



F. Delbos

Le système HLA : génétique, structure et fonctions

Human leukocyte antigen: genetics, structure and functions

Florent Delbos¹, Stéphanie Malard², Nicolas Congy³

Résumé

Si le système HLA a été découvert comme un complexe de gènes gouvernant l'histocompatibilité et jouant un rôle crucial dans l'acceptation du greffon par son receveur, sa fonction primaire reste la présentation des antigènes peptidiques aux lymphocytes T afin de déclencher la réponse immunitaire adaptative. L'extrême polymorphisme des gènes HLA et leurs caractéristiques génétiques, couplés à la diversité des acteurs intervenant dans la présentation peptidique font que cette réponse immunitaire adaptative est hautement variable entre les individus. Si ce polymorphisme est un atout dans la lutte anti-infectieuse, il représente une contrainte majeure à la transplantation d'organe. Les molécules HLA constituent également des marqueurs cellulaires du "soi" vis-à-vis des acteurs de la réponse immunitaire innée comme les lymphocytes *Natural Killer*, dont elles contrôlent le niveau d'activation.

Mots-clés : Human Leukocyte Antigen (HLA) – Polymorphisme – Présentation peptidique.

Summary

If the HLA system has been discovered as a gene complex governing histocompatibility that plays a crucial role in graft acceptance, its primary function is peptide presentation to the T-lymphocytes, leading to the triggering of the adaptive immune response. The extreme polymorphism of HLA genes and their genetic characteristics, coupled to the diversity of actors involved in peptide presentation, is reflected by the fact that this adaptive immune response is highly variable inter-individually. It may be beneficial in the control of infections but represents an unavoidable and major obstacle to organ transplantation. HLA molecules also act as cellular markers of the "self" for the actors of the innate immune response, such as Natural Killer cells, controlling their level of activation.

Keywords: Human Leukocyte Antigen (HLA) – Polymorphism – Peptide presentation.

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) humain (ou *Human Leukocyte Antigen* [HLA]) est un système antigénique découvert par Jean Dausset au début des années 1950. Son implication dans l'initiation de la réponse immunitaire adaptative ainsi que son haut niveau de polymorphisme en font un système génétique discriminant les individus dans leur aptitude à répondre à une stimulation antigénique exogène (infection, cancer, réponse allo-immune) ou endogène (auto-immunité), et un acteur prépondérant dans les phénomènes de tolérance et de rejet des greffes d'organes et de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Les molécules HLA se révèlent également être un acteur majeur de la régulation de l'immunité innée de par les interactions qu'elles exercent avec les récepteurs des lymphocytes *Natural Killer* (LyNK).

