

Immunologie 1989 : la révolution peptidique

La deuxième moitié des années 1980 a été marquée, en immunologie, par la description au niveau moléculaire de l'essentiel des phénomènes concourant à la discrimination entre le *soi* et le *non-soi*. Les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sont des récepteurs de peptides que reconnaissent les récepteurs pour l'antigène des lymphocytes T. La tolérance immunitaire, l'auto-immunité, la restriction par le CMH et l'alloréactivité peuvent être compris à la lumière d'une vision « peptidique » de l'immunologie.

Jean-Michel Claverie

ADRESSE

J.M. Claverie : chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, professeur à l'université de Rouen. Unité informatique scientifique, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France et SCUEOR, université de Rouen, 1, rue Thomas-Becket, BP 138, Mont-Saint-Aignan Cedex, France.

Les années 1985-1989 resteront pour l'immunologie dite « cellulaire » une période, révolutionnaire. Au cours de cette période en effet, la plupart des grandes questions auront trouvé une réponse claire, souvent de nature moléculaire, que ne laissait pas présager une phénoménologie complexe. Les modèles traditionnels qui reposaient sur des notions parfois aussi littéraires que la « vertu dormitive de l'opium » (je pense au *soi altéré*, à la *présentation* et à la reconnaissance de l'antigène dans le *contexte* du complexe majeur d'histocompatibilité, etc.) ont désormais cédé le pas à un nouveau cadre conceptuel [1-3] que je vais exposer ici en quelques pages.

En plus de ses vertus pédagogiques certaines, le nouveau modèle « standard » de l'immunologie cellulaire est d'une grande qualité opérationnelle et suggère de nouvelles approches thérapeutiques, notamment dans le domaine des maladies auto-immunes. Leur faisabilité vient d'en être démontrée par le traitement de l'encéphalite auto-immune expérimentale (EAE) de la souris au moyen de la simple injection d'un peptide [4, 5]. Enfin, la nouvelle vision « peptidique » de l'immunologie permet de formuler des hypothèses vérifiables sur les différents mécanismes à l'origine de l'auto-immunité.

Les questions centrales de l'immunologie cellulaire. Fin 1984, et reflétées par le contenu d'un chapitre de

RÉFÉRENCES

1. Kourilsky P, Claverie JM. Le modèle du soi peptidique. *médecine/sciences* 1988 ; 4 : 177-83.
2. Kourilsky P, Chaouat G, Rabourdin-Combe C, Claverie JM. Working principles in the immune system implied by the « Peptidic Self » model. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 3400-4.
3. Kourilsky P, Claverie JM. MHC-antigen interaction : what does the T-cell receptor see ? *Adv Immunol* 1989 ; 45 : 107-93.
4. Wraith DC, Smilek DE, Mitchell DJ, Steinman L, McDevitt HO. Antigen recognition in autoimmune encephalomyelitis and the potential for peptide-mediated immunotherapy. *Cell* 1989 ; 59 : 247-55.
5. Urban JL, Horvath SJ, Hood L. Autoimmune T cells : immune recognition of normal and variant peptide epitopes and peptide-based therapy. *Cell* 1989 ; 59 : 257-71.
6. Schwartz RH. T-lymphocyte recognition of antigen in association with gene products of the MHC. *Ann Rev Immunol* 1985 ; 3 : 237-61.
7. Unanue ER, Allen PM. The basis for the immunoregulatory role of macrophages and other accessory cells. *Science* 1987 ; 236 : 551-7.
8. Townsend RM, Goteh FM, Davey J. Cytotoxic T cells recognize fragments of the *Influenza* nucleoprotein. *Cell* 1985 ; 42 : 457-67.
9. Claverie JM, Kourilsky P, Langlade-Demoyen P, et al. T-immunogenic peptides are constituted of rare sequence patterns. Use in the identification of T epitopes in the human immunodeficiency virus gag protein. *Eur J Immunol* 1988 ; 18 : 1547-53.
10. Kourilsky P, Claverie JM. The peptidic self model : a hypothesis on the molecular nature of the immunological self. *Ann Institut Pasteur/Immunol* 1986 ; 137D : 3-21.
11. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennet WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 1987 ; 329 : 506-12.
12. Brown JH, Jardetzky T, Saper MA, Samraoui B, Bjorkman PJ, Wiley DC. A hypothetical model of the foreign antigen binding site of class II histocompatibility molecules. *Nature* 1988 ; 322 : 845-50.

Annual Review of Immunology [6], elles sont au nombre de trois que je reformule ici : (1) quelle est la véritable nature de l'antigène spécifiquement reconnu par les lymphocytes T ? (c'est le domaine alors encore flou de la « présentation » de l'antigène) ; (2) par quel mécanisme les produits du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) modulent-ils la reconnaissance de cet antigène par les lymphocytes T et la réponse immunitaire dans son ensemble ? (c'est le domaine de la restriction du CMH et de l'effet des gènes Ir) ; (3) par quel mécanisme le CMH intervient-il dans la définition du soi immunologique ? (qui concerne le problème du rejet des greffes et de l'auto-immunité)

Nous allons voir quelles réponses ont été apportées à ces questions au terme de cinq années extraordinairement productives.

Nature de l'antigène

L'antigène reconnu par les lymphocytes T est un peptide. Il est désormais acquis que, sauf cas exceptionnel, le récepteur spécifique des lymphocytes T (TcR) reconnaît l'antigène sous la forme d'un petit fragment peptidique présenté à la surface cellulaire par les molécules du CMH. Ce peptide, l'épitope T, provient d'une dégradation protéolytique intracellulaire de l'antigène natif (protéine isolée, virus, bactérie) dans des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) « professionnelles » (macrophages, cellules dendritiques, etc.) ou « occasionnelles » (lymphocytes B, cellules somatiques banales). Cette notion a tout d'abord été acquise dans le contexte de la réponse T proliférative (T_h) à divers antigènes modèles comme le cytochrome c, le lysozyme et l'ovalbumine [6, 7]. Dans ce cas, le peptide reconnu est présenté (porté) par des molécules du CMH de classe II. C'est au groupe de Townsend [8] que l'on doit la démonstration directe, en 1986, du même phénomène pour la réponse de type cytotoxique (T_{cl}) : des lymphocytes T_{cl} reconnaissent les cellules infectées par le virus de la grippe (*Influenza*) grâce à la présence à leur surface de peptides de la nucléoprotéine du virus présentés par

des molécules du CMH de classe I. Ce modèle a depuis été étendu à de nombreux autres systèmes (revue dans [3]), notamment dans le cas de la réponse T_{cl} anti-HIV-1 chez des malades atteints du SIDA, dont une population de T_{cl} reconnaît des peptides de la polyprotéine Gag [9], une protéine interne du virus.

