

## Les protéines régulatrices du système du complément

Une activation incontrôlée du complément serait désastreuse pour l'organisme, entraînant des dommages tissulaires importants et des réactions anaphylactiques. Un système relativement complexe contrôle donc en permanence l'activation de ce système, lui permettant notamment, avant la phase immune et en collaboration avec elle, de distinguer le soi du non-soi. Malheureusement, de nombreux micro-organismes ont développé des moyens de tromper ce système de reconnaissance grâce à des modifications particulières de leur surface, échappant ainsi, en l'absence d'immunisation spécifique, à l'effet cytotoxique du complexe complémentaire d'attaque membranaire.

Jean Ripoche  
Marie-José Demares  
Nathalie Julien  
Claudie Lemerrier  
Hélène Dauchel  
Christian Davrinche  
Maryvonne Daveau  
Marc Fontaine

### Remerciements

Les auteurs remercient madame A. Chaube pour la dactylographie du manuscrit.

### ADRESSE

J. Ripoche : chargé de recherche à l'Inserm.  
M.-J. Demares : étudiante en thèse. N. Julien : étudiante en thèse. C. Lemerrier : étudiante en thèse. H. Dauchel : étudiante en thèse.  
C. Davrinche : chargé de recherche à l'Inserm.  
M. Daveau : chargée de recherche à l'Inserm.  
M. Fontaine : directeur de recherche à l'Inserm. Inserm U.78, BP73, 76233 Bois-Guil-laume Cedex, France.

Le système du complément est un ensemble de protéines plasmatiques ou membranaires jouant un rôle essentiel dans les mécanismes de défense immunitaire [1]. Il intervient en particulier dans la destruction des agents infectieux, l'élimination des complexes immuns, et, probablement, dans le contrôle de la réponse immunitaire. Cette synthèse est une mise au point concernant les protéines contrôlant l'activation du système du complément. Ces protéines ont fait l'objet d'un important effort de recherche ces dernières années. Elles sont maintenant bien caractérisées sur le plan structural et leur rôle physiologique est mieux compris.

### Deux voies d'activation

La figure 1 résume l'essentiel des principales étapes de l'activation du système du complément. Une vingtaine de protéines participent à deux voies d'activation dites « alterne » et « classique ». L'activation de la voie alterne repose sur un mécanisme non

spécifique de reconnaissance de la surface cible (bactérie, virus, parasite, cellule tumorale...). L'activation de la voie classique repose sur la reconnaissance spécifique de la cible par un anticorps.

Dans la voie dite « alterne », c'est la fixation d'un produit de clivage du C3, le C3b, qui représente le phénomène initial. Il existe un mécanisme permettant à l'organisme d'engendrer en permanence un petit nombre de molécules de C3b à partir du C3 [2], rendant possible l'initiation immédiate de la voie alterne en présence d'une surface cible (figure 2, p. 236). Le C3b, pendant une fraction de seconde suivant sa formation\*, a la remarquable propriété d'exposer un site hautement réactif lui permettant d'établir une liaison covalente avec des groupements chimiques présents sur virtuellement toutes les surfaces biologiques\*\* (on parle de sites accepteurs). Ainsi le C3b peut-

\* On parle de C3b instable.

\*\* Ce sont en particulier les groupements hydroxyles et aminés.

il se fixer sur une surface cible, si celle-ci est présente, mais aussi sur les surfaces de l'hôte. En l'absence d'une surface acceptrice, le C3b réagit avec l'eau, donnant le C3b en phase fluide.

