

Un épitope T CD4 est le déterminant reconnu par un lymphocyte T CD4 et correspond donc à la surface d'interaction qui existe entre le récepteur T (TCR) et le complexe formé entre le peptide antigénique (ou peptide T) et la molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II, HLA II chez l'homme). Par commodité de langage, l'épitope T CD4 est réduit à la partie reconnue sur le peptide T. Toutefois l'épitope T et le peptide T

La recherche d'épitopes T CD4 et de peptides pluri-individuels

Bernard Maillere

Département d'Ingénierie et d'Etudes des Protéines, CEA-Saclay, 91191 Gif sur Yvette



Bernard Maillere dirige le groupe de recherche HLA II au Département d'Ingénierie et d'Etudes des Protéines du CEA à Saclay. Ingénieur Agro-Paris, il a soutenu sa thèse en immunologie en 1992 et son habilitation à diriger les recherches en 2000. Les travaux de son laboratoire portent sur l'identification des épitopes T CD4 chez l'homme et la caractérisation fonctionnelle du polymorphisme des molécules HLA II. bernard.maillere@cea.fr

ne se confondent pas. Un peptide T CD4 est le support physique de l'épitope T. Il peut contenir plusieurs épitopes, chaque épitope correspondant à un mode d'association du peptide avec la molécule de CMH II. Un peptide peut en effet se lier de plusieurs manières différentes car le site de liaison des molécules de CMH II a deux extrémités ouvertes. C'est ce qui explique également pourquoi la taille des peptides T est variable et est généralement de 13 à 25 résidus. En raison du polymorphisme des molécules HLA II, les séquences de ces peptides varient d'un individu à l'autre. De ce fait, les peptides qui

présentent un intérêt en vaccination et pour le diagnostic cellulaire sont ceux que reconnaissent les lymphocytes T d'individus différents. Ce sont ces peptides que nous proposons d'appeler peptides T pluri-individuels et qui correspondent à des peptides dont la fréquence de reconnaissance dans la population est raisonnablement supérieure à 30% des individus.

● Les applications des peptides T pluri-individuels

Compte tenu du rôle majeur que jouent les lymphocytes T CD4 dans l'activation des cellules effectrices comme les lymphocytes B sécréteurs d'anticorps et les cellules T cytotoxiques, les peptides T CD4 ont été initialement recherchés pour entrer dans la composition de vaccins peptidiques. Les études en cours portent sur des peptides T CD4 combinés à des peptides porteurs de sites antigéniques pour les anticorps (1) ou des peptides cibles de lymphocytes T CD8 (2). Les peptides T CD4 sont également recherchés afin de

moduler des réponses immunitaires. Dans un contexte cellulaire dénué d'inflammation, la présentation des peptides se fait par des cellules dendritiques ayant un faible niveau de maturation et favorise l'activation de lymphocytes T CD4 régulateurs (Treg) qui sécrètent des cytokines telles que le TGF- β et l'IL-10 (3). Ces deux cytokines ont une activité immunosuppressive sur les lymphocytes T CD4 et CD8, les cellules dendritiques et certains lymphocytes B. Elles interviennent par exemple dans la désensibilisation de patients allergiques (4). L'efficacité de ce traitement semble en effet dépendre de l'établissement de cellules T CD4 régulatrices spécifiques des allergènes. Les peptides T CD4 des allergènes présentent l'avantage de recruter ces cellules, tout en étant faiblement antigéniques pour les IgE spécifiques des allergènes. Ils induisent donc peu d'effets secondaires. Plusieurs études cliniques sont en cours afin de démontrer l'efficacité des peptides T pour traiter les patients allergiques (5,6). Ces mêmes cellules régulatrices semblent également être induites par des peptides T spécifiques d'autoantigènes afin de lutter contre les maladies autoimmunes comme le lupus, la polyarthrite rhumatoïde et la

