

Expression coordonnée des molécules du CMH de classe I : un HLA peut en cacher un autre...

Les lymphocytes NK et certaines sous-populations de lymphocytes T possèdent à leur surface des récepteurs pour les molécules du CMH de classe I [1, 2]. Ces récepteurs se divisent en deux familles : d'une part, les KIR* et les ILT/LIR/MIR* appartenant à la superfamille des immunoglobulines, d'autre part, les hétérodimères CD94-NKG2 qui sont des lectines dimériques de type C. Ces récepteurs existent systématiquement sous deux isoformes qui peuvent transmettre des signaux, soit d'inhibition, soit d'activation cellulaire. Les isoformes activatrices possèdent une partie intracytoplasmique dépourvue de propriétés transductrices et elles s'associent à des polypeptides de signalisation à motif ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) (ex. : KARAP*, DAP-12* [3, 4]) [5]. Les isoformes inhibitrices sont caractérisées par la présence d'un motif ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*) dans leur partie intracytoplasmique qui permet le recrutement des protéine-tyrosine phosphatases SHP-1 et/ou SHP-2* [1, 6]. Les récepteurs inhibiteurs à ITIM de la famille des immunoglobulines reconnaissent les molécules du CMH de classe Ia (HLA-A, B et C chez l'homme). Qu'en est-il des molécules du CMH de classe Ib comme HLA-E, HLA-F ou HLA-G, caractérisées notamment par un polymorphisme beaucoup moins grand (il y a plus de 300 allèles HLA A,B,C répertoriés contre moins d'une vingtaine pour HLA-E,F,G) ?

