

# Le Système du Complément

**Dr. Marie-Agnès Dragon-Durey**

Service d'Immunologie Biologique,  
Hôpital Européen Georges Pompidou  
Paris

Février 2009

## Le système du Complément

### Immunité non spécifique

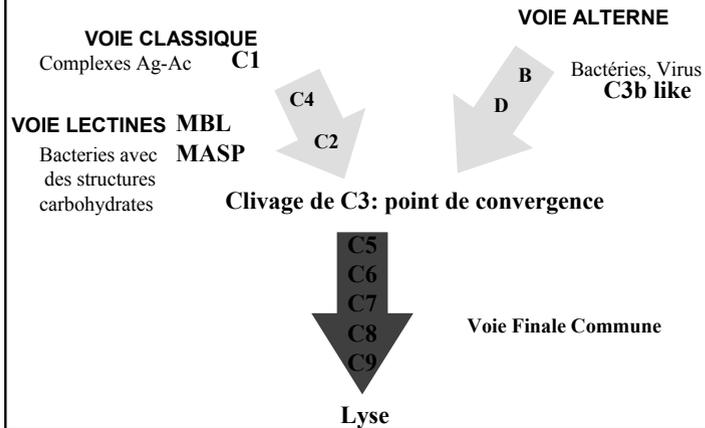
- Découvert au début du XX<sup>e</sup> siècle comme une substance sérique thermolabile qui "complétait" l'action des anticorps.
- \* **Constitué d'une série de protéines plasmatiques**
- environ 30 protéines différentes
- présentes sous forme inactive
- capables de s'activer séquentiellement en cascade
- génèrent des fragments d'activation qui possèdent des activités enzymatiques
- \* **Constitué de protéines régulatrices** (constitutivement actives)
- \* **Constitué de récepteurs membranaires** capables de lier les fragments d'activation

<p><b>La voie Classique</b> Protéine de reconnaissance : C1q C1r, C1s C2, C4 Régulation : C1-inhibiteur</p>
<p><b>La voie des Lectines</b> Protéine de reconnaissance : MBL (Mannan Binding Lectin) MASP-1 (Mannan-Associated Serine Protease), MASP-2, (MASP-3) C2, C4</p>
<p><b>La voie Alterne</b> C3 Facteur B Facteur D Properdine Régulation : Facteur H</p>
<p><b>Inactivation de C3b et C4b</b> Enzyme : Facteur I Cofacteurs : C3b - Facteur H MCP (Membran Cofactor Protein ou CD46) CRI (Complement Receptor 1 ou CD35) +/- C4BP (C4 Binding Protein) C4b - C4BP CRI MCP</p>
<p><b>Voie Finale Commune</b> C5, C6, C7, C8, C9 Régulation : DAF (Decay Accelerating Factor ou CD55) HRF (Homologous Restriction Factor ou CD59) Protéine S</p>
<p><b>Les récepteurs aux fragments de clivage de C3</b> CRI (CD35) : C3b CR2 (CD21) : C3bi, C3dg/C3d CR3 (CD11b/CD18) : C3bi CR4 (CD11c/CD18) : C3bi</p>

## Rôles du Complément

- **Mécanismes de défense contre l'infection**
  - Lyse des agents infectieux (composants C5 à C9 formant les complexes d'attaque de la membrane: activité cytolytique)
  - Opsonisation (dépôts de C3b sur la surface activatrice ex : Bactéries)
  - Activation cellulaire menant à la réaction inflammatoire: Production de nombreux fragments de clivage au cours des premières étapes de l'activation (anaphylatoxines: C3a et C5a)
- **Transport et élimination des complexes immuns**
  - permet le maintien des complexes Ag-Ac en solution
- **Modulation de la réponse immune: Interface entre l'immunité innée et acquise via les récepteurs membranaires**

## Voies d'activation



## Voie classique

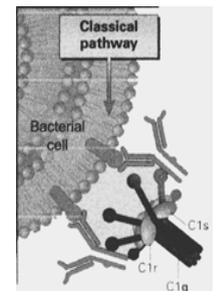
- **Protéines constitutives:**  
Complexe C1: C1q (C1r)<sub>2</sub> (C1s)<sub>2</sub>  
C1q: sous-unité de reconnaissance  
C1r et C1s : sérine estérases  
Composant C4  
Composant C2
- **Protéines régulatrices:**  
C1 Inhibiteur: C1-inhibiteur  
C4 binding protein: C4bp  
C3b inactivateur: Facteur I
- **Aboutit à la formation de la C3 convertase classique, enzyme capable de cliver C3**

## Activateurs de la voie classique

- **Fc des immunoglobulines complexées**  
IgG1, IgG2, IgG3, IgM (domaine C<sub>γ</sub>2, C<sub>μ</sub>4)
- **Activateurs non immuns**  
LPS  
Virus ARN  
Souches de salmonelles, E. Coli, Neisseria  
Membranes mitochondriales  
Acides nucléiques  
Complexes héparine-protamine  
C- Réactive Protéine  
Protéines d'enveloppe virales (VIH, EBV)

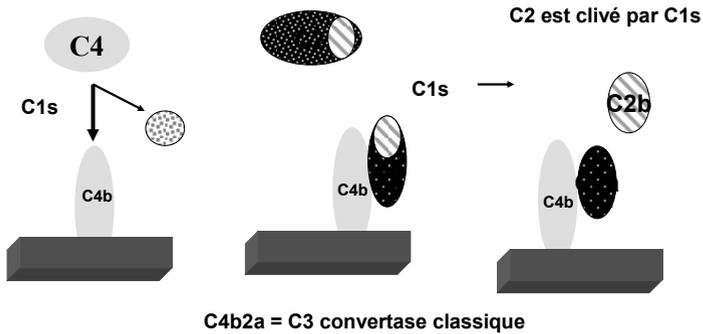
## Activation de la voie classique et C1

- Première molécule activée
- Complexe macro-moléculaire comprenant une protéine C1q et un tétramère (C1r)<sub>2</sub> (C1s)<sub>2</sub>