Organisation génétique du système HLA

Le bras court du chromosome 6

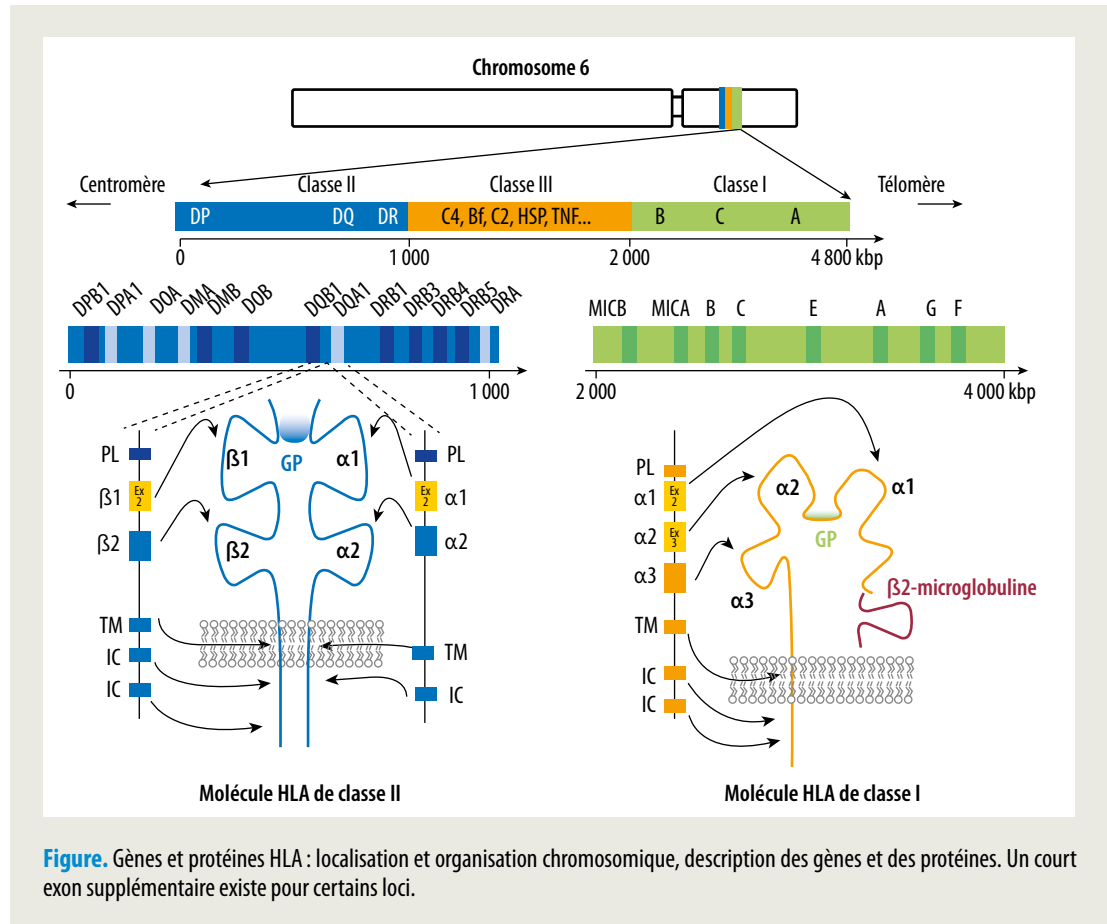
Le système HLA est localisé sur le bras court du chromosome 6 (bande 6p21.3) [figure, p. 62]. Ce système immunogénétique, s'étendant sur approximativement 3 700 kb, compte 224 gènes identifiés dont 128 seraient exprimés (1). Le CMH compte 3 régions géniques. La région de classe I, proche du télomère, est constituée de gènes HLA dits classiques (HLA-A, B et C) et non classiques (HLA-E, F, G, MIC pour MHC [Major Histocompatibility Complex] class I chain related, et HFE) et s'étend sur 2 000 kb. La région de classe III, qui s'étend sur 700 kb, contient des gènes impliqués dans la réponse immunitaire dont certains codant pour des protéines du complément (C2, C4, facteur B). Enfin, proche du centromère, la région de classe II est constituée de

¹ Établissement français du sang Pays-de-la-Loire, laboratoire HLA, Nantes.

² Laboratoire régional d'histocompatibilité, hôpital Saint-Louis, Paris.

³ Laboratoire d'immunogénétique moléculaire EA 3034, faculté de médecine Purpan; Inserm-IFR150; laboratoire d'immunologie, CHU Rangueil, Toulouse.

Dossier



gènes HLA dits classiques (HLA-DR, DQ et DP) et non classiques (HLA-DO et DM) sur 1 000 kb (2).

Caractéristiques génétiques majeures des gènes du système HLA

Les gènes HLA présentent 3 caractéristiques génétiques fondamentales : une transmission haplotypique, un haut niveau de polymorphisme et une expression en protéine sur un mode codominant.

Transmission haplotypique des allèles HLA

L'ensemble des gènes HLA est transmis en bloc selon un mode mendélien. Chaque individu hérite donc d'un haplotype de chacun de ses parents. Il peut cependant exister des événements de recombinaison entre 2 haplotypes (ou *crossing over*) durant la méiose, dans environ 1 % des cas, principalement entre les loci HLA-B et DRB1, et les loci HLA-DQB1 et DPB1 (3).

