

Cours d'immunologie n°5 : 29/11/2011

JL Teillaud:

RT : Clément BAUDRY

RL : Iris BENHAMOU

## **Liaison Antigènes-Anticorps et Récepteurs Fc**

**Plan du cours :**

### **I) Liaison Ag-AC**

1. Définition d'un anticorps
2. Historique
3. Caractéristiques des liaisons Ag-Ac
4. Mode d'action des Acs
  - activation / blocage / crosslinking
  - Complément
  - ADCC

### **II) Récepteurs Fcs**

1. Définition d'un récepteur Fc
2. Historique
3. Caractéristiques
4. FcR activateurs
5. FcR inhibiteurs
6. FcR neutres
7. Intégration du signal

### **III) Conclusion**

## **I) Liaison Ag-AC**

### **1) Définition d'un anticorps**

Un anticorps est composé de chaînes lourdes et de chaînes légères, reliées par des ponts disulfures. Ils possèdent :

- une région variable, le fragment Fab. Il est capable de reconnaître la structure épitopique de l'antigène.
- une région constante, le fragment Fc. Il possède différentes fonctions :
  - active le complément pour lyser la cellule cible
  - permet l'ADCC: Antibody Dependent Cell Cytotoxicity
  - permet la phagocytose des cellules ou des pathogènes
  - a un rôle dans la présentation des antigènes dérivés par les cellules dendritiques
  - est responsable de la durée de vie de l'anticorps via sa liaison avec FcRn

## 2) Historique

Bien avant la caractérisation de la structure et des modes d'action des Ac, des scientifiques avaient déjà imaginé par la théorie leur existence.

1890 : Von Behring et Kitasato décrivent l'activité des Ac contre les toxines diphtériques et tétaniques. Ils proposent le concept d'immunité humorale, où l'**Ac serait le médiateur dans le sérum qui réagirait avec un Ag étranger**.

1897 : Paul Ehrlich propose la théorie de l'interaction Ag-Ac. Il définit cette interaction comme étant une **interaction spécifique**, modélisée par le modèle d'interaction clé-serrure. Il va plus loin et postule que la surface des cellules possède des « chaînes latérales » agissant comme des récepteurs, et que la liaison de ces récepteurs à des toxines serait l'élément déclencheur de la production d'Ac.

1904 : Almroth Wright suggère que les Ac solubles recouvrent les bactéries afin de les étiqueter pour la phagocytose et leur lyse. C'est la théorie de l'**opsonisation**.

Années 1920 : Michael Heidelberger et Oswald Avery montrent que les **Ag sont précipités par les Ac**, et que ces derniers sont de **nature protéique**.

Années 1930 : John Marrack caractérise les propriétés biochimiques des liaisons Ag-Ac.

1940 : Linus Pauling confirme le modèle clé-serrure et montre que **les interactions entre Ac et Ag dépend plus de leurs formes que de leurs composition chimique**.

1948 : Astrid Fagraeus découvre que les **lymphocytes B sont responsables de la production d'Ac** sous leur forme de cellules plasmacytoïdes.

Années 1960 : Gerald Edelman et Joseph Gally mettent en évidence l'existence de la chaîne légère des Ac, et des ponts disulfures reliant chaînes lourdes et chaînes légères.

Rodney Porter caractérise les sites de liaisons aux Ag (segment Fab) et la partie constante des Ac (segment Fc). C'est la **découverte de la structure des Ac**.

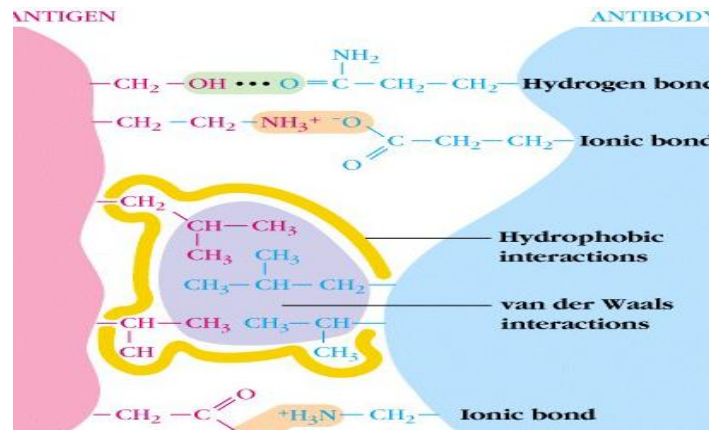
Ensemble, ils vont déduire la **structure et la séquence en acides aminés des IgG**, ce qui leur vaut de recevoir la prix Nobel de physiologie et médecine en 1972.

