

Gènes et molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité

Introduction

I. Généralités

- a) Rappels d'immunologie
- b) Historique du CMH
- c) Notion d'histocompatibilité

II. Les gènes du CMH

- a) L'organisation génomique du CMH
- b) Les caractéristiques du système HLA

III- Structure et fonction des molécules du CMH

- a) Différences de structure HLA I et HLA II
- b) Variabilité des molécules HLA

IV- Apprêtement et présentation des peptides antigéniques

- a) Conséquences du polymorphisme HLA pour la fixation du peptide antigénique
- b) Interaction entre le TCR et la molécule HLA
- c) L'apprêtement des antigènes

V. Fonctions du CMH

- a) La sélection thymique
- b) Immuno-surveillance par les cellules Natural Killers

VI. Immunologie des greffes

- a) Définitions
- b) La greffe de moelle

VII. Association HLA/maladies

VIII. Le typage HLA

Conclusion

I- Généralités

A) Rappels d'immunologie

L'immunité est définie comme la résistance aux maladies, le système immunitaire étant constitué de l'ensemble des cellules, tissus et molécules qui opposent une résistance aux infections. Les mécanismes de défense de l'hôte se composent d'une immunité naturelle, responsable de la protection initiale contre les infections, et de l'immunité adaptative, qui se développe plus lentement et met en place une défense tardive et beaucoup plus efficace contre les infections.

Immunité innée	Immunité adaptative
Immédiate	Tardive
Native	Acquise
Non spécifique	Spécifique
Assurée par les barrières épithéliales, cellules NK, phagocyte, complément	Assurée par les lymphocytes et leurs produits
	Douée de mémoire

L'immunité adaptative se met en place par un contact étroit entre les lymphocytes T et les antigènes, permettant une reconnaissance spécifique du pathogène. Cette présentation du peptide antigénique aux lymphocytes se fait grâce au complexe majeur d'histocompatibilité, regroupant des molécules présentes à la surface de toutes les cellules présentatrices d'antigène (CPA).

Rq : CMH est le terme générique pour le désigner, mais chez l'homme on parlera du système HLA (Human Leukocyte Antigen), et chez la souris du système H2. Dans la suite du cours, on parlera indifféremment de CMH et d'HLA pour désigner le système humain.

B) Historique du CMH

Le système HLA a été découvert en 1958 par Jean Dausset, suite à des travaux sur la transfusion et les globules rouges : ceux-ci portent à leur surface des antigènes (système ABO) importants pour la compatibilité entre transfusés. Suite à une erreur de manipulation, le sérum d'un sujet polytransfusé a été mis en présence des globules blancs d'un autre sujet, ce qui a provoqué une leuco-agglutination. Le sérum du sujet polytransfusé devait donc contenir des anticorps spécifiques reconnaissant des antigènes à la surface des globules blancs, et entraînant leur agglutination.

C'est le système HLA.

C) Notion d'histocompatibilité

- **Complexe** : il y a plus de 200 gènes chez l'homme codant pour des produits très divers et qui sont tous localisés au niveau du chromosome 6. Il s'agit du système le plus polymorphe qui existe (plus de 1000 allèles HLA différents répartis sur plusieurs loci) et de la région du génome qui a été le plus rapidement séquencée.
- **Majeur** : les produits sont à l'origine de différences allogéniques importantes, c'est-à-dire de différences importantes entre individus de la même espèce.
- **Histocompatibilité** : le système HLA joue un rôle très important dans la physiopathologie du rejet de la greffe entre sujets incompatibles. Les principales séquences des molécules du CMH permettent d'observer la compatibilité tissulaire entre donneur potentiel et receveur.

Les molécules HLA sont réparties en deux classes :

