

# Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)

**D<sup>r</sup> H. BOUAB**  
 Maître assistant en Immunologie  
 HMRU Constantine  
 harounbouab@hotmail.fr

## I. INTRODUCTION

Toute tentative de greffe entre deux individus (hors jumeaux monozygotes) entraîne une **réaction de rejet**. Ce rejet du greffon est lié à la réponse immunitaire du receveur contre des antigènes exprimés à la surface des membranes des cellules du donneur qui sont différents des antigènes exprimés par les cellules du receveur.

**Ces antigènes sont dénommés : Antigènes de transplantation ou d'histocompatibilité.**

La plupart de ces antigènes sont des glycoprotéines membranaires immunogènes et très polymorphes codés par une série de gènes dénommée Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) ou Human Leukocyte Antigen (HLA) qui forment un groupe multigénique (>30 gènes), multiallélique (1 ou plusieurs allèles/gène) et d'expression codominante.

**Molécules HLA ou Antigènes HLA:**  
 ⇒ Des glycoprotéines membranaires.  
 ⇒ Polymorphes : ce qui est à l'origine de réaction de rejet entre individus incompatibles lors de la transplantation.  
 ⇒ La cible des anticorps et des cellules T cytotoxiques au cours du rejet.

## II. ORGANISATION GENETIQUE DU CMH

Les gènes HLA qui codent pour les molécules HLA sont situés sur le bras court du chromosome N°6 (bande 6p 21..31). Cette région s'étend sur une longueur d'environ 4000kb, ce qui correspond à 1/1000 du génome humain.

Les gènes HLA sont regroupés en 2 régions principales :

### La région HLA de classe I

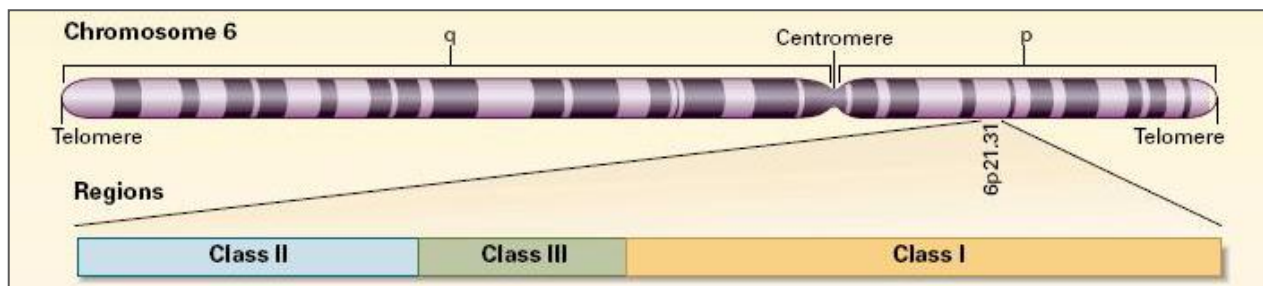
En position Télomérique, elle s'étend sur environ 2000 kb. Elle comprend plus de 20 gènes dont les principaux sont les gènes HLA A, HLA B et HLA C qui codent pour la chaîne  $\alpha$  des molécules HLA de classe I.

### La région HLA de classe II

En position centromérique, elle s'étend sur environ 1000 kb. Elle comprend environ 32 gènes dont les principaux sont les gènes HLA DR, HLA DQ et HLA DP qui codent pour les chaînes  $\alpha$  (gènes A) et  $\beta$  (gènes B) des molécules HLA de classe II.

Outre les gènes codant pour les molécules HLA de classe I et II on trouve au sein du CMH, **la région de classe III** qui s'étend sur environ 1000 kb, avec au moins 30 gènes dont les principaux codent pour les composants du complément (C2, C4, facteur B) et pour les Tumor Necrosis Factor (TNF  $\alpha$  et TNF  $\beta$ ).

