

Présentation de l'antigène aux cellules Th1 et Th2

R. LO-MAN, C. SEDLIK, C. LECLERC

RÉSUMÉ

Les lymphocytes T, CD4⁺ jouent un rôle essentiel dans l'induction et la régulation des réponses immunitaires. De plus, les deux sous-populations Th1 et Th2, à travers leur capacité de synthétiser différents répertoires de cytokines permettent d'activer diverses fonctions immunitaires. Les lymphocytes T, CD4⁺ sont activés grâce à l'interaction du récepteur T avec un complexe bimoléculaire formé d'un peptide issu de la dégradation de l'antigène et d'une molécule de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité. Seul un nombre limité de cellules est capable d'activer les lymphocytes T, CD4⁺. Les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B sont les cellules assurant dans la plupart des cas la présentation de l'antigène aux lymphocytes T, CD4⁺. La capacité de phagocytose, l'expression des molécules B7 et la nature des cytokines produites diffèrent entre ces divers types cellulaires. Ceci peut jouer un rôle essentiel dans l'activation préférentielle de l'une ou l'autre des sous-populations Th1 et Th2. Afin d'orienter les réponses T, CD4⁺ vers une polarisation Th1, des antigènes particulaires ont été préparés par couplage covalent à des microsphères synthétiques. Ces particules sont présentées aux lymphocytes T par des macrophages mais pas par des lymphocytes B. Injectés en présence de poly(I)-(C) ou d'IL-12, ces antigènes particulaires activent préférentiellement une réponse de type Th1.

SUMMARY

Antigen presentation to Th1 and Th2 cells. – CD4⁺ T lymphocytes play an essential role in the induction and regulation of the immune response. The two subpopulations, Th1 and Th2, are also able to activate various immune functions via their capacity to synthesize various cytokine patterns. CD4⁺ T lymphocytes are activated by interaction of the T receptor with a bimolecular complex composed of a peptide derived from processing of the antigen and a major histocompatibility complex class II molecule. Only a limited number of cells are able to activate CD4⁺ T lymphocytes. Monocytes/macrophages, dendritic cells and B lymphocytes are usually responsible for presentation of the antigen to CD4⁺ T lymphocytes. The capacity of phagocytosis, B7 molecules expression and the nature of the cytokine produced differ between these various cell types. This may play an essential role in the preferential activation of one or other of the Th1 and Th2 subpopulations. Particulate antigens were prepared by covalent binding to synthetic microspheres in order to orient CD4⁺ T lymphocyte responses towards Th1 polarisation. These particles were presented to T lymphocytes by macrophages, but not by B lymphocytes. When injected in the presence of poly (I)-(C) or IL-12, these particulate antigens preferentially activated a Th1 type response.

Unité de Biologie des Régulations Immunitaires, Institut Pasteur, 25, rue du Dr Roux, 75015 PARIS.

Tirés à part : C. Leclerc (adresse ci-dessus).

LO-MAN R., SEDLIK C., LECLERC C. – Présentation de l'antigène aux cellules Th1 et Th2. *Rev. fr. Allergol.*, 1995, **35** (6), 565-569.

INTRODUCTION

La reconnaissance par le récepteur des lymphocytes T (TCR) de complexes peptide/molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) déclenche une cascade de signaux intracellulaires conduisant à la sécrétion par les lymphocytes T de différentes cytokines possédant des activités pleiotropes et permettant la différenciation, l'expansion clonale et l'activation de diverses populations de cellules T. L'activation de la fonction cytotoxique des lymphocytes T CD8⁺ provoque la lyse des cellules leur présentant l'antigène (CPA). Par contre, les lymphocytes T CD4⁺ ont pour fonction de réguler la réponse immunitaire et les conséquences de l'activation de ces cellules sont plus complexes. Ce rôle modulateur des lymphocytes T CD4⁺ s'exerce sur les différentes composantes de la réponse immunitaire, notamment sur les macrophages ou les lymphocytes B, et sur les lymphocytes T eux-mêmes.