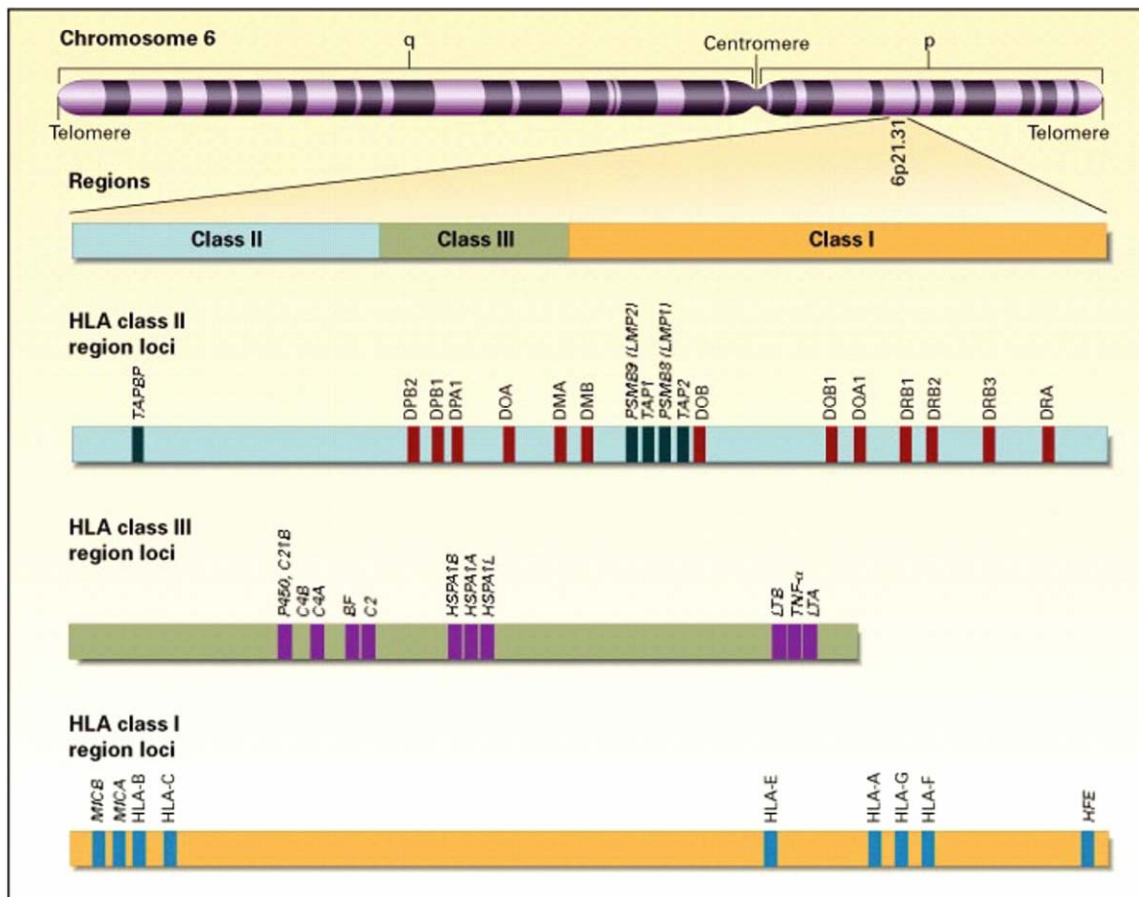
- **les molécules HLA de classe I**, d'expression ubiquitaire, c'est-à-dire présentes sur toutes les cellules nucléées (sauf au niveau des cellules de la cornée et de certaines cellules gonadiques) et reconnues par les lymphocytes T CD8 (cytotoxiques). Elles sont composées d'une chaîne invariante, la β -2-globuline, codée par le chromosome 5, et d'une chaîne lourde de trois domaines α_1 , α_2 , α_3 , codée par les gènes A, B et C du chromosome 6.
- **les molécules HLA de classe II** ont une distribution plus restreinte : exprimées uniquement à la surface des CPA (monocytes, macrophages, lymphocytes B et cellules dendritiques +/- lymphocytes T activés) et reconnues par les lymphocytes T CD4 (auxiliaires). Elles sont composées 2 chaînes transmembranaires α et β codées par les gènes DP, DQ et DR du chromosome 6.

II- Les gènes du CMH

A) L'organisation génomique du CMH

Les gènes HLA sont présents sur le bras court du chromosome 6, qui se décline en trois régions :

- Classe 1 : les gènes de classe 1 codent pour les chaînes α des molécules du CMH 1. Ils sont situés dans la région la plus télomérique et sont au nombre de 3 : gènes **HLA A, HLA B et HLA C**.
- Classe 2 : les gènes de classe 2 sont dans une région plus centromérique (où se trouvent d'autres gènes ayant aussi un rôle dans la présentation antigénique) et sont au nombre de 3 : **DQ, DR et DP** (équivalents chez la souris des loci Ia et Ib du gène H2 du chromosome 7). Les molécules HLA 2 étant constituées de 2 chaînes transmembranaires α et β , on trouve deux gènes différents pour les coder ; ainsi, pour tout locus (DR, DQ, DP), il existe 2 gènes, un gène codant α et un gène codant β . Exemple : au locus DR, on a un gène DR-A (codant pour les chaînes α) et un gène DR-B (codant pour les chaînes β). Ainsi, on a 4 chaînes $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1,$ et β_2 codées respectivement par les gènes DR-A1, DR-A2, DR-B1 et DR-B2. De même, on trouve pour les molécules HLA-DQ quatre gènes DQ-A1, DQ-A2, DQ-B1 et DQ-B2, et pour les molécules HLA-DP quatre gènes DP-A1, DP-A2, DP-B1 et DP-B2. On se rend donc bien compte du niveau de complexité du polymorphisme, par rapport au système HLA 1 où seul un gène codait pour la chaîne. Un autre niveau de complexité est qu'il peut exister chez certains individus des gènes DR-B3, DR-B4 et DR-B5 codant pour une nouvelle chaîne β et donc potentiellement pour une nouvelle molécule HLA-DR (s'associant avec la même chaîne α codée par DR-A). On parle de phénomène **d'exclusion génique**.
- Classe 3 : la région classe III est particulière, elle a été conservée mais ne contient pas de gène codant pour des molécules du système HLA. Elle contient cependant des gènes qui codent pour des protéines impliquées dans la réponse immunitaire innée, telles que les HSP et les molécules du complément.



