

LES ANTIGENES

Pr Hatem MASMOUDI

I. DEFINITION

Un antigène (Ag) est une substance étrangère à un individu qui lorsque injectée à cet individu induit la synthèse d'anticorps (Ac) spécifiques par ce même individu. Cette définition n'est plus valable aujourd'hui, car :

- elle ne précise pas très bien ce qu'est l'Ag ;
- il existe des antigènes qui sont incapables d'entraîner la synthèse d'Ac spécifiques (sauf s'ils sont couplés à des protéines porteuses) et qui pourtant sont reconnus par des anticorps spécifiques;
- les Ag n'interagissent pas seulement avec les Ac mais aussi avec le récepteur pour l'Ag des lymphocytes T (TCR) et des lymphocytes B (BCR);
- certains Ag peuvent dans certaines conditions induire une non réponse immunitaire spécifique ou tolérance;
- l'Ag n'est pas nécessairement étranger à l'individu, il peut en effet s'agir d'un Ag du soi ou auto-Ag.

* **Définition actuelle**

Un antigène est une espèce moléculaire bien définie, isolée ou constitutive d'une cellule, d'un virus ou d'un liquide biologique et caractérisée par ses interactions spécifiques avec des molécules de reconnaissance immunologique : Ac, Ig (Immunoglobulines de surface) et/ou TCR.

Notion de déterminant antigénique

L'Ag c'est donc une molécule. En fait, l'Ac reconnaît une petite portion de l'Ag qu'on appelle déterminant antigénique ou épitope. Chaque molécule d'Ag comporte selon sa taille un ou plusieurs déterminants antigéniques.

La valence d'un antigène est exprimée par le nombre maximum de molécules Ac qu'une molécule d'Ag peut fixer (valence \leq nombre de déterminants antigéniques).

Avec son TCR ("T cell receptor"), le lymphocyte T lui aussi reconnaît une petite portion de l'Ag : un peptide de 10 à 20 acides aminés provenant de la dégradation partielle de la protéine antigénique.

II. Propriétés des Ag

1) Immunogénicité

C'est la capacité de l'Ag à induire une réponse immunitaire. Les Ag capables d'induire une réponse immunitaire sont dits immunogènes.

a) *Notion d'haptène*

Un haptène est une petite molécule organique non immunogène par elle-même, mais qui induit la synthèse d'Ac spécifiques quand elle est couplée à une protéine porteuse. Les haptènes sont donc des Ag non immunogènes, ex : DNP, TNP (di et tri nitrophénol).

b) *Facteurs conditionnant l'immunogénicité*

*Facteurs dépendants de l'Ag :

- *origine* : à moins d'être modifiés expérimentalement ou par des facteurs d'environnement, les Ag du soi sont habituellement peu ou pas immunogènes.
- *poids moléculaire (PM)* : un Ag est d'autant plus immunogène que son PM est élevé. Les Ag de PM compris 5 et 10 kDa (kilo Daltons) sont généralement peu immunogènes. Toutefois, quelques substances de $PM < 1$ kDa se sont avérées immunogènes.
- *nature chimique* : les protéines et les lipopolysaccharides sont de puissants immunogènes. Les polysaccharides simples sont en général de bons immunogènes chez l'homme et la souris mais non immunogènes chez le lapin et le cobaye. Les lipides se comportent comme les haptènes.
- *complexité chimique et structurale de la molécule Ag* : les expériences menées avec des polymères synthétiques d'acides aminés ont bien montré la corrélation entre l'immunogénicité, d'une part, et la taille et la complexité chimique (1, 2, 3 acides aminés ou plus) et structurale (structure linéaire, branchée ...) de la molécule antigénique, d'autre part.