LES SOUS-POPULATIONS Th1 ET Th2

Les travaux effectués par Mosmann et coll. [10] ont permis de mettre en évidence chez la souris deux sous-populations de lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires, les Th1 et les Th2, identifiables par les cytokines qu'elles produisent. Les lymphocytes Th1 sécrètent de l'IL-2, de l'IFN γ et du TNF β , tandis que les Th2 produisent de l'IL-4, de l'IL-5, de l'IL-6 et de l'IL-10. Ces différences dans les cytokines produites par ces sous-populations engendrent une dichotomie fonctionnelle. Les cytokines produites par les Th1, notamment l'IFN γ , activent les macrophages, et permettent le développement d'une réaction d'hypersensibilité retardée. De plus, la coopération entre lymphocytes B et Th1 oriente préférentiellement la réponse anticorps vers l'isotype IgG2a. Au contraire, les Th2 favorisent la production d'anticorps d'isotypes IgG1 et IgE [3]. L'importance de la polarisation de la réponse lymphocytaire T est particulièrement bien illustrée dans certaines infections. Ainsi, le contrôle de l'infection par *Listeria monocytogenes*, par *Leishmania major* ou par *Schistosoma mansoni* est associé à l'activation préférentielle de l'une ou l'autre des sous-populations Th1 ou Th2 (références dans [9]). Par exemple, la résistance ou la susceptibilité de différentes souches de souris à l'infection par *L. major* est corrélée à la production des cytokines produites par les Th1 ou les Th2. Chez les souris C57BL/6, la résistance est associée à la production d'IFN γ au début de l'infection, alors que la sensibilité des souris BALB/c est associée au développement d'une réponse Th2 et à la production d'IL-4 (références dans [9]).

L'activation préférentielle de la sous-population Th2 joue également un rôle important dans certains phénomènes allergiques chez l'homme. Ainsi, l'étude des réponses T spécifiques d'allergènes d'individus atopiques a permis de montrer que chez ces patients les clones T obtenus produisent de l'IL-4 et de l'IL-5, mais pas d'IFN γ [11].

PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE AUX LYMPHOCYTES T, CD4⁺, RESTREINTE PAR LES MOLÉCULES DU CMH DE CLASSE II

Le récepteur des lymphocytes T, CD4⁺, reconnaît à la surface des cellules présentatrices d'antigène un peptide issu de la dégradation de l'antigène et associé à une molécule du CMH de classe II.

Les molécules de classe II

Ces glycoprotéines de membrane très polymorphes sont exprimées à la surface de cellules appartenant à la lignée lymphoïde et à la lignée myéloïde, telles que les lymphocytes B, les macrophages ou les cellules dendritiques. Mis à part ces cellules spécialisées dans la présentation de l'antigène restreinte par les molécules de classe II, on les trouve également sur certaines cellules épithéliales ou sur les lymphocytes T humains activés. Les molécules de classe II du CMH sont codées par les gènes HLA-DP, DQ et DR chez l'homme, et H-2 I-A et I-E chez la souris, avec de nombreuses variations alléliques et sont formées par l'association non covalente d'une chaîne α et d'une chaîne β . La fixation des peptides dans le sillon peptidique, formé par les domaines distaux $\alpha 1$ et $\beta 1$, est spécifique d'allèle, le polymorphisme allélique se concentrant au niveau des deux domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$.

L'élution des peptides naturellement associés aux molécules de classe II du CMH a permis de caractériser des peptides de taille hétérogène, entre 13 et 25 acides aminés. La résolution récente de la structure tridimensionnelle de la molécule HLA-DR1 par cristallographie aux rayons X a montré que le sillon peptidique est ouvert aux deux extrémités permettant d'accueillir des peptides de longueur variable [1].

L'assemblage des deux chaînes polypeptidiques α et β s'effectue dans le réticulum endoplasmique, où elles s'associent à une protéine chaperonne, la chaîne invariante (Ii), sous la forme d'un trimère du complexe $\alpha\beta Ii$. Lorsque les molécules de classe II atteignent les compartiments endosomaux, la chaîne invariante subit une protéolyse et libère

l'hétérodimère $\alpha\beta$. La chaîne invariante intervient dans le repliement du dimère $\alpha\beta$ et est responsable du transport des molécules de classe II à travers l'appareil de Golgi et de leur adressage vers les compartiments endosomaux.

