

## Chapitre I : Motifs et molécules d'interactions cellulaires

### 1. Les molécules d'adhésion

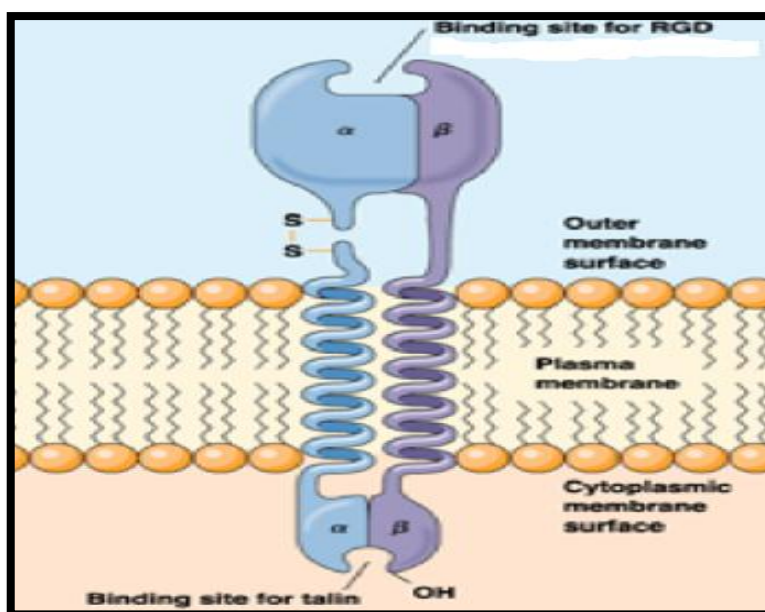
L'endothélium vasculaire joue un rôle important de « gardien », en régulant le mouvement vers les tissus des molécules transportées par le sang et des leucocytes. Pour que les leucocytes circulants pénètrent dans un tissu inflammatoire ou des organes lymphoïdes périphériques, ils doivent adhérer aux cellules endothéliales qui bordent les parois des vaisseaux sanguins puis passer entre ces cellules endothéliales ; ce processus est appelé diapédèse. Les cellules endothéliales expriment des CAMs. Certaines de ces protéines membranaires sont exprimées de façon constitutive ; d'autres ne le sont qu'en réponse à des concentrations locales de cytokines produites au cours d'une réponse inflammatoire. Les lymphocytes recirculants, les monocytes et les granulocytes portent des récepteurs qui se lient aux CAM de l'endothélium vasculaire, ce qui leur permet de passer dans les tissus.

En plus de leur rôle dans l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales vasculaires, les CAM des leucocytes servent aussi à augmenter la force des interactions fonctionnelles entre les cellules du système immunitaire. Il existe diverses molécules qui contribuent aux interactions entre les cellules Th et les APC, les cellules Th et les cellules B et aussi les CTL et les cellules cibles.

La plupart de ces CAM appartiennent à quatre familles de protéines : la famille des sélectines, la famille des mucine-like, la famille des intégrines et la superfamille des immunoglobulines.

#### 1.1. Les intégrines

Sont de protéines hétérodimères constituées d'une chaîne  $\alpha$  et d'une chaîne  $\beta$  qui sont associées de façon covalente au niveau de la surface cellulaire (**Fig.1**).

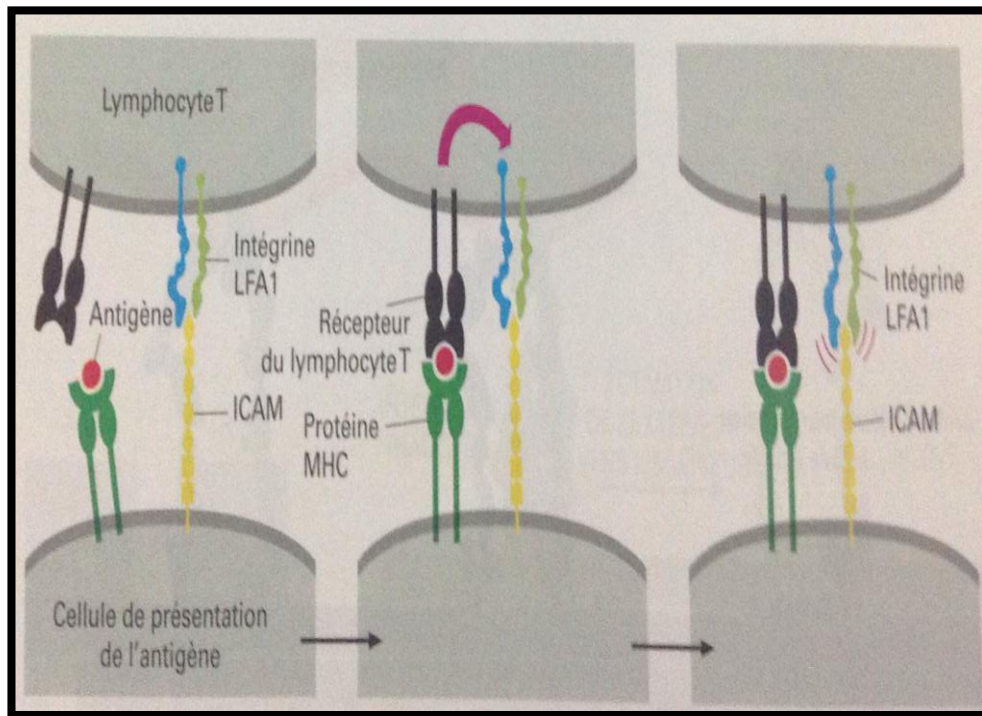


**Figure 1**

Les 24 types d'intégrines trouvées chez l'homme sont le produit de 8 gènes différents codant les chaînes  $\beta$  et 18 gènes codant les chaînes  $\alpha$  qui se dimérisent en combinaisons différentes.

Dans les leucocytes, la capacité de contrôler l'activité des intégrines grâce à une signalisation sortante de type intérieur vers extérieur est particulièrement importante.

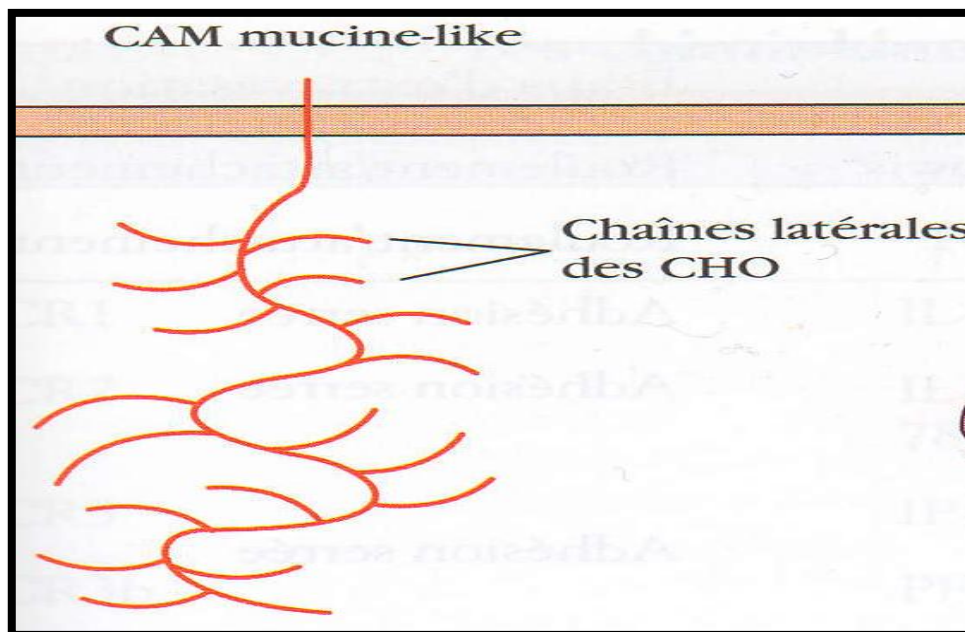
L'adhésion contrôlée permet aux cellules de circuler librement jusqu'à ce qu'elles soient activées par un stimulus approprié. Comme les intégrines n'ont pas besoin d'être synthétisées de novo l'adhésion en réponse à un signal peut être rapide par exemple la liaison des LT à la surface d'une CPA active une voie de signalisation dans les lymphocytes qui active l'intégrine  $\beta 2$ . Les intégrines activées permettent aux LT d'adhérer fermement à la cellule qui présente l'antigène, bien qu'elle reste en contact suffisamment longtemps pour devenir complètement stimulée. Les intégrines peuvent alors retourner à leur état inactif ce qui permet aux LT de se désengager (**Fig.2**).



**Figure 2**

### 1.2. Les mucines

Constituent un groupe de protéines riches en sérines et en thréonines qui sont très fortement glycosylées leur structure étirée leur permet d'exposer des ligands sialylés et des carohydrates sulfatés permettant la fixation de lectine (**Fig.3**).