**NB : seuls les gènes des régions HLA de classe I et de classe II codent pour les Molécules HLA.**



Classe	HLA						
	II			III	I		
Gènes	DP	DQ	DR	C4, C2, BF, TNF, ...	B	C	A
Produit du gène	HLA-DP $\alpha\beta$	HLA-DQ $\alpha\beta$	HLA-DR $\alpha\beta$	Protéines du complément TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , ...	HLA-B	HLA-C	HLA-A

### **III. CARACTERISTIQUES DES GENES HLA :**

Les gènes HLA sont caractérisés par leur polymorphisme extrême, leur expression codominante, leur liaison étroite et leur déséquilibre de liaison.

#### **1. Polymorphisme :**

Les gènes HLA sont les gènes les plus polymorphes connus. Ce polymorphisme correspond au fait que chaque gène est polyallélique (**Un gène → plusieurs allèles différents dans la population**).

**La variabilité est le support du polymorphisme :** C'est le degré de différence entre deux molécules ou deux allèles mesuré par le nombre d'acides aminés ou de nucléotides différents. La différence entre deux allèles peut aller de 1 à 30 résidus.

Le nombre de résidus polymorphes et le taux de variabilité sont essentiellement localisés au niveau des domaines extra cellulaires  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  des molécules HLA de classe I et  $\beta 1$  et/ou  $\alpha 1$  des molécules HLA de classe II (Voir Structure).

Ce polymorphisme :

- Est à l'origine du déclenchement d'une réponse immunitaire humorale et cytotoxique chez le receveur HLA incompatibles lors d'une greffe. Les molécules HLA sont la cible des anticorps et des cellules T cytotoxiques au cours du rejet (Les molécules HLA deviennent dans ce cas des antigènes).
- Explique également la difficulté à apparier deux individus compatibles HLA lorsqu'une greffe est envisagée.

#### **2. Expression codominante :**

Chaque individu se caractérise par deux haplotypes HLA l'un d'origine paternelle, l'autre d'origine maternelle.

La somme des deux haplotypes définit le génotype (Exemple : A1 B7 DR3 /A23 B44 DR7).

Le phénotypage HLA est la numération des molécules HLA exprimées à la surface cellulaire d'un individu : A1, A23, B7, B44, DR3, DR7.

#### **Chaque allèle sur chaque haplotype est exprimé et son produit protéique détecté.**

Un individu peut être homozygote pour un ou plusieurs loci (Ex homozygotie B44 : A1 B44 DR3/A23 B44 DR7)

Chaque individu exprime au total (Sauf homozygotie): 02 antigènes A, 02 antigènes B, 02 antigènes C, 02 (ou 03 ou 04) antigènes DR ; 02 antigènes DP et 02 antigènes DQ.

#### **3. Liaison étroite :**

Les loci HLA A, B, C, DR, DQ, DP sont distincts **mais étroitement liés** sur le même chromosome. La transmission des gènes se fait donc en bloc des parents aux enfants, sauf rares recombinaisons (crossing over entre 2 haplotypes paternel et /ou maternel) entraînant l'apparition d'un nouvel haplotype dit **recombinant**.

#### **4. Déséquilibre de liaison :**

En théorie tout allèle d'un locus HLA peut être associé à n'importe quel allèle d'un autre locus : mais certains allèles d'un locus sont associés préférentiellement avec des allèles d'un autre locus Cette association est plus fréquente que ne le voudrait le hasard. On parle de **déséquilibre de liaison**.

Ces déséquilibres de liaison sont généralement particuliers à une population, constituent des marqueurs utiles pour l'anthropologie (étude des populations).

#### IV. MOLECULES HLA DE CLASSE I

Les gènes des loci HLA A, HLA B et HLA C codent pour la chaîne  $\alpha$  des molécules HLA de classe I.

##### Structure Molécules HLA classe I:

Les molécules HLA A, HLA B et HLA C ont une structure globulaire compacte appartenant donc à la superfamille des immunoglobulines.

