Évolution des systèmes immunitaires

Éric ESPINOSA

Résumé

Les organismes pluricellulaires sont exposés à des myriades de micro-organismes potentiellement pathogènes. Ils ont mis en place au cours de l'évolution des systèmes de défense leur permettant de lutter contre cette menace. En retour, les pathogènes ont développé des systèmes de contre-mesures permettant de déjouer ces défenses et ainsi de suite dans une sorte de course aux armements, ce qui a contribué à construire petit à petit le système immunitaire. Nous nous intéressons ici aux différentes solutions adoptées par les systèmes immunitaires innés et acquis pour détecter les micro-organismes. La première ligne de défense face aux pathogènes est constituée par l'immunité innée. La stratégie de reconnaissance innée (retrouvée des plantes à l'homme) est basée sur des récepteurs génétiquement hérités qui sont le fruit de la coévolution avec les pathogènes et reconnaissent des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) fortement conservés et indispensables à leur physiologie. À côté des défenses innées, les vertébrés ont acquis au cours de l'évolution un système immunitaire adaptatif. Sa stratégie de reconnaissance est basée sur la génération d'un immense répertoire d'immunorécepteurs (en réarrangeant au hasard des segments d'ADN pour générer plusieurs milliards de récepteurs) qui peut virtuellement reconnaître toute molécule. C'est une immunité anticipative où le bon récepteur dans le répertoire est sélectionné face à un pathogène donné. Ce processus darwinien (grande variation suivie d'une sélection) permet au système immunitaire de s'adapter à n'importe quel agent infectieux en induisant la production de lymphocytes et d'anticorps qui lui sont spécifiques.

Mots-clés: stratégie de reconnaissance, coévolution, RAG, PRR, immunorécepteurs.

Abstract

Pluricellular organisms are exposed to myriads of potential microbial pathogens. In response to this threat, they have constantly evolved anti-pathogen devices. In turn, microorganisms continually evolve new solutions to evade host defense tactics in a host-versuspathogen arms race that has contributed to build the immune system.

We will focus on the different ways adopted by the innate and adaptive immune system to detect the threat. The first line of host responses to pathogen invasion is the innate immune defenses. The innate recognition strategy (found from plants to humans) is based on germlineencoded receptors that are the products of the co-evolution with microorganisms and recognize highly conserved pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) which are essential products of microbial physiology.

In addition to innate defense mechanisms, vertebrates have evolved an adaptive immune system. The adaptive recognition strategy is based on the generation of a huge repertoire of immune-receptors (by rearranging randomly DNA segments to give rise to several billions of different possible receptors) that can virtually recognize any molecule. It is an anticipatory immunity where the right receptor is selected from the repertoire to face an invading pathogen.

This Darwinian process (enormous variation followed by selection) allows the immune system to adapt to each new infectious agent by inducing production of specific lymphocytes and antibodies.

Keywords: immune recognition strategy, co-evolution, PRR, RAG, immune receptors.

Le système immunitaire est habituellement découpé en deux grandes parties: l'immunité innée (encore appelée immunité non spécifique, plus rarement immunité naturelle) et l'immunité acquise (encore appelée immunité adaptative ou immunité spécifique). L'immunité acquise est le privilège des vertébrés alors que tous les pluricellulaires possèdent une immunité innée. On ne peut pas parler de système immunitaire chez les végétaux ou les animaux les plus simples comme les cnidaires ou les éponges, chez qui on préférera parler de mécanismes de défense. Ces derniers relèvent cependant d'une immunité de type innée. Dès l'apparition de l'état pluricellulaire, les organismes constitués se sont révélés être des habitats favorables pour une vie parasitaire. Très tôt, le développement de mécanismes de défense a été sélectionné chez ces organismes hôtes à l'interface hôte-parasite. Ces mécanismes de défense se sont mis en place aux niveaux moléculaire et cellulaire au départ pour atteindre chez les animaux plus complexes l'individualisation de cellules et organes spécialisés dans cette fonction, formant ainsi le système immunitaire. Ces mécanismes de défense constituent une pression de sélection sur le parasite qui, à son tour, développe des mécanismes de contre-mesure défiant les défenses de l'hôte et lui permettant de survivre. Cela constitue une pression sur l'hôte qui favorise la sélection de nouveaux systèmes de défense et ainsi de suite. Il est de ce fait intéressant de voir le système immunitaire des animaux comme le fruit d'une coévolution entre l'hôte et les divers parasites l'affectant, qui s'est construit en regard des surenchères successives d'échappement des parasites aux mécanismes de défense mis en place. Les mécanismes immunitaires se sont ainsi enrichis au cours de l'évolution. Un point crucial dans tout système de veille et de défense est la capacité de repérer l'ennemi. La détection des intrus par l'hôte et la capacité d'échapper aux systèmes de détection des parasites sont un point clé de la coévolution hôte-parasite. Il s'agit ici de voir les stratégies innée et adaptative de reconnaissance des microorganismes, les récepteurs utilisés et d'apporter quelques éléments de réflexion sur l'apparition du système immunitaire adaptatif dont un des points clés repose sur l'apport d'un nouveau système de reconnaissance.

La stratégie de l'immunité innée

L'immunité innée est constituée de mécanismes de défenses divers qui sont mobilisés immédiatement en réponse à la détection d'un intrus (Espinosa & Chillet 2010, Janeway *et al.* 2009). La clé de tout système de défense est de détecter tout problème d'intrusion et/ou de nuisance.