**Figure 3**

Par exemple : la sélectine-L (CD62L) des leucocytes qui reconnaît les oses sialylés de deux molécules mucine-like (CD34 et le GlyCAM1) exprimées à la surface des cellules endothéliales. Une autre molécule mucine-like (PSGL-1) rencontrée sur les neutrophiles entre en interaction avec la sélectine-E et la sélectine-P exprimées sur un endothélium inflammatoire

### 1.3. La superfamille des immunoglobulines

Diverses molécules d'adhésion contiennent un nombre variable de domaines de type immunoglobulinique et sont donc classées dans la superfamille des immunoglobulines. Appartiennent à ce groupe l'ICAM-1 (CD54), l'ICAM-2 (CD102), l'ICAM-3 (CD50) et le VCAM (CD106), qui sont exprimés sur les cellules endothéliales vasculaires et se lient à diverses molécules d'intégrine.

- Une molécule d'adhésion cellulaire importante appelée MAdCAM-1 possède à la fois des domaines de type immunoglobulinique et des domaines mucine-like. Cette molécule exprimée sur l'endothélium des muqueuses et dirige l'entrée des lymphocytes dans la muqueuse. Elle se lie à l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  (LPAM) par son domaine de type immunoglobuline et à la sélectine L (CD62L) par son domaine mucine-like.

- La molécule d'adhésion cellulaire de l'endothélium plaquettaire de type 1 (PECAM-1 de Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1, CD31) est trouvée à la surface des leucocytes (neutrophiles, monococytes et une population de lymphocytes T) et dans les complexes jonctionnels endothéliales. Cette molécule permet des liaisons homotypiques (liaison d'une molécule PECAM-1 d'une cellule à une molécule PECAM-1 d'une autre cellule).

- La molécule d'adhésion cellulaire jonctionnelle de type 1 (JAM-1 de Junctional cell adhesion molecule, CD 321) est également localisée dans les complexes jonctionnels des cellules endothéliales. JAM-1 peut interagir avec des molécules JAM-1 et avec des molécules CD11/CD18 et joue un rôle dans la migration trans-endothéliale.

### 1.4. Les sélectines

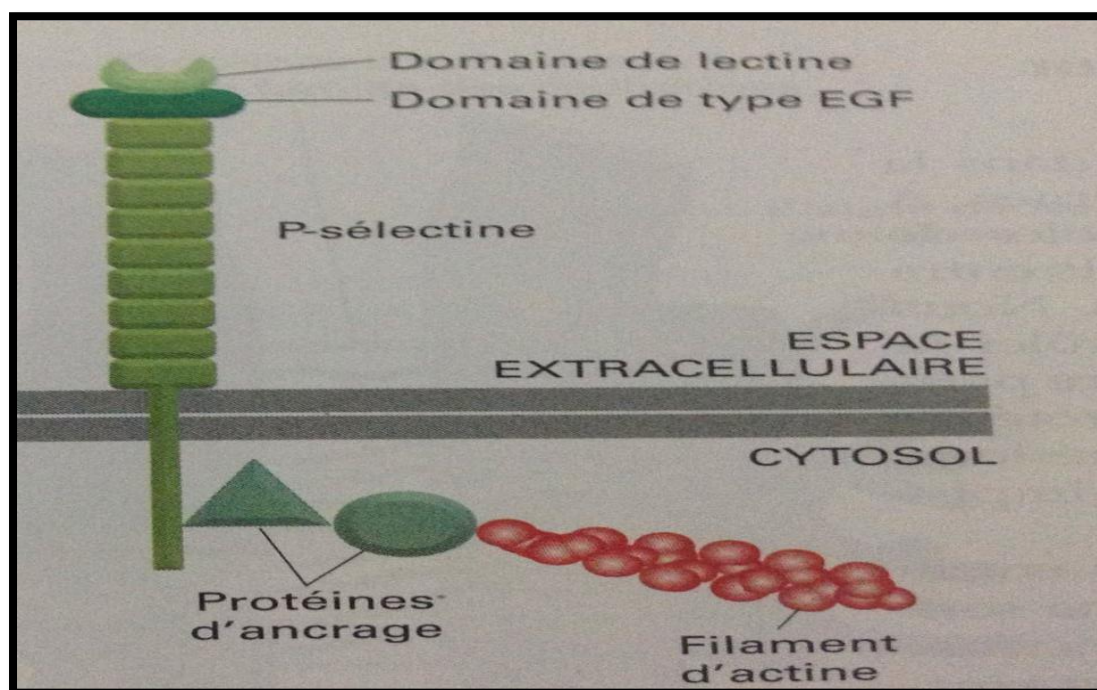
Ce sont des glycoprotéines transmembranaires composées d'une très longue séquence riche en sites potentiels de N-glycosylation qui constitue la partie extracellulaire, puis une courte séquence hydrophobe suivi de quelques acides aminés

basiques, représente le domaine membranaire, et enfin la courte extrémité C-terminale cytoplasmique.

La partie extracellulaire est organisée en trois domaines. L'extrémité N-terminale est constituée par le domaine C-lectinique, qui comporte environ 130 acides aminés et 15 à 20 acides aminés communs à l'ensemble des C-lectines.

Le domaine suivant est court (environ 30 acides aminés) et présente une grande analogie avec le facteur de croissance de l'épiderme (EGF). Le domaine suivant, très long, est constitué d'unités répétitives en tandem comportant chacune six résidus cystéine.

Le domaine C-lectinique intervient bien dans la liaison avec le type cellulaire approprié, il semble que le domaine EGF soit également nécessaire à cette interaction, en maintenant une conformation spatiale correcte (**Fig.4**)



**Figure 4**

La famille des sélectines inclut trois molécules désignées L, E, P également appelées CD62L, CE62E, CD62P. La plupart des leucocytes circulant expriment la sélectine-L tandis que la sélectine E et P sont à la surface des cellules endothéliales pendant une réponse inflammatoire. La sélectine P est stockée dans des corps appelés corps de Weibel Palade (un type de granules présent dans la cellule endothéliale). Après

activation des cellules endothéliales ; les granules fusionnent avec la membrane plasmique ce qui permet l'expression de la sélectine P.

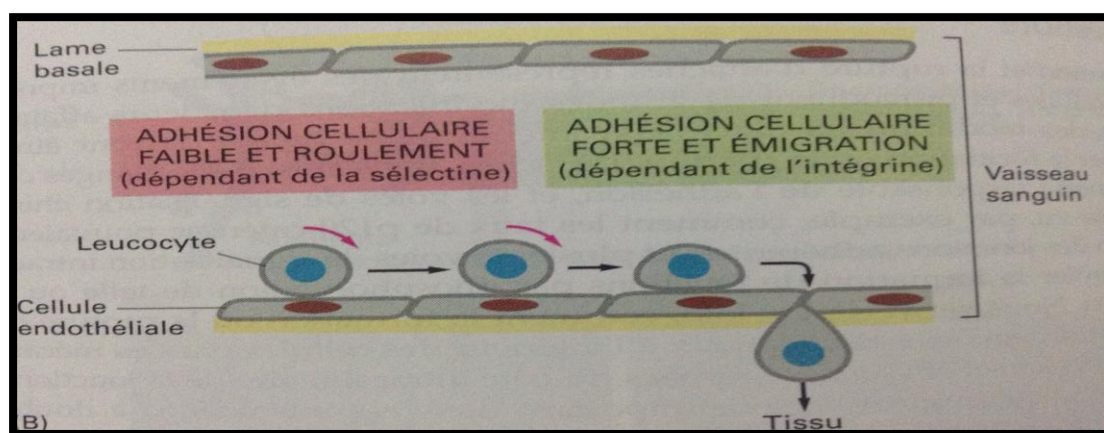
L'expression de la sélectine E nécessite la synthèse de nouvelles molécules protéiques et survient après que l'endothélium ait été stimulé par des cytokines pro-inflammatoires.

### **Rôle des molécules d'adhérence au cours de l'inflammation :**

Au cours de l'inflammation, l'expression des béta2 intégrines est considérablement accrue par des agents synthétisés par divers types cellulaires proches du site infectieux, dont les cellules endothéliales : le facteur d'activation des plaquettes (PAF), l'interleukine 8 (IL-8) et la sélectine E. L'activation par la thrombine et l'histamine des cellules endothéliales conduit en quelques minutes à l'expression de PAF membranaire qui, à son tour, stimule l'expression des béta2 intégrines des neutrophiles. L'IL-1, le TNF- $\alpha$  et le LPS contrôlent la sécrétion de l'IL-8 et de la sélectine E qui elles aussi stimulent la synthèse des béta2 intégrines, on assista à :

- Expression rapide et transitoire de la sélectine P,
- Expression différée de quelques heures et plus durable de la sélectine E à la surface des cellules endothéliales

On peut admettre que, par le biais de la sélectine E qui est exprimée sur les cellules endothéliales activées des veinules post-capillaires, les neutrophiles «roulent» sur l'endothélium (rolling). Puis, après activation des béta2 intégrines des neutrophiles qui interagissent avec les ICAM, cet effet cesse, l'adhérence se renforce et est suivie d'une migration entre les jonctions des cellules endothéliales (**Fig.5**).