Des peptides provenant de la dégradation de protéines de l'hôte sont présentés. Au contraire des molécules du CMH de classe II, dont l'expression est le privilège des cellules directement impliquées dans la réponse immunitaire (CPA, lymphocytes), les molécules de classe I sont exprimées par la grande majorité des cellules nucléées de l'organisme. A la suite des travaux de Townsend, il était donc naturel de postuler, pour ne pas avoir à invoquer l'existence d'un système immunitaire intracellulaire capable de distinguer les protéines étrangères des protéines de l'hôte, que des peptides de ces dernières devaient nécessairement se trouver présentées en permanence à la surface de toutes les cellules. L'absence d'une réaction d'auto-immunité T_{cl} généralisée nous amenait à proposer que la tolérance d'un hôte à ses propres protéines (le soi) s'exerce au niveau peptidique, par la délétion fonctionnelle des lymphocytes T capables d'en reconnaître les peptides constitutifs : c'est le modèle du « soi peptidique » [10]. En premier lieu, ce modèle permet de donner son véritable sens à la présence de molécules du CMH de classe I à la surface de toutes les cellules. Celles-ci ne sont pas des marqueurs moléculaires de l'individu destinés à empêcher les greffes (qui ne sont pas des processus naturels chez les vertébrés !), mais des intermédiaires essentiels dans l'immunosurveillance permanente, permettant de rendre visible des altérations intracellulaires liées ou non à la présence d'un agent infectieux.

Ce modèle reçut une confirmation directe lorsque la publication de la structure cristallographique de la molécule HLA-A2 [11] montra (comme pour les autres étudiées depuis) que celle-ci cocristallisait avec un mélange hétérogène de peptides d'origine inconnue. La structure si particulière (voir plus loin) de la molécule HLA-A2 démontrait la véritable

fonction de récepteur à peptides des molécules du CMH de classe I et, par homologie, de celles de classe II [12]. D'autres expériences ont depuis confirmé la réalité de la présentation de peptides dérivés des protéines de l'hôte [3, 13, 14].

A côté des peptides dérivés de protéines « banales », la présentation de peptides d'intérêt particulier est prédite : les fragments des molécules du CMH elles-mêmes, qui compliquent l'interprétation des situations allogéniques (*voir plus loin*), et les idiopeptides dérivés des régions variables des immunoglobulines (Ig) ou du TcR. Ces derniers ont été mis en évidence, présentés par les molécules du CMH de classe II des lymphocytes B [15] et peuvent être reconnus par des clones de lymphocytes T [16]. La généralité et l'importance fonctionnelle de la présentation d'idiopeptides dans la régulation (ou la pathologie) de la réponse immune est encore inconnue, mais c'est un domaine prometteur, qui laisse envisager de nouvelles voies thérapeutiques.

Les peptides épitopes T ne partagent pas une propriété aisément reconnaissable. Les mécanismes biochimiques et intracellulaires qui conduisent à la présentation d'un fragment particulier d'une protéine (de l'hôte ou étrangère) sont encore largement inconnus. Il est naturel de diviser le processus de présentation en trois étapes : (a) la dégradation protéolytique de l'antigène natif en un ensemble de fragments ; (b) la sélection d'un (ou plusieurs) fragment par interaction préférentielle (spécifique de l'isotype et de l'haplotype) avec les molécules du CMH exprimées par la CPA ; (c) la reconnaissance par un TcR éventuel du peptide présenté à la surface. Les étapes (a) et (b) ne sont peut-être pas indépendantes, la fixation de la molécule du CMH sur l'antigène dénaturé pouvant limiter la protéolyse autour du peptide épitope T « choisi ». La longueur typique des peptides épitopes T « minimaux » est de 15 résidus, mais peut descendre à 8. Ces chiffres sont compatibles avec une occupation optimale du site pour l'antigène des molécules du CMH. On pouvait espérer que des motifs de séquences ou qu'une composition particulière en acides aminés caractérisent globalement les peptides ayant vocation d'épitope T. En fait, il n'en n'est rien, et la prise en compte d'un nombre croissant de peptides a eu raison des « motifs consensus » initialement proposés par plusieurs auteurs (revue dans [3]). Ce constat, de prime abord décevant, est en fait le résultat de l'évolution du site des molécules du CMH, dont le moteur est la capacité à fixer et à présenter les peptides les plus variés. Il a également été proposé que les épitopes T se caractérisent par une tendance à adopter une conformation hélicoïdale amphipatique [17]. Ce critère, malheureusement encore populaire, ne résiste pas à l'analyse statistique [3]. De plus, la modélisation moléculaire démontre qu'une conformation étendue des peptides conduirait à une interaction bien plus favorable avec le site de la molécule HLA-A2 [18]. Enfin, l'étude directe de la conformation de peptides épitopes T [19], leur localisation fine [20] et la synthèse de séries d'analogues (revue dans [3]) n'indiquent aucune corrélation solide entre la capacité immunogénique d'un peptide et sa tendance à adopter une conformation hélicoïdale.

Des peptides de séquence homologue peuvent se lier à une même molécule du CMH. Il apparaît pour l'instant impossible de repérer *a priori* dans une séquence le fragment doté d'une affinité particulière pour une molécule du CMH d'une classe, d'un isotype et d'un haplotype donnés (par exemple HLA-DR1) ou d'en faire le *design ab initio*. En revanche, la connaissance préalable de la séquence d'un peptide épitope permet la synthèse d'analogues qui seront également dotés de la capacité de se fixer à la même molécule du CMH pourvu que l'on reconnaisse et garde intact l'ensemble des résidus (agrètope) interagissant directement avec le site présentateur [21]. Dans des cas favorables, on peut ainsi manipuler de manière indépendante les résidus formant l'agrètope (conférant la présentation) et ceux formant l'épitope véritable (conférant la reconnaissance par un TcR). Un analogue non immunogène du fragment de la protéine basique de la myéline (MBP) reconnu au cours de l'encéphalite auto-immune expérimentale de la

souris a pu ainsi être utilisé pour entrer en compétition avec la présentation du peptide pathogène et inhiber le développement de la maladie [4, 5].

La capacité de se lier au site d'une molécule du CMH n'est pas une condition suffisante de l'immunogénicité des peptides. Les peptides dont la reconnaissance par des lymphocytes T apparaît fonctionnellement restreinte à une molécule donnée du CMH (isotype et haplotype) doivent à l'évidence être dotés d'une certaine affinité pour le site de cette molécule. Mais l'inverse n'est pas vrai. Un peptide capable de se lier à une molécule du CMH donnée pourra ne pas être immunogène, c'est-à-dire ne pas correspondre à un TcR, dans un hôte exprimant cette molécule du CMH : soit que le TcR correspondant n'existe pas (limitation essentielle du répertoire), soit qu'il ait été éliminé au cours de la « tolérisation » aux protéines de l'hôte (processus qui est dépendant de l'haplotype du CMH). Pour les mêmes raisons, un peptide capable de se fixer à plusieurs molécules du CMH différentes ne sera pas forcément immunogène dans les différents contextes. Notons enfin que, lié à différents sites, ce même peptide pourra *a priori* adopter une orientation et une conformation chaque fois différentes, correspondant à des motifs antigéniques distincts, reconnaissables par des TcR différents.

