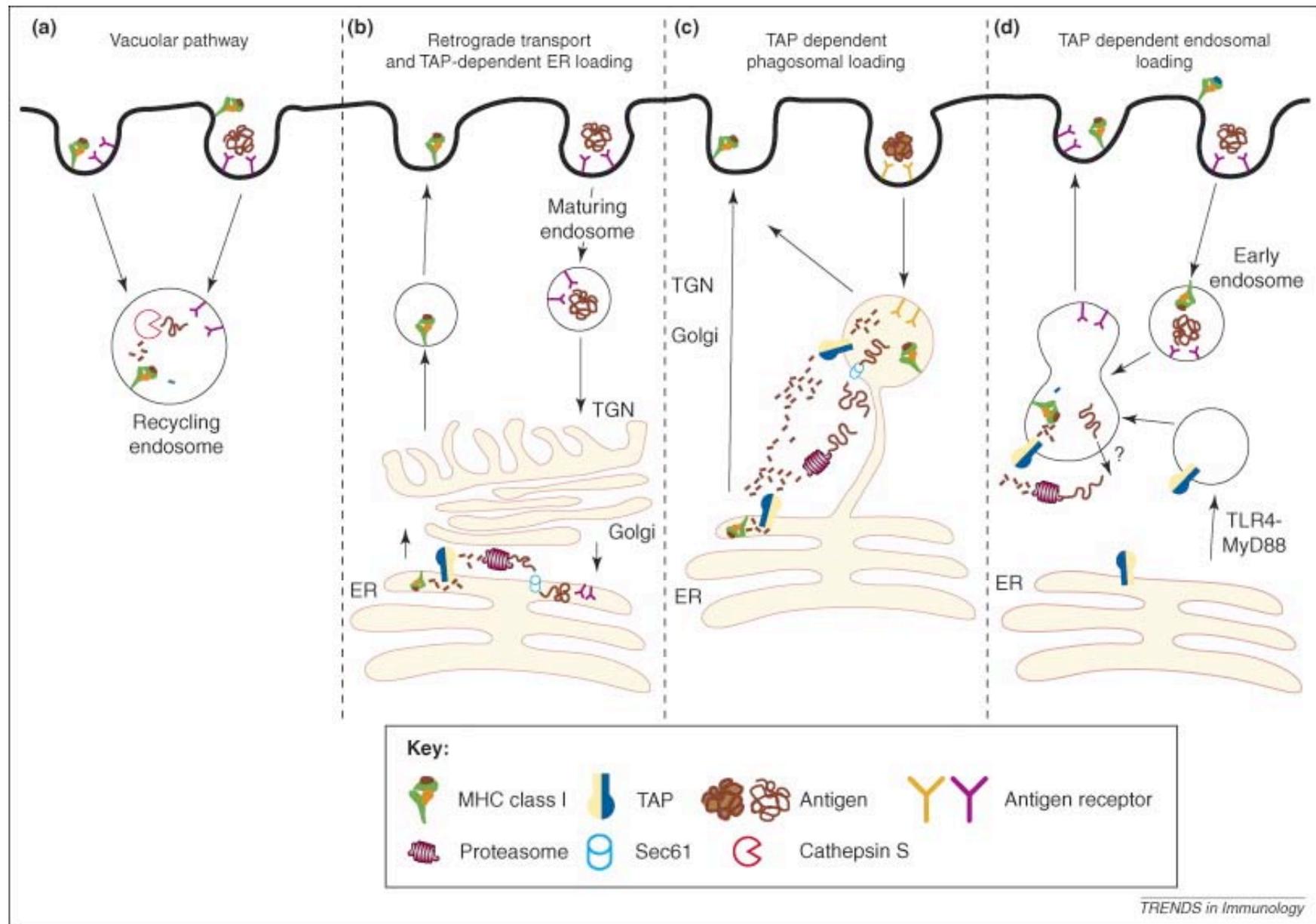
# Les voies de la présentation croisée



# 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 .

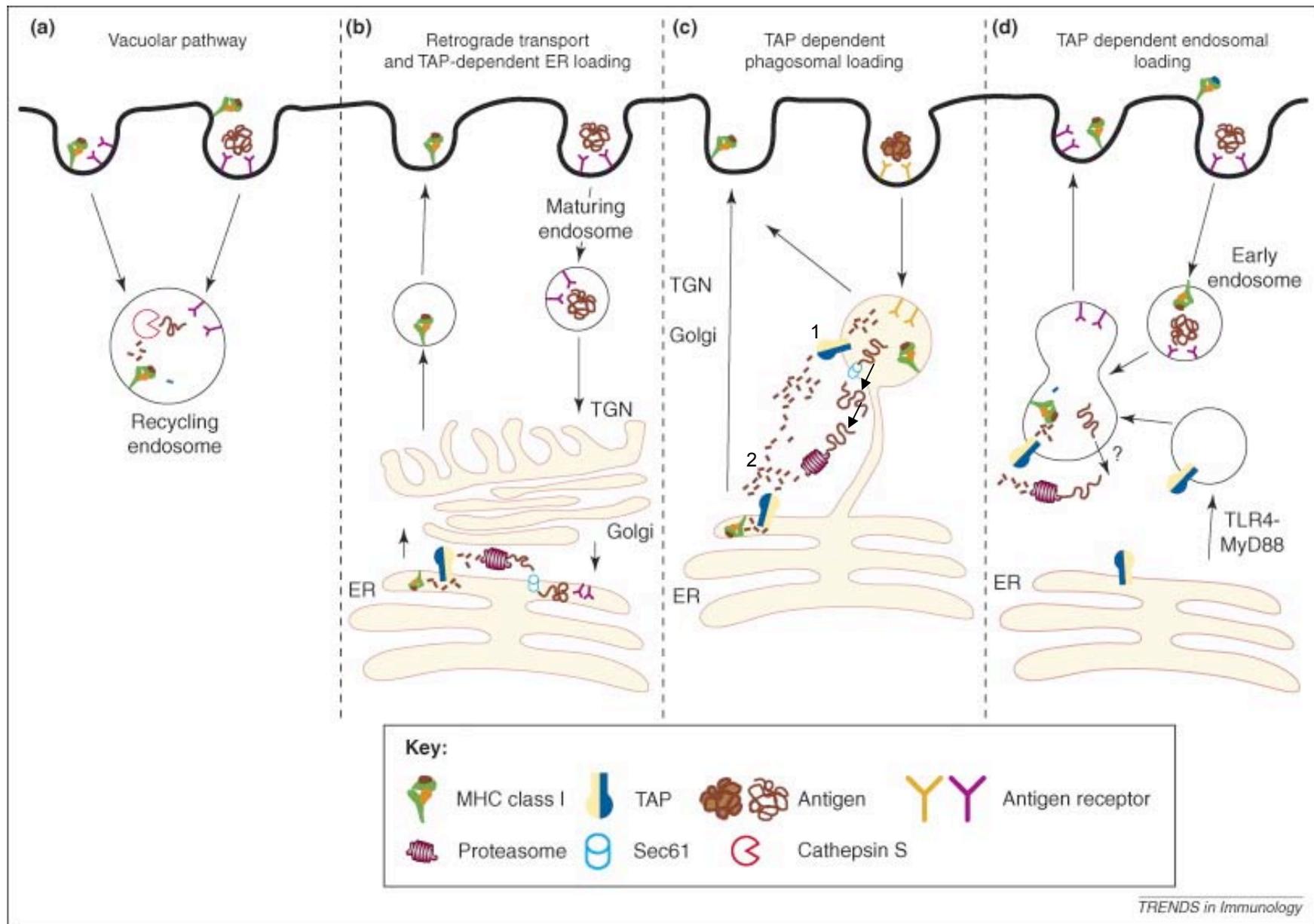
# Les voies de la présentation croisée



# 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)

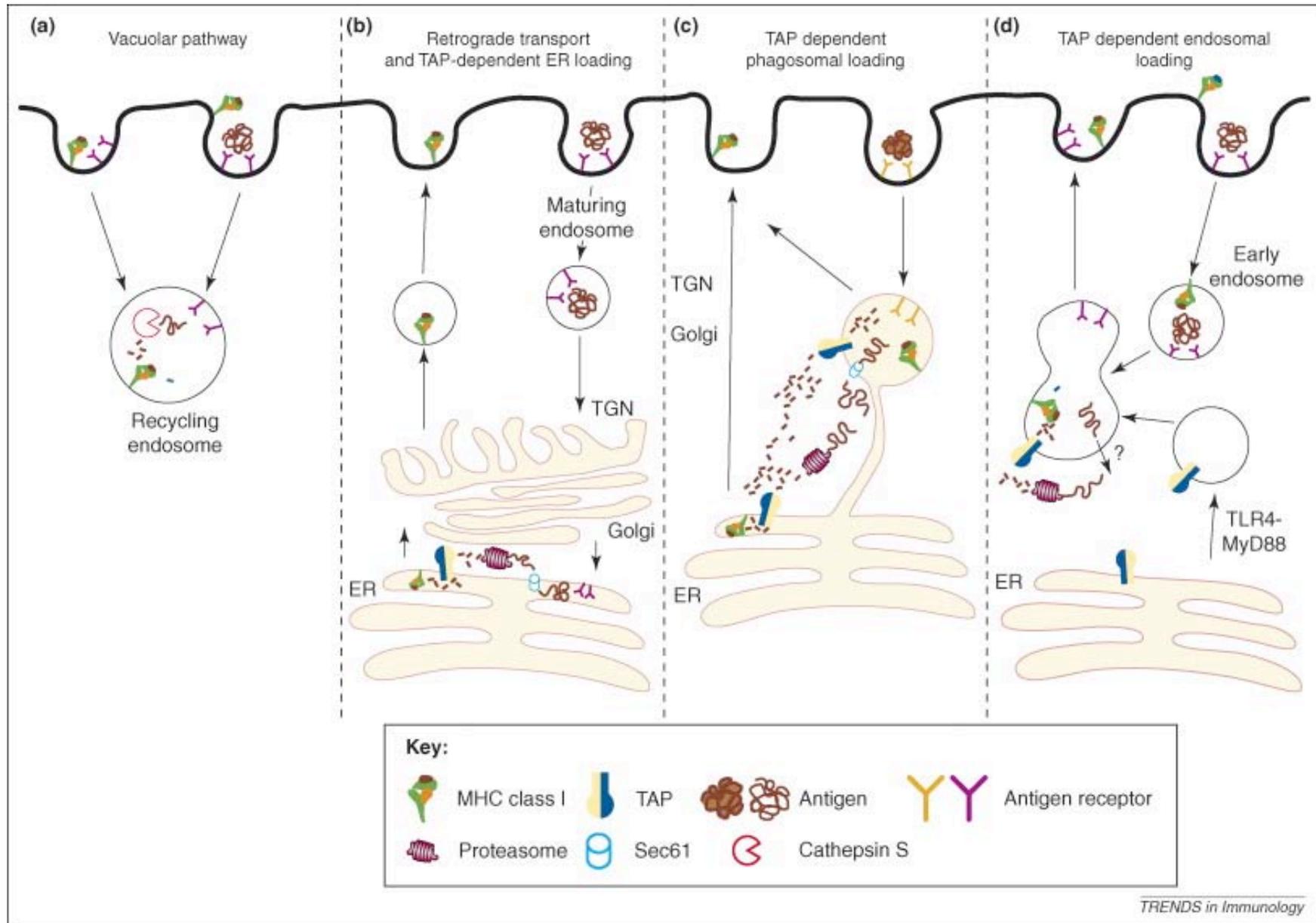
# Les voies de la présentation croisée



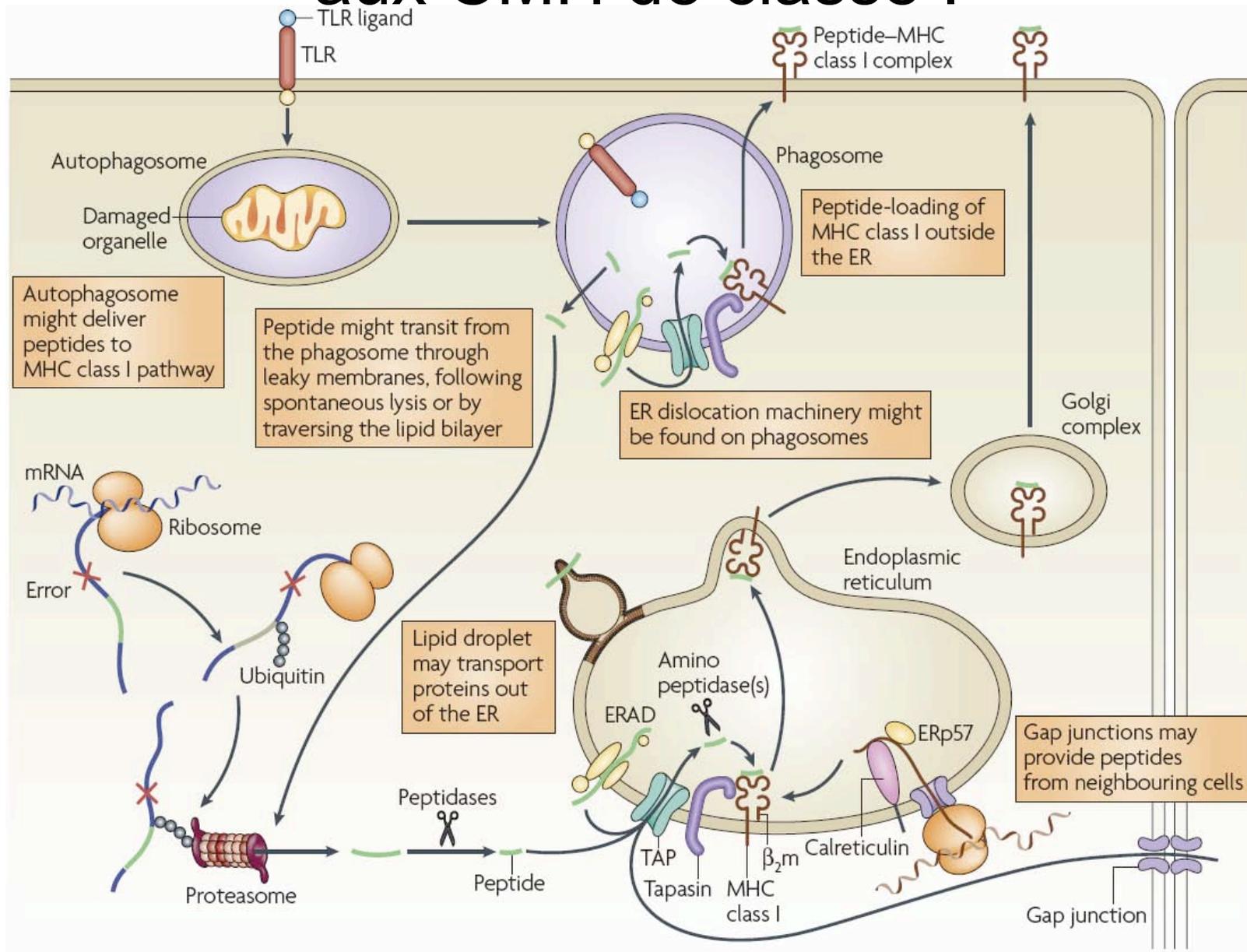