**Figure 5**

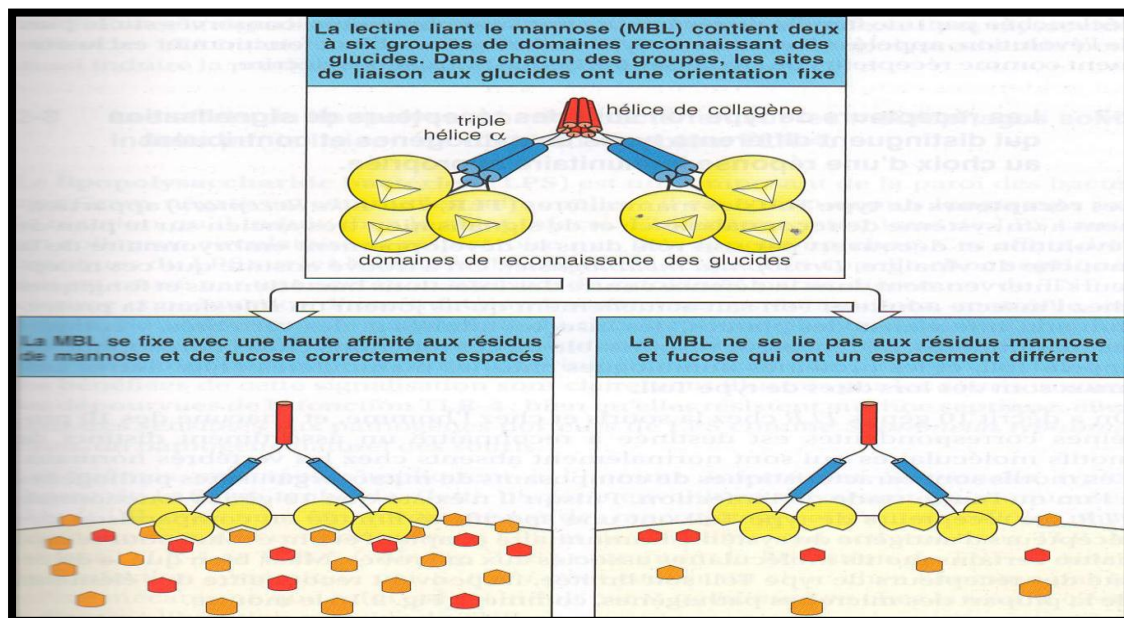
## 2. Les récepteurs de l'immunité innée

Les récepteurs du système immunitaire exercent plusieurs fonctions différentes. Beaucoup sont des récepteurs phagocytaires qui stimulent l'ingestion des pathogènes qu'ils reconnaissent. Certains sont des récepteurs chimiotactiques qui guident les cellules jusqu'au foyer infectieux. Une troisième fonction est l'induction de la production des molécules effectrices qui influencent le déclenchement et la nature de toute réponse immune adaptative.

On cite notamment :

### 2.1. La MBL (Mannose Binding Lectin)

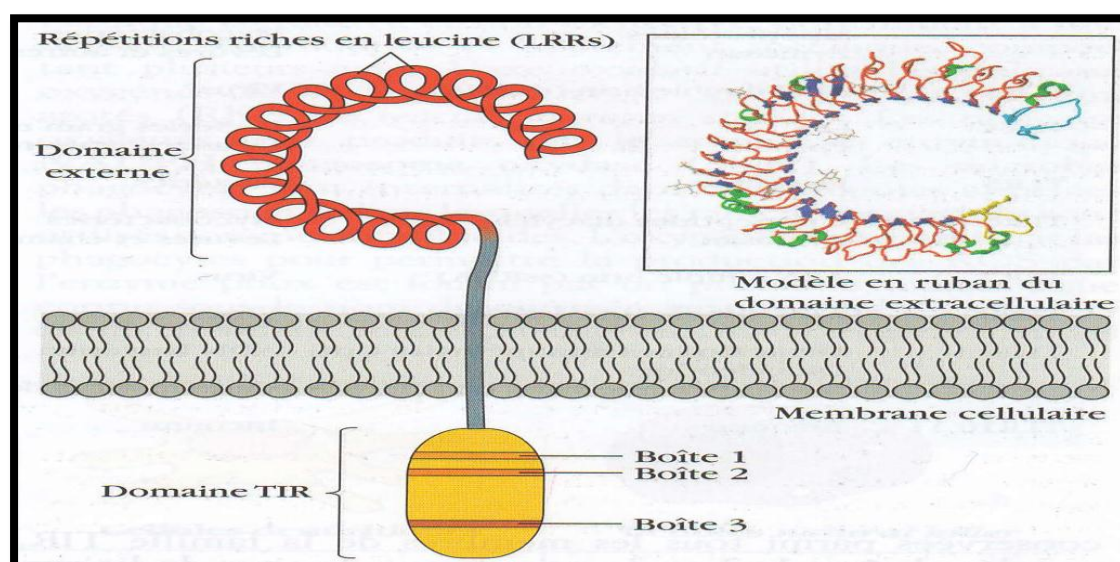
La MBL est un membre de la famille protéique des collectines car elles contiennent des domaines du type collagène et de type lectine qui lie les glucides (**Fig.6**). Elle peut reconnaître et distinguer le pathogène du soi en raison d'une orientation et d'un espacement particulier de certains de ses résidus glucidiques, disposition que l'on ne trouve pas sur les cellules de l'hôte. Une fois formé, le complexe MBL-pathogène est capté par des phagocytes, soit par des interactions directes avec la MBL ou par des récepteurs des phagocytes pour le complément, qui lui aussi s'est attaché au pathogène. Le résultat est la phagocytose et la lyse du pathogène.



**Figure 6**

## 2.2. Les récepteurs Toll-like

Les récepteurs Toll sont des protéines transmembranaires qui partagent un élément structural commun dans la région extracellulaire, des segments répétés de 24 à 29 acides aminés contenant des motifs structuraux sont appelés répétitions riches en leucine (LRRs de Leucine-rich-repeats). Tous les TLRs contiennent plusieurs LRRs et un sous-ensemble de LRRs forme la région de fixation du ligand extracellulaire du TLR. Le domaine intracellulaire de TLR est appelé domaine TIR pour Toll-IL-1 receptor référant à la similarité entre les domaines cytoplasmiques des TLRs et la région comparable d'un récepteur pour l'IL-1, les domaines TIR possèdent 3 régions très conservées parmi tous les membres de la famille TIR, appelées boîtes 1, 2 et 3, qui servent de sites de liaison pour des protéines intracellulaires qui participent aux voies de transduction des signaux par les TLRs (Fig.7).



**Figure 7**

Des fonctions ont été identifiées pour neuf des onze TLRs présents chez l'homme. De manière saisissante, chaque TLR détecte un répertoire distinct de molécules des pathogènes très conservées.

Il est à noter que les ligands qui lient les TLRs sont des composants indispensables aux pathogènes : un virus ne pourrait pas fonctionner sans son acide nucléique, une bactérie gram-négative ne peut pas être viable sans les parois contenant le LPS, et les champignons doivent incorporer le zymosan polysaccharidique dans leurs parois cellulaires.



Les TLRs qui reconnaissent des ligands extracellulaires sont trouvés à la surface des cellules, alors que ceux qui reconnaissent des ligands intracellulaires, comme l'ARN viral ou des fragments d'ADN bactériens, sont localisés dans des compartiments intracellulaires.

Plusieurs TLRs, les TLRs 1, 2, 4 et 6 agissent sous forme de dimères (dans certains cas, des protéines additionnelles sont introduites dans les complexes formés). Un de ces récepteurs, TLR4, forme une paire avec lui-même (homodimère), et les autres forment des complexes avec un autre TLR (hétérodimères)

### **2.3. Les récepteurs scavenger**

Ces récepteurs possèdent tous au moins un domaine riche en cystéine, ils sont regroupés dans 8 classes (A-H) en fonction de leur structure, leur profil d'expression et les ligands reconnus. SR-A et SR-B sont les plus connus.

SR-A, exprimés majoritairement sur les macrophages/cellules dendritiques, se présentent sous la forme de trimères de 220 à 250 kDa dont les monomères sont organisés en 6 domaines parmi lesquels le domaine collagène-like qui est impliqué dans la fixation du ligand.

Les SR-B sont des glycoprotéines qui forment une large boucle extracellulaire ancrée dans la membrane au niveau des extrémités N et C terminales. Ces récepteurs sont exprimées par de nombreux types cellulaires CD14, CD36, CD163 et CLA-1 en sont les principaux exemples.

Ils interviennent de manière notable dans la réponse immunitaire par différents mécanismes et ils contrôlent la réaction inflammatoire, notamment par les SR-A qui reconnaissent les endotoxines et contribuent à leur élimination, ce qui réduit le risque de choc endotoxinique, ils permettent l'élimination des pathogènes par la reconnaissance de nombreuses structures microbiennes comme le LPS, les acides lipoteichoïques, des polysaccharides et des ARN. Cette propriété permet la phagocytose de micro-organismes.

