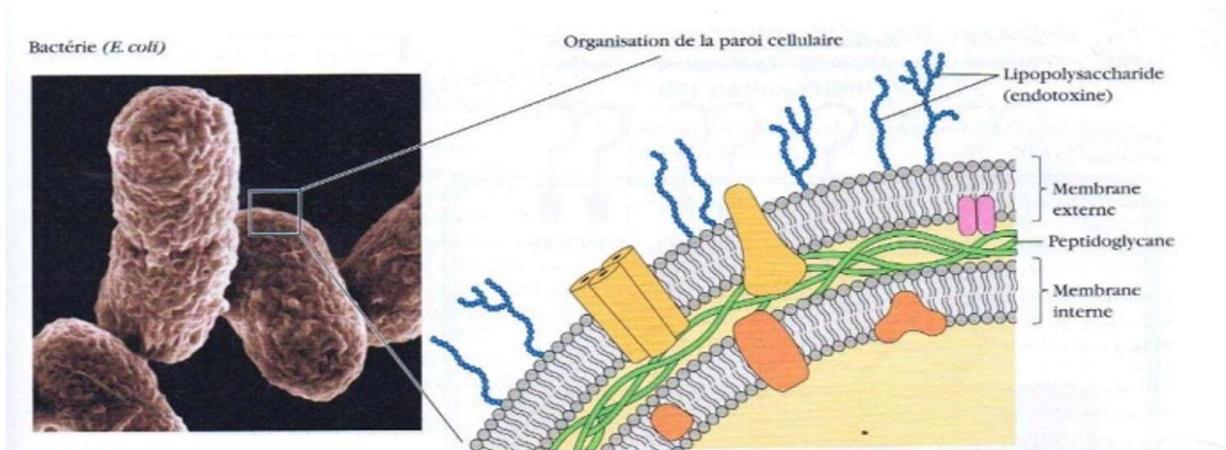


Immunologie Cellulaire & Moléculaire

Chapitre 03 : Structure, rôle et fonctions des toll-like récepteurs



1. Introduction	2
1.1 Les récepteurs toll-Like.....	3
1.2. Voies de transduction du signal.....	4.5
2. La localisation du récepteur toll-like.....	6
3. La fonction du récepteur toll-like.....	7.8
3.1. Voies de signalisations activées par les TLR.....	9
À retenir	10

Chapitre 03 : Structure, rôle et fonctions des toll-like récepteurs

1. Introduction

La communication intracellulaire induite par la fixation des cytokines est désignée sous le terme général de signalisation. Schématiquement, la signalisation implique une réaction entre une molécule soluble (ligand) et une molécule liée à la membrane (récepteur) ou bien entre deux molécules liées à la membrane sur deux cellules différentes.

L'interaction entre le récepteur et son ligand induit des changements métaboliques dans la cellule. Il y a un nombre considérable de voies de transduction du signal différents, mais toutes présentent des caractères communs :

Les récepteurs de la surface cellulaire reçoivent des signaux initiaux qui activent des réponses complexes du système immunitaire inné ; la transmission des signaux à l'intérieur de la cellule, permet la transduction du signal. La réponse aux signaux nécessite trois éléments :

Le signal lui-même, un récepteur, et une voie de transduction du signal qui connecte le détecteur aux mécanismes effecteurs.

Exemple : IL 1 (Monokines) qui stimule l'activité biologique par la transduction du signal qui peut être la synthèse et / ou la sécrétion de certaines protéines, qui permet la différenciation ou limitation ou l'arrêt de fonctions particulières.

De nombreuses voies de transduction du signal sont dépendantes de l'assemblage de molécules de signalisation connues sous le nom de protéines adaptatrices se lient spécifiquement à deux ou plusieurs autres molécules, cet assemblage permet de combiner et réunir dans l'ordre l'activité des protéines associées.

