

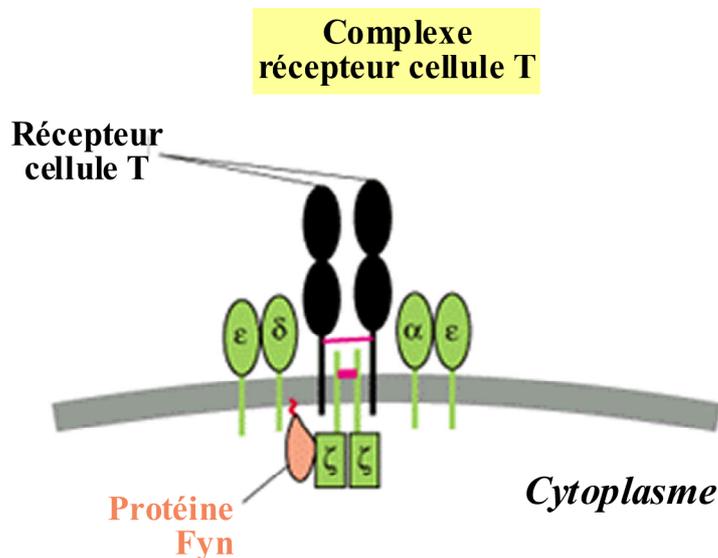
LA PRESENTATION DE L' ANTIGENE AUX CELLULES T

d'après le cours de Claude LECLERC

I- PRESENTATION DE L'ANTIGENE AUX CELLULES T CD4+ PAR LES ANTIGENES DU CMH DE CLASSE II

A - Introduction

L'activation des cellules T helper CD4+ (T auxiliaires) est un évènement crucial dans l'induction d'une réponse immunitaire. Contrairement aux cellules B qui lient directement l'antigène, les cellules T ne reconnaissent l'antigène qu'en association avec des produits du CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) exprimés à la surface de cellules: les cellules présentant l'antigène (CPA). L'antigène n'est pas reconnu sous sa forme native, mais uniquement après avoir subi des transformations physicochimiques (le "processing" des anglo-saxons). C'est cette forme modifiée de l'antigène qui, complexée avec des molécules du CMH de la CPag (*cellules présentant l'antigène*), est reconnue par le récepteur des cellules T.

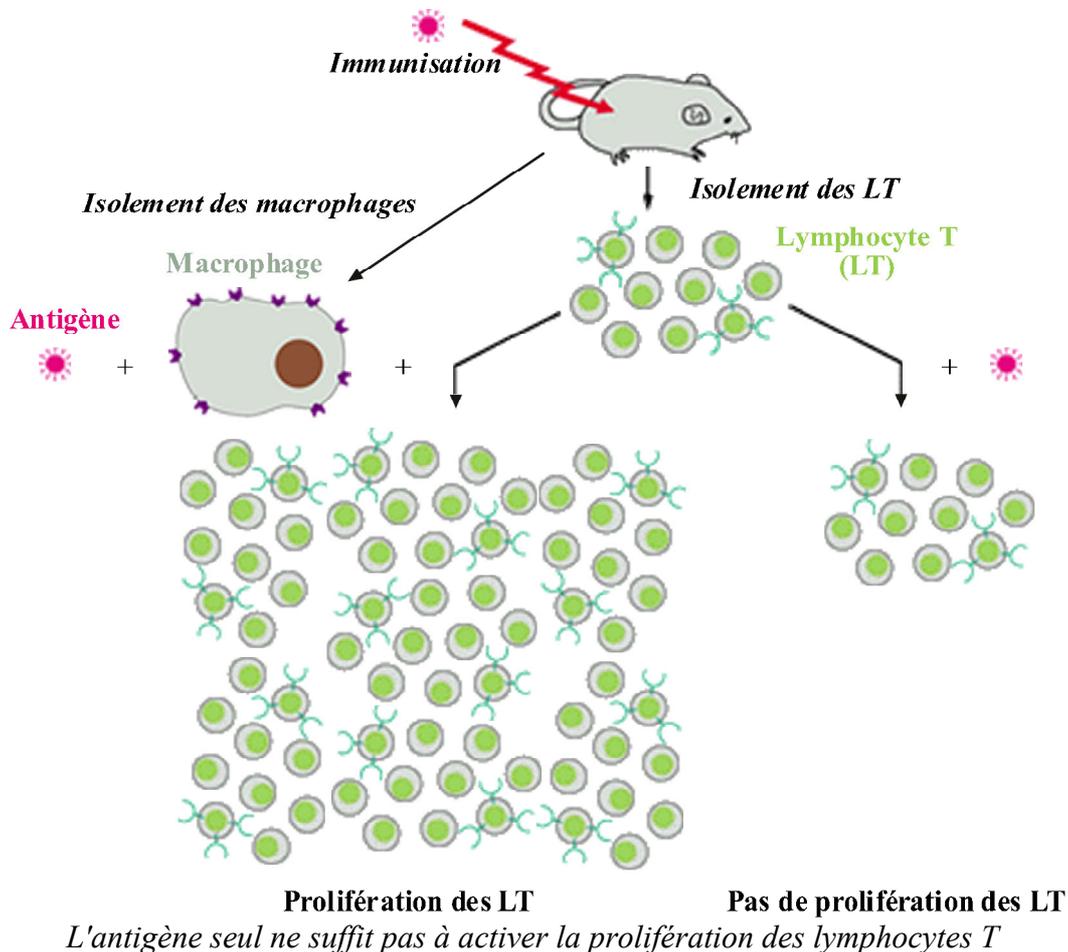


B - Historique

1 - L'activation des cellules T auxiliaires nécessite la présence de cellules présentant l'antigène

L'expérience de base ayant permis la démonstration que l'activation des cellules T nécessitait la présence de macrophages a été réalisée en utilisant des cellules de ganglions d'un cobaye