- *dose et voie d'administration* : pour chaque Ag, il existe une courbe dose-réponse propre (pour chaque voie d'administration). Des doses trop faibles ou trop élevées d'Ag, non seulement ne stimulent pas la réponse immunitaire, mais peuvent même induire un état de tolérance immunitaire : non réponse immunitaire spécifique et durable. La dose immunogène optimum est d'autant plus faible que l'Ag est plus éloigné phylogéniquement par rapport à l'hôte : ex la dose immunogène d'endotoxine bactérienne chez le lapin est de 10^{-14} g, celle de la sérum albumine bovine est de 10^{-4} g.

En règle générale, une administration répétitive (rappels) sur plusieurs semaines est nécessaire pour stimuler une réponse immunitaire forte. L'administration simultanée de 2 ou plusieurs antigènes peut entraîner une synergie dans la production d'Ac, tandis que l'administration de deux Ag à 2 ou 3 jours d'intervalle peut entraîner une dépression de la réponse immunitaire vis à vis du 2^{ème} Ag.

Les voies d'administration les plus utilisées pour l'immunisation sont les voies parentérales (autres que per-os) : sous-cutanée (SC), intradermique (ID), intramusculaire (IM) et intraveineuse (IV).

- *association d'adjuvants* : les adjuvants sont des substances qui lorsqu'elles sont mélangées à un Ag, augmentent son immunogénicité. Les adjuvants sont souvent utilisés pour exalter la réponse immunitaire pour les Ag à faible immunogénicité ou disponibles en petites quantités. L'adjuvant le plus utilisé en expérimentation animale est l'adjuvant de Freund (émulsion d'eau et d'huiles minérales avec ou sans mycobactéries tuées).

- *sensibilité de l'Ag à l'apprêtement et à la présentation aux lymphocytes T* : les macromolécules qui ne peuvent pas être dégradées et présentées aux lymphocytes T en association avec des molécules du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) sont généralement de mauvais immunogènes.

*Facteurs dépendants de l'hôte :

- *constitution génétique* : espèce, souche, ethnie, individu

- *état physiologique* : âge, sexe, grossesse, état de santé...

c) Notion de pro-antigène

Les pro-antigènes sont des antigènes de faible PM qui deviennent immunogènes après fixation sur une protéine autologue ; à la différence des haptènes, ils entraînent surtout des réactions d'hypersensibilité retardée (HSR).
Ex : le DNCB (di-nitro-chlorobenzène), le chrome, le nickel, l'acrylique, certains produits cosmétiques...

2) Spécificité antigénique

L'immunisation par deux Ag différents induit la production de deux populations différentes d'Ac qu'on appelle immun-sérums (IS) ; chaque immun-sérum est spécifique d'un Ag donné, et dans chaque immun-sérum, chaque type d'Ac est spécifique d'un déterminant antigénique bien déterminé. Ainsi par exemple, les Ac dirigés contre le virus de la rougeole se lient au virus de la rougeole mais pas à celui de la poliomyélite ou de la rage. Par conséquent ils ne protègent que contre la rougeole. De même, les Ac anti-para-amino-phenyl-glucoside sont différents des Ac anti-para-amino-phényl-galactoside. En effet et comme illustré dans le tableau 2, le système immunitaire arrive à distinguer entre ces 2 molécules qui pourtant se ressemblent tellement sur le plan de la structure et de la composition chimique en produisant contre chacune d'elle des Ac spécifiques qui ne reconnaissent pas du tout l'autre molécule.

Cette notion de spécificité antigénique a tout de même des limites. Il peut en effet y avoir une réaction croisée entre 2 Ag différents : l'Ac obtenu par immunisation avec un Ag réagit in vitro avec l'Ag immunisant (bien sûr) mais aussi avec un 2^{ème} Ag différent de l'Ag immunisant. Cette situation peut se produire lorsque :

- les 2 Ag ont des déterminants antigéniques communs (fig. 1)