Elles sont formées de 02 chaînes associées entre elle de façon non covalente : une chaîne  $\alpha$  dite lourde et une dite chaîne légère, la  $\beta$ 2 microglobuline.

**La chaîne  $\alpha$  :** glycoprotéine transmembranaire,

PM : 44 Kd,

345 Acides aminés.

**Polymorphique,**

**Glycosylée,**

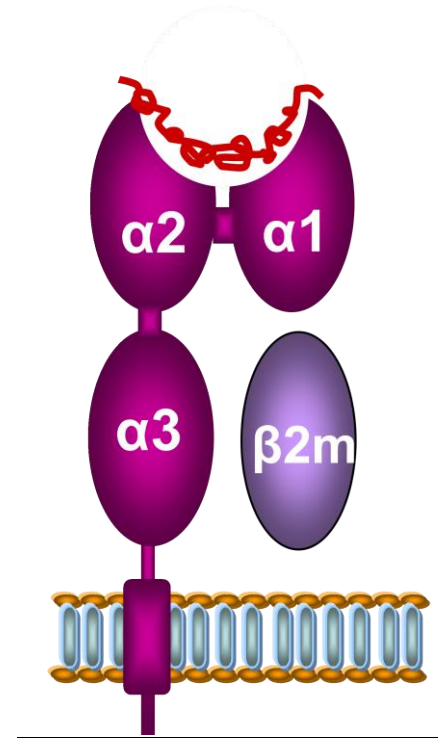
Elle comprend :

- Une région extra cellulaire N terminale organisée en 3 domaines :  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\alpha$ 3 d'environ 90 aa chacun..
- Une région transmembranaire hydrophobe d'environ 25 aa.
- Une région intra-cytoplasmique (C terminale) de 30 à 40 aa.

**La  $\beta$ 2-microglobuline :** protéine externe, de 12 Kd, faite de 99 aa,

**Monomorphe, Non glycosylée, Codée par un gène situé sur le chromosome 15.**

- Secrétée en excès par rapport à la chaîne  $\alpha$  et peut exister sous forme libre dans le sérum.
- **Nécessaire à l'expression des molécules HLA de classe I : totalement extracellulaire, s'associe de façon non covalente au niveau du domaine  $\alpha$ 3.**



La structure tridimensionnelle des molécules de classe I a permis de démontrer que les domaines  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2 forment entre eux une cavité de liaisons de peptides antigéniques.

**Cavité du peptide : Relation étroite entre la structure et la fonction des molécules HLA de classe I :**

- Elle est située entre les domaines  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2.
- Le peptide immunogène de 8 à 10 acides aminés est retenu par des résidus d'ancrage et présenté par les molécules HLA de classe I au récepteur des lymphocytes T CD8+.

**Le récepteur T reconnaît le peptide niché dans la cavité  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2 et une partie de la molécule HLA.**

**Le corécepteur de classe I ; le CD8 se lie au domaine  $\alpha$ 3.**

#### V. MOLECULES DE CLASSE II

La région HLA de classe II comprend plusieurs gènes regroupés en trois sous régions principales : HLA DR, HLA DQ et HLA DP.

Pour les 03 loci il existe pour chacun d'eux :

- Des gènes A (DRA, DQA et DPA) qui codent pour une chaîne  $\alpha$ .
- Des gènes B (DRB, BQB et DPB) qui codent pour une chaîne  $\beta$ .

L'assemblage de ces deux chaînes constitue la molécule HLA de classe II.

**Structure des molécules HLA classe II :**

Les molécules HLA DR, DQ et DP ont comme les molécules A, B et C une structure globulaire compacte.