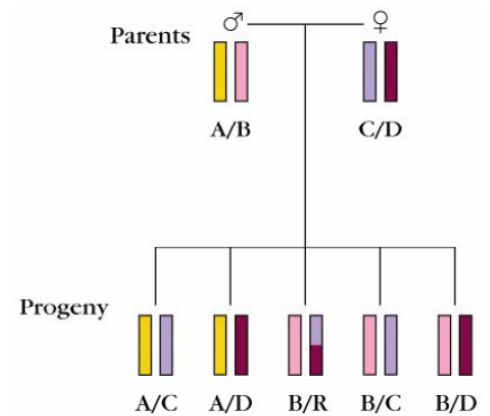
B) Les caractéristiques du système HLA

Il y en a trois : le polymorphisme, la transmission en haplotypes et la codominance.

- **Le polymorphisme** : Le système HLA est un système très polymorphe : tous les loci ont un très grand nombre d'allèles. L'allèle est le support du polymorphisme mais ne le définit pas complètement dans la mesure où, lorsqu'on découvre un variant, il faut qu'il soit présent à une **fréquence suffisante dans la population** pour être qualifié de polymorphisme. La variabilité se différencie donc du polymorphisme par sa définition au niveau de la population. Ainsi, le polymorphisme pour le système HLA se définit comme l'existence d'un grand nombre de gènes pour lesquels on retrouve de nombreux allèles, largement présents dans la population (>1%).

Rq : les allèles HLA diffèrent les uns des autres par des variations d'acides nucléiques correspondant à des acides aminés concentrés au niveau de la **poche de fixation peptidique**. Il n'y a donc de polymorphisme qu'au niveau de zones **fonctionnelles** des molécules du CMH. Ces régions variables peuvent ne différer que par un seul acide aminé. Ainsi, deux allèles ne différant que par un acide aminé peuvent se comporter de manière totalement différente face à un peptide identique. Ce qui explique qu'au niveau de la population générale, des individus différant par leurs variants HLA réagissent de manière très distincte face à un même antigène (ceci constitue un problème en termes de compatibilité pour les greffes).

- **La transmission en haplotype** : sur le chromosome 6, les gènes du système HLA sont étroitement liés et il y a assez peu de recombinaison méiotique à leur niveau. L'ensemble des allèles du père et de la mère sont ainsi transmis en bloc à la descendance (le plus souvent). Cette particularité du système HLA permet par ailleurs d'effectuer des contrôles des typages parents-enfants.



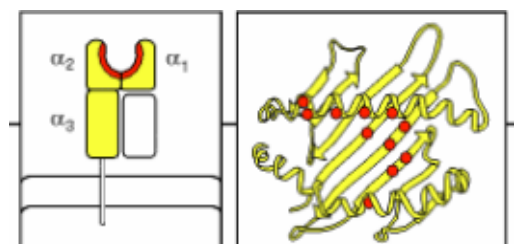
- **La codominance** : les deux allèles parentaux de chaque gène du CMH sont exprimés. Cela permet d'augmenter le nombre de molécules différentes du CMH présentées à la surface des cellules ; ainsi, plus on est polymorphe pour les gènes HLA, plus on a de chances de bien présenter au moins un peptide infectieux et d'être capable de s'en défendre.

III- Les molécules du CMH

Les molécules HLA sont des glycoprotéines transmembranaires. Au niveau extracellulaire, elles contiennent un site de liaison au peptide en forme de sillon, à l'extrémité amino-terminale de la molécule. Les variations de séquences en acides aminés correspondant aux polymorphismes HLA se situent surtout au niveau de ces domaines.

A) Différences de structure HLA I et HLA II

Les molécules HLA I sont constituées d'une chaîne lourde α liée de manière non-covalente à une β -2-microglobuline (codée par un gène se trouvant hors du locus CMH (chromosome 5)). Elles sont repliées en domaines, avec 3 domaines extracellulaires caractéristiques des immunoglobulines (α_1 le plus externe, puis α_2 et α_3) suivis d'un domaine transmembranaire et d'un intracytoplasmique. Des ponts disulfures assurent l'organisation globulaire de la molécule.



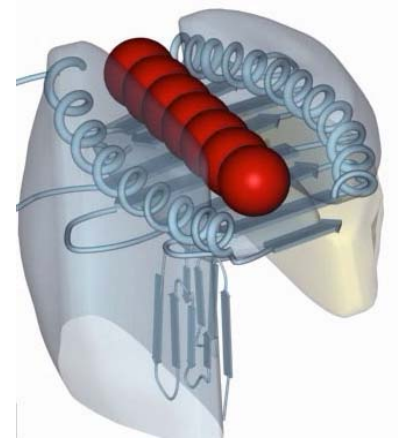
IV- Présentation des peptides

A) Conséquences du polymorphisme HLA pour la fixation du peptide antigénique

Le grand polymorphisme au niveau du site de fixation du peptide entraîne des réactions différentes entre les individus lors d'une infection : on ne va pas présenter les mêmes peptides d'un virus donné, ce qui va impliquer une réponse immunitaire différente.

Les individus homozygotes pour de nombreux gènes HLA vont également être capables de se défendre contre des pathogènes variés, malgré la restriction du nombre de molécules HLA différentes à la surface des cellules. Cela signifie qu'une molécule HLA ne fixe pas un seul peptide mais a une spécificité relativement lâche. C'est le principe de **fixation dégénérée** : il y a une certaine spécificité d'interaction mais elle est assez large pour pouvoir présenter le plus de peptides possibles.