### 3) Caractéristiques des liaisons Ag-Ac :

La liaison Ag-Ac fait intervenir différentes forces de faible énergie (entre 0.5 et 2 kcal/mol), formant des **liaisons non covalentes**.

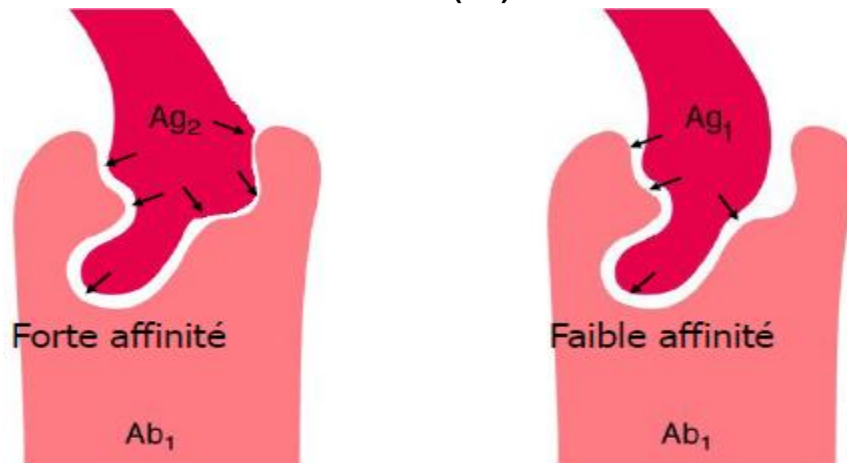
Cette liaison suit le modèle clé-serrure, l'Ac est très proche de l'Ag et forment un nombre très important de liaisons, dont des **liaisons hydrogènes, électrostatiques, ainsi que des interactions de Van der Waals et des interactions hydrophobes**.

Les molécules d'eau sont exclues de la zone d'interaction des Ag et des Ac.



Les liaisons Ag-Ac introduisent deux notions : l'affinité et l'avidité.



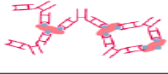
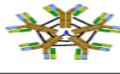
**L'affinité** est la façon dont l'Ac s'emboîte à l'Ag de façon spécifique. L'affinité est caractérisée par une **constante de dissociation (Kd)**.



Un Ac de faible affinité aura une liaison lâche avec l'Ag et une constante de dissociation élevée : l'Ag va se détacher facilement de l'Ac.

L'affinité peut être très variable, dépendant du couple Ag-Ac.

**L'avidité** est définie comme étant la force avec laquelle un anticorps multivalent se lie à un antigène multivalent. C'est cette multivalence qui va différencier l'avidité de l'affinité.

				
Anticorps	Fab	IgG	IgG	IgM
Valence efficace	1	1	2	10
Valence de l'antigène	1	1	n	n
Constante d'équilibre	$10^4$	$10^4$	$10^7$	$10^{11}$
Avantage de la multivalence	-	-	$\times 10^3$	$\times 10^7$
Définition de la liaison	Affinité	Affinité	Avidité	avidité
	Affinité intrinsèque		Affinité fonctionnelle	

Dans le tableau précédent :

Les fragments Fab ont une valence de 1 et l'Ag n'a qu'un seul épitope. C'est un cas de **pure affinité : le récepteur reconnaît spécifiquement son ligand**. De même pour les IgG qui se lient à un Ag ne possédant qu'un épitope, on parlera toujours d'affinité, c'est-à-dire avec quelle constante de dissociation l'Ac se rapproche ou se sépare de son Ag

Mais les IgG peuvent aussi s'associer et former des dimères par exemple. **Plusieurs Ac peuvent donc se fixer à plusieurs Ag, ce qui modifie les constantes de dissociation de chaque interaction.**

**On parle alors d'appétence globale de l'Ac.**

De même, les IgM sont constitués de 5 anticorps couplés les uns aux autres, et possèdent une valence efficace de 10. Chaque anticorps aura une affinité particulière pour un épitope, mais la liaison des autres anticorps à des épitopes modifiera sa constante de dissociation. On ne peut donc plus parler d'affinité, mais d'avidité globale.

Les haptènes ont des propriétés de liaisons particulières.