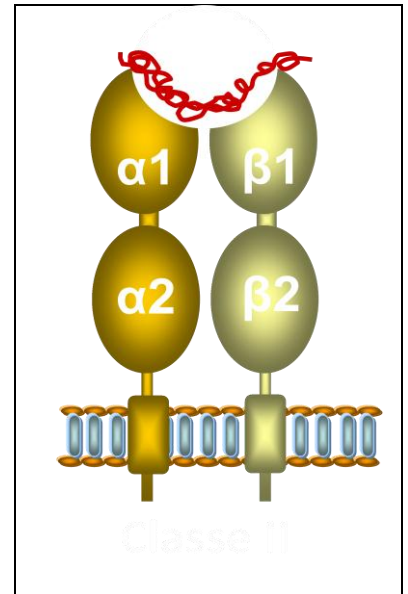
Ce sont des Glycoprotéines transmembranaires composées d'une chaîne  $\alpha$  de 35 KDa et d'une chaîne  $\beta$  de 26-29 KDa associées de façon non covalente.

Chaque chaîne est constituée :

- De deux domaines extracellulaire N terminaux :  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  pour la chaîne  $\alpha$ ,  $\beta 1$  et  $\beta 2$  pour la chaîne  $\beta$  d'environ 90 aa chacun.
- Une région transmembranaire,
- Une région intra cytoplasmique C terminale.

Les domaines  $\alpha 1$  et  $\beta 1$  forment entre eux la cavité du peptide.

Le peptide immunogène de 13 à 25 aa est présenté par les molécules HLA classe II au récepteur des lymphocytes TCD4+.

**VI. DISTRIBUTION CELLULAIRES DES MOLECULES HLA :****Distribution et modulation des molécules HLA classe I :**

Les molécules HLA de classe I sont exprimées sur la plupart des cellules nucléées de l'organisme. Le nombre de molécules exprimées sur la membrane est fonction du type cellulaire et de l'état de différenciation de la cellule.

**Distribution et modulation des molécules HLA classe II :**

L'expression des molécules HLA de classe II est **restreinte** à certaines cellules : **les cellules présentatrices d'antigènes** à savoir les **Lymphocytes B**, les **monocytes/macrophages** et les **Cellules dendritiques** (cellules de Langerhans de l'épiderme cellules dendritiques des tissus, cellules interdigitées du ganglion). Les lymphocytes T les expriment après activation.

**VII. FONCTION DES MOLECULES HLA (ROLE BIOLOGIQUE)**

Les principales fonctions du CMH sont :

**1- Sélection thymique pour le répertoire T :** sélection positive et sélection négative des thymocytes.

**2- La régulation des fonctions de cytotoxicité des cellules NK :**

Certaines molécules HLA régulent la réponse des cellules NK (Natural Killers).

Les molécules CMH classe I régulent la cytotoxicité des cellules NK. Les cellules NK possèdent à leur surface des récepteurs d'activation ainsi que des récepteurs d'inhibition de la cytotoxicité. Etant donné que de nombreuses cellules tumorales ou infectées par des virus ont une expression des molécules CMH I diminuée, le signal d'activation de la cytotoxicité NK prédomine, ce qui conduit à la destruction de ces cellules anormales.

**3- Présentation de peptides antigéniques aux lymphocytes T :**

Si le CMH est impliqué dans le contrôle du rejet de greffe, la principale fonction biologique des molécules du CMH est de fixer les peptides antigéniques et de les présenter à la surface cellulaire aux lymphocytes T.

La source des peptides, leur trajet intracellulaire avant association aux molécules CMH ainsi que le type de lymphocytes T auxquels ils sont présentés varient selon la classe de molécule HLA considérée :

**- Les molécules de classe I présentent aux lymphocytes T CD8+ :**

Les protéines du cytosol acheminées vers des complexes multicatalytique appelés protéasomes qui les clivent générant des peptides de 8 à 11aa. Les peptides sont transloqués dans le réticulum endoplasmique par un système transporteur.

Dans le réticulum endoplasmique, le peptide va se fixer sur le dimère  $\alpha/\beta$ -microglobuline. La molécule HLA classe I qui a donc chargé un peptide peut ensuite suivre la voie d'exportation à la surface et expression à la membrane cellulaire en passant par l'appareil de Golgi ou se fait la glycosylation de la chaîne  $\alpha$  (voir schéma, page 7).