# Les voies de la présentation croisée

- 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



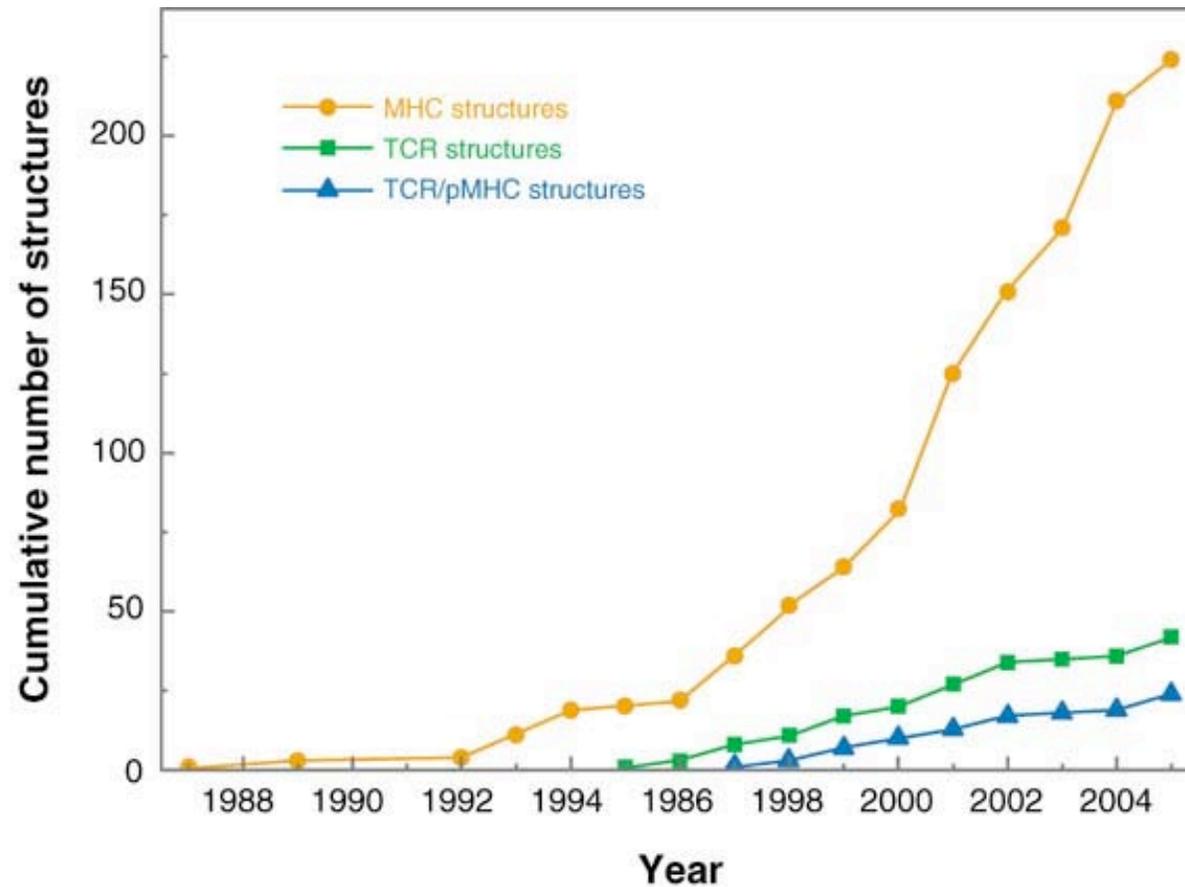
# Les voies d'accès possibles des peptides aux CMH de classe I



Nature Reviews | Immunology

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 feuilletts  $\beta$  anti parallèles.