**Les haptènes sont des petits groupements chimiques, reconnus par les Ac mais à eux seuls non immunogènes.** Ils sont souvent associés à de grosses molécules, généralement de type protéiques. **Quand ils sont associés, les haptènes sont capables de favoriser l'apparition d'une réponse contre ces protéines**, ils deviennent immunogènes. Ils induisent la synthèse d'Ac spécifiques à ces complexes haptènes-protéines, mais aussi la synthèse d'Ac qui ne reconnaîtront que l'haptène et des Ac ne reconnaissant que la protéine porteuse.

Ces anticorps ne sont produits que s'il y a une association entre l'haptène et la protéine. C'est le changement de conformation de la protéine dû à la fixation de l'haptène qui rend possible cette synthèse.

La liaison Ag-Ac est spécifique, mais aussi **dégénérée**.

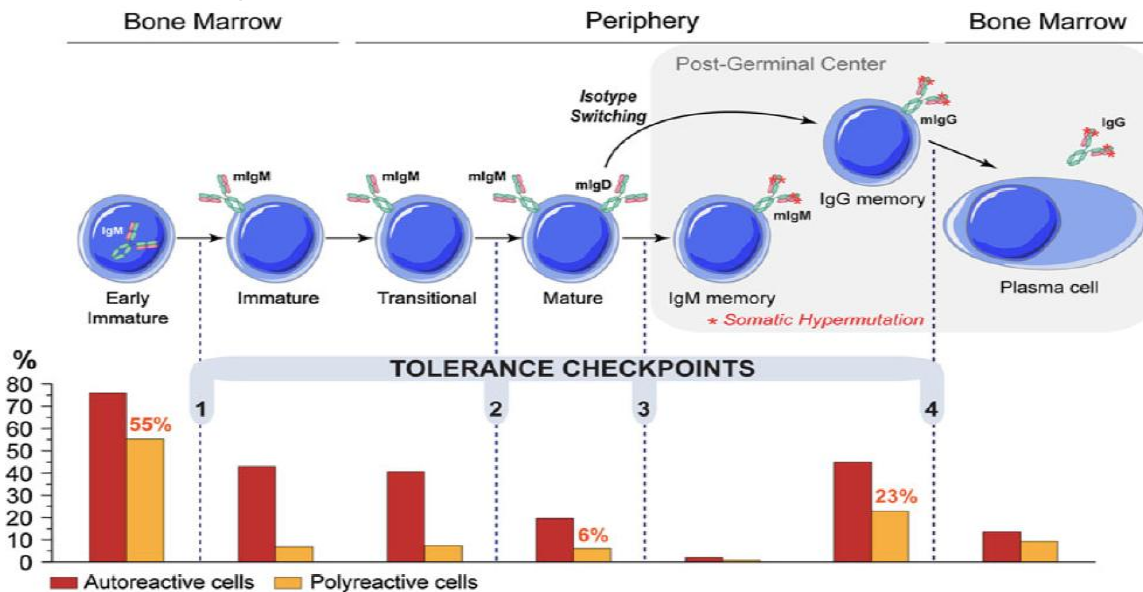
En effet, **un Ac est capable de reconnaître plusieurs sortes d'Ag**. Herman Eise montre qu'un anticorps monoclonal anti-haptène du 2.4-dinitrophenyl (DNP) pouvait aussi se fixer à une molécule similaire, le TNP, mais aussi sur une molécule complètement différente, la menadione. L'affinité de l'Ac pour chaque molécule est à chaque fois différente.

**Ce type de fixation dégénérée est appelée polyréactivité.** Cette polyréactivité caractérise souvent les auto corps, mais aussi les Ac anti-VIH.

**L'affinité des Ac polyréactifs pour leurs ligands est en général faible ( $10^{-3} < Kd < 10^{-7}$ ) en comparaison de celles des Ac monoréactifs ( $10^{-7} < Kd < 10^{-11}$ )**