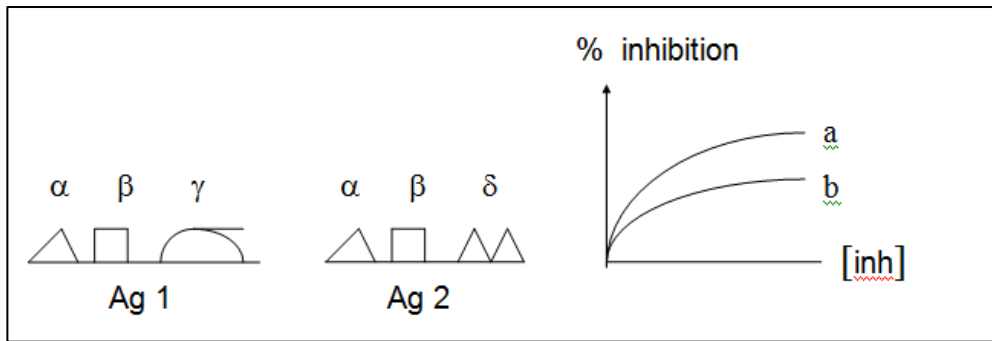


Figure 1 : Réaction croisée entre 2 Ag différents (1 et 2) ayant des déterminants antigéniques communs (α et β)

- les 2 Ag ont des déterminants antigéniques semblables donc reconnus avec les mêmes Ac mais avec des affinités différentes (fig2).

Dans le premier cas, l'inhibition de la réaction Ag-Ac avec l'Ag homologue (donnant une réaction croisée) reste toujours nettement inférieure à celle obtenue avec l'Ag spécifique lui-même quelle que soit la concentration de l'inhibiteur (fig1). Tandis que dans le deuxième cas et avec une concentration beaucoup plus importante de l'inhibiteur, l'inhibition avec l'Ag homologue atteint le plateau obtenu avec l'Ag spécifique (fig2).

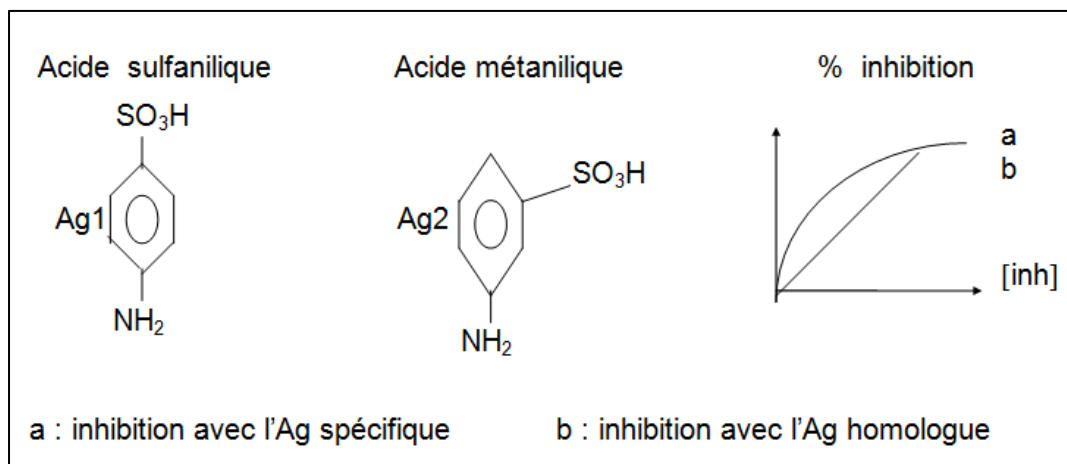


Figure 2 : Réaction croisée entre 2 Ag différents ayant une forte similitude au niveau de leur structure

III- Classification des Ag

- 1) **Ag naturels** : trouvés tels quels dans la nature

a) *Selon la nature chimique*, les Ag naturels sont classés en 4 catégories :

*Protéines : holo et hétéro-protéines (glyco, lipo, nucléo et métallo-protéines). Les protéines sont généralement de très bons immunogènes.

Sur les protéines fibreuses, les déterminants antigéniques sont surtout de type séquentiel : linéaires dépendant de la structure primaire, taille \simeq 10 à 20 acides aminés (aa).

