

Le Système du Complément

Dr. Marie-Agnès Dragon-Durey

Service d'Immunologie Biologique,
Hôpital Européen Georges Pompidou
Paris

Février 2010

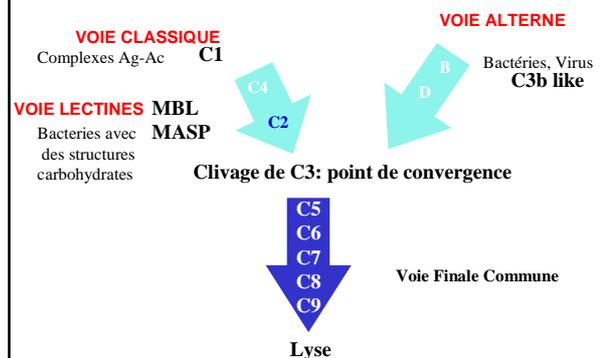
Le Complément

- Découvert au début du 20^{ème} siècle comme une substance sérique thermolabile qui "complétait" l'action des anticorps.
- **Fait partie de l'Immunité non spécifique**
- Activation du complément : cascade de clivages enzymatiques initiée par une surface "activatrice" qui transforme les protéines constitutives en composants biologiquement actifs.
- Environ 30 protéines constitutives : Les protéines du complément circulent dans le plasma sous forme biologiquement inactive et présence de protéines biologiquement actives (plasmatiques et récepteurs cellulaires). Présence de protéines régulatrices.
- **Participe aux réponses innées et adaptatives via la formation en cascade de complexes enzymatiques et la synthèse de protéines biologiquement actives**

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)
 - Oponisation
 - 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 d'activation



Activateurs de la voie classique

- **Fc des immunoglobulines complexées**

IgG1, IgG2, IgG3, IgM (domaine C γ 2, C μ 4)

- **Activateurs non immuns**

LPS

Virus ARN

Souches de salmonelles, E. Coli, Neisseria

Membranes mitochondriales

Acides nucléiques

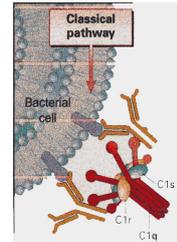
Complexes héparine-protamine

C- Réactive Protéine

Protéines d'enveloppe virales (VIH, EBV)

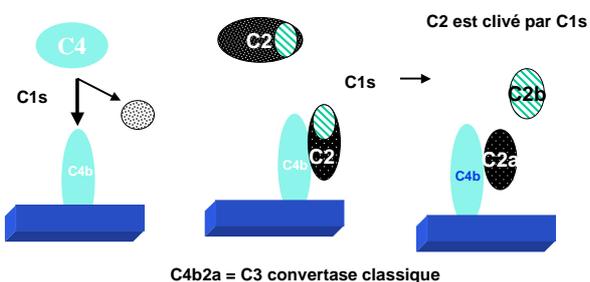
Activation de la voie classique et C1

- Première molécule activée
- Complexe macro-moléculaire comprenant une protéine C1q et un tétramère (C1r) $_2$ (C1s) $_2$



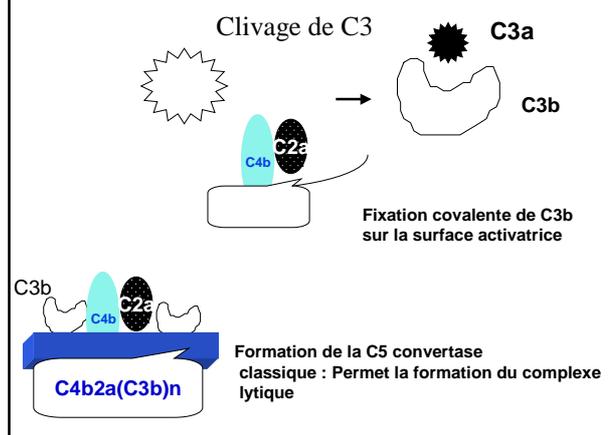
C1q est l'unité de reconnaissance
C1r et C1s sont des sérines estérases

Formation de la C3 convertase classique



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

Clivage de C3



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

Voie alterne

La voie alterne est un mécanisme de surveillance

- Activation :
 - 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.
- Système de résistance naturelle à l'infection :
 - C3 convertase "initiale" : libération en permanence de petites quantités de C3b dans la circulation.
 - C3 convertase amplificatrice au contact d'une surface activatrice.