Polymorphisme des gènes HLA

Les gènes du système HLA sont les plus polymorphes du génome humain. En juin 2017, un total de 17 176 allèles

HLA (12 554 de classe I et 4 622 de classe II) ont été identifiés (<http://hla.alleles.org/alleles/index.html>). Le polymorphisme est situé principalement pour les gènes de classe I au niveau des exons 2 et 3 qui codent pour les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ de la protéine HLA, et sur l'exon 2 pour les gènes de classe II qui codent pour le domaine $\beta 1$, c'est-à-dire pour les 2 classes au niveau du site de fixation du peptide et de la zone en contact avec le récepteur à l'antigène du lymphocyte T (*T-Cell antigen Receptor* [TCR]). Les domaines α des molécules HLA-DQ et HLA-DP sont également polymorphes, la chaîne α de HLA-DR étant presque monomorphe. À l'échelle d'une population, l'extrême polymorphisme du système HLA constitue un avantage pour la défense vis-à-vis des agents pathogènes. En effet, bien que chaque molécule HLA ait la capacité de fixer 10^6 à 10^7 peptides différents, l'affinité d'un peptide varie d'une molécule HLA à l'autre. Pour déclencher une réponse immunitaire efficace, l'affinité doit être suffisante, et la diversité du HLA permet à l'espèce de toujours pouvoir répondre de façon efficace à un nouvel agent pathogène. Au cours du temps s'est exercée une

pression de sélection favorisant certains allèles HLA ou haplotypes favorables à la survie de l'espèce, car probablement mieux adaptés à la prise en charge d'agents pathogènes installés (4). Par exemple, la fréquence observée de l'haplotype HLA-A1, B8, DR3 dans la population caucasienne est de 7,1 %, alors que sa fréquence théorique ne devrait être que de 1 %.

Le polymorphisme est à la base des mécanismes de rejet des transplantations allogéniques HLA-incompatibles, ou de la maladie du greffon contre l'hôte en greffe de CSH. En effet, par comparaison avec un antigène microbien qui sera reconnu chez un individu naïf (c'est-à-dire n'ayant jamais eu ce contact antigénique auparavant) par une proportion de lymphocytes T (LyT) de l'ordre de 1 pour 10^5 à 10^6 , un antigène HLA allogénique sera reconnu dans les mêmes conditions par 1 000 fois plus de LyT.

Codominance d'expression des allèles HLA

L'expression des allèles HLA est codominante : chaque individu exprime, à la surface de ses cellules, les protéines codées par les gènes des 2 haplotypes parentaux transmis. Ainsi, les cellules expriment à leur surface 6 molécules HLA de classe I différentes, et le cas échéant, entre 10 et 12 molécules HLA de classe II différentes (cf. infra) provenant pour moitié d'allèles maternels et paternels, sauf en cas d'homozygotie pour un ou plusieurs gènes.

Les molécules HLA de classe I : gènes et structure

Les gènes HLA de classe I dits classiques, HLA-A, B et C, sont composés de 8 exons séparés par 7 introns. Ces gènes codent une chaîne lourde α transmembranaire de 44 kDa associée de manière non covalente à la β 2-microglobuline (protéine de 12 kDa monomorphe, codée par un gène du chromosome 15). La chaîne lourde α est organisée en 3 domaines extracellulaires (α 1, α 2 et α 3) reliés à la membrane plasmique par un domaine transmembranaire hydrophobe suivi d'un court domaine intracellulaire. Les domaines α 1 et α 2 forment une gouttière bordée par 2 hélices α et dont le plancher est constitué de feuillettes β . Ces molécules HLA de classe I sont exprimées sur la quasi-totalité des cellules nucléées de notre organisme, à l'exception des cellules nerveuses, et sont présentes à la surface des plaquettes sanguines. L'expression cellulaire est variable selon les individus en fonction des allèles qu'ils possèdent, notamment pour les molécules HLA-C (5), et elle est modulable par certains facteurs comme les interférons (IFN), des protéines virales ou tumorales, renforçant ainsi la réponse allo-immune cytotoxique par activation des LyT CD8+. Il a notamment été

montré que dans le contexte de la greffe d'organe, le stress de l'ischémie/reperfusion est associé à une décharge de cytokines pro-inflammatoires qui aboutit à une augmentation de l'expression des molécules HLA de classe I (6).