*Exemples d'anticorps polyréactifs :*

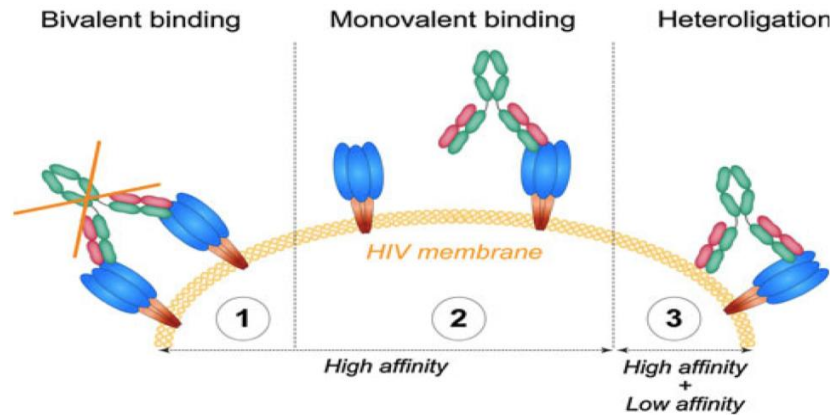
Les lymphocytes B sont générés dans la moelle osseuse et subissent un processus de maturation lorsqu'ils migrent en périphérie. Lorsque les chaînes des Ac viennent d'être assemblées dans les lymphocytes B les plus immatures, on a un haut taux de lymphocytes B polyréactifs et autoréactifs. Au fur et à mesure de la sélection négative des lymphocytes B dans la moelle osseuse, on a une diminution des cellules polyréactives ainsi que celles autoréactives, même si on retrouve un pic dans des sites bien différenciés.



Les Ac anti-VIH sont enrichis en Ac polyréactifs. Une des recherches de traitement pour le VIH étudie les lymphocytes B de patients qui produisent des Ac anti-VIH efficaces, c'est-à-dire qui ne développent pas la maladie. On a sélectionné les lymphocytes B possédant des Ac reconnaissant le VIH, puis on a extrait ces Ac et on les a clonés. Les chercheurs ont pu déterminer une carte de reconnaissance du répertoire spécifique du VIH. Ils se sont aperçus que les Ac les plus neutralisants étaient tous polyréactifs.

Le VIH ne possède qu'une dizaine de molécules de GP160 sur son enveloppe et ses épitopes sont peu nombreux et difficiles d'accès, ce qui empêche le crosslinking de plusieurs Ac et la réponse immunitaire.

Un Ac polyréactif va permettre une hétérologation en reconnaissant d'un côté les protéines d'enveloppe mais également d'autres facteurs, ce qui augmente son avidité. (dans ce cas pour l'Ag du VIH)



#### 4) Mode d'action des Ac :

- **activation / blocage / crosslinking**
- **Complément**
- **ADCC**

Le blocage : l'anticorps peut **inhiber la fonction** de l'antigène en se fixant sur une partie active et effectrice de ce dernier.

#### Le ciblage :

-L'Ac peut cibler l'Ag par le **complément** : il va cibler l'Ag et recrute le complément qui va favoriser la destruction de la cellule cible.

Exemple : La fixation de l'Ac à une cellule tumorale va entraîner la fixation du complexe C1q sur le fragment Fc de l'Ac, induisant une cascade d'activation protéique d'une des voies du complément pour aboutir à la formation du complexe d'attaque MAC. Ce complexe va être capable de lyser la cellule cible. Cette activation libère des facteurs chimiotactiques capables de recruter des effecteurs biologiques anti-tumoraux. Les IgM, IgG1 et IgG3 sont les isotypes activant le mieux la voie classique du complément. Le complément est très important pour la réponse immunitaire, car sur des souris déficientes en molécules du complément, on observe une susceptibilité accrue aux infections et un déficit de la réponse immunitaire efficace.

(Le complément sera l'objet du cours n°6)

-Il peut aussi cibler l'Ag en se liant à un **récepteur Fc** présent à la surface d'une cellule effectrice, qui va lyser le pathogène. **C'est ce qu'on appelle l'ADCC.**

L'activation : la fixation d'un Ac à un récepteur Fc présent à la surface de la cellule cible va permettre un regroupement de ces récepteurs, ce qui va conduire à une cascade de phosphorylations croisées. Les récepteurs envoient un **signal** à la cellule cible : c'est le processus de **crosslinking**.

## II) Récepteurs Fcs

### 1) Définition d'un récepteur Fc

Les cellules du système immunitaire interagissent avec les Ac par des récepteurs se fixant à des domaines conservés au sein de la partie constante (Fc) de la chaîne lourde des Ac. Ces récepteurs sont les récepteurs Fc, notés FcR.

Différents types de FcR existent et sont capables de se fixer spécifiquement à différentes classes et sous-classes d'Ac.

### 2) Historique

La découverte des FcR a été faite par Berken et Benacerraf en 1966.