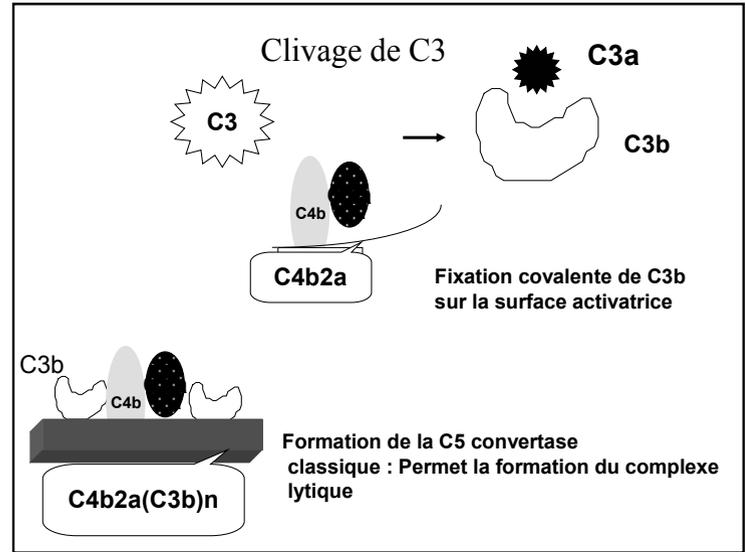


**C1q est l'unité de reconnaissance**  
**C1r et C1s sont des sérines estérases**

## Formation de la C3 convertase classique



Au cours d'une activation systémique, le C4 sérique puis le C2 diminuent (par consommation)

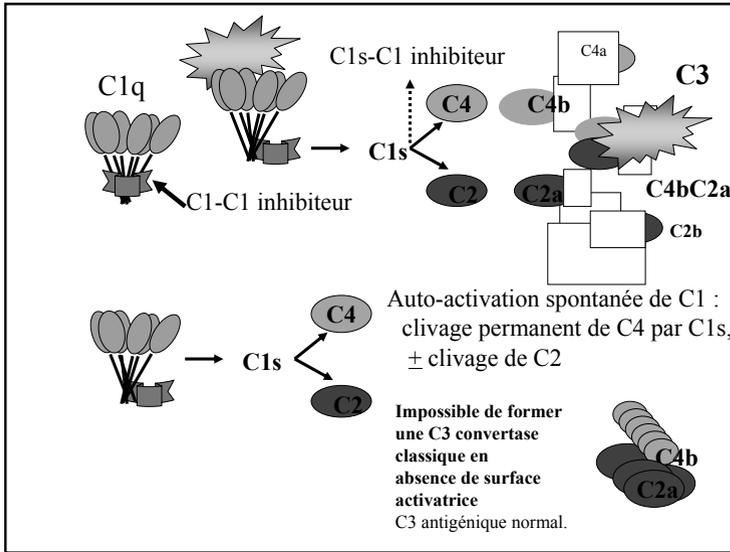


## Régulation de l'activation de C1 : C1 Inhibiteur

- Inhibiteur spécifique et exclusif du C1r et du C1s :
  - ✓ Protéine de régulation de la voie classique du complément.
- Inhibiteur des protéases à sérine qui génèrent les kinines: kallikreine et les facteurs de la coagulation XI et XII.
  - ⇒ Contrôle de la voie endogène de la coagulation, la fibrinolyse et la libération de kinines

## C1 inhibiteur (Inhibiteur de la C1 estérase )

- Glyco-protéine sérique monocaténaire (260 mg/L) de 105 kDa.
- synthétisée par le foie (90%) et les monocytes.
- composée de 478 AA, hautement glycosylée.
- appartient à la superfamille des serpinés (molécules inhibitrices de protéases à sérine)
- chr 11q11-13.2



## Voie des Lectines

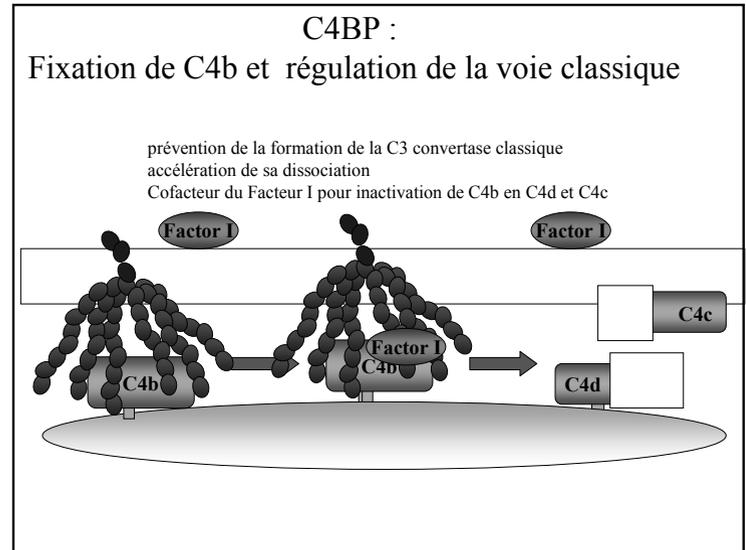
---

- Rôle dans l'immunité naturelle ++
- Activée par les structures carbohydrates des bactéries
- Mannose binding lectin (MBL) : Membre de la famille des collectines
- Région collagène et site lectine
- Caractéristiques fonctionnelles C1q-like, IgG et IgM-like
- Associée à 2 pro-sérine protéases, MASP-1 et MASP-2 (40% analogie avec C1r et C1s)
- Aboutit à la formation d'une C3-convertase classique C4b2a

## Régulation C3 convertase classique : C4 Binding Protein

---

- Protéine plasmatique (200mg/l) polymérique (570KDa),
- Plusieurs isoformes: 6 à 8 chaînes  $\alpha$  et 1 chaîne  $\beta$  ( $\alpha_6\beta_1, \alpha_7\beta_1, \alpha_7\beta_0$ )
- Fixation de la protéine S sur la chaîne  $\beta$ ,



## Voie alterne

### La voie alterne est un mécanisme de surveillance

- Système de résistance naturelle à l'infection :
  - utilise les protéines C3, B et D
  - formation d'une C3 convertase alterne, qui clive C3 en C3b
  - C3b se lie de manière **covalente** à la surface activatrice.
- Première barrière contre les infections :
  - C3 convertase "initiale" : libération en permanence de petites quantités de C3b dans la circulation.
  - C3 convertase amplificatrice au contact d'une surface activatrice.

## Activateurs de la voie alterne

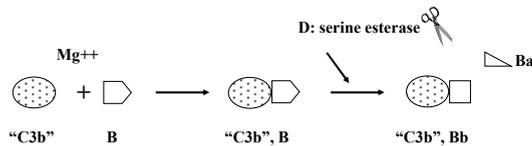
- Structures polysaccharidiques de:
  - bactéries, virus, cellules transformées, surfaces artificielles dont la composition chimique favorise l'assemblage de C3b, B au détriment de C3b, H**
- La voie alterne est activée en l'absence d'Ac
  - Mécanisme de défense naturelle qui a précédé l'apparition des Anticorps**
- Cependant, la présence d'Ac spécifiques peut augmenter le niveau d'activation de la voie alterne
- Des molécules de C3b déposées par activation de la voie classique peuvent servir de point d'assemblage de la C3 convertase alterne