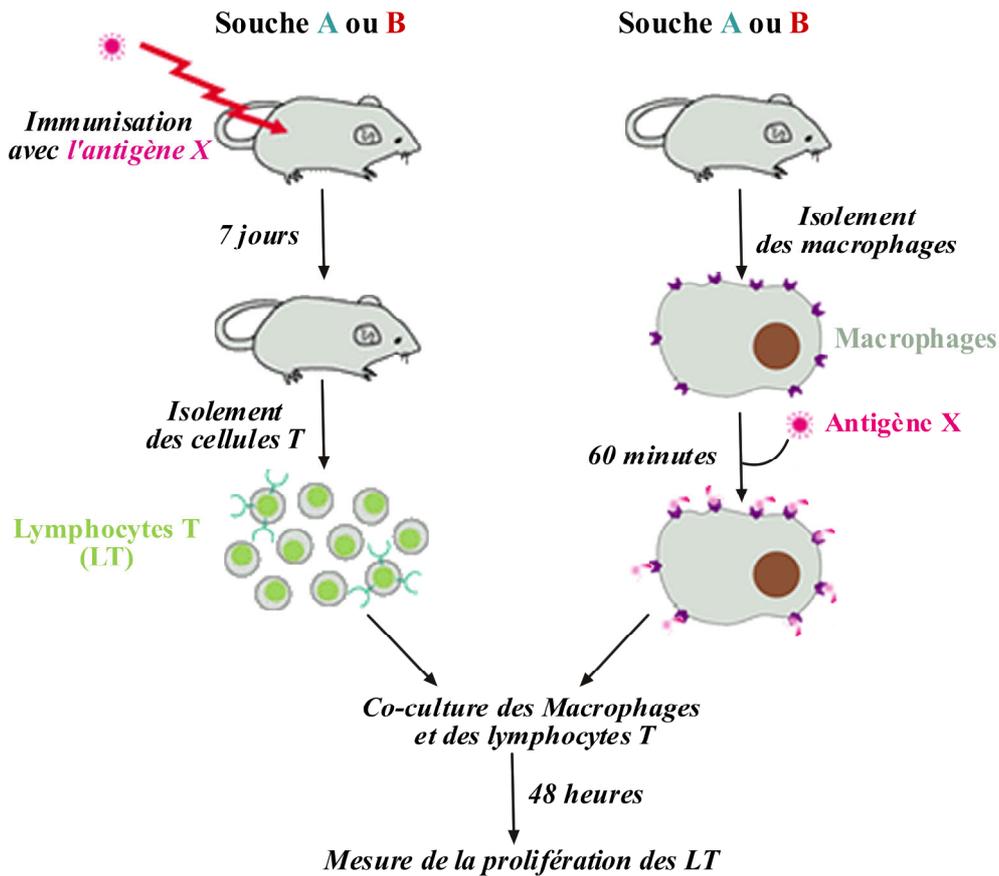
immunisé par un antigène donné et purifiées afin de ne contenir pratiquement que des lymphocytes T. Ceux-ci, mis en présence de l'antigène ayant servi à l'immunisation, ne prolifèrent pas. Par contre, ces mêmes cellules T mises en présence de l'antigène et de cellules macrophagiques (préparées à partir de cellules d'exsudat péritonéal: PEC, pour Peritoneal Exsudat Cells) prolifèrent de façon importante.



2 - L'interaction macrophages-cellules T helper (CD4+) est restreinte par les antigènes du CMH de classe II

Utilisant le même modèle expérimental, Rosenthal et Shevach en 1974 ont démontré que l'interaction macrophages-cellules T est soumise à contrainte génétique au niveau du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

Utilisant deux souches de cobayes différant au niveau du CMH, les souches 2 et 13, ils démontrent que les lymphocytes T d'une souche ne prolifèrent que si l'antigène est présenté par les macrophages de la même souche (ou de l'hybride F1). Si les macrophages proviennent d'une autre souche, il n'y a pas ou peu de prolifération. Ces expériences démontrent la nécessité de l'identité du CMH pour une collaboration effective entre macrophages et lymphocytes T.



| Macrophages | Cellules T | Induction de la prolifération des LT par l'antigène X |
|-------------|------------|---|
| Souche A | Souche A | + |
| Souche B | Souche B | + |
| Souche A | Souche B | - |
| Souche B | Souche A | - |

Restriction du CMH à la prolifération des lymphocytes T

Ces résultats furent étendus à la souris où une génétique plus fine a permis de démontrer que la région du CMH impliquée était la sous-région I-A codant pour les produits de classe II. La plupart des études précédentes avaient utilisé des "antigen-pulsed macrophages", c'est-à-dire que macrophages et antigène étaient incubés ensemble, l'antigène libre était éliminé par lavage, puis les macrophages lavés étaient utilisés pour "présenter" l'antigène. Quelle est donc la structure associée au macrophage et stimulant les lymphocytes T ? Des études réalisées avec de l'antigène marqué (par exemple, hémocyanine marqué avec de l'¹³¹Iode) ont montré que l'antigène se fixe à la surface du macrophage, est internalisé puis rapidement dégradé: une partie (80 %) de l'antigène se retrouve dans le milieu de culture sous forme d'¹³¹Iode lié à des peptides. Cependant, 20 % restent associés à la cellule. Le traitement à la trypsine de ces macrophages "pulsés" n'affecte cependant pas leur capacité à stimuler les lymphocytes T. De plus, l'antigène présenté à la surface des macrophages n'est pas reconnaissable par des anticorps ou accessible à ces anticorps dirigés contre la molécule native: en effet, de tels anticorps n'inhibent pas la prolifération T.

3 - Mise en évidence du phénomène de "Processing"

La notion d'apprêtement de l'antigène (processing) a été basée sur des observations d'abord établies par Ziegler et Unanue, puis confirmées par de nombreux groupes.

Utilisant comme antigène les bactéries *Listeria monocytogenes*, ils établirent les données fondamentales suivantes:

-Le macrophage phagocyte *Listeria* en quelques minutes. De 30 à 60 minutes lui sont par

contre nécessaires pour présenter l'antigène à des cellules T spécifiques de *Listeria*,

-Si les macrophages sont fixés après avoir été incubés avec l'antigène suffisamment longtemps (une heure par exemple), ils conservent leur capacité à présenter l'antigène,

-Si les macrophages sont fixés avant d'être incubés avec l'antigène, ils perdent leur capacité à stimuler des lymphocytes T spécifiques de cet antigène.

De plus, le traitement des CPA avec des agents lysosomotriques (chlorure d'ammonium ou chloroquine) abolit totalement la capacité des CPA à présenter l'antigène. Donc, l'antigène doit rencontrer, à un moment donné, un compartiment intracellulaire acide. Il y a corrélation entre l'inhibition de la dégradation protéolytique de *Listeria* et l'inhibition de la capacité à présenter l'antigène.