En présence de signaux de danger, l'activation des PRR des phagocytes mononucléés se traduit par la synthèse de la forme soluble du SR-B qui prive les pathogènes de fer en se complexant à l'hémoglobine

## 2.4. Les protéines NLR (NOD Like Receptor)

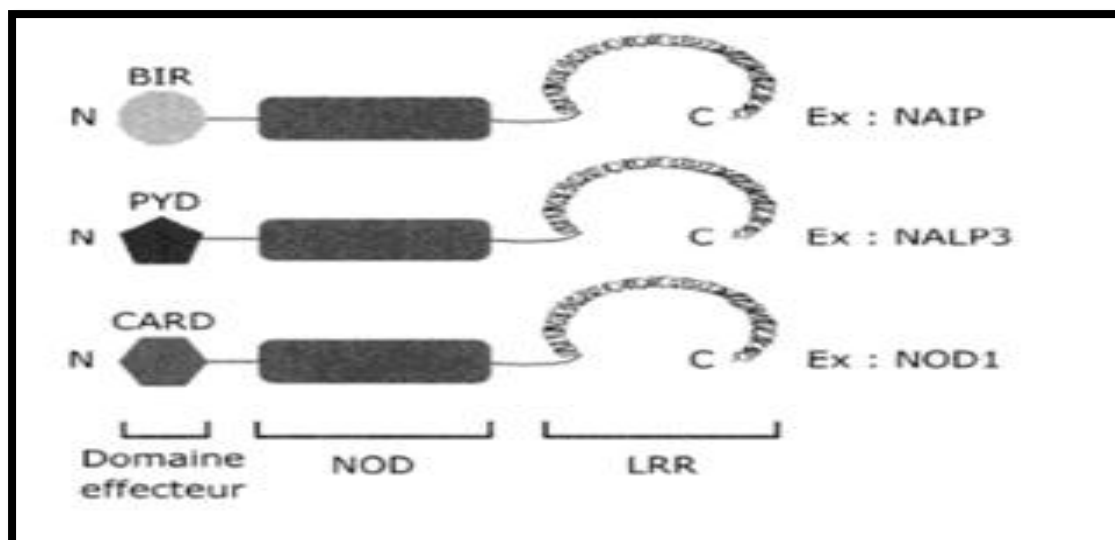
Ces protéines constituent la famille la plus vaste de ces récepteurs, 23 gènes différents codant ces protéines NLR sont identifiés chez l'homme.

La plupart des protéines NLR sont organisées en 3 domaines (**Fig.8**) :

- Un domaine N-terminal pouvant être CARD (caspase recruitment domain), PYD (pyrin domain) ou BIR (baculovirus inhibitor repeat). Il constitue le domaine effecteur de la protéine NLR ; la fonction de la protéine dépend de la nature de ce domaine.
- Le domaine central NOD (nucleotide-binding oligomerization domain) qui assure l'auto-oligomérisation des protéines ayant reconnu un ligand.

Les protéines NOD reconnaissent des fragments de protéoglycans de la paroi bactérienne : NOD1 lie l'acide  $\gamma$ -glutamyl diaminopimélique un produit de dégradation des protéoglycans des bactéries gram-négatives, tandis que NOD2 lie le muramyl dipeptide qui est présent dans les protéoglycans des bactéries gram-positives et gram-négatives. Ainsi, NOD2 peut agir comme un détecteur général des infections bactériennes, tandis que l'activité de NOD1 est limitée à la détection des bactéries Gram-négatives. Dans le cadre de ce rôle, les protéines NOD sont exprimées dans des cellules qui sont continuellement exposées à des bactéries : dans les épithéliums, et dans les macrophages et les cellules dendritiques.

Comme les macrophages et les cellules dendritiques expriment aussi les TLR qui peuvent reconnaître les protéoglycans bactériens, dans ces cellules les signaux provenant de NOD1 et NOD2 s'ajoutent aux signaux émis par les TLR.



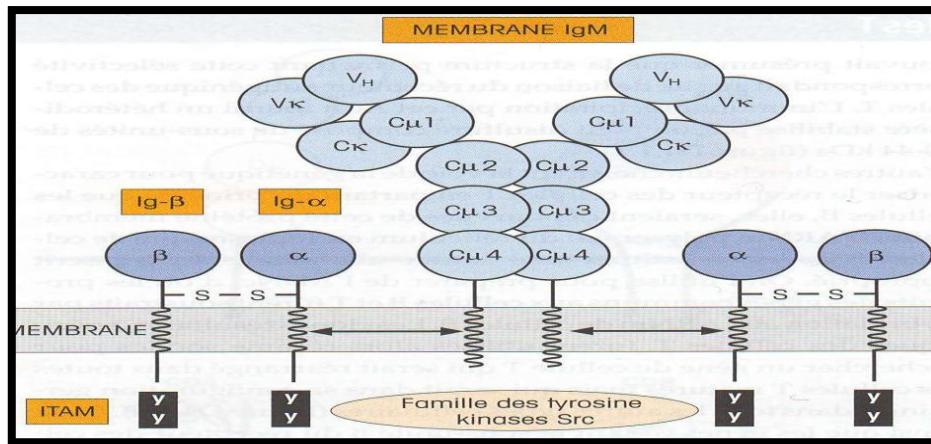
**Figure 8**

### 3. Les récepteurs de l'immunité acquise

#### 3.1. Les récepteurs des cellules B

L'immunoglobuline est composée de deux chaînes légères (L) et deux chaînes lourdes (H). Les deux types de polypeptides comportent deux parties identifiables : une portion variable V dont la séquence d'acides aminés varie d'une espèce à une autre et une portion constante (C) dont la séquence est identique dans toutes les chaînes H et L de la même classe.

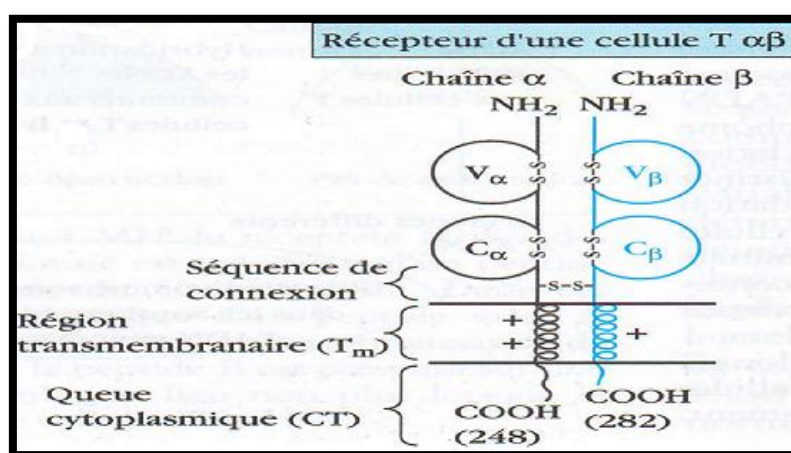
La portion intracellulaire de l'IgM membranaire ne comporte que 3aa, ce qui est trop court pour contenir les motifs structuraux requis pour les interactions avec des protéines adaptatrices (protéines kinases intracellulaires ou les phosphatases) ; qui typiquement lancent les cascades de transduction du signal. Pour cela un hétérodimère  $Ig\alpha$ ,  $Ig\beta$  semble nécessaire à la signalisation, ils sont phosphorylés lors de l'interconnexion des BCR pour l'antigène. L' $Ig\alpha$  et l' $Ig\beta$  (CD79a-CD79b) contiennent chacun un seul ITAM dans leur portion intracytoplasmique (**Fig.9**). Ce motif contient à un intervalle précis deux résidus tyrosines qui jouent un rôle central dans le processus de signalisation. La liaison du BCR à l'antigène mène à une phosphorylation rapide des tyrosines dans chaque ITAM par les kinases associées au BCR, ce qui crée des sites de liaison pour des protéines qui ont une affinité pour les résidus tyrosines phosphorylés, dans ce cas une protéine kinase appelée Syk s'associe à l'hétérodimère  $Ig\alpha/\beta$  phosphorylé et sert à coordonner les événements qui aboutissent à l'entrée de la cellule B activée dans le cycle cellulaire début de l'expansion clonale.



**Figure 9**

### 3.2. Les récepteurs des cellules T

Le TCR est un hétérodimère composé de deux sous-unités  $\alpha\beta$ . Chaque chaîne d'un TCR a deux domaines contenant une liaison disulfure intrachaîne qui unit des cystéines séparées par 60-75 amino acides. Dans les deux chaînes, le domaine amino-terminal présente d'importantes variations de séquence, mais la séquence du reste de chaque chaîne est conservée. Les domaines du TCR, un domaine variable (V) et un domaine constant (C), sont donc structurellement homologues aux domaines V et C des immunoglobulines et la molécule du TCR ressemble à un fragment Fab attaché à la membrane cellulaire plutôt qu'à la région constante d'une molécule d'immunoglobuline (Fig.10).



