

# 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<sup>i</sup>è<sup>m</sup> 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**

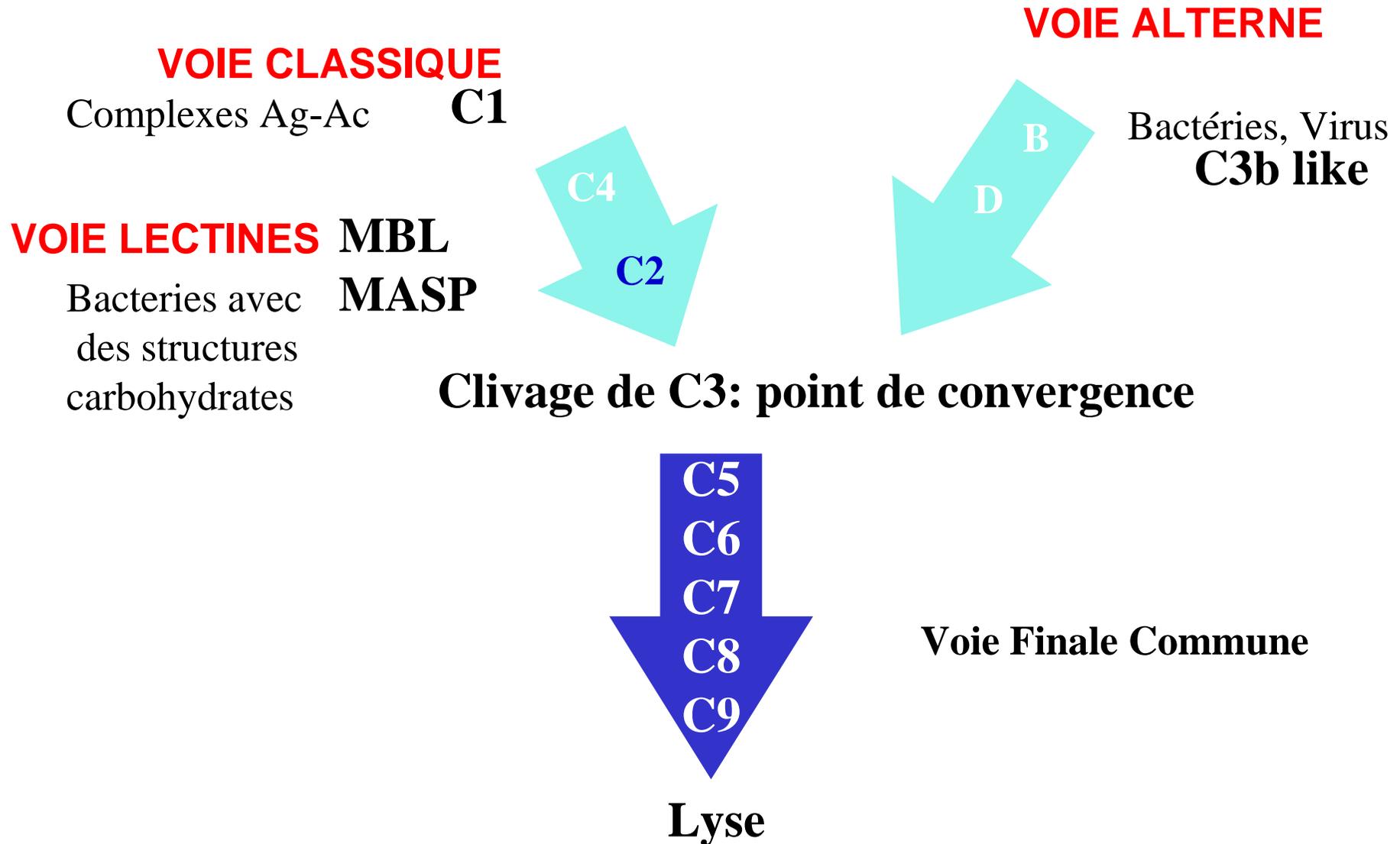
# Rôles du Complément

---

- **Mécanismes de défense contre l'infection**
  - Lyse des agents infectieux (composants C5 à C9 formant les complexes d'attaque de la membrane: activité cytolytique)
  - 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 d'activation

---



# Activateurs de la voie classique

---

- **Fc des immunoglobulines complexées**

IgG1, IgG2, IgG3, IgM (domaine C $\gamma$ 2, C $\mu$ 4)

- **Activateurs non immuns**

LPS

Virus ARN

Souches de salmonelles, E. Coli, Neisseria

Membranes mitochondriales

Acides nucléiques

Complexes héparine-protamine

C- Réactive Protéine

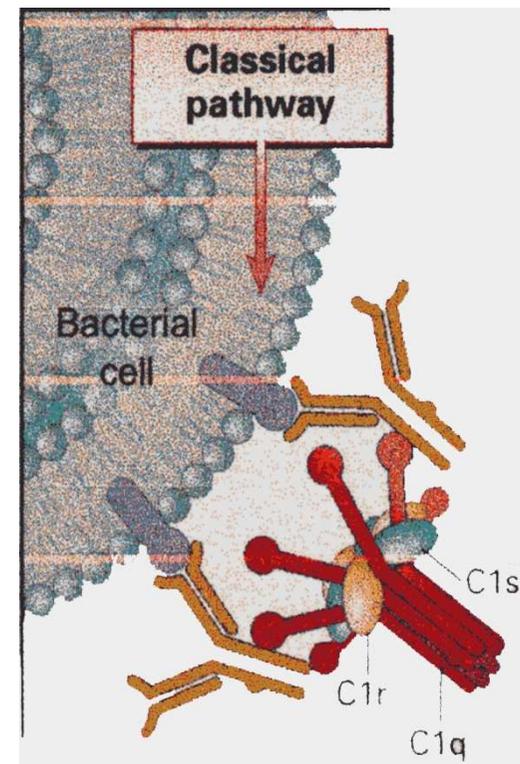
Protéines d'enveloppe virales (VIH, EBV)

# Activation de la voie classique et C1

---

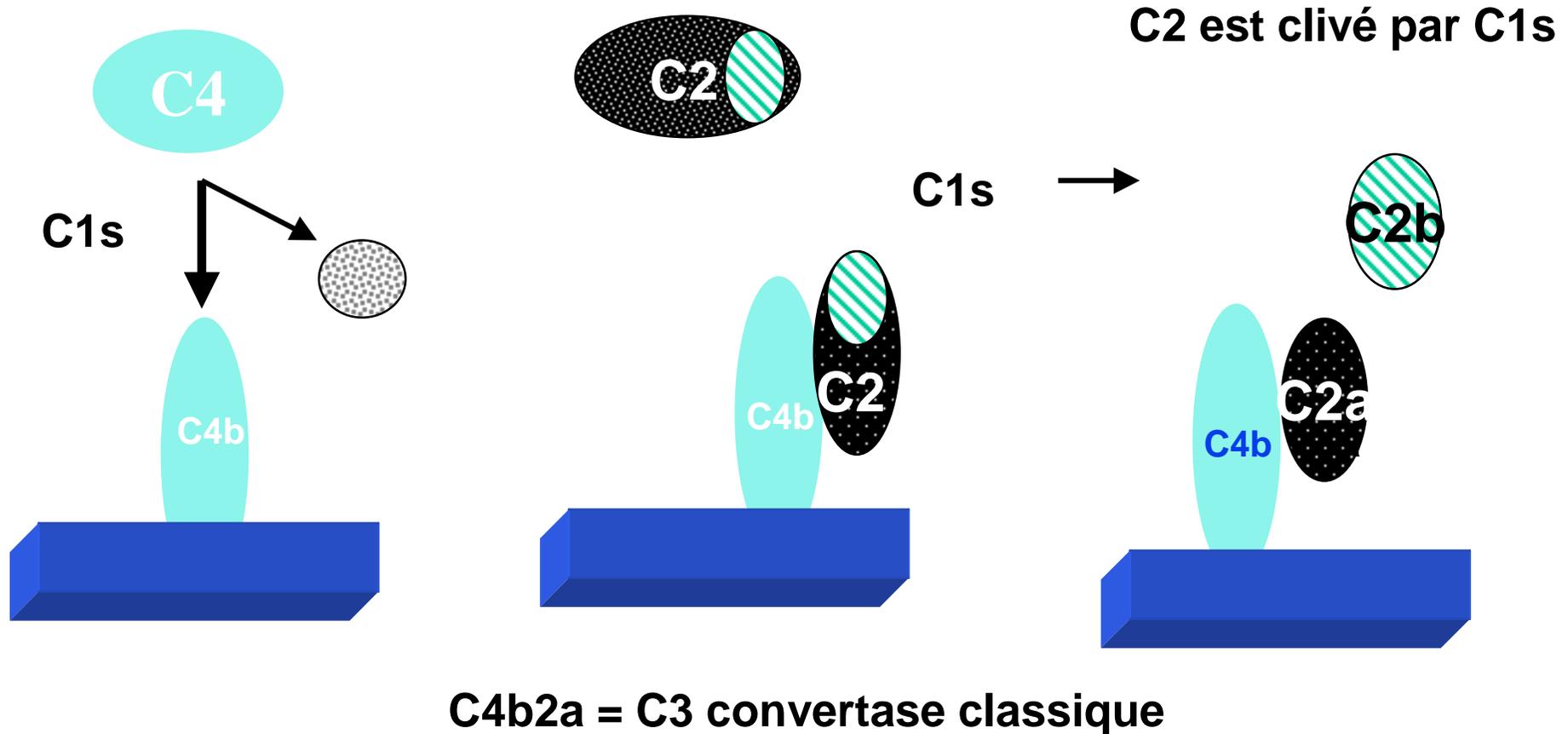
- Première molécule activée
- Complexe macro-moléculaire comprenant une protéine C1q et un tétramère (C1r)<sub>2</sub> (C1s)<sub>2</sub>

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



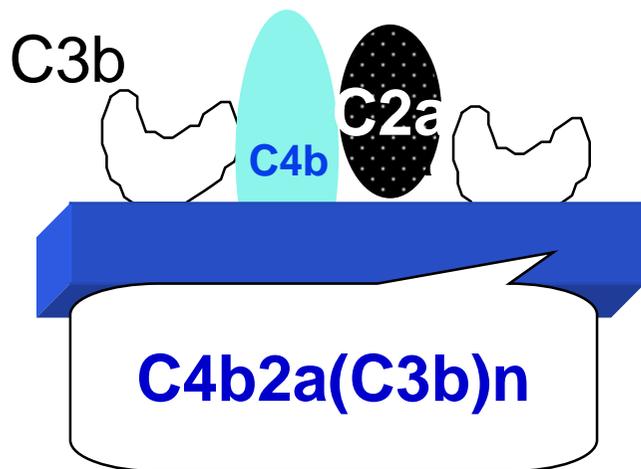
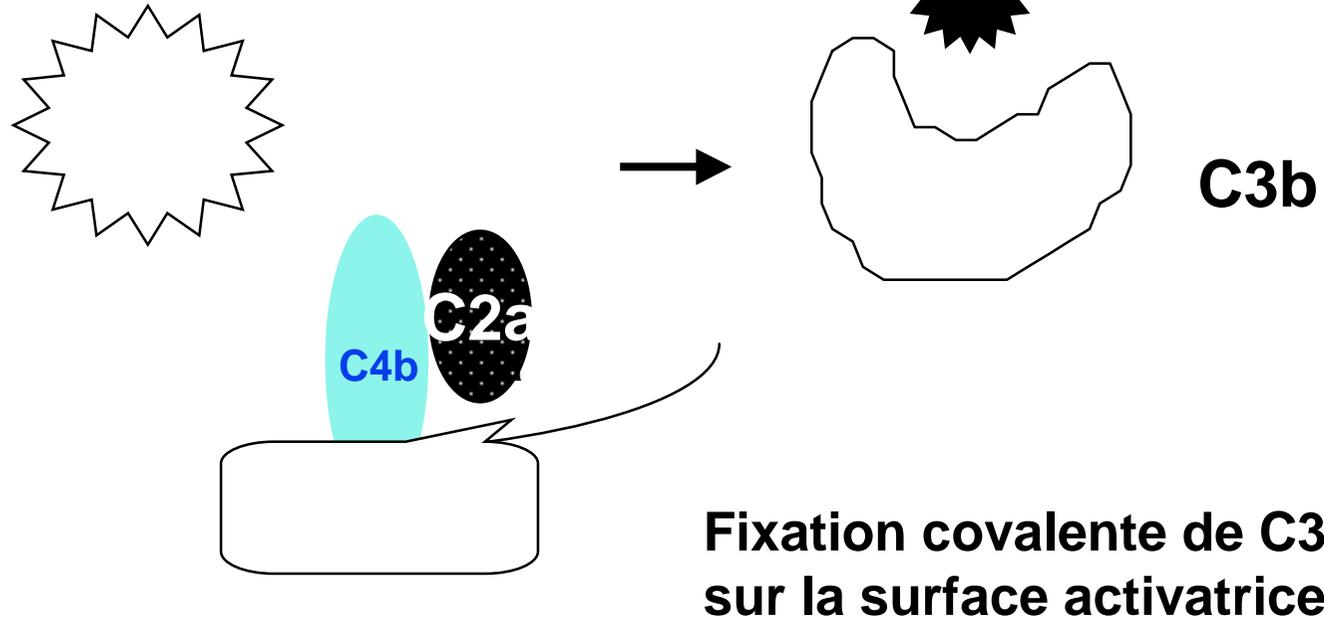
# Formation de la C3 convertase classique

---



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

## Clivage de C3



**Formation de la C5 convertase classique : Permet la formation du complexe lytique**

# 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

---

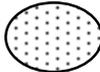
- Structures polysaccharidiques de:  
**bactéries, virus, cellules transformées, surfaces artificielles dont la composition chimique favorise l'assemblage de C3b, B au détriment de C3b, H**
- La voie alterne est activée en l'absence d'Ac  
**Mécanisme de défense naturelle qui a précédé l'apparition des 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

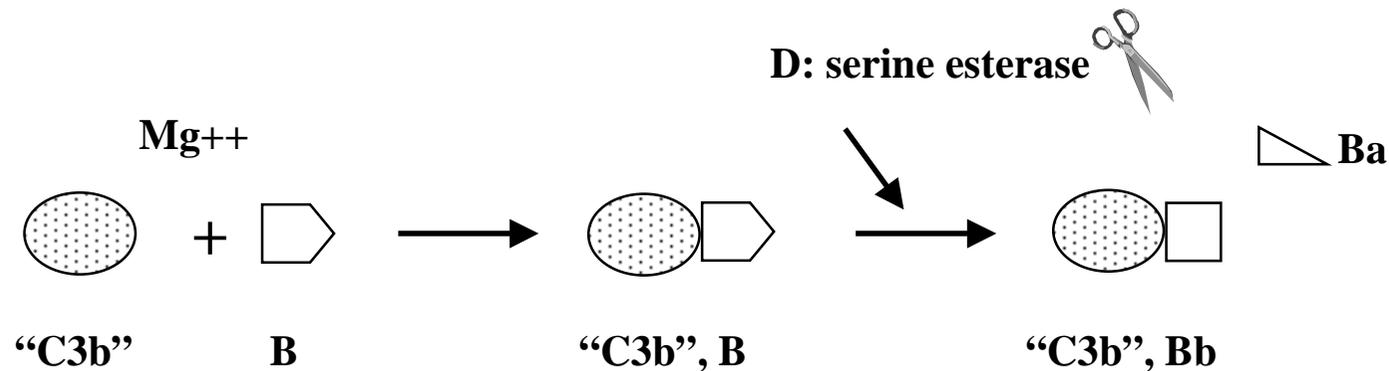
# C3 convertase alterne

---

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

- C3 convertase initiale en phase fluide dans le plasma

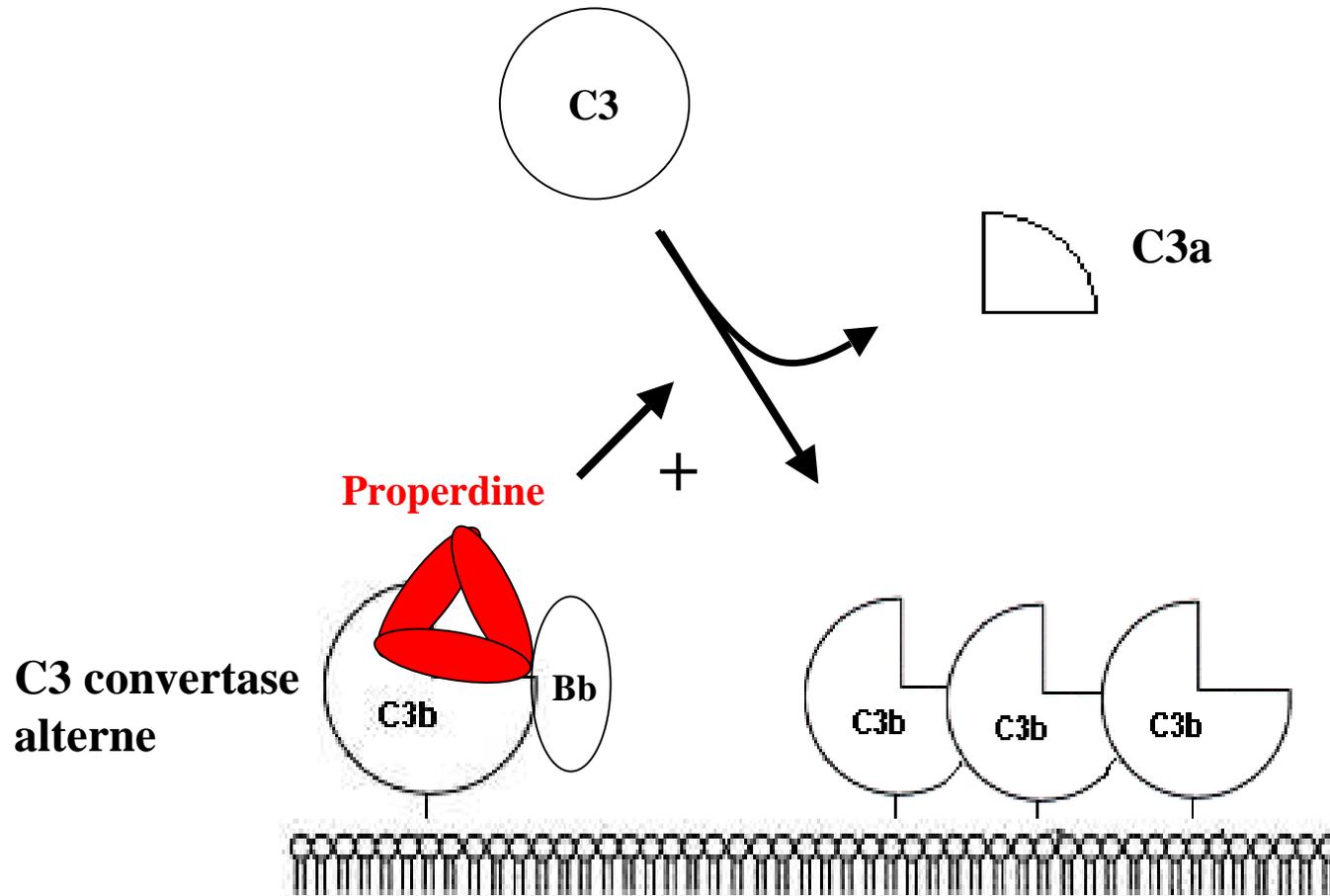
Hydrolyse spontanée du pont thiolester  $\longrightarrow$  "C3b like molécules" 