Il existe des acides aminés cruciaux permettant la fixation à la molécule HLA, et le reste des résidus définissent le motif peptidique : ils permettent la fixation au récepteur du lymphocyte T et constituent ainsi la spécificité de la réponse des cellules. Ils sont d'un grand intérêt pour définir les antigènes vaccinaux.



Théoriquement, s'il y avait eu au cours de l'évolution une combinaison aléatoire des allèles pour donner un haplotype, on aurait autant d'haplotypes possibles que le produit du nombre d'allèles à chaque locus. Or ce n'est pas le cas, puisqu'on constate l'existence de certaines combinaisons d'allèles à différents loci de manière plus fréquente que le hasard ne le voudrait. Il en est ainsi de l'haplotype A1-B8-DR3 dont la fréquence observée (0,071) est supérieure à celle calculée (0,0098). On parle de « **déséquilibre de liaison** » menant à la création d'un haplotype dit « **conservé** » ou « ancestral ». Si cet haplotype a été conservé, c'est certainement qu'il a bénéficié d'un avantage sélectif au cours de l'évolution.

Le polymorphisme peut être étudié de différentes manières :

- Au niveau protéique = antigènes de surface : on utilise des Ac anti-HLA
- Au niveau génomique = allèles : typages beaucoup plus précis

B) Interaction entre le récepteur des LT et la molécule HLA

Le système HLA est à la base de la reconnaissance antigénique par les lymphocytes T. Elle appartient à l'immunité adaptative car elle met en jeu des récepteurs spécifiques d'antigènes, et est douée de mémoire : lors d'une deuxième exposition à un antigène, la réponse immunitaire intervient beaucoup plus rapidement et avec une efficacité accrue.

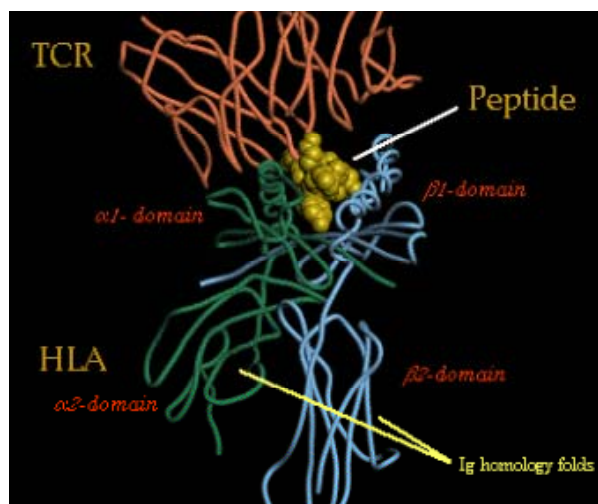
Cette immunité spécifique met en jeu deux types de récepteurs appartenant à la superfamille des immunoglobulines (Ig):

- . les TCR à la surface des lymphocytes T
- . les BCR à la surface des lymphocytes B (comparables aux anticorps)

Même s'ils fixent tous les deux les antigènes, il y a une différence majeure entre les TCR et les anticorps : les anticorps reconnaissent les protéines sous leur forme native, soluble (en fixant une séquence linéaire d'acides aminés adjacents). Les récepteurs TCR ne reconnaissent que des peptides antigéniques « apprêtés », c'est-à-dire dérivés de protéines antigéniques modifiées puis présentées au LT par le CMH. Il y a une double reconnaissance : le TCR doit reconnaître spécifiquement à la fois le peptide et la molécule HLA. C'est le phénomène de restriction allogénique.

Le mode d'interaction entre le TCR et le CMH est conservé pour les deux types de molécules HLA :

- Orientation diagonale du TCR
- Contact des hélices α du peptide
- Implication des régions hypervariables du TCR



C) L'apprêtement des antigènes

La présentation à la surface du peptide couplé au CMH se fait en plusieurs étapes :

- Acquisition de l'antigène
- Adressage de l'antigène en vue de sa dégradation
- Protéolyse
- Transport des peptides aux molécules du CMH
- Fixation du peptide antigénique sur sa molécule présentatrice
- Présentation du complexe CMH/peptide à la surface cellulaire

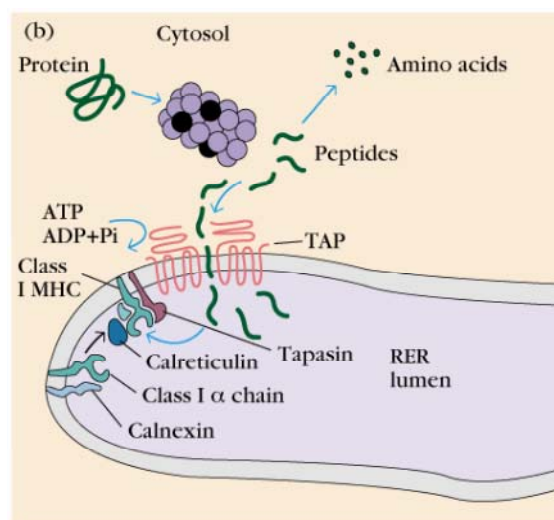
a) Pour les molécules HLA 1

- Origine et prise en charge du peptide : les peptides présentés par les molécules HLA 1 sont de source endogène (en quantité anormalement élevée, en fin de vie, mal conformée, etc.). Ils sont adressés au protéasome pour être dégradés en petits peptides de 8 à 10 acides aminés.