La reconnaissance des micro-organismes repose ici sur la mise en place de récepteurs acquis par un long processus évolutif, en coévolution avec les pathogènes. De nombreux récepteurs de l'immunité innée ont été découverts depuis l'avènement de l'immunologie moléculaire mais il a fallu attendre les années 1990 pour que ceci soit conceptualisé par C. Janeway. Pour lui, l'immunité innée reconnaît les pathogènes par un ensemble de récepteurs, génétiquement hérités, les PRR (vattern recognition receptors). Ces PRR reconnaissent des motifs moléculaires qui sont des signatures microbiennes appelés PAMP (pathogen-associated molecular vattern). Les PAMP ont les caractéristiques suivantes : 1) ils ne sont présents que chez les micro-organismes et pas chez l'hôte, 2) ils sont indispensables à la survie des micro-organismes, 3) ils sont conservés au cours de l'évolution et 4) chaque PAMP est partagé par de nombreuses espèces si bien qu'un récepteur pour ce PAMP suffit à reconnaître un très vaste ensemble de micro-organismes (d'où la qualification de non spécifique pour cette immunité). Ainsi, un récepteur au LPS (lipopolysaccharide, constituant de la paroi de nombreuses bactéries Gram négatif¹ comme *E.coli*) permet de reconnaître toute bactérie Gram négatif. Cette théorie de C. Janeway a pris tout son sens lors de la découverte d'un groupe important de PRR, les récepteurs de type Toll ou TLR (Toll like receptors). En 1996, l'équipe de Jules Hoffman (ce dernier vient de recevoir le prix Nobel de médecine 2011) découvre que le récepteur Toll, connu chez la drosophile pour être impliqué dans le développement, est impliqué dans la réponse antifongique. Un an après, l'équipe de C. Janeway découvre chez l'homme un homologue de Toll appelé TLR; cette famille s'agrandit ensuite et on compte chez l'homme une dizaine de TLR qui assurent la reconnaissance d'une grande majorité des microorganismes. D'autres grandes familles de récepteurs de type PRR ont ensuite été identifiées comme les NLR (Nod like receptors, cf. infra). Il est intéressant de noter que les PRR sont exprimés chez les animaux par deux grands types de cellules : les cellules du système immunitaire et les cellules épithéliales, en contact direct avec les micro-organismes. En outre, chaque type cellulaire possède un jeu donné de PRR et ces récepteurs sont stratégiquement localisés : si la plus grande partie est exprimée à la membrane plasmique et permet aux cellules de détecter des pathogènes extracellulaires, d'autres sont cytosoliques et détectent les pathogènes intracellulaires comme les virus à ARN (les acides

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries en fonction de la nature de leur paroi.
Les bactéries à Gram négatif ne se colorent pas du fait d'une paroi composée d'une fine couche de peptidoglycane et d'une membrane externe.

nucléiques viraux sont des PAMP) et certains sont même localisés dans les endosomes², lieux d'entrée de nombreux virus. De plus, certains PRR sont solubles et assurent la fixation des micro-organismes dans le milieu intérieur. Ainsi la multiplication des PRR, plus d'une cinquantaine chez l'homme, assure une reconnaissance fine des micro-organismes et permet au système immunitaire inné d'avoir une information sur le type microbien envahisseur en fonction du type de PRR stimulé et de sa localisation.

Cette théorie n'explique cependant pas l'apparition de réponses inflammatoires en absence de pathogène ou la relative tolérance des bactéries commensales. Elle a été complétée par Polly Matzinger qui a proposé en 1994 la théorie du danger, stipulant que le système immunitaire répond lorsqu'il a perçu un signal de danger au sein de l'organisme en détectant, par exemple, des cellules en souffrance ou en nécrose. La perception des PAMP serait complétée par la perception de DAMP ou signaux de danger qui informeraient sur la pathogénicité du micro-organisme. Depuis, plusieurs DAMP ont été identifiés. Ils proviennent directement de la bactérie comme des toxines injectées dans les cellules (elle est alors considérée comme dangereuse) ou sont des facteurs de l'hôte libérés suite aux lésions occasionnées (on parle d'alarmines). Parmi les facteurs de l'hôte, on distingue des composants cytoplasmiques libérés dans le milieu par les cellules en nécrose et qui activent les PRR (acide urique, ATP, produits de clivage de la matrice extracellulaire...) et des signaux inductibles par le stress cellulaire en réponse à une agression, comme certaines cytokines (interleukine-1) ou défensines³. Lors d'une infection par des salmonelles, les PAMP des salmonelles sont reconnus par divers PRR et les lésions qu'elles occasionnent (nécrose cellulaire) ou leurs toxines sont autant de signaux de dangers (DAMP) qui stimulent de nombreux récepteurs et déclenchent une réponse immune innée puis adaptative.

Ainsi le système immunitaire inné a acquis au cours de sa coévolution avec les parasites, des systèmes de reconnaissance lui permettant d'identifier leur présence mais aussi de déceler les lésions occasionnées.

Des végétaux aux animaux

Ce mode de reconnaissance basé sur les PRR se retrouve chez tous les animaux et même chez les végétaux. L'exemple des NLR (une famille

^{2.} Les endosomes constituent des compartiments délimités par une membrane résultant du phénomène d'endocytose suite à la fusion avec les vésicules formées à partir d'une invagination de la membrane plasmique. Ces vésicules transportent des substances issues du milieu extracellulaire.

^{3.} Les cytokines sont les messagers de l'immunité; les défensines sont des peptides antimicrobiens à large spectre que l'on retrouve, avec de grandes similitudes, des plantes aux mammifères.