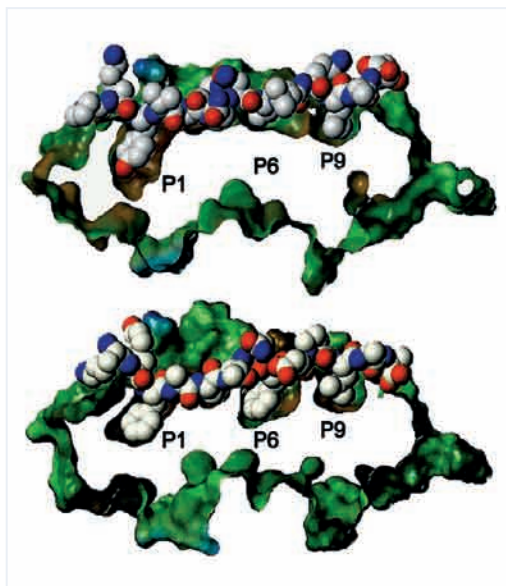


Figure 1: les différentes molécules HLA II et leur mode d'interaction. Il existe chez l'homme trois types de molécules HLA II : HLA-DR, -DQ et -DP. Ces trois molécules partagent une structure tridimensionnelle très conservée et de nombreuses caractéristiques communes. Leur site de liaison est ouvert aux deux extrémités et comporte 5 poches de spécificité (P1, P4, P6, P7 et P9) dans lesquelles sont regroupés les résidus polymorphes. Le peptide est systématiquement dans une configuration étendue. Sa liaison est assurée par des interactions indépendantes ou dépendantes de sa séquence. Les interactions indépendantes résultent des liaisons hydrogène avec le squelette du peptide alors que les interactions dépendantes de la séquence sont contrôlées par les poches de spécificité. L'ensemble de ces contacts moléculaires fait que chaque molécule possède une large spécificité de liaison. Les molécules HLA-DR qui sont les plus abondantes sur les cellules présentatrices de l'antigène ont généralement un résidu d'ancrage principal situé en P1. C'est particulièrement le cas pour les molécules qui possèdent une glycine en position β 86 comme DR1, DR7 et DR4 qui accommodent préférentiellement un résidu aromatique en P1. En revanche pour des molécules qui possèdent une valine en position β 86 comme DR3 et DR15, un résidu d'ancrage préférentiel est situé en P4. Les molécules DP comportent deux résidus d'ancrage en P1 et P6 qui comme pour les molécules HLA-DR, peuvent être hydrophobes ou aromatiques. Les molécules HLA-DQ semblent préférer des résidus de petite taille. En haut: complexe DR1/HA 306-318, d'après Stern et al. (16). En bas: complexe DP4/oxy (12) Copyright 2002. The American Association of Immunologists, Inc.

sclérose en plaques. Elles pourraient également servir à prévenir les rejets d'organes au moyen de peptides T d'alloantigènes (7). Ainsi, la capacité des peptides T CD4 à induire sélectivement des lymphocytes T initiateurs de la réponse immunitaire ou au contraire régulateurs en font des multiples candidats pour la vaccination et l'immunothérapie spécifique. Il faut toutefois que les séquences utilisées soient adaptées à l'ensemble de la population.

● *Les différents types de peptides T pluri-individuels*

Le principal obstacle à l'utilisation des peptides T provient du fait qu'ils varient d'un individu à l'autre en fonction principalement des molécules HLA II de chaque individu. Toutefois, il est bien connu que certains peptides sont capables d'être reconnus par des lymphocytes T CD4 issus de nombreux individus et peuvent donc être appelés pluri-individuels. Il existe trois différents types de peptides pluri-individuels qui correspondent à des agencements différents des épitopes qu'ils contiennent. Le peptide T peut contenir un épitope T ayant un large spectre de reconnaissance des molécules HLA. Ce type de peptide T correspond à ce qu'on appelle également des peptides universels (ou «promiscuous») et sont principalement spécifiques des molécules HLA-DR (8). Les exemples les plus connus sont les peptides issus du virus de la grippe et de la toxine tétanique (9). Ils se lient selon le même mode d'interaction à différentes molécules HLA II qui ont un répertoire commun de peptides et de ce fait forment un supertype de molécule HLA II (8,10). Le deuxième type de peptides T pluri-individuels regroupe les peptides multi-épitopiques c'est à dire qui acceptent de se lier aux molécules HLA II selon des modes différents. Un cas que nous avons décrit est un peptide de dix-huit résidus, issu de l'allergène majeur du venin d'abeille et qui se lie