La réception du signal conduit à la production d'un « second messenger » une molécule ou un ion qui peut diffuser vers d'autres sites dans la cellule et qui stimule des changements métaboliques. Exemple : des nucléotides cycliques, des ions Ca^{2+} , les protéines kinases catalysent la phosphorylation.

Les phosphatases catalysent la déphosphorylation des protéines, annulant ainsi l'effet des kinases ces dernières jouent des rôles essentiels dans beaucoup de voies de transduction du signal importantes pour la réponse immunitaire.

Les signaux sont amplifiés par des cascades enzymatiques. Une fois une enzyme est activée, elle peut catalyser de nombreuses réactions dans une voie de signalisation, et activer plusieurs copies de l'enzyme qui permet une amplification du signal à chaque étape et offre l'opportunité de moduler l'intensité d'un signal. Ces différents processus sont résumés dans

les figures ci-dessous. Le système immunitaire adaptatif produit des signaux et des composants qui augmentent l'efficacité des réponses immunitaires innées. (Figure 24).

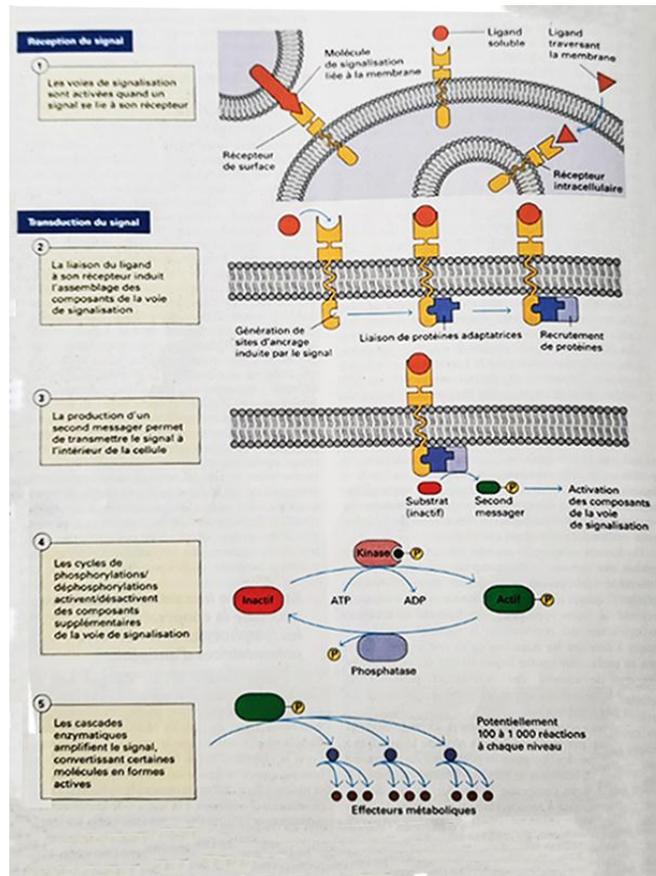


Figure 24 : Mécanisme généraux de la transduction d'un signal.

1.1. Les récepteurs toll-like

Ces récepteurs font partie de la physiologie immunitaire normale des mammifères, ce sont des protéines transmembranaires et ils sont indispensables pour la reconnaissance du LPS. (Figure 25,26).

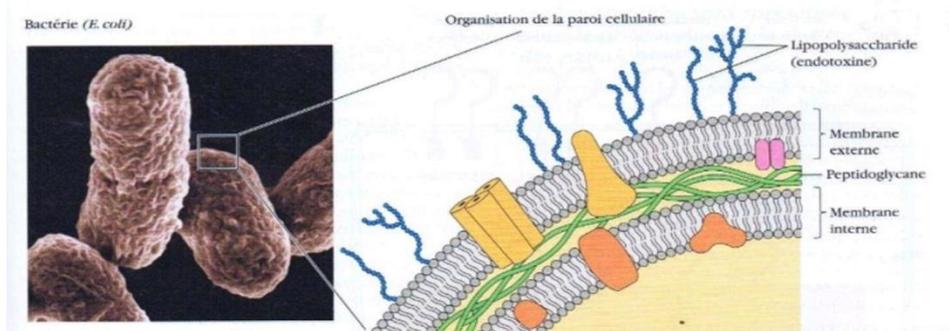


Figure 25 : Lipopolysaccharide dans la paroi cellulaire d' *E. coli* est un puissant activateur de l'immunité innée. (Endotoxine).