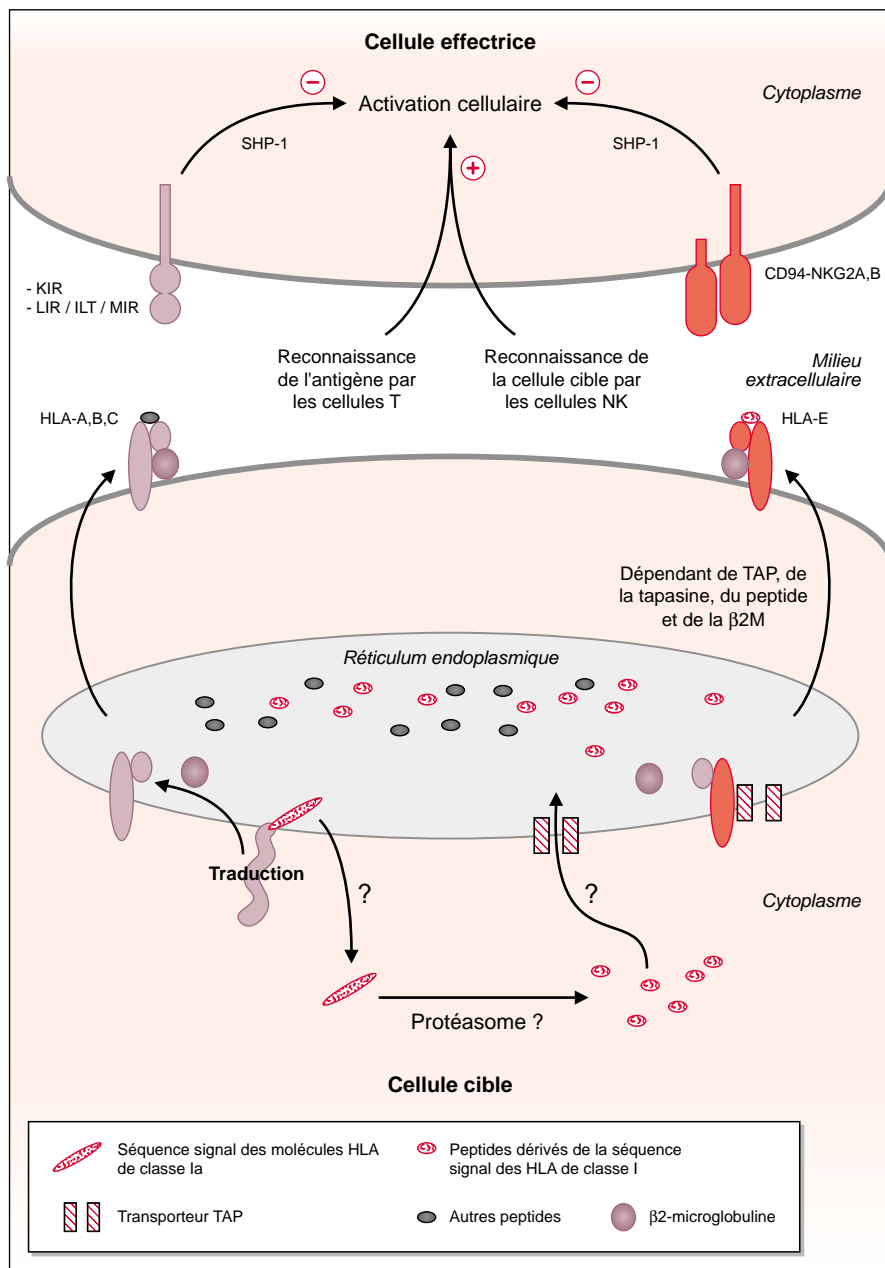
Les ligands des molécules HLA-E

Plusieurs publications récentes viennent de décrire la structure et les

ligands de HLA-E. De manière analogue aux autres molécules du CMH, les molécules du HLA-E présentent des peptides dans leur gorge à peptide. Cependant, une étude chez des primates a montré qu'il y avait très peu de polymorphisme entre les individus et que le rapport des substitutions «synonymes» (des substitutions au niveau d'une base de l'ADN qui sont silencieuses au niveau de la séquence protéique) aux substitutions «non synonymes» est très supérieur aux rapports observés sur les autres locus du CMH [7]. Cet ensemble de résultats montre que l'histoire évolutive du locus HLA-E est différente de celle des autres locus du CMH. La partie la plus conservée est le site de fixation du peptide qui présente une structure particulière due à la présence, dans HLA-E, de résidus sérine en positions 143 et 147 à la place, respectivement, d'un résidu thréonine et d'un résidu tryptophane dans les molécules HLA de classe Ia. La résolution de la structure cristallographique révèle que la poche de fixation du peptide possède une structure différente de celles des autres molécules HLA de classe I [8]. Le peptide fixé est de nature hydrophobe. Comme pour tous les peptides fixés par les molécules HLA de classe I, le peptide est long d'environ 9 acides aminés [9] mais doit contenir un «coude» produit par une proline en position 4 [8]. L'ensemble des acides aminés constituant le peptide sont importants pour la fixation sur la molécule HLA-E et, en particulier, les acides aminés en positions 2 et 9. De manière plus surprenante, il est apparu que les peptides fixés sur HLA-E sont des peptides dérivés des séquences signal des molécules de classe Ia et de HLA-G, à l'exception de peptides dérivés de la séquence

signal de certains allèles HLA-B contenant une thréonine en position 2 [8-10]. L'expression de HLA-E en surface dépend de la présence du peptide, de la β 2-microglobuline, du transporteur TAP et de la tapasine, une glycoprotéine qui stabiliserait les hétérodimères de classe I et leur association au TAP [11, 12]. Il semblerait également que la séquence signal des molécules HLA de classe I, une fois clivée dans le réticulum endoplasmique, diffuse dans le cytoplasme puis que les peptides issus de cette séquence signal soit ensuite réimportés dans le réticulum par le complexe TAP (*figure 1*) [11]. L'absence de réactifs spécifiques des molécules HLA-E a conduit à développer des outils originaux pour étudier à la fois sa fonction et son ligand [13]. Ainsi Braud *et al.* (Oxford, GB) [10] ont développé des molécules solubles de HLA-E biotinylables. Il est possible de les agréger sous forme de tétramères et de les détecter grâce à de l'avidine couplée à de la fluorescéine. Les cellules périphériques mononucléées du sang (PBMC) marquées par les tétramères sont des cellules NK et des cellules T CD8⁺. Il est possible d'abolir le marquage par des anticorps anti-CD94, démontrant ainsi que les hétérodimères CD94-NKG2A, B ou C, sont le ligand de HLA-E. Il faut noter que l'interaction entre CD94-NKG2 et HLA-E est indépendante de glycosylations sur HLA-E puisque les molécules de HLA-E solubles ont été produites dans un système bactérien. Le fait que CD94 et NKG2A,B ou C appartiennent à la famille des lectines ne semble donc pas intervenir dans cette interaction. Des tests de cytotoxicité montrent que des cellules cibles sont protégées de la lyse par des cellules NK CD94⁺ NKG2A⁺ lorsqu'elles sont transfectées