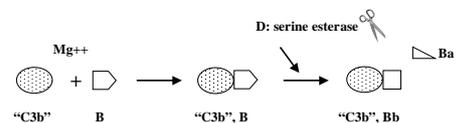
Activateurs de la voie alterne

- 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 → "C3b like molécules"

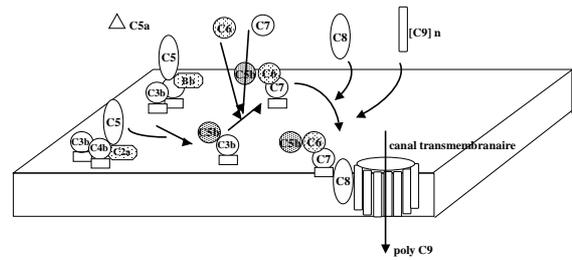


- **C3b, Bb: C3 convertase alterne**
 clive C3 en C3b et C3a
 Bb est la sous-unité qui clive le C3

Voie finale commune Formation du complexe d'attaque membranaire

- Formation d'un complexe moléculaire stable : C5b,6,7 à la surface
- Interaction de C8 (C5b678) et début d'insertion dans la membrane
- Polymérisation de C9, insertion dans les membranes cellulaires, création de pores
- Entraîne la lyse cellulaire
- Régulation: Protéine S et CD59

Insertion du complexe terminal et lyse

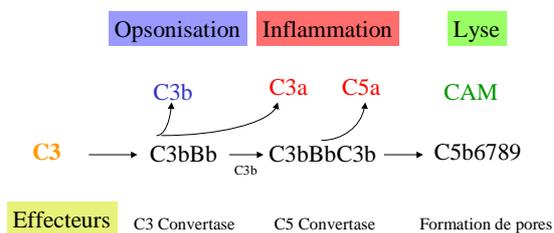


C5 convertases
C4b, C3b, 2a
C3b, Bb, C3b

complexe d'attaque membranaire (MAC)
mC5b-9

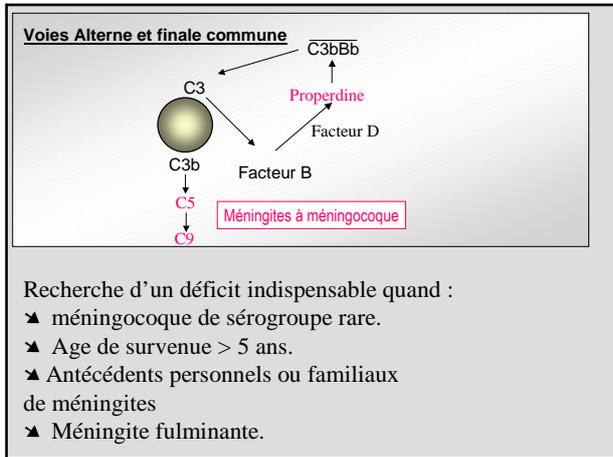
inhibiteurs du MAC
protéine S ou vitronectine
CD59 (HRF)

Les principales fonctions du Complément



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

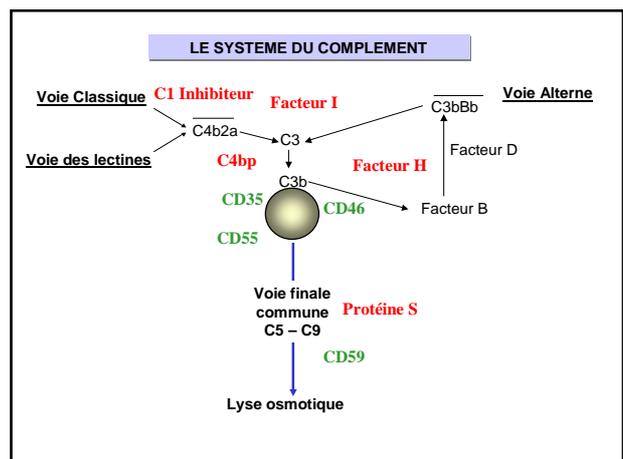
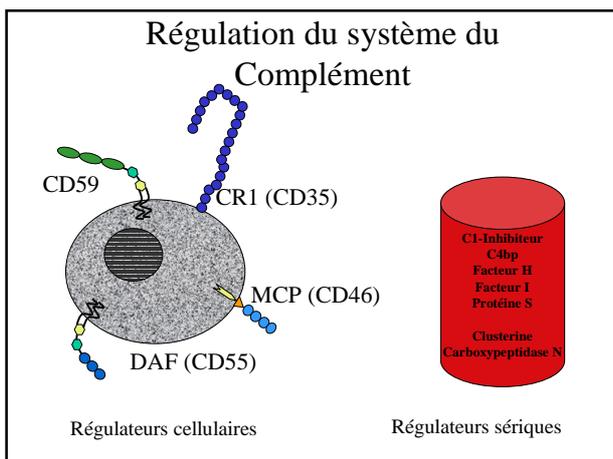