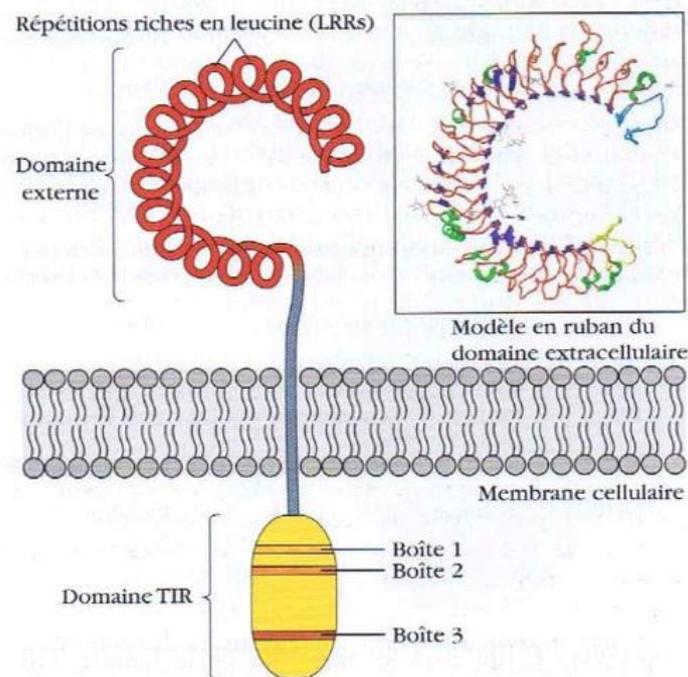


Figure 26 : Structure d'un récepteur toll-like. (TLR).

Les récepteurs Toll-like possèdent une région extra cellulaire qui contient plusieurs répétitions riches en leucine (LRRS), un domaine transmembranaire, et un domaine intracellulaire appelé domaine TIR. La liaison du ligand sur un TLR se fait par les LRRS (éléments structural commun dans la région extracellulaire des segments répétés de 24 à 29 acides aminés contenant la séquence XLXXLXX (X étant n'importe quel acide aminé, et L une leucine).

Le domaine TIR (Toll/ interleukine IL-1 receptor) interagit avec les domaines TIR d'autres membres de la voie de transduction des signaux par les TLRs, trois séquences d'acides aminés, très conservées, appelées boîtes 1, 2 et 3, sont essentielles pour cette interaction et sont des caractéristiques des domaines TIR.

1.2. Voies de transduction du signal

Les TLRs (récepteurs toll-like) et leurs rôles dans l'immunité innée qui peuvent servir d'exemple pour les voies de signalisations.

- Activation par l'interaction du récepteur avec le signal :

Les produits microbiens se fixent sur la partie extra cellulaire du TLR. Du côté cytoplasmique, un domaine protéique distinct contient des motifs structuraux TLR, domaines retrouvés dans les molécules de signalisations chez les animaux et les plantes. Le domaine

TIR (Toll/ IL-1 receptor, une importante molécule de régulation). Ce dernier possède des sites de fixation pour d'autres composants de la voie de transduction.

- Assemblage des composants de la voie de signalisation

En réponse au signal il y a une implication des protéines adaptateur, contenant elles-mêmes des domaines TIR, interagissent avec les domaines TIR des TLRs.

L'adaptateur le plus commun dans la voie de signalisation des TLRs est MYD88 (Myéloïde, différenciation primary response protein 88), qui entraîne l'association de deux protéines kinases ; IRAK₁ et IRAK₄

- Phosphorylation dépendante des protéines kinases

La protéine kinase IRAK₄, du complexe IRAK₁/IRAK₄ phosphoryle son partenaire IRAK₁.