# Structure du CMHI

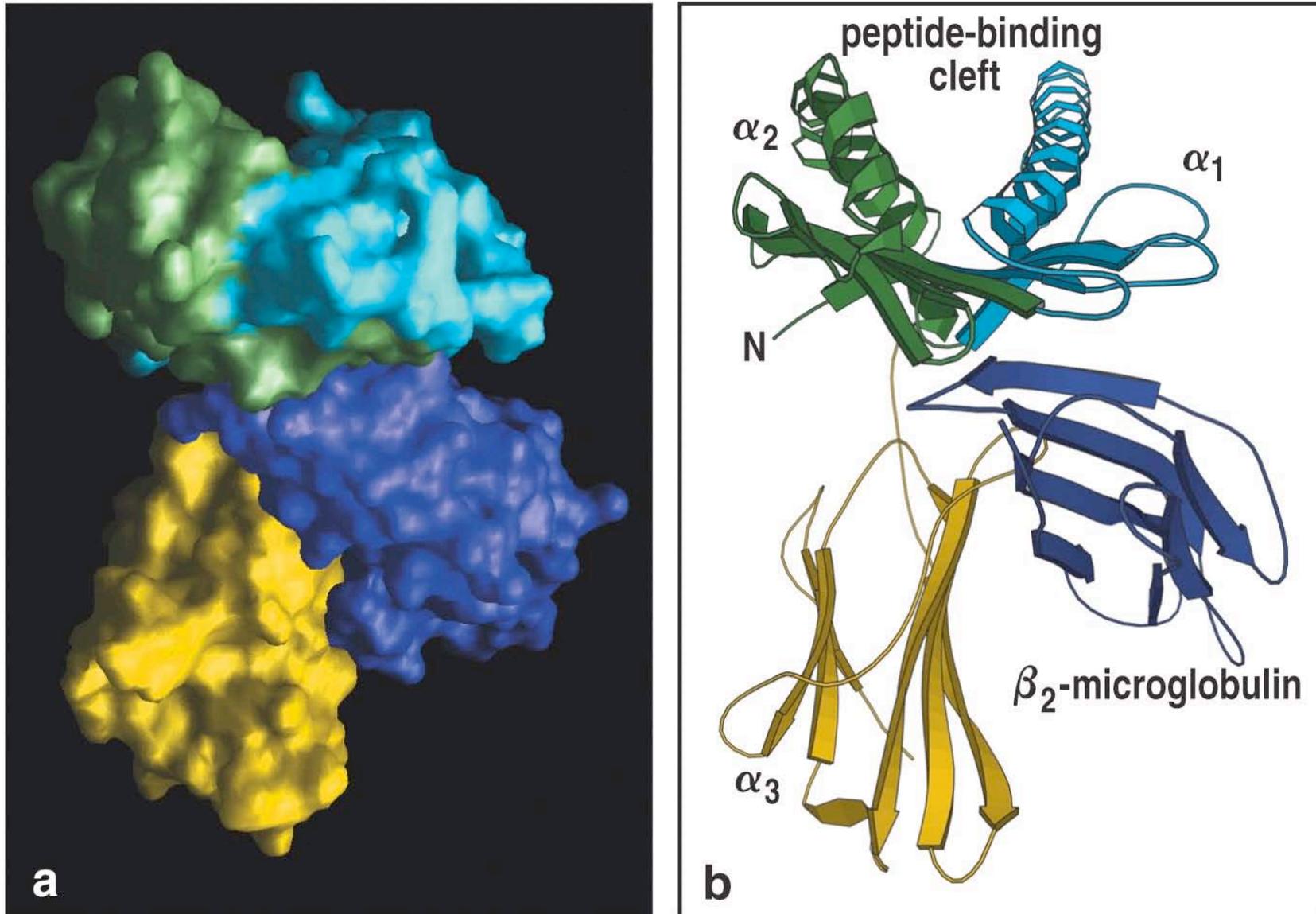


Figure 3-20 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Structure du CMHI

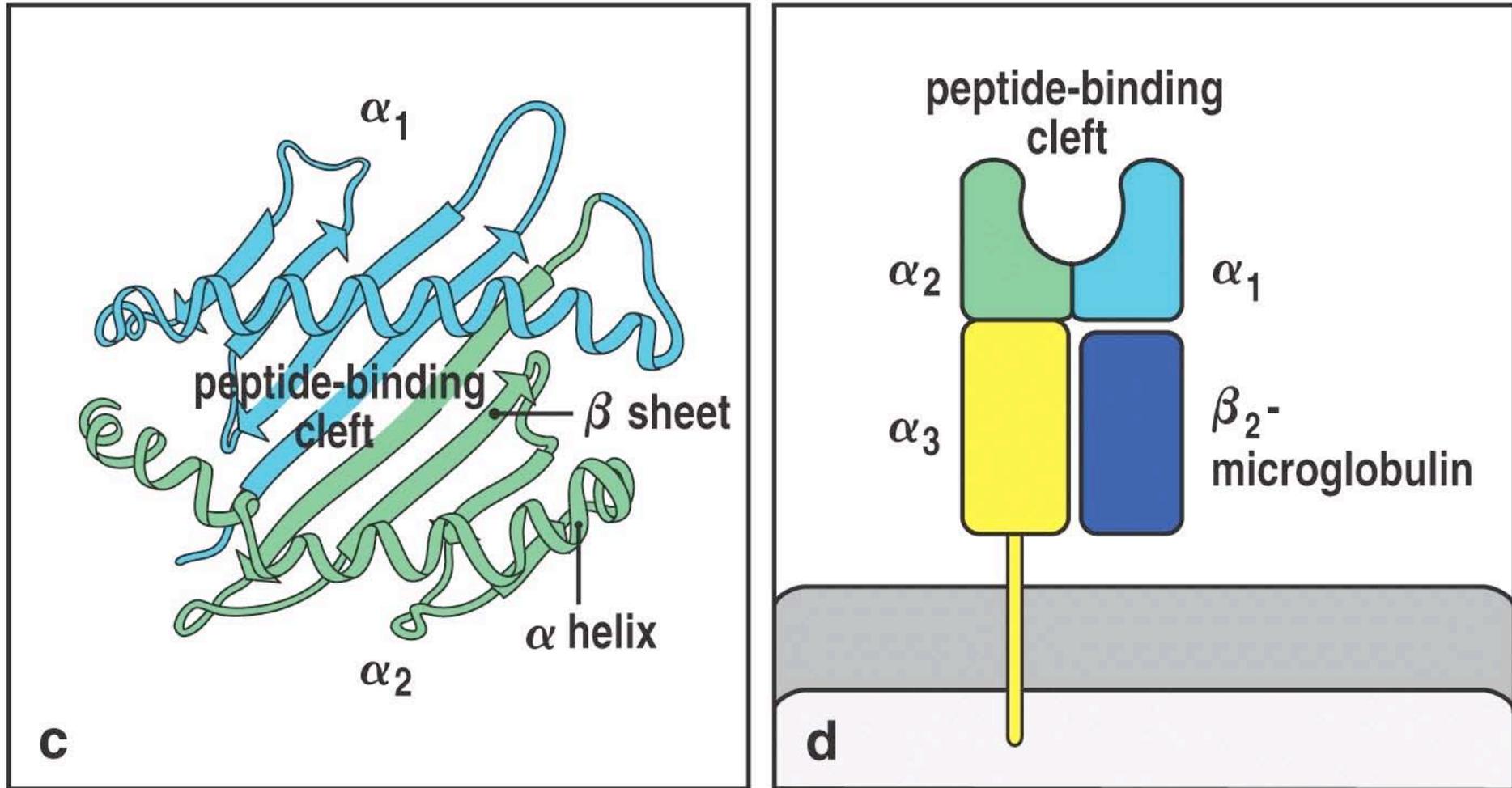


Figure 3-20 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Structure du CMHII

- 2 chaînes glycoprotéiques transmembranaires
  - chaîne  $\alpha$  (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 feuilletts  $\beta$  anti parallèles. Contrairement au CMHI, la poche est ouverte à ses extrémités.

# Structure du CMHII

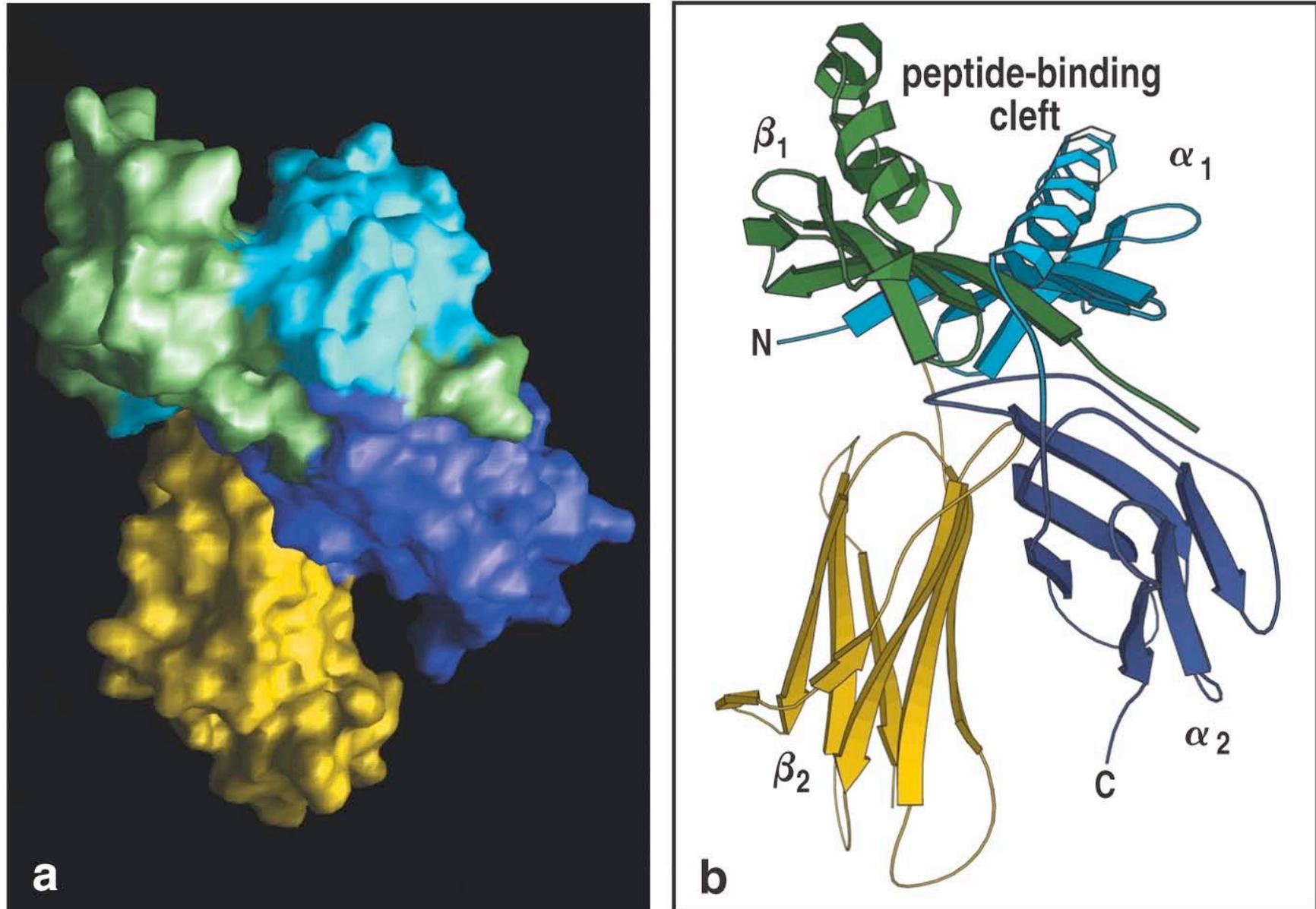


Figure 3-21 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Structure du CMHII