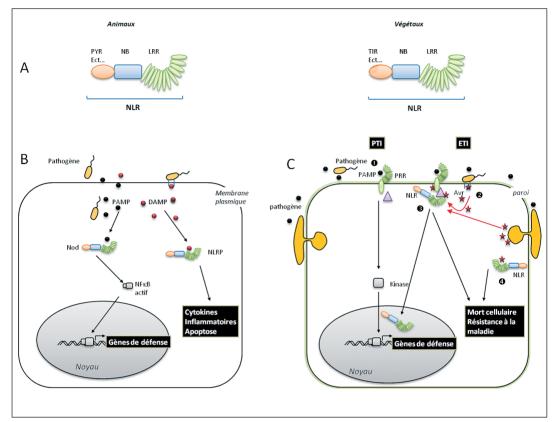
de PRR) est caractéristique et on retrouve cette famille de récepteurs utilisés un peu de manière différente mais avec des similitudes frappantes chez les animaux et les végétaux (figure 1 ; Maekawa et al. 2011). Chez les animaux, ces récepteurs sont utilisés pour reconnaître classiquement des PAMP dans le cytosol, comme le récepteur Nod qui reconnaît le peptidoglycane de la paroi bactérienne et active alors les systèmes de défense. Ces récepteurs sont aussi utilisés pour reconnaître des signaux de danger témoignant de la présence de pathogènes comme des toxines bactériennes injectées dans la cellule par la bactérie ou des signaux de danger provenant de cellules voisines mourantes. C'est le cas du récepteur NLRP qui active la maturation et la libération de cytokines pro-inflammatoires. Chez les végétaux, la détection des pathogènes se fait à deux niveaux (Boller & He 2009, Dods & Rathjen 2010). Le premier niveau fait appel à des PRR cytoplasmiques ou membranaires qui reconnaissent des PAMP et induisent des mécanismes de défense basiques appelés PTI (PAMP-triggered immunity). Par exemple, la flagelline des bactéries est reconnue par un récepteur NLR (FLS2) qui existe chez toutes les plantes (elle est reconnue par le TLR5 chez les animaux). Cette surveillance a sélectionné, chez de nombreux pathogènes de végétaux, des mécanismes qui ont pour effet de sécréter et d'injecter des protéines effectrices (produits des gènes d'avirulence Avr) dans la cellule hôte et qui interagissent avec cette voie de signalisation, ce qui limite la mise en place de ces défenses. En retour, il v a eu sélection chez les plantes d'un second niveau de détection qui perçoit ces protéines effectrices microbiennes, soit directement, soit lorsqu'elles sont liées aux protéines de surveillance pour les inhiber (soi modifié), et induit des défenses plus spécifiques appelées ETI (Effector-triggered immunity) ou résistance gène pour gène (à un gène Avr microbien correspond un gène de défense végétal). La PTI est généralement efficace sur des pathogènes non adaptés à leur hôte (résistance non hôte) alors que l'ETI est active contre des pathogènes qui se sont adaptés à leur hôte. On trouve ici une similarité de fonctionnement entre les NLR végétaux et mammaliens. Les NLR ont ainsi la capacité de reconnaître des protéines du soi affectées par l'activité microbienne; on emploie le terme d'éliciteur. Chez les végétaux, les NLR reconnaissent les actions des protéines Avr sur les systèmes de garde, chez les animaux, les NLR perçoivent des nuisances microbiennes par la présence de radicaux libres, de flux ioniques modifiées, de produits de dégradation cellulaire (exemple, acide urique) ou tissulaire (exemple, fragments d'acide hyaluronique). Dans cette stratégie, le SI inné ne cible plus les innombrables

ligands microbiens mais surveille des cibles cellulaires incontournables permettant de déjouer la mise en place des défenses, ce qui réduit le nombre de récepteurs nécessaires.

La formidable histoire de Toll

Le gène *Toll* a été découvert dans les années 1980 chez la drosophile comme impliqué dans le développement. La protéine Toll est un récepteur transmembranaire à fonction de signalisation intracellulaire. Dans l'embryon, Toll reconnaît un gradient de molécules (Spätzle, produit final d'une cascade protéolytique) en provenance des cellules maternelles avoisinantes et assure l'acquisition d'une polarité de l'embryon. Le gène *Toll* a été cloné en 1988 et il s'est avéré ressembler fortement au gène codant le récepteur de l'interleukine 1, IL-1R chez l'homme, notamment au niveau de la partie correspondant à un domaine de signalisation qu'on a appelé TIR (Toll-Interleukin 1 Receptor). En outre, les drosophiles mutantes pour *Toll* présentent une sensibilité aux infections fongiques. On a montré par la suite que Toll induit chez l'adulte l'expression de nombreux peptides antimicrobiens dans le corps gras de l'insecte. L'équipe de C. Janeway s'est mise à rechercher des versions mammaliennes de Toll dans l'espoir de conforter sa théorie et une douzaine de récepteurs similaires à Toll, appelés TLR, ont été clonés chez l'homme et la souris. Chez les mammifères ces récepteurs fonctionnent par dimères et leurs différentes associations permettent de reconnaître la grande majorité des signatures microbiennes. La partie du récepteur impliquée dans la reconnaissance du ligand est composée de domaines répétés de type LRR à répétitions riches en leucine (*leucine-rich repeats*) qui s'organisent en solénoïde en crosse (cf. schéma, figure 2). Il est intéressant de noter que ces domaines LRR sont présents dans plusieurs familles de protéines (souvent des PRR) retrouvées chez les animaux et les végétaux⁴. Chez les différents TLR cette portion est très variable ce qui n'est pas étonnant vu la forte pression de sélection qui s'applique sur ce domaine de reconnaissance des micro-organismes. On retrouve

^{4.} Chez les végétaux on ne trouve pas d'homologues de Toll complet mais seulement du domaine TIR. Les PRR végétaux sont composés aussi de domaines retrouvés chez les animaux comme dans le cas des récepteurs NLR qui comportent un domaine TIR présent chez les gymnospermes et les dicotylédones mais absent chez les monocotylédones où le domaine TIR a été remplacé par un autre module. On assiste là au bricolage évolutif de la nature où des modules initiaux, LRR, TIR, NB ont été combinés assurant diverses solutions de reconnaissance des micro-organismes. Ces modules ont même été capturés par les virus lors de la coévolution avec leur hôte. Les poxvirus (gros virus à ADN comprenant le virus de la variole et de la vaccine) sont coutumiers du fait et le virus de la vaccine code deux protéines qui interfèrent avec la signalisation du récepteur à l'IL-1 et des TLR.



 $\label{eq:Figure 1:Les récepteurs de type Nod (NLR) chez les animaux et les végétaux} Les récepteurs de type Nod (NLR) chez les animaux et les végétaux$

- A. Des modules structuraux proches sont retrouvés chez les NLR animaux et végétaux. On retrouve notamment un domaine C-terminal à motifs LRR répétés assurant la reconnaissance et un domaine central comprenant notamment une zone de liaison aux acides nucléiques NB avec des motifs structuraux conservés. Le domaine N-terminal est lui plus variable selon les sousfamilles de NLR et assure la signalisation intracellulaire.
- B. Dans une cellule animale les NLR peuvent reconnaître directement des ligands microbiens (PAMP) ou reconnaître indirectement la présence d'un pathogène par ses toxines ou les altérations qu'il produit (DAMP); une réponse inflammatoire est déclenchée.
- C. Dans une cellule végétale les NLR peuvent reconnaître directement les PAMP; ils sont les principaux PRR végétaux, ces systèmes de garde induisent la PTI.
 - Les phytopathogènes comme des bactéries ou des champignons ici représentés sécrètent dans la cellule végétale des contre-mesures à cette détection, les produits des gènes Avr,
 - 3 qui bloquent les systèmes de garde.
 - **9** Un second groupe de NLR détecte alors l'action de ces Avr spécifiquement et induit l'ETI, qui emploie les mêmes systèmes de défense que la PTI mais de manière plus intense et qui implique souvent une mort cellulaire localisée, appelée réponse hypersensible, et une réponse systémique.