Le processing de l'antigène implique donc une fragmentation Protéolytique.

4 - Le "Processing" de l'antigène aboutit à sa fragmentation en peptides

En 1983, Shimonkevitz et Grey réalisent une expérience cruciale: ils fixent des CPA à la glutaraldéhyde. Ceux-ci ne peuvent présenter l'antigène (ovalbumine de poule) aux cellules T. Mais, ils vont fractionner chimiquement et enzymatiquement (bromure de cyanogène, trypsine) ce même antigène, l'ovalbumine. Les CPA fixés à la glutaraldéhyde et mis en présence de ces fragments sont capables de stimuler les lymphocytes T spécifiques. Le processing de la CPA aboutit donc à la préparation de peptides qui peuvent directement s'associer à cette même cellule.

Parallèlement à ces travaux, Allen et Unanue démontraient que des macrophages incubés avec des *Listeria* marquées relarguent un certain nombre de peptides dont certains s'associent aux membranes de macrophages.

De nombreux autres études ont suivi démontrant par l'utilisation de peptides synthétiques que les cellules T reconnaissent, en association avec les antigènes du CMH, de courtes séquences peptidiques (une dizaine d'acides aminés) produits par le processing de l'antigène.

Diverses approches ont été récemment mises au point pour déterminer la nature des peptides produits par le processing physiologique et pouvant ensuite s'associer aux antigènes du CMH. Les molécules de classe II de cellules CPA préalablement incubés avec un antigène donné (notamment le Iyozyme) sont extraites des cellules puis purifiées. Les peptides liés à ces molécules sont ensuite élués à pH acide. Il a été ainsi possible d'identifier ces peptides et de démontrer qu'il existe une population hétérogène de peptides d'une taille allant d'environ 15 à 25 acides aminés, mais possédant un "core" commun.

Récemment, le groupe de Janeway a purifié les antigènes de classe II obtenus à partir de lignées cellulaires en l'absence d'incubation avec un antigène exogène. Il a isolé les peptides associés à ces molécules et a démontré qu'il s'agit de peptides plus longs que ceux élués à partir des classes I purifiées. Ceci implique des modalités différentes d'interaction entre peptides et antigènes du CMH de classe I et II, ce qui a été confirmé par la cristallographie des molécules de classe I et II. Ces peptides, présents en l'absence d'exposition des cellules à des antigènes extérieurs, dérivent de peptides de la cellule ou de composants de milieux de culture.

5 - Le complexe CMH-peptide

Il est maintenant bien établi que le processing de l'antigène aboutit à la formation d'un

complexe entre les molécules de classe II présentes sur la CPA et le peptide produit par le processing de l'antigène par cette même CPA.

Nous avons vu que le processing aboutissait à la fragmentation de l'antigène. Il convenait de définir quel était le produit de cette dégradation qui était reconnue par les lymphocytes T. Ces expériences furent réalisées par le groupe d'Unanue en utilisant le lysozyme de blanc d'oeuf de poule (HEL) qui comprend 129 acides aminés. Des hybridomes T ont été générés contre HEL présentés par des macrophages dans le contexte IA^K. Unanue et coll. ont ainsi défini un produit de digestion de HEL par la trypsine qui peut stimuler les hybridomes T en étant présenté par des CPA fixés (et donc incapables de processing). Ils ont ensuite pu identifier le peptide concerné, en faire la séquence, puis synthétiser chimiquement ce même peptide. Une telle démarche a été suivie par d'autres groupes avec succès pour d'autres modèles expérimentaux. Le produit du processing de l'antigène par la CPA est un peptide d'une dizaine d'acides aminés (pour le lysozyme, on a défini par exemple le peptide HEL (52-61)).

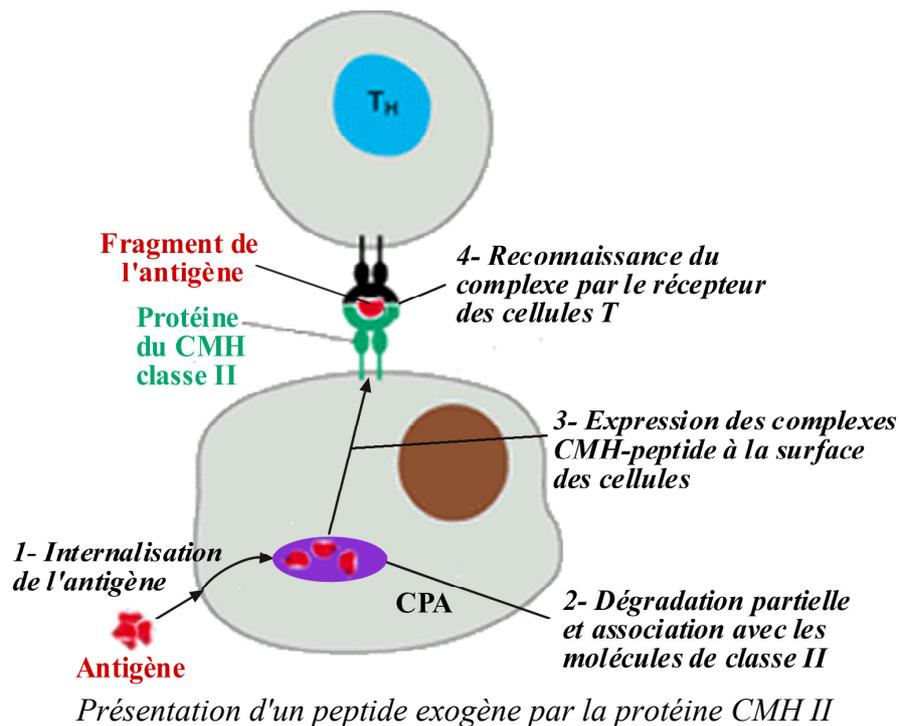
Ce peptide forme un complexe avec une molécule de classe II. Cette interaction fut pour la première fois démontrée par le groupe d'Unanue en 1985. Le peptide HEL (46-61) est immunogène chez les souris H-2^K, mais non chez les H-2^b. Des hybridomes T d'origine H-2^K prolifèrent en présence de HEL (46-61), si celui-ci est présenté sur les CPA appropriés. Ce même peptide, fluorescent, est capable de se lier aux molécules I-A^K purifiées. Cette fixation est saturable, inhibable par le peptide non marqué, indiquant la spécificité de l'interaction. La constante de dissociation (KD) est de 2 μM. De plus, le peptide HEL (46-61) ne se fixe pas sur les molécules

I-A^d (haplotype non répondeur).