Le C3b lié à une surface (mais aussi le C3b en phase fluide) peut fixer le facteur B et, après activation de ce dernier par le facteur D, se trouve assemblée la C3/C5 convertase alterne (figure 3, p. 237). La reconnaissance de la cible est ainsi, dans la voie alterne, dévolue au C3b et cette reconnaissance est donc sans spécificité. Ce mécanisme non spécifique d'initiation explique le risque d'activation de la voie alterne dans la phase fluide et au niveau des surfaces de l'hôte, et la nécessité d'un contrôle efficace. Nous verrons comment ce contrôle est exercé par un ensemble de protéines spécifiques. Ces protéines permettent à l'organisme de distinguer entre les surfaces dites « activatrices », sur lesquelles l'assemblage de la C3/C5 convertase alterne est possible, et les surfaces dites « non activatrices » comme les surfaces du soi, sur lesquelles cet assemblage est impossible.

Dans la voie dite « classique », c'est l'activation du composant C1 qui représente le phénomène initial. L'activation du C1 s'effectue principalement au niveau d'un complexe antigène-anticorps. Dans ce cas, la reconnaissance de la surface cible est effectuée par l'anticorps. Le C1 peut cependant être activé directement au contact de certaines surfaces bactériennes et virales et par l'intermédiaire de la *C-reactive protein* (CRP), protéine de la phase aiguë de l'inflammation. La signification physiologique de cette activation de la voie classique indépendante des anticorps reste mal connue. Après activation du C1, les composants C4 et C2 sont à leur tour activés et vont assembler sur la surface cible un complexe enzymatique (figure 3), appelé C3/C5 convertase classique.

L'activation du C4 présente de profondes analogies avec l'activation du C3. Le C4 est activé par clivage en C4b et C4a; le C4b, pendant une fraction de seconde après sa formation, expose un site réactionnel identique à celui du C3b lui permettant de se fixer, de façon covalente, avec le même type de groupements chimi-