* Voir glossaire, p. 964.



par des molécules HLA de classe Ia. Cette protection contre la lyse NK est restreinte à la présence d'une séquence signal de classe I pouvant se fixer sur HLA-E. L'unique présence de la séquence signal d'un HLA-A, B, C ou G suffit donc pour l'expression à la membrane de HLA-E qui peut alors engager le récepteur inhibiteur NKG2A-CD94 à la surface des cellules NK [10]. Les travaux de Borrego *et al.* (NIH, Rockville, MD, USA) arrivent aux mêmes conclusions en utilisant un autre système. Ils utilisent des cellules RMA-S transfectées par HLA-E et examinent l'effet de différents peptides sur l'expression et de différents anticorps sur le blocage de la lyse par les cellules NK [14]. Ces deux études viennent d'être confirmées par les travaux de Lee *et al.* (Seattle, WA, USA et Madrid, Espagne) [15].

En résumé, HLA-E est exprimé à la surface d'une cellule si elle exprime des molécules HLA de classe I (toutes les molécules HLA-A, HLA-C, HLA-G et certaines molécules HLA-B). Son expression serait donc ubiquitaire. L'engagement de CD94-NKG2A par HLA-E entraîne la phosphorylation de son motif ITIM et le recrutement des protéines tyrosine phosphatases SHP-1 et SHP-2 [16, 17].

Les deux classes de récepteurs inhibiteurs de la lyse

Il existe donc deux classes de récepteurs inhibiteurs, ceux de la famille des immunoglobulines qui reconnaissent des familles alléliques de HLA de classe I (par exemple KIR2DL3, anciennement p58.2-CD158b, qui reconnaît les allèles HLA-Cw3) et ceux de la famille des lectines dimériques représentés par CD94-NKG2A,B qui reconnaissent la molécule HLA-E. Les signaux de transduction utilisés par ces deux familles de récepteurs inhibiteurs empruntent la voie des ITIM et des protéines tyrosine phosphatases SHP-1 et/ou SHP-2.

HLA-E servirait d'indicateur général non seulement de l'état d'expression des HLA de classe I à la surface cellulaire mais aussi de l'intégrité des activités intracellulaires nécessaires pour l'expression des complexes CMH-pep-

Figure 1. **Expression des molécules de classe I et interaction avec les récepteurs inhibiteurs.** Les ARN messagers des molécules HLA de classe I sont traduits par le ribosome sur le réticulum endoplasmique, la séquence signal cible la protéine en cours de synthèse directement dans la lumière du réticulum. La séquence signal est ensuite clivée. La molécule de classe I modifie sa conformation et s'associe à la β 2-microglobuline et à un peptide avant d'être exprimée de façon stable en surface où elle pourra être reconnue par les récepteurs inhibiteurs de la famille des immunoglobulines. À la suite de cet engagement, la phosphatase SHP-1 est recrutée et inhibe les signaux d'activation de la cellule T ou NK. Quant à la séquence signal, elle diffuse dans le cytoplasme et les peptides qui en dérivent sont réimportés dans le réticulum et chargés par HLA-E, ce qui va permettre l'expression de HLA-E à la surface et sa reconnaissance par le dimère CD94-NKG2A,B. À la suite de cette reconnaissance, CD94-NKG2A,B recrute SHP-1 entraînant l'extinction des signaux d'activation cellulaire.