Rappel sur le protéasome : le système ubiquitine-protéasome consiste en « l'étiquetage » des molécules à dégrader par différentes ubiquitines permettant leur adressage au complexe protéolytique. Il existe dans la cellule humaine deux types de protéasomes : un protéasome constitutif (fait le ménage dans la cellule) et un immuno-protéasome. Le protéasome est constitué de quatre sous-unités α et β portant des sites catalytiques. Ces sous-unités forment un cylindre dans lequel est confinée la digestion (pour éviter la dégradation d'autres protéines). En fonction du type cellulaire, les sous-unités peuvent varier, mais dans la plupart des cellules humaines, on retrouve les sous-unités MBI et Delta. Pour les cellules spécialisées dans la présentation des peptides, elles sont remplacées par les sous-unités LMP2/LMP7. On a la possibilité d'induire ces sous-unités dans des cellules qui ne les expriment pas constitutivement, comme les cellules épithéliales (interféron γ). Les gènes qui codent pour les sous-unités de l'immuno-protéasome sont présents au locus HLA du chromosome 6.

Le peptide passe ensuite au niveau de la lumière du RE grâce à l'hétérodimère TAP1/TAP2 (codé lui aussi par le locus CMH du chromosome 6) qui permet la translocation énergie-dépendante. Il existe certaines contraintes pour ce transporteur, ce sont uniquement les peptides de 8 à 10 aa qui peuvent passer.

- Synthèse et stabilisation des molécules HLA 1 : elles sont synthétisées de manière ubiquitaire et transportées jusqu'au RE. A ce niveau, les chaînes α sont instables, elles sont prises en charge par des protéines chaperonnes : la calnexine (stabilise la chaîne lourde) et la calréticuline (stabilise le complexe chaîne lourde/chaîne légère).
- Assemblage peptide-molécule HLA 1 : une tapasine associée à la chaîne α du CMH va se lier à TAP pour faire le pont entre le peptide et la molécule HLA I.



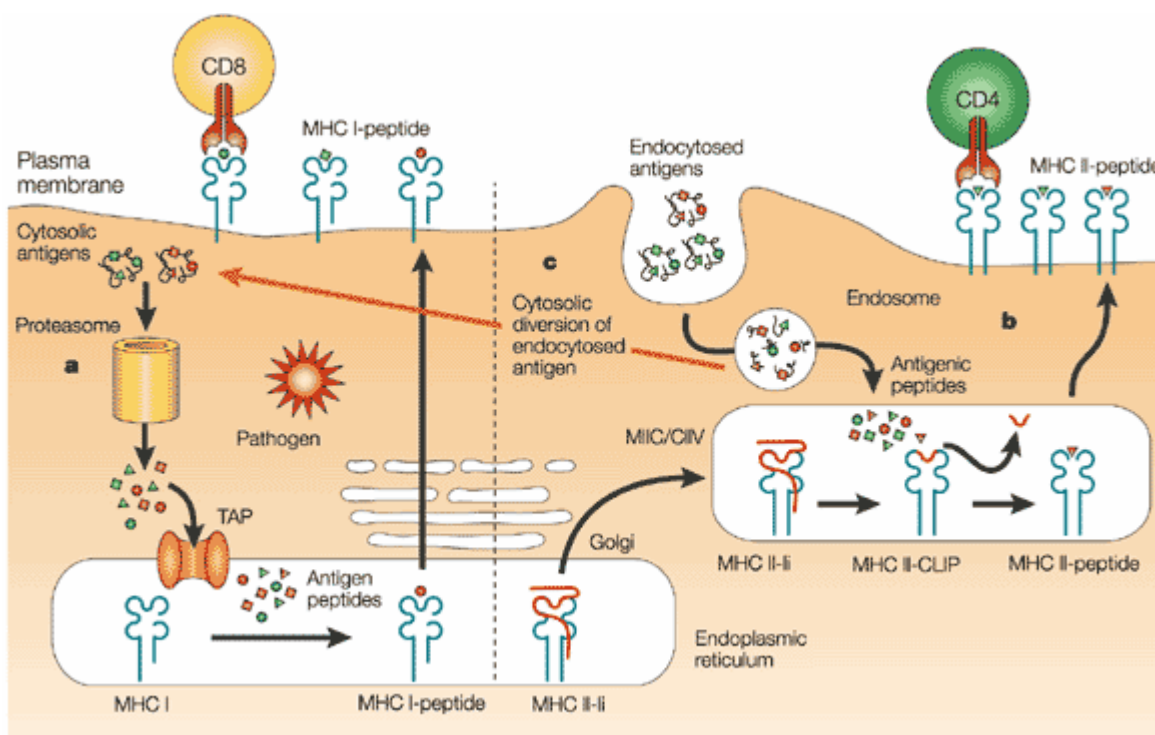
Les peptides vont alors « s'essayer » dans la poche HLA I jusqu'à ce qu'un peptide d'assez bonne affinité soit trouvé. Dès lors, le complexe HLA I + peptide se sépare de la tapasine et de la calréticuline, et va migrer à travers le Golgi pour être exprimé à la surface des cellules où ils vont être reconnus par le TCR d'un LT CD8.

b) Pour les molécules HLA 2

- Origine et prise en charge du peptide : les peptides présentés par les molécules HLA 2 sont de source exogène par endocytose. Les endosomes précoces subissent une maturation par acidification, aboutissant à des endolysosomes dans lesquels les protéines sont dénaturées en petits peptides.