Ces données ont été généralisées par Howard Grey, Soren Buus, et leur groupe. Ils ont démontré la corrélation entre capacité de se fixer à des molécules de classe II et capacité de stimuler des lymphocytes T. Des expériences d'inhibition ont montré que, pour une molécule de classe II donnée, tous les peptides testés se fixaient sur le même site (agrétope interne). Le site de liaison implique les chaînes a et b de la molécule du CMH. L'interaction CMH-peptide est très lente, mais stable une fois réalisée (association rate: 1 m-1s-1, dissociation constante: 1 à 10 μM).

II- DEGRADATION DES PROTEINES EN FRAGMENTS PEPTIDIQUES

L'existence de plusieurs classes de molécules du CMH permet l'adaptation du système immunitaire aux différents antigènes qu'il est susceptible de rencontrer. En effet, les molécules de classe I du CMH sont responsables de la présentation d'antigènes présents dans le cytosol de la CPA, appelés antigènes endogènes, alors que les molécules de classe II sont spécialisées dans la fixation de peptides provenant d'antigènes exogènes, internalisés depuis l'environnement extracellulaire par endocytose. Les protéines exogènes intègrent successivement les différents compartiments de la voie endocytique où elles sont dégradées par diverses enzymes protéolytiques. En effet, les protéines nécessitent un apprêtement intracellulaire générant des peptides capables de s'associer aux molécules du CMH de façon efficace.



L'efficacité et la qualité de l'apprêtement de l'antigène dépendent de la complexité de la protéine à dégrader, de ses sites d'action pour les protéases et de la nécessité de dénaturer la protéine avant sa protéolyse. Par exemple, certains antigènes, comme le lysozyme, l'insuline ou la toxine a de serpent, nécessitent la réduction de ponts disulfures préalablement à l'action des protéases. L'activité optimale des protéases requiert un pH acide entre 3 et 6, par conséquent leur efficacité sera modulée en fonction du compartiment endocytique où elles agissent. Ainsi, des antigènes encapsulés dans des liposomes se dissociant au pH des lysosomes sont apprêtés plus efficacement que des antigènes transportés dans des liposomes libérant l'antigène au niveau des endosomes plus précoces. De nombreuses familles de protéases sont présentes dans les compartiments endocytiques, dont les cathepsines. On distingue les cathepsines B, H, L (cystéine protéases) et les cathepsines D et E (aspartyl protéases), qui ont pu être colocalisées avec les molécules de classe II dans ces vésicules. Chaque protéase est caractérisée par des sites préférentiels de clivage et l'action simultanée de plusieurs protéases a été mise en évidence pour certains antigènes.

Au contraire, les molécules de classe I présentent des protéines endogènes, produites dans le cytoplasme de la cellule au cours du renouvellement des protéines cellulaires ou au cours d'infections bactériennes ou virales ou encore lors du développement de tumeurs. Ces protéines sont dégradées en fragments peptidiques dans le cytosol. La protéolyse est assurée par un complexe multiprotéique, appelé protéasome, dont certaines sous-unités sont codées par des gènes inductibles par l'IFN γ , LMP2 et LMP7. Ce processus est dépendant de l'ATP et se déroule généralement après ubiquitination des protéines. L'activité enzymatique du protéasome est modulée par l'expression différentielle de certaines sous-unités par rapport à d'autres.

Cette corrélation entre l'origine des antigènes et la classe de molécule du CMH à laquelle ils s'associent, comporte des exceptions au cours desquelles des antigènes endogènes sont présentés par des molécules de classe II, ou des antigènes exogènes peuvent être associés à des molécules de classe I. Par exemple, de fortes doses d'ovalbumine sous forme soluble peuvent être présentées en association aux molécules de classe I. Une présentation efficace d'antigène exogène par des molécules de classe I est observée, *in vitro* et *in vivo*, lorsque la protéine est couplée à des particules synthétiques de latex. Les macrophages sont responsables

de cette voie de présentation grâce à la phagocytose des particules qui transitent par les phagolysosomes et se retrouvent ensuite dans le cytosol des macrophages, devenant ainsi accessibles à la voie endogène classique de présentation par les molécules de classe I. Un autre mécanisme a également été suggéré au cours duquel les peptides sont générés dans les compartiments intracellulaires des macrophages puis libérés pour se fixer aux molécules de classe I présentes à la surface d'autres cellules. Par ailleurs, il a été démontré que les macrophages sont capables d'internaliser des antigènes solubles depuis le milieu extracellulaire par un processus de macropinocytose, conduisant les antigènes dans le cytosol. Les macrophages sont également capables de présenter des antigènes exprimés dans des bactéries *Escherichia coli* ou des salmonelles recombinantes ou des antigènes dérivés du parasite intracellulaire *Leishmania major*, en association à des molécules de classe I.

III- TRANSPORT DES MOLECULES DE CLASSE II ET FONCTION DE LA CHAÎNE INVARIANTE

Les molécules de classe II sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique, où s'associent trois dimères $\alpha\beta$ avec un trimère de chaîne invariante et les nonamères ainsi formés sont exportés vers les endosomes via l'appareil de Golgi. La chaîne invariante est une protéine chaperonne qui exerce plusieurs fonctions auprès des molécules de classe II.

Tout d'abord, elle contribue à l'assemblage des chaînes α et β nouvellement synthétisées et assure leur stabilisation dans le réticulum sous une conformation permettant leur transport vers la voie endocytyque. Elle empêche également la fixation de peptides endogènes, présents dans le réticulum ou le réseau de Golgi, aux molécules de classe II. De plus, des signaux localisés dans la région cytoplasmique de la chaîne invariante sont responsables du transport des molécules de classe II depuis le réticulum endoplasmique vers la voie endocytyque.

Au niveau des endosomes, la chaîne invariante est progressivement dégradée par des protéases auxquelles résistent les molécules de classe II. Quelques fragments peptidiques restent temporairement associés aux dimères $\alpha\beta$ de molécules de classe II. En particulier, différents peptides de la région 81-104, appelés peptides CLIP (pour "class II associated invariant chain peptides"), isolés lors de l'élution des peptides naturels associés aux molécules de classe II, sont associés au dimère $\alpha\beta$ et permettent d'empêcher la fixation de peptides endogènes.