Le phosphate nouvellement fixé fournit un site d'encrage sur IRAK₁ pour TRAF6 (tumor, necrosis, factor, receptor, associated factor 6) qui se fixe puis se dissocie, avec IRAK₁ pour former un complexe intermédiaire IRAK₁ TRAF6. Une autre protéine kinase, TAK1 rejoint ce complexe avec plusieurs autres protéines, résultant en l'activation de l'activité kinase de TAK1 (transforming , growth, factor, β activated kinase 1).

- Initiation d'une cascade enzymatique

- TAK1 est une protéine pivot dans cette voie parce que son activité lui permet de réaliser l'activité dépendante de la phosphorylation de deux autres voies modules de transduction du signal. L'enzyme TAK1 est activée va activer deux voies distinctes de transduction.

Ces signaux sont : Un de ceux-ci est la voie mitogen-activated protein kinase (MAP-kinase) et l'autre est la voie NF- KB dont l'activité est inhibée par la forme non phosphorylée d'une protéine cytoplasmique, KB.

- TAK1 phosphoryle la protéine kinase IκK qui est l'étape clé dans l'activation de la voie NF- KB qui est un facteur de transcription puissant ; IKK phosphoryle ensuite IκB, lui permettant la libération de NF- KB qui peut migrer du cytoplasme vers le noyau qui initie la transcription de plusieurs gènes nécessaires aux fonctions effectrices de l'immunité innée.

→ Les voies dépendantes de NF-KB induisent des cytokines, des molécules d'adhésion, aussi joue également un rôle dans certaines voies clés de la transduction du signal dans les cellules T, l'activité des voies adaptatives de signalisation de TLR, induit l'expression des gènes qui contribuent à l'inflammation et induit des changements dans les cellules présentatrices d'antigènes les rendant plus efficaces, augmenter l'activité phagocytaire des macrophages et neutrophiles.(Figure 27).

