

FACULTE DE MEDECINE DE BLIDA

**LE COMPLEXE MAJEUR D'HISTCOMPATIBILITÉ
ET LA PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE**

Dr M.L BOUDJELLA

Cours d'immunologie

ANNEE 2012-2013

I- INTRODUCTION / HISTORIQUE:

■ *Snell et Gorer 1930: chez la souris: « CMH »*

→ Des antigènes ou molécules protéiques à la surface cellulaire responsable d'un **rejet de greffe** de tissu entre donneur et receveur: H2 (**Histocompatibilité**).

■ *J.Dausset en 1958: chez les humains: « HLA »*

→ A la surface des leucocytes, des molécules homologues aux molécules H2: Ag d'histocompatibilité = système HLA (humain leucocyte Ag).

■ Le CMH = **Complexe Majeur d'Histocompatibilité** (HLA chez l'homme):

→ Région du génome qui codent pour ces molécules.

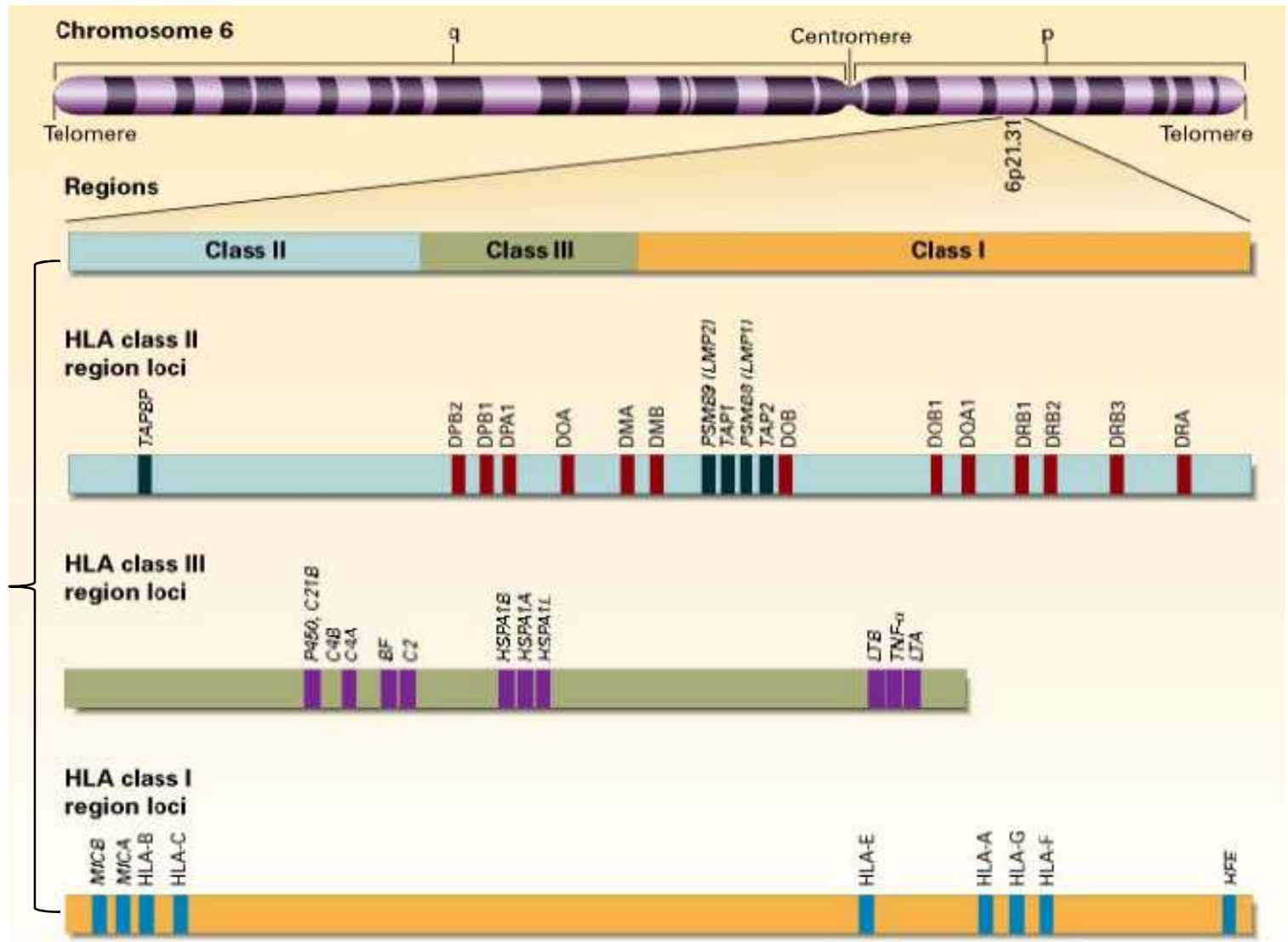
→ **Complexe: > 200 gènes codant pour** des produits très divers.

→ **Majeur:** Molécules très polymorphiques, les produits sont à l'origine de différences allogéniques importantes entre individus de la même espèce.

→ Elles ont un rôle dans la **présentation de l'antigène**.

II- GÈNES DU SYSTÈME HLA:

Carte physique de la région HLA



Représentation schématique de l'organisation du CMH (d'après Jan Klein and Akie Sato, N. Engl. J. Med. 2000)

II- GÈNES DU SYSTÈME HLA:

Locus HLA

Chez l'Homme HLA (Histocompatibility Leucocyte Antigen):

- Système génique situé sur le chromosome 6.
- 3 Grandes régions : HLA-II, III, I

1/ HLA-II :

- Gènes des molécules de présentation HLA-DR, DP, DQ (Chaînes α et β).
- Gènes associés aux molécules HLA-II : HLA-DM, DO.
- Gènes associés aux molécules HLA-I : TAP, LMP 1 à 7 (Protéasome).

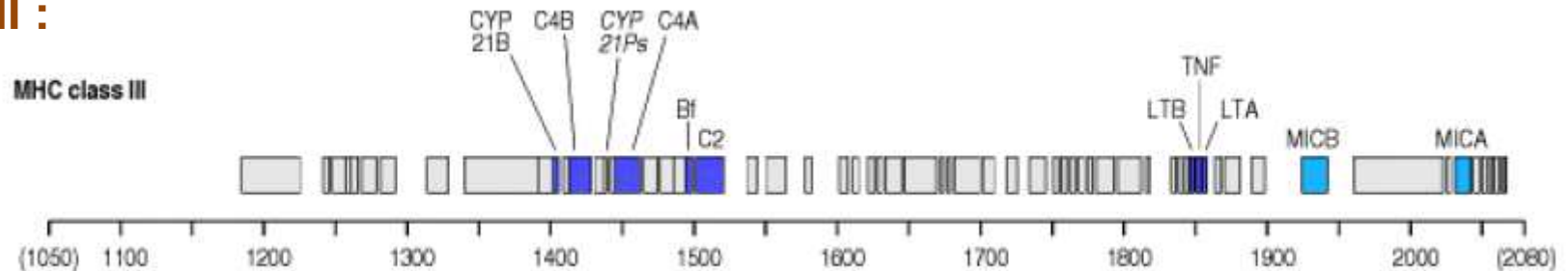
2/ HLA-I :

- Gènes « HLA-I like » MIC A et B rôle dans la réponse NK.
- Gènes des molécules de présentation HLA-I classiques HLA-A, B, C.
- Gènes des molécules de présentation HLA-I non-classiques HLA-E, F, G rôles dans la tolérance.

II- GÈNES DU SYSTÈME HLA:

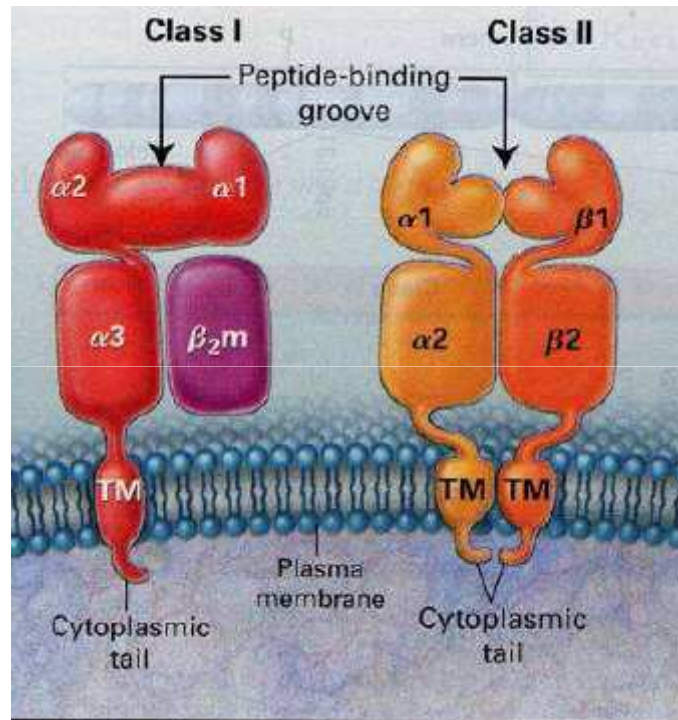
Locus HLA

3/ HLA-III :



- **CYP 21 B** : 21-hydroxylase une enzyme impliquée dans la synthèse des stéroïdes (aplasie quand mutation).
- **C4, C2, facteur B** : Fractions du système du complément.
- **Lymphotoxines A et B** : Membres de la famille des récepteur au TNF. Produites par les lymphocytes activés : rôle inflammatoire.
- **Tumor Necrosis Factor α** : Rôle inflammatoire.
- **MIC A et MIC B** : Class I Polypeptide-related Sequence. Ces molécules n'ont pas d'homologue chez la souris et n'ont qu'une chaîne qui semble non fonctionnelle. Rôle possible dans l'activation des LT et NK contre les cellules infectées ou tumorales.

III- MOLÉCULES HLA:



III- MOLÉCULES HLA:

Structure des molécules HLA de classe I:

- Dimères : Une chaîne lourde glycosylée α (44 kDa) et une chaîne légère β 2 microglobuline (11,5 kDa).

- La chaîne lourde comprend:
 - 3 domaines extracellulaires α 1, α 2, α 3.
 - 1 domaine transmembranaire.
 - 1 domaine cytoplasmique.