- 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

---

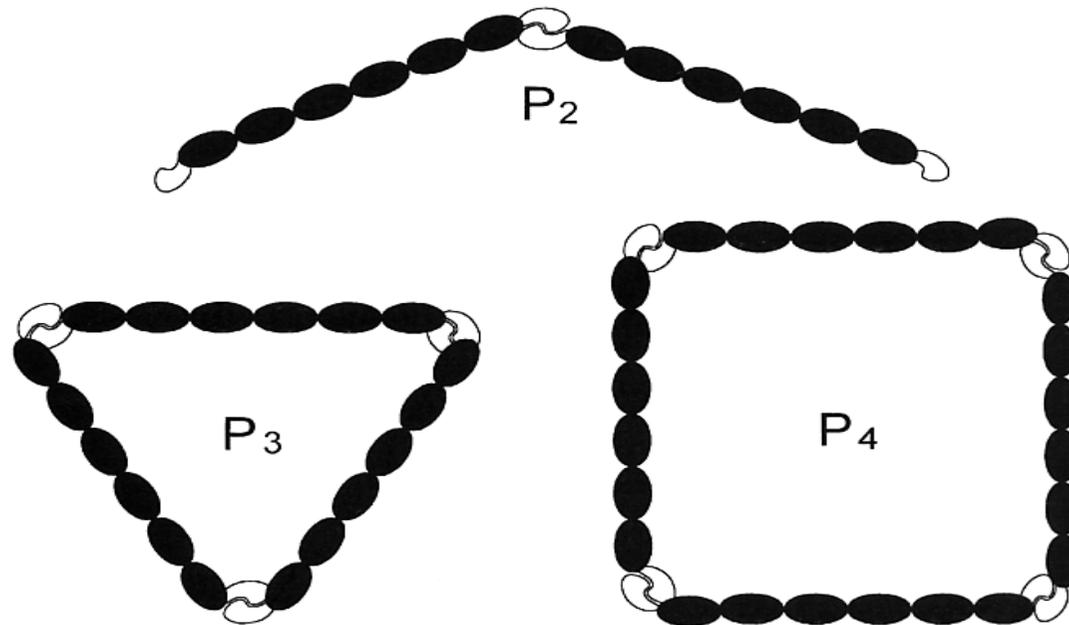


Demi-vie C3 convertase x 3 ou 4

Protection du clivage par le facteur I

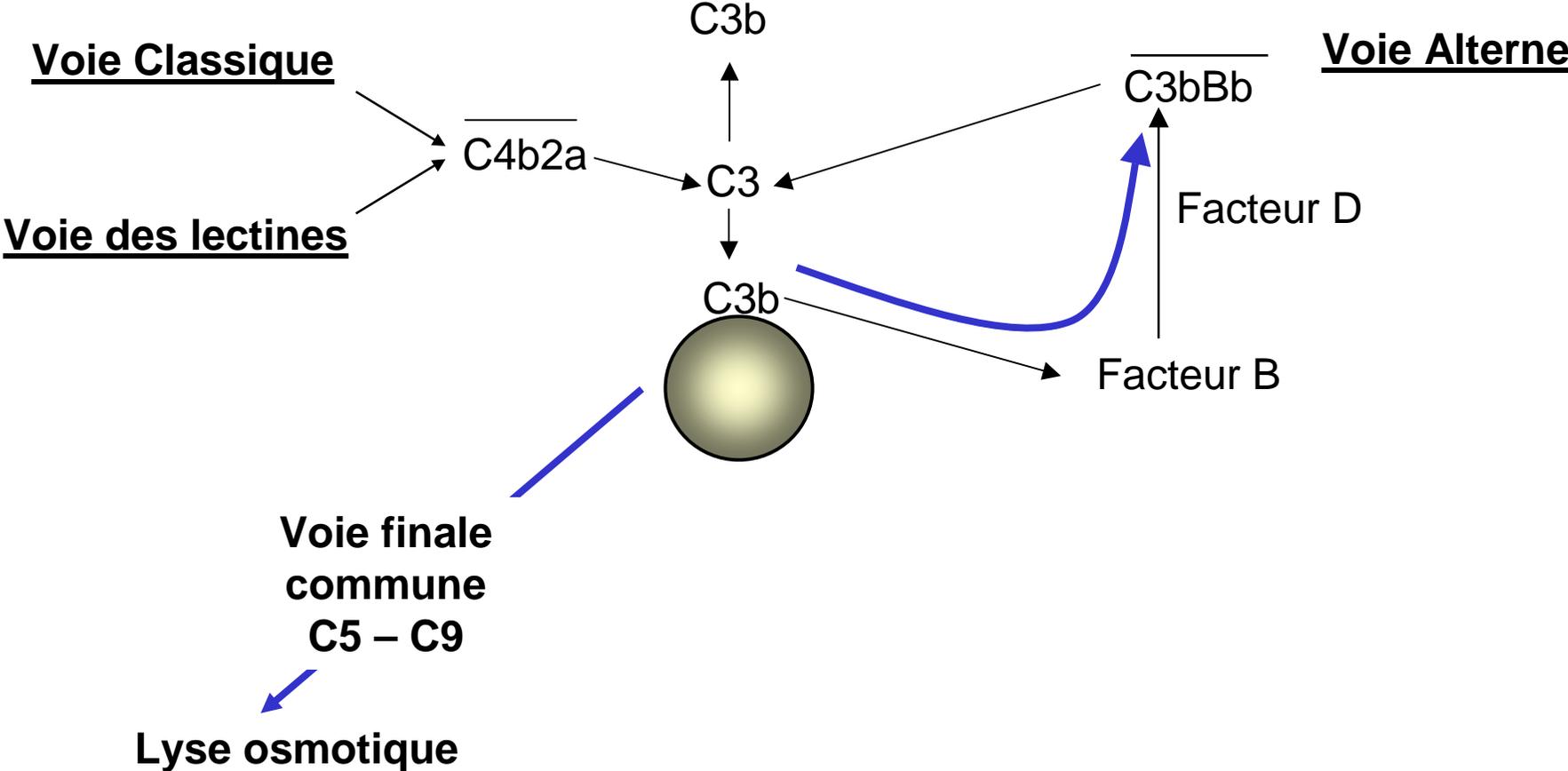
# Formes oligomériques de la properdine

---



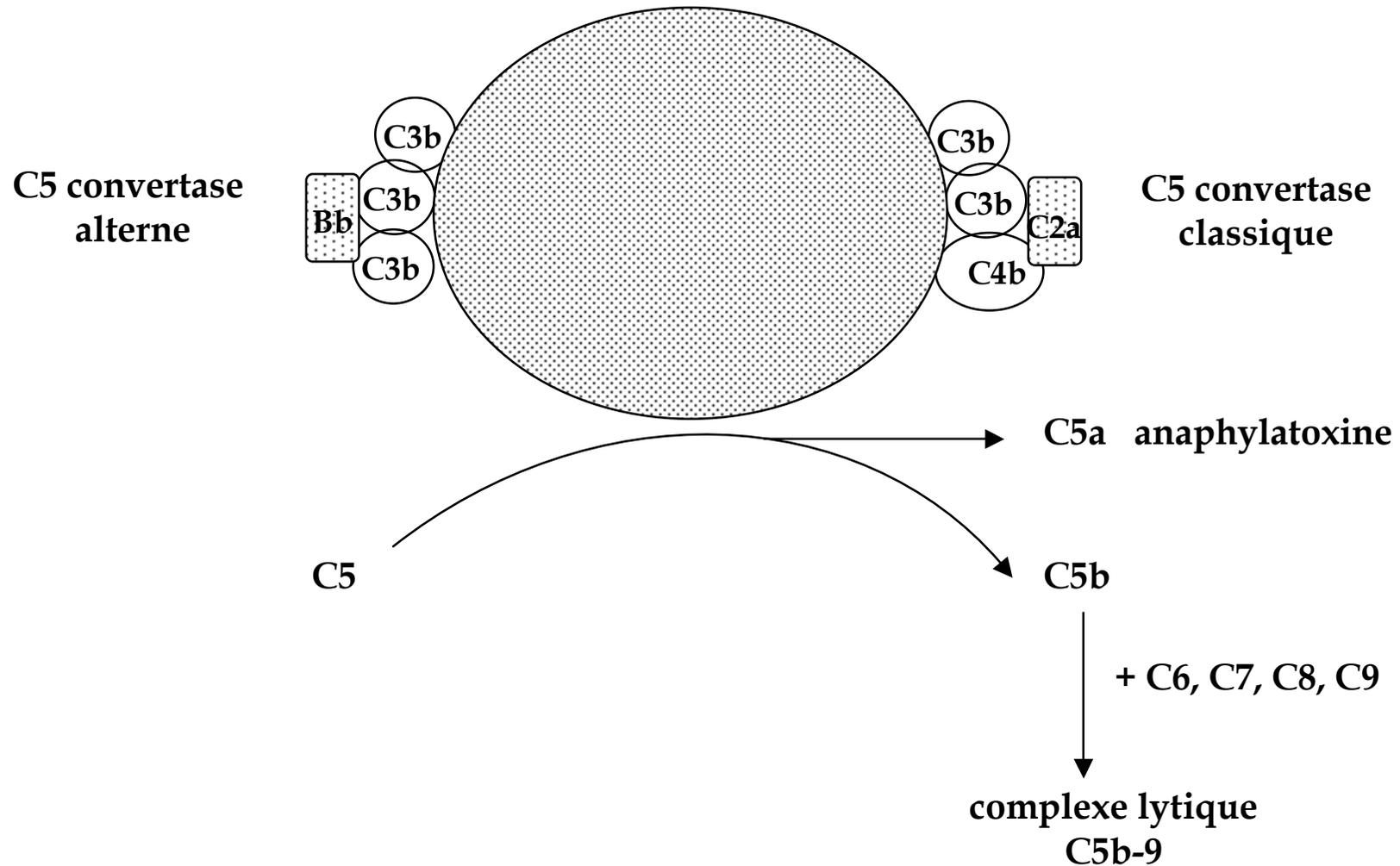
10 fois plus active que la forme dimérique

# LE SYSTEME DU COMPLEMENT



# Clivage de C5 par les C5 convertases

---



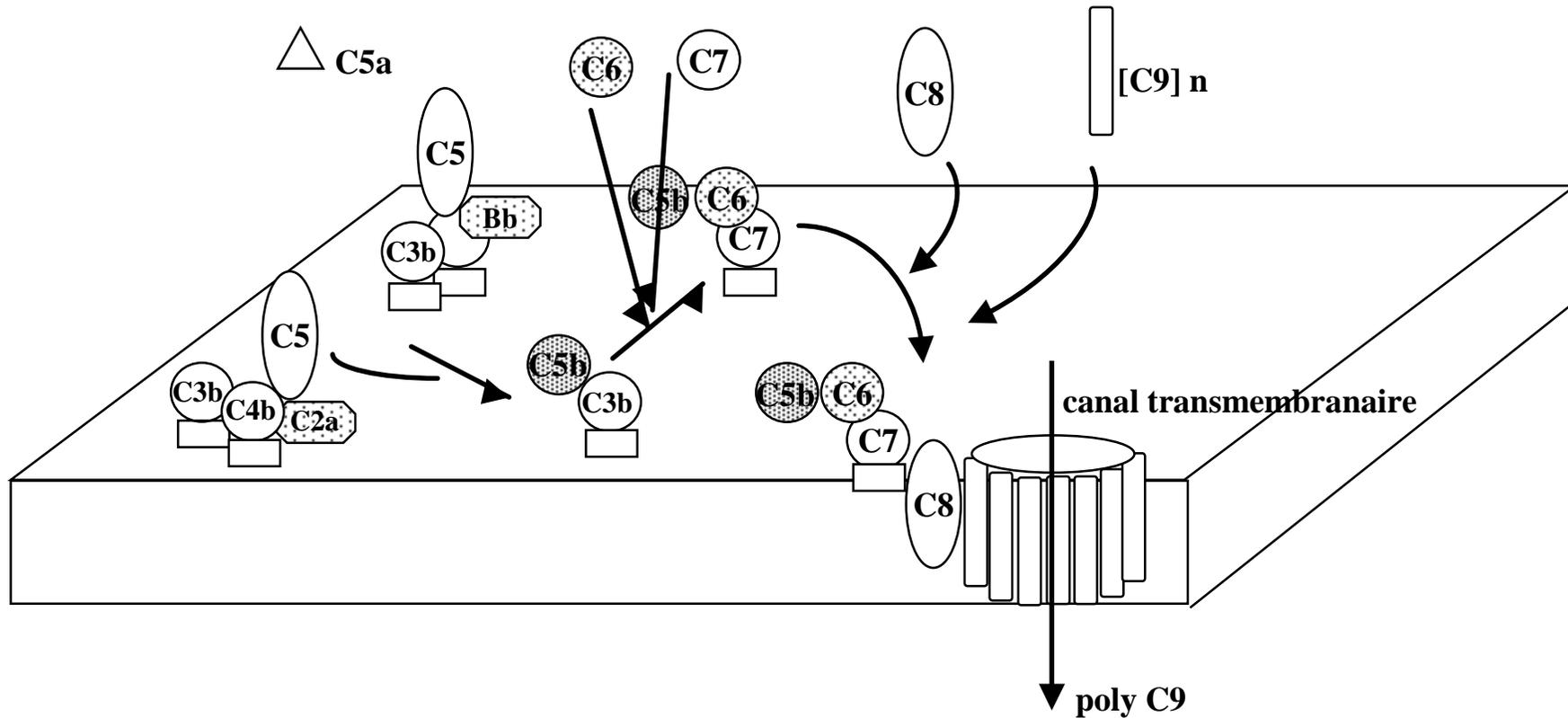
# Voie finale commune

## 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



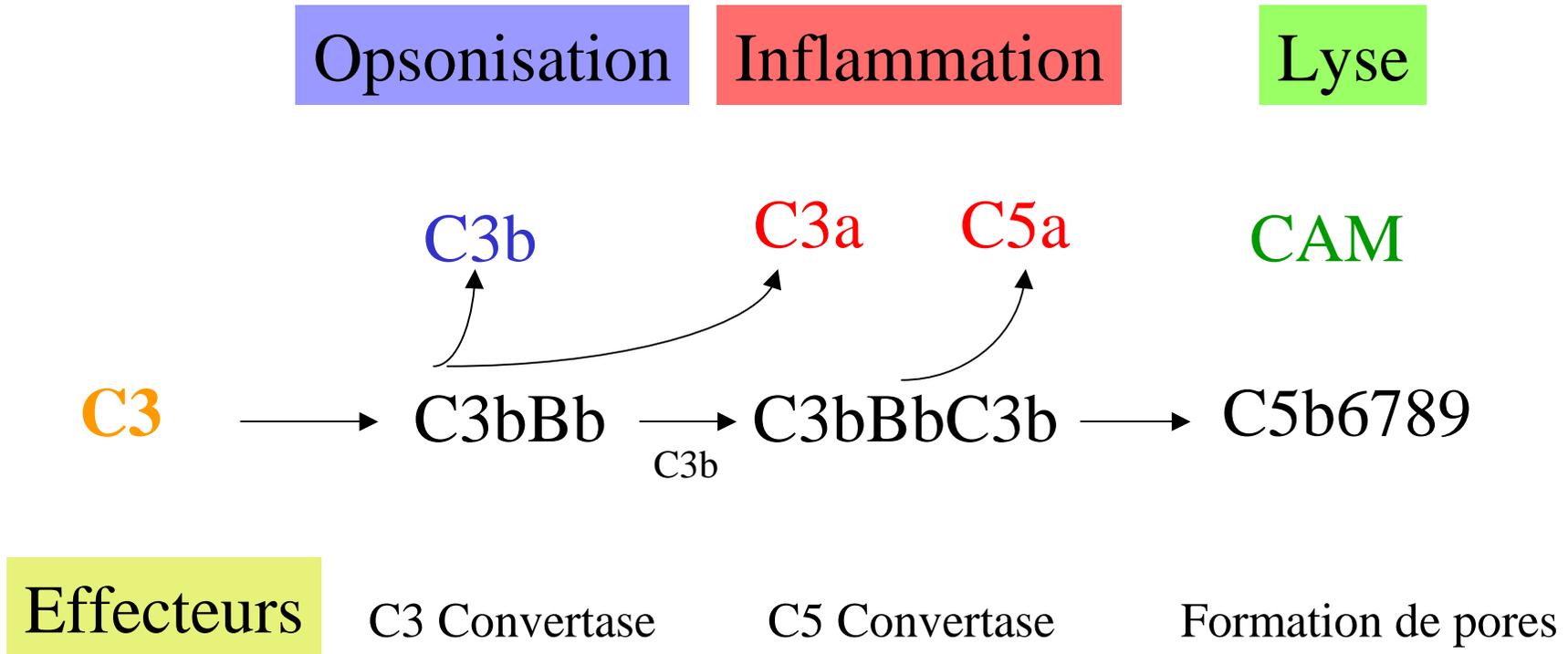
**C5 convertases**  
C4b, C3b, 2a  
C3b, Bb, C3b