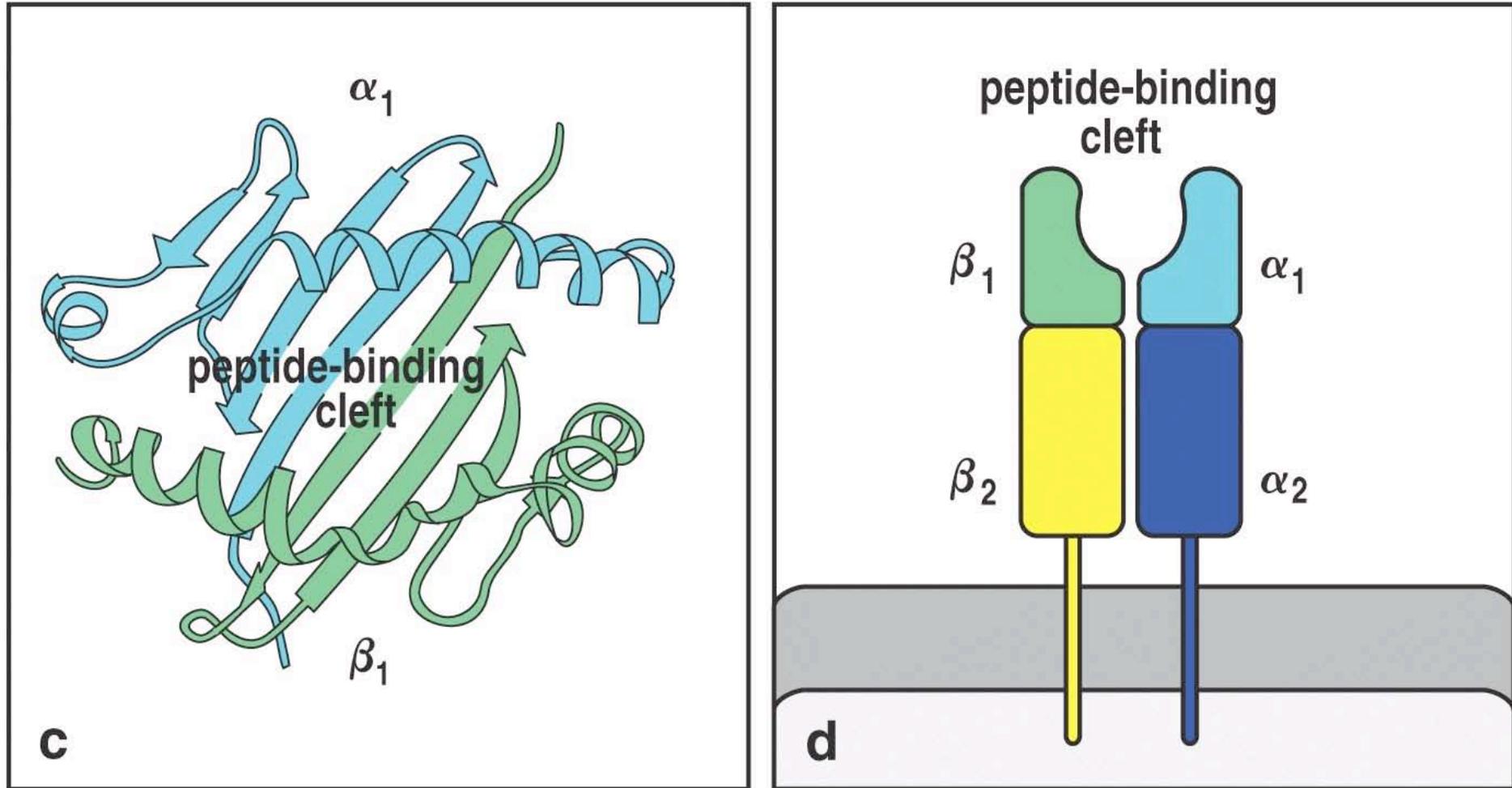
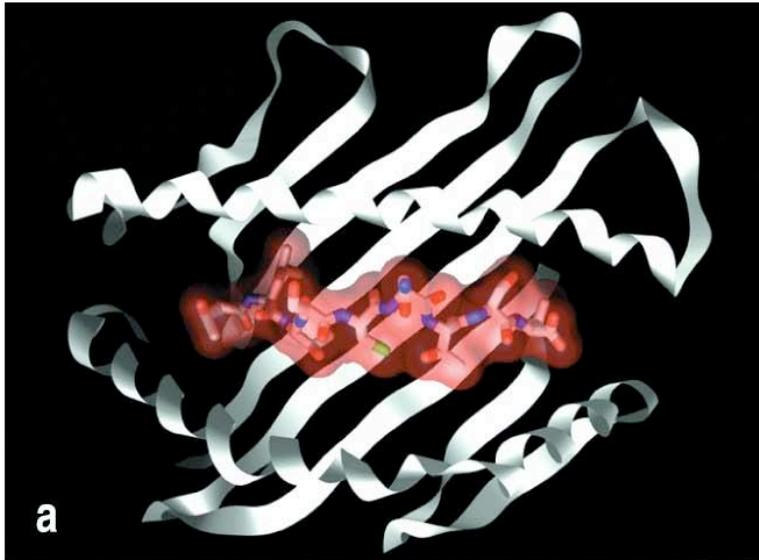


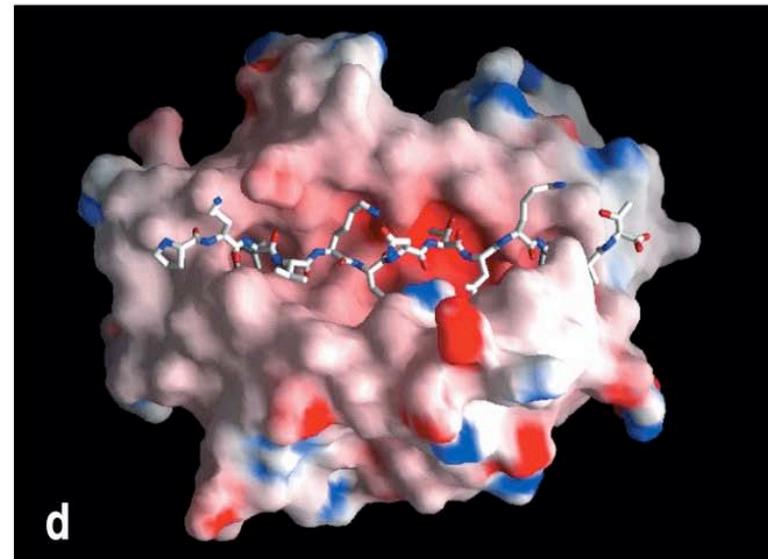
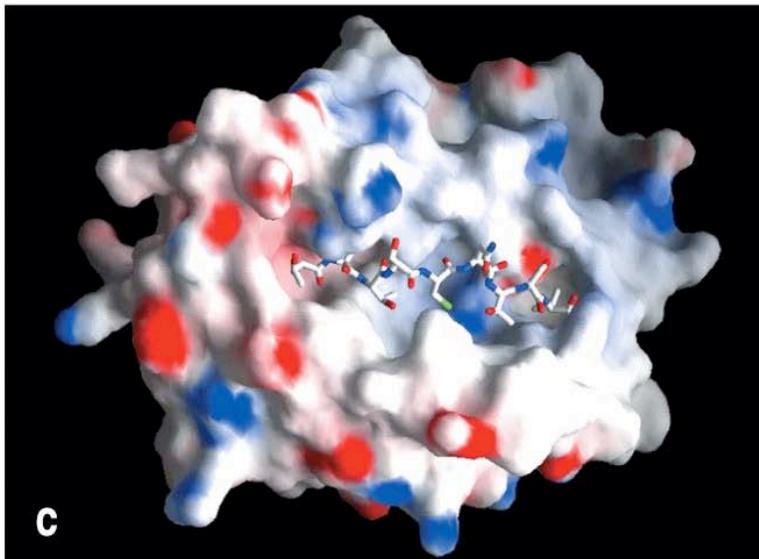
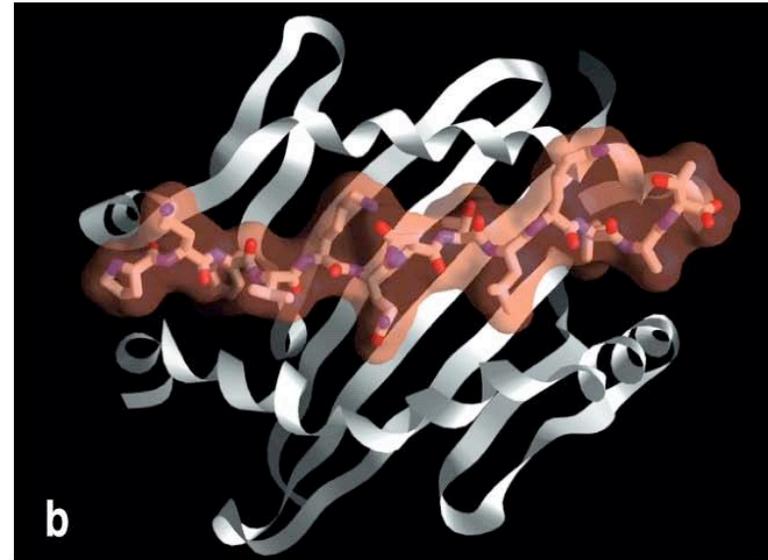
Figure 3-21 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Le complexe CMH-peptide