Le routage des peptides vers des molécules du CMH de classe I ou de classe II obéit à une logique. Les antigènes exogènes sont en général capturés par endocytose dans les CPA. Cette voie conduit à une présentation de leurs peptides par les molécules du CMH de classe II. D'une manière cohérente, les macrophages et les lymphocytes B activés montrent un recyclage actif de leurs molécules du CMH de classe II, qui multiplie les chances de reconnaissance d'un épitope éventuel par les lymphocytes $T_h CD4^+$.

Les antigènes endogènes, par exemple les protéines virales synthétisées au sein d'une cellule infectée, donnent lieu à une présentation de peptides par les molécules du CMH de classe I. Une telle situation conduira donc à une reconnaissance d'éven-

RÉFÉRENCES

13. Buss S, Sette A, Colon SN, Grey HM. Autologous peptides constitutively occupy the antigen binding site on Ia. *Science* 1988 ; 242 : 1045-7.
14. Lorentz RG, Allen PM. Direct evidence for functional self protein/Ia complexes *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 5220-3.
15. Bogen B, Weiss S. B lymphoma cells process and present their endogeneous Ig : implications fort network theory. In : Fossum S, Rotstad B, eds. *Lymphatic Tissues and Germinal Ig Centres in Immune Reaction*. New York : Plenum Press, 1988.
16. Yurin VL, Rudensky AY, Mazel SM, Blechman JM. Immunoglobulin-specific T-B cell interaction. T-cell clones recognize the processed form of B cells own surface immunoglobulin in the context of the MHC class II molecule. *Eur J Immunol* 1989 ; 19 : 1685-91.
17. De Lisi C, Berzofsky J. T-Cell antigenic sites tend to be amphipatic structures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 7048-52.
18. Claverie JM, Prochnicka A, Bougueleret L. Implication of a Fab-like structure for the T-cell receptor. *Immunol Today* 1989 ; 10 : 10-4.
19. Abergel C, Loret E, Claverie JM. Conformational analysis of T immunogenic peptides by circular dichroism spectroscopy. *Eur J Immunol* 1989 ; 19 : 1669-72.
20. Schulz M, Aichele P, Vollenweider M, et al. MHC-dependent T-cell epitopes of LMC virus nucleoprotein and their protective capacity against viral disease. *Eur J Immunol* 1989 ; 19 : 1657-67.
21. Rothbard JB, Lechler RL, Howland K, et al. Structural model of HLA-DR1 restricted T-cell antigen recognition. *Cell* 1988 ; 52 : 515-23.
22. Nuchtern SG, Biddison WE, Klausner RD. Class II MHC molecules can use the endogeneous pathway of antigen presentation. *Nature* 1990 ; 343 : 74-6.
23. Townsend A, Ohlen C, Bastin J, Ljunggren HG, Foster L, Kärre K. Association of class I MHC heavy and light chains induced by viral peptides. *Nature* 1989 ; 340 : 443-8.
24. Claverie JM, Kourilsky P. The peptidic self model : a reassessment of the role of the MHC molecules in the restriction of the T-cell response. *Ann Institut Pasteur/Immunol* 1986 ; 137D : 425-42.

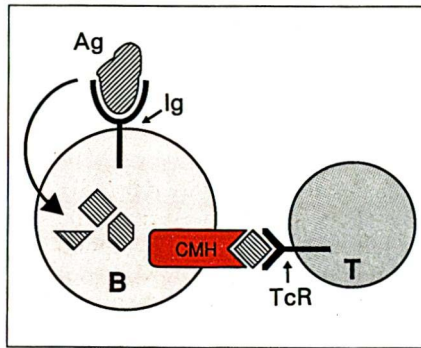


Figure 1. **Collaboration T-B par l'intermédiaire d'un pont peptidique.** Le peptide (épitope T) présenté dépend de la molécule du CMH exprimée par le lymphocyte B et n'a pas de lien structural avec les épitopes de surface reconnus par l'Ig. En particulier, un même peptide peut servir à la collaboration avec des lymphocytes B reconnaissant des motifs différents sur l'antigène natif. TcR = récepteur T ; Ig = molécule d'anticorps de membrane ; Ag = antigène.

tuels épitopes par les $T_{cl}CD8^+$. Il semble également que les protéines endogènes destinées à l'exportation vers la surface cellulaire ou à la sécrétion donnent lieu à une présentation de peptides par l'intermédiaire des molécules du CMH de classe II (quand celles-ci sont exprimées). C'est notamment le cas pour les idiopesptides Ig déjà évoqués [16, 17]. Il existe néanmoins des contre-exemples de protéines endogènes non membranaires conduisant à une présentation de peptides par les deux classes de molécules du CMH [22].

Des résultats récents du groupe de Townsend semblent indiquer que le « chargement » des molécules du CMH de classe I néoformées avec un peptide soit une étape nécessaire à leur association avec la β -2 microglobuline et à leur expression à la surface cellulaire [23]. Cette découverte est à rapprocher de la difficulté de charger *in vitro* des peptides, sur la molécule HLA-A2 purifiée, et des expériences démontrant que seul un faible pourcentage des molécules du CMH (de classe II) de surface apparaît disponible pour interagir avec des peptides exogènes*.

Les peptides épitopes T apparaissent formés de motifs de séquence rares. Nous l'avons noté, un peptide

présenté dans le site d'une molécule du CMH donnée ne devient immunogène que s'il trouve en face de lui un lymphocyte porteur du TcR « complémentaire ». Dans le contexte du modèle du « soi peptidique », la « tolérisation » aux protéines de l'hôte est obtenue, entre autres, par la délétion fonctionnelle dans le thymus des lymphocytes exprimant un TcR anti-peptide du soi**. Selon ce postulat, il sera donc raisonnable de rechercher les épitopes T d'un antigène dans des régions où sa séquence ne ressemble à aucune protéine de l'hôte. En utilisant les banques de données de séquences disponibles (pour l'homme et la souris) et un algorithme permettant d'apprécier quantitativement le degré d'« étrangeté » d'une séquence par rapport à celles d'une collection des protéines d'un hôte donné, des peptides potentiellement immunogènes peuvent ainsi être localisés dans un antigène. Cette méthode, d'abord validée statistiquement, a été appliquée au cas de la polyprotéine Gag du virus HIV-1, dans laquelle elle a permis de mettre pour la première fois en évidence quatre épitopes de la réponse T_{cl} chez des malades atteints de SIDA [9]. Cette méthode souffre de ne se fonder que sur une banque de données pour l'instant très incomplète, représentant moins de 10 % de toutes les protéines humaines. De plus, elle ne peut être qu'imparfaite puisqu'elle ne prend pas en compte, faute de savoir comment, la « présentabilité » différentielle des candidats épitopes par les molécules du CMH d'un isotype ou d'un haplotype donné (les épitopes prédits peuvent ne pas être « présentables »).