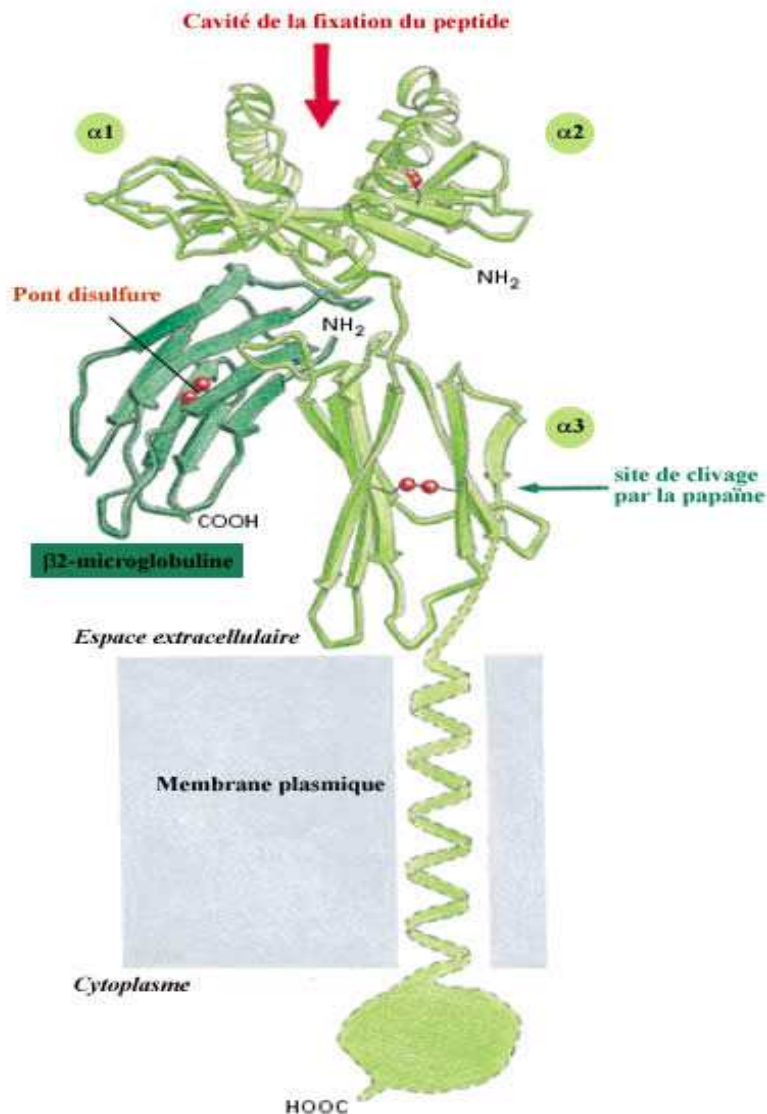
- La chaîne lourde interagit avec la β 2m par son domaine α 3.

- Les domaines α 1 et α 2 forment le site de liaison du peptide antigénique.

III- MOLÉCULES HLA:

Structure des molécules HLA de classe I:

Structure spatiale de la cavité peptidique de classe I



Les peptides de 8-10 amino-acides se logent dans les molécules du CMH de classe I sont profondément enfouis aux 2 extrémités.

- Les deux premiers domaines N-terminaux de $\alpha1$ et $\alpha2$ porteurs de tout le polymorphisme de la molécule forment le site de liaison du peptide.
- Le domaine $\alpha3$ porte le lieu d'ancrage du corécepteur CD8.

III- MOLÉCULES HLA:

Structure des molécules HLA de classe II:

- Dimères : Une chaîne lourde glycosylée α (31-34 kDa) et une chaîne légère β (26-29 kDa).

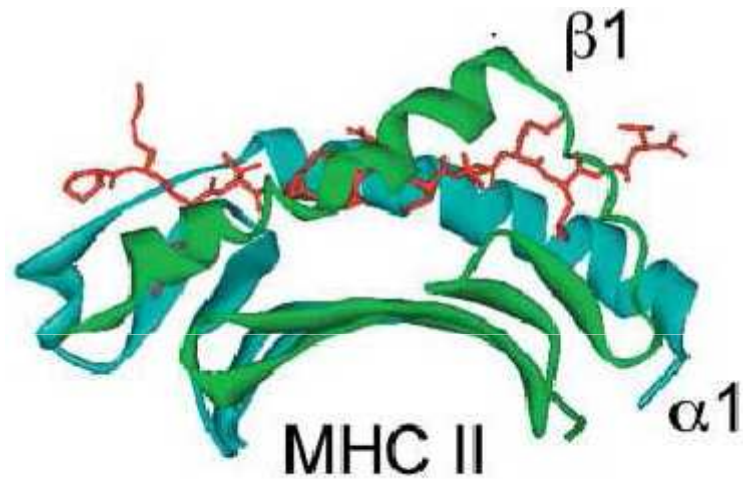
- Elles comprennent toutes les deux :
 - 2 domaines extracellulaires $\alpha 1$, $\alpha 2$ ou $\beta 1$, $\beta 2$.
 - 1 domaine transmembranaire.
 - 1 domaine cytoplasmique.

- Les domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$ forment le site de liaison du peptide antigénique.

III- MOLÉCULES HLA:

Structure des molécules HLA de classe II:

Structure spatiale de la cavité peptidique de classe II



Les peptides de 15 amino-acides ou plus se logent dans les molécules du CMH de classe II, débordent largement de leurs 2 extrémités

IV- EXPRESSION CELLULAIRE ET TISSULAIRE DES PRODUITS D'HISTOCOMPATIBILITÉ:

1/ Les molécules HLA A, B et C de classe I:

Sont exprimées à la surface membranaire de l'ensemble des cellules nucléées humaines (Ubiquitaire) :

- Nombre variable en fonction du type cellulaire et de son état de différenciation rate > foie > poumon > intestins > coeur > thymocytes.
- Tissus dépourvus: Os, cartilage, cerveau, trophoblaste, tubules rénaux, spermatozoïdes.
- Absent dans certaines maladies : maladies des lymphocytes dénudés, cellules en culture DAUDI.
- Situation différente selon les cellules : Plus sur les lymphocytes que sur les plaquettes.

2/ Les molécules HLA DR, DQ et DP de classe II:

Ont une distribution tissulaire plus restreinte :

- Cellules B et macrophages expriment le CMH classe II.
- Cellules T activées.
- Cellules dendritiques, Langherans, thymiques, épithéliales et endothélium vasculaire.

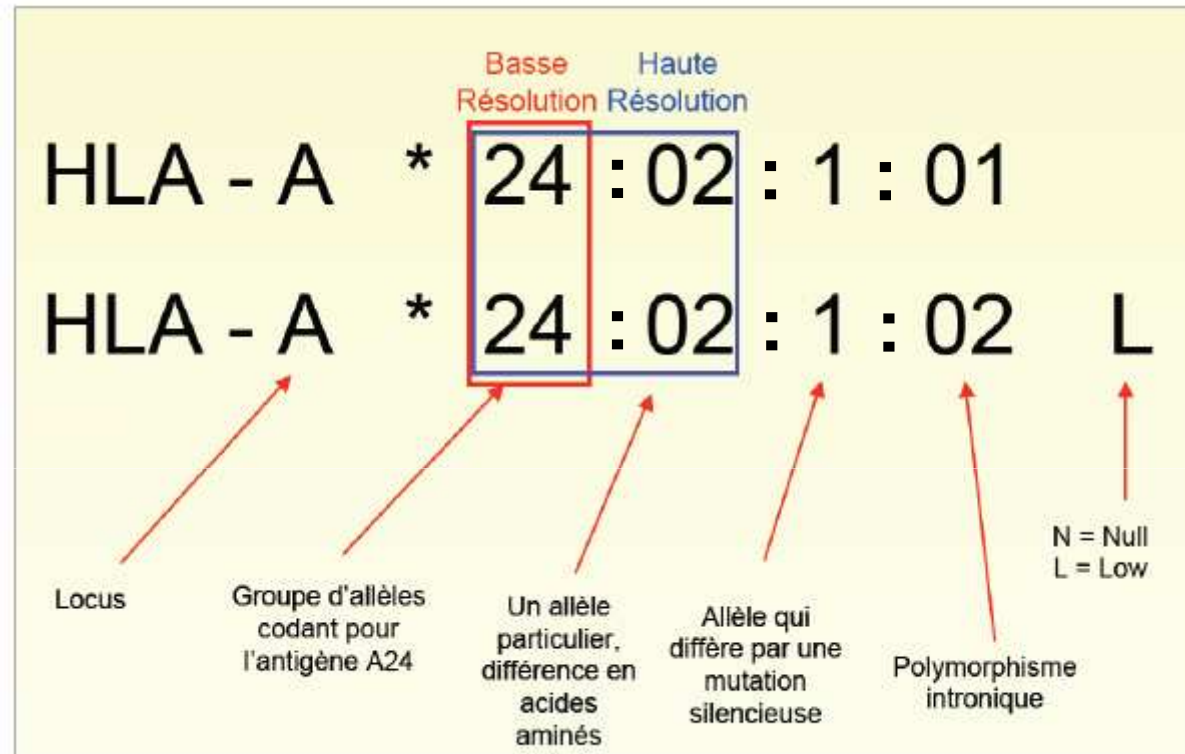
IV- EXPRESSION CELLULAIRE ET TISSULAIRE DES PRODUITS D'HISTOCOMPATIBILITÉ:

Tissus	CMH classe I	CMH classe II
Lymphocytes T	+++	+/-
Lymphocytes T activés	+++	++
Lymphocytes B	+++	+++
Macrophages	+++	++
Autres CPA	+++	+++
Epithélium thymique	+	+++
Neutrophiles	+++	-
Hépatocytes	+	-
Rein	+	-
SNC	+	-
Erythrocytes	-	-

V- NOMENCLATURE HLA:

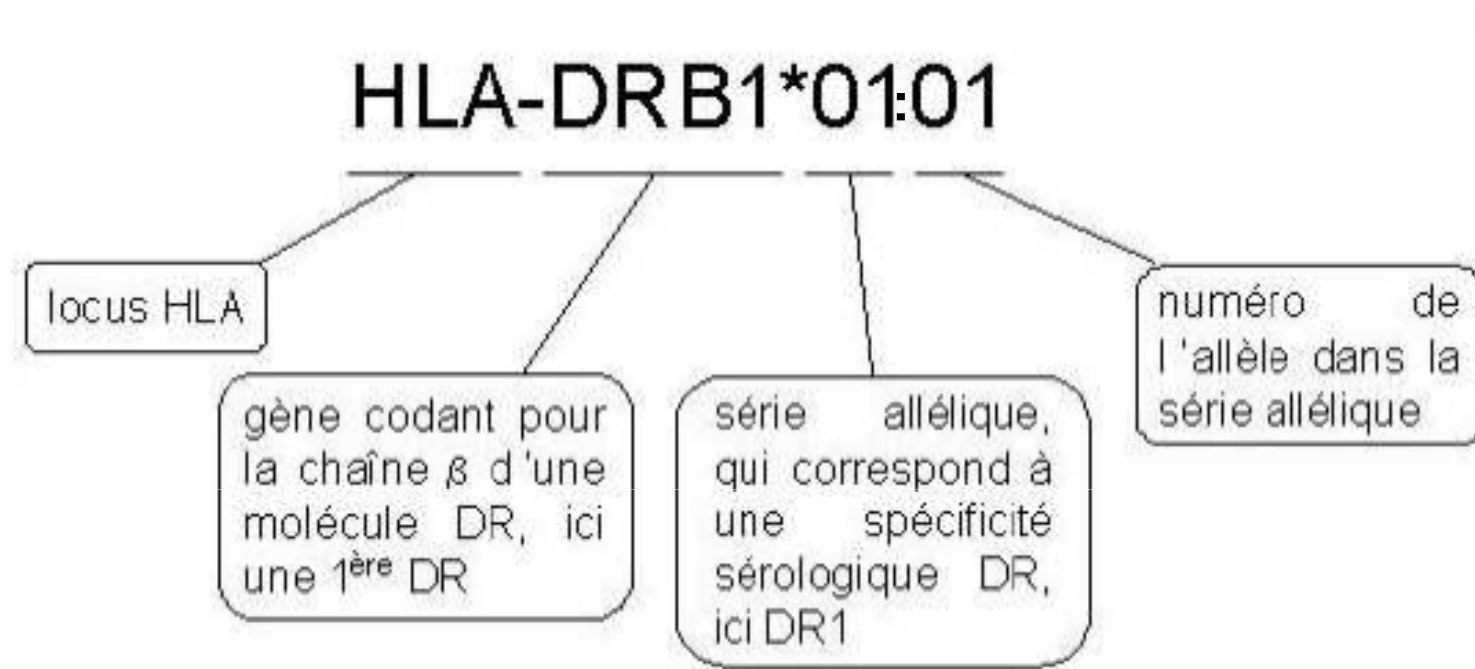
Antigènes		Allèles
Sérologie	Biologie Moléculaire (Basse résolution)	Biologie moléculaire (Haute résolution)
A 2	A*02	A*02:01
B 7	B*07	B*07:05
	Cw*04	Cw*04:01
DR 4	DRB1*04	DRB1*04:08
DQ 5	DQB1*05	DQB1*05:03
	DPB1*04	DPB1*04:02