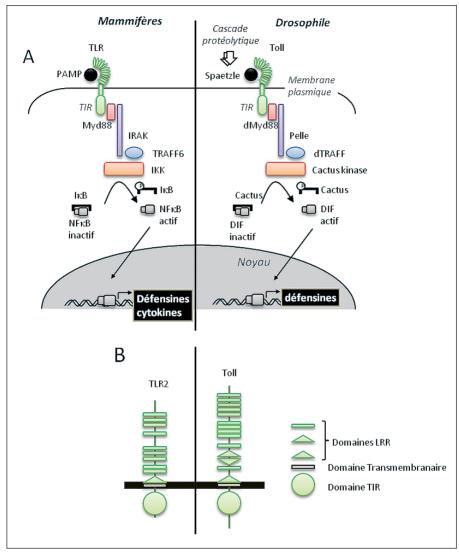


Figure 2 : Comparaison de toll chez la drosophile et des TLR mammaliens

- A. Voies de transduction du signal par les TLR et Toll, les éléments homologues sont représentés de manière identique. Chez les TLR, un ligand microbien se fixe au TLR et le domaine TIR du TLR débute une cascade de recrutement d'adaptateurs (Myd88, IRAK, TRAFF) activant finalement une kinase qui phosphoryle IkB, l'inhibiteur du facteur de transcription NFkB, le conduisant à relâcher NFkB qui pourra aller dans le noyau et activer de nombreux gènes de l'inflammation. Une voie similaire existe chez la drosophile.
- B. Comparaison de la structure du TLR2 et de Toll; on retrouve des motifs riches en leucines LRR et le domaine de signalisation TIR.

même des domaines à LRR chez les bactéries, signe que ce motif a une longue histoire évolutive. La partie TIR des TLR impliquée dans la transduction du signal est très conservée et est retrouvée des plantes à l'homme (figure 2).

La multiplication des PRR comme stratégie pour contrer la furtivité ou le sabotage microbiens?

Nous venons de voir l'immunité à deux étages des végétaux mettant en jeu les PRR. Cette stratégie implique notamment une adaptation à de nombreux gènes d'avirulence microbiens permise par la multiplication des PRR. Ainsi chez *Arabidopsis* ou arabette, le végétal de laboratoire par excellence, on dénombre plus de 250 gènes codant des protéines à motifs LRR dont 200 sont de type NLR. De plus, on observe un polymorphisme important dans les PRR végétaux assurant une capacité de reconnaissance accrue au sein des espèces. Cette observation est aussi valable chez de nombreux taxons animaux montrant l'importance de la pression microbienne dans la sélection des systèmes de détection de l'hôte (tableau 1).

TLR	
Homme	10
Souris	9
Oursin	340
Amphioxus	42
Morue	23
Danio	19
NLR	
Homme	21
Riz	585
Arabette	200

Tableau 1 : Nombre de gènes codant des TLR* ou des NLR* chez différentes espèces

Oursin

Ainsi chez les échinodermes comme l'oursin, on retrouve un grand nombre de PRR avec plus de 340 TLR. Pourquoi une telle quantité de PRR chez l'oursin alors que les mammifères ou les insectes s'en sortent avec une dizaine? Plusieurs hypothèses sont à envisager. Les échinodermes sont souvent associés à des bactéries symbiotiques et cette coexistence

211

^{*} $TLR = Toll\ like\ receptors$; $NLR = Nod\ like\ receptors$.

complexe aurait favorisé un plus vaste arsenal de récepteurs permettant de discriminer symbiotes et pathogènes. La transition vers les vertébrés et le changement dans les communautés endosymbiotiques auraient alors rendu ces systèmes de surveillance obsolètes. Ou bien plus simplement, l'absence de SI adaptatif aurait conduit à multiplier les PRR de manière à contrer les variations des pathogènes. Plus anecdotique, on constate chez certains poissons comme la morue, un plus grand nombre de TLR que chez les autres vertébrés et de manière concomitante une immunité acquise qui a perdu certaines fonctions. Il se pourrait que certains systèmes immunitaires aient évolué indépendamment avec une divergence dans la stratégie de reconnaissance des pathogènes.

La stratégie de l'immunité adaptative

Le système immunitaire adaptatif apparaît avec les vertébrés. Il apporte une nouvelle solution dans la reconnaissance des micro-organismes... qui lui a été apportée par un virus ou une bactérie (cf. infra). Cette stratégie repose sur une approche statistique des molécules à reconnaître: face à l'extraordinaire diversité des micro-organismes et leur capacité redoutable à muter, il s'agit de fabriquer un ensemble extraordinaire de récepteurs (appelé répertoire), si bien que statistiquement, face à une quelconque molécule microbienne, le répertoire comporte un récepteur qui lui sera spécifique. Si cette stratégie semble très séduisante, elle demande néanmoins de nombreux mécanismes pour la mettre en place. Le premier d'entre eux consiste à obtenir le répertoire de récepteurs. Le système immunitaire utilise la combinatoire au hasard de plusieurs segments de gènes à partir de pools génomiques pour former le gène qui code le récepteur. Cette stratégie de variation massive dans la séquence des protéines de manière à anticiper une liaison à un ligand putatif (ici le futur antigène) est rare dans les systèmes biologiques. On la retrouve dans l'immunité adaptative des vertébrés ce qui leur permet de lier n'importe quel antigène et de contrer la variation antigénique des pathogènes. On la trouve aussi chez certains bactériophages comme le phage de la bactérie Bordetella qui génère un vaste panel de récepteurs en réponse aux variations des ligands de surface de la bactérie permettant d'échapper au phage, cela assure au phage la liaison à la bactérie.