Rôle et conséquence du polymorphisme du CMH

La restriction du CMH est une restriction de la présentation. Dès 1986, nous avons réinterprété le rôle du polymorphisme des molécules du CMH dans le phénomène de la reconnaissance restreinte de l'antigène par les lymphocytes T [24]. Le

* Voir *m/s* n° 8, vol. 5, p. 604.

** Voir *m/s* suppl. au n° 1, vol. 5, p. 25 et n° 10, vol. 5, p. 788.

modèle standard regardait alors les molécules du CMH comme des antigènes polymorphes nécessairement co-reconnus avec l'antigène présenté. En rupture avec cette conception, nous avons proposé que le polymorphisme des molécules du CMH (élevées du simple rang d'antigènes d'histocompatibilité à celui de véritables récepteurs à peptides) ait pour conséquence directe la sélection, parmi l'ensemble des fragments dérivables de l'antigène natif, des peptides effectivement présentés à la surface des CPA. Le phénomène de la restriction du CMH traduit avant tout la présentation de fragments différents de l'antigène par les molécules des divers haplotypes du CMH. Dans l'énoncé le plus extrême de ce modèle, le TcR (qu'il appartienne à un T_h , un T_{cl} ou autre) ne reconnaît que le peptide présenté, et aucun des résidus spécifiques de l'haplotype (les résidus polymorphes) du CMH (figure 1). la structure de la molécule HLA-A2 confirme cette conception. En effet, les positions polymorphes des molécules du CMH de classe I correspondent d'une manière quasi parfaite aux résidus pointant vers l'intérieur du site, et donc en position pour former les contacts avec un peptide épitope (figure 2). La règle classique de l'immunologie moléculaire s'applique encore ici : les régions de plus grande variabilité du récepteur dénotent les positions des acides aminés en contact avec l'anti-

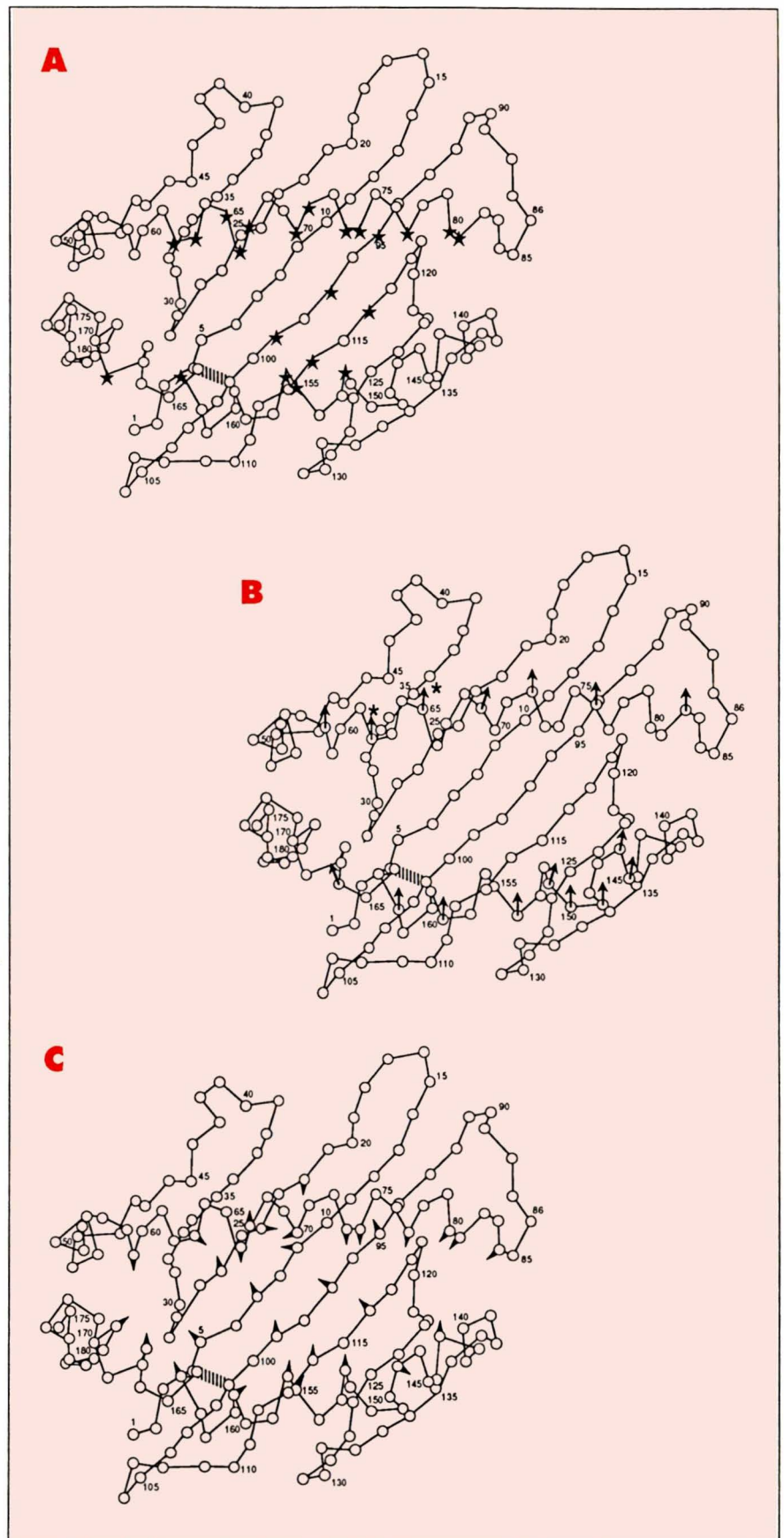


Figure 2. **Site de fixation des peptides de la molécule HLA-A2 (domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$).** **A** : les positions polymorphes sont indiquées par des étoiles ; **B** : les résidus pointant vers le haut et susceptibles d'interagir avec le TcR sont notés par des flèches ; **C** : les résidus pointant vers l'intérieur du site et susceptibles d'interagir avec un peptide sont indiqués par des flèches. La corrélation entre A et C (et non B) est presque parfaite.

