

TRAVAIL DE MONOGRAPHIE DU BACCALAURÉAT UNIVERSITAIRE EN BIOLOGIE

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

2016 - 2017

Les gènes de régulation du Système Immunitaire chez l'humain

Shannon Mechoullam
GENEVA UNIVERSITY

DIRECTRICE DU TRAVAIL
Prof. Alicia Sanchez-Mazas
Département de Génétique et Evolution
Unité d'Anthropologie
Section de Biologie

Table des matières

Résumé	2
Introduction	2
Les complexes, leurs molécules et leurs fonctions	3
<i>Le complexe HLA</i>	3
<i>La structure des molécules HLA</i>	3
<i>Les différences entre les deux classes</i> :.....	4
1. Les molécules de classe I	5
2. Les molécules de classe II	6
L'expression des gènes CMH de classe I	7
<i>Facteurs et séquences régulatrices de l'expression des gènes de classe I- les premières découvertes</i>	7
<i>Régulation transcriptionnelle de l'expression HLA de classe Ia – les résultats récents</i>	8
<i>L'expression transcriptionnelle constitutive</i>	8
<i>Les facteurs influençant l'expression des gènes HLA classe I</i>	8
<i>L'expression induite par les cytokines</i>	9
La régulation des gènes CMH de classe II	10
<i>La régulation de l'expression des CMH classe II</i>	10
<i>Le trans-activateur de classe II</i>	11
<i>La régulation de CIITA</i>	12
<i>La régulation épigénétique du CMH de classe II</i>	12
Conclusion	14
Bibliographie	15

Résumé :

Le système HLA est au centre de la communication entre cellules et du maintien de la tolérance du soi. On distingue les molécules HLA de classe I de celles de classe II.

Les molécules HLA de classe I sont à la surface d'une majorité de cellules nucléées et permettent la présentation de peptides intracellulaires. Lorsqu'une molécule de HLA de classe I chargée d'un peptide rentre en contact avec un lymphocyte T CD8⁺, cela provoque une réaction immunitaire contre ledit peptide par activation de ces lymphocytes. Il s'agit d'une réaction cytotoxique. Les molécules HLA de classe II sont restreintes à certains types cellulaires. Ces cellules sont appelées cellules présentatrices d'antigènes professionnelles et présentent à leur surface des peptides extracellulaires.

La régulation des gènes HLA (de classes I et II) est fine et spécifique aux tissus. Elle est modulée par plusieurs promoteurs et facteurs de régulation qui vont avoir un effet sur l'expression constitutive et l'expression induite des molécules. En plus de ces facteurs, la modification de la chromatine joue un rôle important pour la transcription de ces gènes. Le gène HLA de classe I a 3 promoteurs et un de ceux-ci contient un module SXY crucial pour sa régulation. On retrouve d'ailleurs le même module chez le gène HLA de classe II. Certains facteurs sont communs aux deux classes. Le facteur clé de la régulation de la classe I est le NLRC5 et celui de la classe II est le CIITA, deux protéines provenant de la famille des NLR, des récepteurs de type NOD (*Nucleotid-binding Oligomerization Domain proteins*).

Ce travail traitera des différents acteurs impliqués dans la régulation du système immunitaire chez l'humain. La régulation par les cytokines sera approfondie pour le gène HLA de classe I, et la régulation par CIITA et des mécanismes épigénétiques pour les gènes de classe II.

Introduction :

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) est un système immunologique de reconnaissance du soi, que l'on trouve chez une majorité d'espèces de vertébrés (Reith, 2016). Chez l'humain, on définit ce système comme le système HLA (*Human Leukocyte Antigen*), subdivisé en différents complexes, les plus connus étant les complexes HLA de classe I et HLA de classe II.

Les molécules issues de ces complexes de gènes sont au centre de la communication entre cellules et participent à l'immunité cellulaire. Cette dernière fait partie de l'immunité adaptative dont les acteurs principaux sont les lymphocytes T. La particularité de ces complexes de gènes est qu'ils ne peuvent être identiques chez deux individus (sauf pour les jumeaux monozygotes); Les molécules HLA sont hautement polymorphiques, c'est-à-dire qu'il y a coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou locus particulier dans une population donnée (Henry et Gouyon, 2016).

Les protéines codées par les gènes HLA sont des molécules de surface que l'on trouve sur toutes les cellules de notre organisme dans le cas des molécules de classe I (à quelques exceptions près, p. ex. les globules rouges ou les cellules germinales). Les molécules HLA de classe II ne se trouvent qu'à la surface de certaines cellules spécialisées. Toute cellule n'ayant pas de molécule HLA, l'ayant perdu ou ayant une molécule HLA différente du soi est vue comme un corps étranger. Considérée comme une menace, le système immunitaire visera donc à l'éliminer.

Les complexes, leurs molécules et leurs fonctions

Le complexe HLA

La famille de gènes HLA est située sur le bras court du chromosome 6 et s'étend sur plus de 3,7 millions de paires de bases (Shiina et al., 2017). On ne trouve pas d'autres loci chez l'humain aussi polymorphique que celui-ci. Cela permet une régulation fine du système immunitaire.

La région HLA contient plus de 200 gènes (Williams, 2001) dont une majorité n'est pas apparentée au système immunitaire mais certains peuvent avoir un rôle indirectement fonctionnel. Ces différents gènes sont subdivisés en 3 groupes distincts : Les gènes HLA de classe I, classe II et classe III. Les gènes HLA impliqués dans la réponse immunitaire font partie des classes I et II, codant pour des protéines structurellement et fonctionnellement différentes. La région HLA de classe III code pour des composantes importantes dans les inflammations (Delves, 2017), comme les molécules du complément ou des facteurs comme le facteur B ou le TNF.

Les molécules HLA qui ont un rôle dans la fonction de présentation d'antigène et d'histocompatibilité sont appelées "classiques" (College Des Enseignants D'Immunologie, 2013). Les gènes HLA classiques de la région classe I sont composés de: HLA-A, HLA-B et HLA-C. La région HLA de classe II contient quant à elle 3 "paires" de gènes classiques. En réalité, on trouve la paire de gènes HLA-DP formée de HLA-DPA1 et HLA-DPB1, puis la paire HLA-DQ formée de DQA1 et DQB1 et finalement les gènes HLA-DR qui sont formés d'un gène HLA-DR α (HLA-DRA1) et d'un ou plusieurs gènes HLA-DR β (DRB1 et DRB3, DRB4 ou DRB5) (Parham, 2000). A savoir que les allèles HLA sont exprimés de manière co-dominante. Un individu peut donc exprimer de 3 à 6 molécules CMH de classe I différentes, et 3 à 8 molécules CMH de classe II différentes selon le nombre d'allèles et les configurations possibles.

Les molécules dites non-classiques de classe I sont HLA-G,-E et -F. Pour la classe II, on trouve HLA-DM et HLA-DO. La différence majeure entre les molécules dites classiques et non-classiques de classe I est leur polymorphisme (Kochan et al., 2013). Les molécules non-classiques manifestent un taux très bas de polymorphisme allélique contrairement aux autres, et participent à des fonctions spécialisées comme l'inhibition des cellules NK. Concernant la classe II, ce sont des molécules qu'on ne trouve pas à la surface cellulaire mais qui jouent un rôle dans la présentation de peptides à la surface des molécules classiques de classe II (Alfonso et Karlsson, 2000).

La structure des molécules HLA

Les produits des gènes HLA sont des glycoprotéines de membrane: des hétérodimères issus d'une chaîne α et d'une chaîne β liées de façon non-covalente (College Des Enseignants D'Immunologie, 2013).