## C3 convertase alterne

- Composants: C3, B, D, ions  $Mg^{++}$

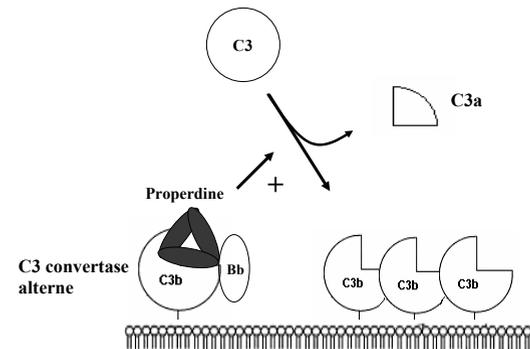
### • C3 convertase initiale en phase fluide dans le plasma

Hydrolyse spontanée du pont thiolester  $\longrightarrow$  "C3b like molécules"



- C3b, Bb: C3 convertase alterne  
 clive C3 en C3b et C3a  
 Bb est la sous-unité qui clive le C3

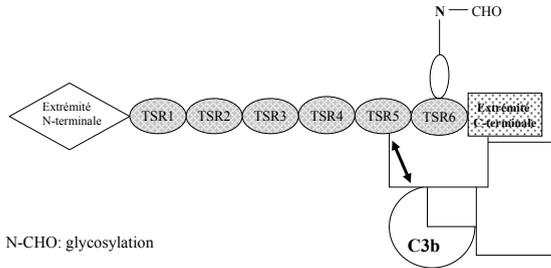
## Activation de la voie alterne et properdine



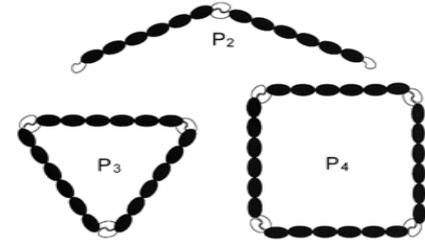
Demi-vie C3 convertase x 3 ou 4  
 Protection du clivage par le facteur I

## Structure de la properdine

- ▶ 442 acides aminés
- ▶ 6 modules TSR
- ▶ Synthèse par les monocytes

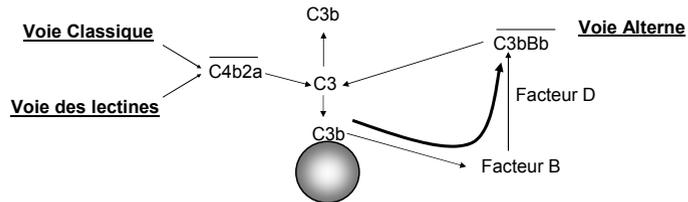


## Formes oligomériques de la properdine



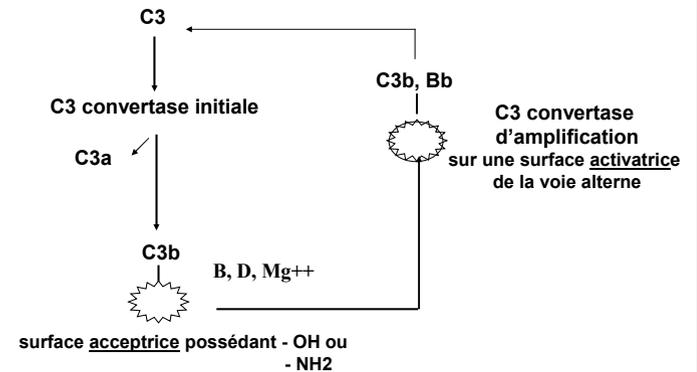
10 fois plus active que la forme dimérique

## LE SYSTEME DU COMPLEMENT



## C3 convertase alterne d'amplification

Formation sur une surface sur laquelle C3b est déposé de façon covalente



# Facteur H : Régulation de la voie alterne

## • Initiation de la C3 convertase alterne

Compétition avec le Facteur B pour la fixation de C3b

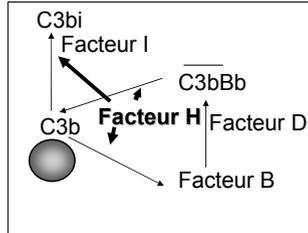
## • Dissociation de la C3 convertase alterne

C3bBb → C3b + Bb

## • Activité cofacteur du Facteur I:

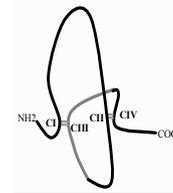
Inactivation de C3b :

protéolyse enzymatique de C3b en C3bi,



## Le facteur H : la protéine

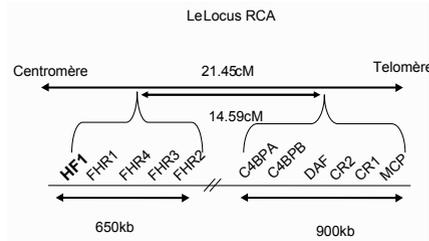
- β1H Glycoprotéine
- Synthèse hépatique, concentration plasmatique : 500µg/ml
- Protéine de 150KDa, glycosylée
- 20 unités répétitives (SCR) : 60 acides aminés, 2 ponts disulfure (cystéine I-III et II-IV)



## Le facteur H : le gène

- Gène en 1q32

- locus RCA



- 96Kb, 23 exons, 1 par SCR (sauf SCR 2),

- 2 ARNm : 4.3 Kb → 1213 AA → FH

1.8 Kb → 427 AA (423 + 4) → FHL1(Reconnectine)

- Polymorphisme génétique (SCR 1, 5, 7, 8, 11, 15, 16, 18)

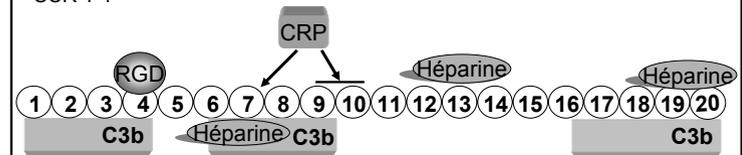
## Facteur H : les domaines fonctionnels

### REGULATION DU COMPLEMENT

- **Fixation C3b :**  
SCR 1-4, SCR 6-10 et SCR 16-20
- **Activité Cofacteur du Facteur I :**  
SCR 1-4
- **Activité "Decay" :**  
SCR 1-4

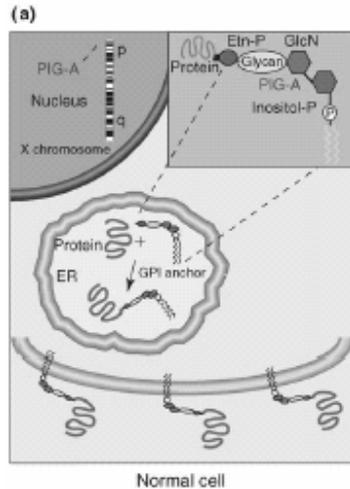
### AUTRES INTERACTIONS

- **Séquence RGD**  
au niveau du SCR 4 : FHL-1
- **Fixation CRP :**  
SCR 7, 8-11
- **Fixation Héparine et Ac sialique :**  
SCR 7, 13, 19-20

