

Le Système du Complément

Dr. Marie-Agnès Dragon-Durey

Service d'Immunologie Biologique,
Hôpital Européen Georges Pompidou
Paris

Février 2011

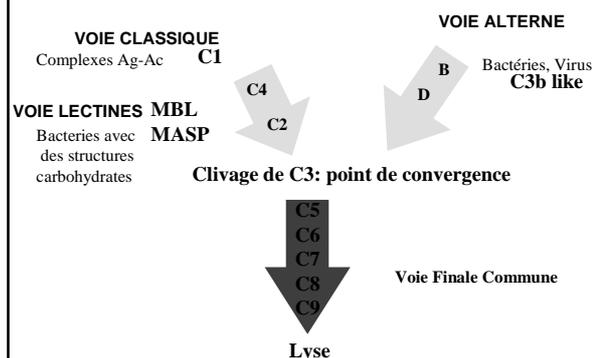
Le Complément

- 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



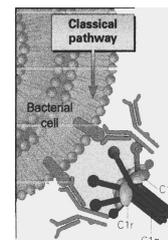
Activateurs de la voie classique

- **Fc des immunoglobulines complexées**
IgG1, IgG2, IgG3, IgM (domaine Cγ2, Cμ4)
- **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)

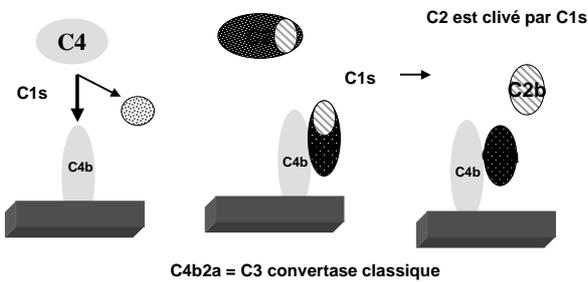
Activation de la voie classique et C1

- 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

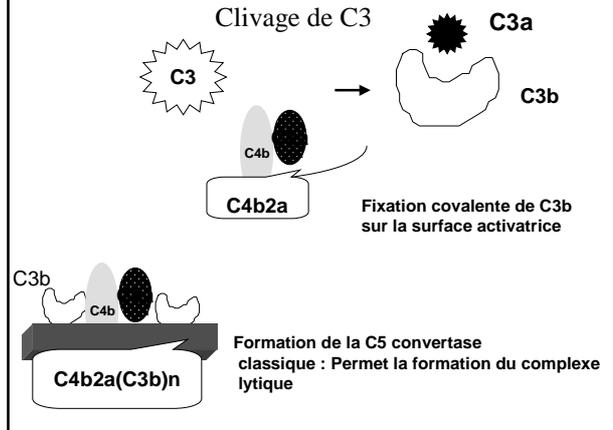


Formation de la C3 convertase classique



☞ 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.

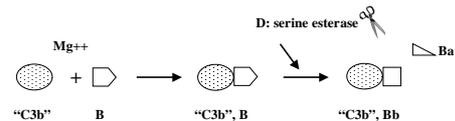
Activateurs de la voie alterne

- 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

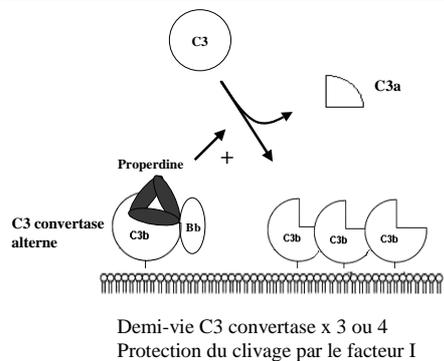
- Composants: C3, B, D, ions Mg^{++}

• C3 convertase **initiale** en phase fluide dans le plasma
Hydrolyse spontanée du pont thiolester → "C3b like molécules"

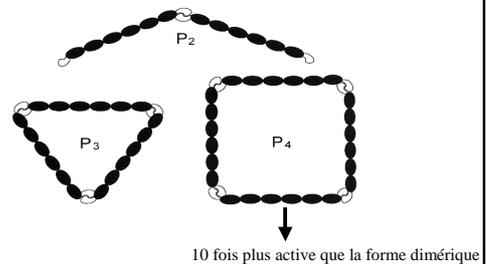


- C3b, Bb: C3 convertase alterne
 - clive C3 en C3b et C3a
 - Bb est la sous-unité qui clive le C3