La molécule HLA de classe I est formée d'une chaîne α codée par les gènes de classe I, et d'une chaîne β codée par le gène de la β_2 -microglobuline, situé sur le chromosome 15. La chaîne α est constituée de 5 domaines, dont 2 domaines de liaison à un peptide (α_1 et α_2) qui forment ensemble le sillon de présentation, un domaine immunoglobulinique (α_3), un domaine transmembranaire et une queue cytoplasmique (Klein et Sato, 2000). La chaîne α est polymorphe et la chaîne β ne l'est pas.

Chaque paire de gènes de HLA classe II code pour une chaîne α et une chaîne β extracellulaires qui ont toutes deux un domaine transmembranaire. Les domaines distaux de ces deux chaînes (α_1 et β_1) vont définir le sillon de présentation. En plus de ces domaines, on retrouve un domaine immunoglobulinique et une queue cytoplasmique par chaîne.

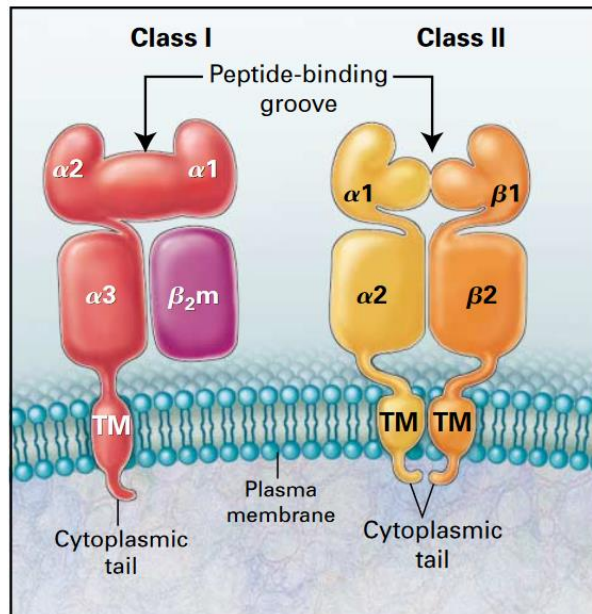


Figure 1 (Klein et Sato, 2000) Structure des molécules HLA de classe I et de classe II.

Les différences entre les deux classes :

Une des différences majeures entre les gènes HLA de classe I et de classe II est au niveau de leur expression.

Les gènes HLA de classe I sont exprimés de manière ubiquitaire et spécifique aux tissus. Chez un organisme sain, les molécules de classe I sont exprimées dans un état basal dans presque toutes les cellules nucléées (René et al., 2016). Leur densité va ensuite varier selon le type cellulaire mais aussi selon un contexte particulier (p. ex. dans une réaction inflammatoire, il peut y avoir augmentation de la densité) (Collège Des Enseignants D'Immunologie, 2013). Il y a forte densité de molécules CMH classe I ($\sim 10^5$ par cellule) sur les lymphocytes, les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques. On trouve une densité moyenne ($\sim 10^4$ par cellule) de CMH-I sur les cellules endothéliales et épithéliales, et une densité basse, voire absente sur la cornée, les glandes salivaires, les hématies...

A l'état basal, les molécules HLA de classe II sont exposées à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (ou APC), comme les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les lymphocytes T activés. L'activation de ces cellules, dans un contexte d'infection par exemple, peut ensuite mener à une augmentation de densité d'expression.

Le rôle des molécules CMH est donc la présentation d'antigènes peptidiques. Ces peptides sont alors reconnus par des lymphocytes T. Cependant, l'origine des peptides diffère selon la classe de la molécule CMH. De plus, chaque classe de molécules présente ces peptides à une famille de lymphocyte T particulière.

1. Les molécules de classe I

Les molécules de classe I vont présenter des fragments de protéines issus de l'intérieur de la cellule, le cytosol – mais on peut trouver des exceptions, comme par exemple lors de cross-présentation, où une cellule présentatrice d'antigène va capter une protéine d'origine extracellulaire, la traiter et la présenter à la surface d'une molécule HLA de classe I (Rock et Shen, 2005). Ce mécanisme permet la surveillance des tissus environnants.

La protéine cytoplasmique est traitée : elle est généralement d'origine virale, mais peut aussi provenir de protéines du «soi» issues d'une cellule défectueuse et/ou en fin de vie.

Les cellules sont dotées de protéasomes dont le rôle est de dégrader les protéines dites "étiquetées". Les protéines cytosoliques à éliminer sont ubiquitinées, dépliées par des chaperonnes, acheminées vers le protéasome, puis dégradées en fragments courts de longueurs variables. Les peptides issus de la dégradation peuvent avoir différents destins: dégradés en acides aminés dans le cytosol (Saric et al., 2004) ou transférés dans le réticulum endoplasmique (RE) grâce à un transporteur, le TAP (*Transporter associated with Antigen Processing*). Les peptides seront alors assemblés aux récepteurs de classe I dans le RE et seront exportés à la surface cellulaire par la voie de sécrétion.

Ce sont les lymphocytes T CD8⁺ qui répondront aux antigènes présentés par les molécules de classe I (Wissinger, 2017). Ces lymphocytes jouent donc un rôle central dans la défense contre les pathogènes intracellulaires (virus et bactéries) et dans la surveillance des tumeurs.

Une fois activées, les cellules CD8⁺ vont alors avoir différents mécanismes de défense pour tuer les cellules infectées ou malignes, comme notamment la sécrétion de cytokines, la sécrétion de granules cytotoxiques (p. ex. la perforine et la granzyme) et la destruction des cellules par l'intermédiaire des interactions de Fas/FasL. Les cellules CD8⁺ (aussi appelées cellules cytotoxiques) expriment à leur surface une cytokine, le ligand de Fas (FasL) qui se lie aux molécules Fas à la surface des cellules cibles (Parham, 2000). Les cellules cytotoxiques mènent donc à l'activation du programme d'apoptose chez les cellules hôtes cibles avec lesquelles elles rentrent en contact (Janeway et al., 2001). A savoir que le mécanisme d'apoptose peut agir directement sur les pathogènes cytosoliques, via des nucléases qui ont pour rôle de dégrader l'ADN cellulaire mais peuvent également détruire l'ADN viral. Cela aura pour effet d'empêcher la libération du contenu cytoplasmique dans le milieu et la formation d'autres particules virales, et ainsi de minimiser l'infection d'autres cellules.