Un sérum prélevé d'un animal a été immunisé contre des globules rouges. En prélevant ce sérum et en le mettant dans une boîte de Pétri contenant ces globules rouges ainsi que des macrophages, ils ont remarqué que les macrophages se fixaient aux globules rouges à température ambiante et les détruisaient à 37°C. C'est le phénomène appelé ADCC. (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity)

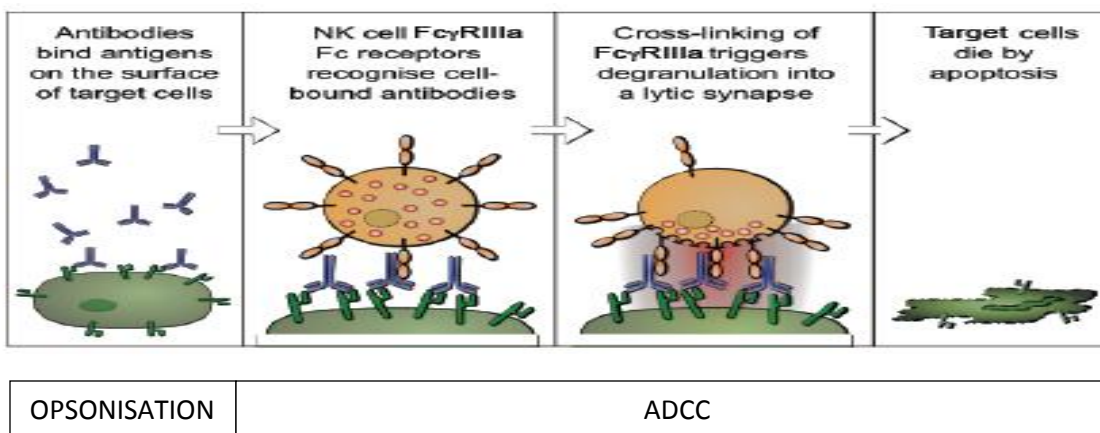
En l'absence du sérum, les macrophages restent quiescents, et plus la quantité de sérum est importante, plus les macrophages détruisent les globules rouges.

Par sa partie variable, les Ac se fixent aux Ag de la cellule cible (ici les globules rouges) et recouvrent sa surface, c'est l'opsonisation.

Par son fragment Fc, ce même Ac va se lier à un FcR activateur présent à la surface de la cellule immunitaire effectrice.

**Ce pontage entre la cellule cible et la cellule effectrice entraînera une activation de la cellule effectrice par un crosslink des récepteurs Fc, suivi par une cascade de phosphorylation activant la cellule en induisant un relargage de calcium dans le cytoplasme par les canaux calciques. La cellule effectrice va larguer des granules de perphorine, ayant une fonction acido-toxique, provoquant la mort de la cellule cible.**

L'ensemble du processus est l'ADCC, c'est-à-dire la lyse d'une cellule cible par une cellule effectrice à la suite d'une opsonisation par les Ac.





L'ADCC n'est possible qu'après liaison de l'Ac sur un RFc $\gamma$  activateur. (RFc $\gamma$ I, RFc $\gamma$ II, RFc $\gamma$ IIIa).

Les isotopes IgG1 et IgG3 sont plus efficaces que les IgG2 et les IgG4 pour cette activité.

### 3) Caractéristiques

Les RFc $\gamma$  sont des récepteurs reconnaissant les IgG.

Les RFc $\epsilon$  fixent la partie constante des IgE, et sont présents en très grand nombre sur les mastocytes.

Chaque RFc possède un cluster déterminant, et une affinité particulière et très variable pour un type de chaîne lourde donné. Un RFc peut reconnaître différentes sortes d'IgG, mais avec une affinité variable, par exemple RFc $\gamma$ I a une très forte affinité pour les IgG3, alors que RFc $\gamma$ IIIa en a une beaucoup plus faible pour IgG3.

La plupart des RFc humains sont activateurs (RFc $\gamma$ I, RFc $\gamma$ IIa, RFc $\gamma$ IIIc...) mais il en existe des inhibiteurs (RFc $\gamma$ IIb) ainsi que des neutres.

FcR	Cell distribution
Fc $\gamma$ RI	Monocytes, macrophages, dendritic cells*, neutrophils (induced)
Fc $\gamma$ RII	Monocytes, macrophages, dendritic cells*, neutrophils, eosinophils, basophils, B cells, T cells*, placental endothelial cells, platelets
Fc $\gamma$ RIII	IIIa: monocytes*, macrophages, NK cells, T cells* IIIb: neutrophils

La plupart des cellules immunitaires possède à leurs surfaces des RFc préférentiels.

Une population cellulaire donnée va être plus sensible à la présence dans le sérum d'une classe ou d'une sous classe d'Ac.