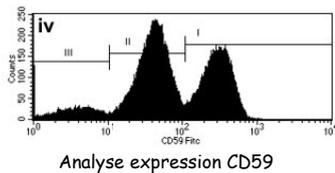
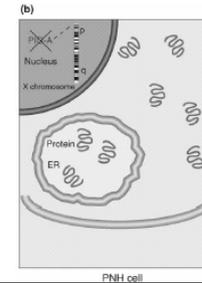




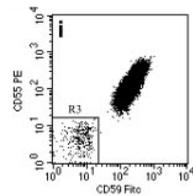




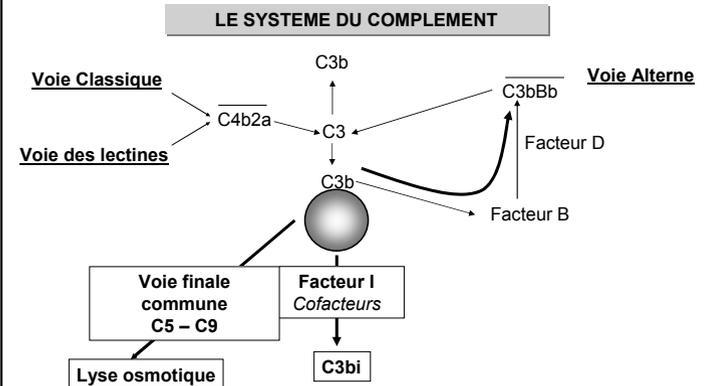
- HPN : mutation somatique du gène PIG-A dans une (ou plusieurs) cellules souches hématopoïétiques, résultant:
  - dans une faible synthèse de GPI
  - et dans un déficit, partiel (type II) ou complet (type III), des protéines à ancrage GPI - CD55, CD59, CD14, CD16b, CD52 - à la surface des cellules souches mutées mais aussi de leur descendance.
  - Coexistence avec cellules présentant une expression normale de ces protéines (type I)



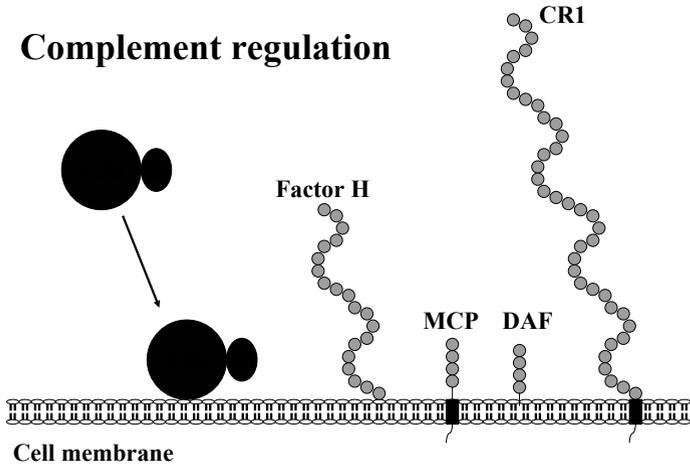
Expression CD55 et CD59



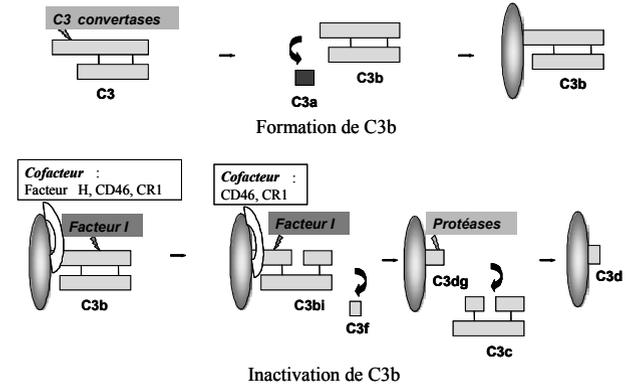
CMF sur hématies (d'après Parker et al, Blood, Dec 2005)



## Complement regulation



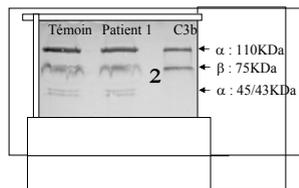
## Inactivation de C3b par le Facteur I



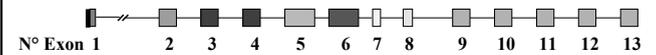
## Etude de la fonction cofacteur du Facteur I



C3b Biotinylé + Facteur H + Facteur I + IgG anti-Facteur H : 1heure 37°C, SDS Page