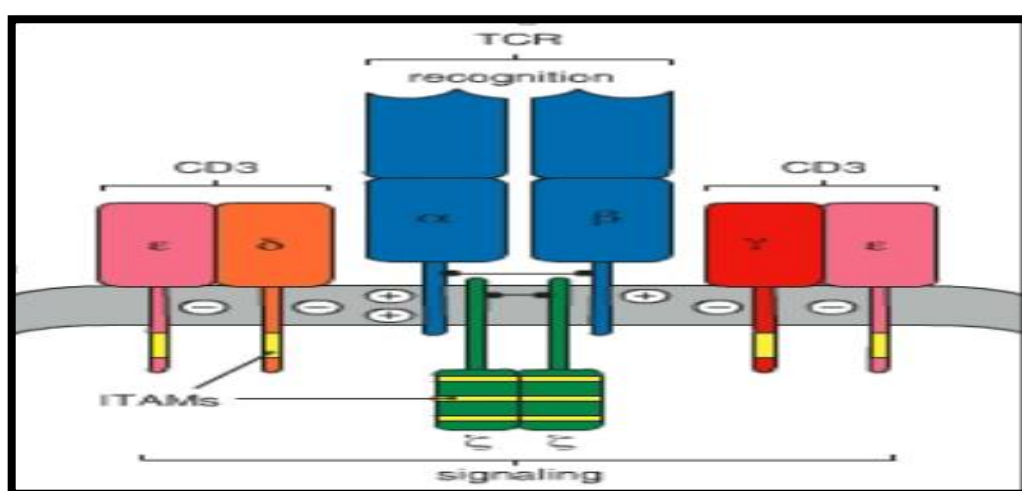
**Figure 10**

En plus de la région constante, chaque chaîne des TCR contient une courte séquence de connexion, dans laquelle un résidu cystéine forme une liaison disulfure avec d'autres

chaînes. A la suite de la région de connexion, il y a une région transmembranaire de 21-22 amino acides qui ancrent les chaînes dans la membrane plasmique. Les domaines transmembranaires des deux chaînes contiennent des résidus amino acides chargés positivement. Ces deniers permettent aux chaînes de l'hétérodimère du TCR d'entrer en action avec les chaînes du complexe CD3 de transduction du signal.

Enfin, chaque chaîne du TCR contient une courte queue cytoplasmique de 5-12 amino acides à l'extrémité carboxy-terminale.

Lorsque le TCR lie l'antigène, il envoie un signal qui est transmis par un complexe de polypeptides transmembranaires (CD3) à l'intérieur du lymphocyte T, le tirant de son sommeil de phase G<sub>0</sub> et le forçant à se rendre utile en devenant une cellule effectrice. Dans toutes les cellules T le TCR est associé étroitement, mais de manière non covalente, à CD3, formant ainsi un complexe, qui aurait la composition suivante : le TCR  $\alpha\beta$  ou TCR  $\gamma\delta$  très proches d'une molécule des chaînes polypeptidiques invariantes de CD3  $\gamma$  et  $\delta$ , deux molécules de CD3 $\epsilon$ , plus le dimère  $\zeta\zeta$  stabilisé par un pont disulfure. Le complexe total a la structure TCR-CD3 $\gamma\epsilon_2\zeta_2$  (**Fig.11**).



**Figure 11**

Comme l'hétérodimère Ig- $\alpha/\beta$  associé au BCR, les chaînes de CD3 contiennent aussi un ou plusieurs motifs ITAM qui à nouveau jouent un rôle essentiel dans la propagation des signaux d'activation dans le lymphocyte.

Lors de la rencontre du TCR avec le complexe peptide-CMH, les résidus tyrosines des ITAM de CD3 sont phosphorylés. Ils servent alors de plateforme pour le recrutement d'une multitude de protéines qui se lient aux phosphotyrosines et qui

disséminent alors le signal dans toute la cellule T. C'est ici qu'apparaît le rôle des corécepteurs CD4 et CD8; la phosphorylation des ITAM dans la chaîne  $\zeta$  de CD3 est effectuée par la tyrosine kinase Lck qui, est associée aux queues cytoplasmiques de CD4 et CD8.

La majorité des cellules T circulantes chez l'homme et la souris expriment les récepteurs des cellules T codés par les gènes  $\alpha\beta$ . Ces récepteurs interagissent avec les peptides antigéniques apprêtés et présentés à la surface d'une cellule présentatrice d'antigènes.

Une minorité de récepteurs des cellules T composés de deux sous-unités  $\gamma\delta$ , la structure cristallographique du récepteur  $\gamma\delta$  des cellules T révèle que sa conformation ressemble à celle du récepteur  $\alpha\beta$ .

Le nombre de cellules T  $\gamma\delta$  dans la circulation est faible comparé à celui des cellules T qui ont un récepteur  $\alpha\beta$ . Comme montré au tableau1, la majorité des cellules  $\gamma\delta$  n'expriment ni CD4 ni CD8 et la plupart expriment la même paire de chaînes  $\gamma\delta$ .

Il semble probable que les récepteurs  $\gamma\delta$  ne sont pas restreints aux molécules classiques du CMH de classe I et II. Le récepteur  $\gamma\delta$  des cellules T peut être spécialisé dans la liaison de certains types de ligands, incluant les protéines de choc thermique et des ligands non peptidiques comme des antigènes lipidiques mycobactériens.

Cette spécificité pour des pathogènes fréquemment rencontrés supporte l'hypothèse que les cellules  $\gamma\delta$  pourraient fonctionner comme un bras de l'immunité innée, permettant une réactivité rapide à certains antigènes sans passer par une étape d'apprêtement.

Dans certains types d'infections, le pourcentage de cellules T  $\gamma\delta$  dans le sang ou dans un organe donné peut augmenter de façon excessive. Les cellules  $\gamma\delta$  peuvent tuer les cellules infectées ou les micro-organismes en utilisant des mécanismes similaires à ceux des lymphocytes T cytotoxiques (granulysine, perforine).

Les fonctions précises des cellules T  $\gamma\delta$  sont toujours inconnues, et leur rôle dans l'immunité contre les pathogènes étrangers et leur rôle possible dans l'autoimmunité restent à élucider.

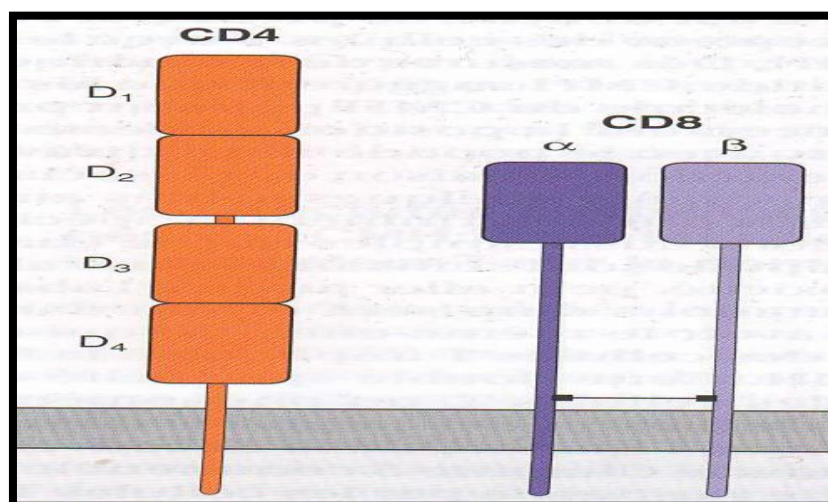
**Tableau 1**

Caractéristiques	Cellules T $\alpha\beta$	Cellules T $\gamma\delta$
Récepteur de l'antigène	Complexe $\alpha\beta$ TCR+CD3	Complexe $\gamma\delta$ TCR+CD3
Type d'antigène reconnu	CMH+ peptide	Molécules de type CMH plus des ligands non protéiques
Expression CD4/CD8	Oui	Non
Proportion dans le sang	60 – 75%	1 -5 %
Restriction par le CMH	Oui	Non
Fonction	Active les lymphocytes et les macrophages cytotoxicité	Fonction immunorégulatrice à élucider Cytotoxicité

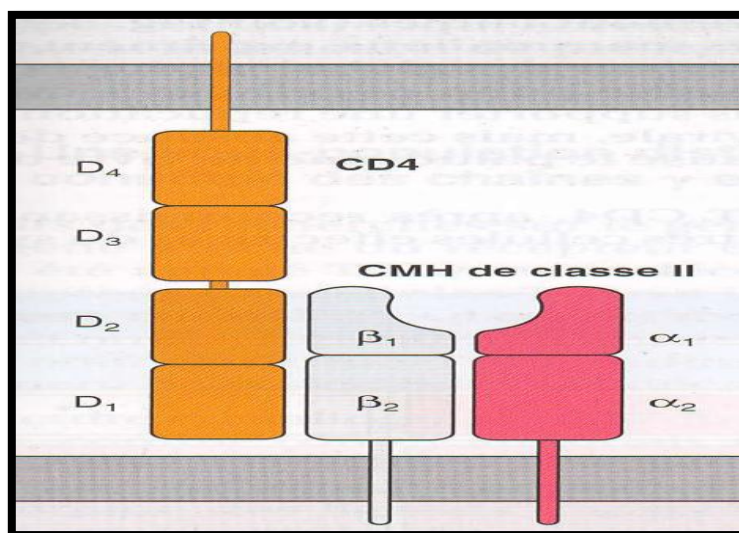
### CD4/CD8 co-récepteurs des cellules T

Au cours de la reconnaissance de l'antigène, selon le type des cellules T, les molécules CD4 ou CD8 à la surface de la cellule T, s'associant au récepteur antigénique, se fixant à une région invariable de la molécule du CMH présentatrice du peptide, à distance du site de liaison du peptide. Cette liaison est requise pour que les cellules T puissent développer une réponse effectrice. C'est pourquoi on dit que CD4 et CD8 sont des corécepteurs.

**CD4** est une molécule monocaténaire, composée de quatre domaines de type immunoglobuline. Les deux premiers domaines (D1 et D2) sont tassés l'un contre l'autre pour former une tige rigide reliée par une charnière flexible à une tige similaire formée par les troisième et quatrième domaines (D3, D4) (**Fig.12**).