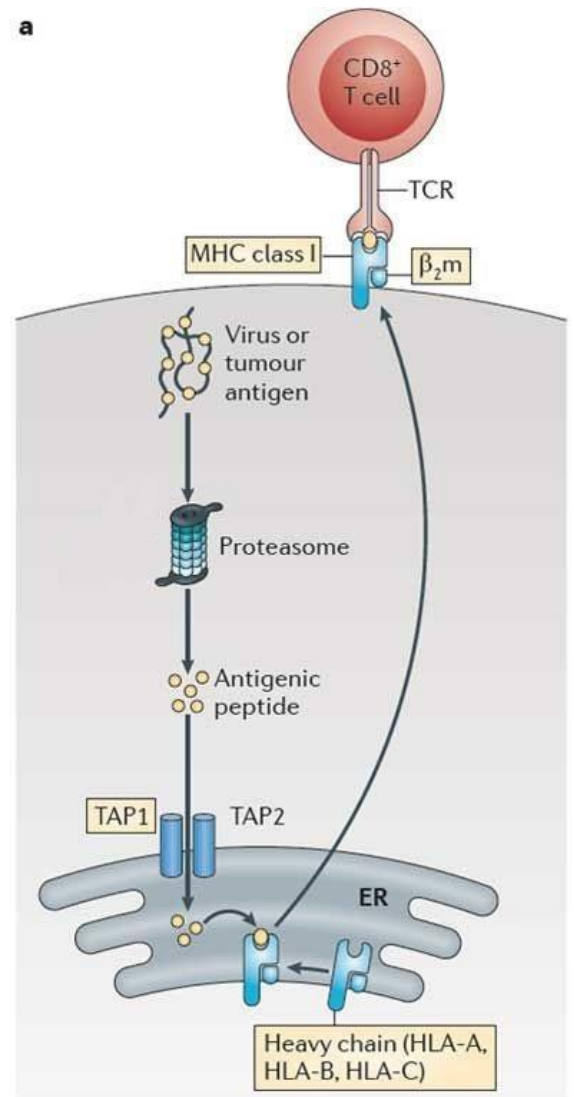


Figure 2 (Kobayashi et Van den Elsen, 2012) Les protéines intracellulaires (d'origine virale ou tumorale) sont traitées et exposées à la surface cellulaire et rentrent en contact avec un lymphocyte CD8⁺

2. Les molécules de classe II

Les molécules HLA de classe II vont présenter des antigènes provenant de l'extérieur de la cellule (sauf exception).

La molécule CMH de classe II, formée dans le réticulum endoplasmique, sera associée à une chaîne invariante (Ii), un trimère protéique dont chaque sous-unité va encombrer le sillon de présentation d'une molécule de classe II nouvellement formée et ainsi bloquer son accès aux antigènes présents dans le RE (Abbas et al., 2011). Les chaînes invariantes sont codées par un gène qui se situe hors du locus CMH, sur le chromosome 5, mais leur expression dans les tissus se fait de manière identique à celle des gènes CMH de classe II (Viville et Rabourdin-Combe, 1994). Cette chaîne a une séquence d'adressage vers l'endosome, et dirigera donc le complexe vers celui-ci par le biais de vésicules.

L'endosome a antérieurement internalisé des protéines extracellulaires et fusionné avec le lysosome qui apporte des protéases activées à pH acide. Les protéines sont dégradées par ces protéases et les peptides résultants représentent des ligands pour les molécules de classe II.

Après la fusion entre l'endosome et la vésicule contenant les molécules CMH II, il y a dégradation de la chaîne invariante par les protéases mais le site de liaison aux antigènes est toujours occupé par un peptide provenant d'une chaîne invariante. Le peptide en question est appelé CLIP (*classe II-associated invariant chain peptide*) et bloque donc la liaison des peptides extracellulaires avec les molécules CMH de classe II.

L'échange entre CLIP et un peptide sera alors catalysé par HLA-DM, une molécule codée par le complexe HLA mais qui diffère des autres molécules de classe II, et la molécule de classe II chargée pourra être présentée à la surface cellulaire.

Les lymphocytes T CD4⁺ (auxiliaires) vont interagir avec les CMH classe II, et leur activation mène à leur différenciation en différents sous-types d'effecteurs qui vont intervenir dans la réponse immunitaire en sécrétant des cytokines distinctes (Luckheeram et al., 2012). On trouve notamment une multitude de cellules T auxiliaires différentes dont l'activation va dépendre du contexte environnant. Les lymphocytes T CD4⁺ jouent un grand nombre de rôles qui vont de l'activation des cellules du système immunitaire inné (ILCs) à la suppression de la réaction immunitaire.

La réponse immunitaire est un système complexe dont une grande partie reste inexplorée. Si l'on connaît beaucoup de choses sur les différents acteurs de la réponse, on en connaît moins quant à sa régulation. La suite de ce travail vise à mettre en évidence des découvertes faites sur les gènes de régulation du système immunitaire.

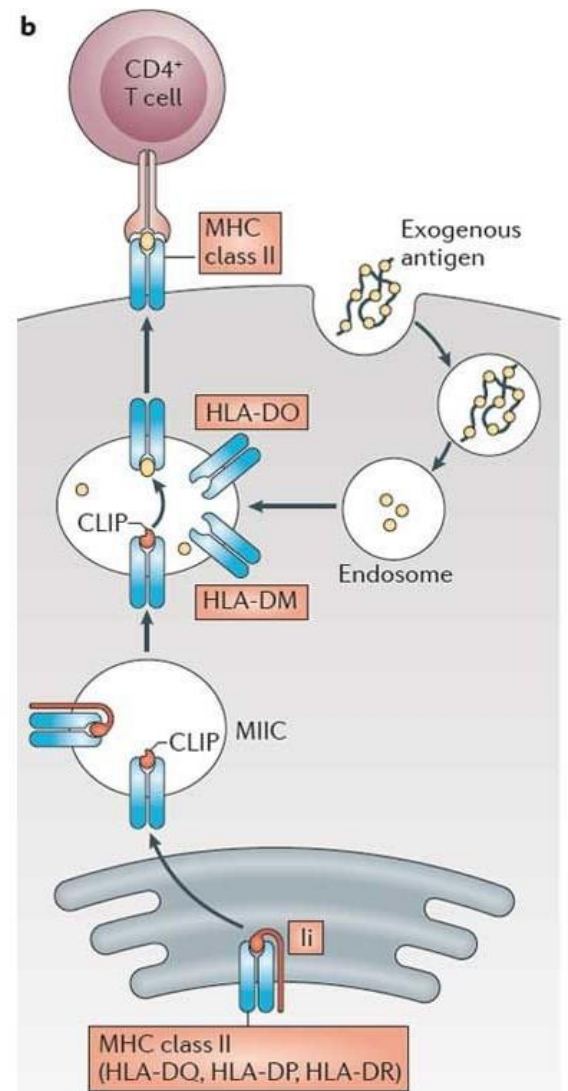


Figure 3 (Kobayashi et van den Elsen, 2012) Les protéines extracellulaires seront présentées aux lymphocytes T CD4⁺ à la surface cellulaire.

L'expression des gènes CMH de classe I

Comme dit précédemment, l'expression des gènes CMH de classe I diffère entre les tissus. Grâce à différentes techniques, on a pu mettre en évidence la présence de ces molécules dans les différents tissus mais aussi avec des niveaux d'expression différents.

Notamment, il a pu être mis en évidence, grâce à des anticorps dirigés vers les gènes HLA classiques (anti-HLA ABC), que les niveaux d'expression les plus hauts se trouvent les tissus lymphatiques (comprenant la rate, les ganglions lymphatiques et les lymphocytes) (René et al., 2016). Par l'utilisation de la cytométrie de flux employant des anticorps soit contre les molécules HLA de classe I, soit contre les molécules HLA-A2 spécifiquement, un plus grand taux d'expression de ces gènes a pu être décrit dans les lymphocytes B et les monocytes que dans les lymphocytes T et les granulocytes.

Une autre découverte intéressante a pu être faite sur l'expression de ces gènes sans le système nerveux central (SNC). Le SNC avait longtemps été considéré comme "immunisé" du fait qu'aucune expression des molécules HLA n'avait pu être détectée sur la membrane cellulaire. Cependant, des études récentes ont révélé l'expression d'ARNm de classe I dans les neurones et les cellules gliales de plusieurs régions cérébrales. Des molécules HLA de classe I avaient été ensuite identifiées sur la membrane plasmique des axones et des neurones en culture (René et al., 2016). Ces molécules réguleraient différents aspects du développement du cerveau comme la plasticité homéostatique ou la formation des synapses (McAllister, 2014).