Sur les protéines globulaires, les déterminants antigéniques sont aussi et surtout de type conformationnel : résultant de la juxtaposition dans l'espace d'aa non contigus, dépendent donc de la structure 2^{ème}, 3^{ème} voire même 4^{ème} des protéines (figure 3).

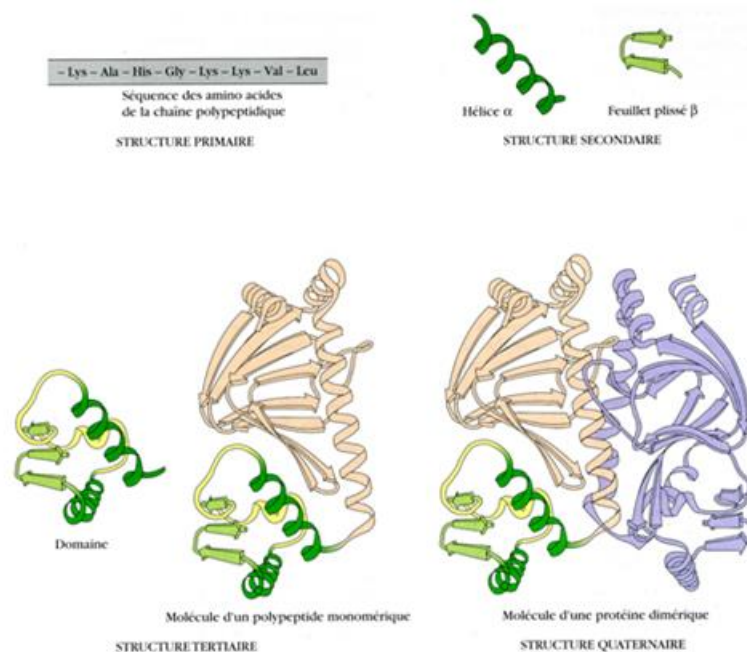


FIGURE 3 Les quatre niveaux de la structure des protéines. La disposition linéaire des amino acides constitue la structure primaire. Le repliement de certaines parties de la chaîne polypeptidique en des structures régulières (par exemple, les hélices α et les feuillets plissés β) crée la structure secondaire. La structure tertiaire se réfère au repliement des régions présentant des structures secondaires pour donner la forme d'ensemble de la molécule ou de parties de celles-ci (domaines) présentant des propriétés fonctionnelles spécifiques. La structure quaternaire résulte de l'association d'au moins deux chaînes polypeptidiques en une seule molécule protéique polymérique.

On distingue classiquement les déterminants antigéniques immunodominants, exposés à la surface de la molécule, des déterminants antigéniques cryptiques ou immuno-silencieux masqués dans la molécule native.

* Polysaccharides = polyosides :

Polyosides simples : {
- linéaires
- arborescents (dextrane)
- branchés (polysaccharides du pneumocoque et du streptocoque)

Polyosides complexes : {
- lipopolysaccharide (entérobactéries)
- glycoprotéines (groupes sanguins)

Les polysaccharides simples sont en général de bons immunogènes chez l'homme et la souris, mais ne sont pas immunogènes chez le lapin et le cobaye. Les polysaccharides complexes sont en général de bons immunogènes.

Les sucres immuno-dominants sont ceux qui déterminent la spécificité antigénique d'un polysaccharide et permettent de le distinguer des autres polysaccharides, du même groupe (exemple Ag A et B des groupes sanguins, Ag AO et BO des salmonelles...). Ils sont préférentiellement situés sur l'extrémité des chaînes latérales. Le sucre immuno-dominant représente le principal point de contact du déterminant antigénique avec le site de combinaison de l'Ac.

La taille du déterminant antigénique a été évaluée par Kabat à environ huit résidus de sucres.

*Lipides : les lipides se comportent comme les haptènes.

- lipides simples = homolipides : acides gras, stérols et stéroïdes
- lipides complexes = hétérolipides : glycophospholipides, sphingolipides.