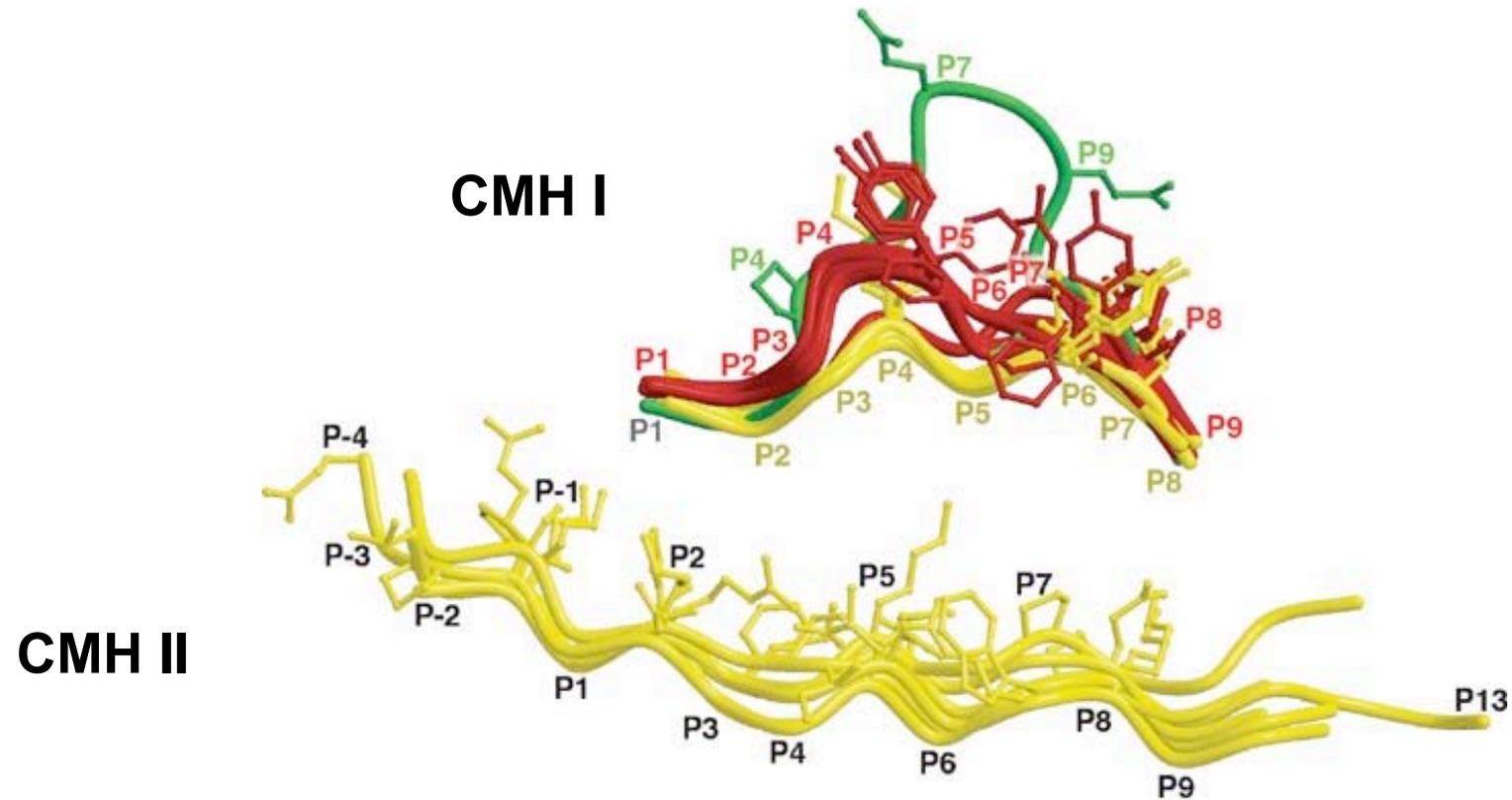
CMH I



CMH II



# Le complexe CMH-peptide



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

# 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

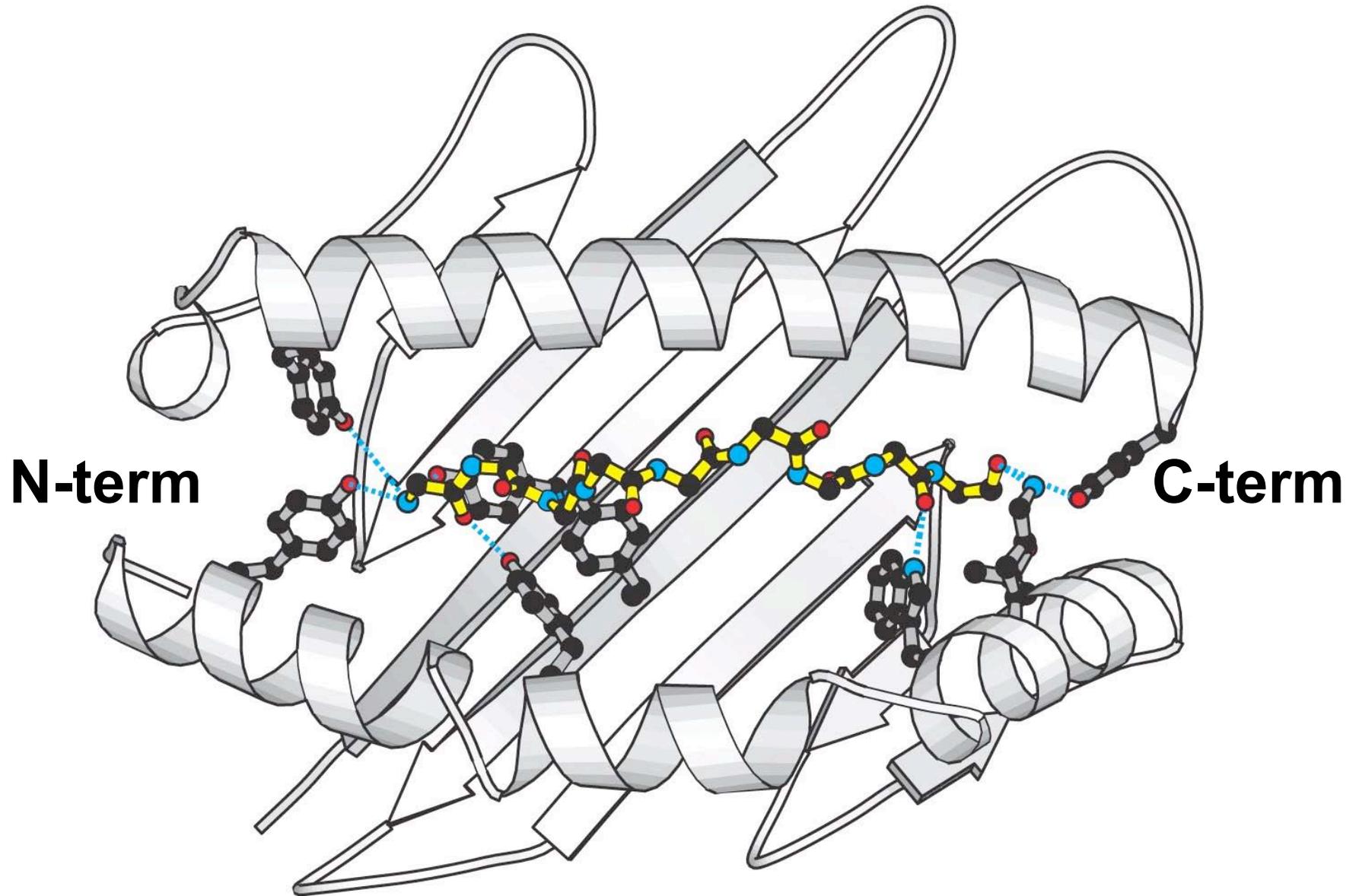


Figure 3-23 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Le complexe pCMH I

Acides aminés d'ancrage

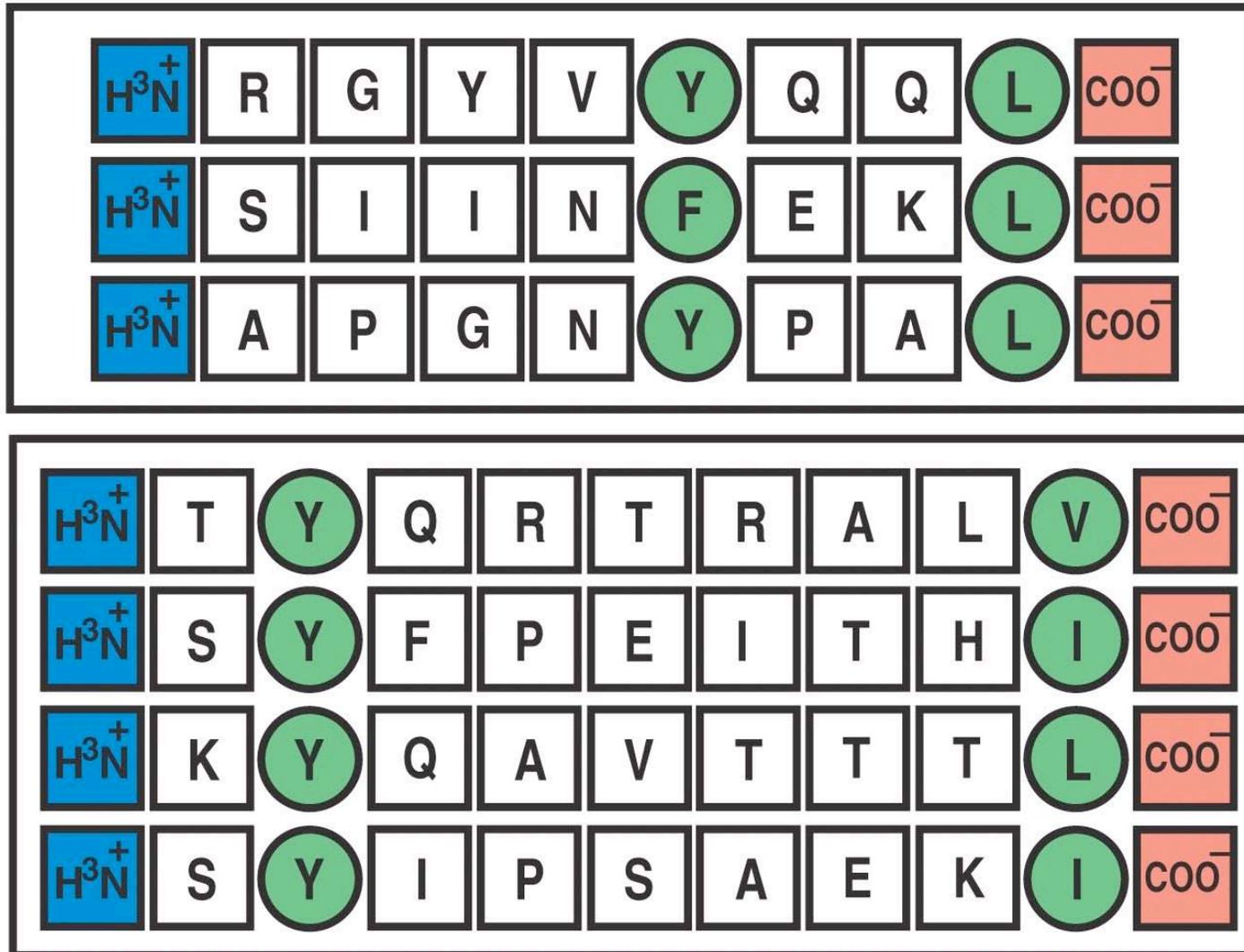


Figure 3-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# 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