**complexe d'attaque  
membranaire (MAC)**  
mC5b-9

**inhibiteurs du MAC**  
protéine S ou vitronectine  
CD59 (HRF)

# Les principales fonctions du Complément

---

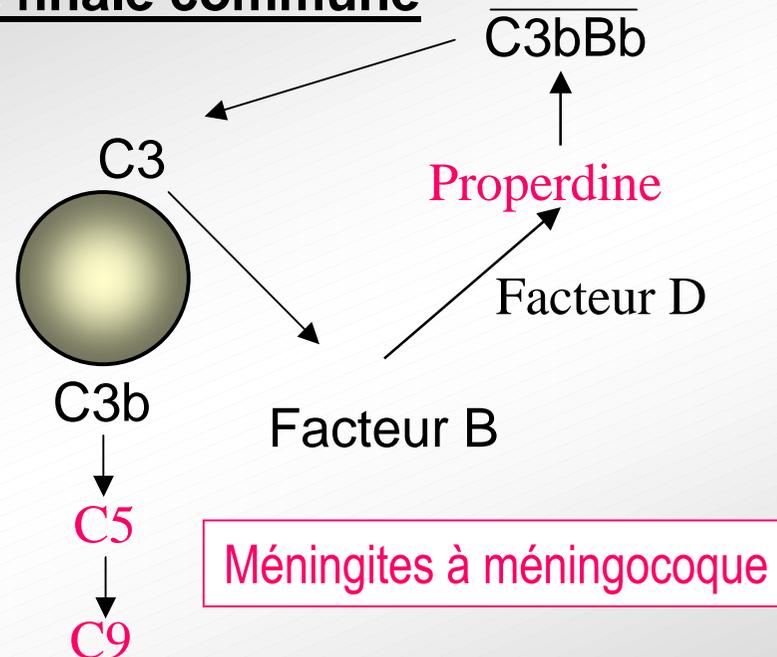


# Rôles du Complément

---

- **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

## Voies Alterne et finale commune



Recherche d'un déficit indispensable quand :

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

# 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 :



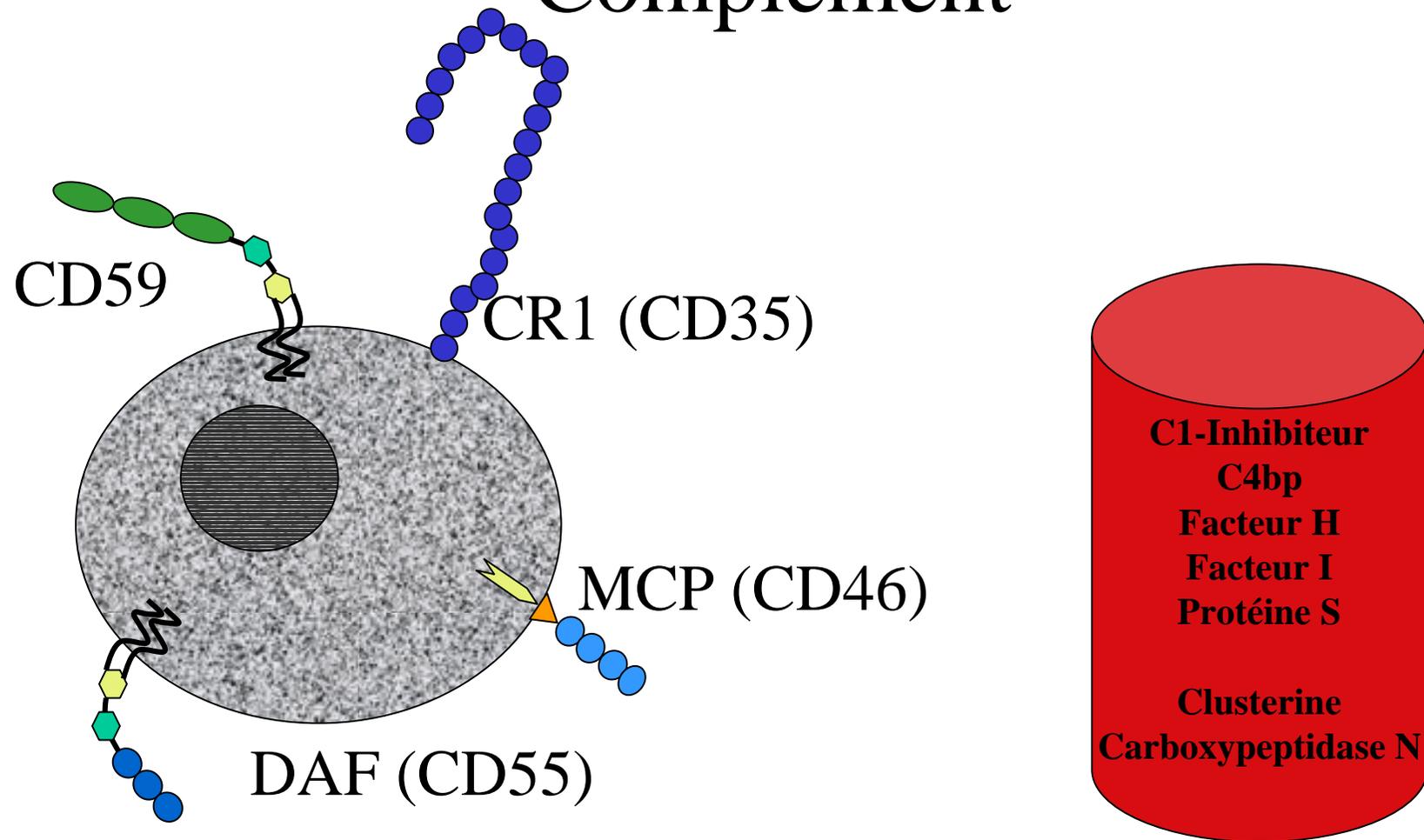
Déficit de type 1 (complet): Protéine indétectable. Test fonctionnel effondré.

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 +++

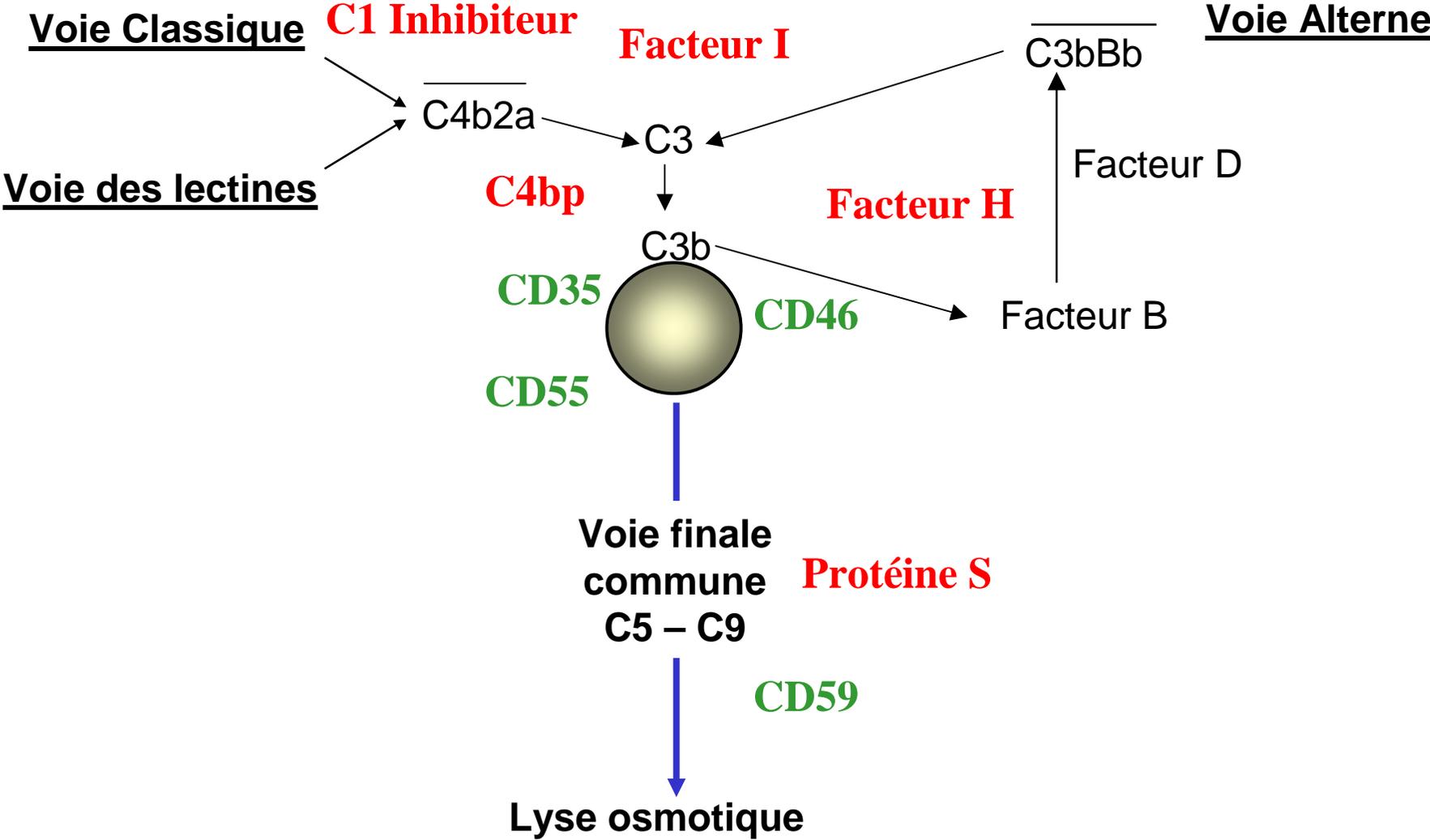
# Régulation du système du Complément



Régulateurs cellulaires

Régulateurs sériques

# LE SYSTEME DU COMPLEMENT



# Régulation de l'activation de la voie classique :

## Régulation au niveau du C1 :

### C1 Inhibiteur

---

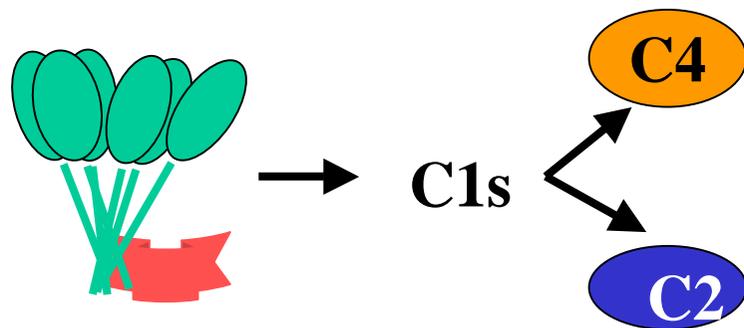
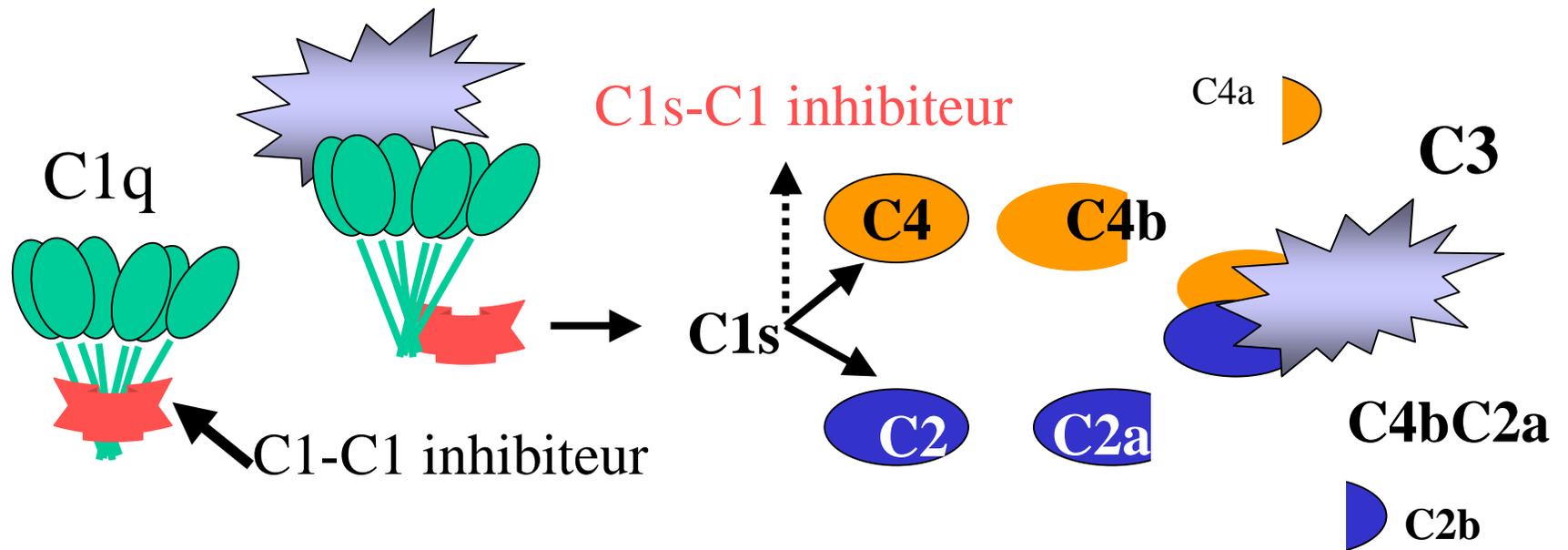
- **Inhibiteur spécifique et exclusif du C1r et du C1s :**
  - ✓ Protéine de régulation de la voie classique du complément.
- **Inhibiteur des protéases à sérine** qui génèrent les kinines: kallikreine et les facteurs de la coagulation XI et XII.
  - ⇒ Contrôle de la voie endogène de la coagulation,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

# C1 inhibiteur

## (Inhibiteur de la C1 estérase )

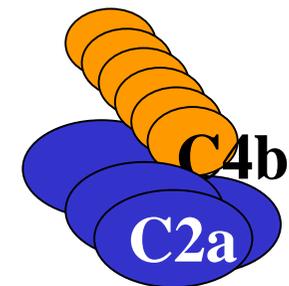
---

- 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 serpines (molécules inhibitrices de protéases à sérine)
- chr 11q11-13.2



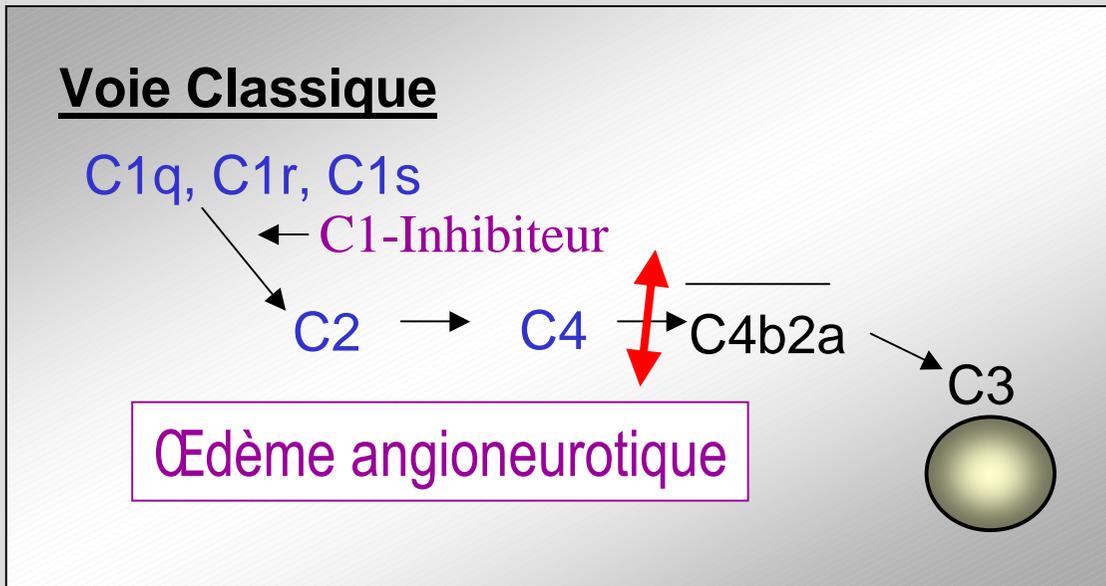
Auto-activation spontanée de C1 :  
 clivage permanent de C4 par C1s,  
 ± clivage de C2

Impossible de former  
 une C3 convertase  
 classique en  
 absence de surface  
 activatrice  
 C3 antigénique normal.



# 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:

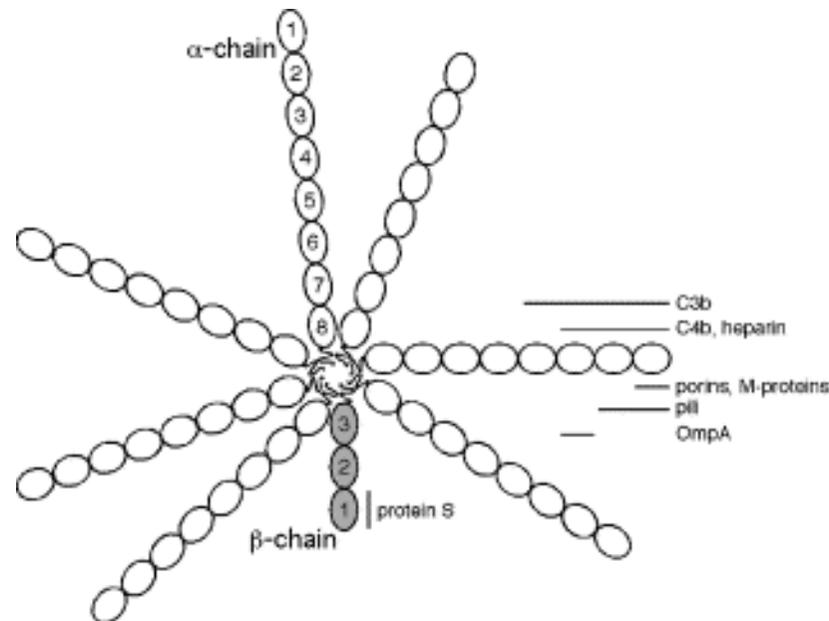
- augmentation de la perméabilité vasculaire révélée par perfusion de bleu evans
- Normalisation après traitement par C1 inhibiteur, DX88 (kallikrein inhibiteur) et par le récepteur antagoniste à la bradykinine de type 2
- Augmentation après traitement par Captopril
- C1 inh-/- et Bk2R -/-: régression 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  $\alpha$  et 1 chaîne  $\beta$  ( $\alpha_6\beta_1, \alpha_7\beta_1, \alpha_7\beta_0$ )
- Fixation de la protéine S sur la chaîne  $\beta$ ,