*Acides nucléiques : Les acides nucléiques (ADN et ARN) sont en général non immunogènes. Cependant, ils peuvent devenir immunogène après fixation à un porteur tel que la sérum-albumine méthylée qui protège l'acide nucléique en évitant sa dénaturation. Les malades atteints de lupus érythémateux disséminé ont en général des auto-Ac anti ADN natif et dénaturé.

b) *Selon leur origine*, les Ag naturels sont classés en :

*hétéro-Ag ou xéno-Ag : Ag appartenant à des espèces différentes ;

*allo-Ag ou homo Ag : Ag appartenant à des individus différents de la même espèce ;

*auto-Ag : Ag appartenant à l'individu lui-même.

Les xéno-Ag sont en général des Ag présents chez tous les individus de la même espèce. Les allo-Ag sont des Ag présents chez certains individus et pas d'autres de la même espèce (formes alléliques).

2) Ag artificiels

Ce sont des Ag naturels modifiés chimiquement par la fixation d'haptènes, de polypeptides synthétiques...Ex : la gélatine est très peu immunogène mais si on lui greffe des chaînes de tyrosine ou de tryptophane elle devient fortement immunogène chez le cobaye et le lapin.

3) Ag synthétiques : ce sont des Ag créés de toute pièce.

Il s'agit surtout des polypeptides synthétiques : Les homopolymères (1 seul type d'aa) sont habituellement non immunogènes. Les copolymères de 2 aa sont inconstamment immunogènes (selon les aa et l'espèce hôte). Les copolymères de 3 aa ou plus sont en général de bons immunogènes.

Les relations entre immunogénicité et structure primaire n'obéissent pas à une règle absolue. Un changement de plusieurs aa peut ne pas modifier l'immunogénicité ; alors qu'inversement, la substitution d'un seul aa peut suffire à faire perdre l'antigénicité. Il s'agit en général dans ce cas d'une substitution qui entraîne des modifications conformationnelles.

IV- Notion d'antigène thymo-indépendant :

Les polymères d'aa de configuration optique D, donnent une réponse Ac par les lymphocytes B qui ne nécessite pas l'aide des lymphocytes T, on parle d'Ag thymo-indépendants (TI).

D'une façon générale, les Ag thymo-indépendants sont caractérisés par le caractère répétitif de leurs déterminants antigéniques et leur dégradation lente ; ce qui leur permet d'interconnecter facilement les Ig de surface des lymphocytes B.

Il peut aussi s'agir d'activateurs polyclonaux (ou mitogènes) des lymphocytes B capables d'induire la prolifération de la quasi-totalité des clones B en se fixant sur un récepteur membranaire à leur surface.

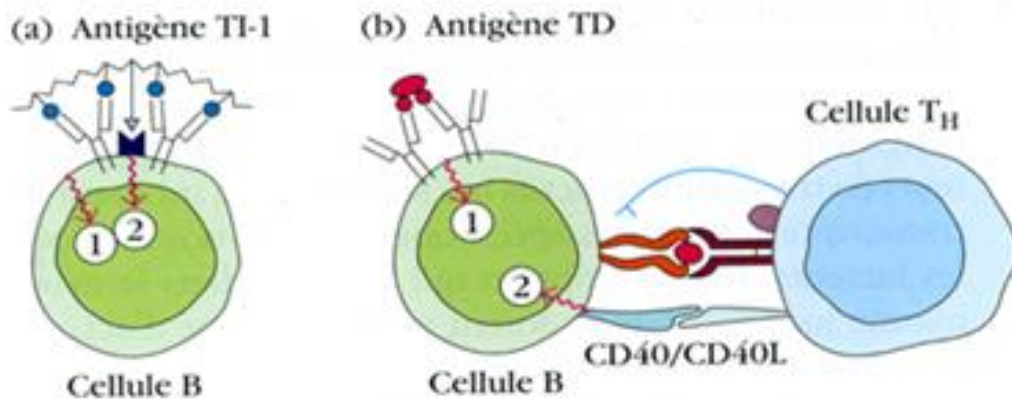
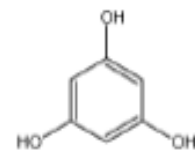
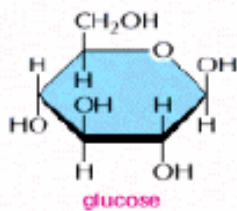