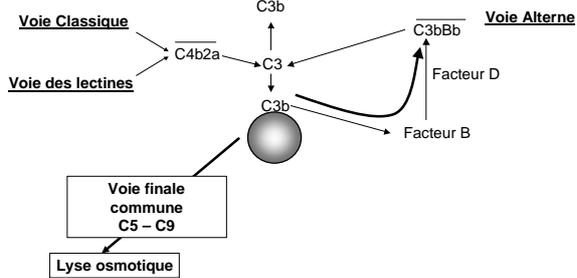
Activation de la voie alterne et properdine



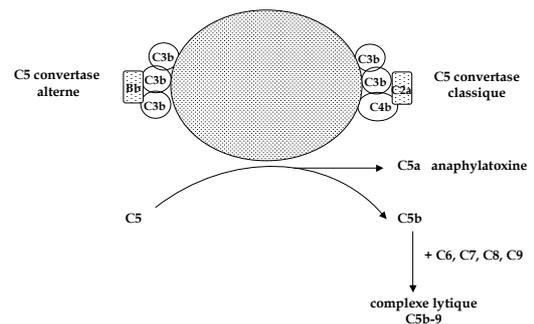
Formes oligomériques de la properdine



LE SYSTEME DU COMPLEMENT



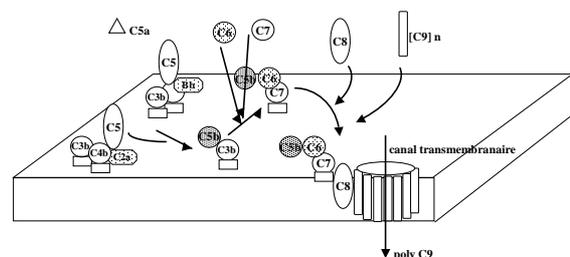
Clivage de C5 par les C5 convertases



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

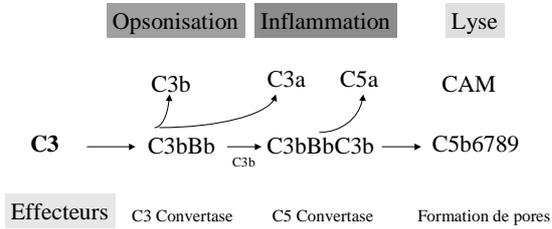


C5 convertases
C4b, C3b, 2a
C3b, Bb, C3b

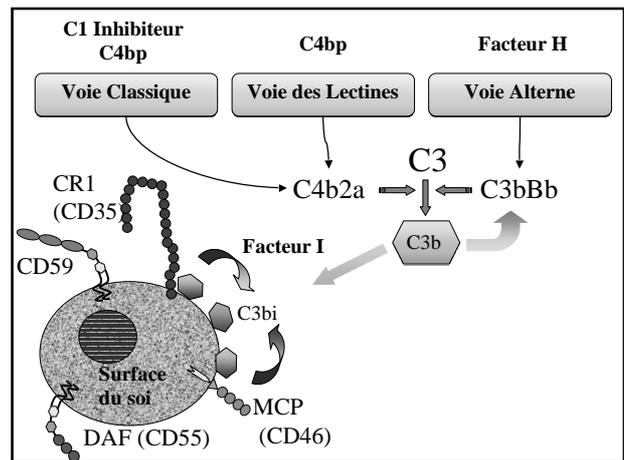
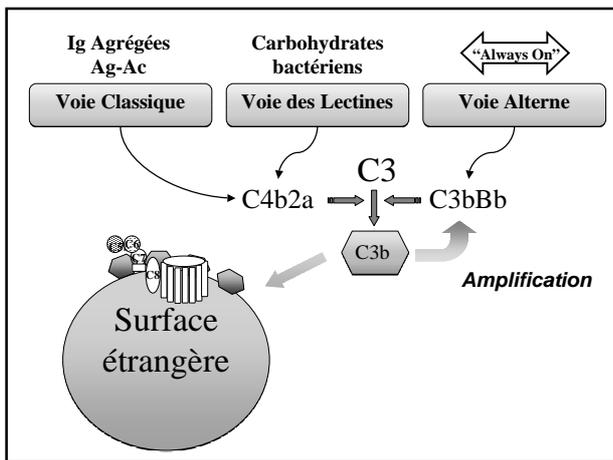
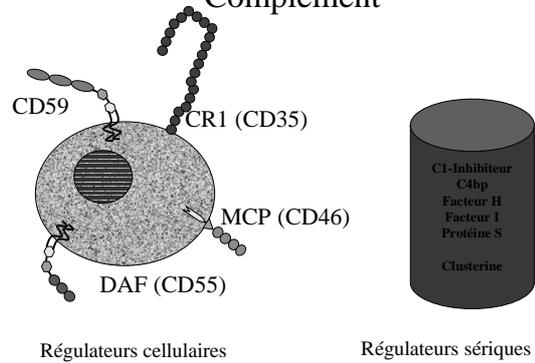
complexe d'attaque membranaire (MAC)
mC5b-9