| | | Cellules cibles | | | | | | |
|-------------|---|--|--|---|--|---|--|---------------------------------------|
| | | Cellules normale | Cellules tumorales ou cellules infectées par des virus | | | | | |
| | | | Perte allélique Perte de locus (fréquent) | Perte de locus Perte d'haplotype (rare) | Perte totale | | | |
| | | Classe Ia ⁺ HLA-E ⁺ | Classe Ia ^{+/-} HLA-E ⁺ | Classe Ia ⁺ HLA-E ⁻ | Classe Ia ⁻ HLA-E ⁻ | | | |
| Cellules NK | ≥ 80 % de la population de lymphocytes NK | CD94 ⁺ KIR ⁺ très fréquent | - | - | - | + | Cellules T | |
| | | CD94 ⁺ KIR ⁻ peu fréquent | - | - | + | + | | CD94 ⁺ KIR ⁺ |
| | ≤ 20 % de la population de lymphocytes NK | CD94 ⁻ KIR ⁺ | - | + | - | + | | CD94 ⁺ KIR ⁻ |
| | | | | | | | ≥ 10 % de la population de lymphocytes T | |
| | | | | | | | ≥ 7 % de la population de lymphocytes T | |

Figure 2. **Interaction entre cellules cibles et cellules effectrices exprimant des récepteurs inhibiteurs.** + : lyse de la cellule cible par le lymphocyte T ou NK. - : pas de lyse de la cellule cible par le lymphocyte T ou NK.

tide à la surface des cellules [8, 18]. Grâce à HLA-E, un seul récepteur inhibiteur, CD94-NKG2, pourrait rendre compte de l'expression d'un grand nombre d'allèles de classe I [19]. La modulation de l'expression des molécules HLA de classe I se produit généralement à la suite d'une transformation tumorale ou d'une infection virale. Plusieurs phénotypes de perte ont été décrits sur ces cellules: la perte totale d'expression (fréquente), la perte d'un haplotype (rare), la perte d'un locus (assez rare, touchant principalement les locus HLA-A et HLA-B) et la perte d'un allèle (fréquent) (figure 2) [20]. En l'absence des molécules de classe I, les récepteurs inhibiteurs correspondant à ces molécules ne sont plus engagés et ne contrôlent donc plus négativement l'activation des lymphocytes. Ainsi, la cellule ayant perdu totalement ou partiellement l'expression de surface des molécules de classe I sera lysée par les lymphocytes cytotoxiques (NK ou T) (figure 2). Les hétérodi-

mères CD94-NKG2 sont exprimés sur une grande partie des cellules NK (>80 %) alors que les récepteurs de la famille des immunoglobulines sont exprimés plus faiblement (20 % à 30 % des cellules sont positives pour un récepteur donné). La plupart des lymphocytes NK expriment à la fois au moins un KIR et un hétérodimère CD94-NKG2. Ces cellules possèdent donc deux contrôles négatifs de l'activation cellulaire et ne tuent que les cellules ayant sévèrement perdu l'expression des molécules de classe I (figure 2). Des lymphocytes NK n'exprimant que l'hétérodimère CD94-NKG2 vont lyser des cellules qui ne présentent plus HLA-E à leur surface, ce qui se produit en cas de perte totale de l'expression des molécules de classe I, ou si la cellule ne possède plus qu'un allèle dont la séquence signal n'est pas capable de se fixer à HLA-E ce qui est vraisemblablement un événement rare. Des lymphocytes NK n'exprimant que des KIR vont pouvoir lyser des cellules ayant perdu, soit un locus,

soit un allèle HLA, à condition qu'aucun autre récepteur KIR n'interfère en interagissant avec un allèle HLA encore exprimé sur la cible. On peut donc prédire une réponse cytotoxique par une population très réduite de lymphocytes (KIR⁺, CD94⁻ NKG2⁻). Ainsi la présence de deux systèmes de régulation négative à la surface des lymphocytes ne semblerait pas être efficace pour détecter des variations fines de l'expression des molécules de classe I. Mais tout ce raisonnement est fondé sur l'idée simple que les deux systèmes KIR et CD94-NKG2 sont équivalents au vu de leur capacité d'inhibition et qu'ils interviennent au même moment, postulat qui reste à démontrer. La physiologie de l'interaction entre les molécules du CMH de classe I et les KIR ou les hétérodimères CD94-NKG2 demande donc à être éclaircie.