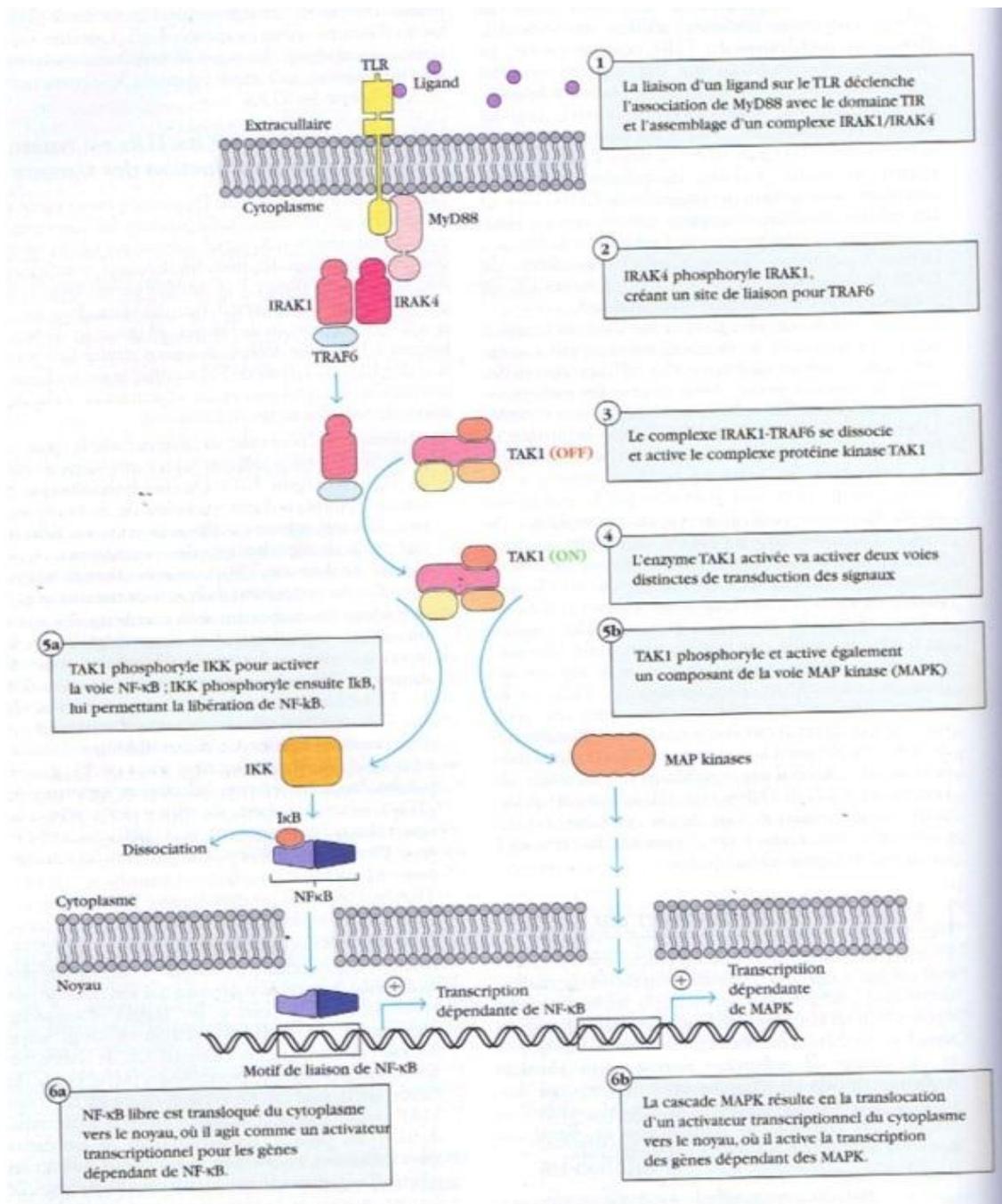


Figure 27 : Une voie typique de transduction du signal des TLR.

2. La localisation du récepteur toll-like

Les récepteurs de type Toll constituent une des familles des récepteurs du soi de PRR (pattern recognition receptors). Ces récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires, capables de reconnaître un ensemble limité de molécules du non soi ; qui sont des motifs moléculaires associés aux pathogènes appelées PAMP (pathogen associated molecular patterns) présents au niveau des pathogènes. Les TLR sont exprimés sur des cellules immunes (macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes B et T, neutrophiles, NK,

monocytes, éosinophiles) et sur des cellules non immunes (Fibroblastes, synoviocytes, kératinocytes, cellules épithéliales des tractus intestinal, respiratoire et urogénital). Les TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 et TLR11 sont exprimés sur la membrane plasmique des cellules alors que les TLR3, TLR7, TLR8 et TLR9 sont sur l'endosome. Les plus étudiées, ce sont des récepteurs transmembranaires ayant d'un côté de la membrane un domaine de liaison aux ligands et de l'autre un domaine TIR (Toll /IL-1resistance) impliqué dans la transmission du signal. (Figure 28).