Le système immunitaire adaptatif utilise deux répertoires de récepteurs (ou immunorécepteurs), les récepteurs des lymphocytes T, les TCR, et les récepteurs des lymphocytes B, les BCR (ces derniers étant des immunoglobulines membranaires). Ces récepteurs sont exprimés clonalement (à la différence des PRR): chaque lymphocyte exprime un récepteur qui

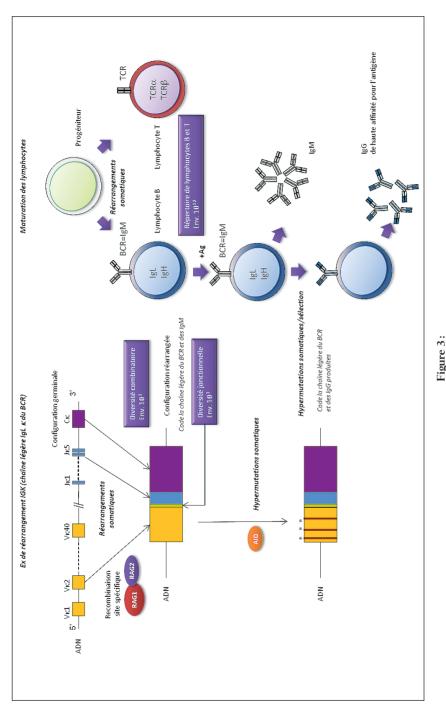
lui est propre et diffère donc de son voisin. Les lymphocytes B et T synthétisent leur récepteur au cours de leur développement dans la moelle osseuse (chez les mammifères) pour les B et dans le thymus pour les T. Le principe est globalement le même pour les deux types de lymphocytes (figure 3). Le BCR et le TCR sont constitués de deux chaînes, chacune munie d'une partie constante qui est la même pour tous les lymphocytes et d'une partie variable (impliquée dans la reconnaissance de l'antigène) qui est propre à chaque lymphocyte. Cette partie variable est codée par 2 ou 3 segments de gènes (V et I pour la chaîne légère du BCR ou la chaîne α du TCR et V. D et I pour la chaîne lourde du BCR et la chaîne β du TCR) qui sont recombinés au hasard par le lymphocyte en cours de développement à partir de pools de segments V, (D) et J présents dans l'ADN au niveau des loci codant les chaînes des immunorécepteurs (chez l'homme il y a, par exemple, une cinquantaine de segments V et I dans le locus codant la chaîne α du TCR). Ces segments sont alors «raboutés » pour former les gènes codant ces chaînes. Chaque lymphocyte réarrange ainsi son ADN (dit en configuration germinale) grâce à deux recombinases RAG1 et RAG2 pour obtenir une combinaison V(D)I donnée et génère le gène qui codera son immunorécepteur (ADN en configuration réarrangée). La combinatoire de ces segments V(D)] et la présence de deux chaînes permettent théoriquement de former plus d'un million de récepteurs différents. En outre, lorsque les segments V, D et I sont raboutés entre eux, il y a un processus qui enlève aléatoirement quelques nucléotides, et au niveau du segment D, une enzyme (la TdT, terminal desoxynucleotidyl transferase) qui polymérise au hasard jusqu'à une vingtaine de nucléotides. Ceci crée une diversité dite jonctionnelle qui étend considérablement le répertoire (d'un million de possibilités environ). On estime la taille potentielle des répertoires T et B à 10¹² à 10¹⁵ récepteurs (Market & Papavassiliou 2003). Ces immunorécepteurs sont générés somatiquement (pas de transmission à la descendance) au niveau de chaque lymphocyte ce qui permet la distribution clonale de ces récepteurs et l'expression d'un large répertoire compte tenu du nombre important de lymphocytes (env. 2.10¹¹ chez l'homme).

Ces répertoires d'immunorécepteurs sont constitués *a priori*, en l'absence d'antigène, on parle d'immunité anticipative. On génère ainsi des lymphocytes capables de reconnaître n'importe quelle molécule⁵. L'acquis évolutif semble abandonné dans la mesure où le gène codant

^{5.} La question de la capacité de faire la distinction entre le soi et le non-soi se pose au SI car ce processus génère forcément aussi des récepteurs capables de reconnaître le soi. Des mécanismes assurant une acquisition de la tolérance au soi contrôlent les lymphocytes autoréactifs.

le récepteur est généré en quelques minutes grâce à un processus faisant intervenir le hasard. Ce phénomène permet de contrer un échappement des pathogènes à un système de reconnaissance hérité comme celui de l'immunité innée par coévolution. La sélection du «bon» lymphocyte dans le répertoire (celui qui a synthétisé un récepteur se trouvant être spécifique) se fait ensuite au contact de l'antigène microbien, c'est la théorie de la sélection clonale de Burnet. Il s'agit d'un processus quasi darwinien où on crée une énorme diversité suivie d'une sélection à l'épreuve du contexte microbien à l'instant t de l'infection. Le lymphocyte spécifique est alors activé, se multiplie (amplification clonale) et se différencie en effecteur et exerce ses fonctions immunitaires. Les lymphocytes B se différencient en plasmocytes qui sécrètent de grandes quantités d'une forme soluble de leur récepteur : les anticorps. Au début de la réponse, les anticorps sont des IgM de piètre affinité (en effet souvenons-nous que le récepteur résulte d'un processus stochastique et on ne peut pas s'attendre à une excellente adaptation topologique à son ligand). La réponse immunitaire des lymphocytes B subit ensuite une maturation et les anticorps sécrétés sont des IgG, des IgA ou des IgE de forte affinité. Il y a eu commutation de la classe des anticorps (on a changé leur partie constante de la chaîne lourde) et augmentation de leur affinité. Le changement de classe est fonction de la nature du pathogène à combattre, chaque classe d'anticorps assurant des fonctions de défense particulières. Il y a donc chez les lymphocytes B une adaptation supplémentaire au pathogène: on produit la classe d'anticorps la mieux à même d'éliminer le pathogène et on augmente l'affinité des anticorps pour l'antigène. Ce dernier mécanisme repose sur un processus d'hypermutations somatiques au niveau de l'ADN qui code les parties variables des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines (figure 3). Lors de la phase d'expansion clonale, des mutations sont introduites à chaque mitose avec une fréquence élevée (1/1000) au niveau des parties V(D)] grâce à une enzyme AID⁶. Ces mutations aléatoires dans le site de reconnaissance de l'anticorps aboutissent à des modifications de l'affinité de l'anticorps pour son ligand. C'est un peu du «bidouillage moléculaire » de l'ADN qui code le récepteur reposant sur un processus de mutation aléatoire de quelques nucléotides. Cela aboutit parfois à des augmentations d'affinité parfois au contraire à des diminutions. Associé à ce phénomène, un processus de sélection