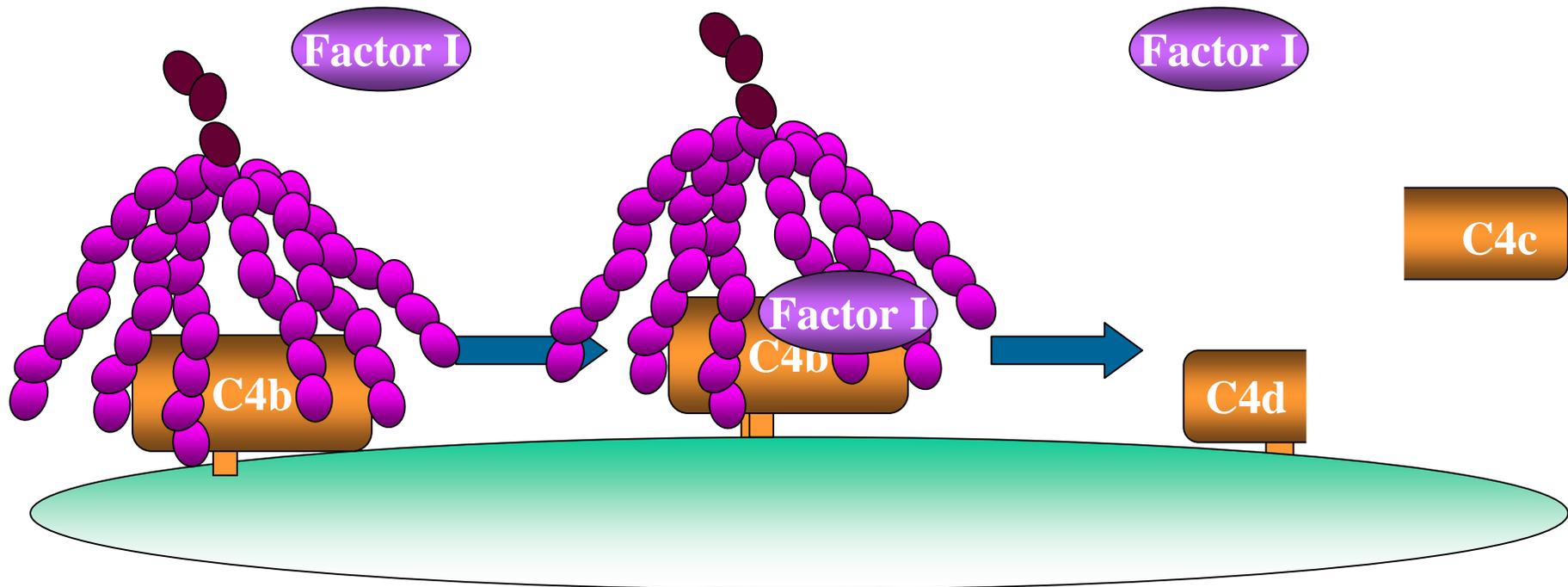


# C4BP :

## 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

---

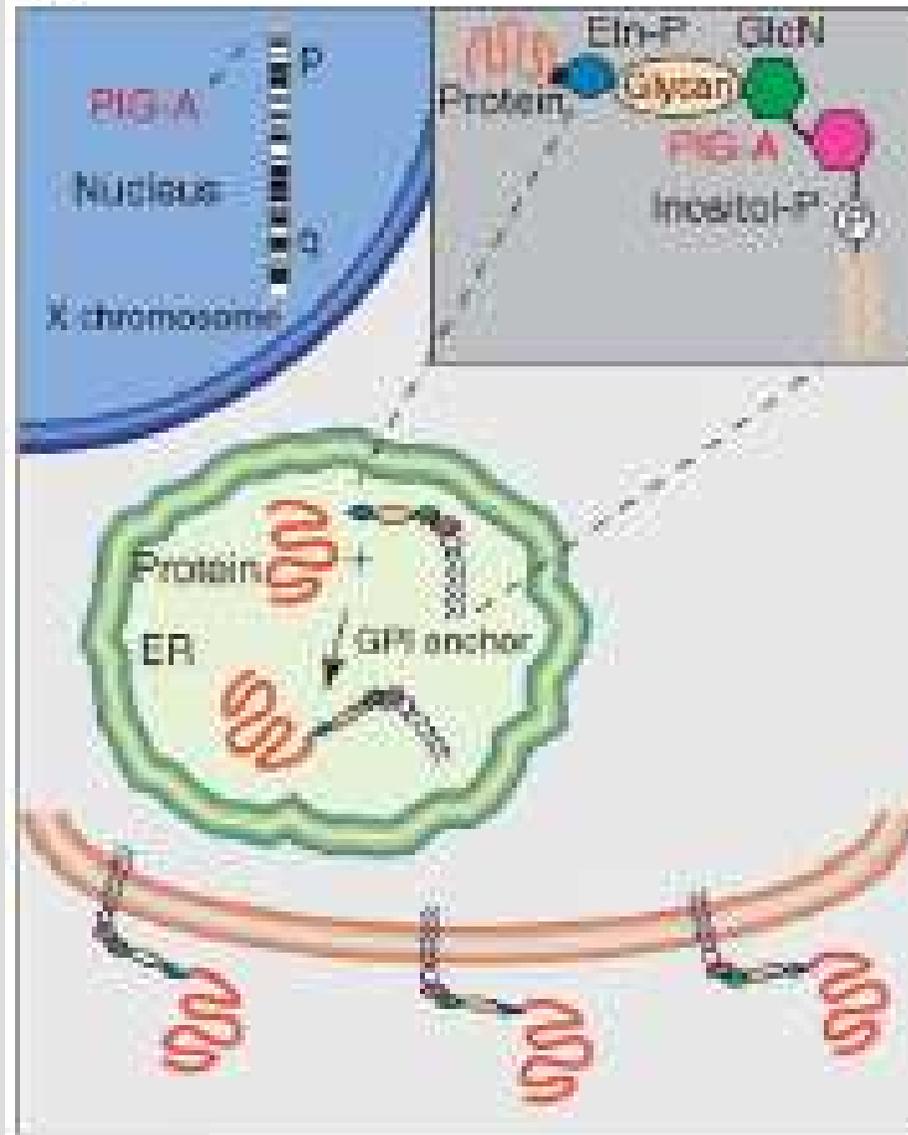
- Vitronectine/ protéine S :
  - Liaison à C5b-7, C5b-8 et C5b-9
  - Préviens la formation du complexe d'attaque à la membrane.
- CD59 :
  - Protéine liée aux lipides membranaires, par une ancre GPI.
  - Empêche la liaison de complexes C5b-8 autologues ou homologues à la membrane.
  - Exprimée sur toutes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

# Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne

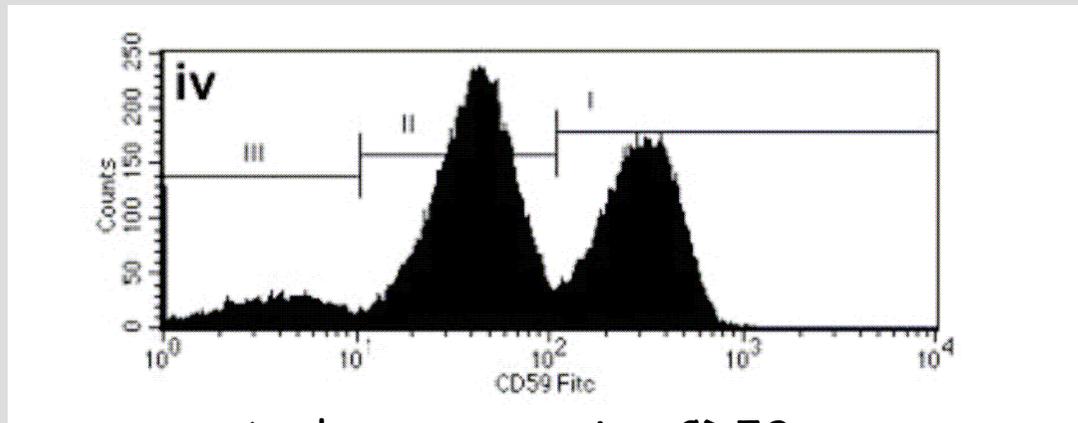
---

- **Déficit acquis et somatique de la lignée hématopoïétique** en molécules ancrées dans la membrane par un glycolipide (ancre 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**

(a)

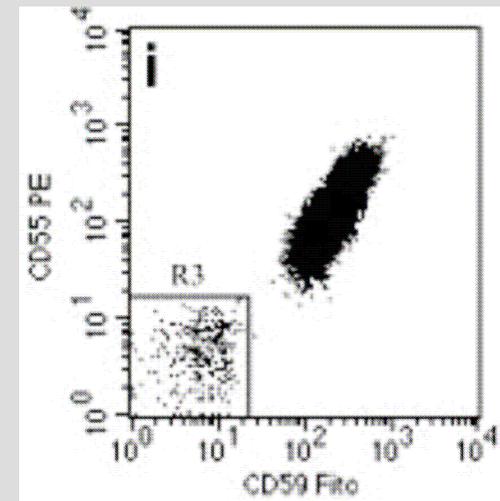


Normal cell



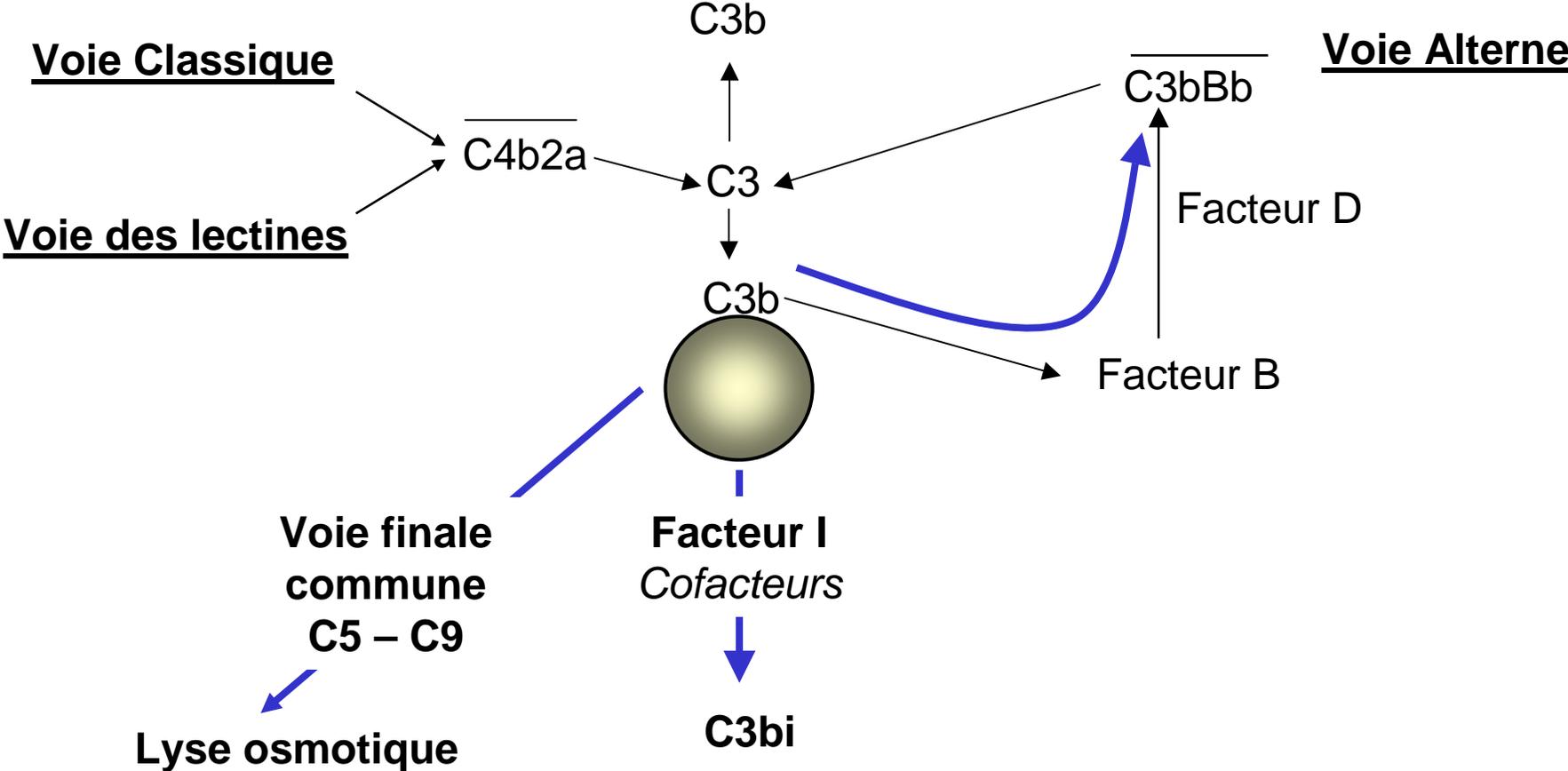
Analyse expression CD59

Expression CD55 et CD59

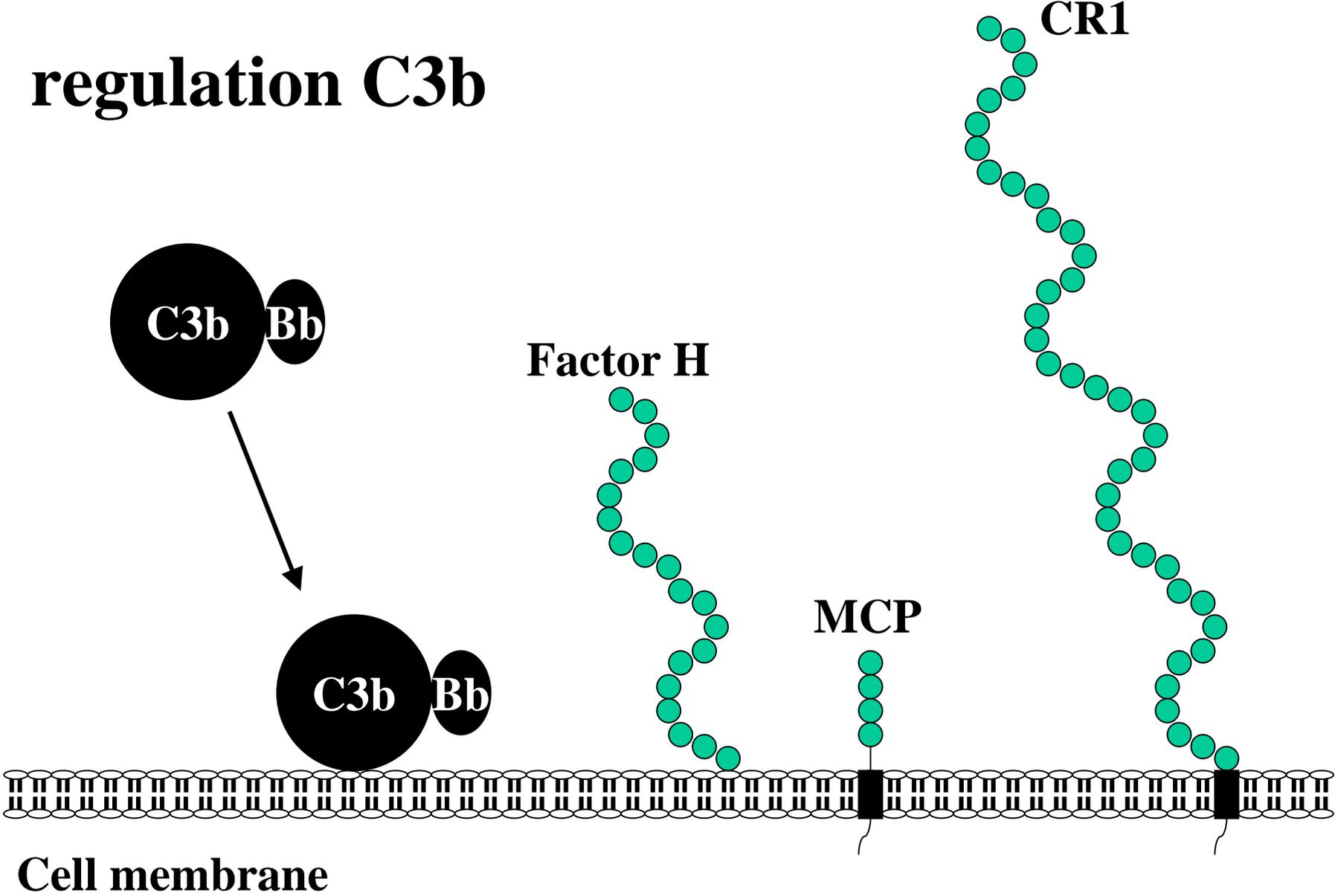


CMF sur hématies (d'après Parker et al, Blood, Dec 2005)