DEFICIT EN PROPERDINE

- GENE DE LA PROPERDINE : CHR. X
- 75% DES INDIVIDUS DEFICITAIRES : MENINGITES FULMINANTES A NEISSERIA
- **DIAGNOSTIC :**
 - DOSAGE PONDERAL DE P
 - Dosages de C3 et Facteur B normaux
 - Test fonctionnel : AP50
 - 3 types de déficits :

Déficit de type 1 (complet): Protéine indétectable, Test fonctionnel effondré.
 Déficit de type 2 (partiel): Taux circulant de 1 à 10%. Test fonctionnel effondré.
 Déficit de type 3 (qualitatif): Taux circulant normal. Test fonctionnel effondré.

- ETUDE FAMILIALE +++

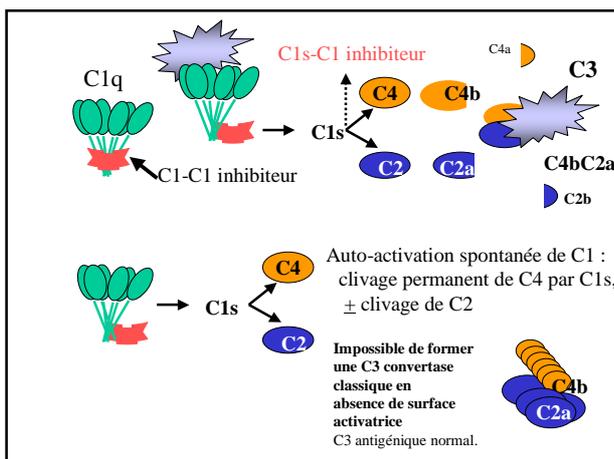


**Régulation de l'activation de la voie classique :
Régulation au niveau du C1 :
C1 Inhibiteur**

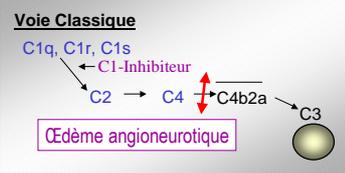
- **Inhibiteur spécifique et exclusif du C1r et du C1s :**
 - ✓ Protéine de régulation de la voie classique du complément.
- **Inhibiteur des protéases à sérine** qui génèrent les kinines: kallikreine et les facteurs de la coagulation XI et XII.
 - ⇒ Contrôle de la voie endogène de la coagulation, la 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 serpinines (molécules inhibitrices de protéases à sérine)
- chr 11q11-13.2



**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)



• Oedèmes localisés itératifs de la peau ou des muqueuses intestinales et laryngées : Gravité de son pronostic spontané



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)

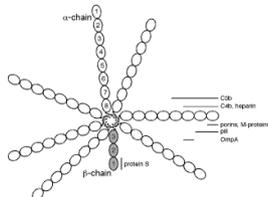
Souris invalidée pour le gène du C1 inhibiteur:

- 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

Régulation C3 convertase classique : C4 Binding Protein

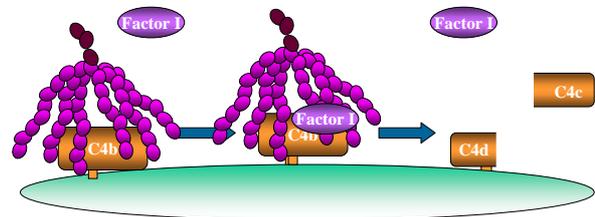
- Protéine plasmatique (200mg/l) polymérique (570KDa),
- Plusieurs isoformes: 6 à 8 chaînes α et 1 chaîne β ($\alpha_6\beta_1, \alpha_7\beta_1, \alpha_7\beta_0$)
- Fixation de la protéine S sur la chaîne β ,



C4BP :

Fixation de C4b et régulation de la voie classique

prévention de la formation de la C3 convertase classique
 accélération de sa dissociation
 Cofacteur du Facteur I pour inactivation de C4b en C4d et C4c



Régulation des C3 et C5 convertases: DAF (Decay Accelerating Factor ,CD55)