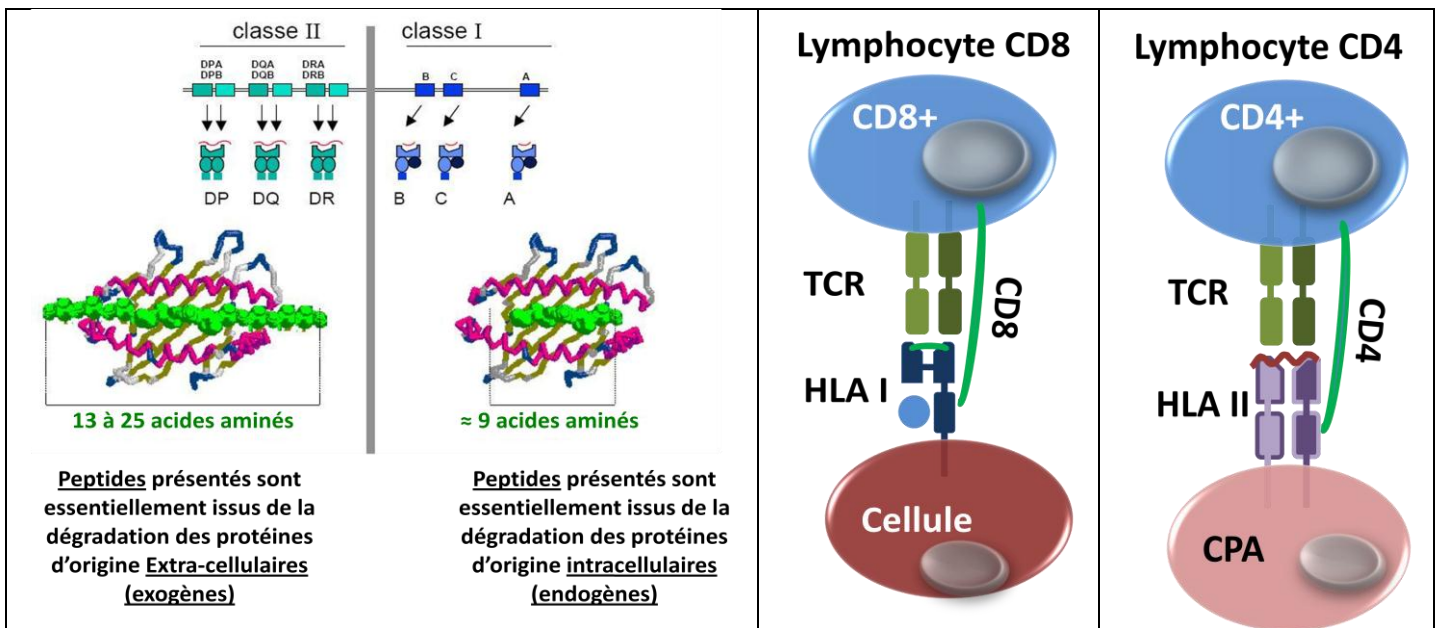
*NB : certaines protéines exogènes, non synthétisées par la cellule peuvent être présenté par la voie des molécules de classe I. On parle de la présentation croisée (cross presentation)*

**- Les molécules de classe II présentent aux Lymphocytes T CD4+ :**

Des protéines ou des particules du milieu extérieur, fixée par un récepteur ou captée par endocytose, est internalisée dans des endosomes et clivée en peptides.

Les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  des molécules HLA classe II néosynthétisées s'associe dans le réticulum endoplasmique, passent par l'appareil de Golgi ou les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  sont glycosylées ensuite dans le compartiment des molécules HLA classe II qui fusionne avec la voie endosomale (endosome, lysosome). A ce niveau chaque molécules HLA de classe II va charger un peptide issu de la voie endosomale, quitte le compartiment et est transportée à la surface (voir schéma, page 7).