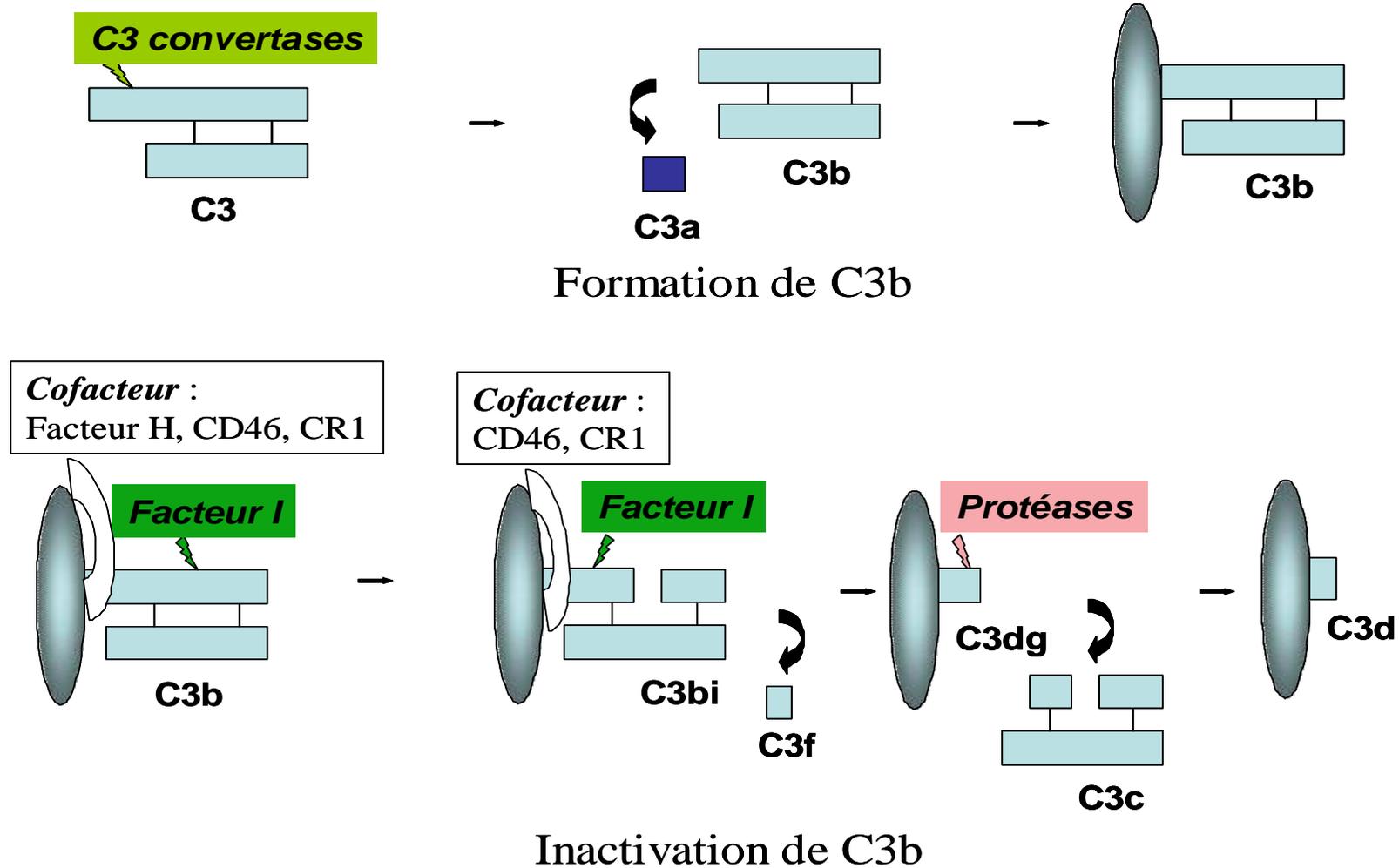
# LE SYSTEME DU COMPLEMENT



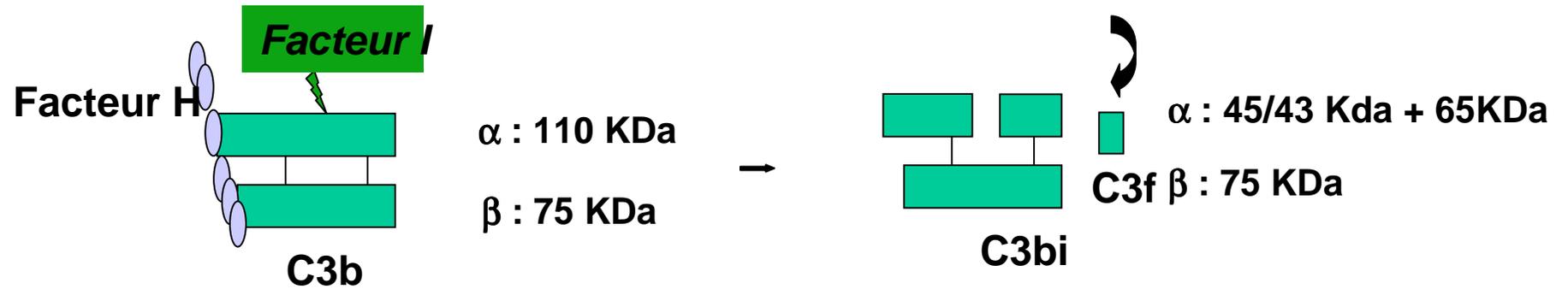
# regulation C3b



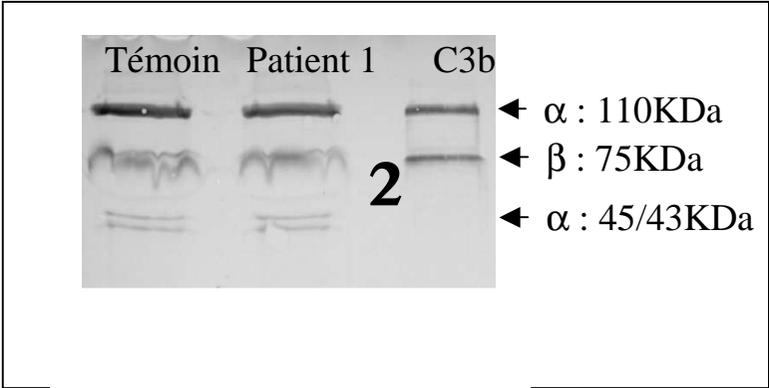
# Inactivation de C3b par le Facteur I



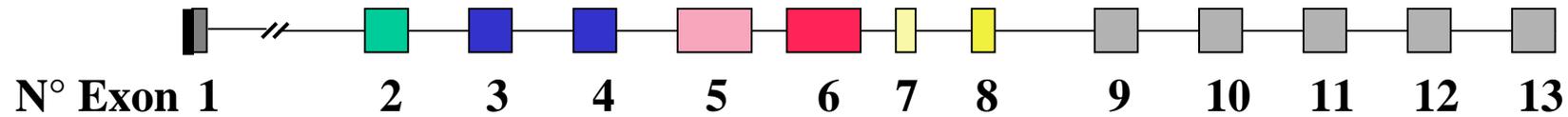
## Etude de la fonction cofacteur du Facteur I



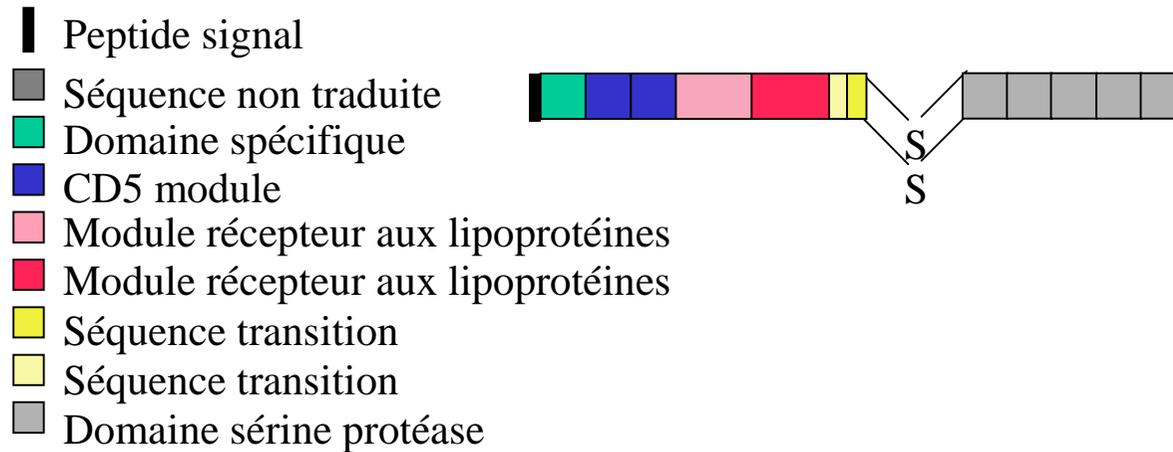
**C3b Biotinylé + Facteur H + Facteur I + IgG anti-Facteur H : 1 heure 37°C, SDS Page**

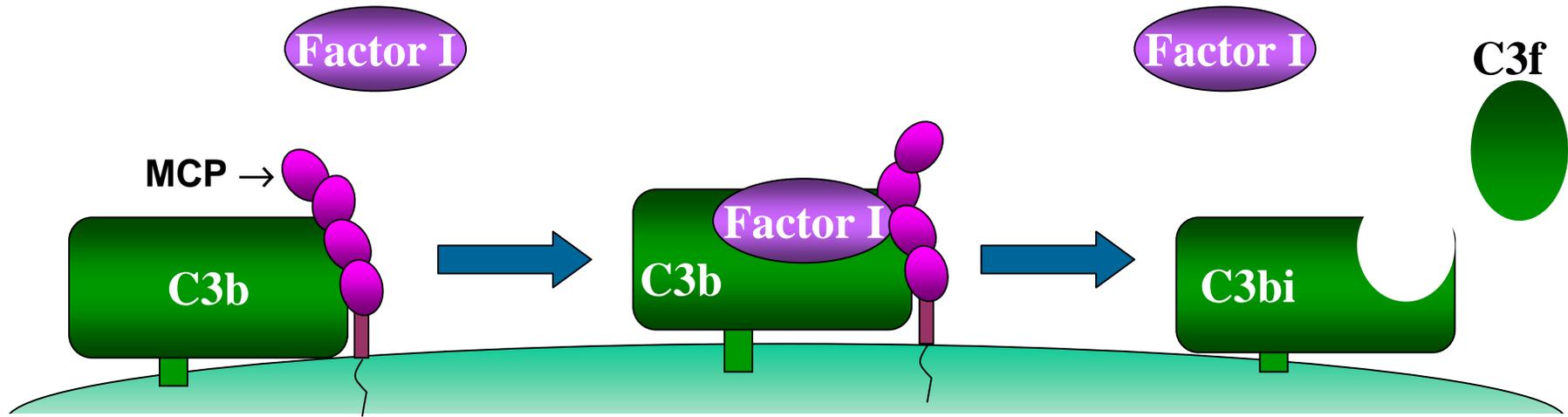


## Organisation génétique et protéique du Facteur I

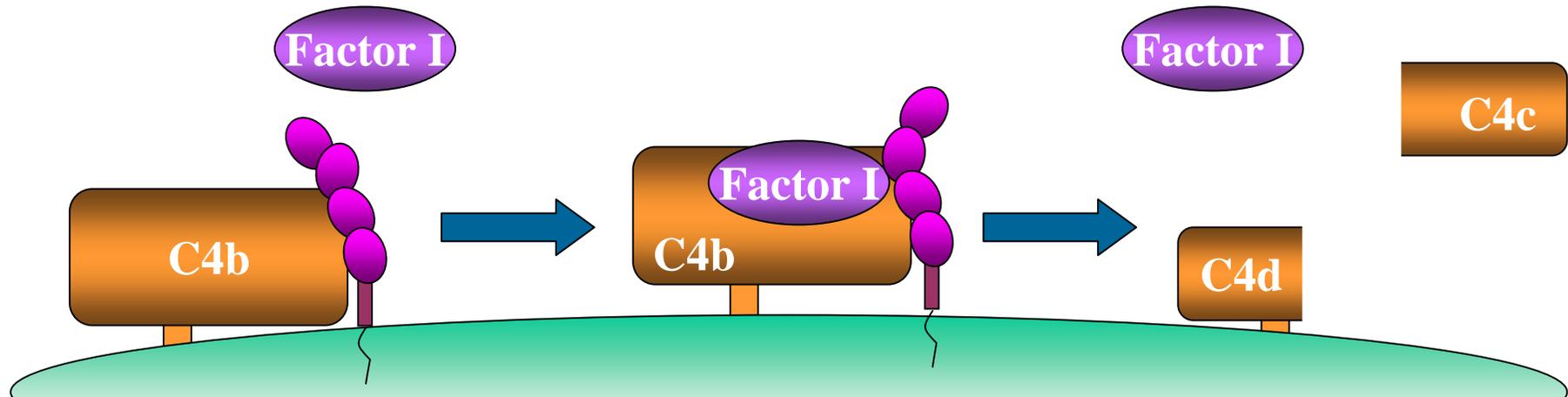


4q25, 63 kb





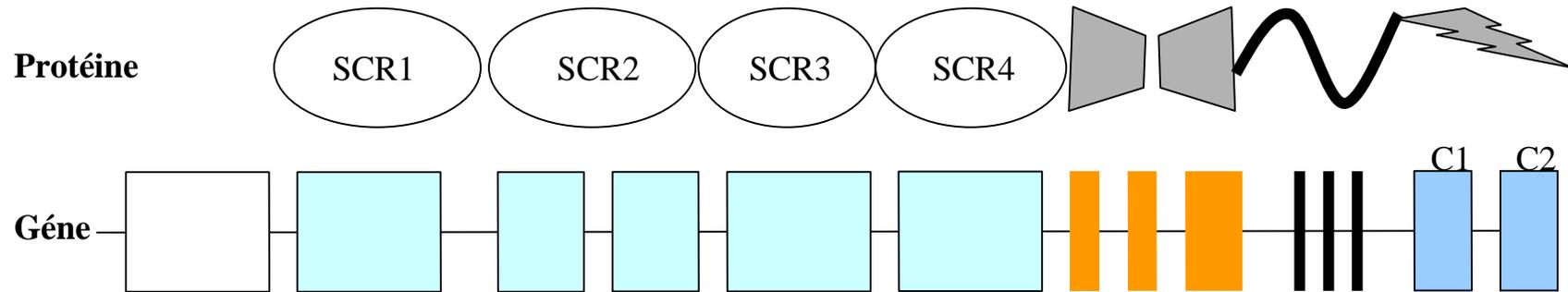
Inactivation de C3b : cofacteurs : MCP (CD46), FH, CR1



Inactivation de C4b : Cofacteurs : MCP (CD46), C4bp, CR1

# Membrane Cofactor Protein, CD46

---



Gène : Locus RCA

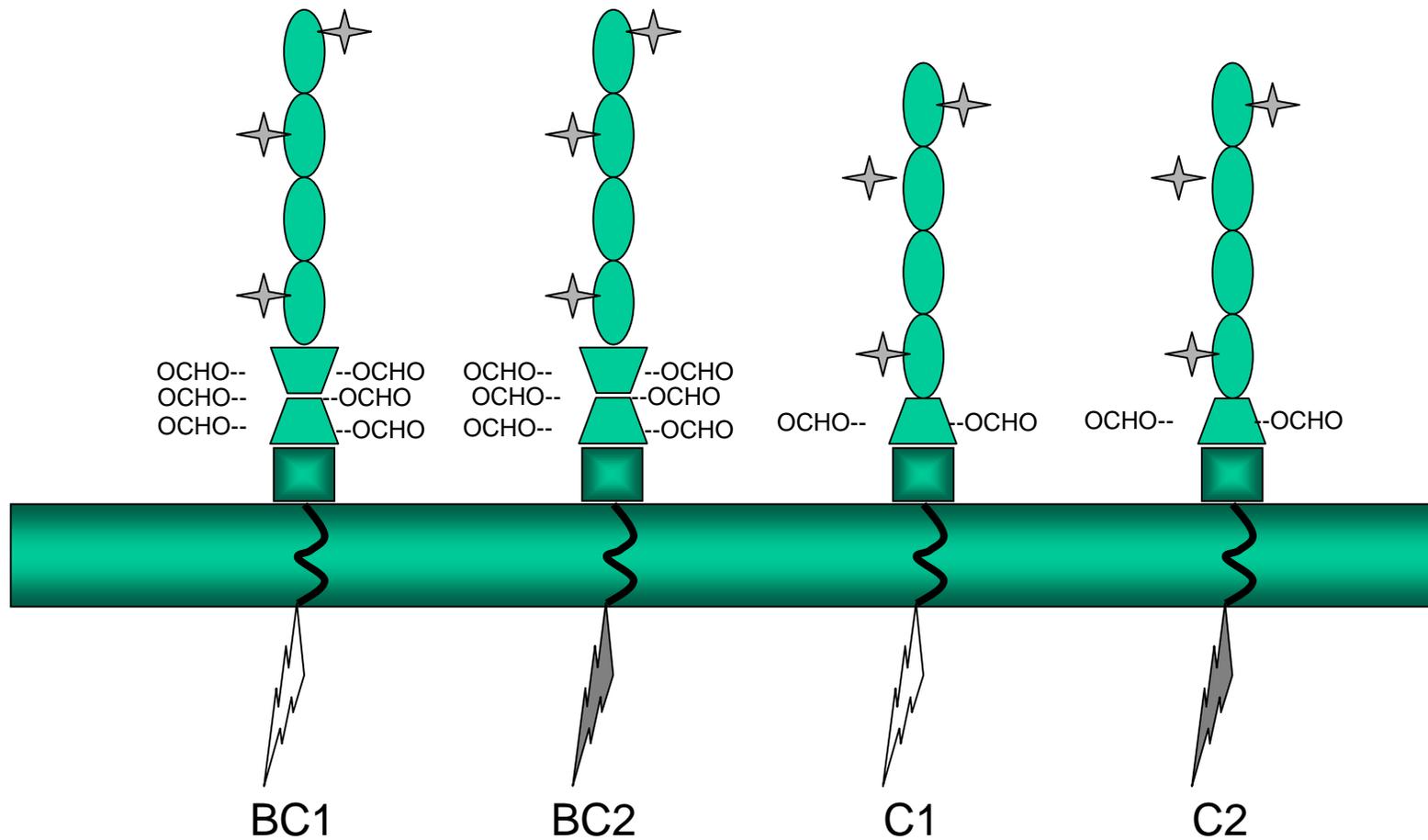
14 exons, 43Kb

Protéine : Poids moléculaire entre 48-68 Kda

Plusieurs isoformes

(épissage alternatif région STP et segment intracytoplasmique)

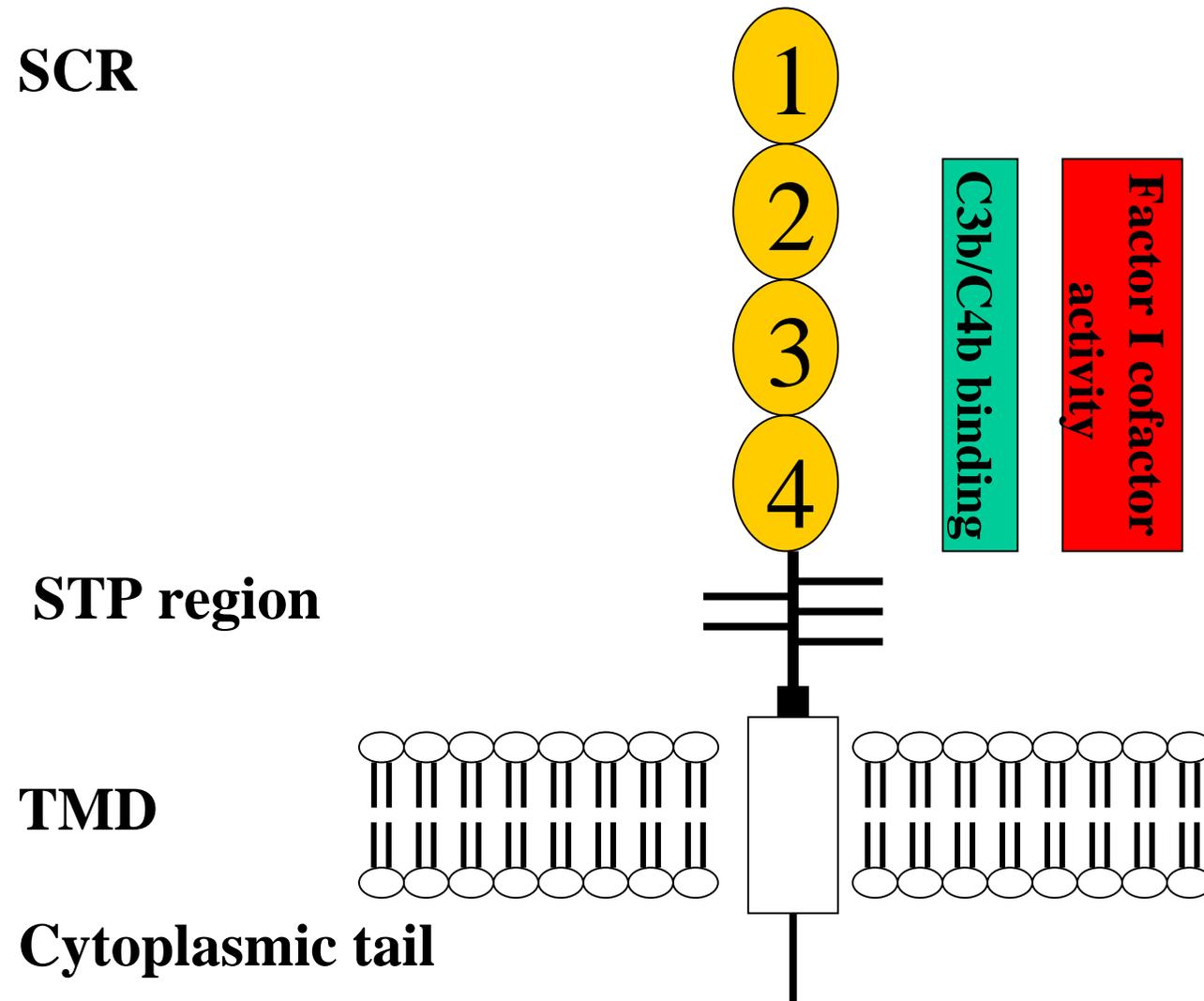
Expression ubiquitaire sauf hématies



-  SCR
-  STP domaine de type B (VSTSSTTKSPASSAS)
-  Segment juxtamembranaire
-  Domaine intracytoplasmique de type C1 (***RYLQRRKKKG***TYLTDETHREVKFTSL)
-  Domaine intracytoplasmique de type C2 (***RYLQRRKKKG***KADGGAEYATYQTKSTTPAEQRG)
-  Site de N-glycosylation
-  STP domaine de type C (GPRPTYKPPVSNYP)
-  Domaine transmembranaire
-  OCHO- Site de O-glycosylation