selon six modes différents à dix molécules HLA-DR (11). Ce peptide peut même se lier à une même molécule selon deux modes différents. La dernière catégorie regroupe les peptides se liant à une molécule ayant une fréquence très élevée dans la population. Une de ces molécules est la molécule HLA-DP4 qui est portée par 75% des individus (12). Elle forme avec l'allèle DP2 un supertype de molécule HLA II car l'une et l'autre possèdent un motif de liaison très similaire et caractérisé par la présence de deux résidus hydrophobes ou aromatiques en position P1 et P6. Les deux épitopes spécifiques des molécules HLA-DP4 les plus connus sont issus des antigènes tumoraux MAGE-3 (13) et NY-ESO-1 (14) et sont utilisés dans des essais de vaccination de patients atteints de mélanome. Compte tenu de la fréquente imbrication des épitopes T CD4, il est probable que de nombreux peptides T pluri-individuels sont une combinaison des trois types. C'est le cas par exemple du peptide T NY-ESO-1 119-413 qui se lie à 9 molécules différentes en utilisant des modes de liaison communs mais également multiples et en étant capables de s'associer à des molécules abondantes comme DP4 (15)

● *L'identification et l'ingénierie des épitopes T*

De manière à évaluer l'impact de chaque peptide T dans la population, nous avons essentiellement basé notre démarche d'identification des épitopes T CD4 sur l'utilisation de tests de liaison spécifiques des molécules HLA II les plus abondantes. Des peptides couvrant les séquences d'intérêt sont synthétisés et testés pour leur capacité de liaison. Les peptides actifs et ayant un impact suffisant dans la population sont ensuite soumis à des tests cellulaires. Ces tests peuvent être effectués sur des lymphocytes T de patients ayant été en contact avec l'antigène étudié, après une vaccination ou une infection. Plus récemment,

nous avons mis en place un test d'évaluation de la capacité de peptides à induire in vitro l'activation des lymphocytes T CD4. Ce test se fait par co-culture de cellules dendritiques autologues et de lymphocytes T CD4 naïfs en présence des peptides à tester. Nous avons ainsi contribué à identifier les peptides T pluri-individuels issus d'allergènes (abeille, poils d'animaux) d'antigènes tumoraux (NY-ESO-1, ORF2 LAGE-1) et d'antigènes viraux (VIH, papillomavirus et virus de l'hépatite). Ces outils rendent également possible l'optimisation des séquences afin de favoriser les réponses immunitaires souhaitées. Grâce aux nombreuses études menées depuis les années 90, la spécificité de liaison des principales molécules HLA II est connue avec précision. Ces données permettent d'identifier dans un peptide T quels résidus peuvent être avantageusement changés afin d'améliorer l'affinité pour les molécules HLA II. Cette ingénierie est une des voies futures à explorer mais qui compte tenu de l'agencement complexe des épitopes T dans les peptides T, reste encore très délicate à aborder.

● *REFERENCES*

1. Nardin EH et al. J Infect Dis 182, 1486, 2000
2. Gahery-Segard H et al. J Virol 74, 1694, 2000
3. Wakkach A et al. Immunity 18, 605, 2003
4. Akdis CA et al. J Clin Invest 102, 98, 1998
5. Muller U et al. J Allergy Clin Immunol 101, 747, 1998
6. Oldfield WL et al. Lancet 360, 47, 2002
7. Jiang S et al. Blood 102, 2180, 2003
8. Southwood S et al. J Immunol 160, 3363, 1998
9. Panina-Bordignon P et al. Eur J Immunol 19, 2237, 1989
10. Sturniolo T et al. Nat Biotechnol 17, 555, 1999
11. Texier C et al. Eur J Immunol 32, 3699, 2002
12. Castelli F A. et al. J Immunol 169, 6928, 2002
13. Schultz ES et al. Cancer Res 60, 6272, 2000
14. Zeng G et al. PNAS USA 98, 3964, 2001

Nature des peptides pluri-individuels

- les épitopes T CD4 se fixent à plusieurs molécules par les mêmes résidus d'ancrage
- il y a plusieurs épitopes T CD4 imbriqués les uns dans les autres
- les épitopes T CD4 se lient à une molécule HLA très fréquente dans la population

Figure 2: les peptides pluri-individuels.