Deux modes d'interaction ont été envisagés pour les peptides CLIP. D'une part, les motifs d'interaction de CLIP avec les molécules de classe II sont semblables aux motifs des peptides ligands naturels et cette interaction est modulée par le polymorphisme allélique des molécules de classe II, ceci suggérant la fixation de CLIP dans le sillon peptidique de la molécule de classe II. D'autre part, la fixation d'autres peptides pourrait être inhibée par un blocage allostérique exercé par CLIP. En fait, la structure cristallographique de CLIP associé à la molécule HLA-DR3 a révélé qu'il se fixe au niveau du sillon peptidique de façon quasiment identique aux peptides antigéniques.

La protéolyse de la séquence correspondant à CLIP permet de démasquer le site de liaison au peptide et supprime le signal de rétention dans les endosomes pour le dimère $\alpha\beta$, qui peut alors s'associer à un peptide antigénique. La dissociation entre la chaîne invariante et les molécules de classe II dépend d'une part de l'activité protéolytique des endosomes et d'autre part, de l'affinité de la chaîne invariante pour les différents allèles des molécules de classe II. L'étude de cellules B déficientes dans la présentation d'antigènes exogènes et mutées dans les gènes HLA-DM, situés dans la région des gènes des molécules de classe II, a suggéré un rôle primordial des molécules DM pour la liaison de peptides aux molécules de classe II.

L'équivalent de ces molécules DM a également été identifié chez la souris et est appelé molécules H2-M. Des travaux récents ont montré que les protéines DM catalysent la dissociation de peptides déjà présents sur les molécules de classe II, dont CLIP, permettant l'échange de CLIP contre des peptides antigéniques. Ces résultats sont confirmés par l'étude de souris n'exprimant plus les molécules H2-M par des mutations au niveau des gènes codant pour ces protéines. Les cellules spléniques de ces animaux expriment à leur surface, des molécules de classe II stables, auxquelles sont fixés surtout des peptides dérivés de la chaîne invariante, et ces cellules ne sont pas, ou peu, capables de présenter des protéines ou des peptides à des cellules T. De plus, l'activité des molécules HLA-DM est optimale dans un environnement acide (pH 5) correspondant au pH des vésicules tardives ou lysosomiales de la cellule, où sont générés les peptides antigéniques.

IV- COMPARTIMENTS CELLULAIRES IMPLIQUES DANS L'ASSOCIATION DES MOLECULES DE CLASSE II AU PEPTIDE ANTIGENIQUE

Les molécules de classe II associées à la chaîne invariante sont transportées depuis le réticulum endoplasmique, à travers le réseau golgien vers la voie endocytyque. Cependant, il n'y a pas à l'heure actuelle, de consensus sur la distribution et le trafic des complexes classe II-chaîne invariante parmi les différents compartiments de la voie endocytyque, que constituent schématiquement les endosomes précoces, les endosomes tardifs et les lysosomes. La liaison de peptides aux molécules de classe II a-t-elle lieu dans un compartiment unique, ou au contraire dans les différentes vésicules constituant la voie endocytyque?

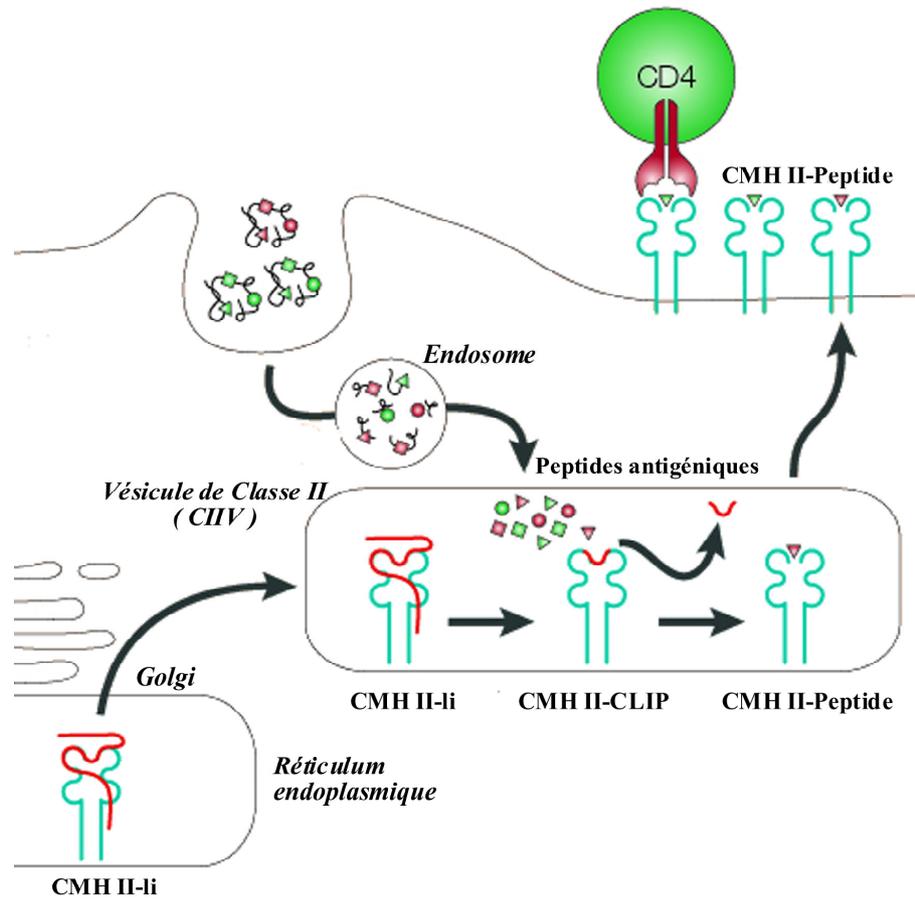
La notion d'un compartiment endocytyque spécialisé dans l'accumulation des molécules de classe II et où aurait lieu leur rencontre avec les peptides antigéniques a été initialement suggérée par une étude morphologique et immunocytochimique d'une lignée lymphoblastoïde B humaine. Les molécules de classe II ont été révélées dans un compartiment prélysosomal en absence de chaîne invariante, mais elles n'ont pas été détectées dans les endosomes précoces, suggérant un transport direct des molécules de classe II vers cette vésicule. Par ailleurs, les molécules de classe II ont été localisées dans les lysosomes et les phagolysosomes de macrophages ayant capté des bactéries *Listeria monocytogenes* par phagocytose. Les complexes peptide-classe II ont également été retrouvés au niveau de prélysosomes dans les macrophages.