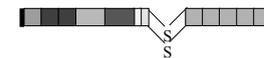


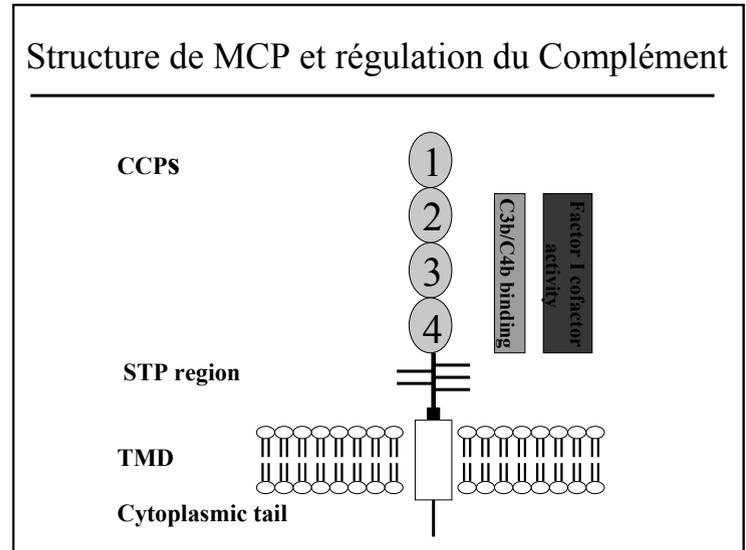
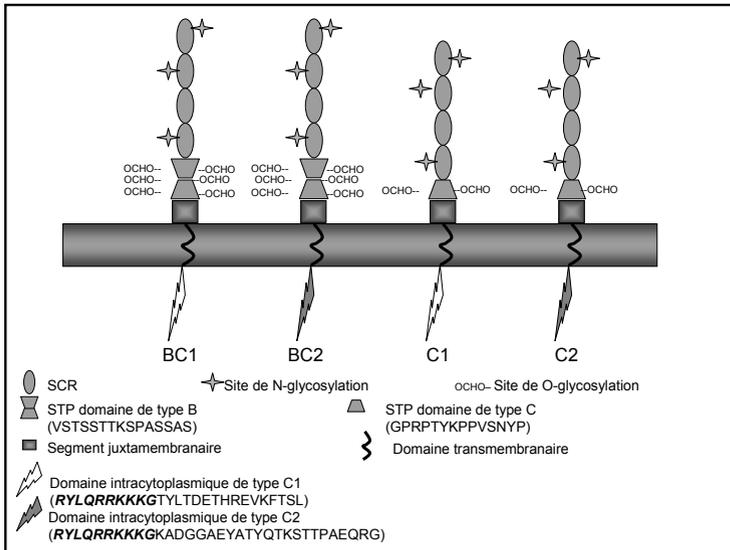
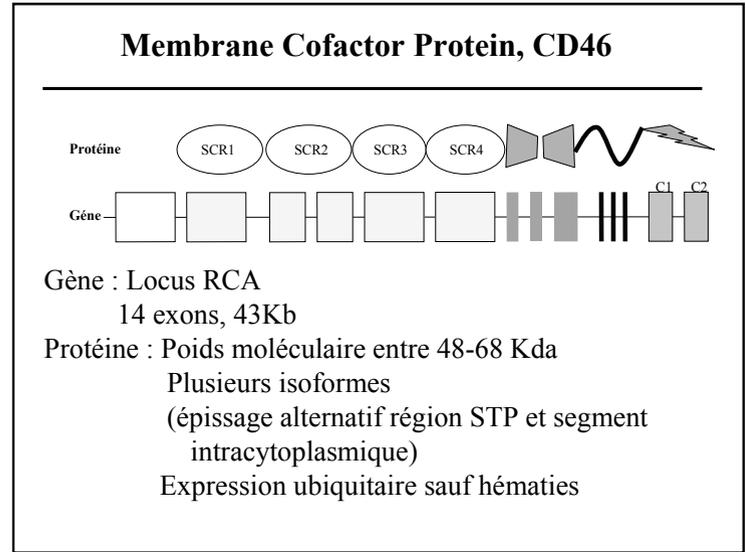
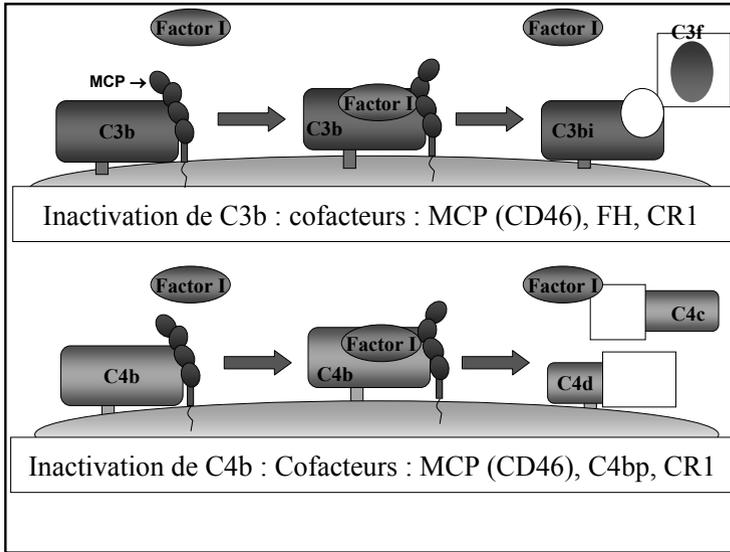
## Organisation génétique et protéique du Facteur I

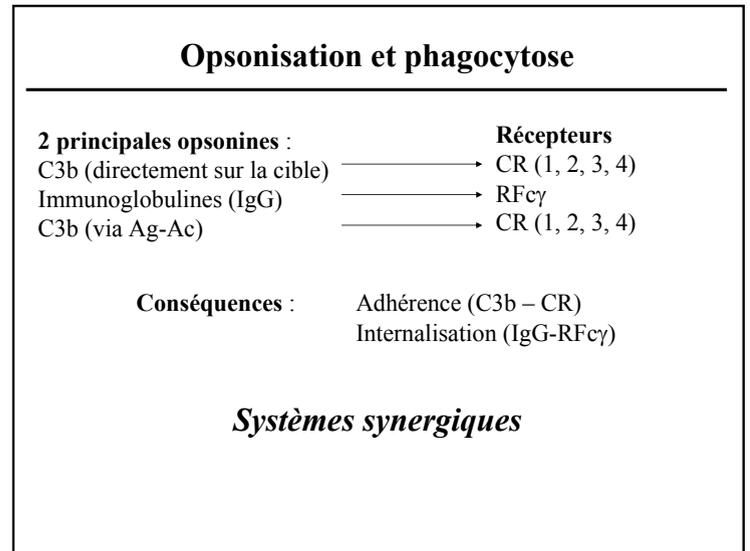
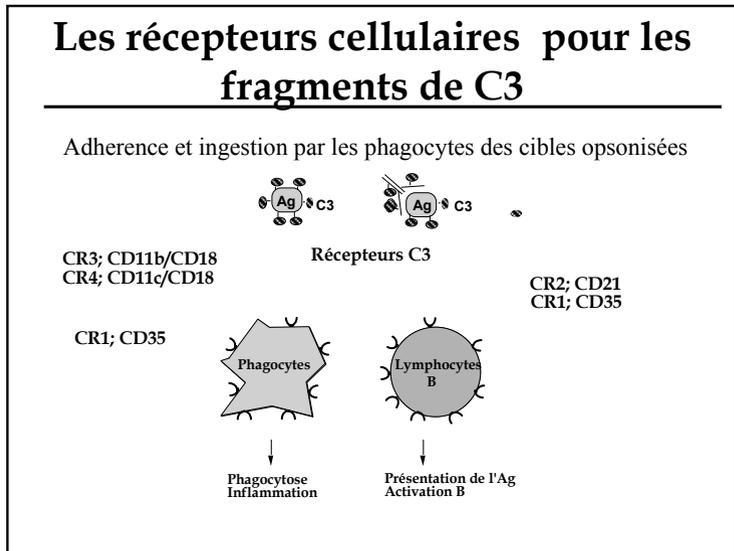
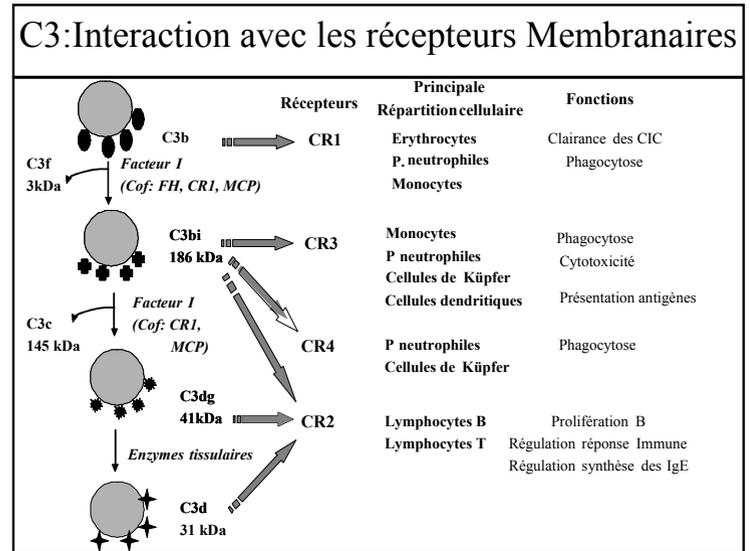
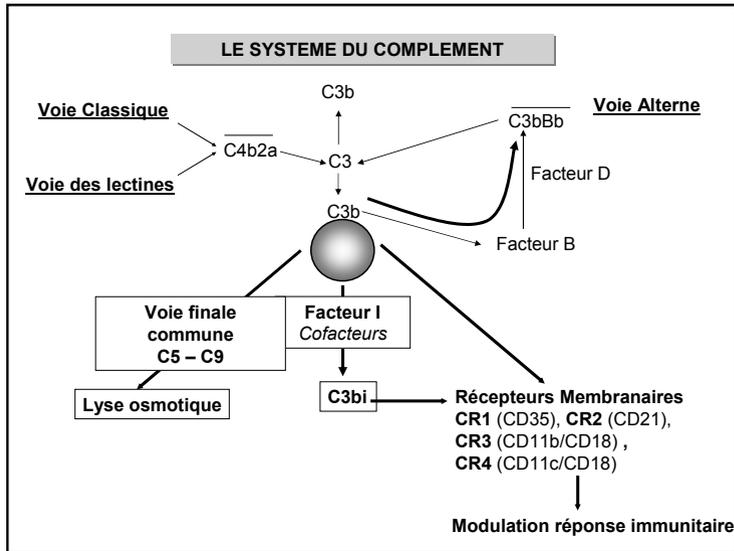