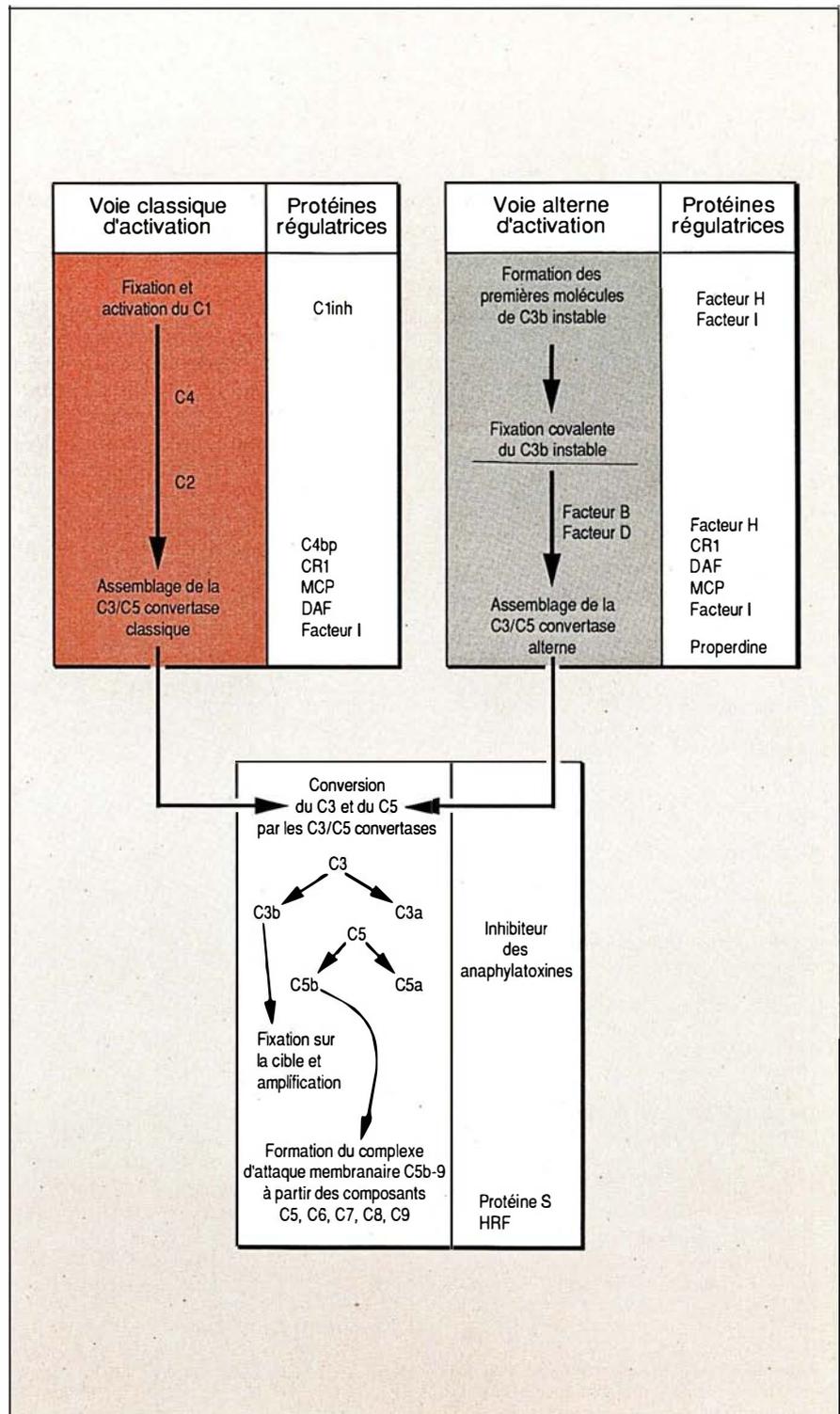


Figure 1. **Place des protéines de régulation dans les deux voies d'activation du système du complément.** Les deux voies d'activation du système du complément sont schématiquement représentées. La voie classique est mise en jeu par la fixation et l'activation du composant C1, la voie alterne par la fixation covalente du C3b instable. Les protéines de régulation sont positionnées à leur niveau d'intervention respectif.

## RÉFÉRENCES

1. Halbwachs-Mecarelli L, Lesavre P. Le complément. In : Bach JF, ed. *Immunologie* 3<sup>e</sup> éd. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 1986 : 345-71.
2. Pangburn MK, Muller-Eberhard H.J. (1984) The alternative pathway of complement. *Springer Semin in Immunopathol*, 1984 ; 7 : 163-92.
3. Nussenzweig V. Interaction between complement and immune complexes : role of complement in containing immune complex damage. In : Fougereau M, Dausset J, eds. *Progress in Immunology IV, Vol. I*. London : Academic Press, 1980 : 1044-56.
4. Zeigler JB, Alper CA, Rosen FS, Lachmann PJ, Sherington L. Restoration by purified C3b inactivator of complement mediated function *in vivo* in a patient with C3b inactivator deficiency. *J Clin Invest* 1975 ; 55 : 668-72.
5. Sim RB, Malhotra V, Ripoche J, Day AJ, Micklem KJ, Sim E. Complement receptors and related complement control proteins. *Biochem Soc Symp* 1986 ; 51 : 83-96.
6. Reid KBM, Bentley DR, Campbell RD, et al. Complement system proteins which interact with C3b or C4b. A superfamily of structurally related proteins. *Immunol Today* 1986 ; 7 : 230-4.
7. Ripoche J, Mitchell JA, Erdei A, et al. Gamma-interferon enhances expression of alternative complement proteins by human endothelial cells. *J Exp Med* 1988 ; 168 : 1917-22.
8. Ripoche J, Day AJ, Harris T JR, Sim RB. The complete amino acid sequence of human complement factor H. *Biochem J* 1988 ; 249 : 592-602.
9. Thompson RA, Winterborn MH. Hypocomplementaemia due to a genetic deficiency of beta-1-H-globulin. *Clin Exp Immunol* 1981 ; 46 : 110-9.
10. Levy M, Halbwachs-Mecarelli L. Gubler MC., et al. H deficiency in two brothers with atypical dense intramembranous deposit disease. *Kidney Int* 1986 ; 30 : 949-56.

ques présents donc aussi bien sur les surfaces de l'hôte que sur la surface cible. Comme pour le C3b, il existe un système efficace de régulation contrôlant la fixation du C4b sur les surfaces de l'hôte.