V- NOMENCLATURE HLA:



Nomenclature HLA 2010 (WHO)

V- NOMENCLATURE HLA:



Nomenclature HLA 2010 (WHO)

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme extrême

2/ Codominance

3/ Transmission en bloc

4/ Déséquilibre de liaison

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

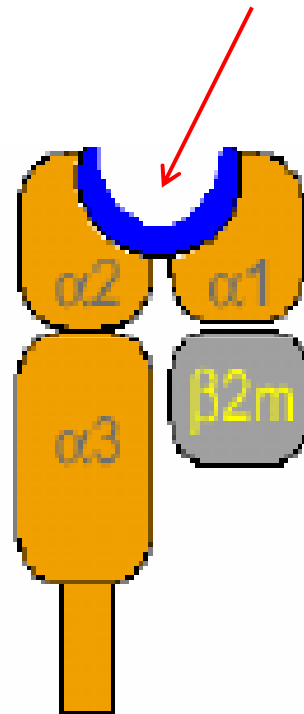
1/ Polymorphisme:

- Est à l'origine du rejet de cellules provenant d'un autre individu.
- Est responsable en partie de la diversité de la réponse immune selon les individus: L'expression d'un allèle du CMH peut être en relation avec la résistance à une infection donnée, ou au contraire avec une sensibilité à une maladie auto-immune.
- Il existe aussi un polymorphisme pour les produits de classe III : Tous les individus d'une même espèce n'ont pas exactement les mêmes cytokines, la même système du complément, le même protéasome, les mêmes transporteurs TAP.

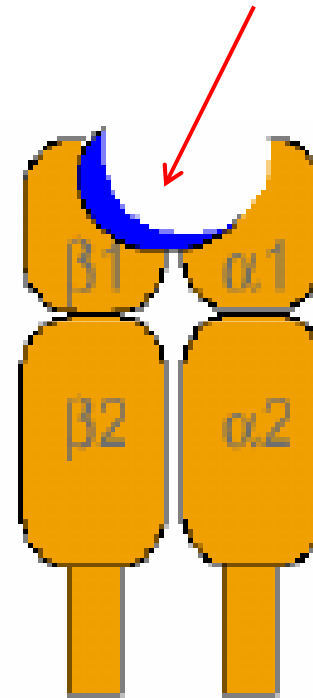
VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme –LOCALISATION-:

Le polymorphisme entre les allèles HLA des différents individus est concentré au site de liaison du peptide antigénique.



classe I



classe II

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

- Par **Sérologie** : « Typage lymphocytaire mixte » ou micro-lymphocytotoxicité.

- Par **biologie moléculaire**: « Le DNA typing » = Analyse génétique par PCR:
 - 1) **PCR-SSP** (Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction).
 - 2) **PCR-SSO** (Polymerase Chain Reaction and Sequence-Specific Oligonucleotide).
 - 3) **Luminex** (PCR-SSO automatisée).
 - 4) **Dot blot reverse**.
 - 5) **Puces à ADN**.
 - 6) **Séquençage** (SBT).

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

Principe du test de micro-lymphocytotoxicité:

La détection des antigènes HLA comporte la fixation d'anticorps spécifiques (allo-anticorps ou monoclonaux) sur les lymphocytes.

Si les lymphocytes expriment l'antigène reconnu par les sérums spécifiques, l'anticorps se fixe sur l'antigène par sa partie Fab'. Le complexe antigène/anticorps est formé. Le complément de lapin ajouté va se lier à la partie Fc de l'antisérum, initiant une cascade de réactions aboutissant à la lyse des lymphocytes.

L'addition d'un colorant vital (éosine) permet l'identification des cellules mortes positives, qui prennent le colorant alors que les cellules vivantes négatives demeurent réfringentes. L'évaluation du pourcentage des lymphocytes lysés et des lymphocytes vivants se fait au microscope inversé à contraste de phase.

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

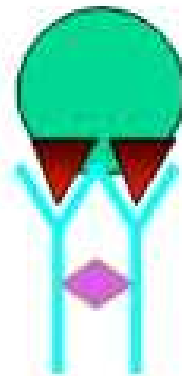
1- Mise en contact d'un anticorps anti-HLA avec un antigène HLA

Antigène HLA



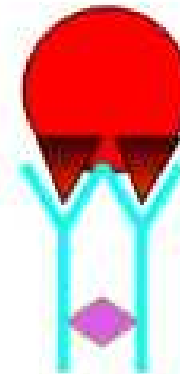
Anticorps anti-HLA

2- Le complexe Ag-Ac active le complément de lapin



Complément de lapin

3- Mort cellulaire = réaction positive



Principe d'une réaction positive en micro-lymphocytotoxicité

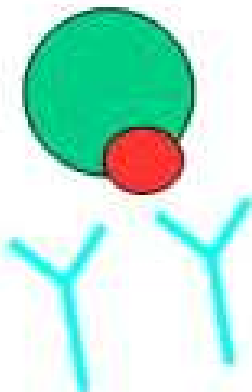
VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

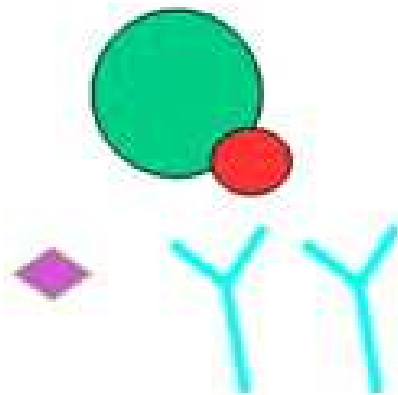
1- Mise en contact d'un anticorps anti-HLA avec un antigène HLA

Antigène HLA



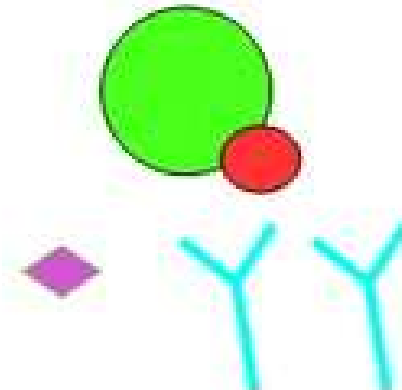
Anticorps anti-HLA

2-Absence de formation du complexe Ag -Ac, donc pas d'activation du complément



Complément de lapin

3- Survie cellulaire = réaction négative



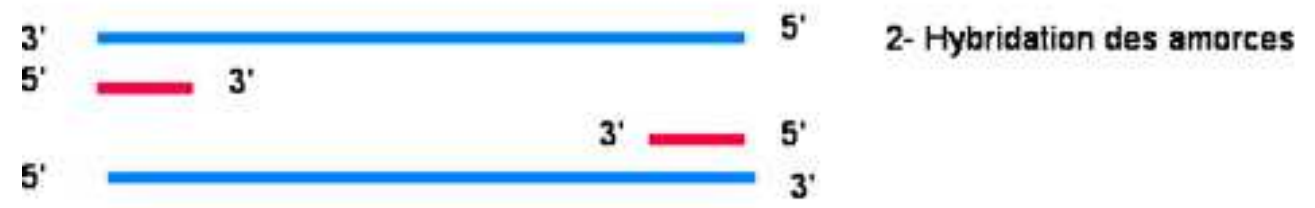
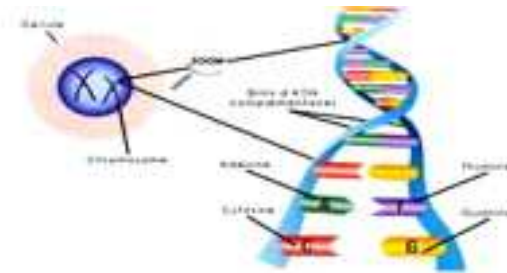
Principe d'une réaction négative en micro-lymphocytotoxicité