4q25, 63 kb

- Peptide signal
- Séquence non traduite
- Domaine spécifique
- CD5 module
- Module récepteur aux lipoprotéines
- Module récepteur aux lipoprotéines
- Séquence transition
- Séquence transition
- Domaine sérine protéase



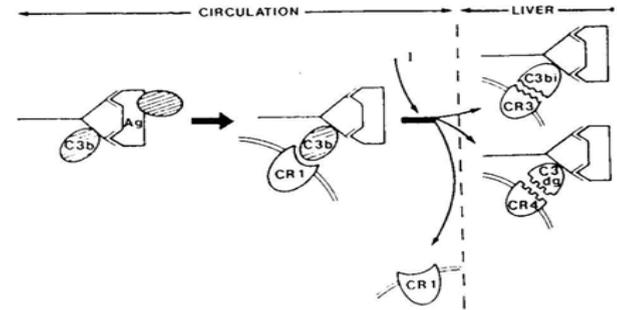




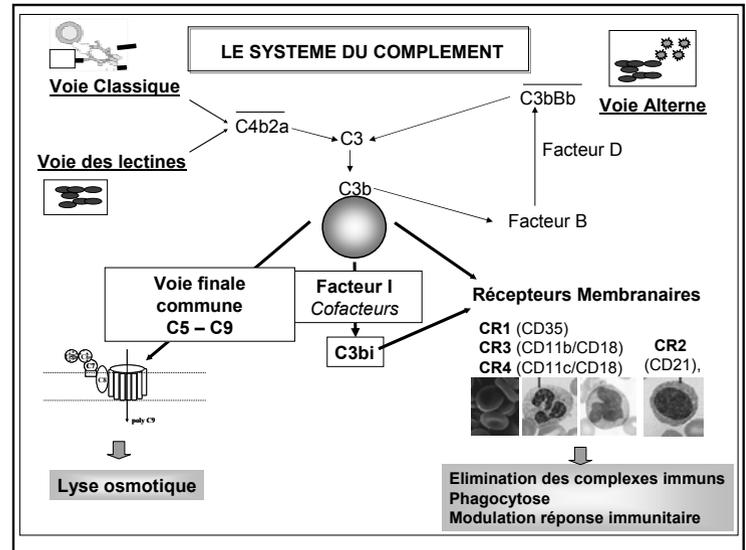
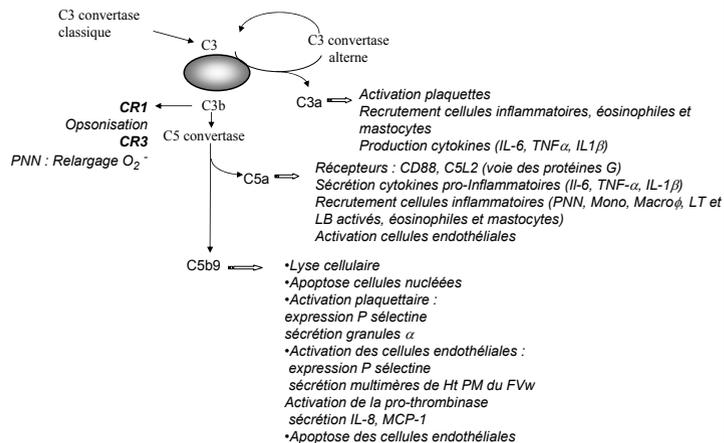
# Rôle du Complément

- Mécanismes de défense contre l'infection
  - Lyse des agents infectieux (composants C5 à C9 formant les complexes d'attaque de la membrane: activité cytolytique)
  - Opsonisation
  - Activation cellulaire menant à la réaction inflammatoire: Production de nombreux fragments de clivage au cours des premières étapes de l'activation (anaphylatoxines: C3a et C5a)
- Transport et élimination des complexes immuns**
  - permet le maintien des complexes Ag-Ac en solution
- Modulation de la réponse immune: Interface entre l'immunité innée et acquise