M.B.
E.V.

* GLOSSAIRE *

Cellules RMA-S: lignée cellulaire issue d'un lymphome T caractérisée par un défaut de transporteur peptidique.

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité.

DAP: disulphide-bonded homodimer containing an ITAM.

HLA: human leukocyte antigen.

ILT: Ig-like transcripts.

ITAM: immunoreceptor tyrosine-based activation motif.

ITIM: immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif.

KARAP: killer cell activating receptor associated proteins.

KIR: killer cell inhibitory receptor.

LIR: leukocyte immunoglobulin-like receptor.

MIR: monocyte/macrophage immunoglobulin-like receptor.

NK: natural killer.

PBMC: peripheral blood mononuclear cells.

SHP-1: phosphatases contenant des domaines SH2 et déphosphorylant des tyrosines (Src homology phosphatase 1 ou 2).

TAP: Transporters associated with antigen processing.

TCR: T cell receptor.

1. Vély F, Vivier E. Mécanismes moléculaires de la cytotoxicité des cellules NK. *Med Sci* 1996; 12: 458-64.
2. Granel B, Vivier E. Les cellules NK: biologie, modes de régulation et intérêt clinique. *Hématologie* 1998; 4: 41-9.
3. Olcese L, Cambiaggi A, Bottino C, Moretta A, Vivier E. Human killer-cell activatory receptors for MHC Class I molecules are included in a multimeric complex expressed by human killer cells. *J Immunol* 1997; 158: 5083-6.
4. Lanier LL, Corliss BC, Wu J, Leong C, Phillips JH. Immunoreceptor DAP12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* 1998; 391: 703-7.
5. Vély F, Vivier E. Commentary: conservation of structural features reveals the existence of a large family of inhibitory cell surface receptors and non-inhibitory/activatory counterparts. *J Immunol* 1997; 159: 2075-7.
6. Olivero S, Bléry M, Vivier E. Régulation de l'activité cellulaire par les phosphatases. *Med Sci* 1998; 14: 262-8.
7. Knapp LA, Cadavid LF, Watkins DI. The MHC-E locus is the most well conserved of all known primate class I histocompatibility genes. *J Immunol* 1998; 160: 189-96.
8. O'Callaghan CA, Tormo J, Willcox BE, et al. Structural features impose tight peptide binding specificity in the nonclassical MHC molecule HLA-E. *Mol Cell* 1998; 1: 531-41.
9. Braud V, Jones EY, McMichael M. The human major histocompatibility complex class Ib molecule HLA-E binds signal sequence-derived peptides with primary anchor residues at positions 2 and 9. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1164-9.
10. Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, et al. HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature* 1998; 391: 795-9.
11. Braud VM, Allan DSJ, Wilson D, McMichael AJ. TAP- and tapasin-dependent HLA-E surface expression correlates with the binding of an MHC class I leader peptide. *Curr Biol* 1997; 8: 1-10.
12. Yokoyama WM. HLA class I specificity for natural killer cell receptor CD94/NKG2A: two for one in more ways than one. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 4791-4.
13. Altman JD, Moss PAH, Goulder PJR, et al. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. *Science* 1996; 274: 94-6.
14. Borrego F, Ulbrecht M, Weiss EH, Coligan JE, Brooks A. Recognition of human histocompatibility leucocyte antigen (HLA)-E complexed with HLA class I signal peptide sequence-derived peptides by CD94/NKG2 confers protection from natural killer cell-mediated. *J Exp Med* 1998; 187: 813-8.
15. Lee N, Llano M, Carretero M, et al. HLA-E is a major ligand for the natural killer inhibitory receptor CD94/NKG2A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5199-204.
16. Le Dréan E, Vély F, Olcese L, et al. Inhibition of antigen-induced T cell response and antibody-induced NK cell cytotoxicity by NKG2A: association of NKG2A with SHP-1 and SHP-2 protein-tyrosine phosphatases. *Eur J Immunol* 1998; 28: 264-76.
17. Carretero M, Palmieri G, Llano M, et al. Specific engagement of the CD94/NKG2-A killer inhibitory receptor by the HLA-E class Ib molecule induces SHP-1 phosphatase recruitment to tyrosine-phosphorylated NKG2-A: evidence for receptor function in heterologous transfectants. *Eur J Immunol* 1998; 28: 1280-91.
18. Long EO. Signal sequences stop killer cells. *Nature* 1998; 391: 740-3.
19. Lanier LL. Follow the leader: NK cell receptors for classical and non classical MHC class I. *Cell* 1998; 92: 705-7.
20. Garrido F, Ruiz-Cabello F, Cabrera T, Perez-Villar JJ, Lopez-Botet M, Duggan-Keen M, Stern PL. Implications for immunosurveillance of altered HLA class I phenotypes in human tumors. *Immunol Today* 1997; 18: 89-95.