Figure 4 : réponse des lymphocytes B aux Ag thymo-dépendants (à droite) et thymo- indépendants (à gauche)

Les Ag thymo-indépendants n'induisent ni à la commutation de classe (IgM → IgG, IgA...), ni la maturation de l'affinité des anticorps (due aux mutations somatiques) ni la différenciation en cellules B mémoire. Tous ces phénomènes nécessitent la coopération des cellules T helper (ou T auxiliaires). Exemple d'Ag thymo-indépendant : les lipopolysaccharides des endotoxines, le polysaccharide du pneumocoque, la flagelline, le dextrane...

Spécificité antigénique

- En fixant, en position para, sur un noyaux phénol un résidu glucose et sur un autre noyau phénol un résidu galactose, on obtient 2 haptènes (H1 et H2) qui se ressemblent énormément : sont quasiment identiques
- Et pourtant le système immunitaire va pouvoir distinguer entre les 2 en produisant 2 types d'Ac ≠ : anti-H1 et anti-H2



noyau phénol

Spécificité Antigénique

- 2 groupes d'animaux (souris ou lapins..) sont immunisés par le même haptène H1 fixé sur une protéine porteuse différente pour chaque groupe : OA et SA
- Les immuns sérums (IS) de chaque groupe sont testés in-vitro avec chacune des protéines porteuses seule et avec l'haptène
- Quand elle a lieu, la réaction Ag-Ac se traduit par une précipitation visible à l'œil nu
- Les résultats des 4 cases + et - prouvent que :
- les Ac anti-haptène sont ≠ des Ac anti-protéine porteuse

Tableaux 1 et 2 : Notion de spécificité antigénique

Réaction de précipitation de l'immun-sérum anti-haptène-protéine porteuse avec l'haptène et/ou la protéine porteuse ayant servi à l'immunisation ou leurs homologues de structure très proche (+ : indique une précipitation).

Tableau 1

Ag Ac	SA	OA	H1.SA	H1.OA
IS anti-H1.SA	+	-	++	+
IS anti-H1.OA	-	+	+	++

IS : immun-sérum S.A : sérum albumine bovine O.A : ovalbumine

H : haptène

H1 : para-aminophényl-glucoside

H2 : para-aminophényl-galactoside

Tableau 2

IS épuisé par Ag X : adsorbé sur Ag X : duquel on a enlevé les Ac spécifiques de l'Ag X

Les Ac anti-H1 sont différents des Ac anti-H2

Ac \ Ag	SA	SA.H1	SA.H2	H1.SA.H2
IS anti-H1.SA.H2	+	++	++	+++
IS anti-H1.SA.H2 Epuisé par SA	-	+	+	++
IS anti-H1.SA.H2 Epuisé par SA.H1	-	-	+	+
IS anti-H1.SA.H2 Epuisé par SA.H2	-	+	-	+

Spécificité Antigénique

- Sur la même protéine porteuse (SA), on fixe les 2 haptènes qui se ressemblent tellement : H1 et H2 et on immunise avec des animaux (souris ou lapins..)
- L'IS anti- H1-SA-H2 ainsi obtenu est testé in-vitro avec la SA seule, couplée avec H1, avec H2 et avec les 2 H
- Les mêmes Rx Ag-Ac sont ensuite reproduites successivement avec l'IS adsorbé sur la SA, et sur chacun des complexes SA-H1, SA-H2 et H1-SA-H2
- Les résultats des 4 cases + et – prouvent que :
- les Ac anti-haptène H1 sont ≠ des Ac anti-haptène H2