# Structure de MCP et régulation du Complément

---



# Facteur H : Régulation de la voie alterne

---

- **Initiation de la C3 convertase alterne**

Compétition avec le Facteur B pour la fixation de C3b

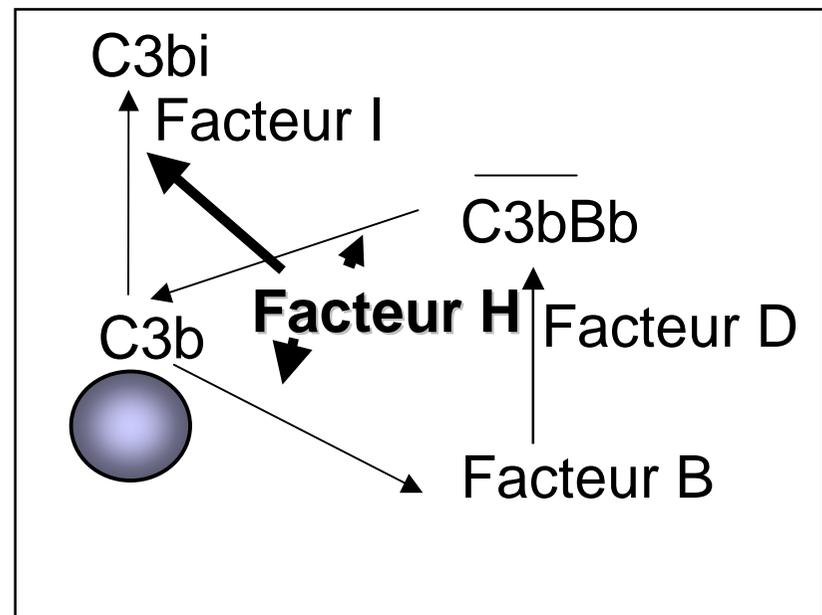
- **Dissociation de la C3 convertase alterne**



- **Activité cofacteur du Facteur I:**

Inactivation de C3b :

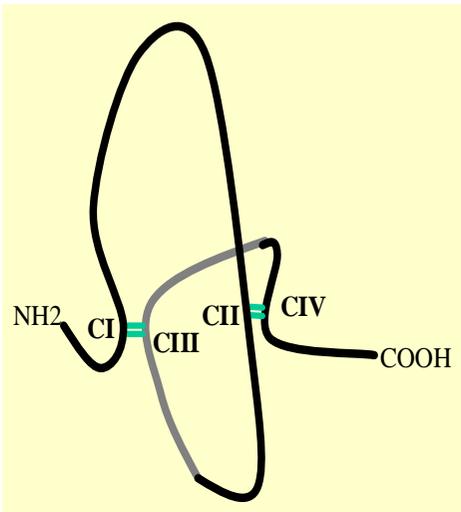
protéolyse enzymatique de C3b en C3bi,



# Facteur H : la protéine

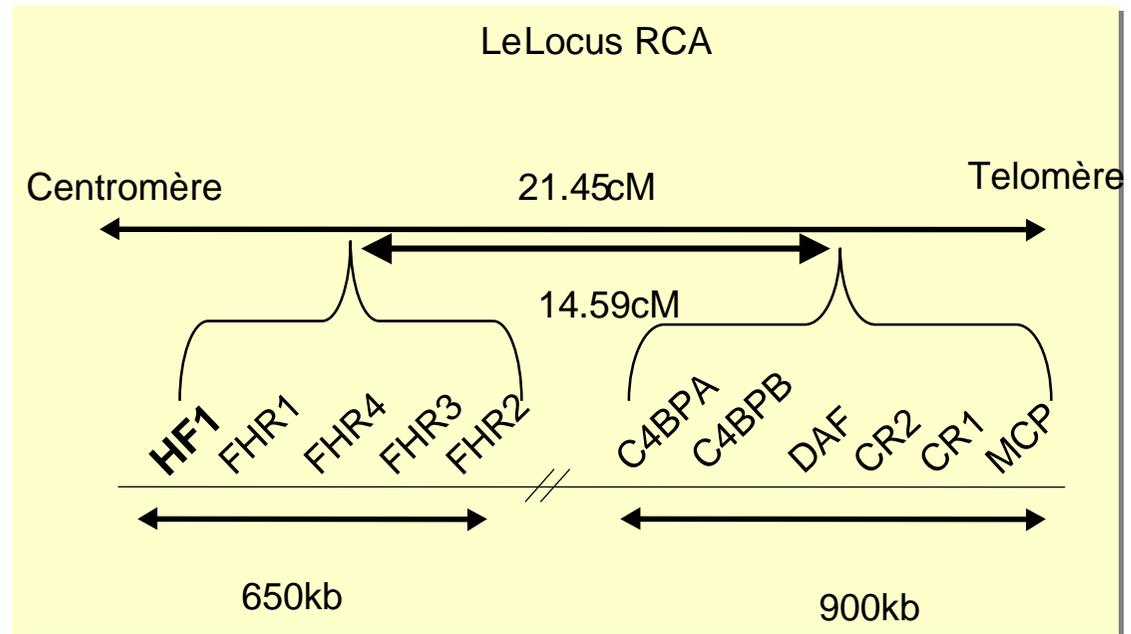
---

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



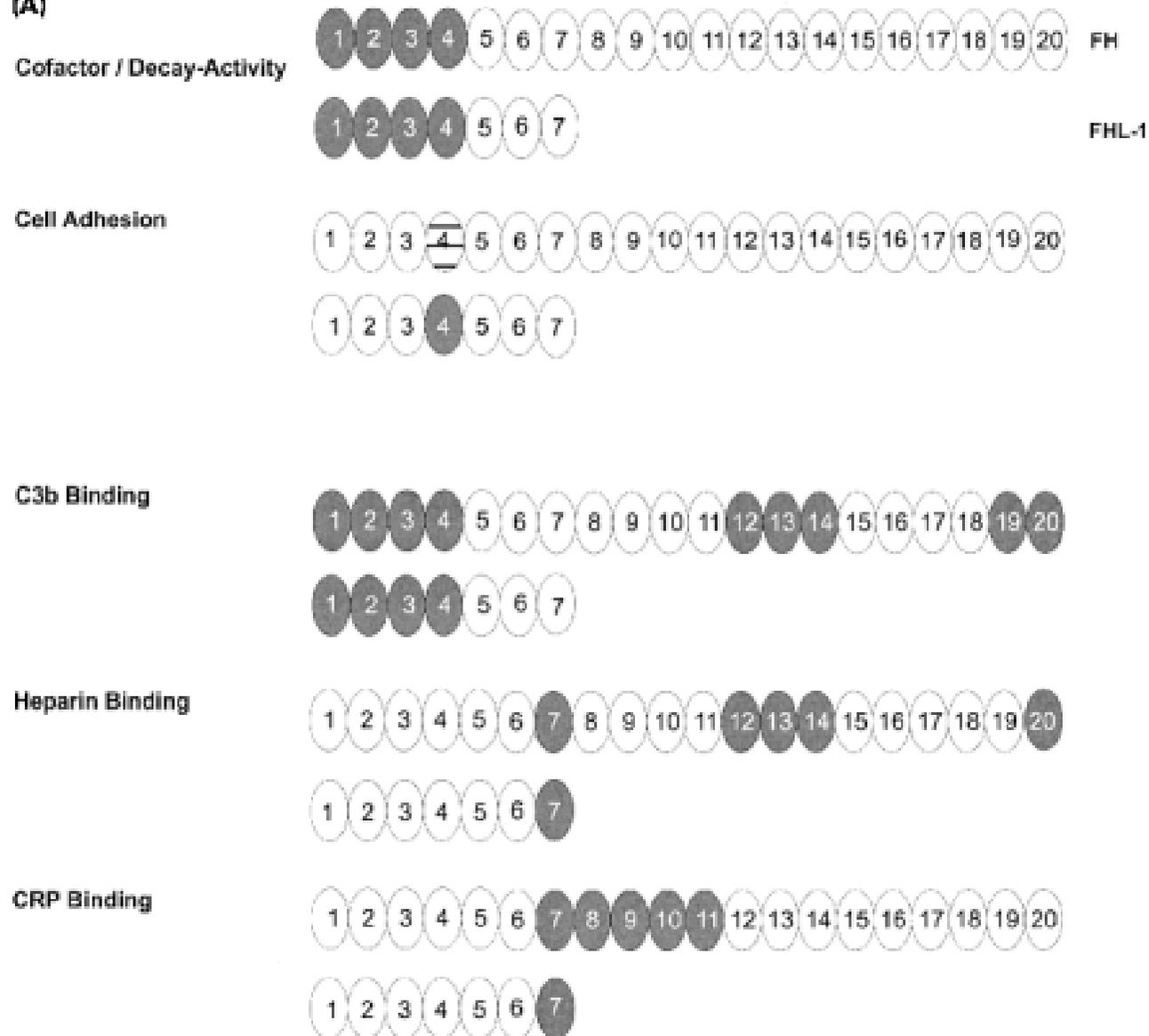
## Le facteur H : le gène

- Gène en 1q32
- locus RCA

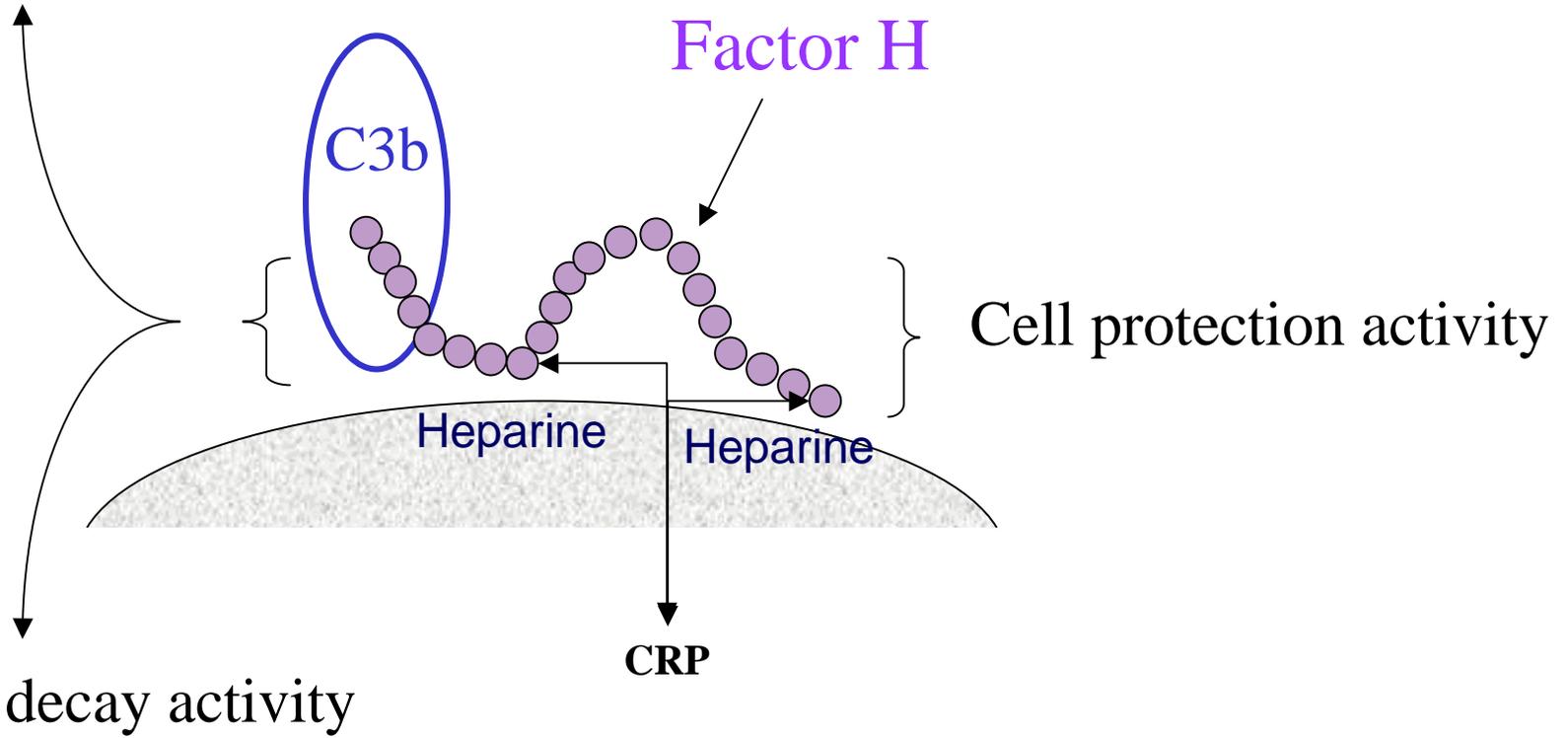


- 96Kb, 23 exons, 1 par SCR (sauf SCR 2),
- 2 ARNm : 4.3 Kb → 1213 AA → FH  
1.8 Kb → 427 AA (423 + 4) → FHL1(Reconectine)
- Polymorphisme génétique (SCR 1, 5, 7, 8, 11, 15, 16, 18)