inhibiteurs du MAC
protéine S ou vitronectine
CD59 (HRF)

Les principales fonctions du Complément

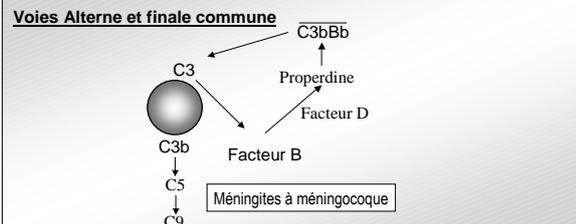


Régulation du système du Complément



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 immunitaire: Interface entre l'immunité innée et acquise



Recherche d'un déficit indispensable quand :

- ▶ méningocoque de sérotype 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.

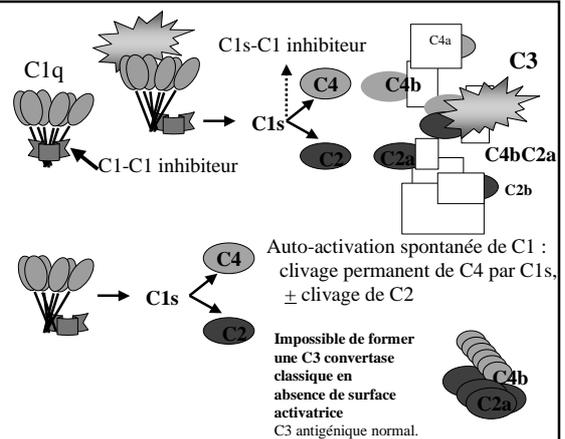
- ETUDE FAMILIALE +++

Régulation 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

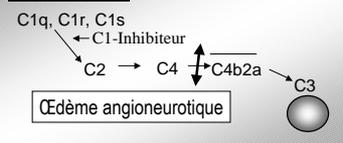
C1 inhibiteur (Inhibiteur de la C1 estérase)

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



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

Voie Classique



- 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)

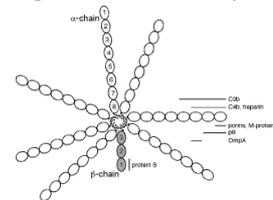
Souris invalidée pour le gène du C1 inhibiteur:

- 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 œdèmes sont médiés par la bradykinine via le récepteur de type 2

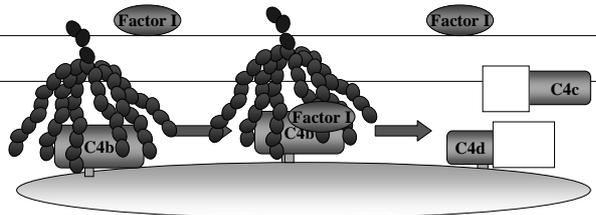
Régulation C3 convertase classique : C4 Binding Protein

- 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 l'inactivation de C4b en C4d et C4c