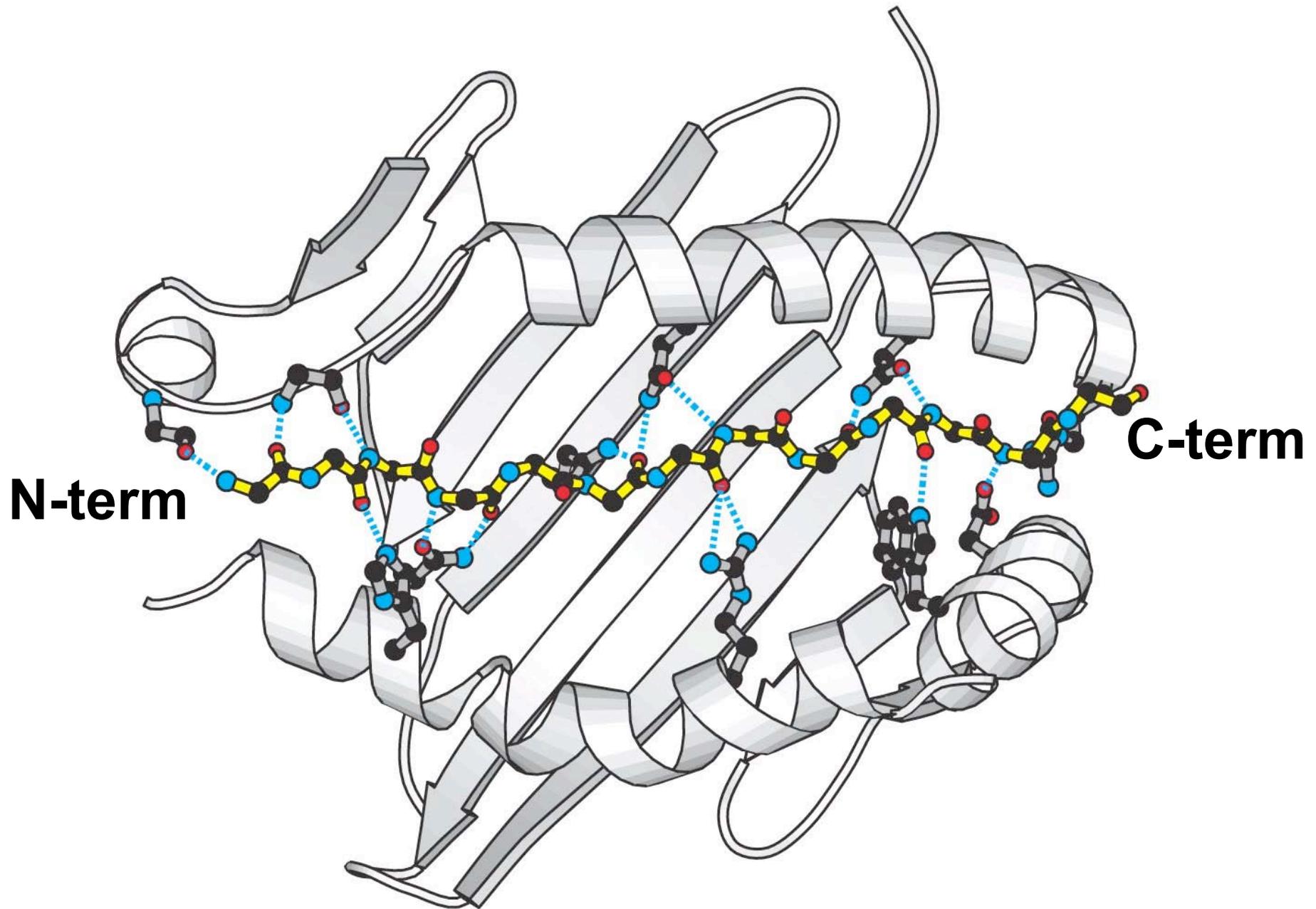


Figure 3-25 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Le complexe pCMH II

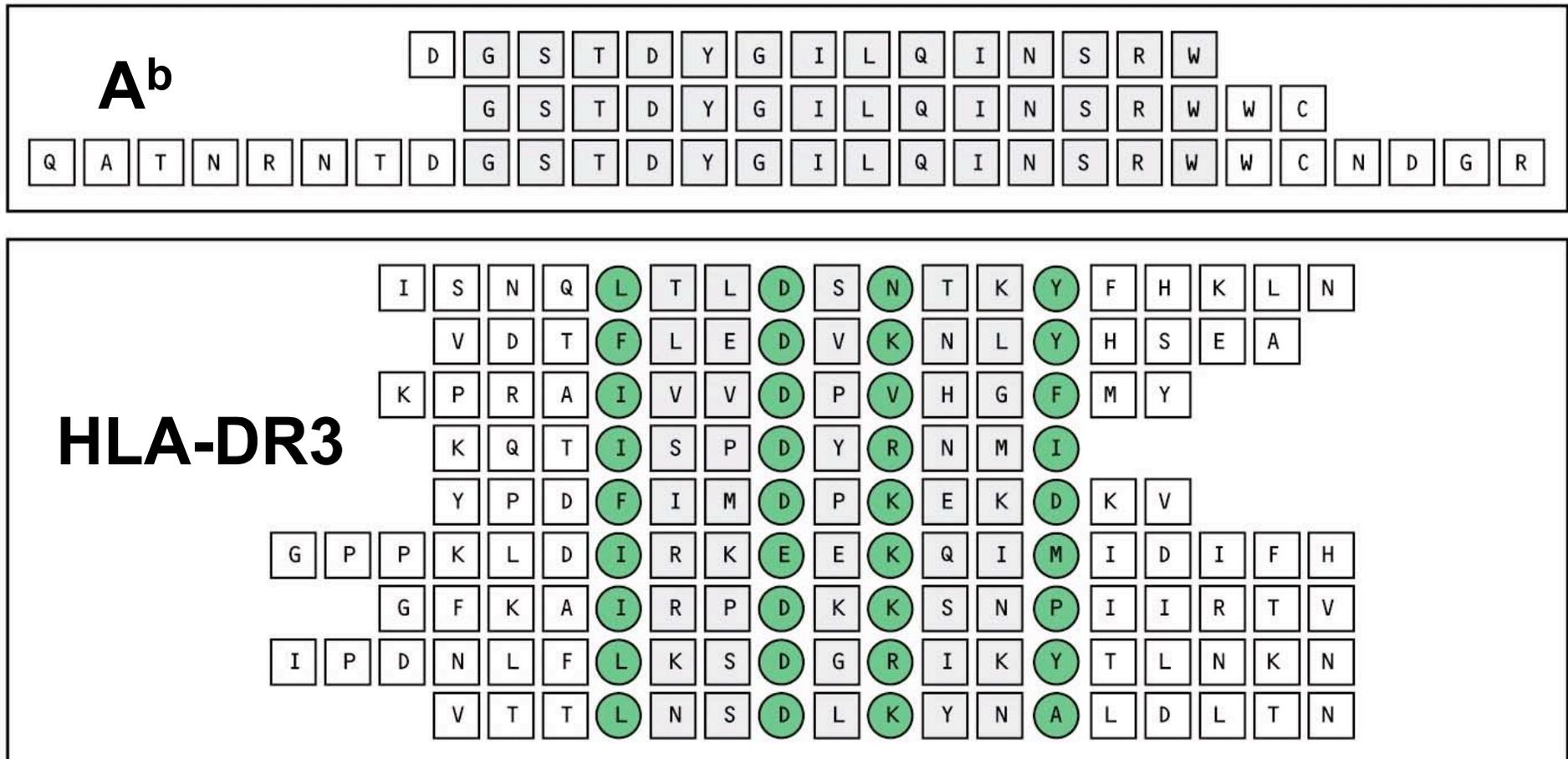


Figure 3-26 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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