**(A)**



Factor I cofactor activity



Factor H

C3b

Cell protection activity

Heparine

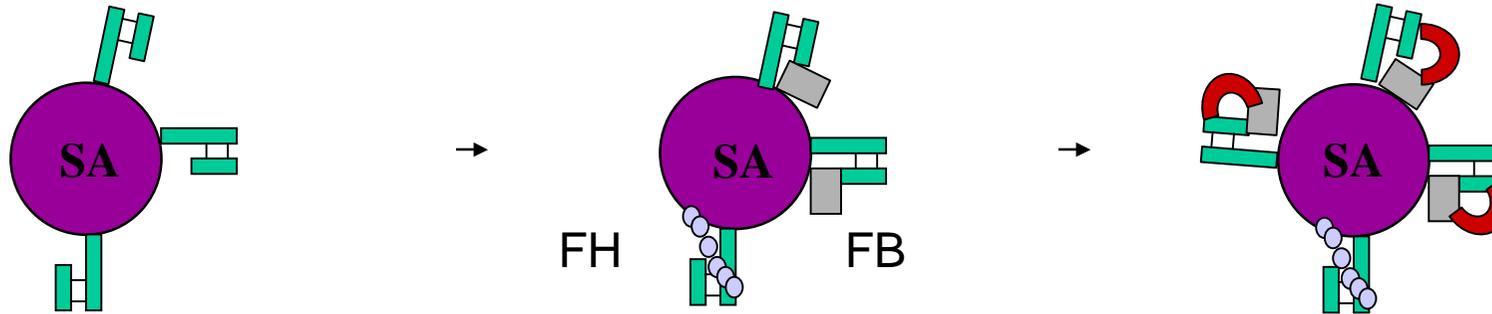
Heparine

CRP

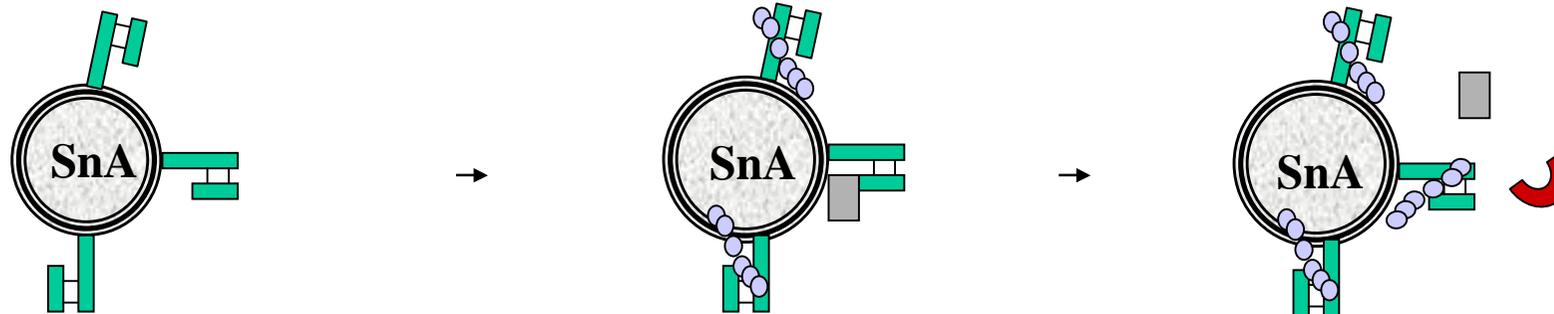
C3bBb decay activity

- **Discrimination d'une surface activatrice de la voie alterne**

**Surface activatrice :**  **Dépôts de C3bBb +++**



**Surface non activatrice**  **Dépôts de C3bBb -**



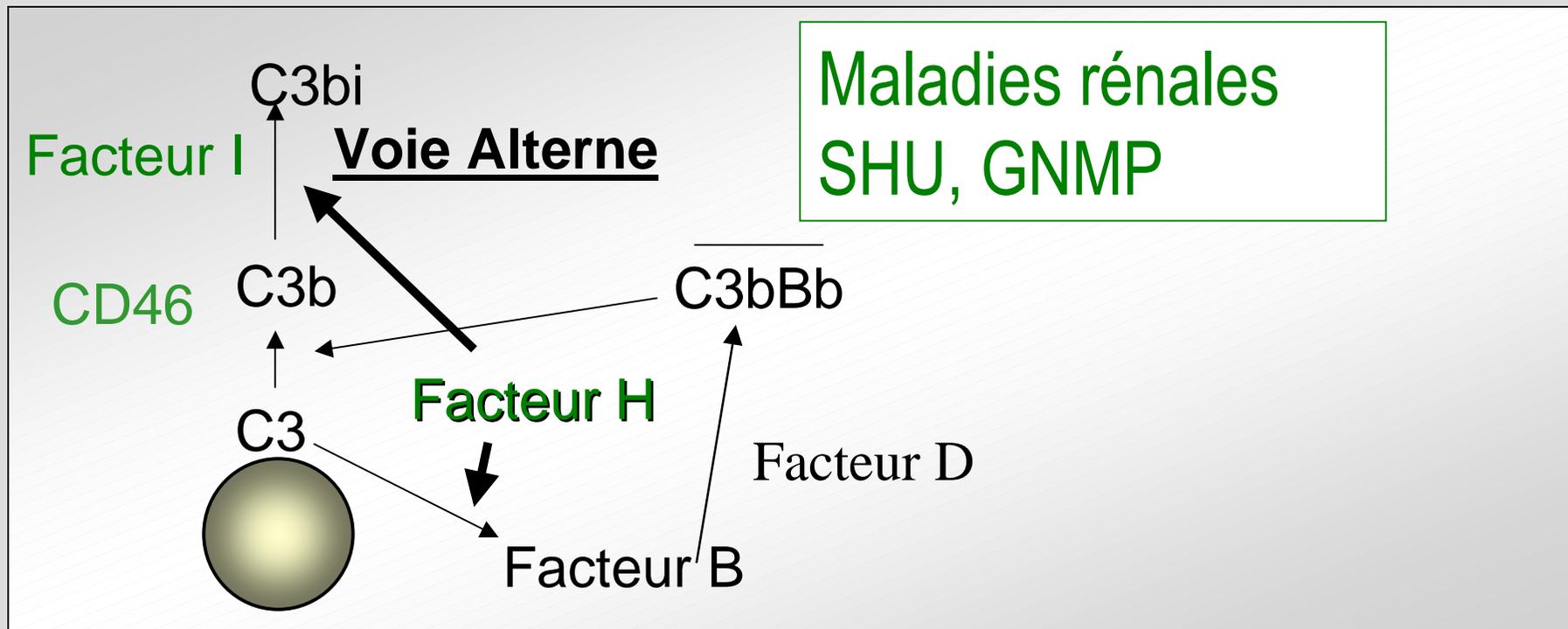
 C3b

 Facteur H

 Facteur B

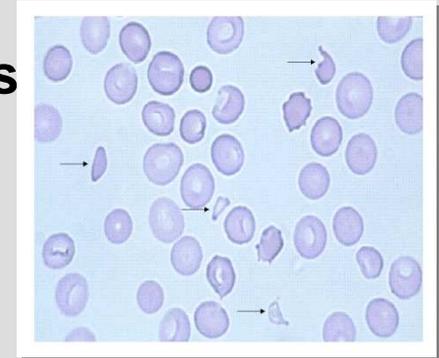
 Properdine

# Voie Alterne et Pathologies Rénales



# Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU)

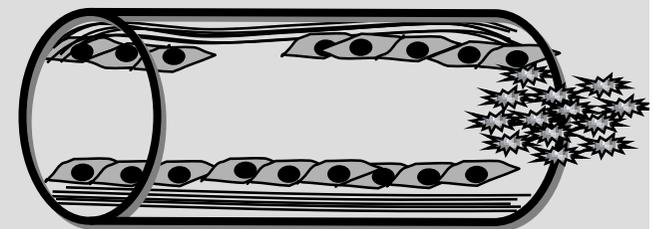
Gasser, 1955 : Triade : **Insuffisance rénale aiguë**  
**Thrombopénie**  
**Anémie hémolytique (schizocytes**



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

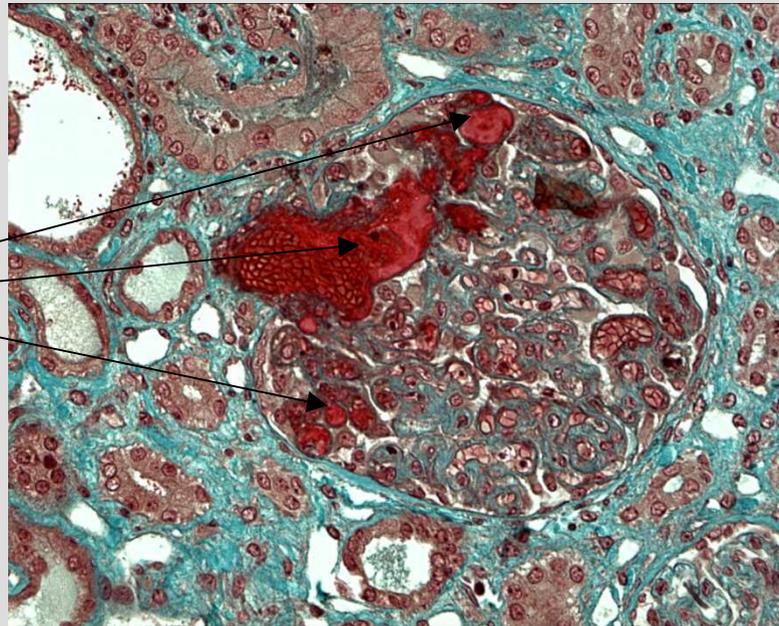
## Anatomo-pathologie : microangiopathie thrombotique

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

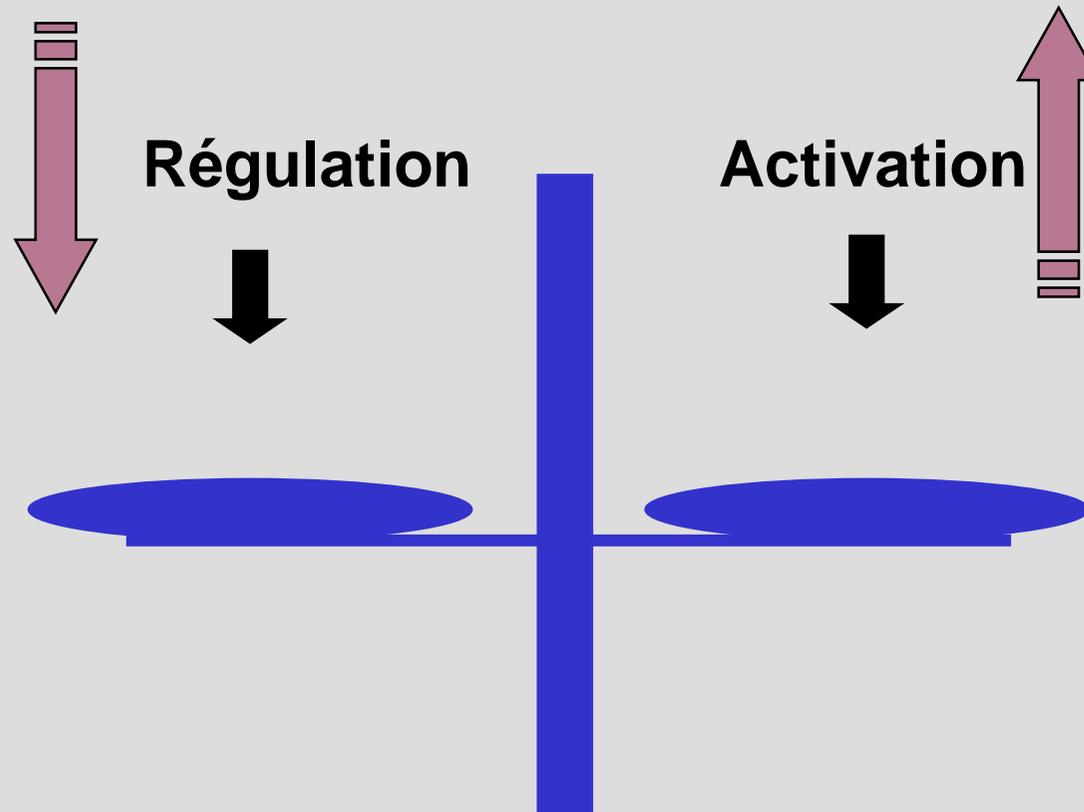


# Microangiopathie glomérulaire Aigue

Caillots



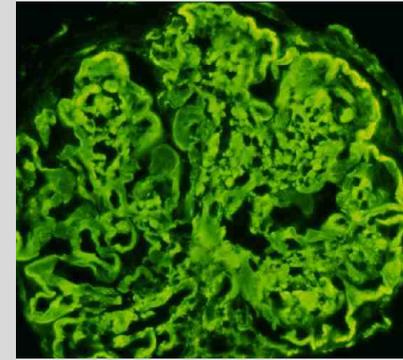
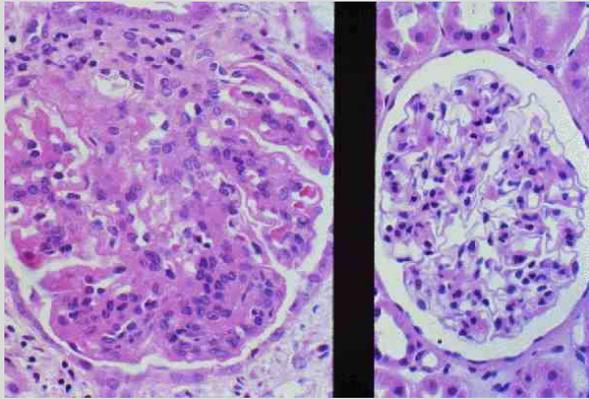
# Mécanismes physiopathologiques : dérégulation de la voie alterne du complément



# Etiologies du SHUa

- **1/ Déficiences quantitatives 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<sup>ère</sup> 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**

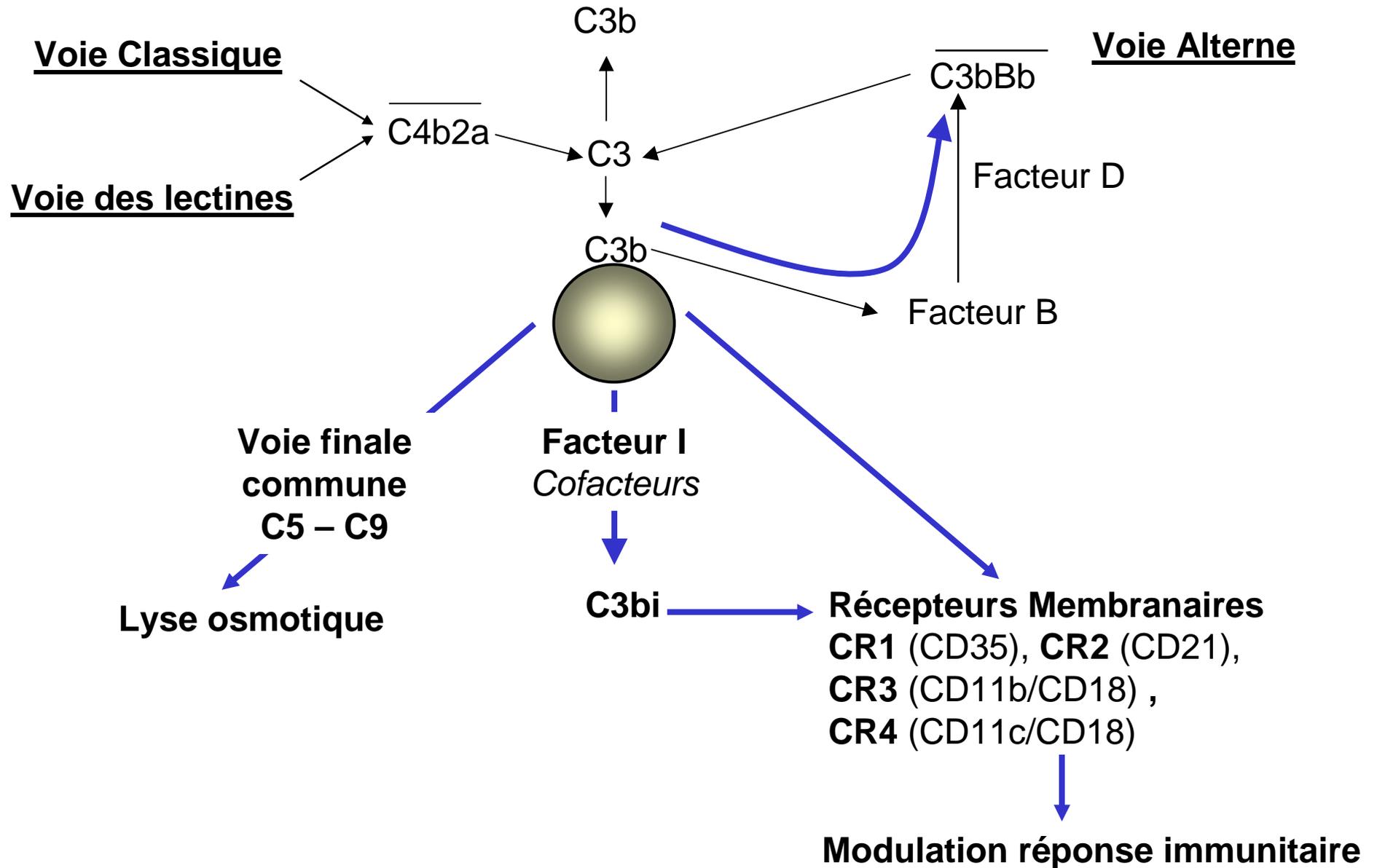
Déficit homozygote en FH (Humain, souris, cochons)

Double hétérozygote en MCP (1cas)

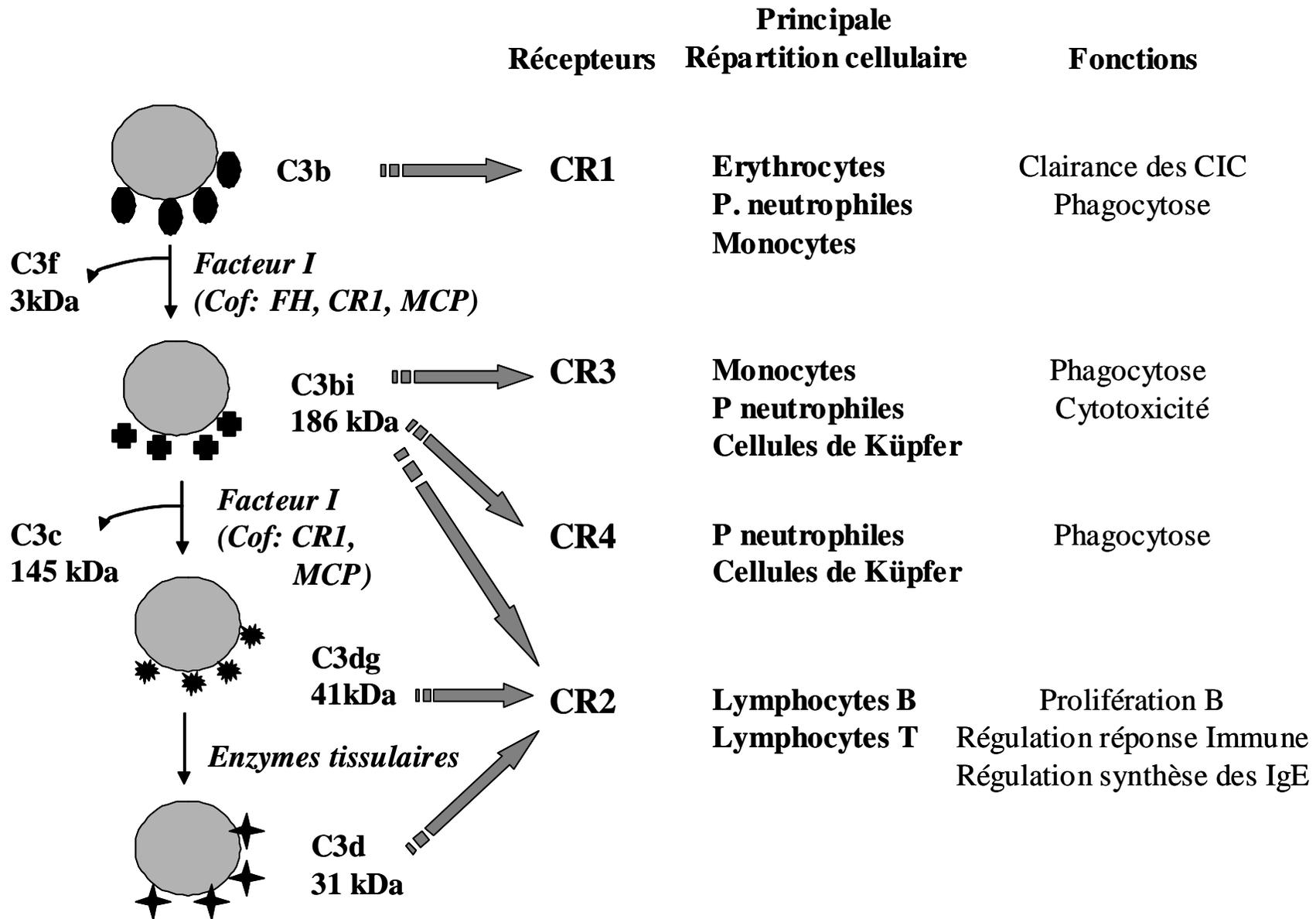
GN à dépôts isolés de C3 : Mutations FH, FI, MCP

C3? Haplotype F/S

# LE SYSTEME DU COMPLEMENT



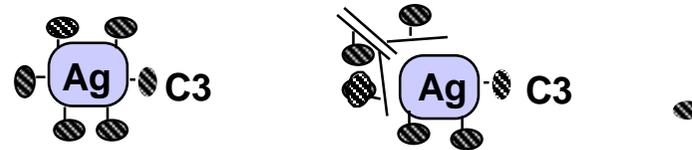
# C3: Interaction avec les récepteurs Membranaires