Les compartiments impliqués dans l'acquisition de l'antigène

La localisation du ou des compartiments dans le ou lesquels s'effectuent l'apprêtage de l'antigène et l'acquisition concomitante ou non des peptides par les molécules de classe II fait l'objet de nombreux travaux mais reste encore mal définie. Après internalisation dans les vésicules d'endocytose, l'antigène chemine à travers un gradient de pH à l'intérieur d'un flux continu de fusions vésiculaires. Il passe dans un premier temps dans les endosomes précoces (pH 7,5-6,5), puis vers les endosomes tardifs (pH 6-5,5) et/ou les compartiments lysosomaux (pH 5), dans lesquels il subit une dégradation protéolytique. L'action des protéases et des peptidases dans la dégradation de l'antigène s'effectue dans les compartiments endosomaux et lysosomaux, mais peut être également associée à la membrane plasmique. Parmi les protéases candidates à la protéolyse de l'antigène, on retrouve de nombreuses cathepsines. En effet, les compartiments endocytiques sont riches en protéases, comme les cathepsines B, H, L (cystéine protéases) et les cathepsines D et E (aspartyl protéases) qui ont notamment été localisées avec les molécules de classe II dans ces compartiments. Lorsque les peptides issus de cette protéolyse sont fixés sur les molécules de classe II, celles-ci se dirigent vers la membrane plasmique.

LES CELLULES SPÉCIALISÉES DANS LA PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE RESTREINTE PAR LES MOLÉCULES DE CLASSE II

L'expression constitutive des molécules de classe II du CMH est réservée essentiellement à quelques types cellulaires appartenant au système immunitaire. De ce fait, la présentation de l'antigène aux lymphocytes T $CD4^+$ implique des cellules spécialisées dans cette activité : les lymphocytes B, les macrophages et les cellules dendritiques. Les antigènes du milieu extra-cellulaire sont internalisés par ces cellules par pinocytose en phase fluide, endocytose médiée par récepteur ou phagocytose.

La collaboration entre lymphocytes T et B conduisant à l'activation et à la différenciation des lymphocytes B, et à la production d'anticorps, est

initiée par la présentation de l'antigène aux cellules T par les molécules de classe II des lymphocytes B. La capture de l'antigène par les lymphocytes B spécifiques de cet antigène s'effectue essentiellement par la reconnaissance sélective de celui-ci par les immunoglobulines de membrane (Igm). L'internalisation et le recyclage des Igm constituent un processus continu, mais celui-ci est accru lorsque les Igm se fixent à un ligand. Par conséquent, cette reconnaissance spécifique et très affine permet de concentrer l'antigène, et d'augmenter son internalisation et sa présentation aux lymphocytes T [8]. Lors d'une réponse secondaire, les lymphocytes B spécifiques d'un antigène donné sont donc les CPA les plus efficaces pour la présentation de cet antigène.

Les monocytes et les macrophages présents dans différents tissus, sont responsables de l'élimination des micro-organismes et des complexes immuns. Outre leur capacité de phagocytose, les cellules macrophagiques sont capables d'internaliser l'antigène par endocytose médiée par récepteur, notamment par le récepteur du fragment Fc des IgG (RFcy). Les complexes immuns sont donc présentés aux cellules T de façon très efficace par les monocytes et les macrophages.

Les cellules dendritiques proviennent comme les macrophages de la lignée myéloïde et jouent également un rôle important dans la présentation de l'antigène, notamment aux cellules T naïves, en particulier de par leur forte expression des molécules de classe II du CMH [14]. La capacité de ces cellules à capturer l'antigène est fortement liée à leur état de différenciation. Ces cellules sont capables d'internaliser l'antigène par endocytose en phase fluide, et par endocytose médiée par le récepteur RFcyII [13]. Comme les macrophages, il semble que les cellules dendritiques peuvent internaliser des antigènes particuliers, tels que les bactéries. Après avoir rencontré l'antigène, elles subissent une maturation au cours de laquelle elles perdent la capacité d'internaliser l'antigène mais conservent la capacité de présenter l'antigène aux cellules T.

Outre ces différentes CPA professionnelles, d'autres cellules peuvent présenter de façon occasionnelle l'antigène aux cellules T : mastocytes, lymphocytes T...

LES FACTEURS INFLUENÇANT LA DIFFÉRENCIATION DES LYMPHOCYTES Th1 ET Th2

La différenciation vers l'un ou l'autre de ces sous-types de lymphocytes T est régulée par diverses cytokines [2]. Ainsi, l'IL-4 induit la différenciation préférentielle des cellules Th2, tandis

que l'IL-12 et l'IFN γ favorisent l'émergence de clones Th1.