# Liaison du TCR au complexe pCMH

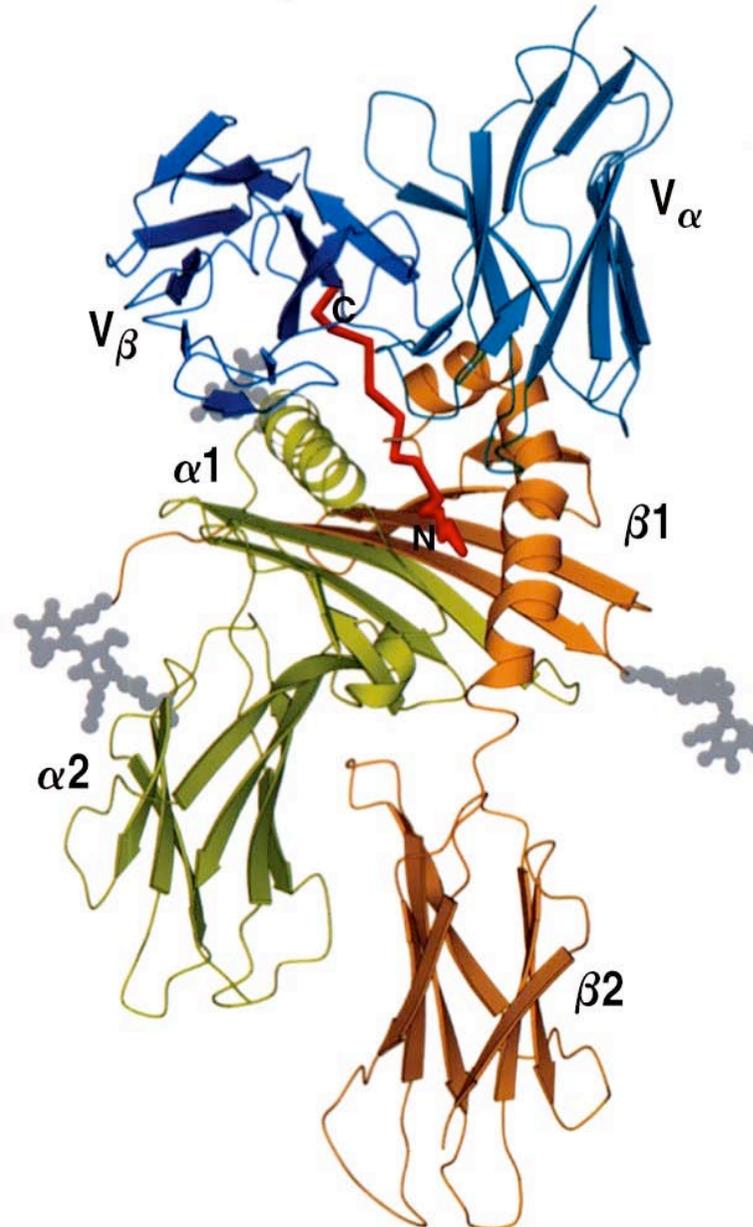


Figure 3-28 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

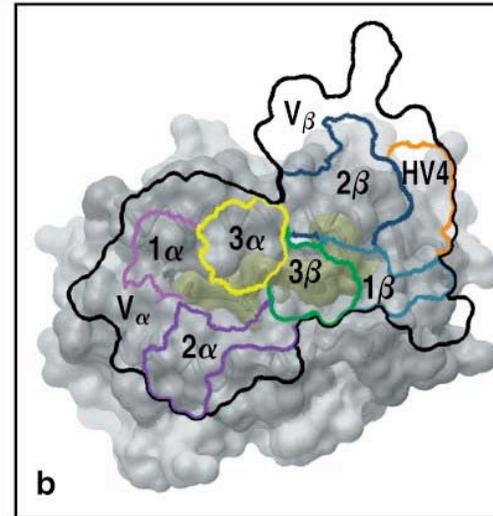
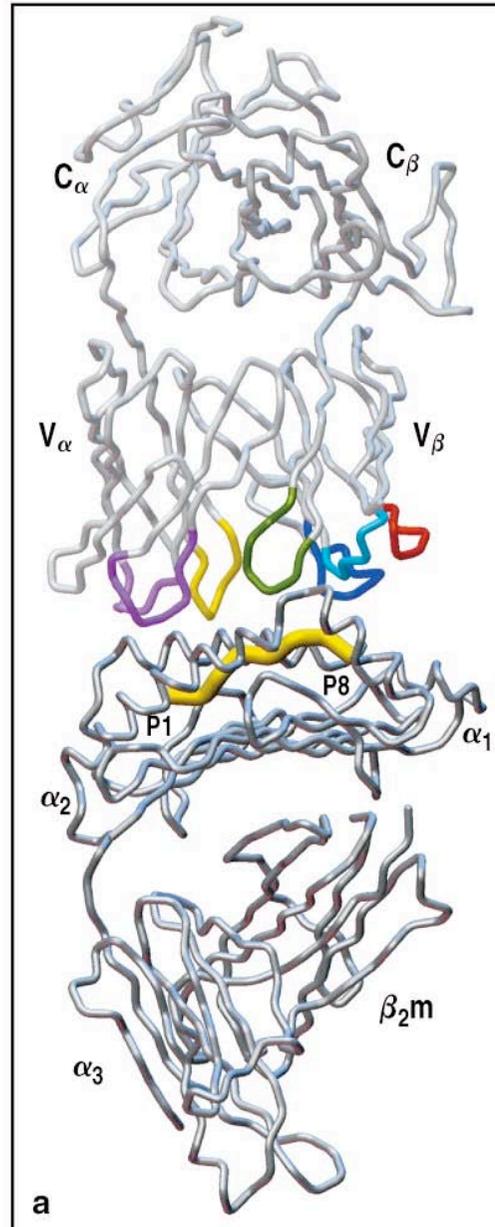
# Affinité de liaison du TCR au complexe pCMH

- Affinité d'un TCR pour le complexe p-CMH spécifique faible (AC réponse  $I_{aire}$ ):  $K_D = [TCR] [p-CMH] / [TCRp-CMH]$  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)

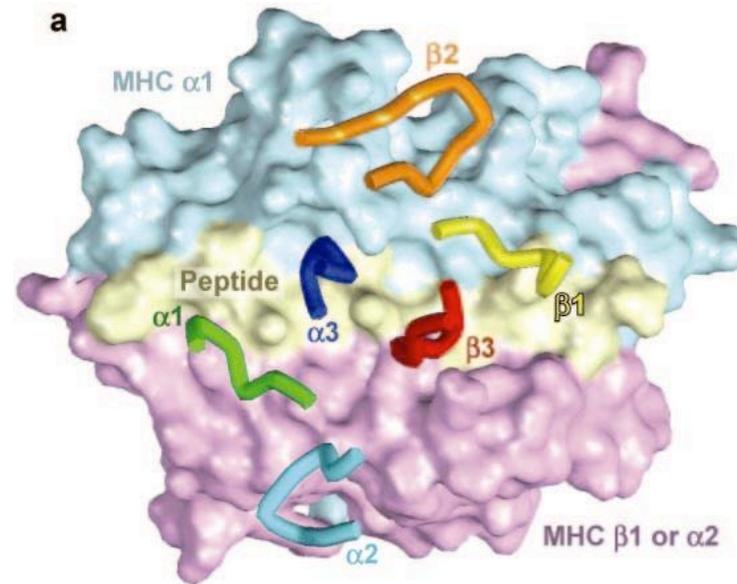
# Liaison du TCR au complexe pCMH



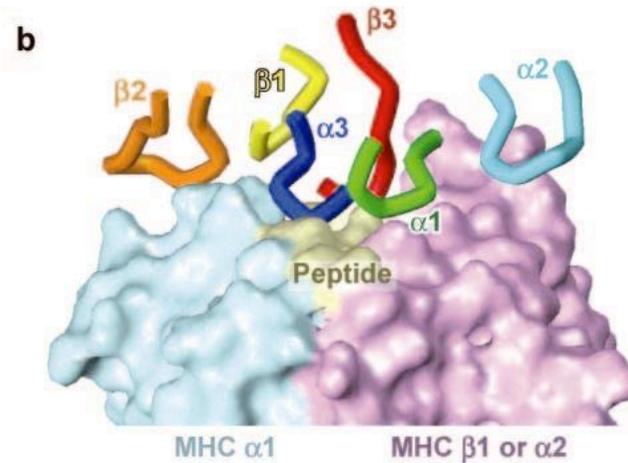
Empreinte du TCR en surface du pCMH:

- 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

# Liaison du TCR au complexe pCMH

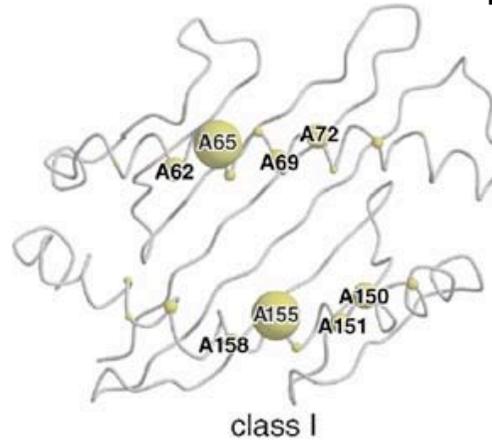


mouse TCR bound to  
the MHCII protein, IA<sup>b</sup>,  
engaged by the peptide,  
3K FEAQKAKANKAVD

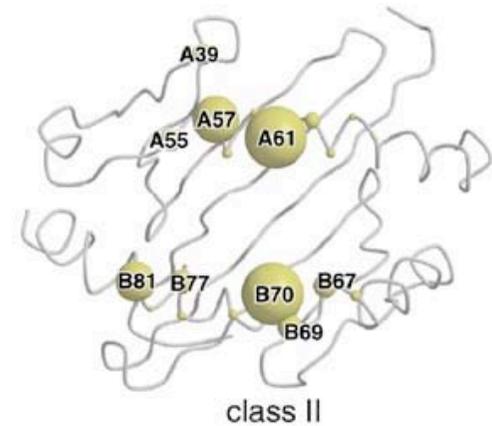


# Liaison du TCR au complexe pCMH

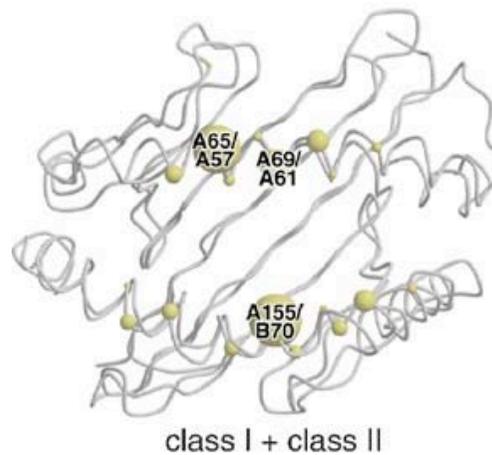
CMH I



CMH II



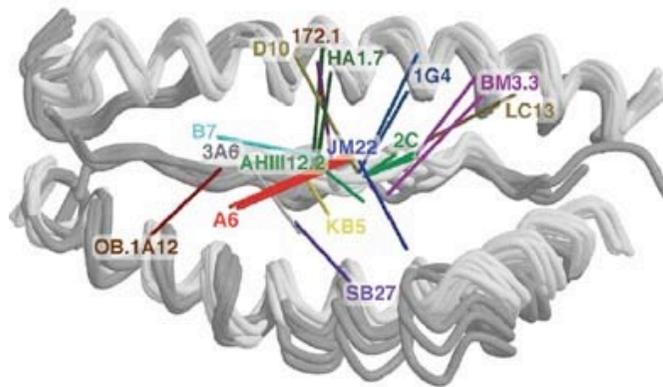
CMH I + CMH II



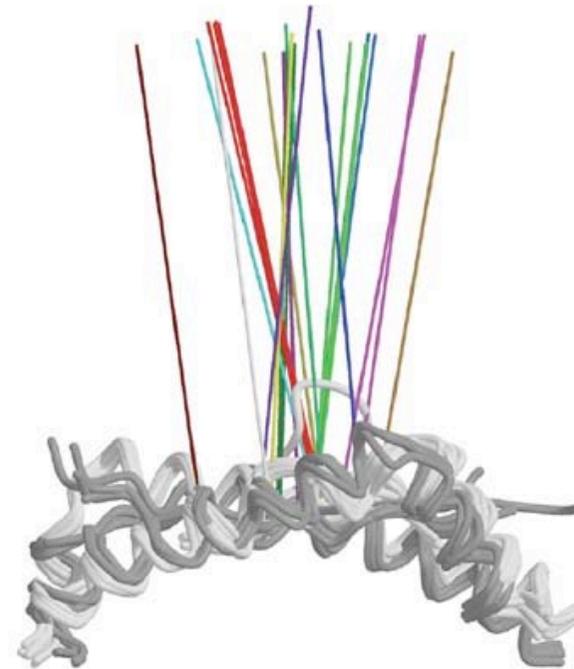
Formation de contacts conservés entre le TCR et les molécules de CMH I et CMH II