Facteurs et séquences régulatrices de l'expression des gènes de classe I- les premières découvertes

Dans un premier temps, il a pu être mis en évidence par plusieurs études que la région adjacente à l'extrémité 5' des gènes CMH de classe I joue un rôle important dans leur expression (Ting et Baldwin, 1993). Il a été prouvé que cette région en aval n'est pas toujours occupée par des protéines de liaison à l'ADN, cela dépend du tissu d'origine.

In vivo, trois sites de liaison à des protéines de liaison à l'ADN ont pu être démontrés par l'étude de Dey et collaborateurs (Dey et al., 1992): Une région *enhancer*, une région IRE (*interferon response element*), et une région appelée α par l'auteur, en aval de IRE. La région α comprendrait un élément sensible aux concentrations d'AMPc et son activité dépendrait du tissu d'origine. De plus, de nombreux sites présentés comme des éléments cis-régulateurs fonctionnels dans des expériences d'expression transitoires étaient effectivement occupés dans des cellules qui présentaient des CMH de classe I à leur surface. Dans les expériences in vitro, les régions d'ADN entre -209 et -160 et -85 et -60 en amont du gène CMH de classe I avaient pu être démontrées comme importantes.

L'étude de Maguire et collaborateurs (Maguire et al., 1992) avait également présenté des évidences de différentes interactions entre *silencer* et *enhancer* selon le tissu. Les auteurs ont démontré une région combinée *silencer/enhancer* entre les positions -769 et -690, une région *silencer* entre les positions -489 et -395 et une région *enhancer* entre les positions -212 et -152. Les différents *silencers* auront des activités différentes selon le type cellulaire. Par exemple, le *silencer* le plus en amont aura une activité plus « efficace » dans les lymphocytes que dans les lignées cellulaires lymphoblastiques, mais le *silencer* entre le -489 et -395 est actif dans les deux types cellulaires. Dans les lignées lymphoblastiques, il y aurait un facteur de liaison à l'*enhancer* qui se lierait à l'ADN au niveau de la région -769 et -690 mais pas de facteur de liaison au *silencer*. Il y aurait ensuite des facteurs de liaison au *silencer* liés à l'ADN dans les deux types cellulaires.

Régulation transcriptionnelle de l'expression HLA de classe I – les résultats récents

Comme dit précédemment, la transcription basale des gènes HLA va dépendre des voies de signalisation correspondant aux différents tissus (René et al., 2016). Ce niveau de base est ensuite modulé dynamiquement par des voies de signalisation qui diminueront ou augmenteront l'expression en réponse à différents stimuli comme des cytokines, des stimuli d'origine virale ou des protéines de tumeurs.

La transcription de type basale et celle activée dynamiquement sont modulées par des domaines génomiques distincts : Un promoteur distal (entre -800 et -700 paires de bases (pb) en amont de la région de transcription) responsable de l'expression tissu-spécifique ; un promoteur proximal (entre -500 et -50 pb) responsable de l'expression basale et activée, et un promoteur minimal contenant la séquence de liaison du complexe de l'ARN polymérase.

L'expression transcriptionnelle constitutive

La transcription basale est activée à deux sites majeurs, à -18 et -14 pb (René et al., 2016). Elle est activée par un facteur de transcription général TAF1 interagissant avec le promoteur minimal. Celui-ci contient plusieurs sites dont une CCAA-box, une TATA-box, un motif *Initiator-like* et un site de liaison au Sp1, un facteur de transcription avec un motif à doigts de Zinc.

On a pu identifier également 3 éléments (GLE, DPE-L1, and DPE-L2) en aval entre +1 et +32 pb qui régulent l'expression constitutive et induite des gènes HLA de classe I en augmentant sélectivement l'utilisation des sites d'initiation à la transcription.

Le promoteur proximal contient des éléments similaires pour les deux types de gènes HLA (I et II) et le gène β 2-microglobuline. Il s'agit du module SXY, formé par les boîtes W/S, X1, X2 et Y. La boîte X1 est liée par le complexe du « facteur de régulation exprimé constitutivement » (RFX) qui est composé de RFX5, RFXAP, and RFXANK/RFXB. La boîte X2 est, quant à elle, liée par une protéine de liaison aux éléments sensibles aux AMPc (CREB) et un facteur de transcription activateur (ATF1). Finalement, la boîte Y est liée par un facteur de transcription nucléaire (NFY). Le facteur qui interagit avec la boîte W/S n'est cependant pas encore défini.

On trouve d'autres facteurs qui vont également réguler l'expression du gène toujours par le promoteur proximal, sans se lier directement à la boîte SXY. On trouve par exemple les protéines c-Jun/AP-1 qui régulent négativement l'expression des gènes de classe I. Il y a également un facteur important, faisant partie de la famille des NLR (NOD-like receptors), nommé NLRC5, dont on a pu prouver le rôle-clé dans la transcription des gènes CMH de classe I. NLRC5 interagit avec le complexe RFX et est donc indirectement lié au motif SXY. Il coopère avec ATF1 pour le recrutement de CPB (CREB binding protein)/p300 et de l'histone acétyltransférase GCN5 (HATs).

Les facteurs influençant l'expression des gènes HLA de classe I

En plus des quelques facteurs déjà mentionnés comme les cytokines, des stimuli d'origine virale ou des protéines de tumeurs à l'origine d'une variation de la transcription, on trouve également d'autres stimuli comme des régulations épigénétiques, la régulation de l'expression tissu-spécifique, et l'expression dépendant d'hormones.

Par exemple, pour la régulation épigénétique, il a pu être mis en évidence que la régulation du gène HLA se faisait en fonction de ses allèles et qu'un mécanisme épigénétique permettait cette régulation.

Le promoteur HLA-A est méthylé au niveau des îlots CpG, à différents sites selon les allèles. Les allèles HLA-B et HLA-C sont dans une configuration déméthylée, contrairement aux allèles HLA-A.

En revanche, pour l'expression dépendant d'hormones: au niveau des thyrocytes, il y a expression d'une hormone appelée TSH qui a pour effet de diminuer la transcription du gène HLA classe I et donc son expression à la surface cellulaire. Son effet est médié par l'AMPc, qui aura pour finalité de phosphoryler des facteurs de transcription qui se lieront aux éléments CRE. TSH est un exemple parmi d'autres, on trouve aussi l'hydrocortisone, l'insuline ou IGF-1 qui auront également un effet négatif sur la régulation des gènes HLA de classe I. Des hauts niveaux de glucose auront l'effet contraire.