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

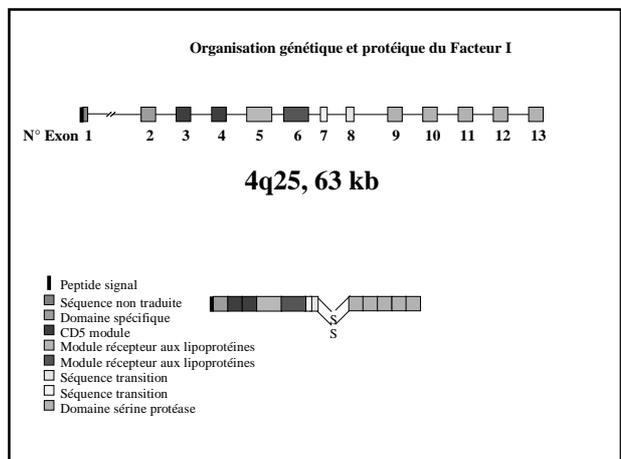
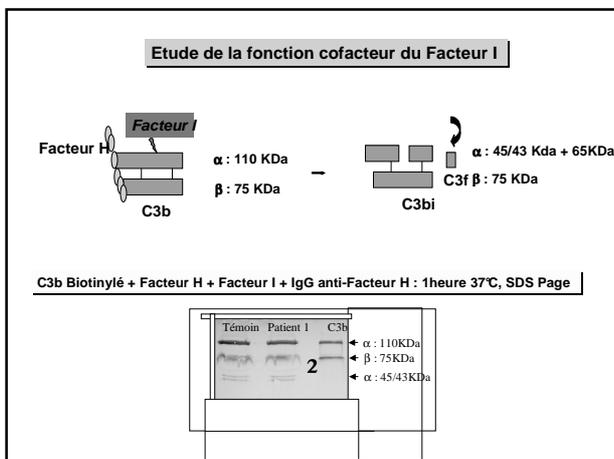
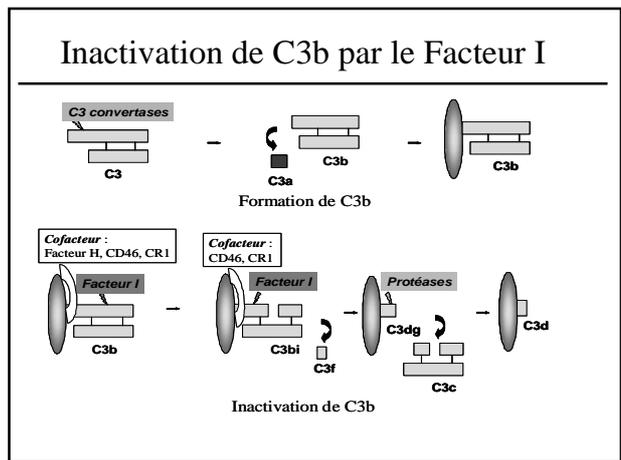
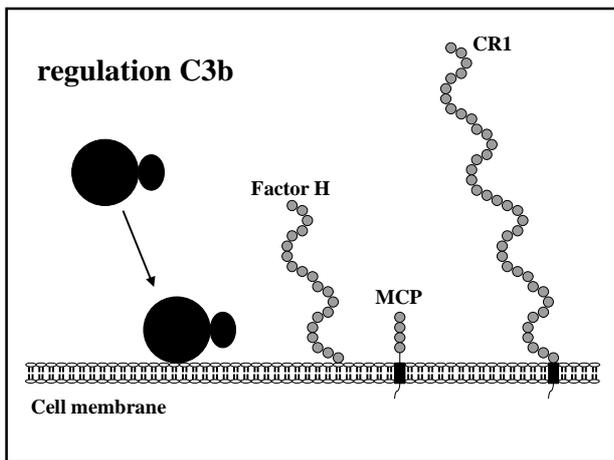
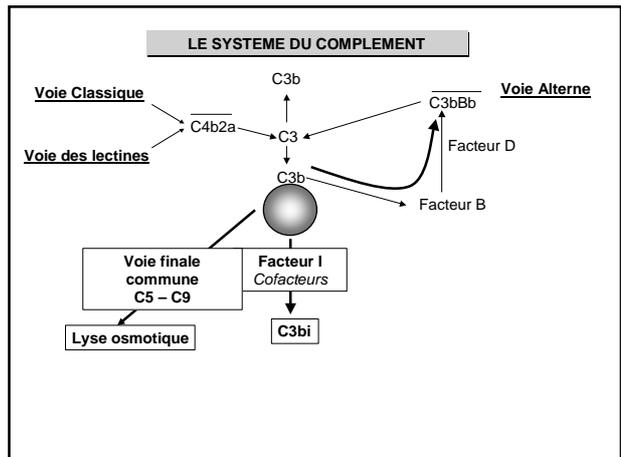
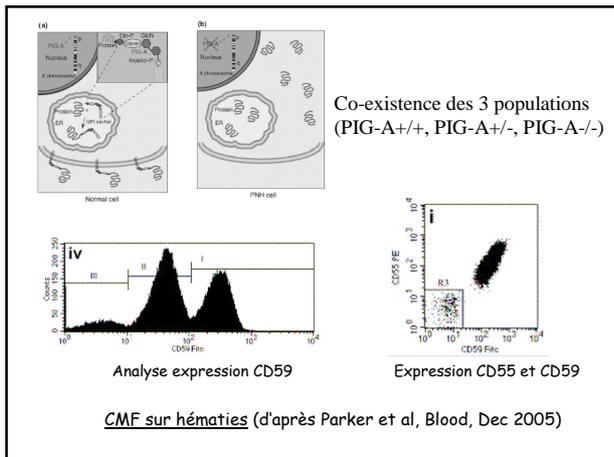
- Gène localisé dans le RCA,
- Protéine membranaire ancrée par un groupement GPI (glycosylphosphatidylinositol) : lignée hématopoïétique, épithélium et endothélium
- 4 SCR
- Accélère la dissociation des C3 et C5 convertases fixées sur une surface