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

Les principales étapes de la réaction de PCR

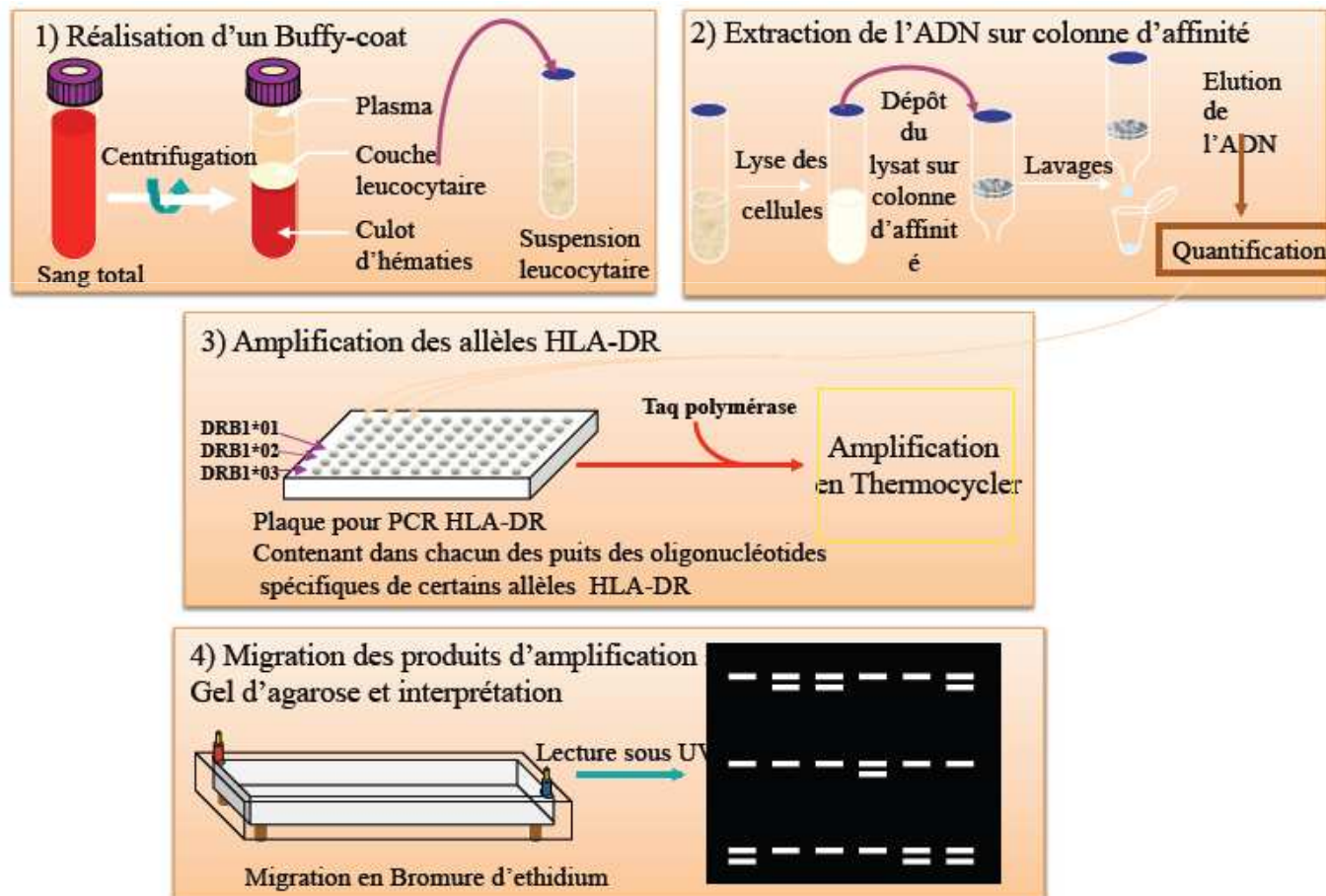


VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

Typage PCR-SSP (Sequence-specific primer)– Exemple HLA DR



VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

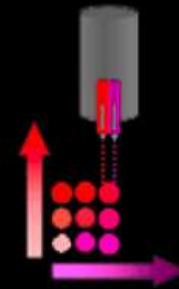
Étude du polymorphisme → Typage HLA

Technique LUMINEX: PCR SSO

- LABScan100 System
 - LABScan100
 - XY Platform
 - Sheath Delivery System



Color-coded Microspheres



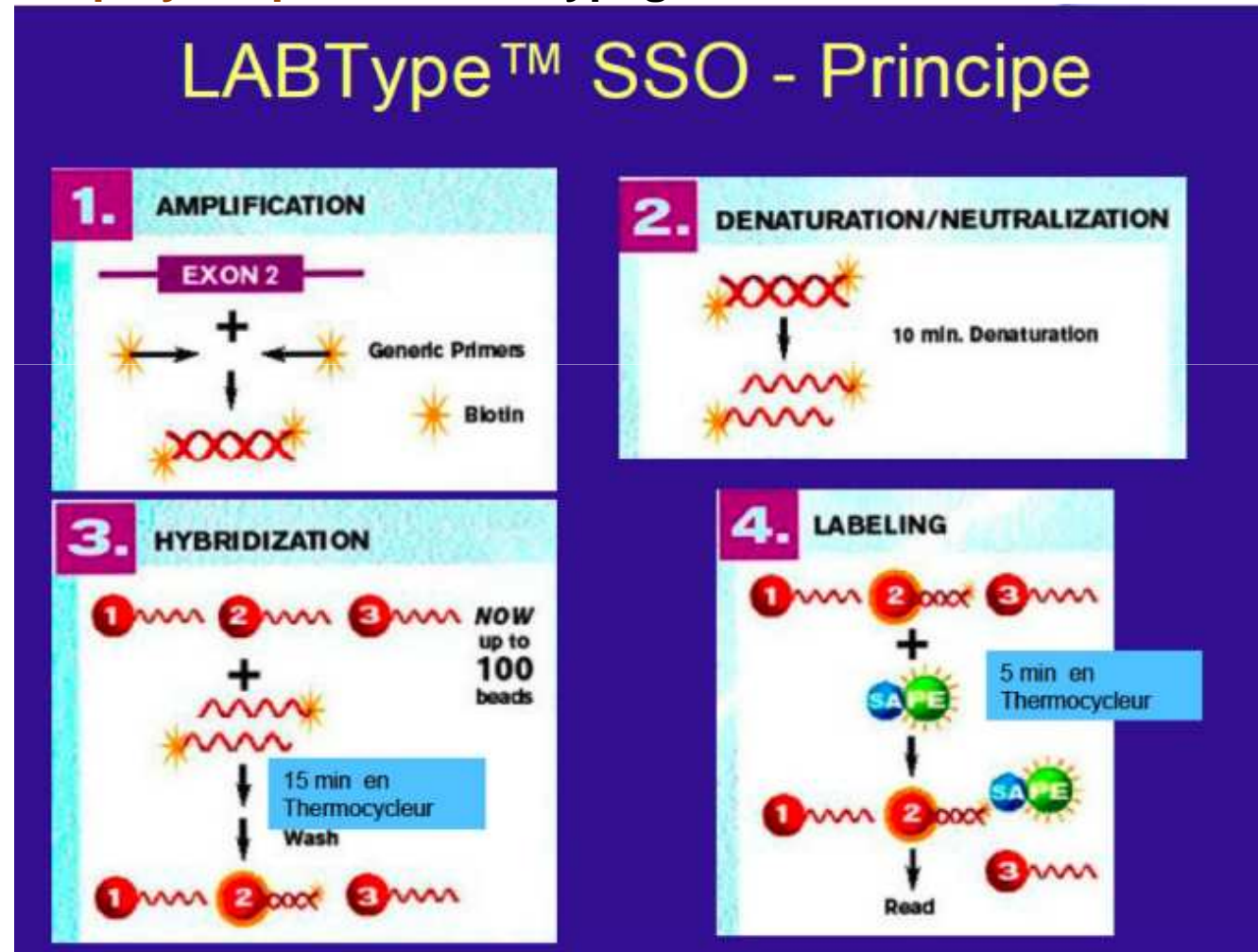
Unique microsphere sets are color-coded using a blend of different fluorescent intensities of two dyes.

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

Technique LUMINEX



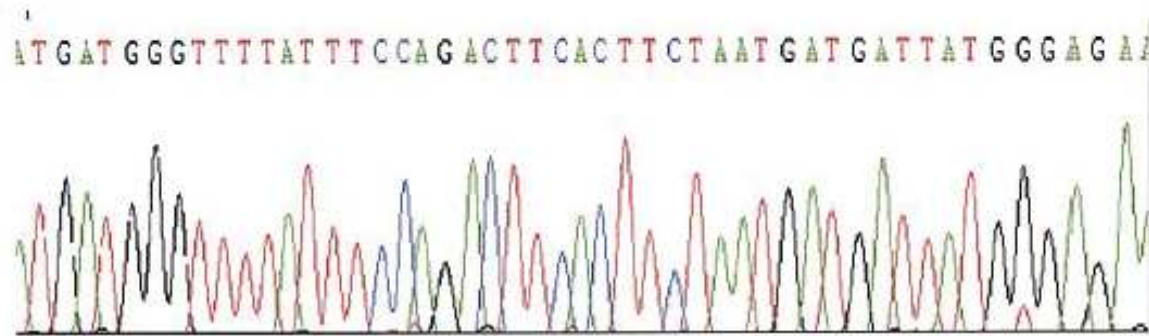
VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Étude du polymorphisme → Typage HLA

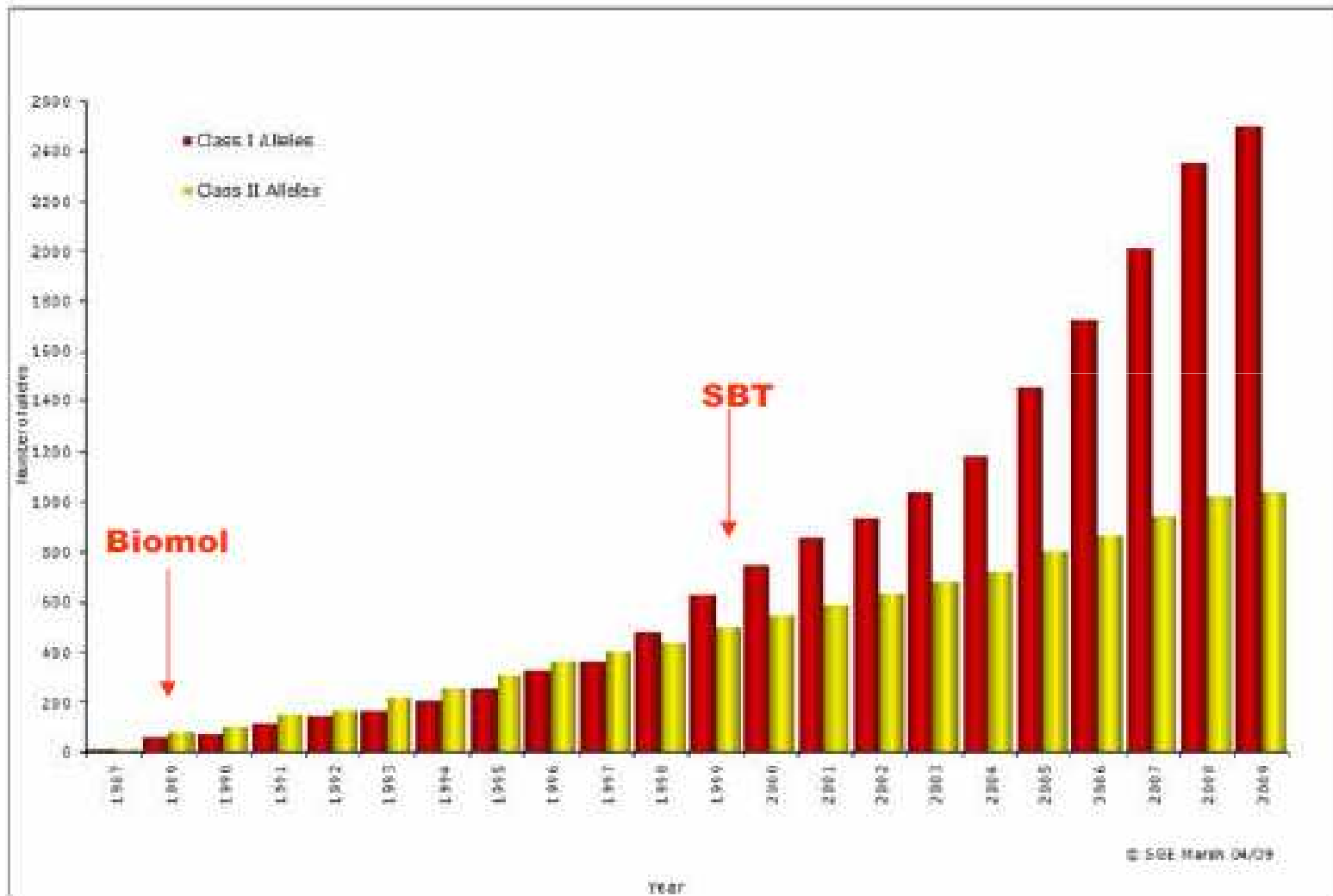
Technique SBT (Sequence Based Typing)

- Amplification avec primers spécifiques des groupes déterminés en basse résolution.
- PCR de séquençage avec un primer pour chaque exon.
- **Avantage** : Lève des ambiguïtés, détection de nouveau allèle.



VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:



VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

1/ Polymorphisme:

Dans le génome humain : l'une des régions les plus étudiées



Les gènes les plus polymorphes.