La polarisation de la réponse immunitaire vers une des sous-populations Th1 ou Th2, est influencée également par certaines molécules accessoires présentes à la surface des CPA, notamment par les molécules B7-1 et B7-2 qui délivrent un signal de co-stimulation via les molécules CTLA4 ou CD28 présentes sur les lymphocytes T [4]. Ainsi, la molécule B7-2 engagerait préférentiellement les lymphocytes T vers la voie Th2 en favorisant la production d'IL-4. Par contre, la molécule B7-1 semblerait favoriser l'émergence des Th1. Ce rôle des molécules B7 pourrait expliquer certaines observations, notamment celles faites par Gajewski et coll. [5] mettant en évidence l'influence de la cellule présentant l'antigène dans la polarisation Th1/Th2. L'expression variable des molécules B7-1 et B7-2 par les différentes CPA et également selon l'état d'activation et de différenciation de ces cellules pourrait expliquer le rôle important joué par la cellule présentant l'antigène dans le développement des Th1 ou des Th2. L'affinité des peptides pour le CMH et la densité des ligands peptides/CMH engageant le TCR influencent également le type de sous-populations Th1 ou Th2 activées [12].

LA PRÉSENTATION D'ANTIGÈNES PARTICULAIRES AUX CELLULES T

Influence de l'état de l'antigène sur l'orientation Th1/Th2

Le type de cellules présentant l'antigène aux cellules T peut influencer la différenciation vers la sous-population Th1 ou Th2 [5]. En particulier les macrophages favoriseraient l'activation de cellules de type Th1 tandis que les lymphocytes B activeraient préférentiellement les cellules Th2. Ces deux catégories de CPA diffèrent notamment par la taille des antigènes qu'elles peuvent capturer puisque les macrophages sont capables de phagocytose à la différence des lymphocytes B. Par conséquent, la formulation de l'antigène sous une forme soluble ou particulaire conditionne le type de CPA capable de l'internaliser et de le présenter aux cellules T, et pourrait donc permettre l'activation sélective de l'une ou l'autre des sous-populations Th1 ou Th2. En accord avec cette hypothèse, il a été montré chez la souris que l'administration d'un antigène de haut poids moléculaire, l'ovalbumine polymérisée, conduit à l'activation de cellules Th1 produisant principalement de l'IFN γ , contrairement à l'ovalbumine native monomérique qui induit une réponse de type Th0 [15].

Les antigènes particuliers sont présentés aux lymphocytes T par des macrophages mais pas par des lymphocytes B

L'influence de l'état soluble ou particulaire de l'antigène sur l'activation de cellules Th1 ou Th2 a également été étudiée à l'aide d'antigènes particuliers, résultant du couplage covalent de protéines à des microparticules synthétiques d'un diamètre de 1 μ m. Cette étude a montré que des splénocytes ou des macrophages peuvent présenter des antigènes sous forme particulaire (lysozyme, hémocyanine) à des lymphocytes T spécifiques (lignées ou hybridomes). Par contre, des lymphocytes B, spécifiques ou non de l'antigène couplé, sont incapables de présenter ces antigènes particuliers aux cellules T. Au contraire, la même protéine sous forme soluble est capable d'activer des cellules T aussi bien en présence de macrophages que de lymphocytes B [6, 7]. De plus, des souris déplétées *in vivo* en cellules macrophagiques ne sont plus capables de développer des réponses lymphocytaires, T CD4⁺ après administration d'un antigène particulaire [7].

La formulation d'un antigène sous forme particulaire par couplage à des microsphères synthétiques permet donc une présentation sélective de cet antigène par des macrophages.