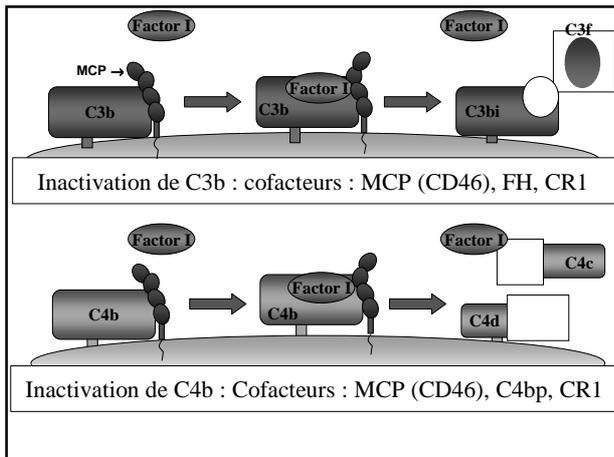
Régulation de la voie finale commune

- 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 (ancrage GPI)
 - **CD14, LFA-3, CD16, DAF (CD55), HRF (CD59)**
- **CLINIQUE :**
 - Poussées D'HEMOLYSE AIGUE ou subaiguë 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**





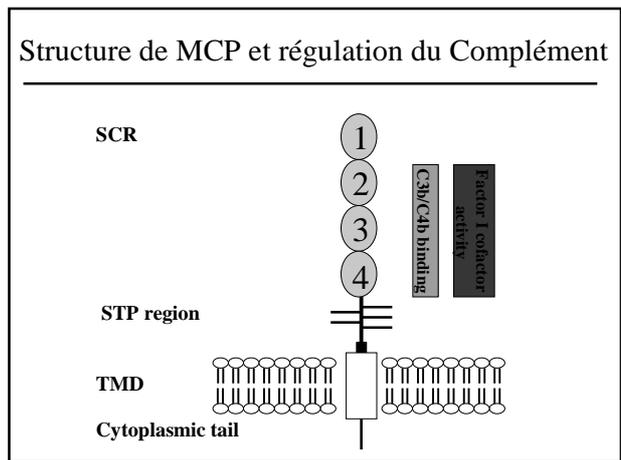
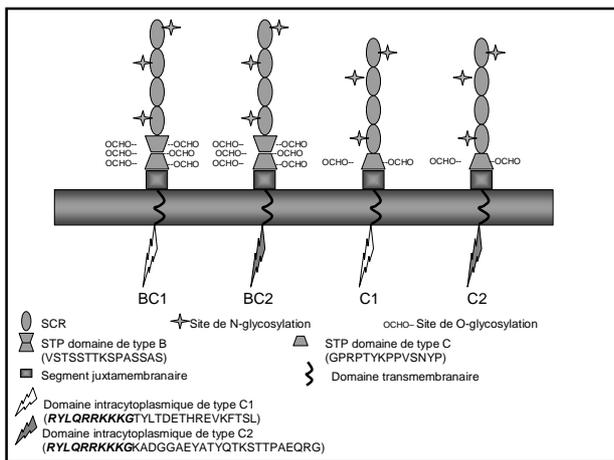
Membrane Cofactor Protein, CD46