Synthèse et stabilisation des molécules HLA 2 : elles sont synthétisées dans les CPA sous forme de nonamères et transportées jusqu'au RE. Durant ce trajet, elles sont prises en charge par une chaîne invariante dont le peptide CLIP occupe le sillon HLA jusqu'à sa rencontre avec l'antigène, Cette chaîne invariante a également un rôle de stabilisation de la molécule HLA 2 et de son adressage vers des vésicules.

- Assemblage peptide-molécule HLA 2 : Il y a fusion des endolysosomes avec les vésicules contenant les molécules HLA 2. Dans le compartiment ainsi créé, une chaperonne HLA2-DM détruit CLIP et optimise la liaison HLA2-peptide. Ce complexe est ensuite adressé à la surface des cellules où il va être reconnu par le TCR d'un LT CD4.



V- Les fonctions du CMH

Le CMH remplit plusieurs fonctions :

- **La réponse immunitaire adaptative** : reconnaissance et élimination des protéines du non-soi :
Il y a de multiples réponses dans lesquelles HLA intervient :
 - La réponse cellulaire cytotoxique, médiée par les lymphocytes T CD8 qui reconnaissent les peptides antigéniques présentés par une molécule HLA de classe I
 - La réponse cellulaire auxiliaire, médiée par les lymphocytes T CD4 qui reconnaissent les peptides présentés par les molécules HLA de classe II.

- **La sélection thymique** : c'est l'ensemble des événements qui va permettre la production de lymphocytes T dans notre organisme qui sont capables de reconnaître des protéines antigéniques et qui ne sauront pas reconnaître des protéines du soi.
- **Immunosurveillance exercée par les cellules Natural Killer (NK)**
- **Implication dans le phénomène de rejet associé aux greffes**

A) La sélection thymique

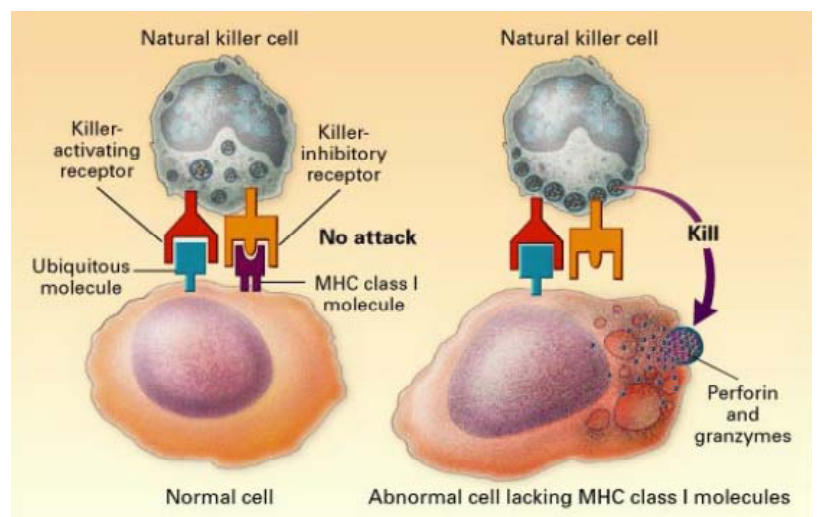
Les lymphocytes T sont produits par la moelle osseuse et le système hématopoïétique. On peut caractériser leur stade de maturation en fonction des signaux qu'ils envoient. Ainsi, ils sont doubles négatifs (CD4-/CD8-) pour les récepteurs CD4 et CD8 à un stade précoce, puis ils deviennent doubles positifs (CD4+/CD8+) dans la corticale thymique, et enfin simple positifs (CD4+/CD8- ou CD4-/CD8+) au stade mature, dans la médulla thymique.

Les LT néoformés peuvent reconnaître « tout et n'importe quoi », y compris des molécules du soi et être ainsi délétères. Il y a donc une double sélection des récepteurs TCR :