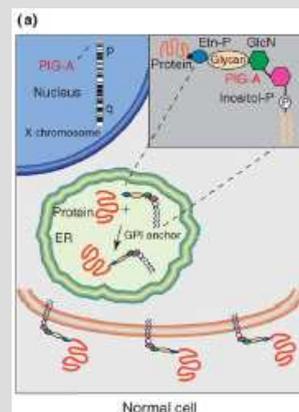
- Gène localisé dans le RCA,
- Protéine membranaire ancrée par un groupement GPI (glycosylphosphatidylinositol) : lignée hématopoïétique, épithélium et endothélium
- 4 SCR
- Accélère la dissociation des C3 et C5 convertases fixées sur une surface

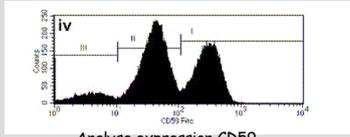
Régulation de la voie finale commune

- Vitronectine/ protéine S :
 - Liaison à C5b-7, C5b-8 et C5b-9
 - Préviend la formation du complexe d'attaque à la membrane.
- CD59 :
 - Protéine liée aux lipides membranaires, par une ancre GPI.
 - Empêche la liaison de complexes C5b-8 autologues ou homologues à la membrane.
 - Exprimée sur toutes les cellules sanguines, les cellules endothéliales et épithéliales.
 - Protection intrinsèque contre l'activation du complément par les cellules autologues.

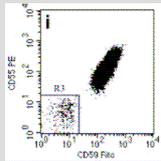
Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne

- **Déficit acquis et somatique** de la lignée hématopoïétique en molécules ancrées dans la membrane par un glycolipide (ancres GPI)
 - CD14, LFA-3, CD16, DAF (CD55), HRF (CD59)
- **CLINIQUE :**
 - Poussées D'HEMOLYSE AIGUE ou subaigüe SUR UN FOND D'HEMOLYSE CHRONIQUE
 - Fréquence DES THROMBOSES ACCRUE
 - Risque de LEUCEMIE (10 à 20%)
- **DIAGNOSTIC :**
 - TESTS D'ACIDIFICATION (HAM), AU
 - SUCROSE - susceptibilité à la lyse/C
 - Cytométrie de flux Mabs anti-DAF, anti-CD59