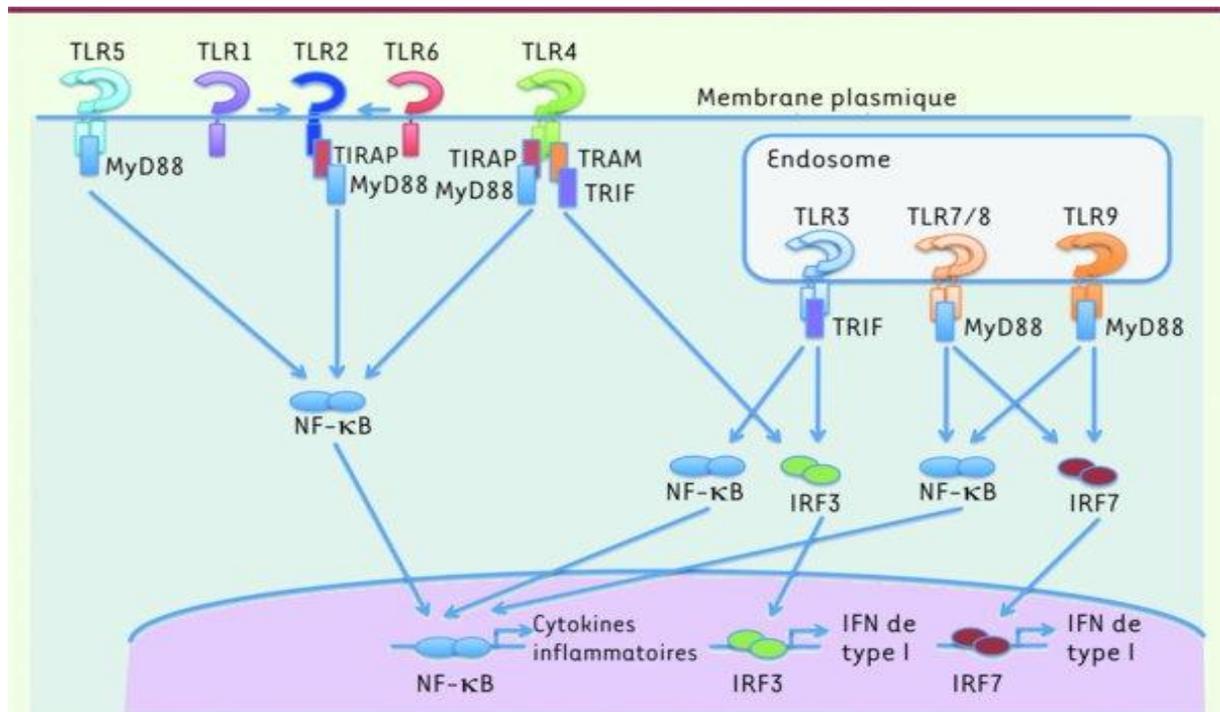


Figure 28 : Les différentes localisations des récepteurs Toll-like.

3. La fonction du récepteur Toll-like

Des fonctions ont été identifiées pour neuf des onze TLRs. Il est à noter que les ligands qui lient les TLRs sont des composants indispensables aux pathogènes :

Un virus ne pourrait pas fonctionner sans son acide nucléique, une bactérie Gram- ne peut être viable sans les parois contenant le lipopolysaccharide.

Et les champignons doivent incorporer le zymosan polysaccharidique dans leurs parois cellulaires. (Tableau 03).

Il ya plusieurs TLRs, dont les **TLRs 1, 2,4 et 6** agissent sous forme dimères situés sur la membrane plasmique des cellules immunitaires .TLR2 couplé avec TLR1 et TLR6 fixe une grande variété de molécules trouvées chez les microbes, incluant les bactéries Gram+ : peptidoglycane, lipoprotéine, champignon : zymosane.

TLR4 : reconnaît les lipopolysaccharides bactériens (bactéries Gram négatives) ; Ainsi, il a été montré que **TLR4** reconnaît la protéine de fusion F du virus respiratoire syncytial (VRS) mais également la protéine GP du virus Ebola.

TLR5 : reconnaît la flagelline, le composant structural principal du flagelle bactérien ;

TLR3 : reconnaît L'ARN double brin, qui apparaît dans les cellules après une infection par des virus à ARN ; Il est impliqué dans la reconnaissance des ARN bicaténaires extracellulaires. TLR3 est exprimé à la fois à la surface et dans les voies endosomales de plusieurs types cellulaires et en particulier les cellules dendritiques conventionnelles, les macrophages mais aussi certains fibroblastes et cellules épithéliales.