*NB : Les molécules HLA classe II présentent également des peptides du soi issus de la dégradation des protéines du soi du milieu extracellulaire, protéines membranaires...*

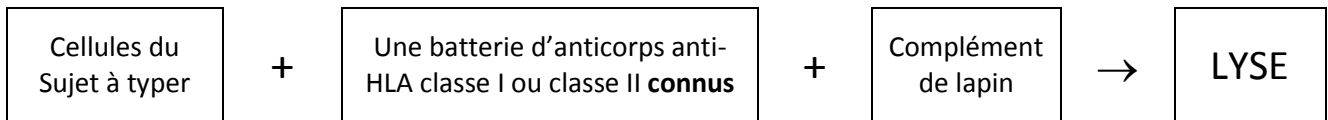


**VIII. ETUDE DU POLYMORPHISME HLA (Typage HLA)**

La connaissance du polymorphisme HLA s'est développée sur la base de différentes techniques : sérologiques, cellulaires et de biologie moléculaire.

**1. Techniques Sérologiques**

La technique de microlymphocytotoxicité complément dépendante (LTC) introduite par P.TERASAKI et Mc CLELLAND est la technique de référence pour la détermination des antigènes HLA de classe I (A, B, C) et de classe II (DR, DQ)

**- Principe:**

Une réaction positive se traduit par une lyse visualisée par un colorant vital.

Les techniques sérologique ont permis de définir : les spécificités HLA A, les spécificités HLA B, les spécificités HLA CW, les spécificités DR et les spécificités DQ.

**2. Techniques cellulaires**

Culture mixte lymphocytaire ou réaction lymphocytaire mixte

Les techniques cellulaires ont permis de définir les 06 spécificités DP (Les antigènes HLA DP ne sont pas identifiable par technique sérologique.

**3. Techniques de biologie moléculaire**

Le taux élevé du polymorphisme HLA particulièrement HLA DR n'est que partiellement reconnu par techniques sérologiques et cellulaires. L'approche du polymorphisme HLA par biologie moléculaire a modifié les connaissances de ce polymorphisme.

Les gènes ciblés pour le typage HLA sont ceux qui codent pour une chaîne polypeptidique sur la membrane cellulaire, à savoir :

- pour la classe I : HLA A, HLA B et HLA C.
- pour la classe II : HLA DRB, HLA DQA, HLA DQB, HLA DPA et HLA DPB.

Après extraction de l'ADN à partir des cellules sanguines, Les techniques de biologie moléculaire ont en commun une étape d'amplification enzymatique in vitro par PCR (polymerase chain reaction) du locus HLA polymorphe à étudier.

La mise en évidence du polymorphisme peut se faire par différentes techniques dont les plus fréquentes et applicables au typage HLA sont la PCR-SSO (Sequence Specific Oligoprobe), la PCR-SSP (Sequence Specific Primers) et la PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).

**IX. NOMENCLATURE****Pour les spécificités décrites par techniques sérologiques et cellulaires.**

HLA + nom de la série précisant le locus auquel appartient la spécificité + 1 ou 2 chiffres.

Ex : HLA A1, HLA DR4, HLA DP1, ...

Pour le locus C la lettre W est accolée à C pour éviter toute confusion avec les protéines du complément.

Ex : HLA Cw4.

**Pour les allèles définis par biologie moléculaire**

HLA + nom de la série précisant le locus auquel appartient l'allèle puis un asterisk + 4 chiffres :

Les 2 premiers chiffres sont identiques en général à la spécificité obtenu par technique sérologique, les deux autres chiffres correspondent au variant allélique.