- Une première sélection positive : les LT arrivent au niveau de la corticale thymique, où il existe des cellules exprimant des molécules HLA I et II de différents allèles. Grâce à leur TCR néoformé, ces LT vont réagir avec ces molécules HLA et un peptide quelconque pour tester leur affinité. Si le TCR ne reconnaît pas le peptide, le lymphocyte T correspondant va mourir par apoptose. Si le TCR reconnaît le peptide avec une bonne affinité, il va être conservé. Ainsi cette première sélection permet de supprimer les TCR pas assez réactifs.
Rq : lors de cette sélection, certains TCR vont reconnaître préférentiellement une classe HLA plutôt que l'autre et passer ainsi de doubles positifs à simples positifs : si la cellule reconnaît mieux les molécules HLA I, il va y avoir perte de l'expression des CD4 et la molécule CD8 va être la seule exprimée ; à l'inverse, s'il y a une meilleure reconnaissance des molécules HLA II, ce sont les CD4 qui seront exprimées. Au terme de cette sélection positive, les LT incapables de reconnaître les molécules HLA sont éliminées en faveur des LT simple positifs interagissant avec l'une des deux classes HLA.
- Une deuxième sélection négative : les LT sont adressés à la médullaire thymique pour être confrontés à un peptide du soi présenté par des molécules HLA présentes à la surface des cellules de la médulla thymique. S'il y a une interaction trop forte entre le LT et les complexes HLA+peptide du soi, les LT sont éliminés par apoptose afin d'éviter les réactions auto-immunes. Ainsi, à l'issue de ces deux sélections successives, les LT matures simple-positifs envoyés dans la circulation sont ceux assez réactifs pour lutter contre les pathogènes, mais pas assez pour réagir également avec les cellules du soi et être à l'origine de pathologies auto-immunes.

B) Immunosurveillance par les cellules Natural Killers dans la physiologie des molécules HLA I

La cellule NK possède de nombreux rôles dans le système immunitaire adaptatif, parmi lesquels celui de vérifier la bonne expression des molécules HLA I par les cellules de l'organisme : ils expriment à leur surface des récepteurs (inhibiteurs et activateurs de lyse) qui reconnaissent un allèle ou une molécule HLA I. Si l'interaction récepteurs NK / molécule HLA I d'une cellule est bonne, il y a transduction d'un signal inhibiteur de lyse. Si au contraire la cellule a un



défaut d'expression de la molécule HLA I (par exemple dans un contexte tumoral (mélanome) ou chez certains virus qui ont échappé à la surveillance des LT), le récepteur du NK ne reçoit plus de signal inhibiteur ; il y a alors destruction de la cellule déficiente par le NK. C'est l'immuno-surveillance.

VI- Immunologie des greffes

Lors d'une greffe, il y a confrontation du système immunitaire du receveur avec des cellules du donneur. Les molécules du système HLA du donneur risquent d'être reconnues par le système immunitaire du receveur comme des antigènes du fait de leur grand polymorphisme.

A) Définitions

- Autogreffe : le donneur et le receveur sont la même personne
- Greffe syngénique : entre sujets génétiquement identiques (jumeaux monozygotes)
- Allogreffe : entre sujets de la même espèce
- Xénogreffe : greffe entre individus d'espèces animales différentes

B) La greffe de moelle

Elles sont souvent recommandées dans les leucémies après une chimiothérapie pour restaurer les cellules à renouvellement rapide du système hématopoïétique.

Or, dans la moelle, il y a des lymphocytes T mémoires qui proviennent du donneur. Compte tenu de la lourdeur de la chimiothérapie et de la baisse des défenses immunitaires du receveur, on ne risque pas de réaction de rejet mais un phénomène aussi grave peut se produire : la réaction du greffon qui se retourne contre l'organisme receveur ; c'est l'effet GVH (graft versus host). Elle se manifeste surtout au niveau de la peau et du tube digestif.

3 solutions :

- **supprimer les LT mémoires du greffon avant de l'injecter.** On a cependant constaté que cela augmentait la récurrence : en effet on enlève des LT capables de reconnaître des antigènes présentés par les cellules leucémiques (notamment les HA1 et HA2) et de les détruire. On supprime donc la disparité entre donneur et receveur qui permet l'activité anti-leucémique. C'est d'ailleurs pourquoi les greffes syngéniques ne sont pas forcément meilleures dans le cadre d'un traitement anti-leucémique : ils ont le même système d'antigènes mineurs (les LT du donneur ne seront donc pas capables de détruire des cellules atteintes du receveur car ils reconnaissent les HA1/2 du receveur comme des peptides du soi).
- **injecter des LT spécifiques de la tumeur**, il est donc nécessaire d'identifier des antigènes tumoraux
- **injecter des cellules NK**

VII- Association HLA/maladies

On appelle **prédisposition génétique**, l'existence d'association entre la présence chez un individu de certains allèles HLA et la susceptibilité d'être atteint par certaines pathologies, notamment les maladies auto-immunes. Certains allèles HLA, en particulier de type 2, vont fixer, alors qu'ils ne le devraient pas, des peptides dérivés de certains antigènes (auto-antigènes) et activer des LT dits « auto-réactifs ». La réaction auto-immune dérive donc d'une réaction normale.

Quand on parle de prédisposition, il faut savoir faire la différence entre un allèle HLA qui confère un risque minime et ceux conférant un risque important. En fait, il y a très peu de maladies significativement associées à certains allèles HLA.

Trois exemples :

- la spondylarthrite ankylosante : 97% des patients atteints possèdent l'allèle HLA B27.
- le diabète de type 1 (insulinodépendant) : associé aux allèles DR3 et DR4
- la maladie cœliaque : associée aux allèles DR et DQ2.

Petit point culture gé (pas à apprendre) : la maladie cœliaque est une réponse immune anormale face à un antigène alimentaire, le gluten (principal composant protéique de la farine de blé). Les LT CD4 présents dans la muqueuse intestinale vont s'activer, sécréter de l'interféron γ et détruire les entérocytes, ce qui mène à une destruction de la paroi épithéliale. La symptomatologie clinique est très lourde mais le patient guérit dès qu'il n'absorbe plus de gluten.