Plus récemment, à l'aide de techniques de fractionnement subcellulaire des vésicules de la voie endocytyque, plusieurs études analysant des cellules B ont mis en évidence un compartiment endocytyque spécialisé, appelé CIIV (vésicule de classe II) où sont retrouvées les molécules de classe II nouvellement synthétisées, associées de façon stable à des peptides antigéniques. Les molécules de classe II ayant perdu leur chaîne invariante dans les endosomes, seuls des peptides de la région CLIP provenant de la chaîne invariante ont été retrouvé associé aux molécules de classe II dans ces compartiments CIIV. L'association de peptides antigéniques aux molécules de classe II s'effectuerait dans ce compartiment, différent des endosomes précoces, tardifs ou lysosomaux, auquel toutefois, les antigènes internalisés par endocytose auraient accès.

Au contraire de ce compartiment spécialisé dans la liaison peptide-classe II, une étude sur des lymphoblastes B spléniques de souris a révélé la présence de complexes classe II-chaîne invariante et de complexes classe II-peptide antigénique dans diverses catégories de vésicules de la voie endocytyque. Cette étude suggère que la fixation du peptide aux molécules de classe II peut s'effectuer tout au long du cheminement des molécules de classe II depuis le réseau

golgien dans la voie endocytaire en fonction du niveau de dégradation des antigènes dans chaque compartiment.

Chaque molécule du CMH ayant chargé efficacement un peptide antigénique, quitte le compartiment où ce complexe s'est formé puis est transporté vers la membrane plasmique par un mécanisme d'exocytose non encore exploré, pour être reconnu par les lymphocytes T spécifiques.

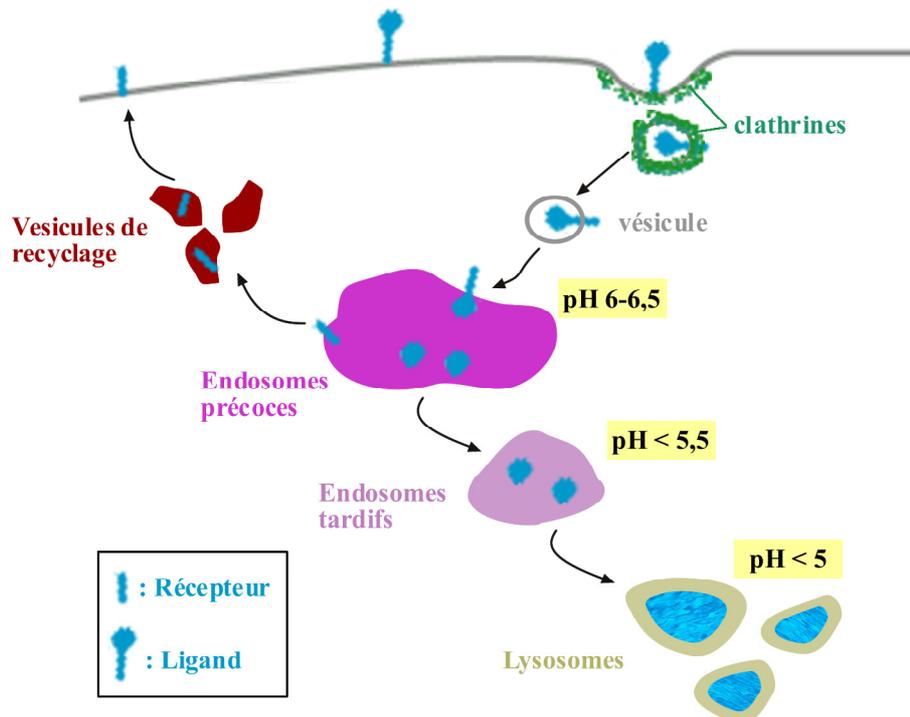


Dégradation et transport de l'antigène qui fixe les molécules de classe II

V- LES CELLULES SPECIALISEES DANS LA PRESENTATION DE L'ANTIGENE , RESTREINTE PAR LES MOLECULES DE CLASSE II DU CMH

Les antigènes exogènes sont captés dans le milieu extracellulaire et transportés au sein de la cellule selon un processus d'endocytose. La substance à ingérer (protéine, micro-organisme ou débris cellulaire) est incluse dans une invagination de la membrane plasmique qui se détache pour former une vésicule intracellulaire, appelée endosome. La voie endocytaire est composée d'une suite de vésicules, caractérisée par une acidité croissante depuis la membrane plasmique vers le centre de la cellule et contenant une grande variété d'enzymes protéolytiques impliquées dans la dégradation de l'antigène. On distingue schématiquement, les endosomes précoces (pH 6,5-5,5), les endosomes tardifs (pH 5) et les lysosomes (pH 4,5).

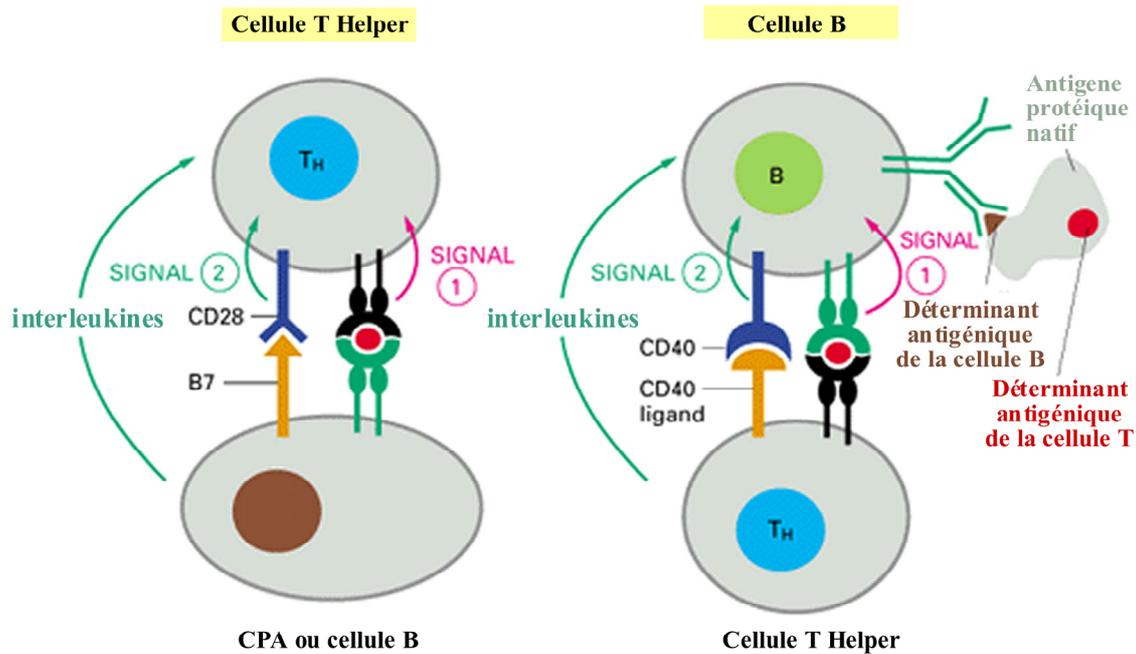
Les endosomes précoces représentent les compartiments où les molécules à recycler vers la surface des cellules sont séparées de celles qui sont transportées vers les compartiments tardifs. Nous décrivons les principales voies d'endocytose utilisées pour la capture d'un antigène par une cellule présentatrice.