Juillet 2008 : 3201 allèles HLA-I 2215
HLA-II 986

Novembre 2008 : 3304 allèles HLA-I 2292
HLA-II 1012

Janvier 2006 : 2153 allèles différents

=> HLA de Classe I : 1394

=> HLA de Classe II : 759

Classe I

A	B	C	E	F	G
429	748	217	8	20	23

Classe II

DRA	DRB	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1
3	511	32	69	23	121

Machinerie d'Apprêtement

TAP1	TAP2	DMA	DMB	DOA	DOB
7	4	4	7	12	9

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

2/ Transmission en bloc:

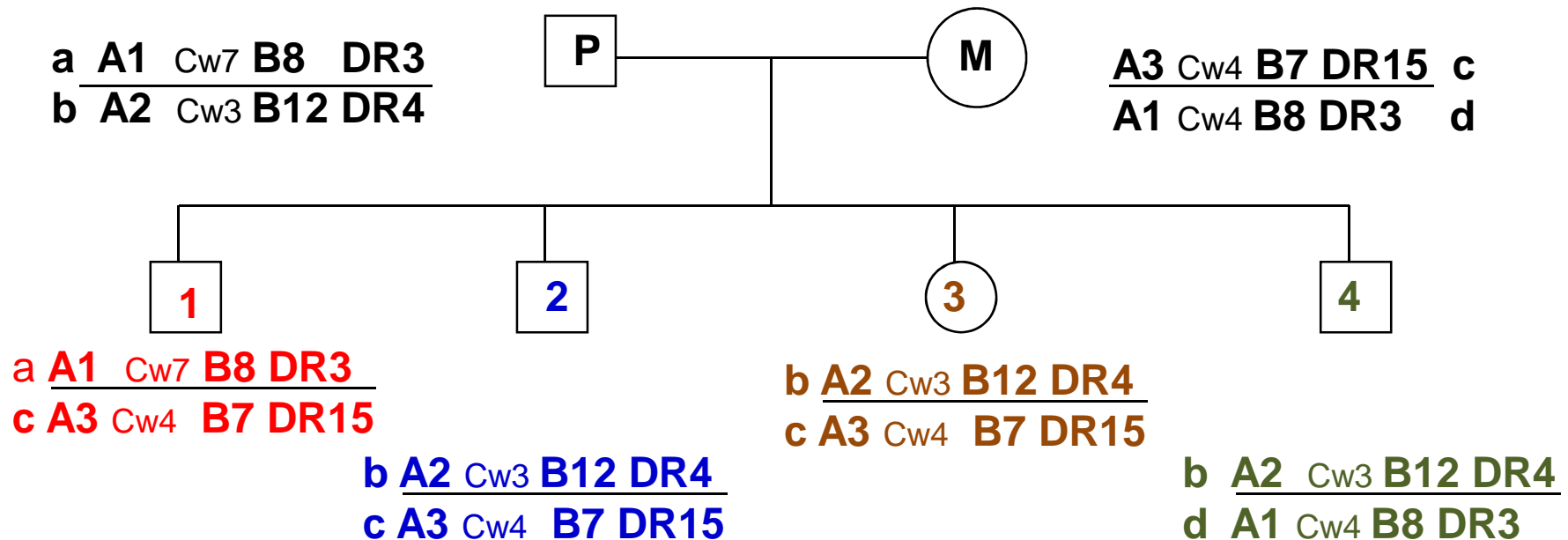
Un haplotype du CMH comprend l'ensemble des gènes codant pour les 03 classes (I, II et III).

Chaque individu exprime les protéines du CMH correspondant à ses 02 haplotypes, celui d'origine maternelle et celui d'origine paternelle (transmission mendelienne des haplotypes du CMH). Des individus d'une même familles ont donc beaucoup plus souvent histocompatibles que des individus non apparentés.

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

2/ Transmission en bloc:

- Les allèles du CMH sont transmis « en bloc » de chaque parent : transmission d'un haplotype comprenant un ensemble d'allèles pour les trois régions du CMH



1 et 4 : deux haplotypes HLA différents

2 et 3 : identiques HLA pour les 2 haplotypes parentaux

1 et 2 : haplo-identiques HLA

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

3/ Codominance:

- Chaque individu hérite de 02 haplotypes parentaux dont les expressions sont **codominantes** (Expression de toutes les molécules codées par les gènes parentaux).
- Transmission de la moitié des allèles paternels et de la moitié des allèles maternels.

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

3/ Codominance:

- Chaque cellule exprime 6 molécules de classe I différentes:
2 HLA-A, 2 HLA-B & 2 HLA-C (une copie de chaque parent).
- Les cellules spécialisées (CPA) expriment aussi jusqu'à 12 molécules de classe II:
Une copie de HLA-DR α et HLA DR β de chaque parent qui peuvent s'associer pour former 04 molécules différentes.
- Les cellules spécialisées (CPA) expriment ainsi:
06 molécules de classe I et 8 de classe II.

VI- CARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME HLA:

4/ Déséquilibre de liaison:

- Associations entre plusieurs Ag.
- Haplotypes ancestraux.
- Variables selon les ethnies:
 - Caucasoides A1 B8 DR3 (4%).
 - Africains A30 B42 DR3 (2%).
 - Asiatiques A24 B52 DR15 (8%).
 - Amerindiens A24 B35 DR4 (4%).

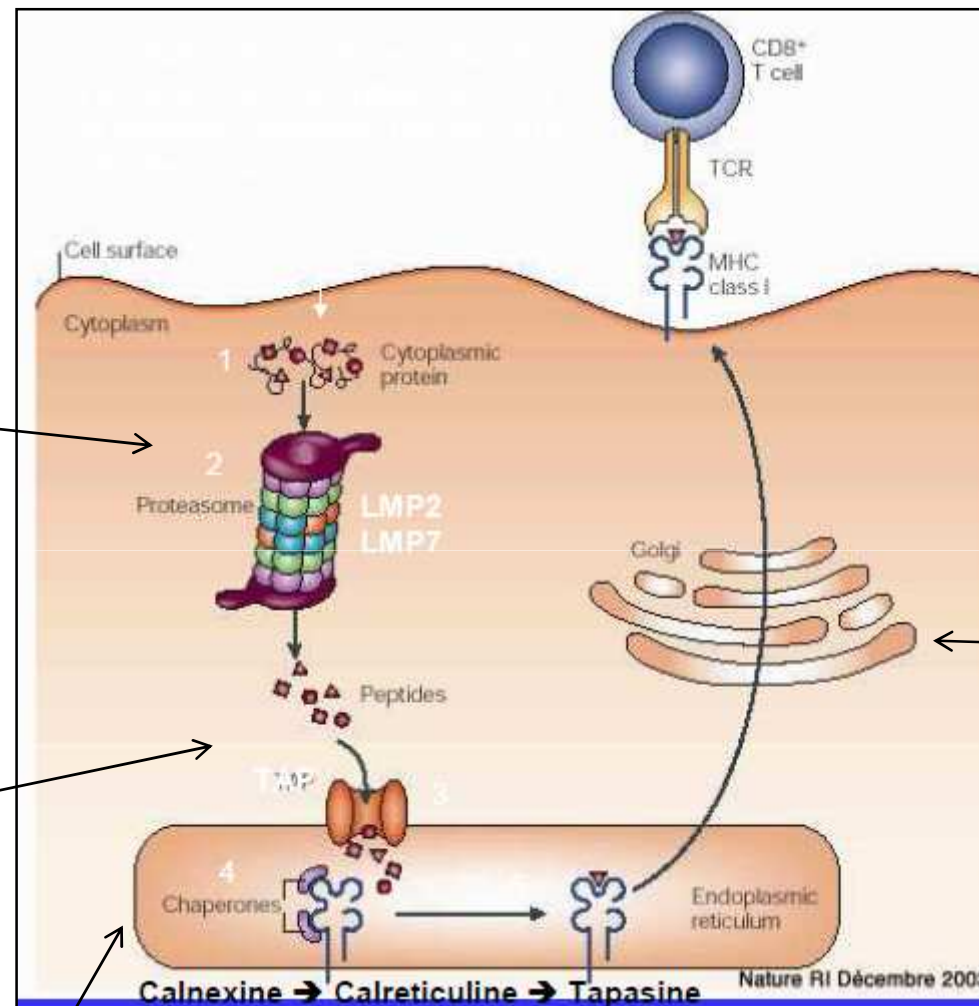
VII- CHARGEMENT PEPTIDIQUE DES MOLÉCULES DU CMH DE CLASSE I:

1) Prise en charge par le protéasome (dégradation des protéines cytosoliques)

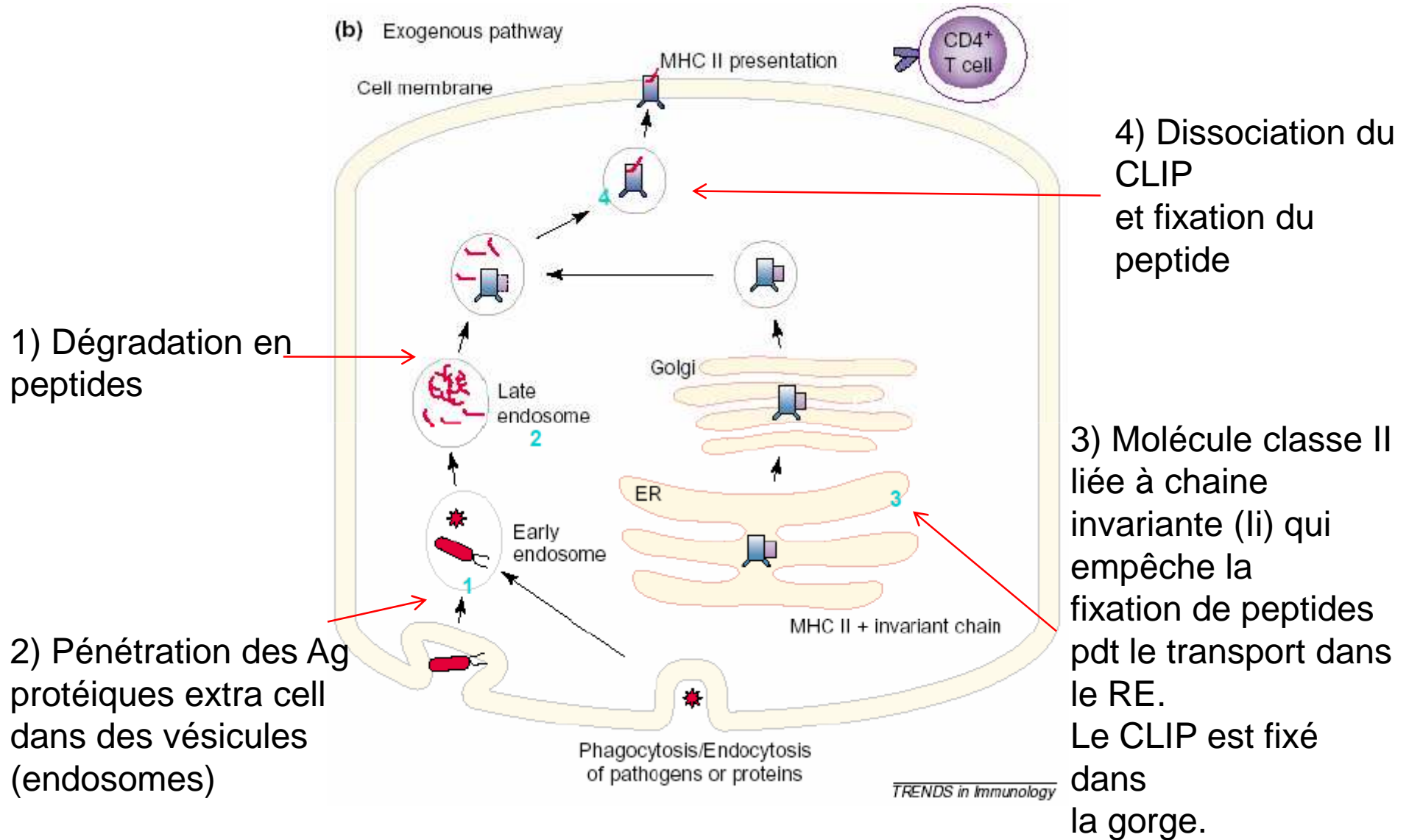
2) Transport des peptides du cytoplasme vers le RE via TAP

3) Arrivée des peptides sur le complexe de chargement

4) Libération des molécules HLA-I convenablement chargées et routage vers la surface via l'appareil de Golgi



VIII- CHARGEMENT PEPTIDIQUE DES MOLÉCULES DU CMH DE CLASSE II:



IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

1/ Constitution du répertoire T:

→ Maturation thymique des lymphocytes:

- Sélection positive.

-Sélection négative.

→ Tolérance du soi.