Les molécules HLA de classes I dites non classiques, HLA-E, F et G, ont une structure très proche des molécules HLA de classe I classiques. Elles sont également liées de façon non covalente à la β 2-microglobuline et sont exprimées à la surface cellulaire associées à un peptide. La molécule HLA-E est exprimée sur les cellules nucléées et les cellules trophoblastiques. Son expression est inductible par l'IFN- γ , ce qui suggère un rôle important dans l'inflammation. Son ligand est le récepteur CD94/NKG2 exprimé sur les LyNK, dont la mise en jeu empêche l'activation des fonctions cytotoxiques et pro-inflammatoires. La molécule HLA-F est exprimée majoritairement dans les tissus lymphoïdes et par les LyT et B (LyB). La molécule HLA-G a été décrite principalement à la surface des cytotrophoblastes extravilloux et des cellules de la membrane amniotique. L'expression constitutive de HLA-G ainsi que la perte de l'expression des molécules HLA classiques sur le trophoblaste pendant la grossesse participent à l'établissement d'un état de tolérance maternelle protégeant le fœtus au cours de son développement. Il existe 7 isoformes HLA-G : G1 à G4 exprimées à la membrane, et G5 à G7 sous forme soluble. Leurs ligands principaux sont des *Immunoglobulin-Like Transcript* (ILT2 et ILT4) qui sont des récepteurs inhibiteurs présents sur les LyT, les LyNK, les monocytes et les macrophages. Une augmentation d'expression des molécules HLA-G a ainsi été associée à une diminution du rejet médié par les cellules T alloréactives, après greffe de CSH et transplantations rénale et hépatique (7).

Les gènes MIC (*MHC class I chain related*) et les protéines qui en découlent sont plus éloignés du système de classe I classique. Deux gènes fonctionnels ont été identifiés, MICA (*MHC class I chain-related gene A*) et MICB (*MHC class I chain-related gene B*), qui sont beaucoup moins polymorphes que les gènes de classe I classiques. Les molécules MIC ne lient pas la β 2-microglobuline et ne présentent pas de peptides. Elles sont exprimées sur les cellules endothéliales, les cellules épithéliales et les fibroblastes gastriques. Elles peuvent également être retrouvées sous forme soluble après clivage protéolytique du domaine α 3 de la chaîne α . Leur ligand est l'homodimère NKG2D, récepteur activateur exprimé par les LyNK et certains LyT (8). La protéine MICA est impliquée dans le rejet des transplantations d'organes solides (9).

Les molécules HLA de classe II : gènes et structure

Les molécules HLA de classe II classiques sont des hétérodimères composés d'une chaîne lourde α de 29 kDa codée par un gène A (DRA1, DQA1 et DPA1) et d'une chaîne lourde β de 34 kDa codée par un gène B (DRB1, DQB1 et DPB1). Chaque chaîne des molécules HLA de classe II est composée de 2 domaines extracellulaires ($\alpha 1$, $\alpha 2$ ou $\beta 1$, $\beta 2$), d'un domaine hydrophobe transmembranaire et d'une partie intracellulaire C-terminale. Les domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$ extracellulaires N-terminaux forment une gouttière bordée par les hélices α des domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$, dont le plancher est constitué de feuillets β plissés. Les gènes HLA de classe II comprennent 5 exons (chaîne α) ou 6 (chaîne β). En plus des 2 gènes DRA et DRB1, existent 3 autres gènes, DRB3, DRB4 et DRB5, codant pour une autre chaîne β ($\beta 3$, $\beta 4$ et $\beta 5$) à l'origine respectivement des antigènes HLA-DR52, DR53 et DR51. Leur expression est particulière : selon le gène DRB1 présent dans le locus DR d'un chromosome 6, un de ces 3 gènes DRB additionnels peut être présent ou pas, et donc une cellule pourra exprimer à sa surface de 2 à 4 protéines DR différentes, constituées de la même chaîne α et des chaînes β correspondant à ces gènes DRB. Ainsi, les individus HLA-DR11, DR12, DR13, DR14, DR17 et DR18 vont coexprimer l'antigène HLA-DR52, les individus HLA-DR4, DR7 et DR9 l'antigène HLA-DR53, et les individus HLA-DR15 ou DR16 l'antigène HLA-DR51. Pour les autres gènes dérivés de DRB1 (DR1, DR8, DR10 et DR103), il n'y a pas de DR supplémentaire. Tous les individus ne possèdent donc pas le même nombre de molécules HLA-DR. Concernant DQ et DP, le polymorphisme génétique des 2 chaînes augmente le polymorphisme d'expression protéique, car les chaînes α et β peuvent s'associer indépendamment de leur origine chromosomique (régulation en *cis* et en *trans*, donc 4 protéines différentes à partir de 4 gènes DQ ou DP différents).