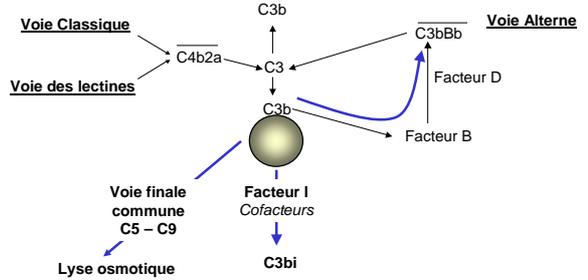
Analyse expression CD59



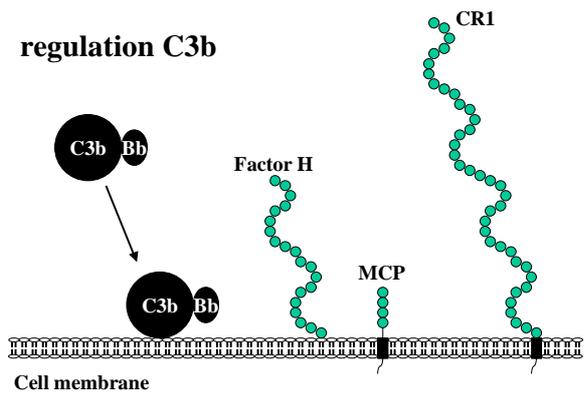
Expression CD55 et CD59

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

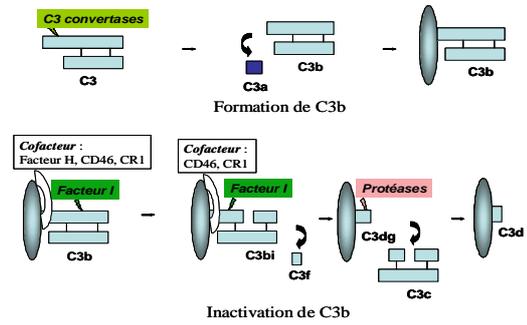
LE SYSTEME DU COMPLEMENT

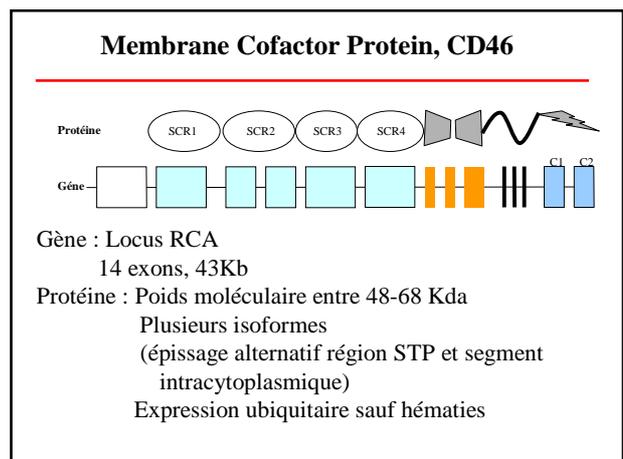
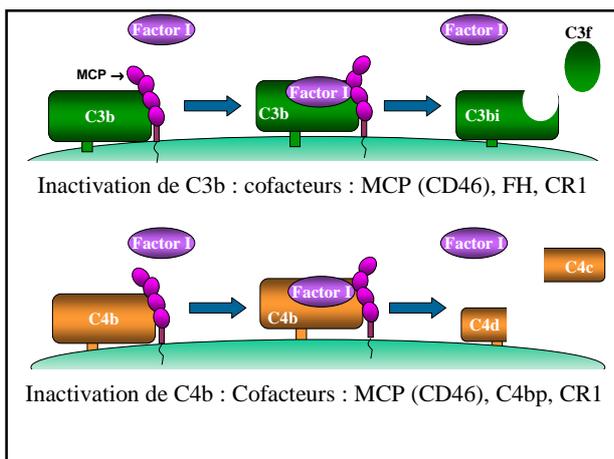
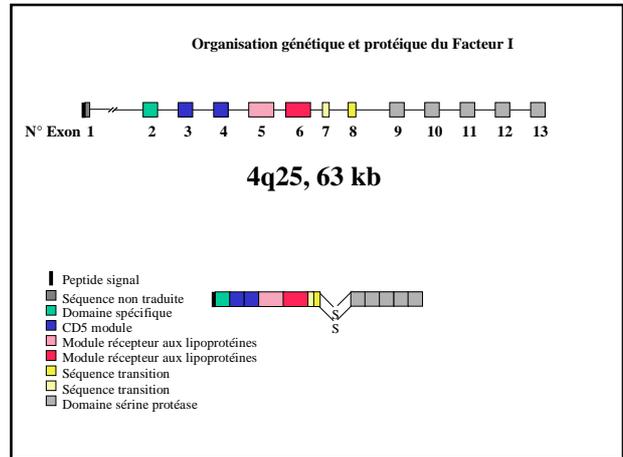
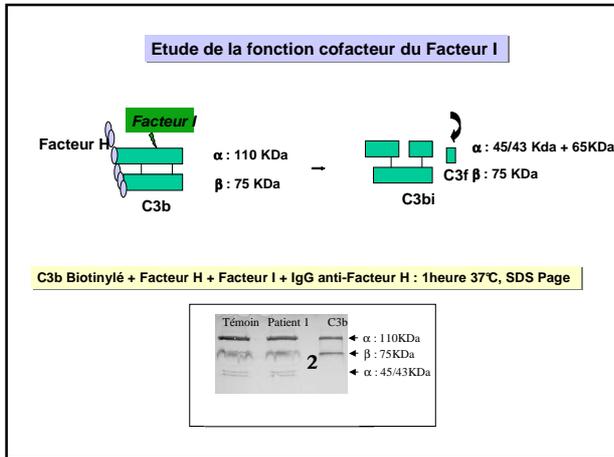