Protéine

Gène

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



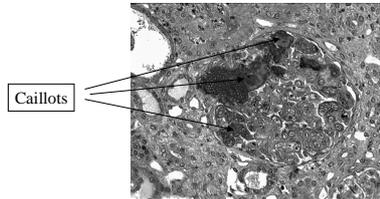
Facteur H : Régulation de la voie alterne

- 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,

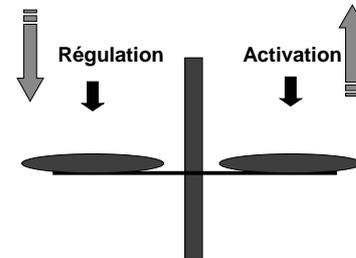
Facteur H : la protéine

- 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)

Microangiopathie glomérulaire Aigue



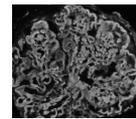
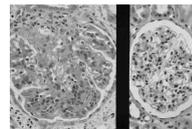
Mécanismes physiopathologiques : dérégulation de la voie alterne du complément



Etiologies du SHUa

- **1/ Déficits 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

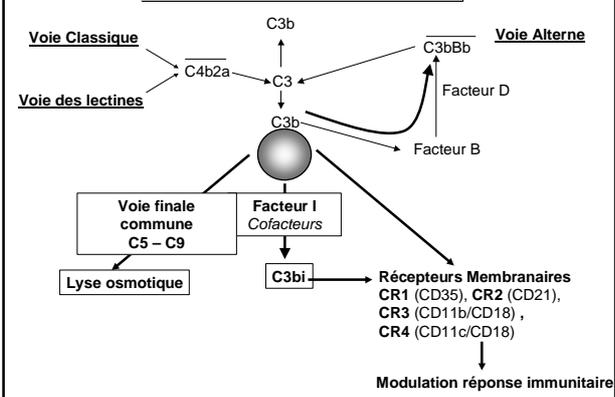


1^{ère} étiologie : C3 nephritic Factor ou C3 Nef
Auto-Anticorps d'isotype IgG (autres sous-classes ?) ayant la capacité de stabiliser la C3 convertase alterne : Clivage de C3, Diminution du C3 +/- Facteur B

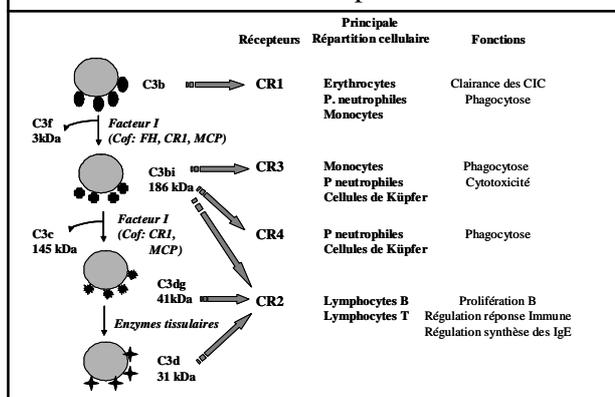
Prédisposition génétique GNMP

Déficit homozygote en FH (Humain, souris, cochons)
Double hétérozygote en MCP (1cas)
GN à dépôts isolés de C3 : Mutations FH, FI, MCP
C3? Haplotype F/S

LE SYSTEME DU COMPLEMENT

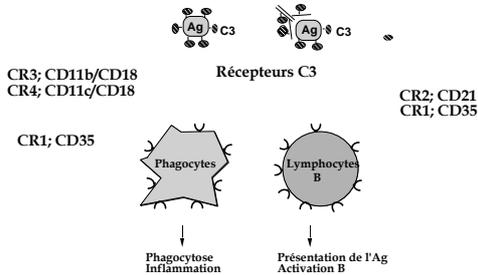


C3: Interaction avec les récepteurs Membranaires



Les récepteurs cellulaires pour les fragments de C3

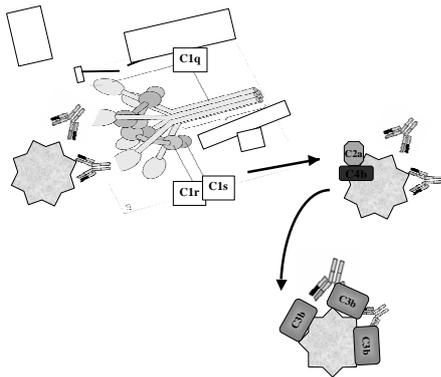
Adherence et ingestion par les phagocytes des cibles opsonisées