Organisation fonctionnelle de la voie endocytique

Une cellule présentant un déterminant antigénique à une cellule T, CD4 +, doit satisfaire à plusieurs critères:

- 1) être capable de capturer une substance antigénique par l'un des processus mentionnés précédemment,
 - 2) synthétiser des molécules du CMH de classe II,
 - 3) pouvoir dégrader l'antigène en fragments peptidiques et,
 - 4) exprimer les molécules de co-stimulation nécessaires à l'activation complète des cellules T.
- L'ensemble de ces conditions sont réunies par certains types de cellules appartenant au système immunitaire, appelés cellules présentatrices de l'antigène spécialisées. Ce sont essentiellement les monocytes et les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B qui expriment de façon constitutive les molécules de classe II du CMH.



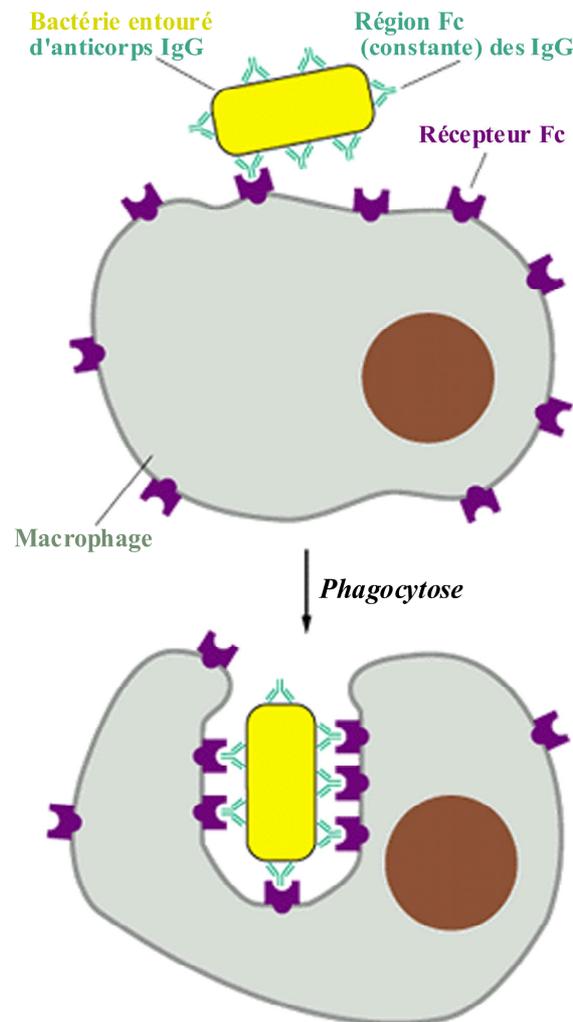
Exemple de présentation de peptide sur le CMH II par des CPA ou des LB conduisant à l'activation du LT_{helper} ou du LB

Néanmoins, d'autres cellules sont capables de présenter un antigène en association avec les molécules de classe II du CMH. Ces types cellulaires peuvent être associés à des spécificités tissulaires particulières, comme les cellules épithéliales de l'intestin capables de présenter des peptides ou des protéines, les kératinocytes de l'épiderme, les hépatocytes au niveau du foie, les astrocytes et les cellules de la microglie dans le système nerveux central. D'autres cellules deviennent capables d'activer des lymphocytes T en cas de pathologies, comme les polynucléaires éosinophiles au cours de manifestations allergiques. Les mastocytes différenciés à partir de cellules de la moelle osseuse de souris ont aussi la propriété de stimuler des cellules T de façon spécifique de l'antigène. Les lymphocytes T humains sont également capables de présenter des antigènes solubles tels que la protéine gp120 du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou la protéine d'enveloppe du virus de l'hépatite B (VHB), grâce à l'endocytose de ces antigènes par des récepteurs spécifiques présents à la surface des cellules T. Les lymphocytes T humains exerceraient également un rôle de CPA, après une activation permettant un niveau d'expression suffisant des molécules du CMH de classe II et de co-stimulation, comme par exemple, après la stimulation de clones T alloréactifs en présence d'IL-2 et de CPA allogéniques, préalablement à la présentation de la toxine tétanique à des clones T spécifiques.

A - Les macrophages

Les monocytes originaires de la moelle osseuse sont immatures, ils circulent dans le sang, d'où ils peuvent migrer vers les organes et tissus de l'organisme, où ils deviennent alors des macrophages différenciés. Ces macrophages sont distribués dans tout l'organisme, comme le foie (appelées alors cellules de Kupfer), la rate, les ganglions lymphatiques, le cerveau, les poumons, les cavités séreuses (pleurale et péritonéale), le tractus gastro-intestinal, etc. Ils expriment de façon constitutive les molécules de classe II du CMH et possèdent une activité phagocytaire très importante qui leur permet d'ingérer des micro-organismes ou des débris cellulaires. L'efficacité d'internalisation de substances antigéniques peut être modulée par le ciblage d'antigènes vers des récepteurs présents à la surface des macrophages, qui permettent

par conséquent d'accroître l'efficacité de présentation de déterminants antigéniques. Parmi ces nombreux récepteurs, nous pouvons citer les récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines G (RFcg), les récepteurs de polysaccharides (par exemple, le mannose) reconnaissant les glycoprotéines des agents microbiens et les récepteurs pour les protéines de la famille des $\alpha 2$ -macroglobulines ayant la propriété de fixer covalentement d'autres protéines lors de changement conformationnel induit par des enzymes, comme les récepteurs pour les fragments C3 ou C4 du complément.