Les molécules HLA-DO et HLA-DM sont des hétérodimères constitués, comme les molécules HLA de classe II classiques, d'une chaîne α et d'une chaîne β codées respectivement par les gènes DOA et DOB d'une part, DMA et DMB d'autre part. Elles sont bien moins polymorphes que les molécules HLA de classe II classiques avec qui elles partagent néanmoins 25 % d'homologie de séquence. HLA-DM participe à la présentation des peptides par les molécules de classe II classiques, HLA-DO régule cette activité, mais ces 2 protéines ne présentent pas de peptides et ne se retrouvent pas à la surface cellulaire.

Ces molécules HLA de classe II sont exprimées uniquement à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (LyB, macrophages, cellules dendritiques) et inducibles sur les LyT activés et les cellules endothéliales entre autres. Certaines cytokines inflammatoires comme l'IFN- γ , les TNF α et β et l'IL-4 augmentent l'expression de ces gènes et protéines.

Fonctions des molécules HLA

Présentation des antigènes peptidiques

La fonction principale des 2 classes de molécules HLA est la présentation des antigènes peptidiques aux acteurs du système immunitaire adaptatif que sont les LyT, participant ainsi à la défense anti-infectieuse et antitumorale.

Les molécules HLA de classe I présentent les peptides nichés au niveau de leur gouttière peptidique aux LyT CD8+ et les molécules HLA de classe II aux LyT CD4+. La reconnaissance des peptides par le LyT est restreinte au contexte du CMH, c'est-à-dire qu'elle est dépendante de la molécule CMH présentatrice. La gouttière peptidique a des caractéristiques structurales propres à quasiment chaque allèle CMH : la liaison du peptide s'opère grâce à la création de liaisons non covalentes (hydrogène, ioniques), entre les chaînes latérales d'acides aminés (AA) des 2 protagonistes. Les interactions se forment essentiellement entre les extrémités du peptide et les extrémités de la gouttière pour les molécules de classe I, et avec des zones privilégiées appelées poches à peptide P1, P4, P6 et P9 pour les molécules de classe II. La possibilité de fixer de façon suffisamment stable un peptide va donc dépendre de sa géométrie et de celle de la gouttière, ainsi que de la distribution des charges électriques et des caractères hydrophobe/hydrophile des AA qui constituent le peptide et la gouttière. Pour les molécules HLA de classe I, la gouttière est fermée aux 2 extrémités, ce qui limite la taille des peptides à une longueur d'environ 8-10 AA. Cependant, des peptides un peu plus longs peuvent être présentés moyennant un repliement formant une boucle débordant de la gouttière. Les molécules de classe II possèdent une gouttière de conformation ouverte aux extrémités, pouvant accueillir des peptides plus longs, en général de 13-25 résidus, les extrémités dépassant à l'extérieur de la gouttière mais n'étant pas impliquées dans la reconnaissance par le LyT.

Les peptides présentés par les molécules HLA de classe I proviennent majoritairement de la dégradation de protéines intracellulaires cytosoliques par le protéasome (protéines du soi et protéines tumorales ou virales).