2/ Immuno-surveillance exercée par: les cellules (LT CD8+, Natural Killer).

3/ Présentation des Ag:

- Peptides endogènes via les molécules HLA I aux lymphocytes T CD8+.

-Peptides exogènes via les molécules HLA II aux lymphocytes T CD4+.

→ Réponse immunitaire adaptative:

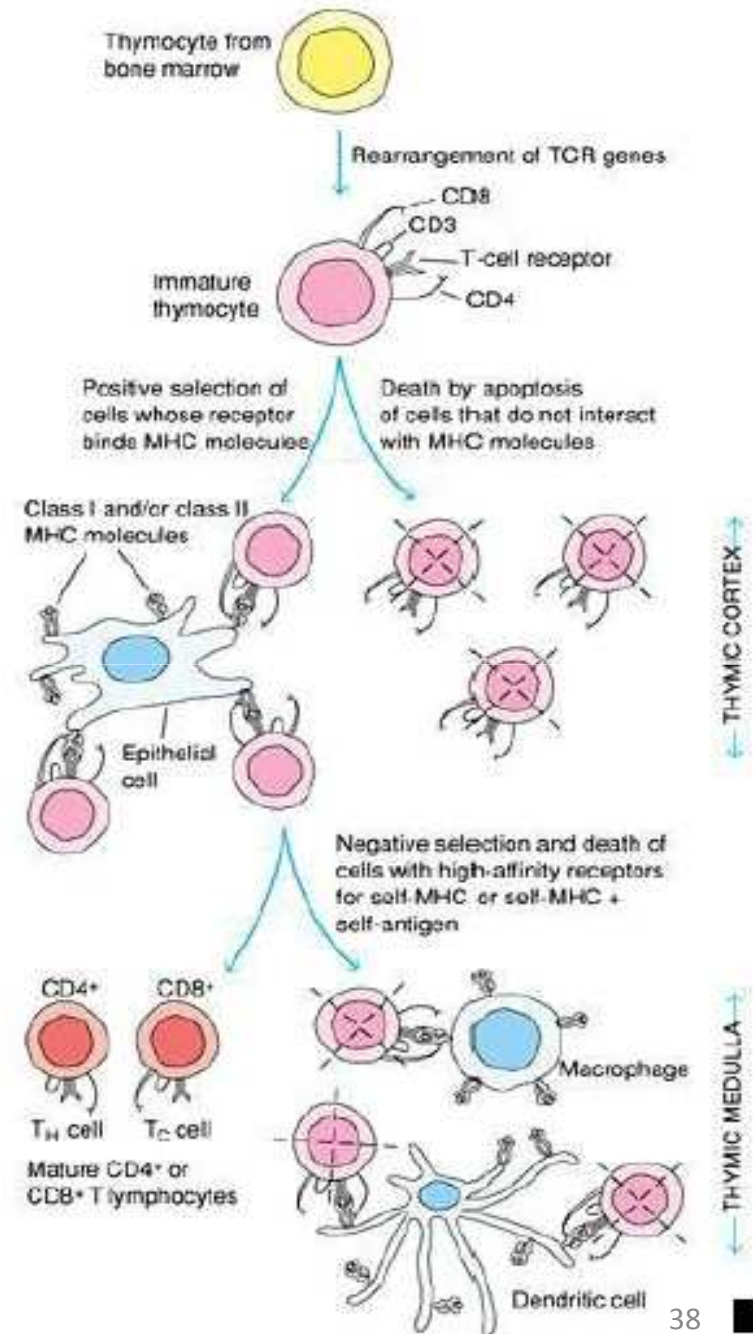
- Réponse anti-infectieuse.

- Réponse allogénique (rejet de greffe).

IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

1/ Constitution du répertoire T:

De nombreux auto-antigènes sont présentés dans le thymus.



IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

1/ Constitution du répertoire T:

1. Sélection positive:

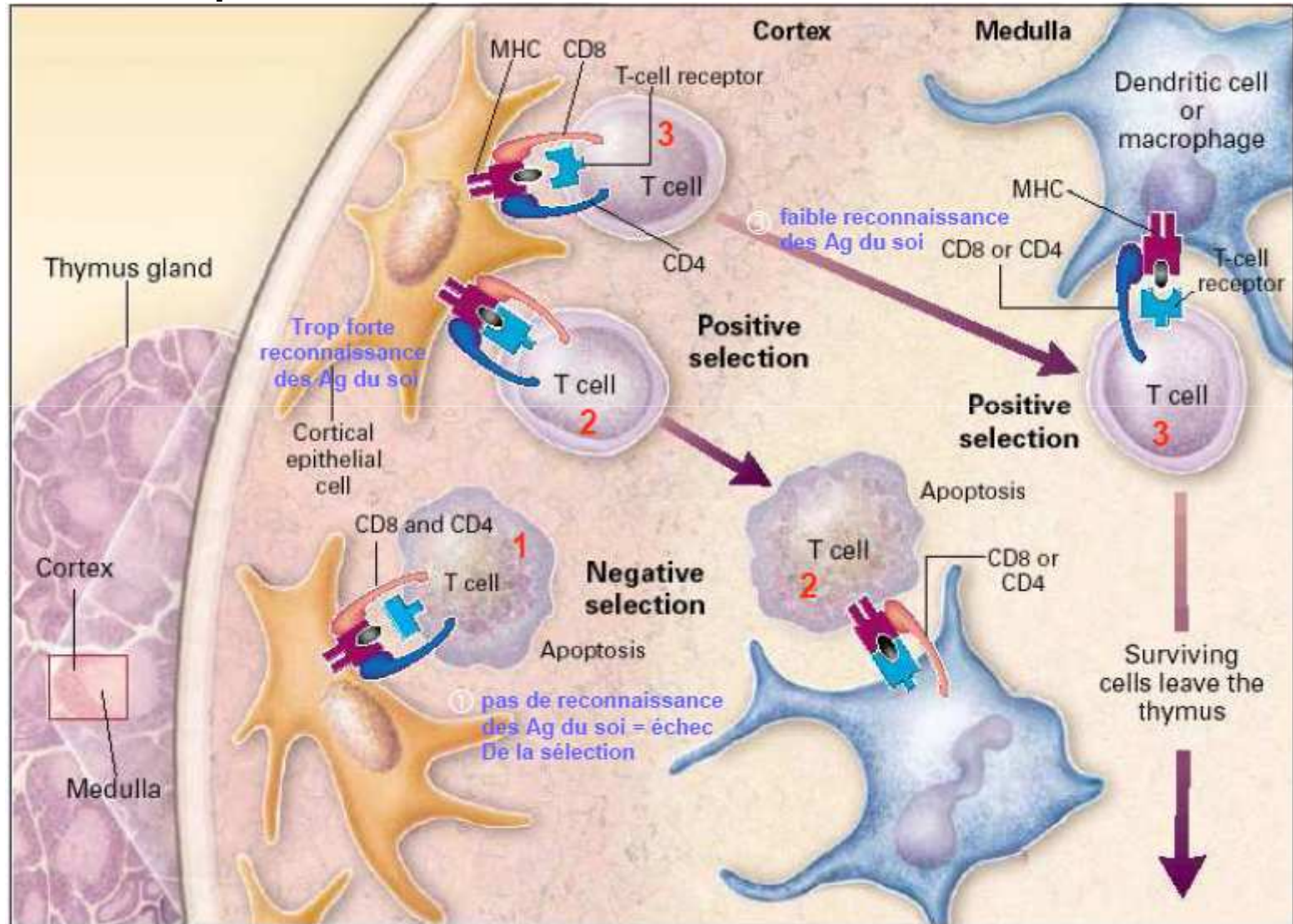
Sélectionne les lymphocytes porteurs d'un TCR capable d'interagir avec les molécules du CMH (qui seront donc utiles dans les réponses anti infectieuses).

2. Sélection négative:

Élimine les lymphocytes porteurs d'un TCR présentant une trop forte affinité pour les peptides du soi.

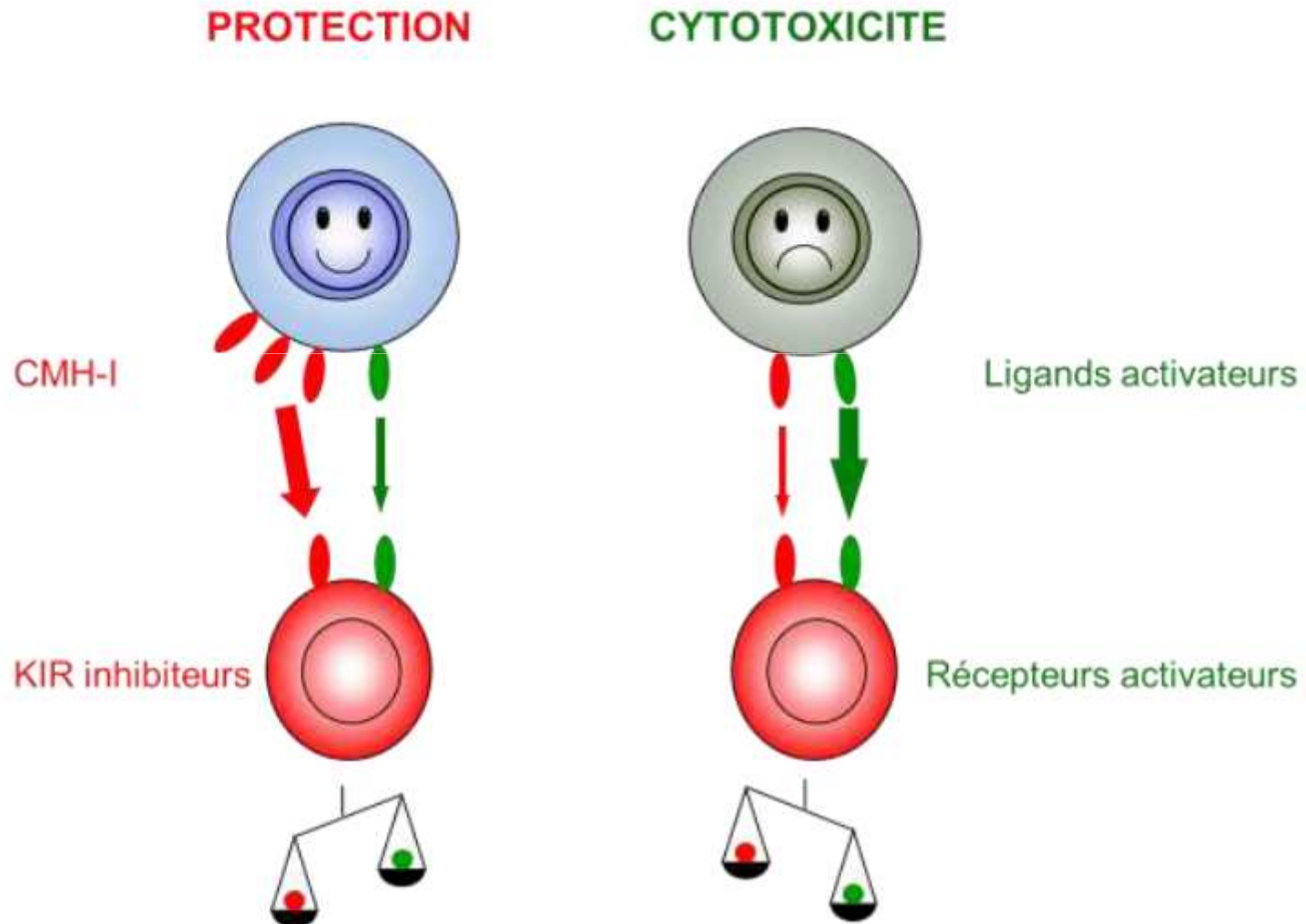
IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