**Figure 12**

CD4 se lie aux molécules du CMH par une région localisée principalement sur la face latérale de son premier domaine D1. Il se lie à une crevasse hydrophobe formée à la jonction des domaines  $\alpha_2$  et  $\beta_2$  de la molécule du CMH de classe II. Cette région est bien éloignée du site auquel le récepteur de cellule T se lie. Ainsi la molécule CD4 et le récepteur des cellules T peuvent lier le même complexe peptide-CMH de classe II. La portion intracellulaire de CD4 interagit fortement avec une tyrosine kinase cytoplasmique appelée Lck ; qu'il rapproche des éléments qui transmettent les signaux venant du complexe du récepteur des cellules T. le signal généré lorsque le récepteur de cellule T se lie à son ligand est ainsi fortement amplifié, le CD4 et le récepteur de cellule T se lient simultanément au même complexe CMH de classe II : peptide, la cellule T est près de 100 fois plus sensible à l'antigène que lorsque CD4 est absent (**Fig.13**).



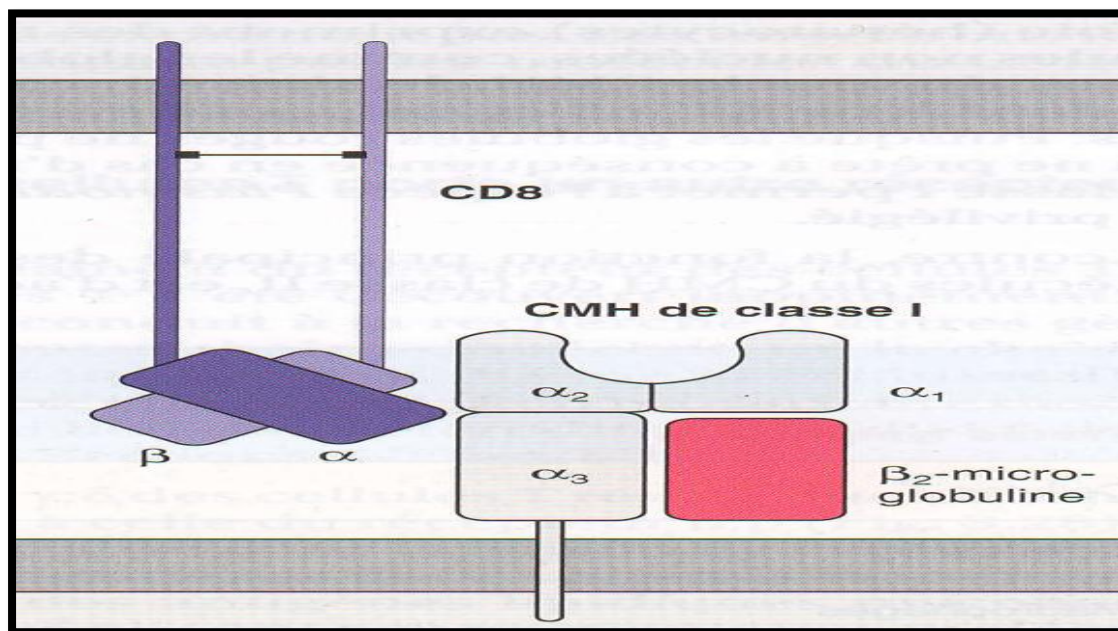
**Figure 13**

La structure de **CD8** est tout à fait différente. C'est un hétérodimère consistant en une chaîne  $\alpha$  et une chaîne  $\beta$  reliées par un pont disulfure, chacune contenant un domaine unique de type immunoglobuline relié à la membrane par une longue chaîne polypeptidique. Ce segment est considérablement glycosylé ce qui maintiendrait ce polypeptide dans une conformation étendue et le protégerait contre le clivage par des protéases.

En se liant aux domaines des molécules du CMH de classe I et de classe II proches de la membrane, les corécepteurs laissent la partie supérieure de la molécule CMH exposée et libre d'interagir avec le récepteur des cellules T. CD4 et CD8 interagissent



avec Lck dans le cas de l'hétérodimère CD8  $\alpha\beta$  par la queue cytoplasmique de la chaîne  $\alpha$  et le rapproche du récepteur des cellules T. comme pour CD4, la présence de CD8 augmente d'environ 100 fois la sensibilité des cellules T à l'antigène présenté par les molécules du CMH de classe I (**Fig.14**).



**Figure 14**

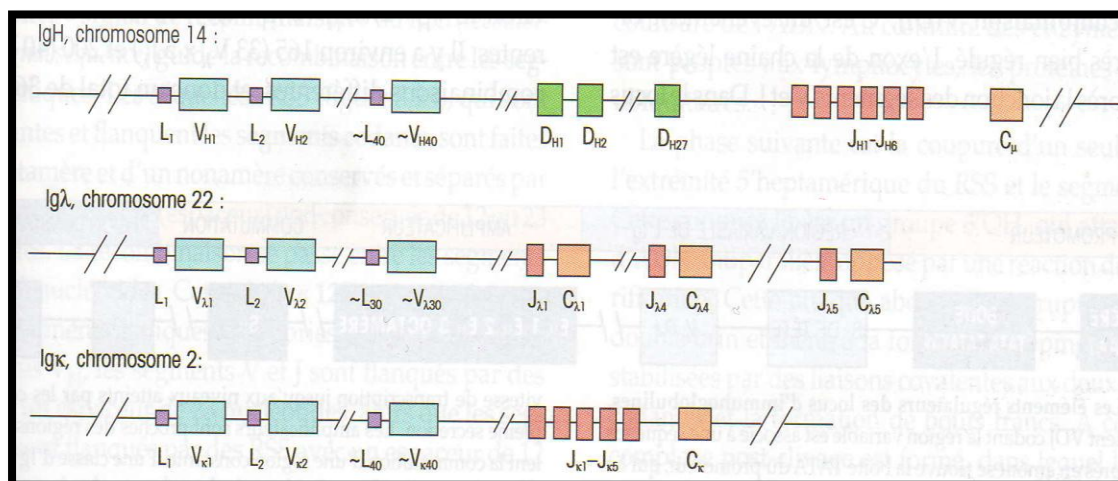
## 4. Les gènes des immunoglobulines

### 4.1. Organisation du gène

Le répertoire des immunoglobulines (Ig) est codé par de multiples segments de gènes germinaux qui subissent une diversification somatique dans les cellules B en développement. Bien que les composants de base nécessaires à la production d'un répertoire d'Ig soient hérités, le répertoire mature des anticorps d'un individu est formé essentiellement durant leur vie par modification des gènes germinaux hérités.

Les locus variables des chaînes lourdes et légères humaines contiennent de multiples segments géniques qui sont joints à la suite d'une recombinaison somatique pour produire l'exon final de la région V. La région variable d'une chaîne lourde est construite à partir de la jonction de trois segments géniques, V (variable), D (diversité) et J (jonction), tandis que le gène variable d'une chaîne légère est construit par la jonction de deux segments géniques, V et J. On compte plusieurs segments V, D et J dans les locus des chaînes lourdes et légères (**Figure 15**).

Le répertoire fonctionnel des chaînes lourdes est formé d'environ 38-46 gènes V<sub>H</sub>, fonctionnels, 27 gènes D<sub>H</sub> et 6 gènes J<sub>H</sub>. Le locus λ humain est situé sur le chromosome 22 ; il comprend environ 30 gènes fonctionnels V<sub>λ</sub> et 5 segments fonctionnels J<sub>λ</sub>, chacun lié à un groupe C<sub>λ</sub>. Le locus κ humain sur le chromosome 2 est composé d'un total d'environ 34-40 gènes V<sub>κ</sub> fonctionnels et 5 gènes J<sub>κ</sub> fonctionnels.



**Figure 15**

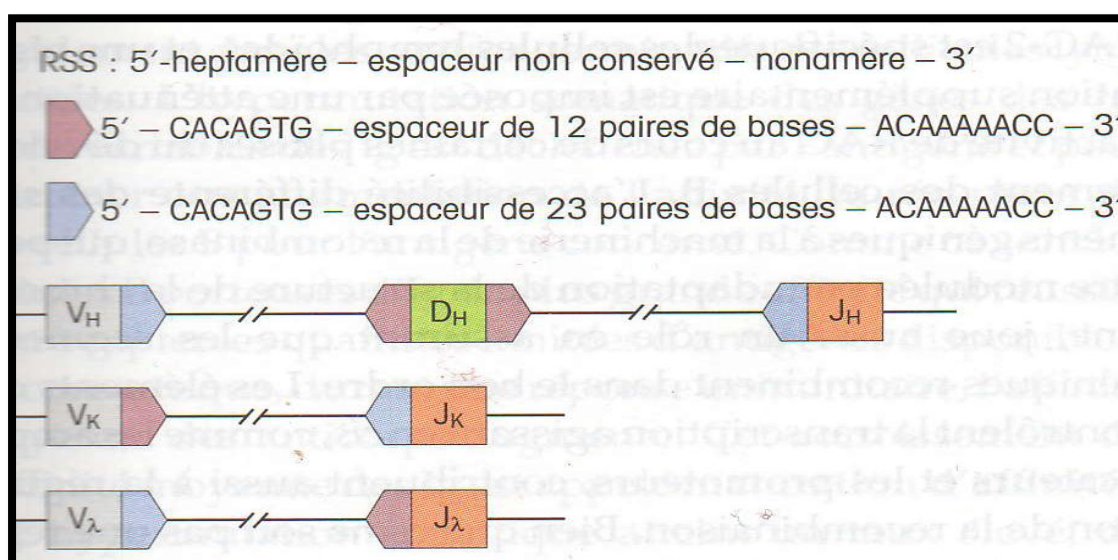
#### 4.2. Recombinaison V(D)J et diversité combinatoire

La jonction de ces segments géniques est appelée recombinaison V(D)J. C'est un événement ordonné et très bien régulé. L'exon de la chaîne légère est construit après la jonction des segments V et J. Dans le locus de la chaîne lourde, un segment D est d'abord joint à un segment J, et ensuite le segment V rejoint la séquence DJ.