RÉFÉRENCES

25. Prochnicka A, Casanova JL, Kourilsky P, Claverie JM. Extensive structural homology between H-2 K/D/L antigens and non-polymorphic class I Qa, Tla and 37 molecules suggests they may act as peptide carriers. *Res Immunol* 1989 ; 140 : 133-44.
26. Vidovic D, Roglic M, McKune K, Guerder S, MacKay C, Dembic Z. Qa-1 restricted recognition of foreign antigen by a $\gamma\delta$ T-cell hybridoma. *Nature* 1989 ; 340 : 646-8.
27. Matzinger P, Zamojska R, Waldmann H. Self tolerance is H-2 restricted. *Nature* 1984 ; 308 : 738-41.
28. Wallny HJ, Rammensee HG. Identification of classical minor histocompatibility antigen as cell-derived peptide. *Nature* 1990 ; 343 : 275-8.
29. Kowalsky M, Ardman B, Basiripour L, et al. Antibodies to CD4 in individuals infected with human immunodeficiency virus type 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 3346-50.
30. Lanzavecchia A. Antigen-specific interaction between T and B cells. *Nature* 1985 ; 314 : 537-9.
31. Todd JA, Acha-Orbea H, Bell JL, et al. A molecular basis for MHC class II-associated autoimmunity. *Science* 1988 ; 240 : 1003-9.
32. Acha-Orbea H, Mitchell DJ, Timmerman L, et al. Limited heterogeneity of T-cell receptors from lymphocytes mediating auto-immune encephalomyelitis allows specific immune intervention. *Cell* 1988 ; 54 : 263-73.
33. Vandenbark AA, Hashin G, Offner H. Immunization with a synthetic T-cell receptor V-region peptide protects against experimental auto-immune encephalomyelitis. *Nature* 1989 ; 341 : 541-4.
34. Kourilsky P, Claverie JM, Prochnicka A, Spetz-Hagberg AL, Larsson-Sciard EL. How important is the direct recognition of polymorphic MHC residues by TcR in the generation of the T-cell repertoire ? Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Cold Spring Harbor, 1989, 54.
35. Oldstone MB. Molecular mimicry and auto-immune disease. *Cell* 1987 ; 50 : 819-20.
36. Marrack P, Lo D, Brinster R, et al. The effect of thymus environment on T cell development and tolerance. *Cell* 1988 ; 53 : 627-34.

gène. Dans le cas des molécules du CMH, cette variabilité s'exprime au niveau de l'espèce, sous la forme de nombreux haplotypes distribués dans la population.

Les résidus spécifiques de l'haplotype du CMH sont pour la plupart inaccessibles au TcR. La structure cristallographique de la molécule HLA-A2 permet de localiser les résidus dont les chaînes latérales pointent « vers le haut », à la rencontre du TcR. Seules deux de ces positions correspondent à des résidus hautement variables. D'autres arguments suggèrent également que la reconnaissance directe par le TcR des résidus polymorphes du CMH est un phénomène marginal. Le plus fort est que le même *pool* de gènes α/β est utilisé pour reconnaître des peptides présentés par les différentes classes, les différents isotypes et les nombreux haplotypes de molécules du CMH. L'homologie de structure primaire entre les chaînes légères et lourdes des Ig (fragment Fab) et les chaînes α et β d'un TcR, a permis d'en proposer un modèle de structure 3D [18]. L'analyse de cette structure en regard de celle du site de la molécule HLA-A2 suggère fortement que seules les régions des chaînes α et β codées par la jonction V-D-J (3^e boucle hypervariable CDR3 des Ig), participeraient à l'interaction avec le peptide, les autres régions, beaucoup moins variables (homologues aux boucles CDR1 et CDR2 des Ig), entrant en contact avec les résidus pointant vers le haut (eux-mêmes conservés) de part et d'autre du site de la molécule du CMH (figure 3). En règle générale, le TcR pourrait donc ne pas reconnaître les résidus variants d'un haplotype à l'autre des molécules du CMH.

La reconnaissance de l'antigène, bien que dépendant du CMH, peut être plus ou moins « restreinte ». Notre compréhension nouvelle de la reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T et de la nature moléculaire de cet antigène doit nous amener à approfondir le concept vague de « restriction du CMH ». Prenons comme postulat de base que dans le cas du TcR α/β , l'antigène reconnu est toujours un peptide fixé dans le site d'une molécule du CMH. La reconnaissance de l'anti-

gène sera alors dite « dépendante du CMH ». Si le peptide reconnu a la capacité de se fixer (dans une conformation similaire) à des molécules du CMH de différents haplotypes, sa reconnaissance apparaîtra comme peu ou pas restreinte. Nous préférons parler d'une reconnaissance « indépendante de l'haplotype ». Ce cas peut se produire si le peptide utilise comme point d'ancrage des résidus peu polymorphes du site de la molécule du CMH. Alternativement, le peptide peut être présenté par (fixé sur) une des molécules non polymorphes du CMH, produits des gènes *Qa-Tla*. L'homologie de structure entre ces molécules et les produits des gènes polymorphes classiques nous a permis de suggérer qu'elles pouvaient aussi présenter des peptides [25]. Cette prédiction a été récemment confirmée : un hybridome exprimant un TcR γ/δ reconnaît son antigène présenté par la molécule Qa-1 [26].

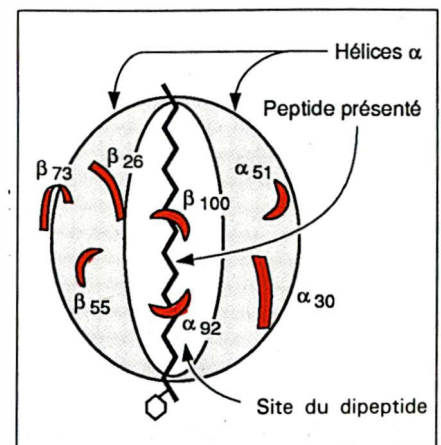


Figure 3. Contacts entre le TcR et la molécule CMH présentatrice. La représentation schématique indique la position des deux hélices α bordant le site et celle d'un peptide épitope présenté. Les différentes régions des chaînes α et β du TcR susceptibles d'interagir avec ce complexe (en rouge) sont indiquées par le numéro du résidu central.

Symétriquement, un TcR donné peut être plus ou moins sensible, selon les résidus précis avec lesquels il interagit, au changement de conformation d'un même peptide fixé à des molécules du CMH d'haplotype différent. La reconnaissance de l'antigène apparaîtra de nouveau comme plus ou moins dépendante de l'haplotype du CMH.