# Elimination des complexes Ag-Ac

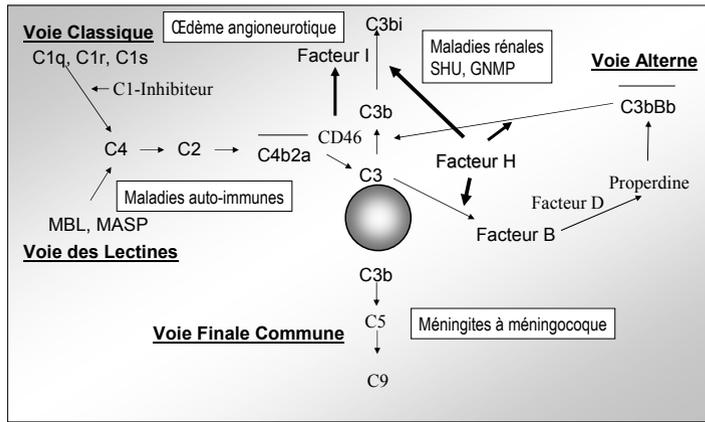


# Complément et Inflammation

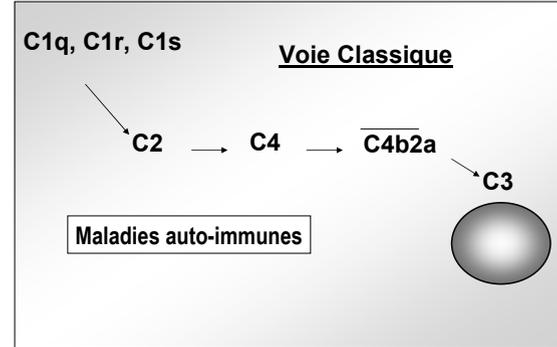


## Rôles du Complément

### Déficits en protéines du Complément et pathologies



## Association déficits en complément et LED



## Complément et LED

- **Déficit en protéines précoces de la voie classique**
- **Syndrome de consommation par la voie classique**
  - ✓ Diminution du CH50, C4, C2 ± C3
  - ✓ Déficit acquis en protéines du complément
  - ✓ Aggrave le défaut de clairance des complexes
- **Déficit en CR1 érythrocytaire**
- **Auto-anticorps anti-C1q**

## Souris knockout C1q

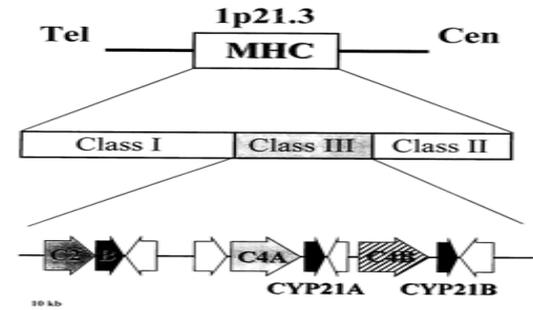
- Titres élevés de FAN: 50% des cas indépendamment du contexte génétique
- Glomérulonéphrites à dépôts immuns chez 25% des souris âgées de 8 mois (vs 4% chez les animaux contrôles)
- Corps apoptotiques +++ dans les glomérules atteints

Botto et al, 1998

## Association déficits en complément et LED

- Protection croissante  
 $C1q > C1r > C1s > C4 > C2$
- Rôle de ces protéines dans l'élimination des complexes immuns et rôle de C1q dans la clairance des corps apoptotiques

## Map of the Class III Region of the Human MHC



## Déficit en MBL (1)

- **Diminution des concentrations de MBL sérique en cas de polymorphismes sur le gène :**
  - 3 substitutions nucléotidiques ponctuelles (codons 52, 54 et 57 de MBL2, exon 1) définissant 3 allèles (respectivement D, B et C), l'allèle sans mutation (A) définissant la forme « sauvage ».
  - plusieurs polymorphismes localisés dans le promoteur associés à une variation de production de la protéine
- **retrouvés dans de nombreuses populations avec des fréquences variables selon l'ethnie,**
- **Les études de ces différents marqueurs génétiques dans le LED : un rôle modulateur de la voie des lectines dans la sévérité de ces maladies.**

## Complément et MAI

### Ami

- Permet l'élimination des immuns-complexes (bactéries recouvertes d'anticorps) et des cellules apoptotiques
- Inhibe la précipitation
- Elimination des complexes -C3b par le CR1 érythrocytaire ou phagocytose

### Ennemi

- Contribue aux lésions tissulaires : afflux de cellules de l'inflammation
- libération d'anaphylatoxines
- dépôts de C3b au niveau des tissus

Ex : Polyarthrite rhumatoïde induite par ac-antiG6P isomérase (modèle murin)

**Antigène ubiquitaire  
mais induction d'une synovite et arthrite destructive**

- Arthrite chez souris lymphopéniques, RFcI<sup>-/-</sup>, RFcIIB<sup>-/-</sup>
- Arthrite atténuée chez RFcIII<sup>-/-</sup>
- Pas d'arthrite chez souris RFcγ<sup>-/-</sup>
- Pas d'arthrite chez souris C5<sup>-/-</sup>
- Pas d'arthrite chez souris traitées préventivement par un ac anti-C5 (et effet curateur)

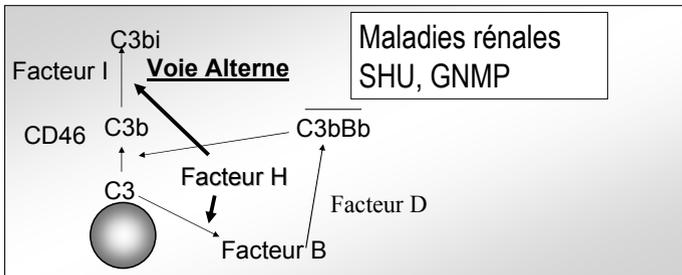
*Ji et al, Immunity, 2002*

Polyarthrite rhumatoïde induite par ac-antiG6P isomérase chez les souris KO pour le Complément

Protéine	Nbre de souris atteintes		Score de l'arthrite	
	+/+	-/-	+/+	-/-
C1q	4/4	4/4	++	++
MBL	8/8	8/8	+	+
C4	4/4	4/4	++	++
C3	4/4	2/4	++	+/-
FB	6/6	2/6	++	+/-
C5	4/4	0/4	++	-
C5aR	8/8	0/8	++	-
C6	4/4	4/4	+	+
CR1/2	5/5	5/5	++	++
CR3	5/5	5/5	++	++

⇒ Importance du rôle de C5 (++) et de la voie alterne  
Pas d'influence de la voie classique

## Voie Alterne et Pathologies Rénales



## Complément et pathologies rénales

3 grands situations pathologiques :

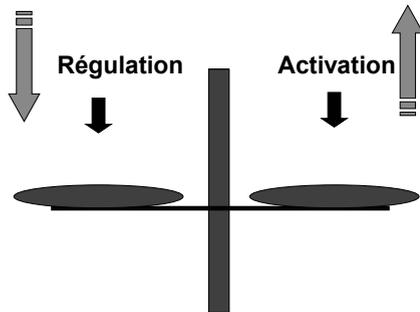
Néphrite lupique : Activation de la **voie classique**

Glomérulonéphrites Membrano prolifératives (maladies chroniques)

Syndrome Hémolytique et Urémique atypique (maladie aiguë)