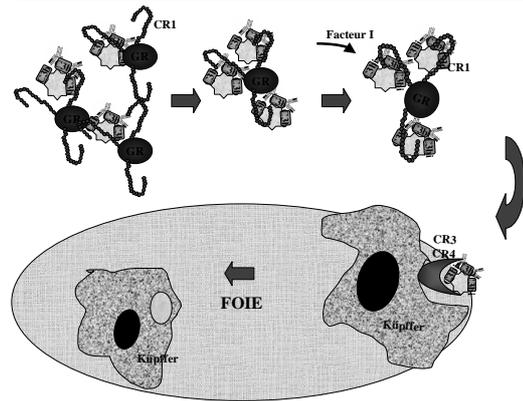
Rôle du Complément

- 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 Immuns (1)



Elimination des complexes Immuns (2)



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

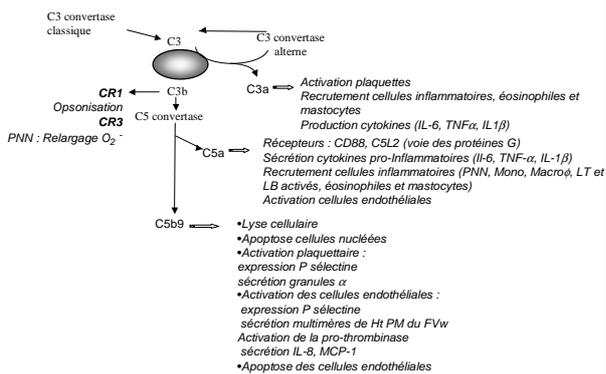
Ami

- 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

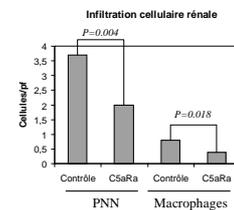
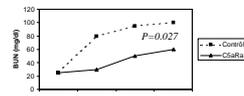
Complément et Inflammation



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



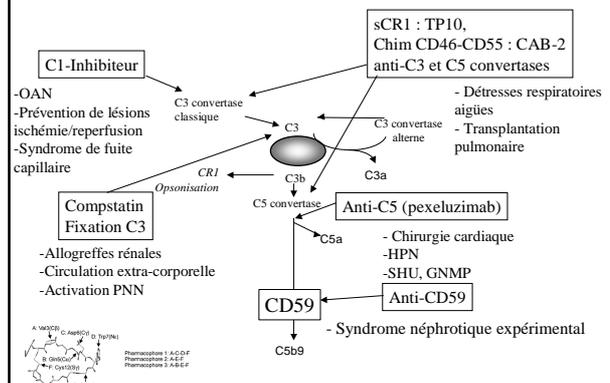
Modèle : transfert passif chez la souris par des anticorps anti-collagène VII

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 Hémoglobininémie
-Nombre de culots globulaires
+ : Signes biologiques d'hémolyse (LDH), Score de Fatigue

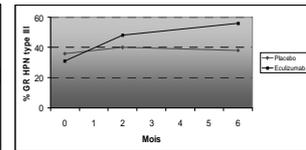
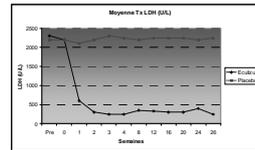
87 patients inclus

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)



Autres Indications ou Protocoles de l'anti-C5

En Néphrologie :

Rejet humoral, Transplantation chez les sujets hypersensibilisés, GNMP, ANCA

En Hématologie :

Maladie des agglutinines froides, syndrome catastrophique des anti-phospholipides (Greffe Rénale)

En Neurologie :

Myasthénie, Neuropathie Motrice Multifocale

Autres ? : LED (phase I), Asthme

<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=eculizumab>