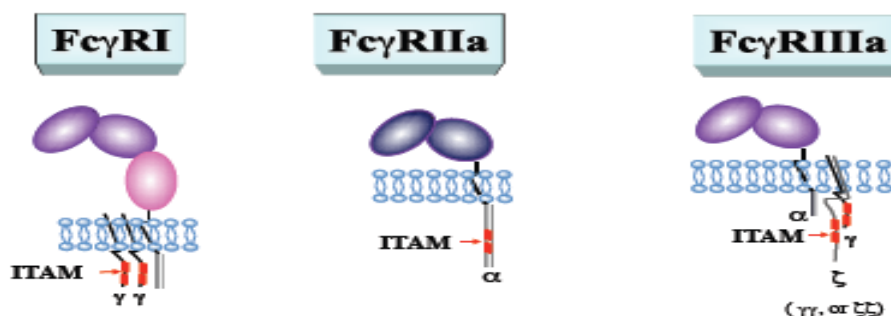
Face à une menace donnée, on recrutera préférentiellement cette catégorie de cellules plutôt qu'une autre, pour une réponse plus efficace et adaptée.

RFc $\gamma$ I est donc plutôt exprimé par les cellules myéloïdes, RFc $\gamma$ IIa par les cellules myéloïdes et les plaquettes, et RFc $\gamma$ IIIa par les cellules NK et peu par les cellules myéloïdes.

### 4) FcR activateurs

Les FcR activateurs sont responsables de l'ADCC, de la phagocytose et de l'opsonisation des cellules.

#### Structure et Propriétés des RFc $\gamma$ activateurs

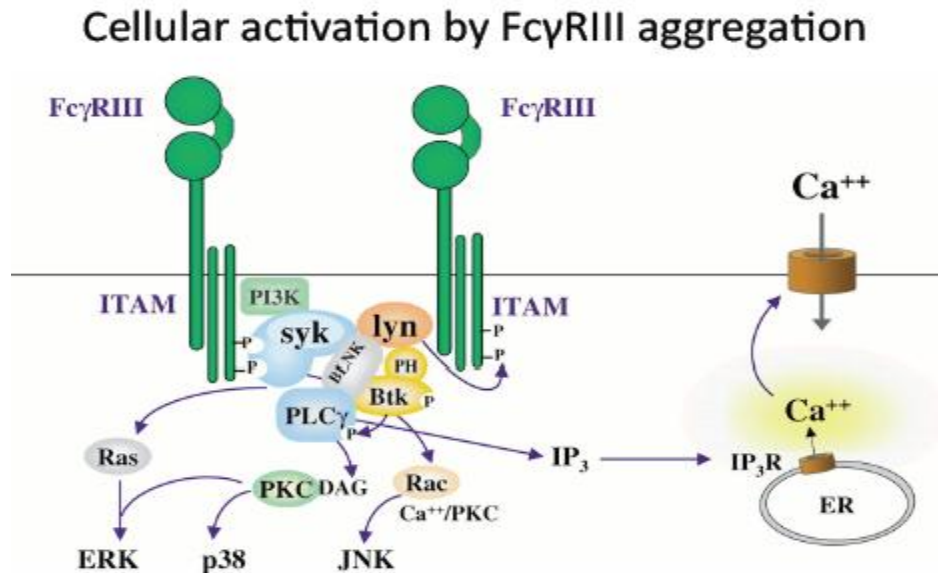




Les RFc $\gamma$  activateurs sont caractérisés par la présence d'un **motif ITAM** dans le domaine intracytoplasmique du récepteur (Fc $\gamma$ RIIa) ou dans une chaîne ( $\gamma$  ou  $\xi$ ) associée à ces récepteurs permettant la transduction du signal.

Les chaînes associées peuvent aussi servir à l'amplification du signal.

Lors de l'agrégation de plusieurs récepteurs, on a un **crosslinking**. Les domaines ITAM induisent une chaîne de phosphorylation de plusieurs kinases, comme la sykinine ou PLC $\gamma$ . Ces kinases vont se rapprocher grâce à l'agrégation des RFc.



Par le biais de la phosphomyosine IP<sub>3</sub>, on aura ouverture des canaux calciques, qui vont activer la cellule par changement de l'osmolarité et induire un relargage de granules lytiques.

Les RFc $\gamma$  activateurs peuvent être utilisés dans des thérapies anti-tumorales. Des poumons de souris ayant reçu des cellules tumorales ont été injectés avec un Ac anti-tumorales : on aura élimination de ces tumeurs. Le processus d'élimination est l'ADCC activé par les RFc $\gamma$  : une souris déficiente en RFc activateurs ne subira aucune lyse des cellules tumorales.