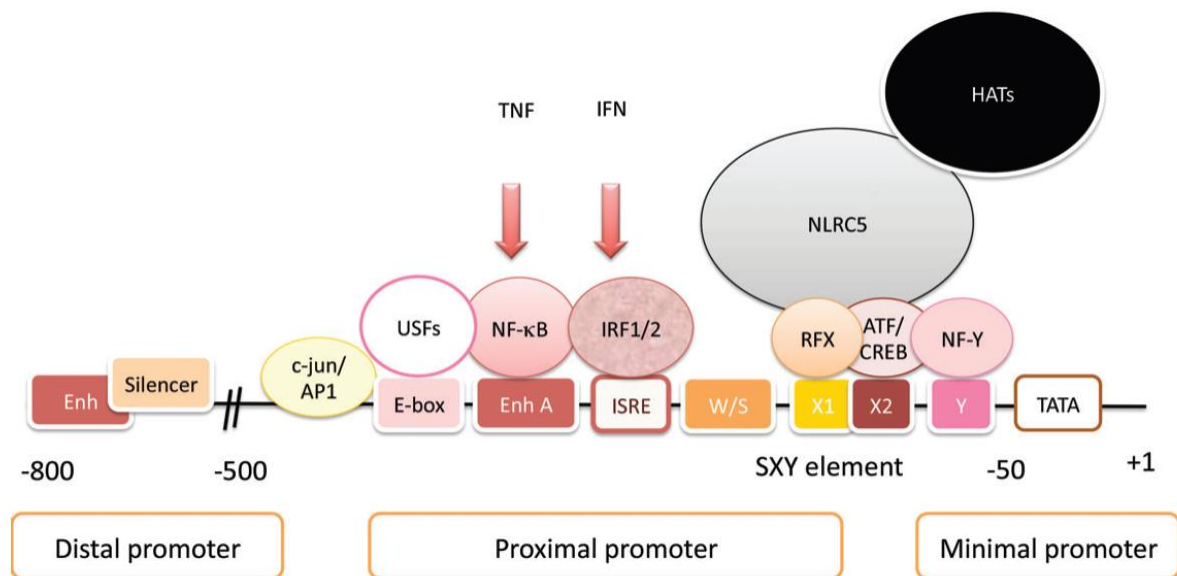


Figure 4 (René et al., 2016) Structure des promoteurs du gène HLA de classe 1. Le promoteur proximal contient donc les éléments nécessaires à l'expression constitutive et induite du gène par les cytokines et les hormones.

L'expression induite par les cytokines

A savoir qu'on trouve d'autres éléments dans le promoteur proximal, des éléments régulateurs conservés qui auront un rôle dans l'expression induite du gène. En plus du module SXY que nous avons mentionné, il a été mis en évidence un *enhancer* (*enhancer A*) et une région ISRE – un élément de réponse stimulé par les interférons (van den Elsen, 2011).

Dans les promoteurs de classe I, l'*enhancer* est lié par des facteurs nucléaires, NF-κB, qui jouent un rôle important dans l'expression constitutive et dans celle induite par les TNFα.

Les IFNγ (des cytokines de type II) sont synthétisés en réponse à une infection virale et ils sont connus pour avoir la capacité d'activer l'expression des gènes HLA (Keskinen et al., 1997). La région ISRE est liée par des facteurs de régulation d'interféron (IRF), tels qu'IRF-1 qui agit comme un activateur et IRF-2 comme un répresseur. Après stimulation par des IFNγ, l'IRF-1 remplace l'IRF2 et devient ainsi le facteur dominant sur la région ISRE.

Les deux facteurs, NF-κB et IRFs, sont des intermédiaires dans la voie d'activation des gènes par TNFα et IFNγ. Les éléments de l'Enhancer A et de l'ISRE agissent de manière coopérative et servent de médiateurs pour la synergie entre les deux cytokines.

Comme mentionné précédemment, NLRC5 est présenté comme un autre élément-clé de la régulation et de l'expression constitutive et induite des gènes CMH de classe I, chez les souris et chez les humains (Kobayashi et van den Elsen, 2012). Il agit comme un trans-activateur qui s'associe spécifiquement avec les gènes de classe I et active leurs promoteurs en agissant sur les modules SXY. NLRC5 est

exprimé constitutivement dans différents tissus mais peut être induit efficacement par l'expression d'IFN γ à travers STAT1, qui mène à l'expression des gènes HLA de classe I classiques et un non-classique (HLA-E).

TGF- β est une cytokine qui minimise l'expression de HLA-I et son rôle a pu être mis en évidence dans certains cancers (Chen et al., 2015). En réduisant l'expression des HLA-I dans certaines cellules tumorales, TGF- β leur permet donc d'échapper à la lyse cellulaire. TGF- β 1 agit plus précisément sur l'expression des gènes par le biais de 2 éléments en cis, l'Enhancer A et la séquence CRE de la boîte SXY (Napolitano et al. 2000). C-jun joue un rôle important dans la minimisation de l'expression des HLA-I et son expression est augmentée quand il rentre en contact avec TGF- β 1. L'augmentation des niveaux de c-jun mène à la formation d'un nouveau complexe comprenant c-jun, fra-2, ATF-1 et c-fos qui vont réagir avec l'Enhancer A et la région de SXY.

La régulation des gènes CMH de classe II

La régulation des gènes CMH de classe II a été très étudiée chez les patients sains comme chez les patients malades (Reith et al., 2005). Les connaissances actuelles ont d'ailleurs pu être acquises grâce à l'étude d'un syndrome d'immunodéficience appelé « syndrome de lymphocyte dénudé » ou BLS, ainsi que par l'utilisation de plusieurs souris knockout pour différents gènes.

Les molécules CMH de classe II jouent un rôle central pour la sélection positive et négative des lymphocytes T CD4⁺, et l'homéostasie des lymphocytes T CD4⁺ matures en périphérie (Reith et al., 2005). Ces molécules sont donc importantes pour le maintien de la tolérance du soi et sont impliquées dans la dégradation de la tolérance dans les maladies auto-immunes. Elles jouent également un rôle important dans l'amplification et la régulation de la réponse immune dans le cas de tumeurs et de pathogènes. L'expression des molécules CMH de classe II est donc limitée aux cellules épithéliales du thymus et aux cellules APC, comme mentionné auparavant.

Cependant, l'expression des gènes CMH de classe II peut être induite chez certaines cellules comme les astrocytes, les cellules épithéliales ou les fibroblastes qui en temps normal n'expriment pas ces molécules, à moins d'être mises en contact avec un environnement ou un stimulus spécifique (Holling et al., 2004). Le stimulus le plus puissant est l'IFN- γ produit à la suite de traumatismes, d'infections et d'inflammations, mais il existe d'autres stimuli secondaires tels que TGF- β , IFN- β , TNF, comme dans le cas des CMH de classe I.

La régulation de l'expression des CMH classe II

Le gène type CMH de classe II a une structure similaire au gène de classe I, et est également précédé du module SXY formé par les boîtes W/S, X1, X2 et Y. Le module de régulation conservé se trouve entre 150-300 pb en amont de tous les CMH de classe II. On le trouve dans les promoteurs des gènes codant pour la chaîne α et la chaîne β des trois isotypes (HLA-DP, HLA-DQ et HLA-DR) mais aussi pour les gènes codant pour la chaîne invariante (Ii) et les molécules « non-classiques » de classe II (HLA-DM et HLA-DO).

Quatre régulateurs-clés agissant en *trans* sur le module SXY ont pu être identifiés en étudiant une lignée de cellules B ayant des défauts d'expression des molécules CMH de classe II ou en isolant les gènes mutés chez des patients atteints de BLS. Le BLS est une maladie génétiquement très hétérogène mais causée par des mutations dans les gènes des facteurs de régulation CIITA, RFX5, RFXAP et RFXANK. Ces gènes sont essentiels pour le bon fonctionnement de l'expression des gènes CMH de classe II.

Comme pour le module SXY de classe I, RFX (le complexe hétéro-trimérique formé par RFX5, RFXAP et RFXANK) se lie spécifiquement à la boîte X1, CREB se lie à X2, NFY se lie à Y et le facteur liant la boîte W/S n'est pas identifié.

Le complexe formé par les différentes protéines liées au module communément appelé « enhanceosome » forme une plateforme de recrutement pour la protéine CIITA. Ce recrutement se fait grâce à plusieurs interactions protéines-protéines à effet cumulatif. L'enhanceosome et CIITA travaillent ensemble pour l'activation des gènes CMH de classe II.