} Activation de la **voie alterne**

## Mécanismes physiopathologiques : dérégulation de la voie alterne du complément



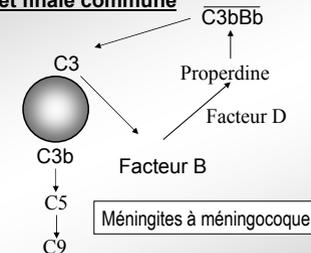
## Etiologies du SHUa

- **1/ Déficients quantitatifs et mutations « perte de fonction » :**  
Gènes des protéines de régulation de la voie alterne du Complément : Facteur H, Facteur I, CD46 (Membrane Cofactor Protein)
- **2/ Mutations « gain de fonction » :**  
Gènes des composants de la C3 convertase alterne : Facteur B, C3
- **3/ Implication de polymorphismes génétiques**  
Polymorphismes dans le RCA : FH, CD46, nombre d'allèles CFHR
- **4/ A part ? :**  
**formes acquises :**
  - auto-anticorps anti-facteur H et SHUa
  - auto-anticorps anti-C3 convertase alterne (C3 Nef) et GNMP

## Rôles du Complément

- **Mécanismes de défense contre l'infection**
  - Lyse des agents infectieux (composants C5 à C9 formant les complexes d'attaque de la membrane: activité cytolytique)
  - Opsonisation
  - Activation cellulaire menant à la réaction inflammatoire: Production de nombreux fragments de clivage au cours des premières étapes de l'activation (anaphylatoxines: C3a et C5a)
- Transport et élimination des complexes immuns
  - permet le maintien des complexes Ag-Ac en solution
- Modulation de la réponse immune: Interface entre l'immunité innée et acquise

### Voies Alterne et finale commune



Recherche d'un déficit indispensable quand :

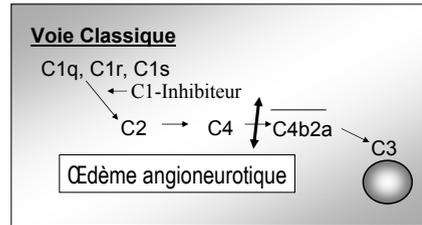
- méningocoque de sérotype rare.
- Age de survenue > 5 ans.
- Antécédents personnels ou familiaux de méningites
- Méningite fulminante.

## Déficit en MBL (2)

### Susceptibilité accrue aux infections

- Variants de MBL : plus fréquemment retrouvés chez les **sujeets immunodéprimés** (neutropéniques, post-chimiothérapie), présentant des **infections bactériennes**.
- Prédilection aux **infections à méningocoques**.
- Implication dans la **susceptibilité et la progression** des infections virales par
  - le VIH,
  - les virus des hépatites chroniques
  - plus récemment le coronavirus du SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome).

## Les angio-oedèmes secondaires à un déficit en C1 inhibiteur: oedème angio-neurotique



- Oedèmes localisés itératifs de la peau ou des muqueuses laryngées et intestinales.
- Gravité de son pronostic spontané
- Déficit héréditaire (Transmission autosomique dominante; formes de novo)
- ou acquis (contexte lymphoprolifératif fréquent)

## Increased vascular permeability in C1 inhibitor -deficient mice mediated by the bradykinin type 2 receptor.

*Eun D. Han et al J. Clin. Invest. 109, 1057-1063 (2002)*

Souris invalidée pour le gène du C1 inhibiteur:

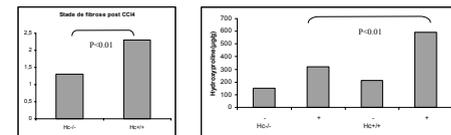
- augmentation de la perméabilité vasculaire révélée par perfusion de bleu evans
- Normalisation après traitement par C1 inhibiteur, DX88 (kallikrein inhibiteur) et par le récepteur antagoniste à la bradykinine de type 2
- Augmentation après traitement par Captopril
- C1 inh-/- et Bk2R -/-: régression de la perméabilité vasculaire

*Les oedèmes sont médiés par la bradykinine via le récepteur de type 2*

## C5 et fibrose

**Modèle** : Fibrose hépatique induite (CCl<sub>4</sub>) chez souris et étude de transmission de marqueur génétique selon susceptibilité à développer une fibrose : **Localisation locus contenant gène codant pour C5 (Hc)**

• Souris Hc-/- :



• Blocage C5R1 : atténuation fibrose

• Etude chez l'homme (fibrose post HCV): association d'un haplotype génétique et dosage antigénique de C5 (augmenté) avec stade histologique de fibrose *Hillebrandt, nature genetics, 2005, 37(8)*

## Le système du Complément : cible pour de nouvelles immunothérapies

### Inhibition de C5 : Nouveau traitement de l'HPN :

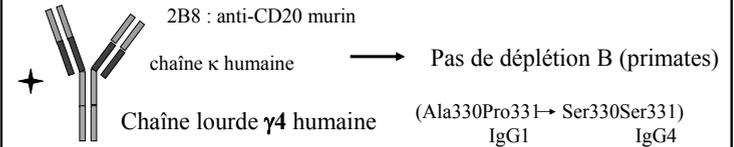
- Pexelizumab : anticorps anti-C5 humanisé simple chaîne

• *N Engl J Med*, 2004 Feb 5;350(6):552-9

- Aussi testé en

- Chirurgie cardiaque : Essai Phase II
- (Chen, J Card Surgery, 2005)

## Mécanisme d'action Complément-dépendante de l'anticorps thérapeutique anti-CD20 (Rituximab®)

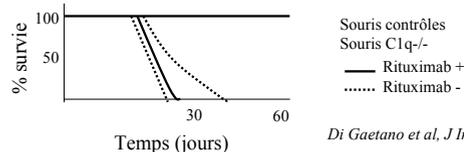


- Syndrome de consommation majeure lors de l'induction du traitement dans les lymphomes et LLC

Pré-injection :	2 H post injection :	
CH50 : 100%	0%	(70-130)
C3 : 841 mg/L	600	(660-1250)
C4 : 189 mg/L	<13	(93-380)
Facteur B : ND	110	(90-320)

### • Rituximab et C1q, Souris C1q<sup>-/-</sup> :

Injection IV cellules EL4-CD20<sup>+</sup> et à J1 injection IP de rituximab



*Di Gaetano et al, J Immunol, 2003, 171*

### Induction de l'opsonisation des cellules CD20<sup>+</sup>:

- Fixation covalente de 500.000 molécules de C3bi par cellules opsonisation dépendante de la richesse en protéines du Complément du sérum C3bi : co-localisation avec les molécules de Rituximab

*(Kennedy, Blood, 2003)*

- Augmentation d'expression par G-CSF de CD11b (CR3 : récepteur de C3bi): augmentation de l'ADCC induite par le rituximab *(Czuczman, Blood, 2002)*

Coopération C3bi et RFcγ pour phagocytose

## Complément : cible de nouvelles thérapeutiques