# Liaison du TCR au complexe pCMH

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



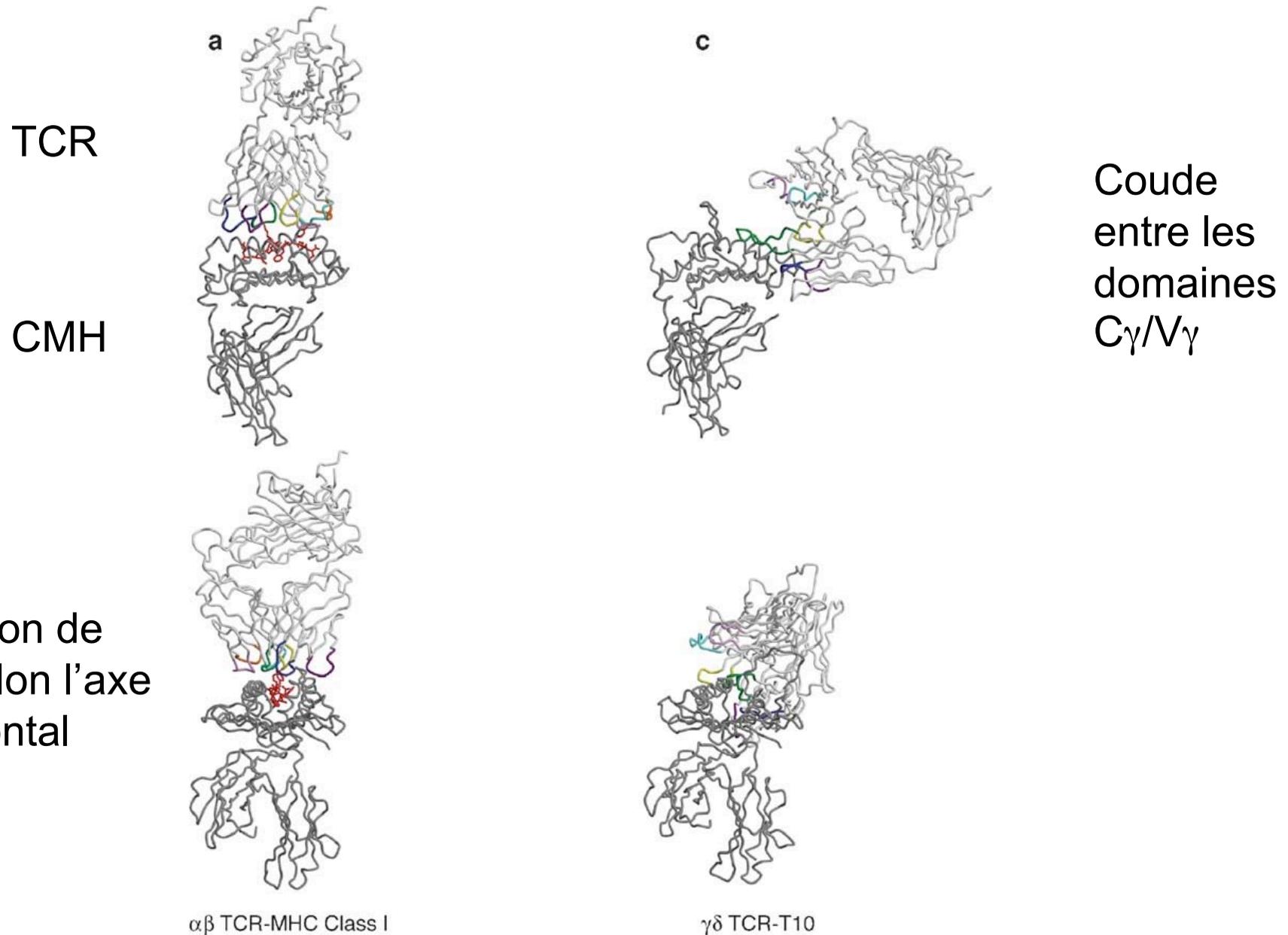
 Rudolph MG, et al. 2006.  
Annu. Rev. Immunol. 24:419-66



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



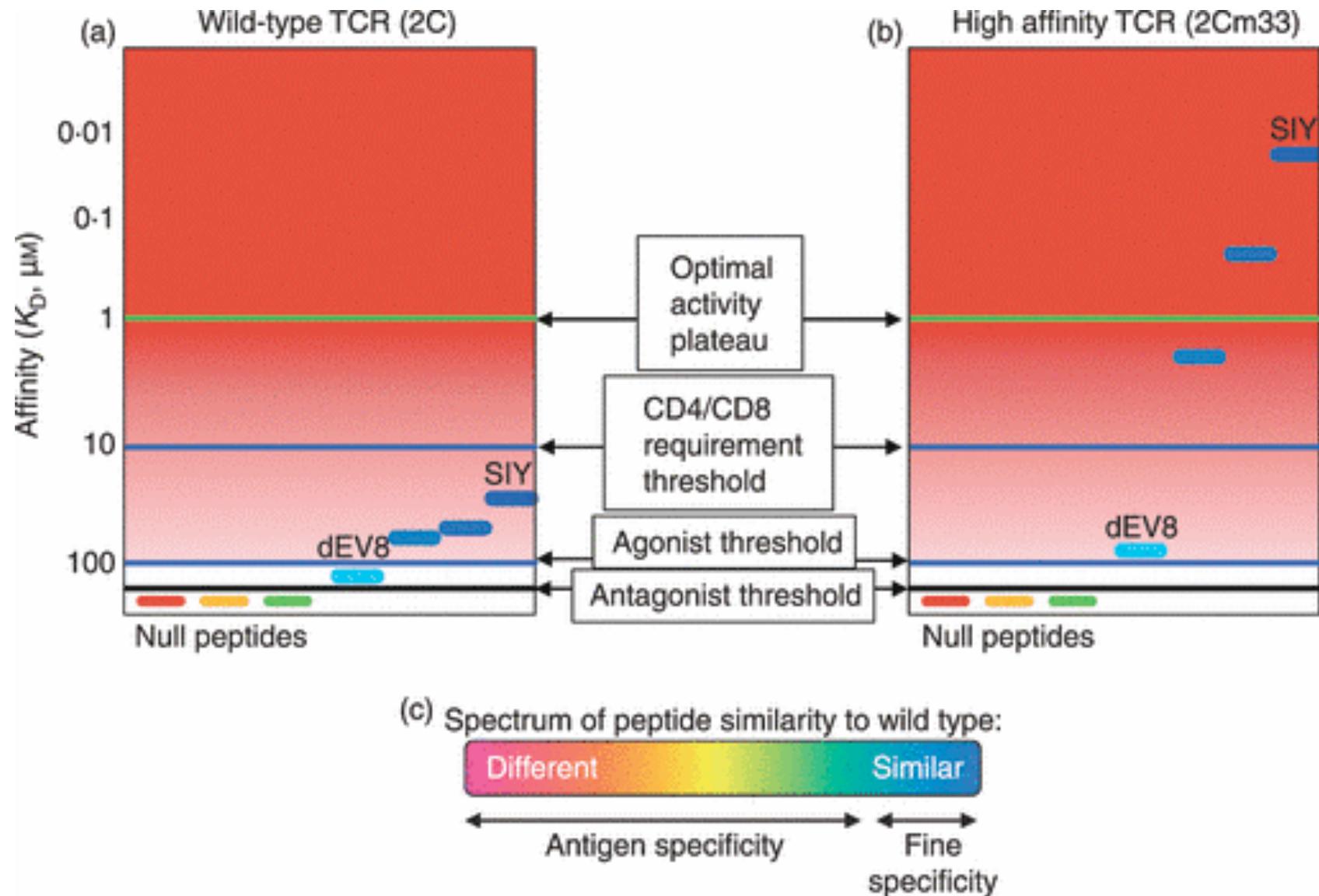
# La cross-réactivité

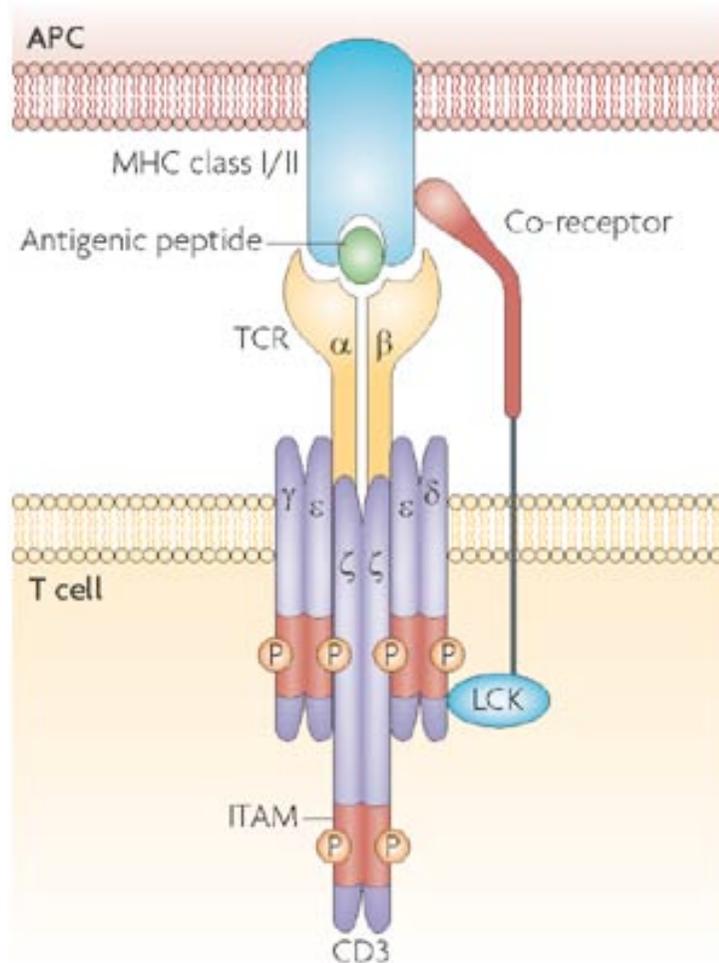
- Interaction TCR/p-CMH
  - Flexibilité +++
  - Un TCR peut reconnaître jusqu'à  $10^5$  p-CMH différents
  - Un seul p-CMH peut activer différentes cellules T
  - Cinétique d'association très lente
- Le TCR a évolué de façon à présenter un degré de cross-réactivité optimal: meilleur compromis entre
  - 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





Nature Reviews | Immunology

-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 affiné peut être activé sans l'aide du co-récepteur

# 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