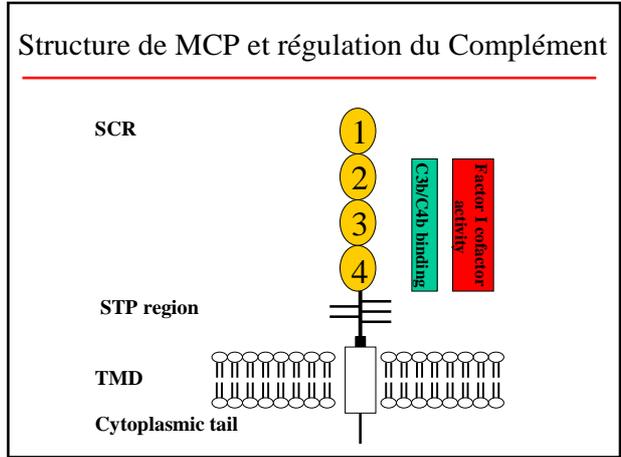
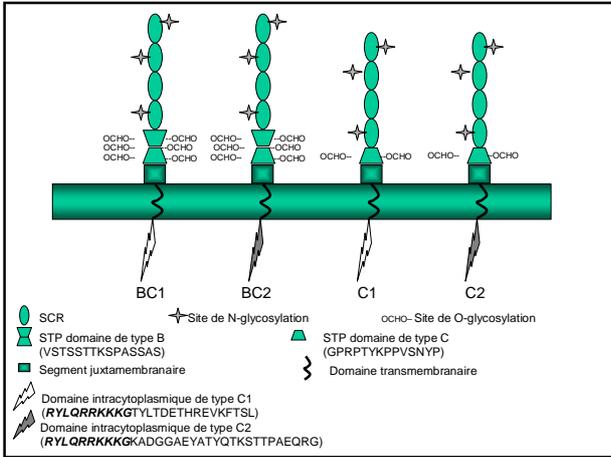
regulation C3b



Inactivation de C3b par le Facteur I







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**
 $C3bBb \rightarrow C3b + Bb$
- Activité cofacteur du Facteur I:**
 Inactivation de C3b :
 protéolyse enzymatique de C3b en C3bi,

C3bi
 Facteur I
 C3bBb
 C3b Facteur H Facteur D
 Facteur B

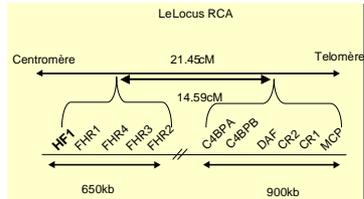
Facteur H : la protéine

- β 1H Glycoprotéine
- Synthèse hépatique, concentration plasmatique : 500 μ g/ml
- Protéine de 150KDa, glycosylée
- 20 unités répétitives (SCR) : 60 acides aminés, 2 ponts disulfure (cystéine I-III et II-IV)

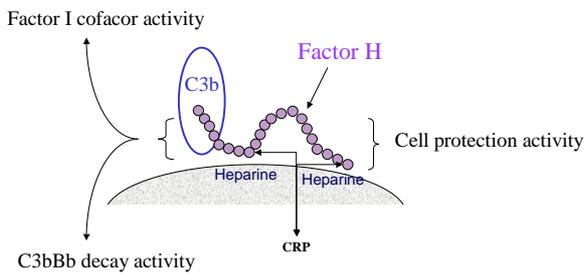
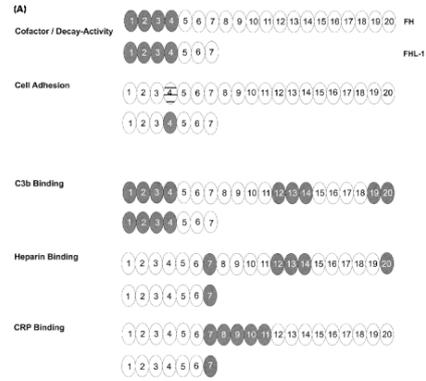
NH₂ I III IV COOH

Le facteur H : le gène

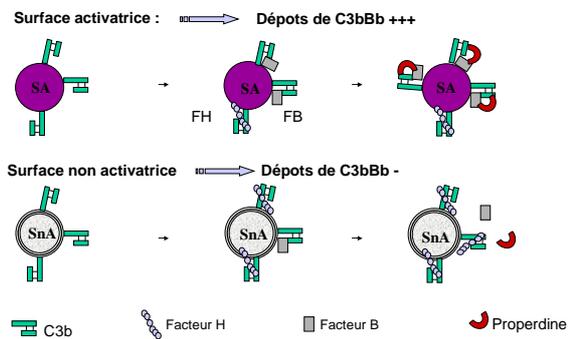
- Gène en 1q32
- locus RCA



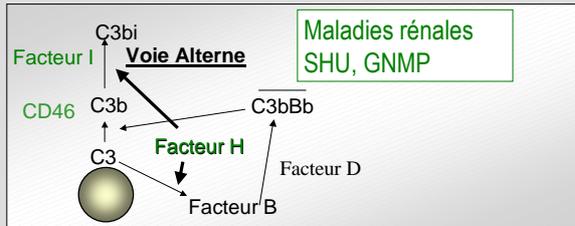
- 96Kb, 23 exons, 1 par SCR (sauf SCR 2),
- 2 ARNm : 4.3 Kb → 1213 AA → FH
1.8 Kb → 427 AA (423 + 4) → FHL1(Reconectine)
- Polymorphisme génétique (SCR 1, 5, 7, 8, 11, 15, 16, 18)