Le protéasome est un système physiologique de recyclage des protéines, dont l'efficacité et les propriétés de coupure peptidique peuvent être modifiées sous l'action de cytokines comme l'IFN- γ . Ceux présentés par les molécules HLA de classe II sont issus soit de pathogènes qui se répliquent dans le compartiment vésiculaire des macrophages, soit de pathogènes ou de toxines extracellulaires internalisés et dégradés par la voie endosomale. Certaines cellules comme les cellules dendritiques, qui ont un rôle central dans l'initiation de la réponse cytotoxique, ont comme caractéristique de pouvoir réaliser une présentation dite croisée (*cross presentation*) de peptides exogènes internalisés sur les molécules HLA de classe I, sans quoi la réponse T CD8+ ne peut pas démarrer. Les variations alléliques des molécules HLA de classe I et II couplées aux variations des peptides présentés, ainsi que les voies de chargement du peptide concourent à la diversité du répertoire peptidique (peptidome) présenté aux LyT CD4+ et CD8+. Cette présentation peptidique par les molécules HLA peut, dans certains cas, conduire à des activations délétères des LyT, comme dans les réactions d'hypersensibilité. Le syndrome d'hypersensibilité à l'abacavir associé à la présence de l'allèle HLA-B*57:01 en est un exemple représentatif. Il met en évidence la création d'un répertoire peptidique du soi altéré à la suite de l'interaction de l'abacavir avec la gouttière à peptide de la molécule HLA-B*57:01 et seulement celle-ci. Ce médicament occupe une partie de la zone d'ancrage du peptide, ce qui conduit à une modification des caractéristiques de recrutement des peptides du soi; ceux capables d'interagir avec cet allèle HLA modifié n'étant plus les mêmes ils sont donc reconnus comme étrangers par les LyT du patient (10).

Contrôle de l'activation des lymphocytes Natural Killer (NK)

Les LyNK se distinguent par leur capacité spontanée à lyser des cellules anormales (infectées ou tumorales) ou d'origine allogénique. Les molécules HLA de classe I constituent des ligands principaux de leurs récepteurs inhibiteurs : ces interactions permettent aux LyNK de discerner les cellules saines des cellules infectées, stressées ou tumorales, qui ont une expression plus ou moins diminuée des molécules HLA de classe I. Il existe 2 types de récepteurs NK au HLA de classe I : les KIR (*Killer cell Immunoglobulin like Receptors*) et les récepteurs de type C-lectine, CD94/NKG2, qui sont des systèmes multigéniques et à variabilité allélique. Les récepteurs inhibiteurs lient des épitopes de la face supérieure de la molécule HLA de classe I au niveau de l'extrémité C-terminale de l'hélice α 1, créant des

groupes de réactivités différentes selon les épitopes principaux reconnus (groupes A3/11, Bw4, C1, C2). Les épitopes C1 (N80) et C2 (K80) sont considérés comme des ligands principaux des KIR inhibiteurs, car toutes les molécules HLA-C possèdent l'un ou l'autre de ces épitopes qui sont mutuellement exclusifs. Le haut degré de polymorphisme des molécules HLA et de ces récepteurs NK permet une grande variabilité de la réponse allogénique. Un risque significativement supérieur de rejet chronique rénal a été rapporté récemment (11) quand le donneur et le receveur ne possèdent pas une certaine combinaison KIR/ligand, correspondant à une inhibition cellulaire NK faible. Ce *mismatch* KIR/ligand peut, dans le cas de greffes de CSH, conduire à un effet GVL (*Graft Versus Leukemia*) en éliminant les cellules blastiques (12). Le système HLA/KIR se révèle également avoir un rôle central dans la perpétuation de l'espèce. En effet, l'interaction KIR des cellules NK utérines/ligand HLA est également très importante dans le phénomène de placentation (13). Les récepteurs KIR reconnaissent également les molécules HLA de classe I (HLA-C, HLA-E et HLA-G) exprimées par les cellules trophoblastiques. L'allorecognition des molécules HLA-C par certains haplotypes KIR a déjà été reliée à une augmentation du risque de prééclampsie, ou au développement normal du placenta (14).