1/ Constitution du répertoire T:



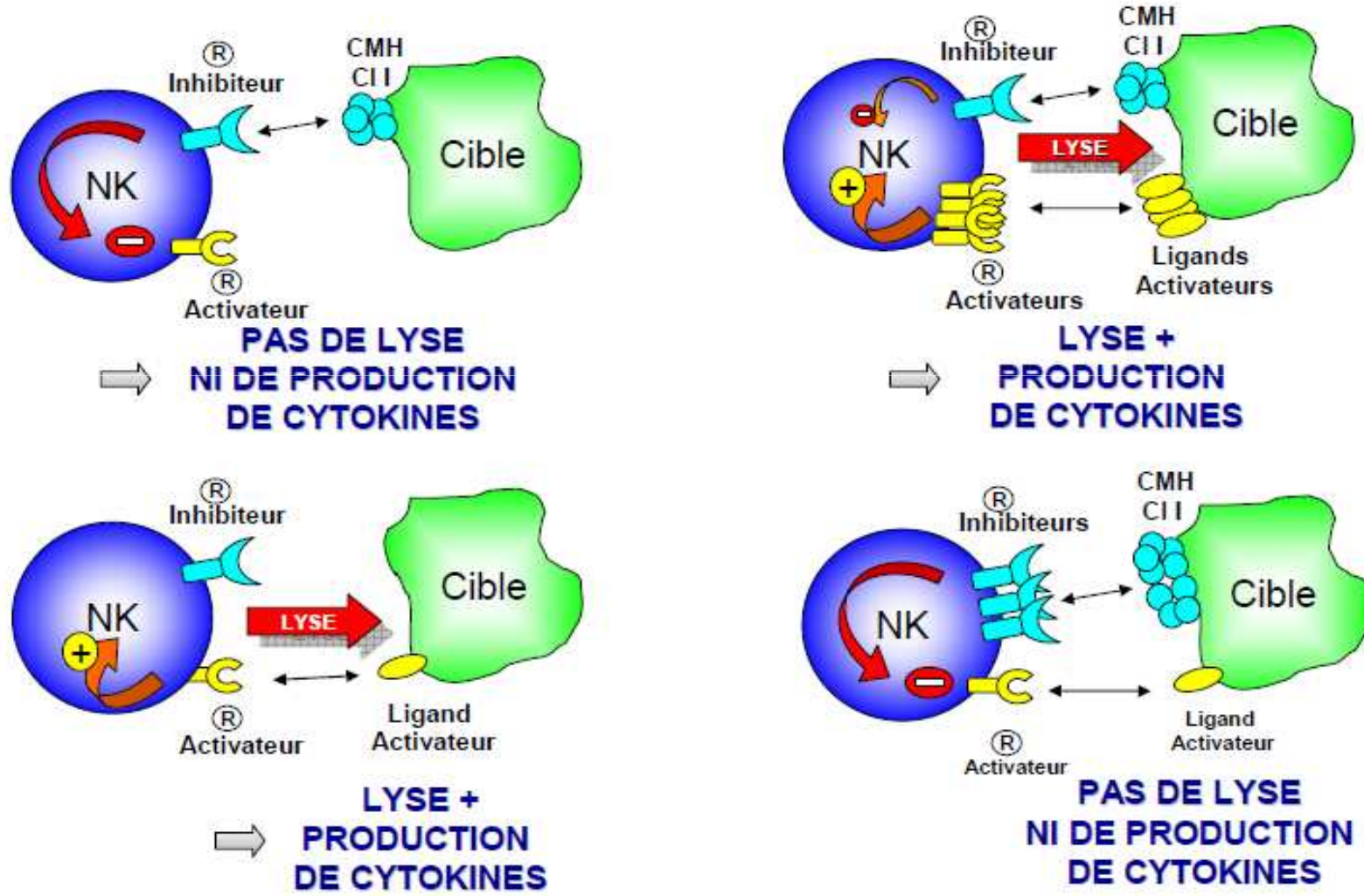
IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

2/ Immuno-surveillance: MODALITES D'ACTIVATION DES CELLULES NK



IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

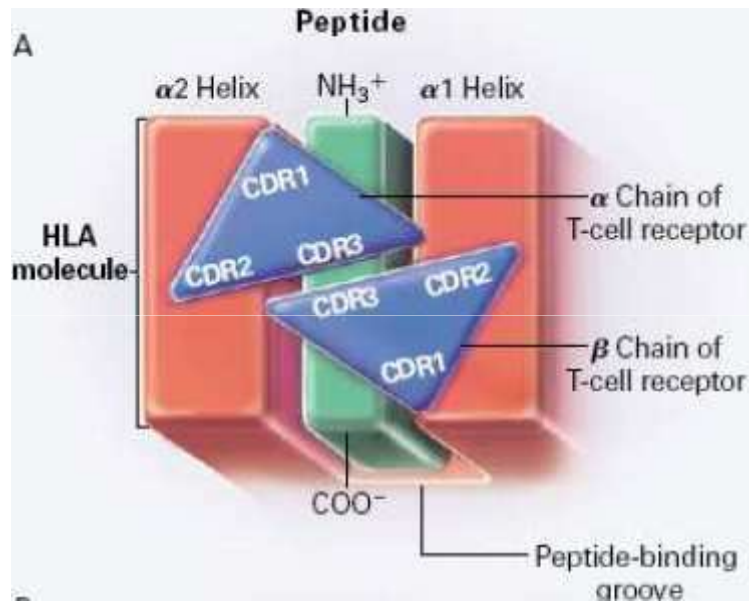
2/ Immuno-surveillance: MODALITES D'ACTIVATION DES CELLULES NK



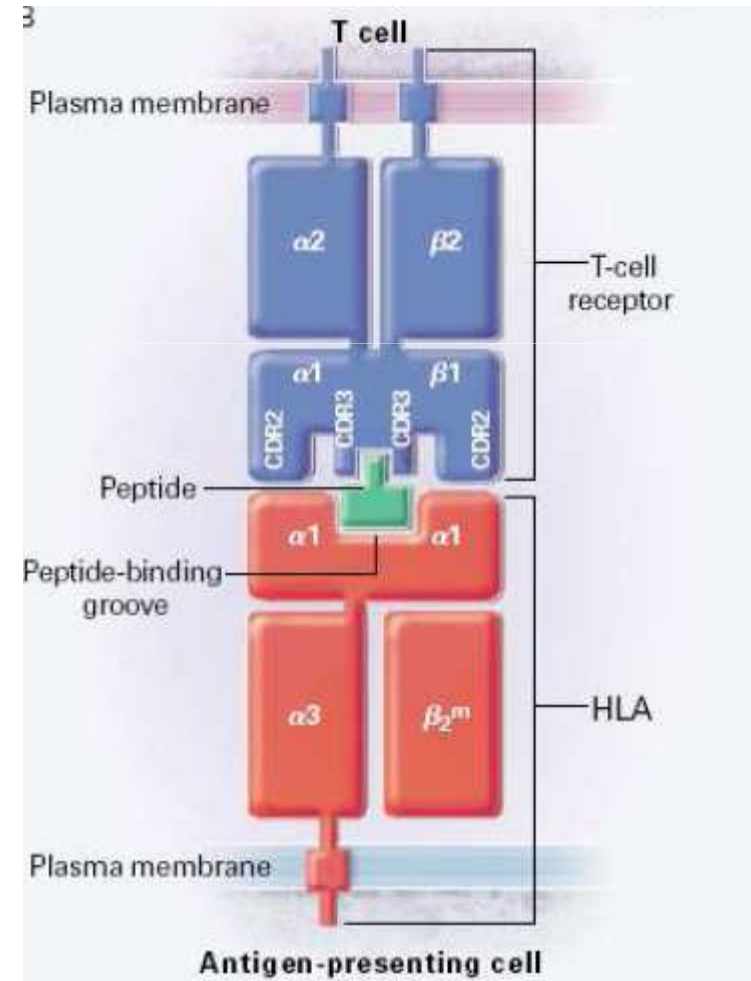
IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

3/ Présentation des Ag:

Le récepteur d'antigène des lymphocytes T est spécifique de complexes peptide-HLA du soi:



La partie la plus variable du TCR (CDR3) prend contact avec le peptide, les parties moins variables (CDR1 et 2) se lient au CMH

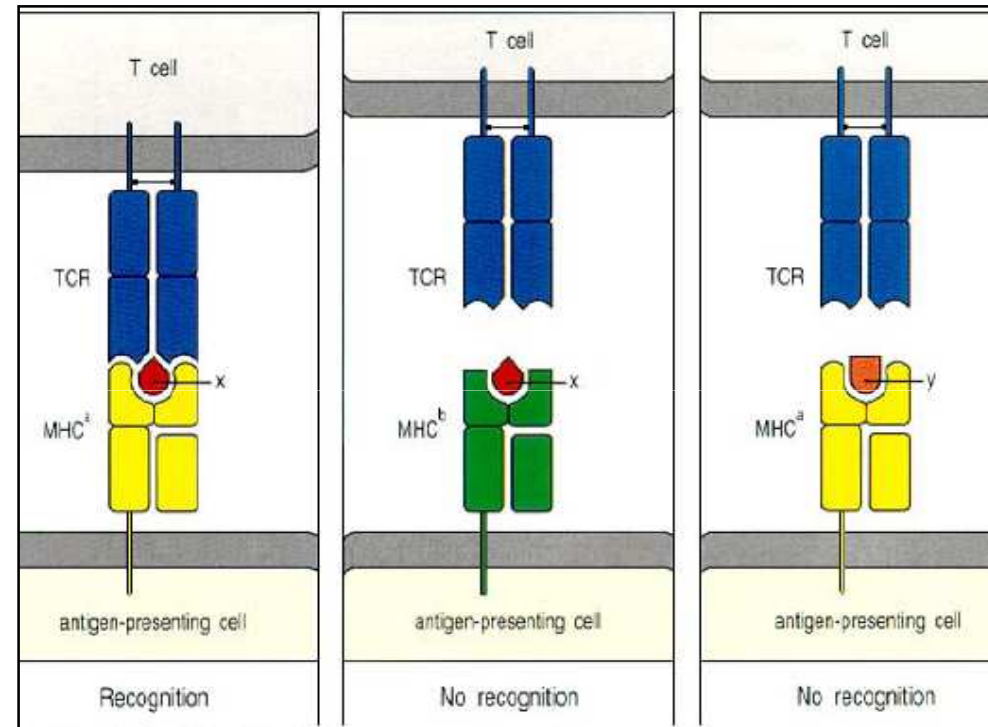


IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

3/ Présentation des Ag:

Le récepteur d'antigène des lymphocytes T est spécifique de complexes peptide-HLA du soi:

Le phénomène de restriction



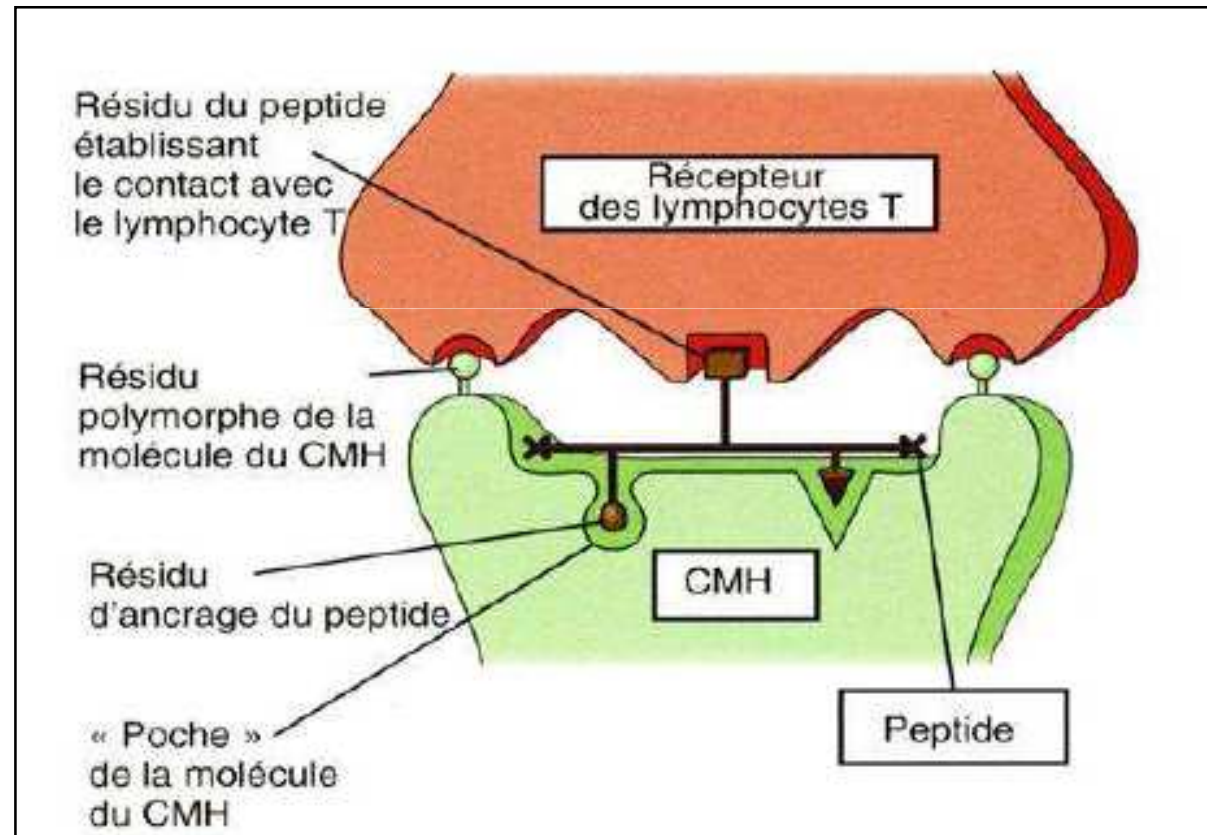
- Les molécules HLA jouent un rôle de « présentoirs » d'antigènes intervenant dans les communications entre les cellules immunocompétentes.
- L'antigène du soi ou non soi est "traité", clivé en peptides.
- Par l'intermédiaire de leur TCR, les lymphocytes T reconnaissent de façon spécifique le complexe peptide-molécule HLA.

IX- FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA:

3/ Présentation des Ag:

Le récepteur d'antigène des lymphocytes T est spécifique de complexes peptide-HLA du soi:

Interaction TCR –
Complexe MHC peptide



X- HLA ET CLINIQUE:

1. Associations HLA et maladies
2. Greffe d'organes
3. Greffe de cellules souches hématopoïétiques

X- HLA ET CLINIQUE:

HLA et maladies:

Diabète:

C'est la combinaison DR3/DR4 qui confère le risque maximum de DID chez les Caucasoïdes (RR = 41)

Narcolepsie:

DR2 « RR = 135 »

Spondylarthrite ankylosante:

B27 présent chez 88-96% des malades contre seulement 4-8% dans le groupe contrôle sain existence de spondylarthrites B27 négatives « RR = 88 »

Maladie de Behçet:

Etiologie inconnue mais forte association avec **HLAB51**

Maladie cœliaque:

Association avec le DQ2 (RR = 60) ou DQ8

X- HLA ET CLINIQUE:

HLA et maladies:

HLA	Maladie	Effet
Classe I		
B8	Tuberculose pulmonaire	Susceptibilité
B35	HIV	Susceptibilité
B53	Malaria	Résistance
B57	HIV	Résistance
Classe II		
DRB1*1302	Hépatite B	Résistance
DRB1*1352	Malaria	Résistance
DRB1*1101	Hépatite C	Résistance
DRB1*04	Typhoïde	Résistance
DR2	Tuberculose pulmonaire	Susceptibilité
DR2	Lèpre	Susceptibilité
DR7	Hépatite B	Susceptibilité

X- HLA ET CLINIQUE:

HLA et greffes d'organes:

Les lois de la transplantation

Une greffe n'est acceptée que si les antigènes du donneur sont présents chez le receveur Importance capitale des antigènes d'histocompatibilité qui sont les antigènes cible dans le rejet des greffes

La compatibilité HLA a une forte corrélation avec la survie des transplants de rein et de cœur.

Toutefois, 50% des patients ne présentent jamais de rejets aigus bien que greffés avec des allèles incompatibles du CMH:

- Taux de greffons fonctionnels à 1 an : 85%
- Complication la plus fréquente = le rejet.

X- HLA ET CLINIQUE:

HLA et greffes d'organes:

1/ Dans les greffes d'organes :

Il réside dans le fait que les lymphocytes T autologues sont sélectionnés dans le thymus pour leurs capacités :

- A reconnaître les molécules HLA autologues = sélection positive (survie).
- À ne pas être activés par les antigènes autologues = sélection négative (apoptose)

→ La greffe revient à introduire dans l'organisme des cellules présentant des haplotypes HLA différents contre lesquels les T du receveurs n'ont pas été sélectionnés.

→ Les lymphocytes T du receveurs reconnaissent l'haplotype étranger comme une molécule HLA autologue présentant un antigène étranger :

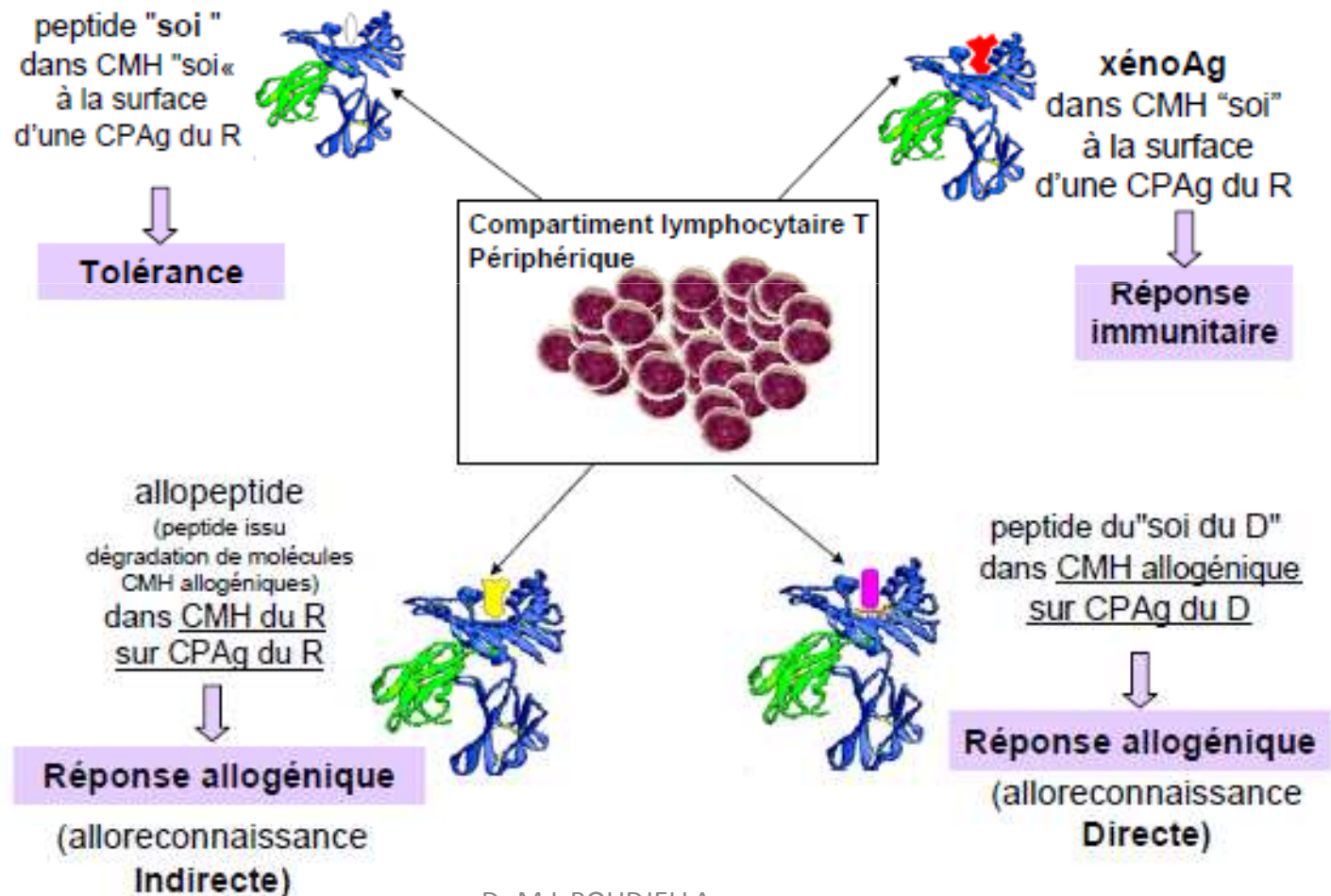
Plusieurs clones T reconnaissent donc toutes les cellules du donneur comme présentant un antigène exogène. C'est la réaction allogénique ou rejet.

X- HLA ET CLINIQUE:

HLA et greffes d'organes:

1/ Dans les greffes d'organes :

Modalités de réponse des lymphocytes T selon la spécificité de leur récepteur T



X- HLA ET CLINIQUE:

HLA et greffes d'organes:

1/ Dans les greffes d'organes :

Les différentes réactions de rejet d'allogreffe:

1) Le rejet Hyper-aigu:

- Immédiat, doit être prévenu par le cross-match lymphocytaire.

→ Rôle des allo-Ac anti-HLA du donneur préexistants.

2) Le rejet (aigu) d'allogreffe:

-~ 1 sem, en l'absence de traitement immunosuppresseur.

→ Rôle des Lymphocytes T allo-réactifs dirigés contre les molécules HLA du donneur.

3) Le rejet chronique:

-Après plusieurs mois ou années.

→ mécanismes immunologiques et non immunologiques

X- HLA ET CLINIQUE:

HLA et greffes d'organes:

2/ Dans le cas d'une greffe de moelle osseuse :

Les lymphocytes T du donneur reconnaissent les organes du receveur comme étrangers = GVHD (Graft Versus Host Disease) ou maladie du greffon contre l'hôte.

CONCLUSION

- Molécules HLA interviennent dans la reconnaissance du soi et du non soi.
- Détermine la prise ou le rejet de greffons tissulaires entre des individus.
- Présente les peptides dérivés d'Ag protéiques aux lymphocytes T spécifiques de ces Ag « Phénomène de restriction par le CMH aux lymphocytes T ».
- L'intérêt du système HLA en pratique courante réside dans son implication majeure dans:
 - 1) Transplantation d'organes.
 - 2) Relations avec certaines situations pathologiques, maladies associées à HLA B27 ou liées à un allèle particulier notamment.
 - 3) Diversité des phénotypes => un marqueur extrêmement puissant.
 - 4) Utilisation dans les études familiales ou de populations et dans le domaine médico-légal (recherche de paternité ...).