L'interprétation peptidique de la réponse allogénique

Le CMH est un point de vue sur le *soi*. Nous l'avons vu, les protéines de l'hôte synthétisées à l'intérieur des cellules sont présentées à leur surface sous forme de peptides fixés au site des molécules du CMH de classe I. Du fait du renouvellement cellulaire et du rôle de fossoyeur des macrophages, la plupart de ces protéines seront aussi présentées sous la forme de peptides (en général différents) par l'entremise des molécules du CMH de classe II. Comme dans le cas des antigènes exogènes, seul un sous-ensemble particulier de tous les fragments disponibles sera sélectionné par les molécules CMH d'un haplotype donné : la vision que chacun a de son propre *soi* est dépendante de l'haplotype des molécules du CMH qu'il exprime. Si, dans le thymus, les lymphocytes T autoréactifs sont éliminés, la tolérance au *soi* sera naturellement restreinte à l'haplotype du CMH qu'il exprime. Notons, en passant, que cette propriété (démontrée par Matzinger *et al.* [27]) découle de la restriction de présentation des peptides de l'hôte et n'implique pas la reconnaissance de l'haplotype du CMH par le TcR. Pour bien comprendre ce concept clé, imaginons deux individus aux protéines toutes identiques. Ces individus seront tolérants l'un à l'autre, aucun TcR rescapé de la sélection thymique de l'un ne pouvant reconnaître un motif peptidique original à la surface des cellules de l'autre. Introduisons maintenant, chez l'un de ces jumeaux parfaits, une mutation au fond du site de l'une des molécules du CMH de classe I, dans une position inaccessible à tout TcR. Nous pouvons alors parier que ces deux individus ne seront plus tolérants l'un à

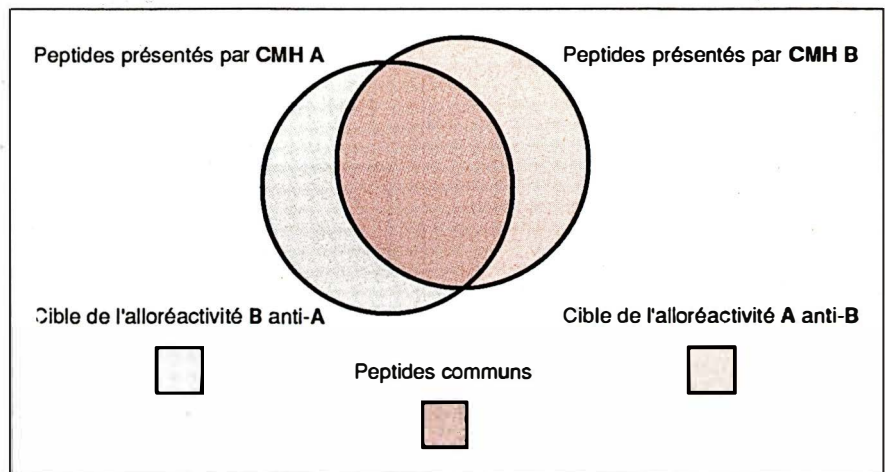


Figure 4. Principe de l'alloréactivité.

l'autre. En effet, à partir des mêmes protéines, ces individus ne vont plus sélectionner le même sous-ensemble de peptides présentés. Certains peptides vont disparaître et être remplacés par d'autres (en plus du peptide variant du CMH qui peut lui-même être présenté), ou encore être présentés dans une nouvelle conformation. Des lymphocytes T autoréactifs (et éliminés) dans le contexte du CMH initial ne le seront plus dans le contexte du CMH variant (et réciproquement). Ils seront donc à même d'initier une réponse « alloréactive ». Soulignons encore une fois que cette réponse alloréactive n'a pas les résidus variants du CMH comme véritable cible (figure 4).

On voit que le rôle du CMH dans la définition du *soi* immunologique de l'individu, et son corollaire le rejet des greffes, n'est finalement que la conséquence de son incapacité à présenter n'importe quel peptide dans n'importe quelle conformation. Le CMH n'est pas un marqueur du *soi*, il est un point de vue sur le paysage peptidique du *soi*.

L'alloréactivité passe par la reconnaissance de peptides. Dans le cadre d'un modèle peptidique, la réponse alloréactive est dirigée contre la multiplicité des déterminants constitués par les sous-ensembles différents de peptides du *soi* présentés par les molécules du CMH de différents haplotypes (alloréactivité de type 1). Cette situation explique simplement la très haute fréquence des clones alloréactifs. Elle peut être aussi dirigée, dans un cas particulier, contre

un peptide de la molécule du CMH allogénique, lui-même présenté par une molécule du CMH (alloréactivité de type 2). Il existe de nombreuses expériences en faveur de l'existence de ces deux types d'alloréactivité (revue dans [3]). En revanche, aucune expérience ne permet d'affirmer qu'une réponse alloréactive soit la conséquence de la reconnaissance directe par un TcR d'une molécule du CMH sous sa forme native et « vide » de peptide.

Les antigènes mineurs d'histocompatibilité sont des peptides de protéines cellulaires polymorphes. Des antigènes d'histocompatibilité dits « mineurs » participent au rejet des greffes entre individus exprimant le même haplotype du CMH. Des systèmes classiques d'histocompatibilité mineure ont ainsi été définis entre différentes lignées pures de souris. Notre réinterprétation du rôle des molécules CMH de classe I nous a conduit à prédire que ces antigènes mineurs devaient être des peptides polymorphes constitutifs de protéines cellulaires [24]. Récemment, Wallny et Rammensee [28] ont démontré que des clones de lymphocytes T_{cl} obtenus lors d'immunisation de souris C57BL/6 avec des cellules de souris BALB.B (toutes deux H-2^b) reconnaissent de courts peptides (moins de 15 résidus) présentés par les molécules du CMH de classe I H-2 K^b. La nature moléculaire des antigènes mineurs d'histocompatibilité est donc enfin cernée après plusieurs dizaines d'années de quête infructueuse. Du même coup, les

molécules du CMH de classe I affirment leur rôle central dans l'immunosurveillance des protéines cellulaires aberrantes [24].

Auto-immunité

Auto-immunité et modèle peptidique. Théoriquement, nous pouvons classer les phénomènes d'auto-immunité en deux classes : ceux qui ne nécessitent pas la mise en jeu de lymphocytes T autoréactifs (auto-immunité de type B), et les autres (auto-immunité de type T). L'explication de la première classe de phénomènes ne nécessite aucune gymnastique particulière. En revanche, il est plus difficile de rationaliser l'apparition de lymphocytes T autoréactifs en s'interdisant la facilité d'invoquer quelques vagues dérèglements dans le processus de la « tolérisation thymique », ou des phénomènes « contrasuppressifs ».

Auto-immunité de type B : une affaire de collaboration croisée. Tentons par exemple de rationaliser le fait qu'une fraction appréciable des malades atteints du SIDA développe des anticorps contre la molécule CD4 [29], dont on connaît le rôle en tant que récepteur du virus. Une hypothèse séduisante tire parti de trois faits bien documentés : (a) les lymphocytes B sont de bonnes CPA pour l'antigène dont elles sont spécifiques [30] ; (b) le complexe CD4/env_{HIV} est stable ; (c) des lymphocytes B autoréactifs sont produits en permanence, mais restent quiescents faute d'une collaboration avec un lymphocyte T adéquat. Dans la situation normale, des lymphocytes B et T anti-env sont produits (mais pas activés), ainsi que des lymphocytes B anti-CD4 qui ne tardent également pas à disparaître. En cas d'infection par HIV, des lymphocytes B et T sont spécifiquement activés, et collaborent par l'intermédiaire d'un peptide env à la production d'Ig anti-env. C'est la partie normale de la réponse. Dans le même temps, des particules virales (ou la protéine env seule) complexées avec la molécule CD4 apparaissent. Celles-ci peuvent être captées par des lymphocytes B anti-CD4, qui présenteront à leur surface des peptides dérivés de CD4 (sans