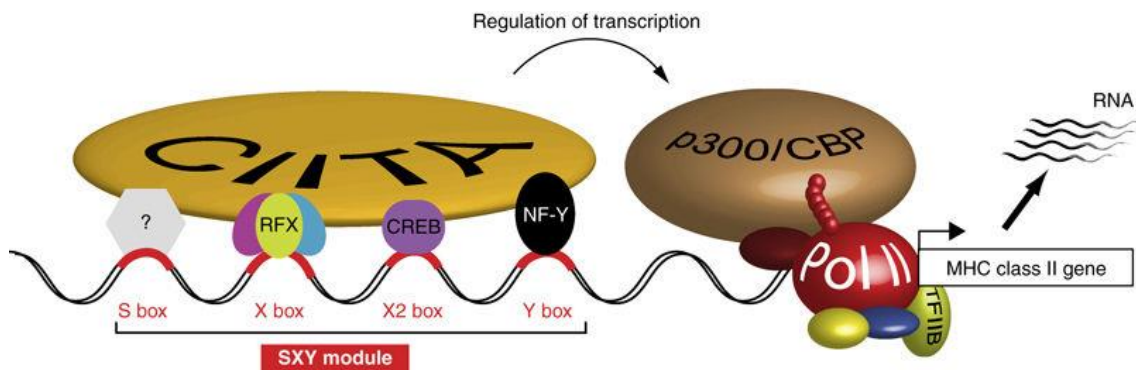


Figure 5 (Handunnetthi et al., 2010) Représentation schématique de la régulation des gènes de CMH classe II. Les différentes protéines liées aux boîtes forment l'enhanceosome pour permettre le recrutement de CIITA, le régulateur de la transcription.

Cependant, le promoteur proximal n'est pas suffisant pour expliquer l'expression des gènes CMH de classe II, et ceci a pu être constaté chez des souris transgéniques (Handunnetthi et al., 2010). L'expression du gène H2-Ea (un gène de souris codant pour l'histocompatibilité 2, l'antigène E alpha de classe II) dans la lignée des cellules B a besoin du promoteur proximal mais aussi d'une région distale située à longue distance du gène et dont la délétion mène à une réduction de l'expression du gène H2-Ea. Toutefois, cette réduction ne se fait pas dans la lignée des cellules thymiques et indique donc que l'expression est spécifique au tissu et avec une variation agissant en cis. L'analyse de cette séquence a révélé une région semblable au module SXY mais disposée de manière inversée et située à environ 1.4 kilobases du site d'initiation de la transcription. Il y a en réalité plusieurs sites SXY distaux, qui jouent un rôle d'amplificateur. Ces différents sites participent à une régulation plus fine et à longue distance.

Le trans-activateur de classe II

La protéine CIITA fait partie de la famille des protéines NOD, du fait de son domaine central de liaison au GTP et de son extrémité C-terminale formée par des répétitions riches en leucine (domaine LRRs) (Reith et al., 2005). L'association de ces deux domaines est propre à cette famille de protéines. Une partie de l'extrémité C-terminale sert à la localisation de la protéine dans le noyau, au recrutement à l'enhanceosome et à l'auto-association, c'est-à-dire l'interaction d'une protéine CIITA avec une autre protéine CIITA. Une partie de l'extrémité N-terminale, quant à elle, contient des domaines d'activation de transcription qui jouent un rôle (supposé) d'intermédiaire dans les interactions avec les protéines effectrices. Ces protéines favorisent la transcription et on trouve parmi celles-ci des composants de la machinerie de transcription générale, des facteurs impliqués dans le remodelage de la chromatine, etc.

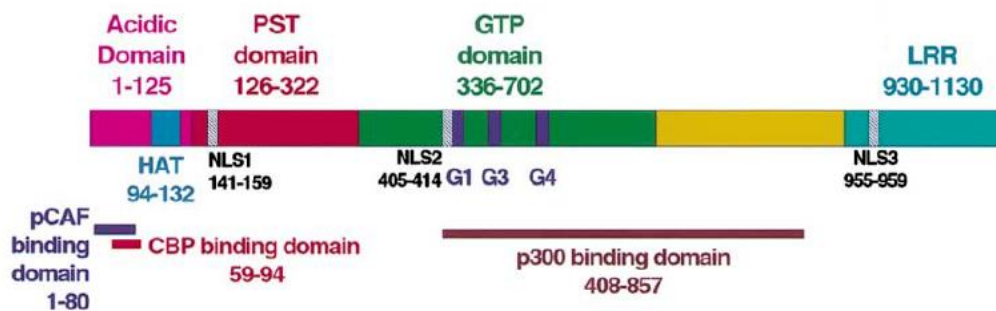


Figure 6, modifiée d'après (Ting et Trowsdale, 2002) Structure de la protéine CIITA avec ses différents domaines. Le domaine acide est nécessaire pour la fonction de transactivation.

CIITA fonctionne alors comme un co-activateur, sans liaison directe à l'ADN, et est impliqué dans l'activation de la transcription par l'utilisation de plusieurs mécanismes. Il est d'ailleurs rapporté comme ayant une activité histone acétyltransférase (HAT). Parmi les autres mécanismes, on trouve le recrutement de composants tels que TFIID et TFIIB qui font partie de la machinerie d'initiation de la transcription, l'interaction avec des facteurs d'élongation (P-TERFb), la phosphorylation de l'ARN polymérase II et le recrutement de co-activateurs qui vont modifier l'accessibilité de la chromatine en induisant la méthylation ou l'acétylation des histones.

La fonction de CIITA est également modulée par des modifications post-traductionnelles. Dans un premier temps, la phosphorylation de certains types de ses résidus peut maximiser son interaction avec des facteurs-clés et sa capacité à *trans*-activer les promoteurs de classe II. Une phosphorylation d'autres types de résidus peut mener à la diminution de ses fonctions dans un second temps.

La régulation de CIITA

La plupart des composants de l'enhanceosome sont produits en grande quantité dans la majorité des types cellulaires sans lien avec le niveau d'expression du gène CMH de classe II. La concentration de CIITA dans la cellule est, pour sa part, contrôlée (Handunnetthi et al., 2010). Son expression est généralement régulée au niveau de sa transcription, mais peut être également modulée par des changements de stabilité au niveau des ARNm ou des protéines (Reith et al., 2005).

La transcription de CIITA est modulée par une grande région régulatrice formée de 3 promoteurs chez la souris, appelés pI, pIII et pIV, dont les fonctions varient (Duraes et al., 2013). Chaque promoteur produit des isoformes qui diffèrent en leur extrémité N-terminale (Choi et al., 2011). Le pI est essentiel à l'expression de CIITA dans les macrophages activés et les cellules dendritiques classiques. pIII mène à l'expression de CIITA dans les cellules B et les cellules dendritiques plasmacytoïdes. L'expression de CIITA dans les cellules non-hématopoïétiques se fait par pIV.

Similairement à NLRC5, l'expression de CIITA peut être induite par l'IFN γ , et cette expression peut être ensuite régulée négativement par d'autres cytokines comme TGF- β ou IL-10 (Kobayashi et van den Elsen, 2012). L'expression de CIITA et donc des gènes CMH de classe II peut être induite par STAT1 après liaison à IFN γ . Ainsi, la régulation des gènes CMH de classe I et classe II se fait par deux membres de la famille des NLR/NOD, NLRC5 et CIITA.