■■■■ BRÈVE ■■■■

■■■■ **La durée de vie des cellules sécrétrices d'anticorps s'allonge.** Les anticorps établissent une première ligne de défense contre les infections et ce n'est pas un hasard si la majorité des vaccins qui apportent une protection durable induit une réponse humorale prolongée. A titre d'exemple, l'immunisation à l'aide de virus vivants atténués (rougeole, poliomyélite, fièvre jaune) ou de virus inertes (tétanos, diphtérie) provoque la production d'anticorps circulants pendant des dizaines d'années. Les lymphocytes B mémoires ne sécrètent pas spontanément d'anticorps mais, sous l'action de stimulus répétés, ils se différencient en plasmocytes, cellules sécrétrices d'anticorps. Les modèles conventionnels suggèrent que l'immunité humorale est maintenue grâce à la différenciation continue

des lymphocytes B mémoires en plasmocytes. En effet, les anticorps doivent être continuellement produits car la demi-vie des immunoglobulines est inférieure à trois semaines. Les plasmocytes peuvent sécréter jusqu'à 10 000 molécules par secondes. Bien que des travaux anciens [1] aient suggéré que les plasmocytes survivent pendant plusieurs mois, le dogme immunologique en vigueur affirmait que les plasmocytes ont une durée de vie courte, de quelques semaines au mieux. La longévité des plasmocytes vient d'être réévaluée [2]. Après déplétion *in vivo* des cellules B mémoires et transfert passif de plasmocytes sécrétant des anticorps anti-LCMV (virus de la chorioméningite lymphocytaire) chez des souris naïves, les auteurs ont pu estimer la persistance des anticorps anti-LCMV

et des plasmocytes. Les résultats montrent que des plasmocytes se trouvant dans la moelle osseuse et la rate peuvent survivre et sécréter des anticorps pendant plus d'un an. Cela est en accord avec des données antérieures sur la longévité des plasmocytes dans la moelle osseuse qui montraient que des plasmocytes peuvent survivre pendant plus de trois mois sans être renouvelés [3]. Ces résultats dévoilent un nouveau mécanisme de maintien d'une protection humorale durable et bousculent le concept selon lequel les plasmocytes ont une courte durée de vie.

- [1. Miller LL. *J Immunol* 1964; 92: 673-81.]
 [2. Manz RA, et al. *Nature* 1997; 388: 133-4.]
 [3. Slifka MK, et al. *Immunity* 1998; 8: 363-72.]

SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE 16 septembre 1998 – 16 heures

Du gène au comportement – Nouveau cheminement en direction de nouveaux agents psychotropes

Institut des Cordeliers – Amphithéâtre Bilski-Pasquier
 15-21, rue de l'École de Médecine – 75006 Paris, France

Renseignements

Secrétariat de la Société de Biologie – Collège de France
 3, rue d'Ulm, 75231 Paris Cedex 05, France – Tél./Fax : 01 44 27 13 40