VIII- Le typage HLA

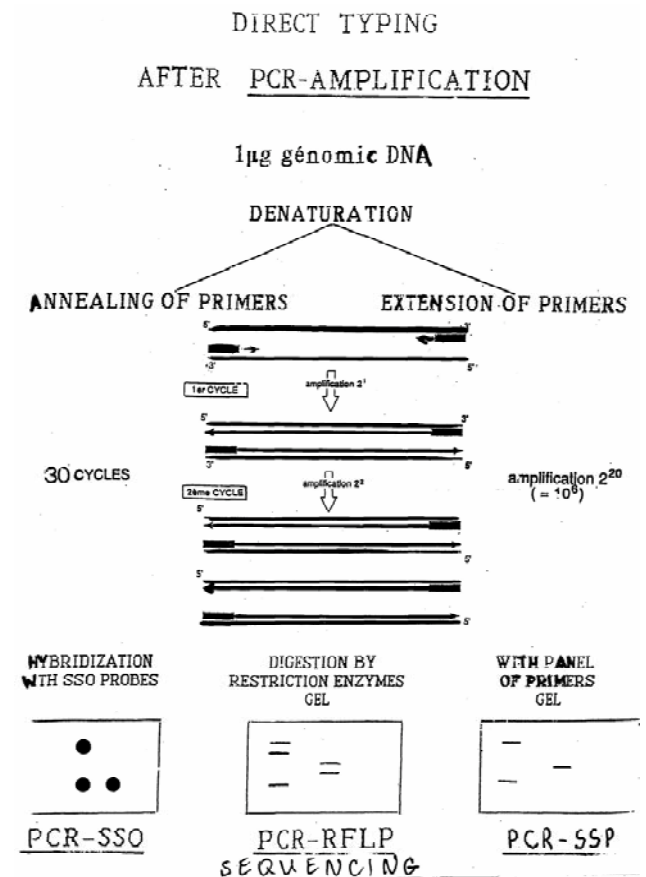
Il y a plusieurs façons de faire des typages HLA :

- **Méthode sérologique** : on sépare les lymphocytes du sujet et on les met en présence de sérums contenant des anticorps anti-HLA de spécificités différentes. Il y a réaction entre certains Ac et certains Ag. On incube avec un complément qui va se fixer sur les cellules où une réaction Ag-Ac a eu lieu, et induire leur lyse. On utilise ensuite un colorant spécifique des cellules lysées. Les cellules colorées correspondent donc à celles qui ont été fixées par l'anticorps anti-HLA. En fonction des anticorps utilisés (anti-HLA 1 ou anti-HLA 2), on détermine ainsi si la cellule du sujet était HLA 1 ou HLA 2.

Rq : technique assez grossière qui ne permet pas de détecter de petites variations de nucléotides

- **Méthodes de biologie moléculaire** : 3 méthodes d'amplification PCR

- PCR-SSO (sequence specific oligoprobe) : on utilise les séquences communes à un même locus pour créer des sondes et les amplifier. Puis on incube avec des sondes complémentaires des sites polymorphes, et on détecte la liaison à l'aide d'une coloration spécifique par exemple
- PCR-SSP (sequence specific primers) : l'amplification se fait directement avec des sondes spécifiques des polymorphismes
- PCR-SBT (sequence specific typing)



Conclusion

L'étude des peptides se fixant aux molécules HLA permet la compréhension physiopathologique des maladies et l'approche thérapeutique. Les deux systèmes CMH apportent des types de présentation antigéniques complémentaires. Ci-contre un petit tableau récapitulatif de leurs caractéristiques ☺

	HLA I	HLA II
<i>Expression</i>	Ubiquitaire	CAP
<i>Composition</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Chaîne légère α (α_1 α_2 α_3) codée par gènes A, B et C du chromosome 6 - Chaîne β-2-microglobuline codée par le chromosome 5 	<ul style="list-style-type: none"> - Chaîne légère α (α_1 et α_2) - Chaîne lourde β (β_1 et β_2) Codées par gènes DP, DQ, DR du chromosome 6
<i>Origine des peptides présentés</i>	Endogène	Exogène
<i>Dégradation protéolytique</i>	Ubiquitine-protéasome	Endolysosome : l'acidité active les protéases acides
<i>Lieu de rencontre peptide/HLA</i>	RE : peptides transportés activement par TAP1 –TAP2	Vésicule cytoplasmique (fusion de la vésicule contenant le nonamère HLA-2 + chaîne invariante avec l'endolysosome)
<i>Site d'assemblage peptide/HLA</i>	Sillon peptidique HLA 1 = chaînes α_1 et α_2 à extrémités fermées. Capacité de 8 à 11 aa	Sillon peptidique HLA-2 = α_1 et β_1 à extrémités ouvertes. Capacité de 10 à 30 aa
<i>Chaperonnes impliquées</i>	Calnexine, calréticuline, tapasine	HLA2-DM
<i>Reconnaissance lymphocytaire</i>	LT CD 8	LT CD4