# Les récepteurs cellulaires pour les fragments de C3

---

Adherence et ingestion par les phagocytes des cibles opsonisées

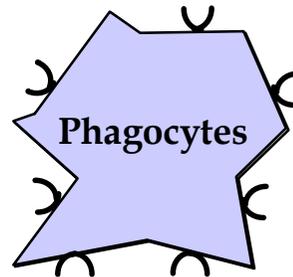


CR3; CD11b/CD18  
CR4; CD11c/CD18

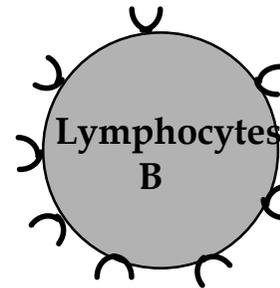
Récepteurs C3

CR2; CD21  
CR1; CD35

CR1; CD35



Phagocytose  
Inflammation



Présentation de l'Ag  
Activation B

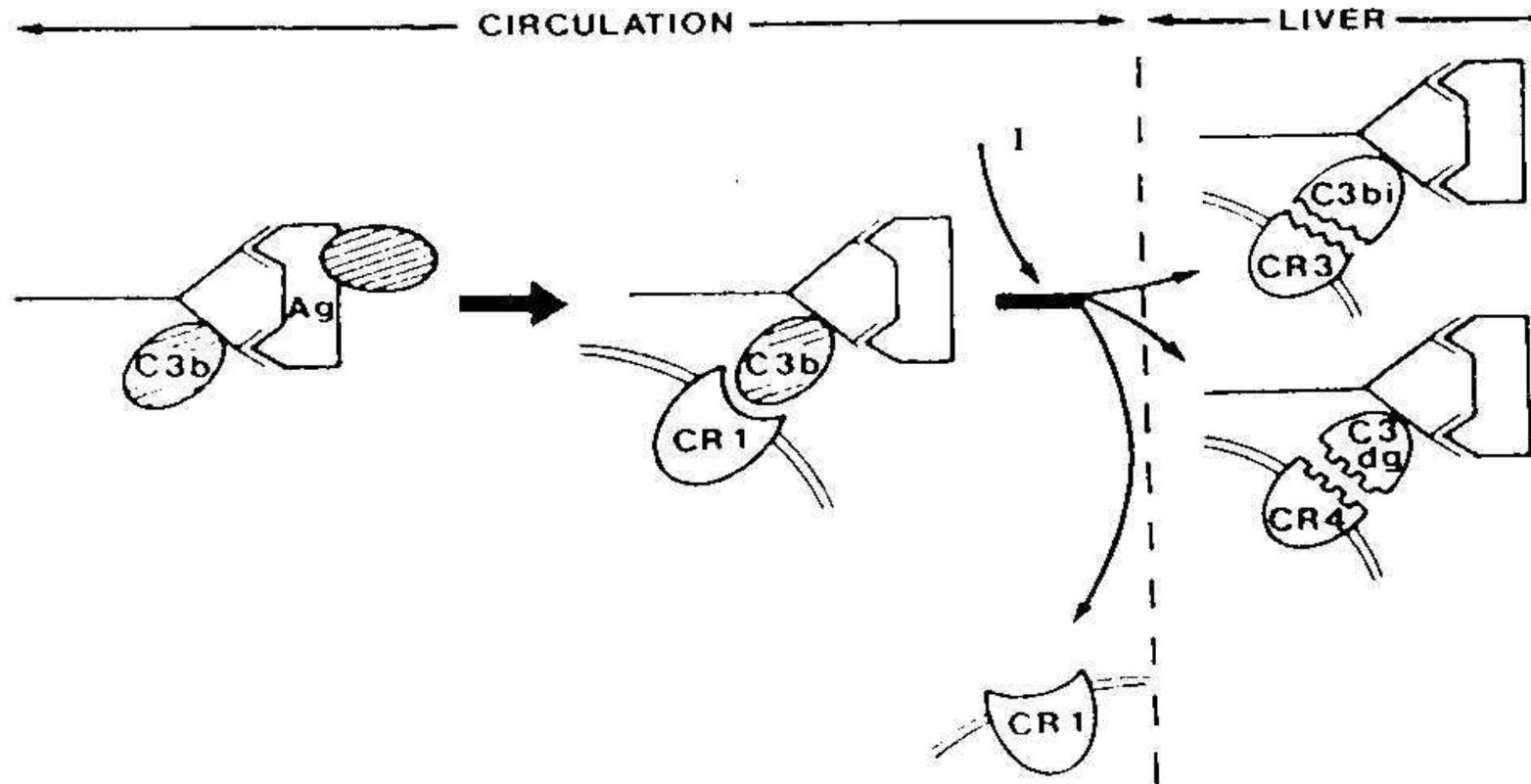
# Rôle du Complément

---

- 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 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

---

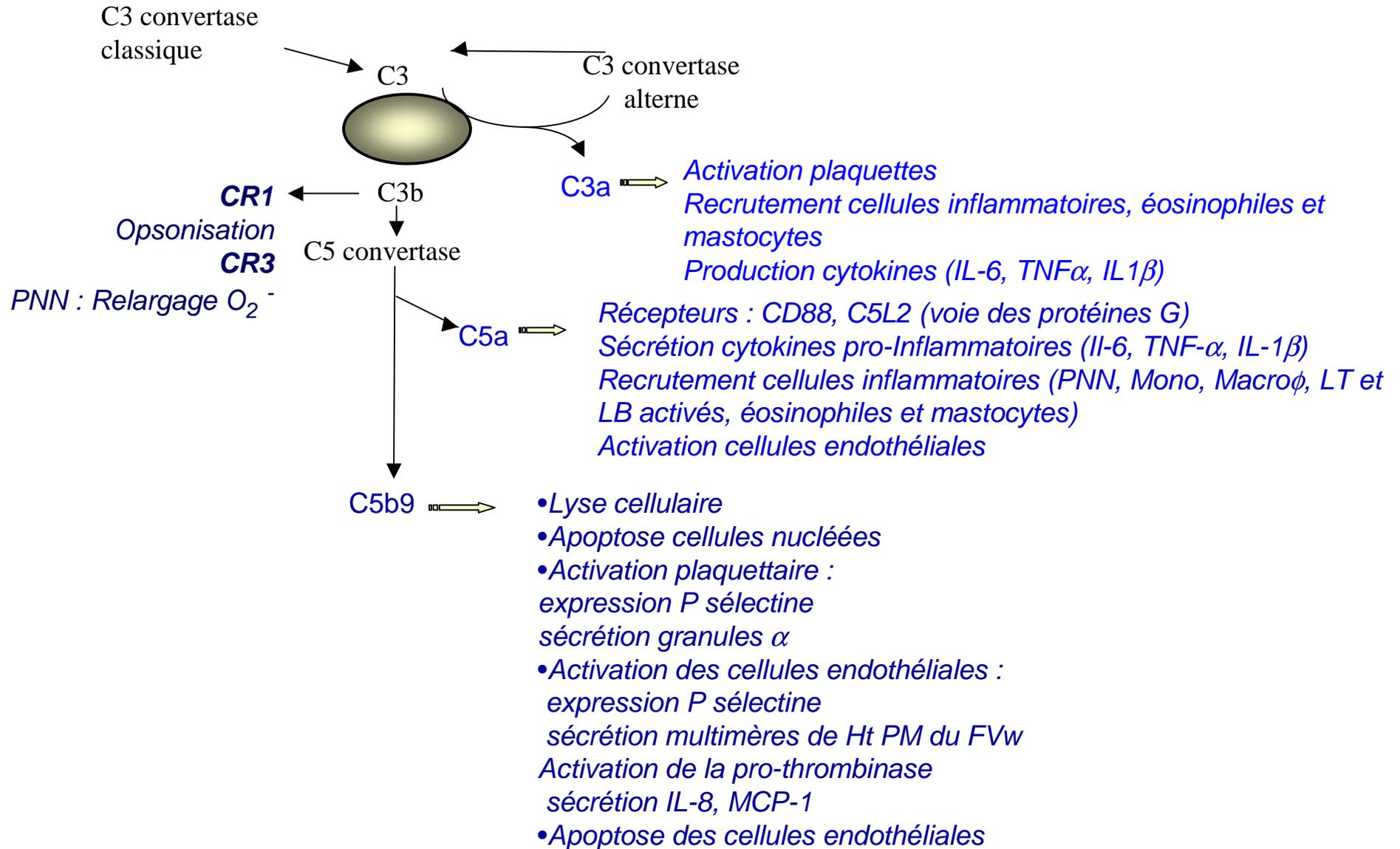
## Ami

- Permet l'élimination des immuns-complexes (bactéries recouvertes d'anticorps) et des cellules apoptotiques
- Inhibe la précipitation
- Élimination 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

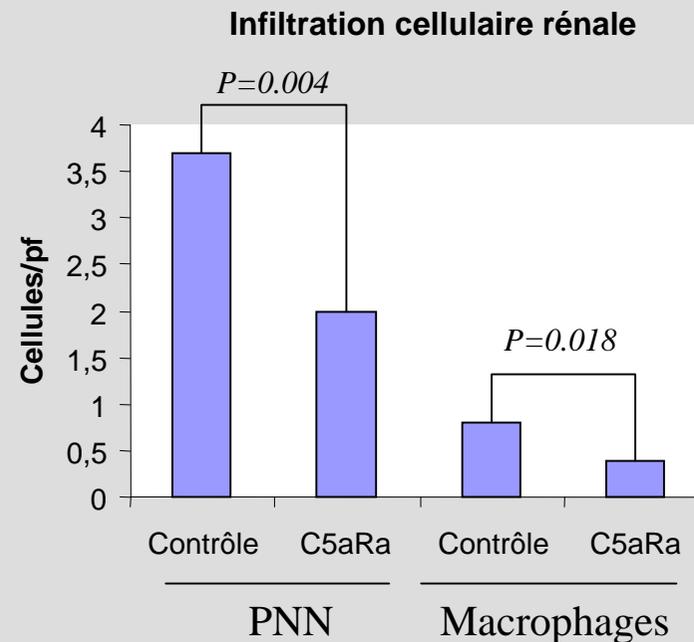
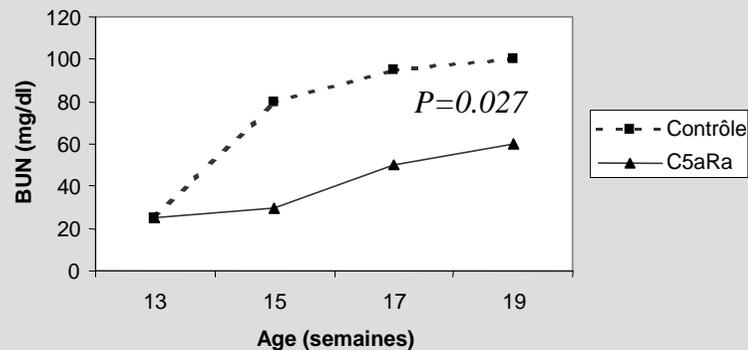


# Exemple 1 : Néphrite Lupique

Modèle de LED humain :

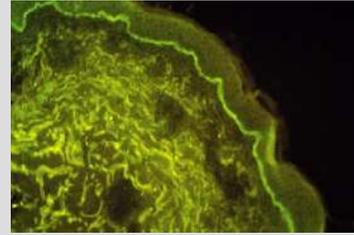
souris MRL/*lpr* : FAN, hypocomplémentémie, atteinte rénale

- 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**



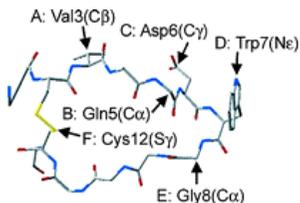
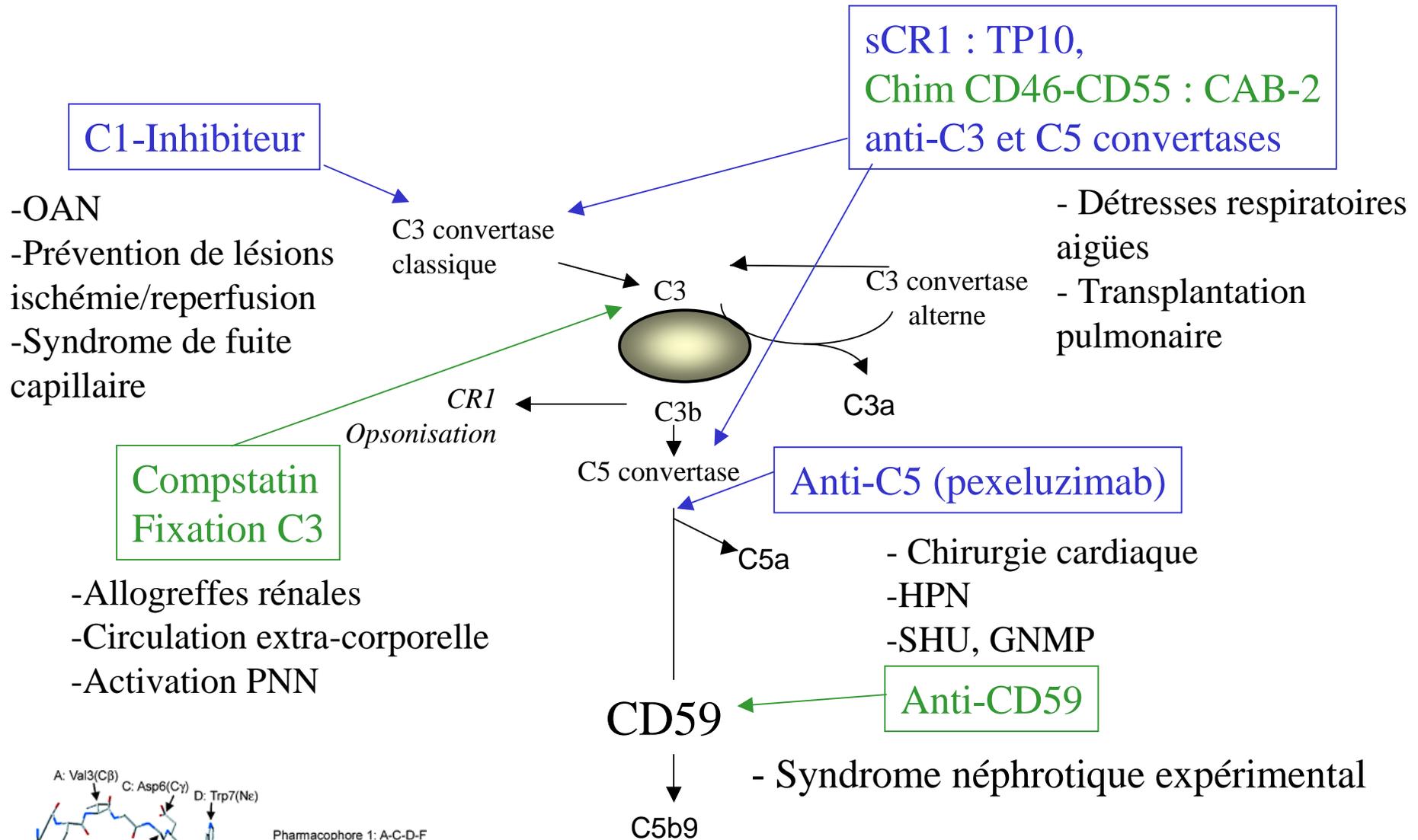
**Modèle** : transfert passif chez la souris par des anticorps anti-collagène VII

**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<sup>-/-</sup> :**

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

# 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 Hémoglobininémie  
                  -Nombre de culots globulaires

+ : Signes biologiques d'hémolyse (LDH), Score de Fatigue

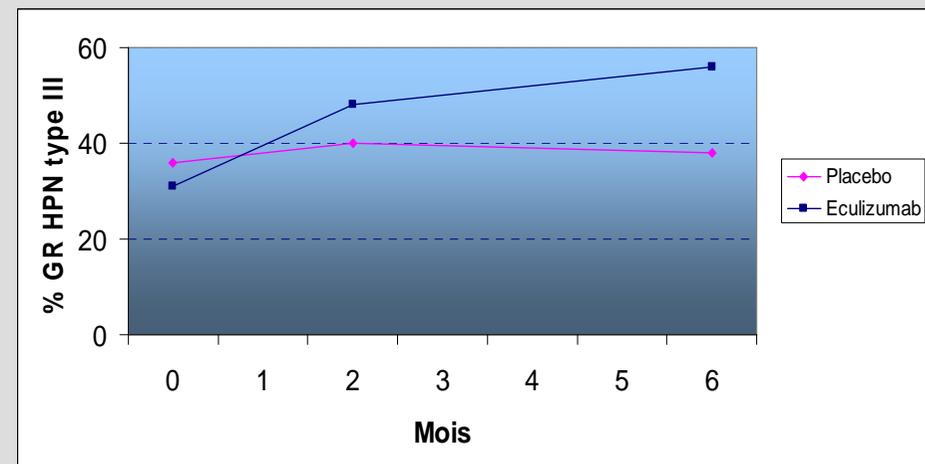
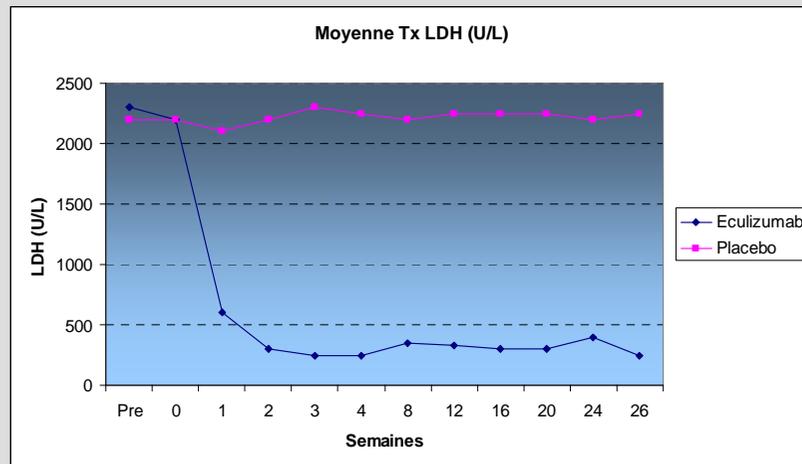
87 patients inclus

## 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

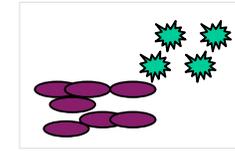
Placebo : 10 (p<0.001)



# LE SYSTEME DU COMPLEMENT



**Voie Classique**



**Voie Alterne**

**Voie des lectines**