• Discrimination d'une surface activatrice de la voie alterne

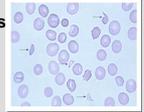


Voie Alterne et Pathologies Rénales



Syndrôme Hémolytique et Urémique (SHU)

Gasser, 1955 : Triade : **Insuffisance rénale aiguë**
Thrombopénie
Anémie hémolytique (schizocytes)



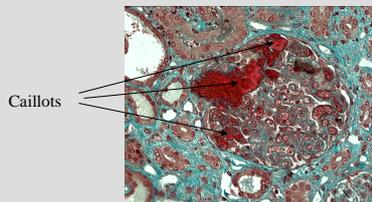
Moschowitz, 1924 : Fièvre
 Signes neurologiques
 Anémie hémolytique mécanique
 Thrombopénie
 Insuffisance rénale aiguë

Anatomo-pathologie : microangiopathie thrombotique

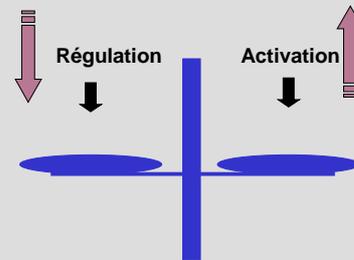
- Lésions de l'endothélium vasculaire,
- Micro-agrégats plaquettaires



Microangiopathie glomérulaire Aigue



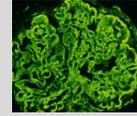
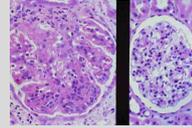
Mécanismes physiopathologiques : dérégulation de la voie alterne du complément



Etiologies du SHUa

- **1/ Déficiants 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

Glomérulonéphrite Membrano proliférative avec dépôts de C3



1^{ère} étiologie : C3 nephritic Factor ou C3 Nef

Auto-Anticorps d'isotype IgG (autres sous-classes ?) ayant la capacité de stabiliser la C3 convertase alterne : Clivage de C3, Diminution du C3 +/- Facteur B

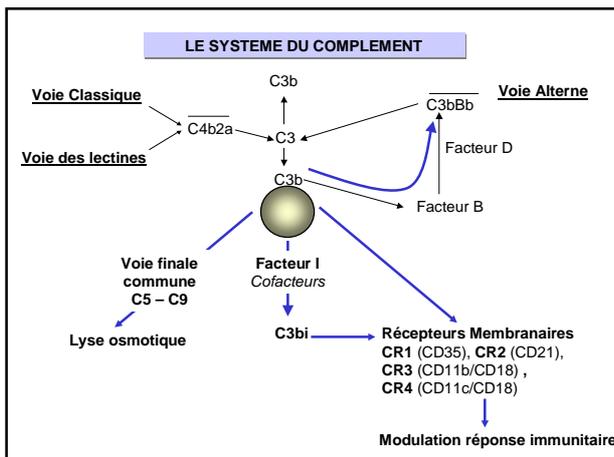
Prédisposition génétique GNMP

Déficit homozygote en FH (Humain, souris, cochons)

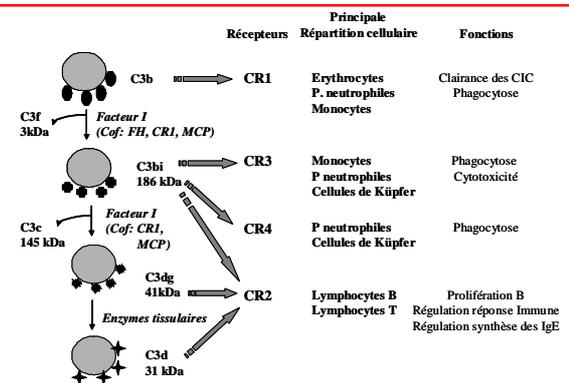
Double hétérozygote en MCP (1 cas)