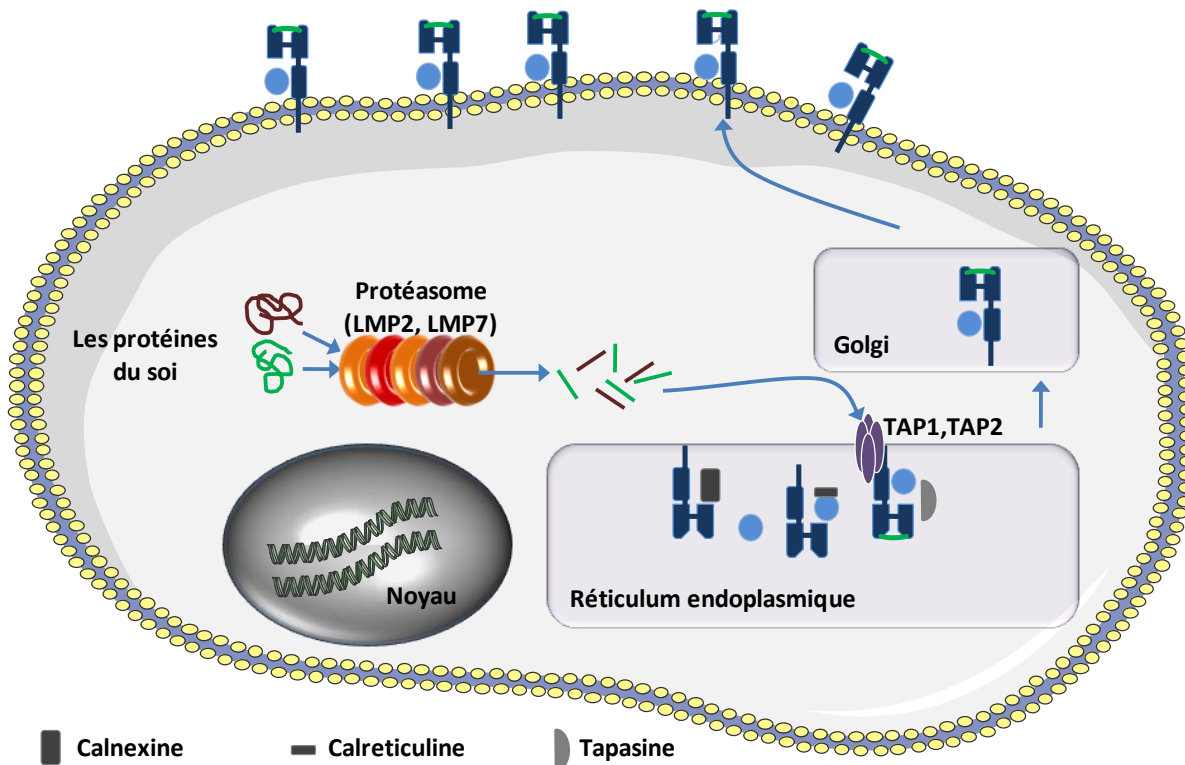
Ex : HLA A1 s'écrit HLA A\*0101 à A\*0105 (c.-à-d. qu'il existe 05 variants alléliques identifiés par biologie moléculaire de la molécule HLA A1 identifiée par les techniques sérologiques).