Induction de réponses Th1 par des antigènes particuliers administrés en présence d'un inducteur d'IFN γ

L'administration *in vivo* d'un antigène (protéine ou peptide) couplé à des microparticules permet de stimuler de fortes réponses T CD4⁺, en l'absence de tout adjuvant [7]. Les cytokines produites par les lymphocytes d'animaux immunisés par ces antigènes particuliers ne sont pas caractéristiques de l'activation sélective d'une sous-population Th1 ou Th2, mais reflètent plutôt un profil de type Th0 (résultats non publiés). Il est maintenant clairement établi que les cytokines présentes dans l'environnement de l'antigène jouent un rôle très important dans l'activation sélective des sous-populations Th1 ou Th2. L'IL-4 favorise la différenciation des cellules Th2 mais inhibe celle des Th1, alors que l'IFN γ et l'IL-12 entraînent l'activation de cellules Th1 mais inhibent l'activation des Th2. L'immunisation de souris avec un antigène particulaire en présence d'un inducteur d'IFN γ (poly(I)-(C)) ou d'IL-12 permet l'activation sélective de cellules de type Th1. Ces expériences ont mis en évidence chez les animaux ainsi immunisés une production importante d'IFN γ associée à une synthèse faible d'IL-4, d'IL-5, d'IL-10 et une forte production d'anticorps d'isotype IgG2a.

Ces études démontrent que la présentation sélective d'un antigène sous forme particulaire par les macrophages n'est pas suffisante pour une activation préférentielle de la sous-population Th1. Cependant, l'immunisation par un antigène particulaire en présence d'un co-fac-

teur, comme le poly(I)-(C) ou l'IL-12, permet d'orienter la réponse immunitaire vers une réponse de type Th1. Ces résultats ont un intérêt certain pour la mise au point de vaccins ayant pour objectif l'activation sélective de réponses Th1.

RÉFÉRENCES

1. Brown J.H., Jardetzky T.S., Gorga J.G., Stern L.J., Urban R.G., Strominger J.L. Wiley D.C. – Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature.*, 1993, 364, 33-39.
2. Coffman R.L., Varkila K., Scott P., Chatelain R. – Role of cytokines in the differentiation of CD4⁺ T-cell subsets *in vivo*. *Immunol. Rev.*, 1991, 123, 189-207.
3. Finkelman F.D., Holmes J., Katona I.M., Urban J.F.J., Beckman M.P., Park L.S., Schooley K.A., Coffman R.L., Mosmann T.R., Paul W.E. – Lymphokine control of *in vivo* immunoglobulin isotype selection. *Ann. Rev. Immunol.*, 1990, 8, 303-333.
4. Freeman G.J., Boussiotis V.A., Anumanthan A., Bernstein G.M., Ke X.Y., Rennert P.D., Gray G.S., Gribben J. G., Nadler L.N. – B7-1 and B7-2 do not deliver identical costimulatory signals, since B7-2 but not B7-1 preferentially costimulates the initial production of IL-4. *Immunity*, 1995, 2, 523-532.
5. Gajewski T.F., Pinna M., Wong T., Fitch F.W. – Murine Th1 and Th2 clones proliferate optimally in response to distinct antigen-presenting cell populations. *J. Immunol.*, 1991, 146, 1750-1758.
6. Galelli A., Charlot B., Deriaud E., Leclerc C. – B cells do not present antigen covalently linked to microspheres. *Immunology*, 1993, 79, 69-76.
7. Gengoux C., Leclerc C. – *In vivo* induction of CD4⁺ T cell responses by antigens covalently linked to synthetic microspheres does not require adjuvant. *Int. Immunol.*, 1995, 7, 45-53.
8. Lanzavecchia A. – Antigen-specific interaction between T and B cells. *Nature (Lond.)*, 1985, 314, 537-539.
9. Leclerc C. – Les cytokines. *Paris, Masson Éd.*, 1993, 207-222.
10. Mosmann T.R., Coffman R.L. – Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann. Rev. Imm.*, 1989, 7, 145-173.
11. Parronchi P., Macchia D., Piccinni M.P., Biswas P., Simonelli C., Maggi E., Ricci M., Ansari A. A., Romagnani S. – Allergen- and bacterial antigen-specific T cell clones established from atopic donors show a different profile of cytokine production. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1991, 88, 4538-4542.
12. Pfeiffer C., Stein J., Southwood S., Ketelaar H., Sette A., Bottomly K. – Altered peptide ligands can control CD4 T lymphocyte differentiation *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 1995, 181, 1569-1574.
13. Sallusto F., Lanzavecchia A. – Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor α . *J. Exp. Med.*, 1994, 179, 1109-1118.
14. Steinman R. M. – The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, 9, 271-296.
15. Yang X., Gieni R.S., Mosmann T.R., Hayglass K.T. – Chemically modified antigen preferentially elicits induction of Th1-like cytokines synthesis patterns *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 1993, 178, 349-353.