GN à dépôts isolés de C3 : Mutations FH, FI, MCP

C3? Haplotype F/S

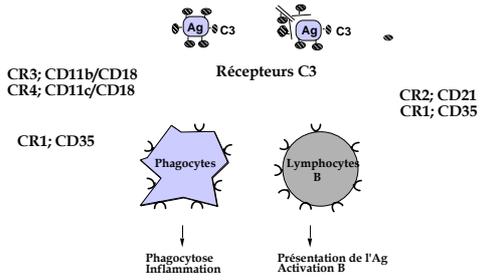


C3: Interaction avec les récepteurs Membranaires



Les récepteurs cellulaires pour les fragments de C3

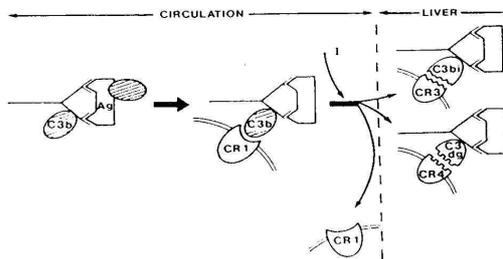
Adherence et ingestion par les phagocytes des cibles opsonisées



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 cytotolytique)
 - 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 LED : le paradoxe

- 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

Complément et MAI

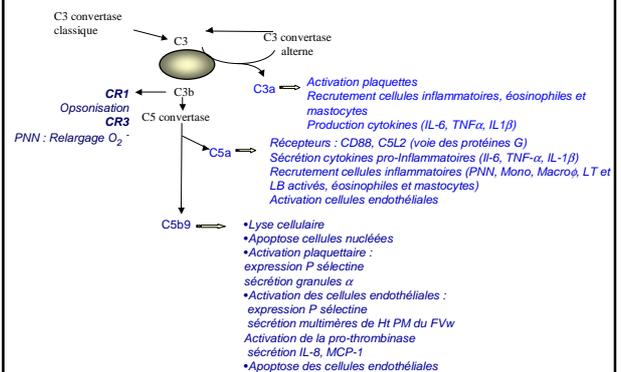
Ami

- 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

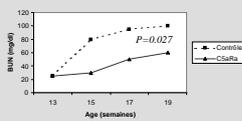
Complément et Inflammation



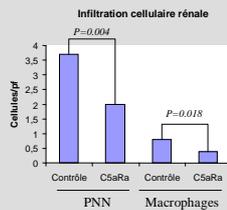
Exemple 1 : Néphrite Lupique

Modèle de LED humain :
souris MRL/lpr : FAN, hypocomplémentémie, atteinte rénale

- Inhibition activation C3/C5 : Réduction de l'atteinte rénale, augmentation de la survie,
- Augmentation de l'expression C5aR dans le rein parallèle avec l'atteinte
- Blocage du C5aR :



Bao, Eur J Immunol, 2005, 35, 2496



Exemple 2 : Epidermolyse bulleuse auto-immune



Modèle : transfert passif chez la souris par des anticorps anti-collagène VII

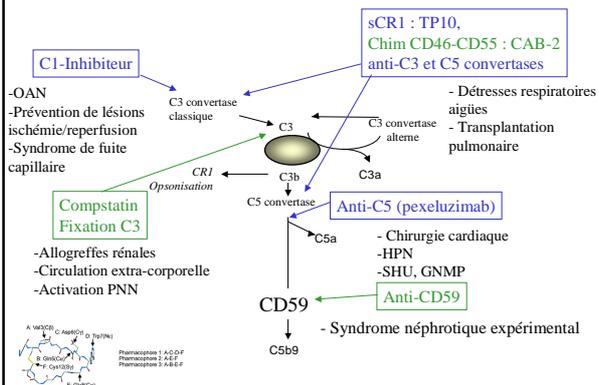
Résultats : Induction séparation derme-épiderme
dépôts locaux d'IgG et de C5b9
recrutement leucocytes, Pas d'induction par les Fab'2

Chez la souris C5^{-/-} :

- Pas de lésion cutanée,
- Dépôts locaux d'IgG mais pas de C5b9

Sitaru, J Clin Investig, 2005, 115(4), 870

Complément : cible de nouvelles thérapeutiques



Eculizumab et HPN (1):

Phase 3 : Essai contrôlé, randomisé, multicentrique.

2 Bras : - Ac monoclonal humanisé anti-C5
- Contre Placebo,

Dose : 1 IV 600mg/sem pendant 4 semaines puis 900mg/sem jusqu'à la semaine 26

End points : -Stabilisation Hémoglobémie
-Nombre de culots globulaires
+ : Signes biologiques d'hémolyse (LDH), Score de Fatigue

87 patients inclus

Hillmen, NEJM, Sept 2006, 355, 12, 1233

Eculizumab et HPN (2):

Stabilisation de l'Hb en absence de transfusion chez 21/43 (49%)
 versus 0/44 (p<0.001)
 Médiane de culots globulaires administrés : anti-C5 : 0
 Placebo : 10 (p<0.001)