TLR7 et **TLR8** sont généralement présents dans les endosomes où ils reconnaissent L'ARN simple brin (ARN sb) des virus extracellulaire lorsque celui-ci est internalisé par la voie endosomale.

TLR7 est surexprimé dans les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) et joue un rôle essentiel dans la production des interférons de type 1 par ces cellules face aux virus.

TLR8 est exprimé dans les monocytes/macrophages et dans les cellules dendritiques myéloïdes son activation entraîne à la fois la production des cytokines pro inflammatoires par la voie NF-KB et la production d'interférons de type 1.

le récepteur **TLR9** est fortement exprimé dans les cellules dendritiques plasmacytoïdes et son activation induit la production massive d'interféron α . Ce récepteur reconnaît et initie une réponse à une séquence d'ADN CPG (une cytosine non méthylée liée à une guanine). De telles séquences non méthylées sont abondantes dans l'ADN microbien bactérien.

De plus, TLR9 est localisé dans la voie des endosomes ce qui permet aux cellules dendritiques plasmacytoïdes de différencier l'ADN cellulaire (du soi) éventuellement présent dans le milieu extracellulaire (et qui en principe ne doit pas induire de réponse immunitaire forte), de celui qui est enveloppé au sein d'une particule virale, ce qui favorise son internalisation et la rencontre avec TLR9 dans les voies endosomales. (Tableau 03).

Tableau 03 : Diversité des TLR.

TLR	Cellules immunitaires	Localisation cellulaire	Ligands exogènes (PAMP)	Cytokines induites
TLR2 (En association avec TLR1 et TLR6)	CDc, Monocytes, neutrophiles, NK, LB, LT	Membrane plasmique	Bactéries : peptidoglycane, Lipoprotéine, acide lipotéichoïque..... Champignon : zymosane	Cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-6, etc.)
TLR3	CDc, NK	Endosomes	Virus : ARNdb	Cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-6, etc.) et interféron de type I
TLR4	CDc, Monocytes eosinophiles, neutrophiles	Membrane plasmique	Bactérie : LPS Virus : protéine de fusion du RSV Champignon	Cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-6, etc.) et interféron de type I
TLR7	Eosinophiles, monocytes, neutrophiles, LT, Trég	Endosomes	Virus : ARNsb	Cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-6, etc.) et interféron de type I
TLR8	CDc, Monocytes, neutrophiles, LT, Trég	Endosomes	Virus : ARNsb	Cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-6, etc.) et interféron de type I
TLR9	Eosinophiles, monocytes, neutrophiles, CDp, LB	Endosomes	Bactéries, virus et protozoaires : ADN CpG.	Cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-6, etc.) et interféron de type I

ARNdb : ARN double brin, ARNsb : ARN simple brin, CDc : cellules dendritiques conventionnelles, CDp : cellules dendritiques plasmacytoïdes, NK : cellules tueuses naturelles (natural killer), LB : lymphocytes B, LT : lymphocytes T, Trég : lymphocytes T régulateurs.

3.1. Un exemple de Voie de signalisations activée par les TLR

Dans le compartiment endolysosomal, plusieurs TLR peuvent détecter des acides nucléiques différents. TLR3 se lie à un ARN double brin (db), TLR7 détecte un ARN simple brin (sb) et un ARN db court, TLR8 détecte un ARNsb et TLR9 détecte l'ADN avec une certaine préférence pour les motifs CpG non méthylés.

Tous les TLR qui reconnaissent les acides nucléiques, à l'exception de TLR3, transmettent un signal via la protéine adaptatrice MyD88 qui renferme un domaine de mort (DD), lors de l'activation, forme un complexe de signalisation oligomérique constitué de MyD88, IRAK4 et IRAK1 (interleukin-1 receptor-associated kinase) ou IRAK2, également appelé myddosome.