L'ADN réarrangé est transcrit, et après épissage de l'ARN, qui permet aux exons de V et de C de se rejoindre, l'ARNm est traduit et l'Ig synthétisée. De nombreux gènes uniques d'Ig peuvent être produits par les différentes combinaisons des segments V D et J dans les locus des chaînes lourdes et légères. La diversité dans le répertoire des Ig due à la jonction de divers segments géniques est appelée diversité combinatoire. Celle-ci peut encore être élargie par l'appariement de différentes chaînes lourdes avec différentes chaînes légères λ ou κ. Le répertoire potentiel de chaînes lourdes est d'environ  $40 V_H \times 27 D_H \times 6 J_H = 6,5 \times 10^3$  combinaisons différentes. Il y a environ 165 ( $33 V_\lambda \times 5 J_\lambda$ ) et 200 ( $40 V_\kappa \times 5 J_\kappa$ ) combinaisons différentes, et donc un total de 365 combinaisons de chaînes légères. Si l'on considère que chaque chaîne lourde peut

s'apparier à chaque chaîne légère, alors la diversité du répertoire peut atteindre un ordre de grandeur de 10<sup>6</sup> combinaisons possibles.

La séquence « signal de recombinaison » ou RSS (recombination signal sequence) guide la recombinaison entre les segments géniques. Les séquences RSS (**Figure 16**), qui sont non codantes et flanquent les segments codants, sont faites d'un heptamère et d'un nonamère conservés et séparés par une partie intercalaire (espaceur) non conservée de 12 ou 23 nucléotides. La recombinaison se passe entre les segments de 12 et 23 nucléotides. Cette règle « 12/23 » ou règle dite un tour/deux tours assure la jonction des segments géniques appropriés ; par exemple un segment V<sub>L</sub> se joindra uniquement à un segment J<sub>L</sub> et non pas à un autre segment V<sub>L</sub> ; la règle assure de même que les segments V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> et J<sub>H</sub> se joindront dans un ordre correct et que les segments de même type ne s'uniront pas les uns aux autres.

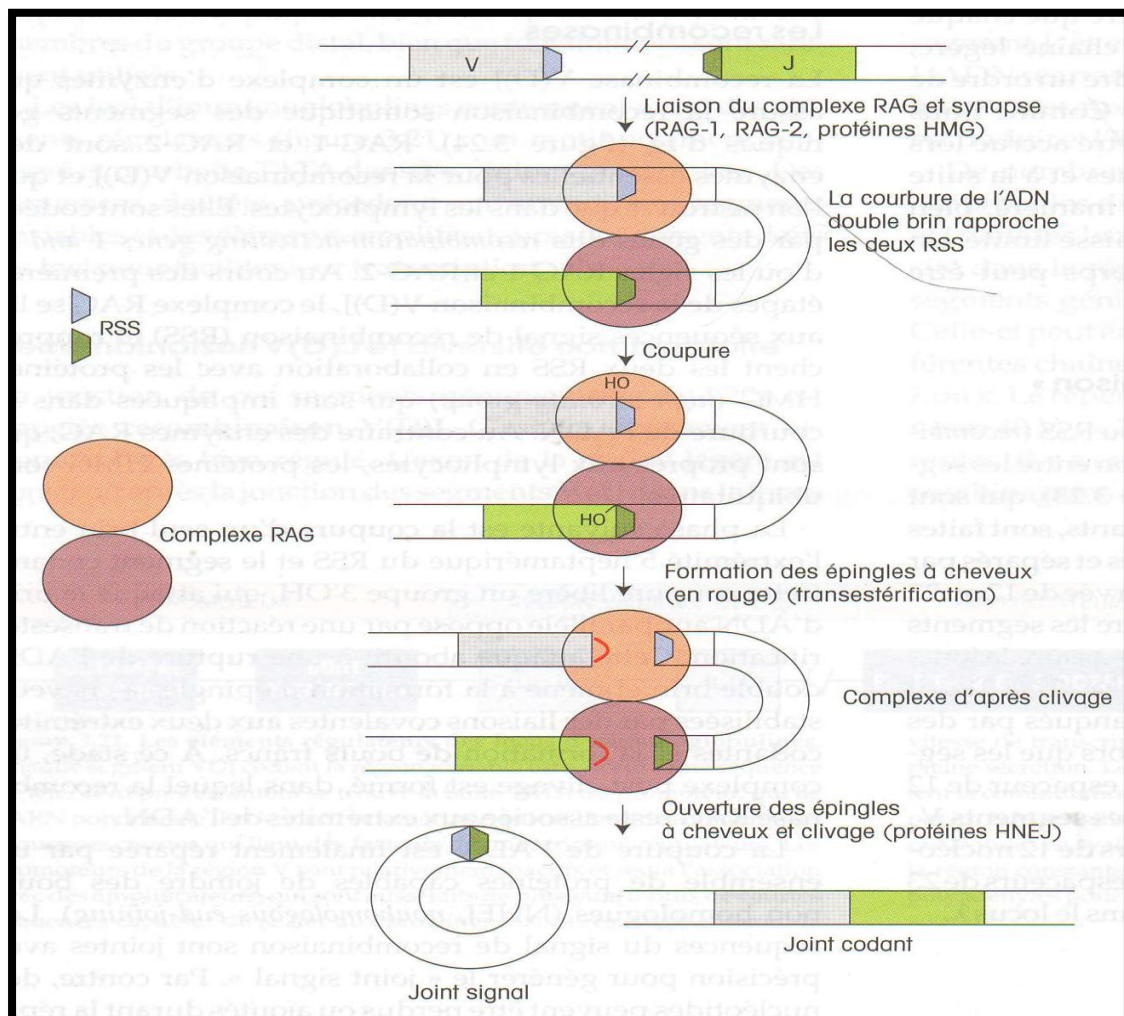


**Figure 16**

La recombinaison V(D)J est un complexe d'enzymes qui assure la recombinaison somatique des segments géniques d'Ig (**Figure 17**). RAG-1 et RAG-2 sont des enzymes essentielles pour la recombinaison V(D)J et que l'on ne trouve que dans les lymphocytes. Elles sont codées par des gènes dits recombination-activating genes 1-and 2, d'où les sigles RAG-1 et RAG-2.

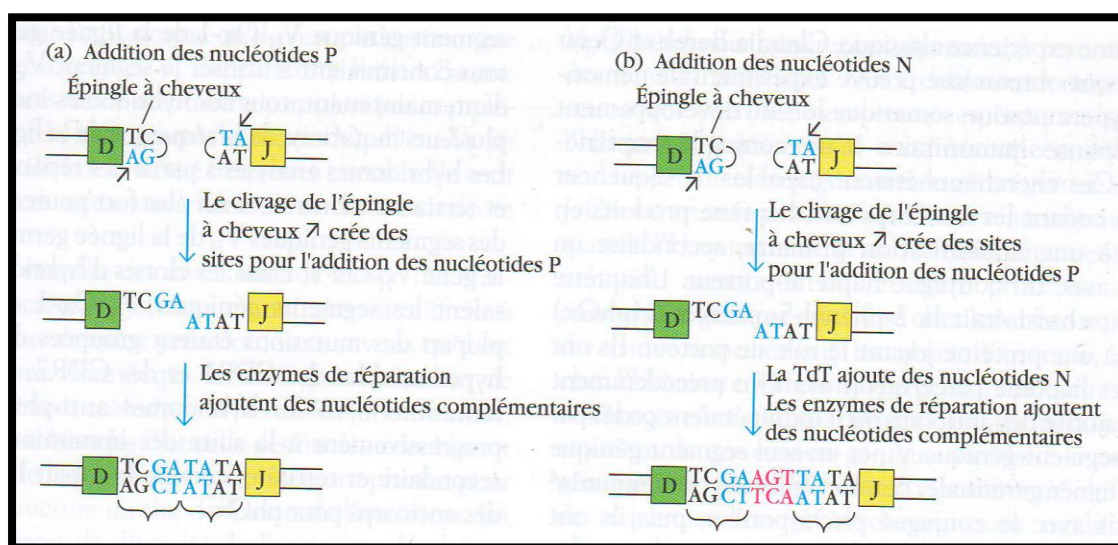
La recombinaison des segments géniques des régions variables est un processus impliquant plusieurs étapes :

- Le complexe RAG se lie aux séquences signal de recombinaison (RSS) et rapprochent les deux RSS en collaboration avec les protéines HMG (high mobility group) qui sont impliquées dans la courbure de l'ADN. Au contraire des enzymes RAG, qui sont propres aux lymphocytes, les protéines HMG sont ubiquitaires.
- Le complexe RAG mène à la rupture de l'ADN double brin et conduit à la formation d'épingles à cheveux stabilisées par des liaisons covalentes aux deux extrémités codantes et la formation de bouts francs.
- La coupure de l'épingle à cheveux permet de créer des sites pour l'addition des nucléotides des régions P, suivie de l'élimination de quelques nucléotides de la région codante par une endonucléase simple brin, la variation de la position au niveau de laquelle l'épingle à cheveux est coupée conduit alors à une variation dans la séquence de la jonction codante (**Figure 18**).