La régulation épigénétique des gènes CMH de classe II

Comme déjà mentionné, les modifications post-traductionnelles sont essentielles pour la modulation de CIITA (Choi et al., 2011). Plus précisément, l'acétylation de CIITA par l'acétyltransférase PCAF et CBP

est considérée comme importante pour sa localisation nucléaire et son activité. La mono-ubiquitination de CIITA permet la stabilisation de la protéine au promoteur du gène CMH de classe II, grâce à la phosphorylation d'une sérine avoisinante au préalable. Au contraire, l'histone désacétylase de classe I (HDAC1) joue un rôle négatif sur CIITA en interagissant avec lui et empêche ainsi son interaction avec l'enhanceosome. HDAC2, quant à lui, provoque sa dégradation protéosomale en le désacétylant de manière directe.

Le remodelage des nucléosomes est essentiel pour l'expression ou l'inhibition d'un gène. L'acétylation des histones est importante pour l'expression des gènes de CMH de classe II. Suite à une induction par IFN γ , il y a acétylation de l'histone H4 en parallèle au recrutement de la polymérase II précédant l'initiation de la transcription. Les taux d'acétylation d'H3 augmentent avec la transcription de l'ARNm et sont dépendants de l'élongation de l'ARN polymérase II.

Il existe au moins 4 complexes qui vont agir sur le promoteur du gène CMH-II et mener à des modifications d'expression (Choi et al., 2011) : CBP/p300, COMPASS/MLL, STAGA/ATAC (SPT3–TAF9–GCN5/PCAF/Ada Two-A-containing) et SWI/SNF.

CBP/p300, PCAF, and GCN5 sont des histones acétyltransférases recrutés au promoteur du gène CMH-II par CIITA. Ils sont à l'origine de toutes les marques d'acétylation associées à l'activation des promoteurs. Sug1, une ATPase composant la sous-unité 19S du protéasome dans le noyau, s'associe avec le H3 acétylé et semble nécessaire pour augmenter l'acétylation ou la stabilité de ce marquage. Sug1 s'associe également avec CPB et semble nécessaire pour son recrutement.

L'hyperacétylation des histones par l'inhibition des HDACs induit le recrutement des composantes de l'enhanceosome mais mène aussi à l'activation des gènes CMH de classe II en absence de CIITA.

Le complexe COMPASS/MLL est à l'origine de la méthylation de la lysine 4 de l'histone 3 (H3K4me) chez la levure comme chez l'humain. Cette modification de l'histone est associée à la compétence transcriptionnelle d'une région et suggère un mécanisme de "mémoire" grâce au remodelage chromosomique. Cette modification peut donc avoir un effet durable sur l'expression des gènes après la fin du stimulus. Le complexe ainsi que tous ses effecteurs sont recrutés au promoteur après une induction à l'IFN γ .

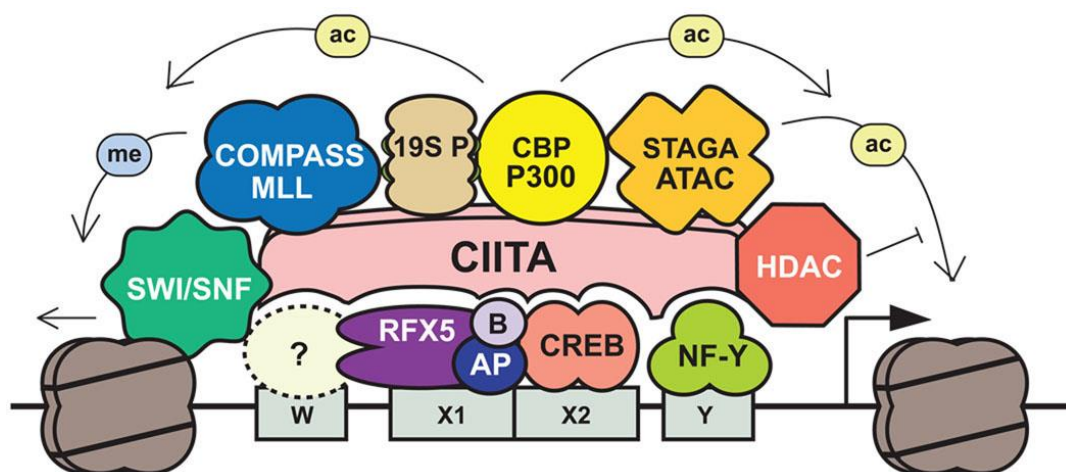


Figure 7 (Choi et al., 2011) Schéma du promoteur proximal du gène CMH classe II. CIITA recrute des co-activateurs transcriptionnels et des complexes qui module l'activité de l'enhanceosome et modifie les nucléosomes.

La régulation des gènes CMH-II est complexe avec de nombreuses voies de signalisation qui vont modifier les facteurs de transcription mais aussi la machinerie de compactage de la chromatine.

Conclusion

En plus des différences structurales et fonctionnelles des différentes classes, on a pu mettre en évidence des variations quant à la régulation de ces complexes. La molécule CMH de classe I qui est ubiquitaire sur un grand nombre de cellules provient d'un gène à une expression constitutive, modulée ensuite par différents facteurs comme les cytokines TNF ou IFN. Le gène est précédé de plusieurs promoteurs qui participent à une régulation contrôlée et rapide en cas de changement de l'environnement. Les molécules CMH de classe II qu'on trouve sur un nombre réduit de cellules proviennent d'un gène qui comprend aussi un module SXY dans son promoteur. Cependant, la protéine CIITA semble être au centre de la transcription constitutive et induite, en interagissant avec la région SXY. CIITA joue le rôle de plateforme de recrutement, et est aussi impliqué dans les différentes modifications de la chromatine comme l'acétylation, la méthylation, etc. CIITA est d'ailleurs régulé grâce à une région régulatrice de plusieurs promoteurs, dont l'activation dépendra des tissus et du contexte environnant.

Malgré des recherches nombreuses, il reste encore beaucoup à apprendre sur ce sujet. La régulation de ces deux complexes est faite à différents niveaux. Une meilleure connaissance de ceux-ci permet de mieux comprendre certaines maladies ou dysfonctionnements du système immunitaire comme les maladies auto-immunes, les rejets de greffes ou les inflammations chroniques. Les différents niveaux de régulation représentent donc plusieurs cibles de traitements thérapeutiques. Notamment, une meilleure compréhension des mécanismes épigénétiques permet une approche nouvelle pour la création de traitements, comme des enzymes qui ont pour but de modifier les histones et la compaction de l'ADN (van den Elsen, 2011). Ainsi, une meilleure compréhension de ces systèmes permet une meilleure prise en charge.