Ce complexe entraîne le recrutement de TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6) qui crée une plate-forme d'assemblage, laquelle recrute et active les complexes TAK1 et IKK, ce qui entraîne l'activation de MAPK et de NF- κ B, respectivement. TLR3, utilise la protéine adaptatrice TRIF qui recrute RIP1 et TRAF6 pour activer les complexes TAK1 et IKK, respectivement.

Parallèlement, IKKe et TBK1, sont recrutées via TRAF3, ce qui conduit à la phosphorylation d'IRF3 (interferon regulatory factor 3). Les protéines NF- κ B, AP1 et IRF3 permettent alors la transcription des gènes codant les molécules de l'inflammation (cytokines, iNOS, sélectine-E...) mais aussi les costimulateurs déclenchant l'induction de la réponse adaptative (CD40, CD80, CD86). (Figure 29).

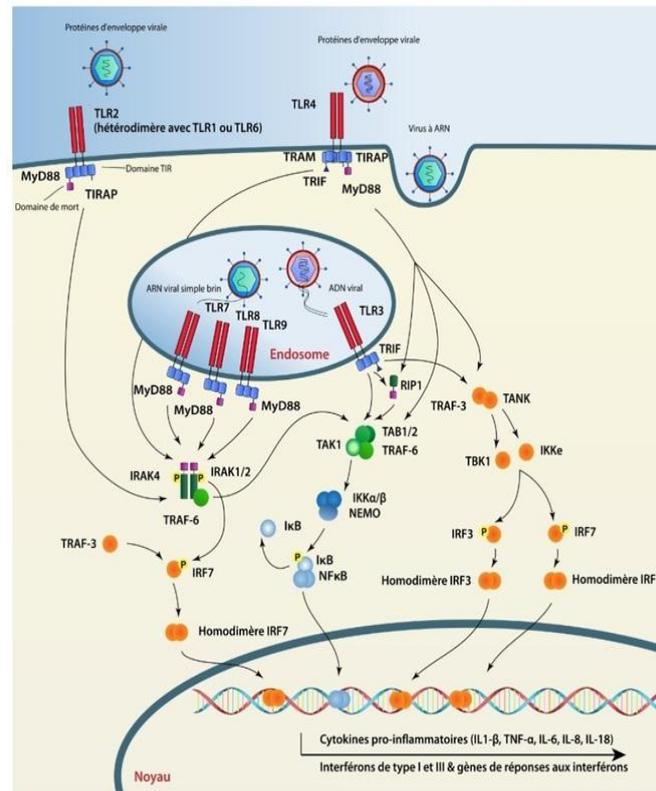


Figure 29 : Signalisation par les TLR.

À retenir

En résumé, les TLR sont des PRR capables de reconnaître une grande diversité de motifs moléculaires, qu'ils soient associés à des pathogènes (PAMP) ou à des dégâts (DAMP). Cette large gamme de détection est due à la localisation de ces molécules (au niveau de la membrane plasmique, permettant une reconnaissance de motifs extracellulaires, et au niveau des endosomes, permettant une reconnaissance de motifs intracellulaires) et à la variabilité de leur domaine de liaison aux signaux de danger.

Le domaine de signalisation est quant à lui relativement conservé d'un TLR à un autre, ce qui explique que les voies activées soient en grande partie communes et aboutissent toutes à la formation de cytokines pro-inflammatoires et, dans la plupart des cas, à la production d'interférons de type I. Les TLR ont pour fonction de détecter les microorganismes, d'initier une réponse locale effectrice et enfin de stimuler l'immunité adaptative.

L'immunité innée joue un rôle décisif dans la nature et l'amplitude de la réponse adaptative, par son action sur les LT et les LB. En effet, l'action sur les LT peut être directe, par activation des TLR qu'ils portent ou indirecte, par activation des TLR des CPA dont surtout les cellules dendritiques :

- Elles renforcent l'expression de leurs molécules de costimulation CD80, CD86 et CD40.
- Elles orientent la différenciation des LTH en LTH1 ou LTH2.
- Elles initient la différenciation de lymphocytes cytotoxiques (TC).