Des mutations invalidant les RFc chez l'homme induisent des problèmes de réponse immunitaire : **l'ADCC et les RFc font donc partie de la réponse immunitaire** et y jouent un rôle non négligeable. Des mutations peuvent aussi avoir un effet bénéfique en améliorant l'affinité du récepteur Fc pour la chaîne constante des Ac.

**L'efficacité d'un traitement peut donc dépendre des polymorphismes des RFc $\gamma$**  : les patients possèdent une variation des chaînes des Ac et des RFc, conditionnant la réponse à une agression ou à un traitement. Les RFc $\gamma$  auraient donc un rôle dans l'activité des Ac et leurs performance.

**La liaison préférentielle des IgG1 et des IgG3 sur le RFc $\gamma$ III et augmentée pour certains polymorphismes explique le rôle préférentiel de ces isotypes dans l'ADCC.**

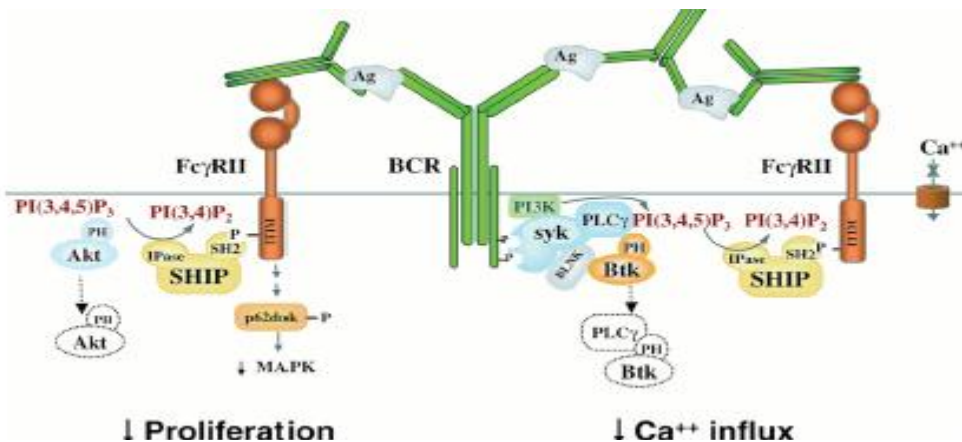
## 5) FcR inhibiteurs

Le principal FcR inhibiteur est le **FcγRIIb**.

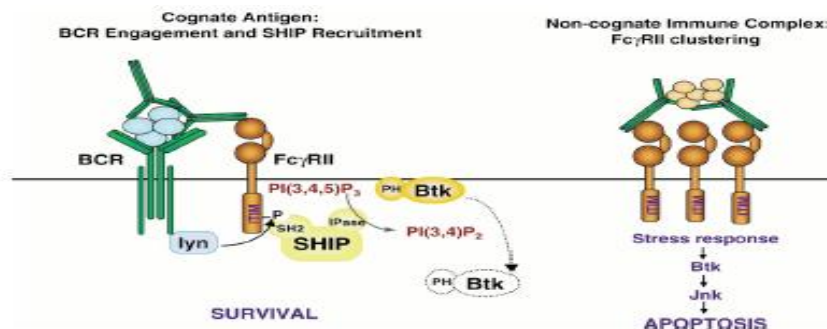
Ils appartiennent à la famille des récepteurs inhibiteurs du système immunitaire comme PIR-B, KIRs, CTLA-4, PD-1 ou CD22. Ces récepteurs sont situés à la surface d'une grande variété de cellules effectrices. Tous ces récepteurs possèdent un « alter-ego » activateur : CD28 est l'alter-ego activateur de CTLA-4.

FcγRIIb est donc un récepteur inhibiteur caractérisé par un **domaine ITIM** situé dans son domaine intracytoplasmique. **Le domaine ITIM inhibe l'activation de la cellule effectrice ainsi que sa prolifération, et peut même conduire à son apoptose.**

L'inhibition de la cellule effectrice est médiée par une **protéine kinase appelée SHIP**. **SHIP va diminuer l'influx de calcium, limitant l'activation, et inhibant la prolifération. Ce sont des mécanismes SHIP dépendant.**



Par contre, le phénomène d'apoptose cellulaire induite par le crosslinking de FcγRIIb est un mécanisme dépendant de la présence de facteurs de stress de type Abl, et est SHIP indépendant



FcγRIIb est le seul récepteur Fc qui est situé à la surface des lymphocytes B : il joue un **rôle dans l'homéostasie des lymphocytes B**. Il est aussi exprimé par la plupart des cellules du système immunitaire à l'exception des lymphocytes T et des cellules NK.