Bibliographie

- Abbas, Abul K., Andrew H. H. Lichtman, et Shiv Pillai. 2011. *Cellular and Molecular Immunology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Alfonso, C., et L. Karlsson. 2000. « Nonclassical MHC Class II Molecules ». *Annual Review of Immunology* 18: 113-42. doi:10.1146/annurev.immunol.18.1.113.
- Charles A Janeway, Jr, Paul Travers, Mark Walport, et Mark J. Shlomchik. 2001. « T Cell-Mediated Cytotoxicity ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27101/>.
- Chen, Xiao-Hui, Zong-Cai Liu, Ge Zhang, Wei Wei, Xiao-Xiong Wang, Hao Wang, Hong-Peng Ke, et al. 2015. « TGF- β and EGF Induced HLA-I Downregulation Is Associated with Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) through Upregulation of Snail in Prostate Cancer Cells ». *Molecular Immunology* 65 (1): 34-42. doi:10.1016/j.molimm.2014.12.017.
- Choi, Nancy M., Parimal Majumder, et Jeremy M. Boss. 2011. « Regulation of major histocompatibility complex class II genes ». *Current opinion in immunology* 23 (1): 81-87. doi:10.1016/j.coi.2010.09.007.
- College Des Enseignants D'Immunologie. 2013. *Immunologie fondamentale et immunopathologie: Enseignements thématique et intégré*. Elsevier-Masson.
- Delves, Peter J. 2017. « Human Leukocyte Antigen (HLA) System - Immunology; Allergic Disorders ». *Merck Manuals Professional Edition*. Consulté le août 19. <http://www.merckmanuals.com/professional/immunology-allergic-disorders/biology-of-the-immune-system/human-leukocyte-antigen-hla-system>.
- Dey, A., A. M. Thornton, M. Lonergan, S. M. Weissman, J. W. Chamberlain, et K. Ozato. 1992. « Occupancy of Upstream Regulatory Sites in Vivo Coincides with Major Histocompatibility Complex Class I Gene Expression in Mouse Tissues ». *Molecular and Cellular Biology* 12 (8): 3590-99.
- Duraes, F. V., C. Thelemann, K. Sarter, H. Acha-Orbea, S. Hugues, et W. Reith. 2013. « Role of Major Histocompatibility Complex Class II Expression by Non-Hematopoietic Cells in Autoimmune and Inflammatory Disorders: Facts and Fiction ». *Tissue Antigens* 82 (1): 1-15. doi:10.1111/tan.12136.
- Elsen, Peter J. van den. 2011. « Expression Regulation of Major Histocompatibility Complex Class I and Class II Encoding Genes ». *Frontiers in Immunology* 2 (octobre). doi:10.3389/fimmu.2011.00048.
- Handunnetthi, L., S. V. Ramagopalan, G. C. Ebers, et J. C. Knight. 2010. « Regulation of Major Histocompatibility Complex Class II Gene Expression, Genetic Variation and Disease ». *Genes and Immunity* 11 (2): 99-112. doi:10.1038/gene.2009.83.
- Holling, Tjadine M, Erik Schooten, et Peter J van Den Elsen. 2004. « Function and regulation of MHC class II molecules in T-lymphocytes: of mice and men ». *Human Immunology* 65 (4): 282-90. doi:10.1016/j.humimm.2004.01.005.
- Henry, J-P., Gouyon P-H., 1999. *Précis de génétique des populations, Cours, exercices et problèmes résolus*. Dunod
- Keskinen, P., T. Ronni, S. Matikainen, A. Lehtonen, et I. Julkunen. 1997. « Regulation of HLA Class I and II Expression by Interferons and Influenza A Virus in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells ». *Immunology* 91 (3): 421-29. doi:10.1046/j.1365-2567.1997.00258.x.
- Klein, J., et A. Sato. 2000. « The HLA System. First of Two Parts ». *The New England Journal of Medicine* 343 (10): 702-9. doi:10.1056/NEJM200009073431006.
- Kobayashi, Koichi S., et Peter J. van den Elsen. 2012. « NLRC5: A Key Regulator of MHC Class I-Dependent Immune Responses ». *Nature Reviews Immunology* 12 (12): 813-20. doi:10.1038/nri3339.
- Kochan, Grazyna, David Escors, Karine Breckpot, et David Guerrero-Setas. 2013. « Role of non-classical MHC class I molecules in cancer immunosuppression ». *Oncoimmunology* 2 (11). doi:10.4161/onci.26491.

- Luckheeram, Rishi Vishal, Rui Zhou, Asha Devi Verma, et Bing Xia. 2012. « CD4⁺T Cells: Differentiation and Functions ». *Clinical & Developmental Immunology* 2012: 925135. doi:10.1155/2012/925135.
- Maguire, J. E., W. I. Frels, J. C. Richardson, J. D. Weissman, et D. S. Singer. 1992. « In Vivo Function of Regulatory DNA Sequence Elements of a Major Histocompatibility Complex Class I Gene ». *Molecular and Cellular Biology* 12 (7): 3078-86.
- McAllister, A. Kimberley. 2014. « Major Histocompatibility Complex I in Brain Development and Schizophrenia ». *Biological Psychiatry, Neuroimmune Mechanisms Related to Psychosis*, 75 (4): 262-68. doi:10.1016/j.biopsych.2013.10.003.
- Napolitano, Giorgio, Valeria Montani, Cesidio Giuliani, Simonetta Di Vincenzo, Ines Bucci, Valentina Todisco, Giovanna Laglia, et al. 2000. « Transforming Growth Factor- β 1 Down-Regulation of Major Histocompatibility Complex Class I in Thyrocytes: Coordinate Regulation Of Two Separate Elements by Thyroid-Specific as Well as Ubiquitous Transcription Factors ». *Molecular Endocrinology* 14 (4): 486-505. doi:10.1210/mend.14.4.0454.
- Parham, P. 2000. *The Immune System*. Garland Publishing/Elsevier Science Ltd
- Reith, Walter, Salomé LeibundGut-Landmann, et Jean-Marc Waldburger. 2005. « Regulation of MHC Class II Gene Expression by the Class II Transactivator ». *Nature Reviews. Immunology* 5 (10): 793-806. doi:10.1038/nri1708.
- Reith, W., 2016. Cours "Le système immunitaire" donné le 04.11.2016 ("Structure et fonction du CMH") et le 11.11.2016 ("Présentation des antigènes et différenciation des cellules T") au Centre médical universitaire (CMU).
- René, C., C. Lozano, et J.-F. Eliaou. 2016. « Expression of Classical HLA Class I Molecules: Regulation and Clinical Impacts: Julia Bodmer Award Review 2015 ». *HLA* 87 (5): 338-49. doi:10.1111/tan.12787.
- Rock, Kenneth L., et Lianjun Shen. 2005. « Cross-Presentation: Underlying Mechanisms and Role in Immune Surveillance ». *Immunological Reviews* 207 (octobre): 166-83. doi:10.1111/j.0105-2896.2005.00301.x.
- Saric, Tomo, Claudia I. Graef, et Alfred L. Goldberg. 2004. « Pathway for Degradation of Peptides Generated by Proteasomes A KEY ROLE FOR THIMET OLIGOPEPTIDASE AND OTHER METALLOPEPTIDASES ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (45): 46723-32. doi:10.1074/jbc.M406537200.
- Shiina, Takashi, Antoine Blancher, Hidetoshi Inoko, et Jerzy K. Kulski. 2017. « Comparative Genomics of the Human, Macaque and Mouse Major Histocompatibility Complex ». *Immunology* 150 (2): 127-38. doi:10.1111/imm.12624.
- Ting, Jenny Pan-Yun, et Albert S. Baldwin. 1993. « Regulation of MHC gene expression ». *Current Opinion in Immunology* 5 (1): 8-16. doi:10.1016/0952-7915(93)90074-3.
- Ting, Jenny Pan-Yun, et John Trowsdale. 2002. « Genetic Control of MHC Class II Expression ». *Cell* 109 (2): S21-33. doi:10.1016/S0092-8674(02)00696-7.
- Viville, Stéphane, et C. Rabourdin-Combe. 1994. « La chaîne invariante: son rôle et sa fonction dans la réponse immunitaire spécifique ». <http://www.ipubli.inserm.fr/handle/10608/2582>.
- Williams, Thomas M. 2001. « Human Leukocyte Antigen Gene Polymorphism and the Histocompatibility Laboratory ». *The Journal of molecular diagnostics : JMD* 3 (3): 98-104.
- Wissinger, Erika. 2017. « CD8+ T Cells | British Society for Immunology ». Consulté le juillet 10. <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/cd8-t-cells>.