**Figure 17**

- L'Addition optionnelle pouvant aller jusqu'à 15 nucléotides, appelés nucléotides des régions N, au niveau des extrémités coupées des séquences codantes V, D et J de la chaîne lourde par une enzyme appelée désoxynucléotidyl transférase terminale (TdT).
- Réparation et ligation afin de joindre les séquences codantes et les séquences signal, catalysées par les enzymes habituelles de réparation des coupures des deux brins NHEJ (Non Homologous End Joining).

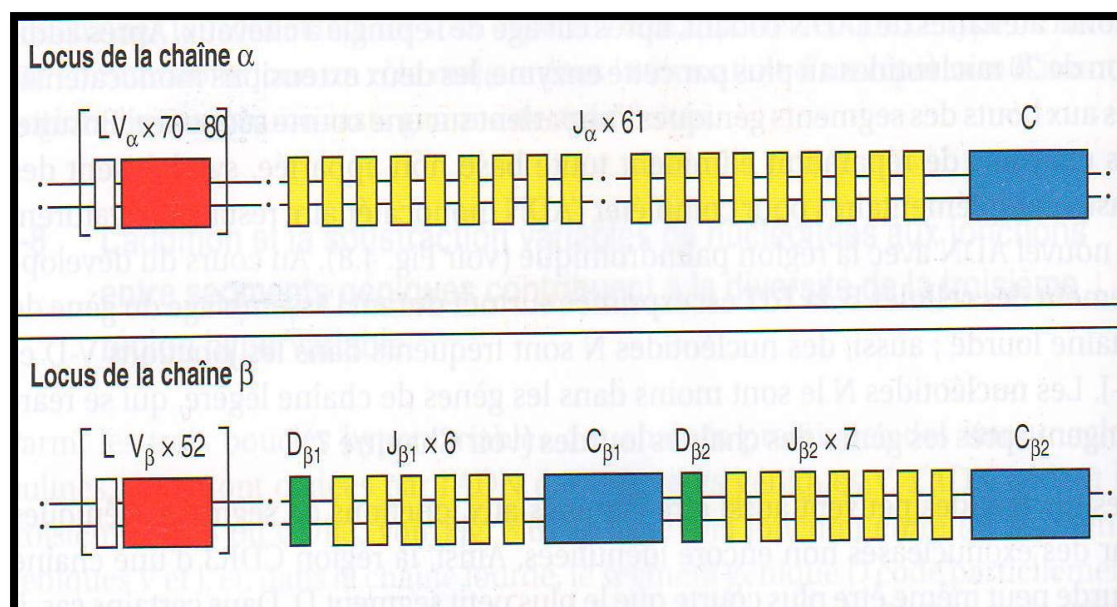
Les séquences du signal de recombinaison sont jointes avec précision pour générer le « joint signal ». Par contre, des nucléotides peuvent être perdus ou ajoutés durant la réparation des bouts codants (**Figure 13**). La diversité jonctionnelle est la diversification des exons des régions variables, due à cette jonction imprécise des bouts codants.



**Figure 18**

## 5. Organisation et réarrangement du TCR

Comme les chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines, chaque chaîne  $\alpha$  et  $\beta$  du récepteur de cellule T est constituée d'une région aminotermine variable (V) et d'une région (C). La **figure 19** montre l'organisation des locus du TCR $\alpha$  et du TCR $\beta$ ; cette disposition des segments géniques ressemble largement à celle des segments géniques d'immunoglobulines.

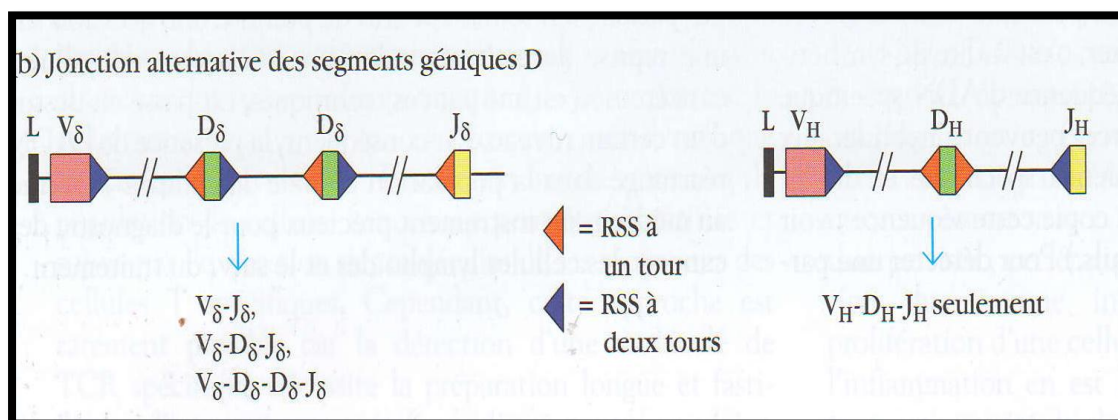


**Figure 19**

Le locus du TCR $\alpha$ , comme celui des chaînes légères d'immunoglobulines, contient des segments géniques V et J ( $V_\alpha$  et  $J_\alpha$ ). Le locus TCR $\beta$ , comme celui des chaînes lourdes d'immunoglobulines, contient des segments géniques D, en plus des segments géniques  $V_\beta$  et  $J_\beta$ . Les segments géniques du récepteur de cellule T se réarrangent durant le développement pour former les exons du domaine V complet. Les réarrangements de gène du récepteur de cellule T prennent place dans le thymus. Les mécanismes de réarrangement génique sont cependant essentiellement semblables pour les cellules B et T. Les segments géniques du récepteur de cellule T sont flanqués de séquences signal de recombinaison (SSR), avec des espaceurs de 12 pb (un tour) et 23 pb (deux tours); ces SSR sont homologues de celles qui flanquent les segments géniques des immunoglobulines et sont reconnues par les mêmes enzymes.

Comme il est montré dans la **figure 20**, la localisation des séquences signal de reconnaissance à un tour (12 pb) ou à deux tours (23 pb) de l'ADN des chaînes  $\beta$  et des chaînes  $\delta$  des TCR diffère de celle de l'ADN des chaînes lourdes des Ig. En raison du réarrangement des séquences signal de reconnaissance dans l'ADN de la lignée germinale des TCR, une jonction alternative des segments géniques D peut se produire lorsque la règle de jonction un tour/deux tours est observée. Ainsi, il est possible qu'un segment génique  $V_\beta$  se joigne directement à un segment génique  $J_\beta$  ou à un segment génique  $D_\beta$ , créant ainsi une unité  $(VJ)_\beta$  ou  $(VDJ)_\beta$ .

La jonction alternative des segments géniques de la chaîne δ crée des unités semblables. Ainsi, une D<sub>δ</sub> peut se joindre à une autre, ce qui donne (VDDJ)<sub>δ</sub>. Ce mécanisme, qui ne peut pas se produire dans l'ADN des chaînes lourdes des Ig, crée une diversité supplémentaire considérable dans les gènes des TCR.



**Figure 20**

Une autre caractéristique commune au récepteur de cellule T et aux immunoglobulines est la présence de nucléotides P et N à la jonction entre les segments V, D et J du gène TCRβ réarrangé. Dans les cellules T ; les nucléotides P et N sont aussi ajoutés entre tous les segments V et J de tous les gènes du TCRα réarrangés, alors que seulement la moitié des jonctions des gènes des chaînes légères d'immunoglobulines est modifiée par l'addition de nucléotides P et reste aussi souvent sans nucléotides N (Tableau 2).

**Tableau 2**

Mécanisme de diversité	Immunoglobulines		Récepteur des cellules T αβ		Récepteur des cellules T γδ	
	Chaîne H	Chaîne κ	Chaîne α	Chaîne β	Chaîne γ	Chaîne δ
Nombre estimé de segments						
Segments géniques multiples de la lignée germinale						
V	101	85	79	21	7	6
D	13	0	0	2	0	2
J	4	4	38	11	3	2
Nombre possible de combinaisons*						
Jonction combinatoire V-J et V-D-J	101 × 13 × 4 = 5,3 × 10 <sup>3</sup>	85 × 4 = 3,4 × 10 <sup>2</sup>	79 × 38 = 3 × 10 <sup>3</sup>	21 × 2 × 11 = 4,6 × 10 <sup>2</sup>	7 × 3 = 21	6 × 2 × 2 = 24
Jonction alternative des segments géniques D	-	-	-	+	-	+
Flexibilité jonctionnelle	+	+	+	(parfois)	-	(souvent)
Addition des nucléotides des régions N†	+	-	+	+	+	+
Addition des nucléotides des régions P	+	+	+	+	+	+