^{6.} Cytidine deaminase, cette enzyme induit un clivage dans l'ADN au niveau de la partie variable et la cassure est réparée de manière infidèle. Les cytidine deaminases forment une très ancienne famille d'enzymes dont des membres sont utilisés comme mécanismes de défenses innés, citons APOBEC qui est impliquée dans la lutte antivirale en modifiant les génomes viraux.



rigure 3 : Réarrangement des immunorécepteurs TCR et BCR chez l'homme

Le génome en configuration germinale comprend au niveau des loci des immunorécepteurs (ici est représentée la portion qui code la chaîne légère κ du BCR: IGK) plusieurs pools de segments de gènes V et Jauxquels il faut ajouter le pool D pour les chaînes lourdes du BCR et β du TCR. Lors du mécanisme de réarrangement, les recombinases RAG1 et RAG2 recombinent au hasard un réassortiment VJ ou VDJ, qui codera la partie variable de l'immunorécepteur, la partie constante est codée par un segment constant unique (signification des abréviations dans le texte). des lymphocytes ayant gagné en affinité est mis en place. Il assure ainsi petit à petit une augmentation de l'affinité du récepteur initialement sélectionné par sélection positive des mutants face à l'antigène. Cette maturation de la réponse anticorps permet une adaptation du SI au pathogène qu'il combat. À l'issue de cette réponse quelques lymphocytes B et des plasmocytes se différencient en cellules mémoire qui seront à l'origine d'une future réponse immédiatement adaptée face au même pathogène. Cependant, aucun de ces récepteurs spécifiques ne sera transmis à la descendance mais uniquement les pièces détachées (les segments VDJC) et les outils moléculaires pour en rebâtir les bases. Ainsi avec le SI adaptatif, tout n'est pas gravé dans les gènes, les récepteurs « sont en kit modulables à monter soi même » face aux nouvelles menaces à venir ce qui autorise une grande plasticité face à la diversité du monde microbien.

L'immunologie comparée a montré depuis longtemps que seuls les vertébrés à mâchoire possèdent un SI adaptatif basé sur l'expression clonale de récepteurs TCR et BCR générés par recombinaisons somatiques ainsi que des systèmes de régulation associés; les agnathes en étant apparemment dépourvus (nous verrons que ce n'est pas vrai). Cette observation a amené la théorie du big bang qui stipule que le SI adaptatif est apparu avec tous ses composants très rapidement, en bloc, avec l'avènement des vertébrés à mâchoire il y a 450 millions d'années. L'apparition du SI adaptatif caractérisé par des lymphocytes exprimant clonalement un immunorécepteur repose notamment sur la capacité à générer le répertoire d'immunorécepteurs grâce aux recombinases RAG1 et RAG2. Des études sur ces recombinases ont permis de nuancer cette théorie.

RAG1 et RAG2 à la base de la théorie du big bang

Les gènes *RAG1* et *RAG2* ne sont présents que chez les vertébrés à mâchoire, les agnathes et les autres métazoaires en sont dépourvus (Litman *et al.* 2010). Cette observation a conduit à penser que les gènes *RAG* avaient dû intégrer le génome d'un ancêtre des vertébrés à mâchoire il y a 450 millions d'années permettant la diversification de leurs récepteurs et l'avènement du SI adaptatif. Les pools de segments de gènes V, D et J à la base de la recombinaison VDJ seraient la conséquence de l'insertion d'un transposon⁷ (la transposase du transposon apportant l'activité recombinase serait l'ancêtre des recombinases RAG) dans un proto TCR,

^{7.} Séquence d'ADN mobile pouvant se déplacer dans le génome et se multiplier, soit par l'intermédiaire d'une copie ADN, soit par l'intermédiaire d'une copie ARN.

gène ancestral du TCR (qui avait peut-être une fonction immunitaire en codant un récepteur de la superfamille des immunoglobulines) chez un ancêtre commun aux vertébrés à mâchoire⁸ (figure 4). Le gène ainsi cassé ne pourrait alors s'exprimer que suite à l'excision de l'élément inséré par une recombinase. Cette structure aurait conduit à la multiplication des segments de gènes flanquant au cours de l'évolution. On peut penser qu'après l'excision du transposon et notamment l'implication du système de réparation des cassures double brin dans un lymphocyte ancestral, le gène résultant reconstitué code un récepteur avec une spécificité quelque peu modifiée permettant alors de créer un répertoire de récepteur assurant une reconnaissance élargie du monde microbien. Le fait que les lamproies (agnathes) possèdent un seul gène de type proto TCR avec une portion VJ intacte milite en cette faveur.