Complexe majeur d'histocompatibilité et système olfactif

Le système HLA semble impliqué dans la recherche du partenaire sexuel, à travers des relations avec notre système olfactif. La compatibilité HLA influencerait les préférences d'odeurs corporelles du partenaire sexuel, et influencerait ainsi sur son choix. Des études suggèrent que cette reconnaissance olfactive pourrait s'opérer grâce aux peptides liant les molécules HLA, qui pourraient agir comme ligand de récepteurs neuronaux du bulbe olfactif (15).

Conclusion

Le système HLA joue un rôle clé dans la réponse immune de par sa fonction de présentation de peptides aux LyT. Les molécules HLA, extrêmement polymorphes et ubiquitaires, sont impliquées en premier lieu dans les mécanismes de rejet des greffes d'organes et de cellules souches hématopoïétiques. Elles se révèlent avoir également un rôle central dans la perpétuation de l'espèce. Le voile sur la signification biologique profonde du système HLA n'est donc peut-être pas encore totalement levé. ■

Références bibliographiques

1. Beck S, Geraghty G, Inoko H et al. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *The MHC sequencing consortium. Nature* 1999;401:921-3.
2. Rhodes DA, Trowsdale J. Genetics and molecular genetics of the MHC. *Rev Immunogenet* 1999;1:21-31.
3. Thomsen M, Abbal M, Neugebauer M, Cambon-Thomsen A. Recombinations in the HLA system. *Tissue Antigens* 1989;33:38-40.
4. Carrington M, Walker BD. Immunogenetics of spontaneous control of HIV. *Annu Rev Med* 2012;63:131-45.
5. Kaur G, Gras S, Mobbs JI et al. Structural and regulatory diversity shape HLA-C protein expression levels. *Nat Commun* 2017;8:15924.
6. Johnson DR. Differential expression of human major histocompatibility class I loci: HLA-A, -B, and -C. *Hum Immunol* 2000;61:389-96.
7. Pabón MA, Navarro CE, Osorio JC et al. Impact of human leukocyte antigen molecules E, F, and G on the outcome of transplantation. *Transplant Proc* 2014;46:2957-65.
8. Risti M, Bicalho MD. MICA and NKG2D: Is There an Impact on Kidney Transplant Outcome? *Front Immunol* 2017;8:179.
9. Sumitran-Holgersson S. Relevance of MICA and other non-HLA antibodies in clinical transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008;20:607-13.

 Retrouvez l'intégralité des références bibliographiques sur www.edimark.fr

F. Delbos, S. Malard et N. Congy déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Références bibliographiques (suite de la p. 65)

10. Chessman D, Kostenko L, Lethborg T et al. Human leukocyte antigen class I-restricted activation of CD8+ T cells provides the immunogenetic basis of a systemic drug hypersensitivity. *Immunity* 2008;28:822-32.
11. Littera R, Piredda G, Argiolas D, Lai S, Congeddu E, Ragatzu P, et al. KIR and their HLA Class I ligands: Two more pieces towards completing the puzzle of chronic rejection and graft loss in kidney transplantation. *PloS One* 2017;12:e0180831.
12. Faridi RM, Kemp TJ, Dharmani-Khan P et al. Donor-Recipient Matching for KIR Genotypes Reduces Chronic GVHD and Missing Inhibitory KIR Ligands Protect against Relapse after Myeloablative, HLA Matched Hematopoietic Cell Transplantation. *PloS One* 2016;11:e0158242.
13. Smith SD, Dunk CE, Aplin JD, Harris LK, Jones RL. Evidence for immune cell involvement in decidual spiral arteriole remodeling in early human pregnancy. *Am J Pathol* 2009;174:1959-71.
14. Hiby SE, Walker JJ, O'Shaughnessy KM et al. Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J Exp Med* 2004;200:957-65.
15. Hinz C, Namekawa I, Namekawa R et al. Olfactory imprinting is triggered by MHC peptide ligands. *Sci Rep* 2013;3:2800.