La présence de récepteurs Fc inhibiteurs à la surface des lymphocytes B permet de limiter la formation de lymphocytes B autoréactifs, qui vont être détruits ou inhibés grâce à la fixation d'Ac sur ces récepteurs. Des souris déficientes en FcγRIIb synthétisent des Ac autoréactifs et développent des manifestations auto-immunes. Les symptômes dépendent du polymorphisme de la souris.

**Le récepteur FcγRIIb aurait donc aussi un rôle dans la tolérance du système immunitaire, prévenant les maladies auto-immunes.**

#### 6) FcR neutres

Les récepteurs à activité neutres sur les cellules effectrices sont les **récepteurs Fcn (FcRn) ou récepteurs de Brambell.**

Ces récepteurs sont très largement exprimés, sont solubles et se fixent donc au segment Fc des Ac.

**Les FcRn ont uniquement pour rôle d'augmenter la demi-vie des Ac :** c'est une fonction importante en particulier chez le nourrisson. En effet, ces récepteurs vont permettre aux Ac présents dans le lait maternel de perdurer plus longtemps, et de protéger plus efficacement le nouveau-né.

#### 7) Intégration du signal

Les lymphocytes B n'expriment que des récepteurs Fc inhibiteurs, ce sont leurs Ac qui ont le rôle des récepteurs activateurs.

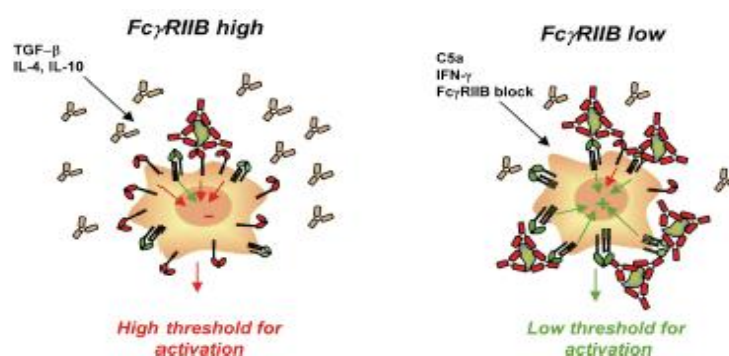
Mais la plupart des cellules effectrices possèdent des récepteurs Fc activateurs et inhibiteurs.

**L'activation ou l'inhibition de la cellule effectrice va donc dépendre de la résultante de l'intégration des signaux.** C'est un processus complexe car il existe de nombreuses classes de FcR, ainsi que de nombreuses classes et sous-classes d'Ac qui peuvent se fixer.

La résultante de l'intégration va donc déterminer si la cellule va s'activer ou s'inhiber, rester quiescente, ou entrer en apoptose. Mais le signal peut aussi être influencé par des facteurs extérieurs.

Le ratio entre FcR activateurs et inhibiteurs est régulé par des cytokines (IL-4, IL-10) et des facteurs de croissance (TGF-β) mais aussi par des médiateurs inflammatoires.

- **Les cytokines et le TGF-β vont favoriser la production de FcγRIIb, augmentant le seuil d'activation de la cellule cible**
- **Les médiateurs inflammatoires vont quant à eux inhiber la production de FcγRIIb, et favoriser la synthèse de FcR activateurs ce qui va diminuer le seuil d'activation de la cellule cible.**



Les cellules dendritiques possèdent des récepteurs FcγRIIb qui sont liés à des Ac en permanence, permettant le maintien des cellules à l'état immature. La fixation d'autres Ac à des récepteurs Fc activateurs va permettre à la cellule d'atteindre son seuil d'activation, ce qui va conduire à un signal déclenchant le processus de maturation de ces cellules.

### **III) Conclusion**

La recherche a donc prouvé le rôle des FcR dans plusieurs phases de la réponse immune. La réponse à certains traitements mais aussi le développement de maladies auto-immunes sont fortement corrélés à l'interaction entre les Ac et les FcR.

La manipulation de ces récepteurs Fc permettrait donc de nouvelles approches thérapeutiques, notamment en utilisant des cytokines pour faire varier le seuil d'activation de certaines cellules, permettant d'activer ou d'inhiber certaines cellules effectrices. L'activation de cellules effectrices favoriserait la réponse aux cellules tumorales, augmentant l'agressivité des cellules immunitaires et produisant des Ac plus efficaces. Au contraire, l'inhibition de certaines cellules effectrices serait un véritable tournant dans la thérapeutique des maladies auto-immunes.