**X. QUELQUES APPLICATIONS DU HLA :**

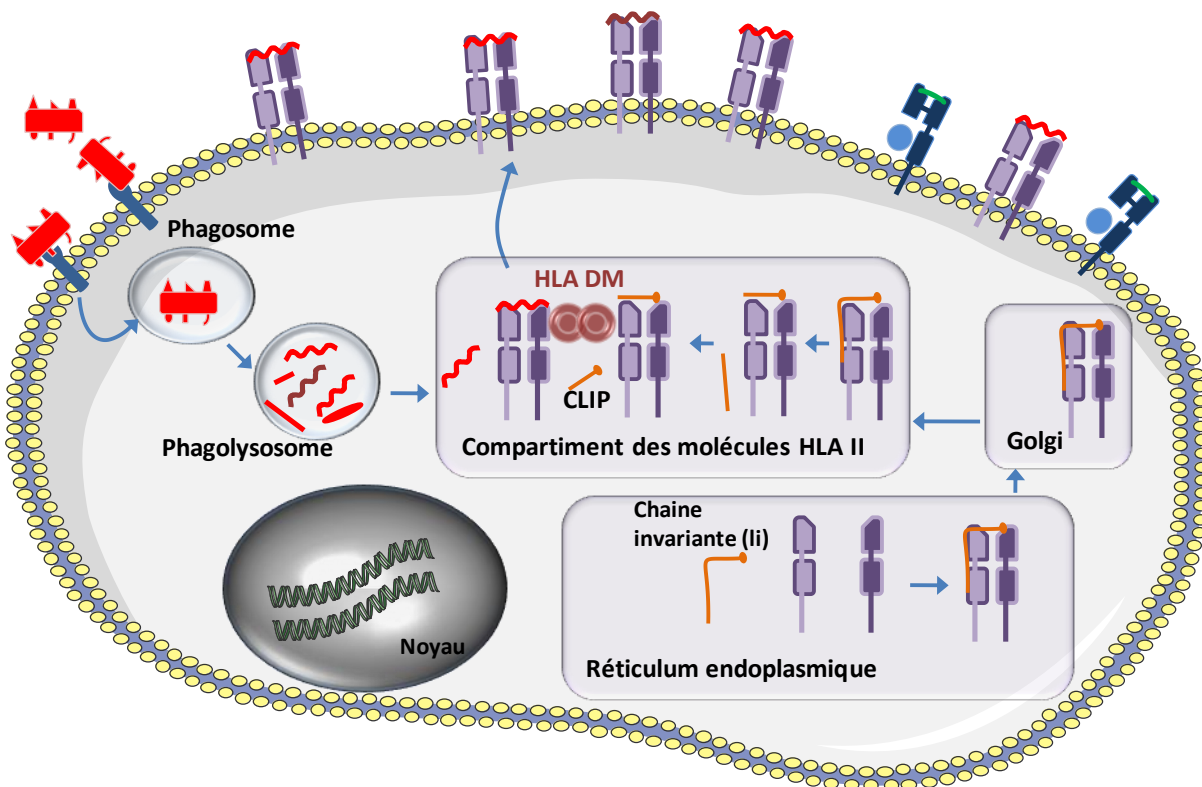
- Association ou liaison avec certaines maladies (Exemple : HLA B51 et maladie de Behçet).
- Transplantation d'organes et greffe de cellules et de tissus (la sélection donneur/ receveur).
- Anthropologie pour l'étude des populations (migrations, évolution des races...).
- Médecine légale (recherches de paternité...).



**A- Assemblage de la molécule HLA de classe I et chargement du peptide**



**B- Assemblage de la molécule HLA de classe II et chargement du peptide**



## *Tableau récapitulatif et comparatif :*

	<b>HLA Classe I</b>	<b>HLA Classe II</b>
<b>Locus génétique</b>	HLA <b>A</b> , HLA <b>B</b> et HLA <b>C</b> . ⇒ Chaîne $\alpha$ .	HLA <b>DP</b> , HLA <b>DQ</b> et HLA <b>DR</b> . Gène A $\Rightarrow$ chaîne $\alpha$ , Gène B $\Rightarrow$ chaîne $\beta$ .
<b>Structure</b>	Chaîne $\alpha$ + $\beta$ 2 microglobuline	Chaîne $\alpha$ + Chaîne $\beta$
<b>Domaines polymorphes</b>	$\alpha$ 1 et $\alpha$ 2	$\alpha$ 1 et $\beta$ 1
<b>Expression cellulaire</b>	Pratiquement <b>toutes les cellules nucléées</b> de l'organisme.	<b>Cellules présentatrices de l'antigène :</b> Cellules dendritiques, Macrophages, Lymphocytes B.
<b>Présentation de l'antigène aux :</b>	Lymphocytes <b>T CD8+</b> (cytotoxiques)	Lymphocytes <b>T CD4+</b> (auxiliaires)
<b>Origine du peptide présenté</b>	<b>Protéines produites dans le cytosol +++ (Endogènes)</b>	<b>Protéines extracellulaires +++ (Exogènes)</b>