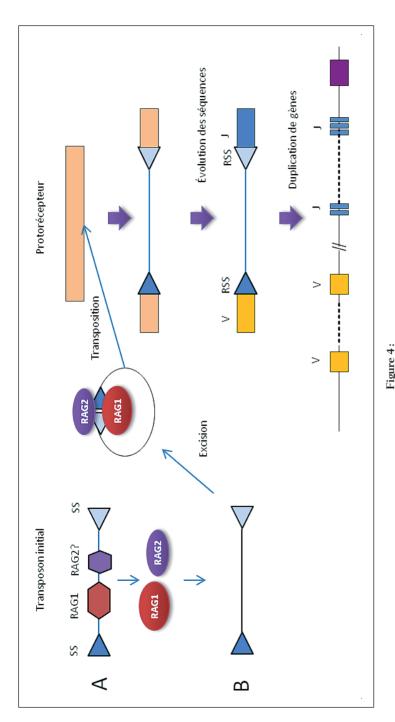
Ainsi, la découverte chez tous les vertébrés (sauf les agnathes) de deux gènes contigus RAG1 et RAG2 extrêmement conservés et sans introns⁹ (64 % d'homologie entre les RAG1 de requin et humain) ainsi que la ressemblance de RAG1 à des transposases étayent cette théorie du big bang. On a pensé en premier lieu que ces deux gènes proviendraient d'un transfert horizontal d'un transposon procaryote ou eucaryote. Plus récemment, on a découvert chez l'oursin (un échinoderme, groupe frère des chordés) une paire de gènes contigus avec des similarités de séquence et d'organisation aux gènes RAG1 et RAG2. Cette découverte surprenante indique que le transposon RAG aurait envahi le génome des animaux au moins 100 millions d'années avant l'apparition des vertébrés. De récents travaux ont même identifié des séquences clairement en rapport avec RAG1 chez les cnidaires comme l'hydre ou Nematostella (Hemmrich et al. 2007). Chez ces animaux, RAG1 serait resté dormant ou alors des événements de transposition de RAG1 et RAG2 auraient eu lieu plusieurs fois. Des travaux récents montrent que RAG1 dériverait d'éléments transposables de type Transib¹⁰. Il est possible qu'un transposon ancestral de type RAG1 se soit inséré proche d'un RAG2 ancestral endogène chez un ancêtre commun des deutérostomiens¹¹, RAG2 perdant

^{8.} Les segments V, D et J sont en effet flanqués de séquences signal de recombinaison avec des répétitions inversées dans leur séquence ce qui est caractéristique d'événements de transposition.

^{9.} Les introns sont des séquences d'ADN constitutives des gènes, principalement eucaryotes, qui sont éliminées lors du processus d'expression de l'information génétique et qui ne participent donc pas à la séquence protéique.

^{10.} Les éléments Transib sont des transposons de type « copier/coller » présents chez tous les métazoaires qui ont des mécanismes proches de ceux retrouvés chez RAG1 notamment l'utilisation de séquences de type RSS.

^{11.} Division des animaux triblastiques comprenant les échinodermes et les vertébrés.



Origine hypothétique des gènes RAG et transposition à l'origine de l'organisation des loci des immunorécepteurs

curseurs évolutifs des actuels segments V et I. L'excision de l'élément par les recombinases est indispensable pour rabouter les deux segments éloignés B. Les transposases RAG1 et RAG2 réunies assurent l'excision d'un élément mobile du génome qui s'est intégré dans un gène codant un protorécepteur et générant ainsi deux segments flanqués par des séquences de recombinaison (triangles) futures séquences RSS. Ces segments de gène sont les prépar la transposition. Cette insertion aurait permis des duplications au cours de l'évolution du fait des séquences répétées terminales aboutissant à la A. Structure hypothétique du transposon ayant envahi le génome animal. La présence de RAG2 dans le transposon originel n'est pas évidente. multiplication des deux fragments à l'origine des pools V et J (modifié d'après Agrawal *et al.* 1998).

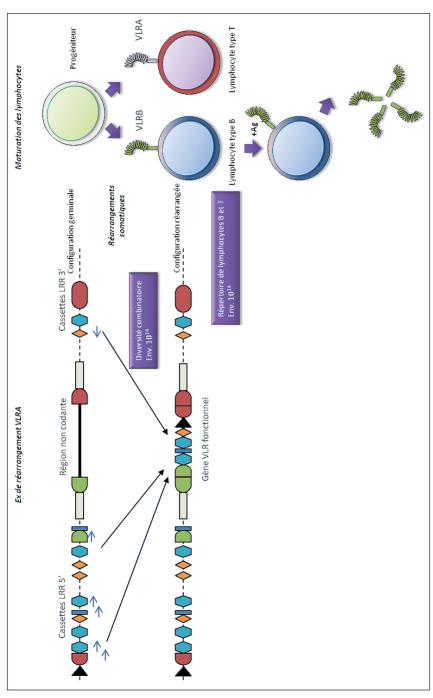


Figure 5: Réarrangement des immunorécepteurs VLR chez la lamproie

Le gène en configuration germinale comprend une zone non codante flanquée de nombreuses cassettes à LRR en 5' et 3'. Lors du réarrangement dans le lymphocyte en maturation, plusieurs cassettes sont recopiées successivement à partir des séquences disponibles en 5' ou 3' (le choix des séquences recopiées est aléatoire) pour former le gène qui codera le futur VLR. Ces réarrangements aléatoires somatiques permettent de former un vaste répertoire d'immunorécepteurs. VRLA est exprimé sur des lymphocytes qui semblent fonctionner à la manière des lymphocytes T et VLRB est exprimé sur des ymphocytes de type B; il sera sécrété sous forme d'oligomères en réponse à un antigène (analogie avec les IgM). Il ny a pas de maturation d'affinité. alors sa fonction originelle et étant coopté vers la recombinaison VDJ chez les vertébrés à mâchoire. Ou bien un virus de type herpes aurait apporté un ancêtre de *RAG1* au voisinage de *RAG2*.

Si l'origine des gènes *RAG* n'est pas encore clairement établie, il semble à la lumière de ces dernières découvertes que la théorie du big bang ne soit pas tout à fait juste. Si, en effet, un grand pas a été franchi avec l'acquisition d'un rôle fonctionnel de RAG1 et RAG2 dans la recombinaison VDJ avec l'avènement des vertébrés à mâchoire, il n'en demeure pas moins que de nombreux systèmes ou mécanismes préexistaient déjà (lymphocytes, *RAG1* et *RAG2*, protoTCR, systèmes de réparation de l'ADN, TdT, AID...). Le SI adaptatif des vertébrés n'est pas aussi nouveau car de nombreux modules moléculaires utilisés dans les processus adaptatifs existaient déjà bien avant l'apparition des vertébrés comme, par exemple, la mémoire immunitaire, supposée l'apanage du SI adaptatif, qui existe aussi en dehors de ce groupe. De plus, le SI adaptatif ne fonctionne jamais seul : ses prises de décision reposent sur les instructions du SI inné et il utilise largement les systèmes de défense innés qu'il redirige spécifiquement contre le pathogène à combattre.