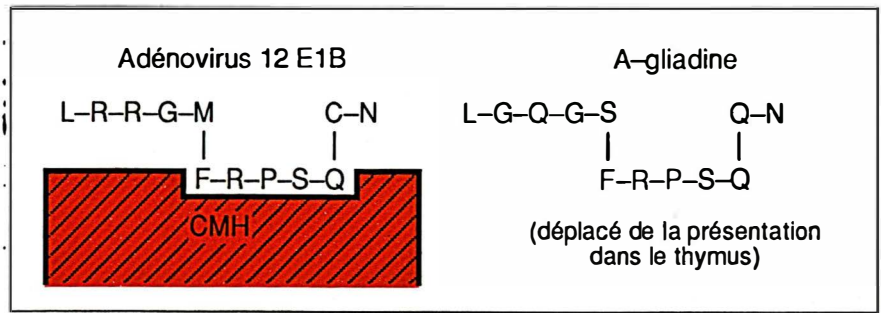


Figure 5. **Rôle hypothétique du mimétisme moléculaire dans l'auto-immunité.** Un peptide dérivé d'un agent pathogène interfère avec la « tolérisation » envers un peptide d'une protéine de l'hôte en entrant en compétition avec sa présentation dans le thymus (séquences citées dans [35]). Les acides aminés sont notés par leur code à une lettre.

conséquence) mais aussi des peptides env pour lesquels une population de lymphocytes T activés existe. Les clones de lymphocytes B anti-CD4 vont maintenant pouvoir proliférer en conséquence de cette collaboration croisée. On le voit, cette hypothèse ne nécessite pas d'invoquer l'existence de lymphocytes T autoréactifs. Elle fournit un modèle général pour l'apparition éventuelle d'auto-anticorps au cours d'une infection.

Auto-immunité de type T par dérégulation de l'expression du CMH de classe II. L'expression des molécules de CMH de classe II est le privilège des lymphocytes et des CPA professionnelles. Sous l'effet d'une mutation somatique ou d'une trop grande concentration locale d'interleukine, une cellule banale peut se mettre à exprimer cette classe interdite de molécules du CMH. Si le processus de « tolérisation » dans le thymus a été efficace (et nous en faisons le pari), ce phénomène n'aura en général aucune conséquence. Mais deux cas peuvent conduire à une situation d'auto-immunité grave : (a) si la cellule frappée par ce dérèglement est chargée, par ailleurs, d'une fonction sécrétoire ; le second, (b) si elle exprime une classe particulière de récepteur membranaire. En effet, la logique du routage de la présentation par les molécules du CMH de classe II (voir plus haut), risque d'amener, à la surface cellulaire, une nouvelle famille de peptides issus soit de l'hormone (ou d'un précurseur) soit du récepteur dont certains n'ont jamais été présentés auparavant. En toute bonne foi, ces peptides sont alors reconnus comme « étrangers » et peu-

vent devenir la cible d'une réponse pathologique (auto-immunité $T_h + B$). Un tel mécanisme peut être évoqué à propos de toutes les maladies auto-immunes dirigées contre un tissu sécrétoire (ainsi le rôle de la thyroglobuline dans la thyroïdite de Hashimoto), qui constituent un sous-ensemble important des syndromes spécifiques d'organes. Un argument souvent opposé à cette hypothèse simple est que les molécules du CMH de classe II sont souvent indétectables (par des anticorps) sur les tissus cibles dans la phase précoce de la maladie, leur expression serait donc une conséquence plutôt qu'une cause de la pathologie. Mais il est également possible qu'un niveau d'expression extrêmement bas des molécules du CMH de la classe II suffise à la reconnaissance des nouveaux peptides par les lymphocytes T tout en restant indétectable par les méthodes usuelles. Comme il est d'usage, la présentation de chacun des peptides de l'hôte susceptibles de devenir des épitopes « pathologiques » reste sous l'influence de l'haplotype des molécules du CMH dont l'expression est dérégulée. Si le nombre de ces peptides est petit, le déclenchement de la maladie apparaîtra fortement corrélé à certains types HLA et, dans les cas les plus spectaculaires, à la présence d'un motif de séquence particulier dans le site même de la molécule du CMH [31]. Insistons sur le fait que ces motifs de séquences ne représentent pas le déterminant antigénique, mais qu'ils ont pour conséquence indirecte de permettre la présentation d'un peptide pathologique. L'analyse fine de la

séquence des molécules du CMH conférant la susceptibilité ou la résistance aux maladies auto-immunes ne présente donc pas un intérêt thérapeutique majeur. En revanche, l'isolement du ou des peptides pathologiques véritablement reconnus par les lymphocytes T autoréactifs peut déboucher sur une thérapeutique peptidique fondée sur la mise en œuvre d'une compétition de présentation entre celle du peptide pathologique et celle d'un analogue non immunogène. La faisabilité d'une telle compétition agrétopique vient d'être démontrée dans le cas de l'encéphalite auto-immune expérimentale de la souris [4, 5]. Symétriquement, une thérapie fondée sur la destruction spécifique (à l'aide d'anticorps anti-idiotypique T) des lymphocytes T autoréactifs spécifiques du (ou des) peptides pathologiques est également réalisable [32, 33] mais n'est applicable que dans le cas d'une réponse auto-immune quasiment monoclonale.

Théorie pour une auto-immunité T d'origine thymique : un rôle pour le mimétisme moléculaire. Un certain nombre d'affections auto-immunes n'ont pas pour cible des tissus sécrétoires. D'autres n'apparaissent pas corrélées à l'expression de certains haplotypes des molécules du CMH de classe II. Leur déclenchement est donc difficile à rattacher au mécanisme que nous venons de décrire. Le peu que nous savons du processus de « tolérisation » des lymphocytes T autoréactifs dans le thymus nous permet néanmoins d'imaginer un mécanisme central capable d'engendrer une auto-immunité de type T.