Exemple de récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines G (RFcg)

Il existe plusieurs types de RFcg, dits de haute ou de faible affinité. Les récepteurs de haute affinité, RFcgI, ne semblent pas jouer un rôle prépondérant dans l'internalisation de l'antigène sous forme de complexes immuns antigène-anticorps, au contraire des récepteurs de faible affinité RFcgII et RFcgIII. Toutefois, il faut distinguer l'isotype RFcgIIb2, exprimé par les monocytes et macrophages de l'isotype RFcgIIb1, exprimé par les lymphocytes B et ne permettant pas la présentation d'antigène aux lymphocytes T. La capture de complexes immuns par l'intermédiaire de RFc permet notamment la présentation d'un antigène complexe par sa structure quaternaire, l'hormone chorionique gonadotrope (hCG), à des cellules T spécifiques.

B - Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques, comme les macrophages proviennent de la lignée myéloïde. Les

précurseurs issus de la moelle osseuse sont libérés dans la circulation sanguine et distribués dans de nombreux tissus non lymphoïdes, par exemple au niveau de l'épiderme, sous le nom de cellules de Langerhans. Après avoir capté un antigène, elles sont ensuite capables de migrer vers les zones T des organes lymphoïdes pour activer les cellules T spécifiques de l'antigène.

Les cellules dendritiques sont impliquées aussi bien dans la présentation d'antigènes aux cellules T, CD4 + restreintes par les molécules de classe II que dans l'induction de cellules cytotoxiques, restreintes par les molécules de classe I, notamment pour des antigènes d'origine tumorale. L'excellente efficacité de présentation de l'antigène par les cellules dendritiques est attribuée notamment au niveau d'expression élevé des molécules de classe I et II du CMH et de molécules de co-stimulation à leur surface. D'autre part, elles sont capables d'internaliser des antigènes par différentes voies efficaces d'endocytose, telles que la pinocytose en phase liquide, l'endocytose médiée par récepteur tels que le RfC ou le récepteur mannose. Leur capacité à phagocyter des antigènes particuliers reste assez controversée, et ceci pourrait s'expliquer par la très grande hétérogénéité morphologique et fonctionnelle de ces cellules en fonction de leur état de différenciation, en particulier après les multiples étapes nécessaires à leur isolement et leur culture in vitro. Ainsi, rapidement après leur isolement de la peau, les cellules de Langerhans sont capables de phagocyter des levures, des bactéries ou des particules de latex de 0,5 à 3 µm. Cependant, cette activité phagocytaire est fortement diminuée au cours de la maturation des cellules in vitro, tandis qu'elles acquièrent des propriétés de co-stimulation importantes. Par ailleurs, des précurseurs de cellules dendritiques issus de moelle osseuse phagocytent des bactéries comme le BCG ou des particules de latex de 2 µm alors que des cellules dendritiques provenant de thymus ou de sang périphérique humain sont incapables de phagocyter des micro-organismes tels que BCG, *Candida albicans* ou des particules de latex. La capacité de capture de l'antigène semble également régulée par les cytokines employées in vitro pour la culture des cellules dendritiques isolées d'un organisme. En effet, la culture de cellules mononuclées humaines CD19-, CD2- provenant du sang périphérique en présence de GM-CSF et d'IL-4 leur confère la capacité d'internaliser des substances exogènes par un processus de macropinocytose. Toutefois, la rencontre avec un antigène engendre une maturation des cellules dendritiques conduisant à la diminution de leur capacité à capter des antigènes, au profit d'une meilleure aptitude à présenter des antigènes.

C - Les Lymphocytes B

Les lymphocytes B, tout comme les macrophages, sont assez peu efficaces pour la capture d'antigènes par micro pinocytose en phase liquide. Cependant, les cellules B peuvent fixer les antigènes grâce à leurs immunoglobulines de surface (IgM). La spécificité de l'IgM pour un antigène donné permet de concentrer cet antigène et de le présenter aux cellules T à des doses 1000 fois inférieures à celles nécessaires pour activer les lymphocytes T avec des cellules B non-spécifiques de l'antigène. Les IgM sont continuellement internalisées, qu'elles soient liées ou non à un antigène. Lorsqu'une IgM fixe l'antigène qui lui est spécifique en surface du lymphocyte B, elle permet le transport de cet antigène vers les compartiments endosomaux et lysosomaux de la cellule B où l'antigène est dégradé en fragments peptidiques présentés aux cellules T auxiliaires. Ce processus est essentiel pour l'interaction entre les cellules T et B conduisant à l'activation et à la différenciation des cellules B en cellules productrices d'anticorps.

BIBLIOGRAPHIE:

1. Williams, O.B., and Watts, T .H. 1995. Molecular chaperones in antigen presentation. *Curr. Op. Immunol.*, 7, 77.
2. Rammensee, H.G. 1995. Chemistry of peptides associated with MHC class 1 and class II molecules. *Curr. Op. Immunol.*, 7, 85.
3. Pinet, V., and Eliaou, J.F. 1995. HLA-OM ou comment rendre les molécules HLA de classe II présentables. *Méd./ Sci.*, 11, 747.
4. Howard, J.C. 1995 Supply and transport of peptides presented by class 1 MHC molecules. *Curr. Op. Immunol.*, 7, 69.
5. Stroynowski, I., and Forman, J. 1995. Novel molecules related to MHC antigens. *Curr. Op. Immunol.*, 7,97.
6. Viville, S., and Rabourdin-Combe, C. 1994. La chaîne invariante: son rôle et sa fonction dans la réponse immunitaire spécifique. *Méd./ Sci.*, 10, 163.
7. Sinigaglia, F., and Hammer, J. 1994. Defining the rules for the peptide-MHC class II interaction. *Curr. Op. Immunol.*, 6,52.
8. Bahram, S. 1993. Transporteurs de peptides et présentation de l'antigène. *Méd./Sci.*, 9, 1204.