Une immunité adaptative existe aussi chez les agnathes

On croyait l'immunité adaptative des vertébrés «supérieurs » unique en son genre de par cette stratégie de reconnaissance. L'identification d'autres systèmes de récepteurs somatiquement réarrangés a bouleversé cette vision et apporté une meilleure compréhension de l'évolution des SI. Il v a 500 millions d'années les vertébrés apparaissent et en moins de 40 millions d'années, au Cambrien, les agnathes et les vertébrés à mâchoire ont développé des systèmes de diversification des immunorécepteurs radicalement différents. Les agnathes assemblent leurs immunorécepteurs (appelés VLR, pour variable lymphocyte receptors) en combinant des modules de type LRR (Hirano et al. 2011, Pancer & Cooper 2006, Smith et al. 2010). Encore eux, ces mêmes modules servant à constituer les récepteurs de l'immunité innée... Les agnathes possèdent deux gènes (VLRA et VLRB) incomplets en configuration germinale qui sont ensuite réarrangés par recombinaison de modules LRR qui flanquent les gènes (figure 5; Flajnik & Du Pasquier 2004; Flajnik & Kasahara 2010; Herrin & Cooper 2010). Le mécanisme est assez complexe et consiste en une reconstitution progressive du gène codant par recombinaison aléatoire de cassettes LRR à partir de séquences donneuses et accepteuses, avec un mécanisme proche

de la conversion génique¹². Les recombinases RAG ne sont pas impliquées dans ce mécanisme, ce qui milite en faveur d'une solution de réarrangement originale complètement indépendante des réarrangements chez les vertébrés à mâchoires. Chaque lymphocyte recombine ainsi un gène VLRA et un gène VLRB uniques. Compte tenu des analyses de séquence et du nombre des modules disponibles pour la recombinaison, on estime la taille du répertoire des VLRB de la lamproie à 10¹⁴ possibilités et un peu plus pour le locus VLRA chez les myxines (Alder et al. 2005). Répertoire qui n'a rien à envier à celui du TCR ou du BCR humain! Les récepteurs VLRA sont distribués clonalement sur des lymphocytes de type T qui exercent des fonctions de régulation, les récepteurs VLRB sont exprimés clonalement sur des lymphocytes de type B et sont ensuite sécrétés sous forme d'oligomères ce qui rappelle la réponse à IgM des vertébrés à mâchoire. Ainsi le SI adaptatif des agnathes a-t-il été une prémisse ou un brouillon du SI adaptatif des vertébrés à mâchoire? Il semble bien que non, car on n'a pas retrouvé de vestiges de ce système chez les requins, par exemple. De plus, les agnathes ne sont pas une simple étape évolutive vers les vertébrés à mâchoire. Il semble que la nature ait adopté plusieurs solutions pour générer les immunorécepteurs de l'immunité adaptative. Le développement de ces deux solutions très différentes à l'aube de l'évolution des vertébrés atteste de l'énorme avantage sélectif conféré par une immunité anticipative.

Ainsi la pression de sélection des pathogènes a conduit les pluricellulaires à diversifier leur système de reconnaissance. Les «invertébrés» et les végétaux ont raffiné le système des PRR en augmentant leur nombre ce qui leur a permis de contrer les variations des micro-organismes et de déceler efficacement les pathogènes. En utilisant la recombinaison somatique de l'ADN, plusieurs systèmes de répertoires d'immunorécepteurs ont émergé et avec eux une immunité anticipative. Deux solutions efficaces chez les vertébrés ont été développées, une chez les agnathes avec les VLR et une chez les vertébrés à mâchoire, les TCR et BCR. De plus, le SI adaptatif particulièrement complexe ne serait pas apparu aussi brusquement qu'on a pu le penser mais serait le fruit d'une progression graduelle par cooptation successive de mécanismes immunitaires préexistants.

^{12.} Transfert non réciproque d'une séquence génétique entre un locus donneur et un locus accepteur.

Bibliographie

- ALDER M.N., ROGOZIN I.B., IYER L.M., GLAZKO G.V., COOPER M.D. & PANCER Z. (2005). Diversity and function of adaptive immune receptors in a jawless vertebrate. *Science* **310**, 1970-1973.
- Boller T. & He S.Y. (2009). Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science* **324**, 742-744.
- Dodds P.N. & Rathjen J.P. (2010). Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat. Rev. Genet.* **11**, 539-548.
- ESPINOSA E. & CHILLET P. (2010). Immunologie. Ellipses, Paris.
- FLAJNIK M.F. & Du PASQUIER L. (2004). Evolution of innate and adaptive immunity: can we draw a line? *Trends Immunol.* **25**, 640-644.
- FLAJNIK M.F. & KASAHARA M. (2010). Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. *Nat. Rev. Genet.* **11**, 47-59.
- HEMMRICH G., MILLER D.J. & BOSCH T.C. (2007). The evolution of immunity: a low-life perspective. *Trends Immunol.* **28**, 449-454.
- HERRIN B.R. & COOPER M.D. (2010). Alternative adaptive immunity in jawless vertebrates. *J. Immunol.* **185**, 1367-1374.
- HIRANO M., DAS S., GUO P. & COOPER M.D. (2011). The evolution of adaptive immunity in vertebrates. *Adv. Immunol.* **109**, 125-157.
- Janeway C., Murphy K., Travers P. & Walport M. (2009). Immunobiologie. De Boeck, Bruxelles.
- LITMAN G.W., RAST J.P. & FUGMANN S.D. (2010). The origins of vertebrate adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **10**, 543-553.
- MAEKAWA T., KUFER T.A. & SCHULZE-LEFERT P. (2011). NLR functions in plant and animal immune systems: so far and yet so close. *Nat. Immunol.* **12**, 817-826.
- MARKET E. & PAPAVASILIOU F.N. (2003). V(D)J recombination and the evolution of the adaptive immune system. *PLoS Biol.* **1**, 24-27.
- PANCER Z. & COOPER M.D. (2006). The evolution of adaptive immunity. *Annu. Rev. Immunol.* **24**, 497-518.
- SMITH J.J., SAHA N.R. & AMEMIYA C.T. (2010). Genome biology of the cyclostomes and insights into the evolutionary biology of vertebrate genomes. *Integr. Comp. Biol.* **50**, 130-137.