Un nombre croissant de résultats expérimentaux semble indiquer que la délétion des lymphocytes T autoréactifs est un processus en deux temps*. Lors de leur première rencontre avec l'auto-antigène (un peptide de l'hôte présenté par une molécule CMH de classe I ou II), ces lymphocytes sont tout d'abord activés au contact de l'épithélium thymique (dans la région corticale). Mais si ce lymphocyte activé rencontre une nouvelle fois son antigène sur son

chemin vers la périphérie, lorsqu'il pénètre dans la zone médullaire où les peptides sont présentés par des macrophages ou des cellules dendritiques, il est éliminé. La notion d'activation initiale suivie d'une deuxième étape d'élimination éventuelle est centrale à toutes les théories voulant rendre compte du phénomène d'éducation thymique (revue dans [34]). Ce mécanisme en deux temps offre cependant l'opportunité d'un raté qui conduira à une auto-immunité essentielle : non seulement le clone autoréactif échappera à l'élimination, mais il rejoindra la périphérie dans un état activé. Ce raté peut être causé par l'irruption dans le système d'un peptide véritablement étranger (d'origine bactérienne ou virale) qui possède la propriété d'entrer en compétition avec un peptide de l'hôte normalement présenté dans le thymus par les macrophages ou les cellules dendritiques. Les lymphocytes autoréactifs capables de reconnaître ce peptide du *soi* (sur des molécules du CMH de classe I ou II) pourront alors échapper à la deuxième interaction éliminatoire qui aurait normalement dû suivre leur activation initiale. Pour soutenir cette théorie d'une auto-immunité d'origine centrale, nous pouvons remarquer que les macrophages sont en effet des cellules immigrantes qui ont tout le loisir de « ramasser » un parasite sur leur chemin de la moelle osseuse au thymus. De plus, nous savons que la notion de compétition agrétopique a une réalité puisqu'elle peut être mise en œuvre *in vivo* [4, 5].

Cette théorie d'une auto-immunité d'origine centrale prédit : (a) que les peptides de l'hôte qui deviennent la cible de certaines réactions auto-immunes pourront présenter des similarités de séquence avec des protéines constitutives d'agents infectieux courants ; (b) que les similarités observées définissent l'agrétope, c'est-à-dire les acides aminés impliqués dans l'interaction avec le site de la molécule du CMH présentatrice. Cette dernière proposition est directement testable : des peptides analogues conservant ce motif (par exemple FRPSQ dans le cas décrit dans la figure 5) doivent avoir la capacité de se lier à la même molécule du

CMH. Au plan thérapeutique, un excès de tels peptides pourrait servir à enrayer la maladie. Le mimétisme moléculaire (similarité de séquence) entre agents infectieux et protéine de l'hôte a déjà été remarqué dans le contexte de plusieurs maladies auto-immunes comme la spondylarthrite ankylosante ou le syndrome de Reiter [35]. Je propose que son rôle s'exerce au niveau de la compétition pour la présentation de deux peptides, et non au niveau de leur reconnaissance croisée par un TcR.

Tolérance centrale, tolérance périphérique. Le nouveau paradigme peptidique de l'immunologie cellulaire confère au thymus un rôle encore plus essentiel que par le passé. Simultanément, son étonnante complexité fonctionnelle nous est révélée progressivement [36] : responsable de l'établissement central de la tolérance par un double contrôle positif et négatif du répertoire T, son droit à l'erreur apparaît trop limité. On a alors coutume, pour atténuer cette difficulté, d'invoquer la nécessité d'une tolérance périphérique d'origine suppressive**. Si ses manifestations expérimentales ponctuelles ne manquent pas, son importance relative dans le processus global de la tolérance au *soi* reste à évaluer. En fait, le débat sur la valeur du « pourcentage » de tolérance centrale ou périphérique est à l'heure actuelle aussi irrationnel que celui sur la proportion du culturel et du génétique dans le quotient intellectuel ! Bien sûr, la tolérance périphérique paraît devoir nécessairement exister du fait qu'une partie des antigènes marqueurs tardifs de différenciation cellulaire (ou sexuels) se sont pas détectés dans le thymus. Mais que sait-on véritablement de l'étendue du répertoire des peptides exprimés dans cet organe, et du seuil de concentration nécessaire à l'induction de la tolérance ? En dehors même de toute intervention du thymus, un phénomène de tolérance « basse zone » à ces antigènes tardifs apparaissant progressivement ne peut-il pas suffire à expliquer l'anergie des lymphocytes T auto-réactifs ? Ou ne peut-il s'agir d'un phénomène de tolérance croisée entre antigènes tardifs et antigènes précoces dû à une similarité de structure primaire ? On pourrait aussi

* Voir *m/s suppl.* au n° 1, vol. 5, p. 25 et n° 10, vol. 5, p. 788.

** Voir *m/s* n° 2, vol. 6, p. 164.

faire l'hypothèse que la structure des antigènes tardifs a évolué de façon à rendre leur présentation par les molécules du CMH la plus inefficace possible. Enfin, aucun processus biologique n'est exempt de « bruit », de la réplication du matériel génétique à l'épissage des ARN jusqu'à leur traduction : ne peut-on pas imaginer qu'une tolérance imparfaite aux protéines du soi, et en particulier aux antigènes tardifs, puisse être sans conséquence pathologique pendant une fraction appréciable de la vie des individus ?

Parce que la mise au point de nouvelles immunothérapeutiques passe, entre autre, par la réponse à ces questions, nul doute qu'elles seront l'objet d'une recherche intense dans la décennie qui s'ouvre devant nous ■

Remerciements

La plupart des idées discutées ici sont le fruit de ma collaboration constante avec Philippe Kourilsky. Je remercie également Lydie Bougueleret et les éditeurs « anonymes » de *médecine/sciences* dont les critiques ont contribué à l'amélioration de ce texte.

FLASH

Nicole Le Douarin, associée à Gottfried Schatz et à Harald von Boehmer, lauréate du 5^e prix Louis Jeantet de médecine.

Nicole Le Douarin dont les travaux sont maintenant bien connus des lecteurs de médecine/sciences, associée à deux spécialistes des organites intracellulaires vient de se voir décerner le 5^e prix Louis Jeantet. Ce prix, de 2,1 millions de francs suisses, fondé par un riche industriel genevois, couronne tous les ans des chercheurs européens dont les travaux ont fait progresser la médecine et la biologie. Les années précédentes, on relève notamment parmi les lauréats les noms de Dominique Stehelin et de Luc Montagnier.

Summary

Immunology 1989 : the peptidic revolution

1985-1989 can be considered as a truly revolutionary period for cellular immunology. Within this short time-span, a new « peptidic » paradigm emerged from the works of many groups. According to the new standard model, the MHC molecules of both classes are seen as polymorphic receptors of selected peptides which constitute the bona-fide antigens for T lymphocytes. The peptidic point of view dramatically changed our understanding of MHC restriction, of the role of MHC in tolerance to self and graft rejection, of the phenomenon of alloreactivity, and of the interaction of T cells with target of B-cells. A complex phenomenology can now be derived from a set of first principles, conferring a high pedagogical value to this modern view of cellular immunology. Furthermore, the new standard model provides for the first time a rational ground for the understanding of some auto-immune diseases, and possible strategies for the development of highly specific immunotherapeutics. In particular, I propose a new explanation of the role of molecular mimicry in the onset of some auto-immune diseases. According to this hypothesis, a competition for MHC presentation in the thymus occurs between the self-antigen and a structurally related foreign antigen thus interfering with the normal tolerization process of cognate T-cells. The sequence similarity between the self and foreign antigens would not define a shared T epitope but a common agretope for a given MHC molecule.

TIRÉS À PART

J.M.Claverie