### Principales conséquences de l'activation du complément

Le complément est fondamentalement un puissant outil de destruction des agents infectieux. Il intervient immédiatement avant l'apparition des anticorps spécifiques (voie alterne) ou bien après fixation des anticorps spécifiques (voie classique). Les C3/C5 convertases sont des complexes enzymatiques dont la fonction est de cliver le composant C3 en C3b instable et C3a et le

composant C5 en C5b et C5a. De ce double clivage découlent les principaux effets biologiques de l'activation du complément.

La destinée essentielle du C3b instable produit par les C3/C5 convertases est de se fixer sur la surface cible. La déposition de C3b sur la cible constitue le phénomène d'opsonisation dont le rôle est fondamental dans la facilitation de la phagocytose. Cette déposition est un phénomène extraordinairement efficace, dû à un véritable processus d'amplification biologique, chaque molécule de C3b fixée sur la cible étant en effet capable d'assembler une nouvelle convertase. On parle de « boucle d'amplification » de la voie alterne. On comprend qu'il existe ainsi un risque considérable d'activation de la voie alterne sur les surfaces de l'hôte

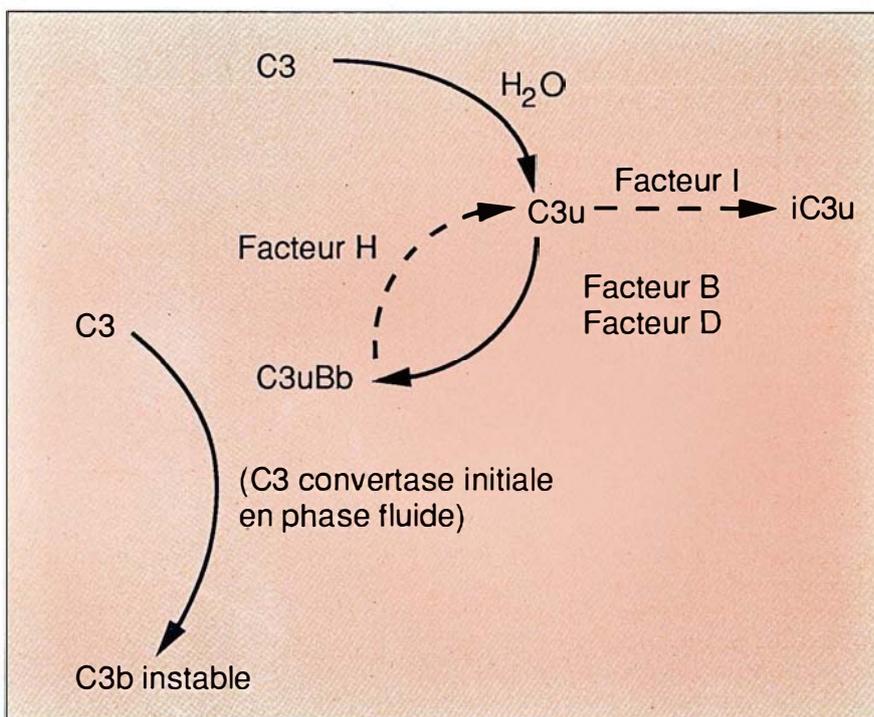


Figure 2. **Boucle d'initiation du complément.** L'organisme produit en permanence de petites quantités de C3b instable par l'intermédiaire de ce que l'on appelle la boucle d'initiation du complément. Le C3 plasmatique est continuellement hydrolysé en petites quantités donnant le C3u (ou C3(H<sub>2</sub>O)). Le C3u est capable de fixer le facteur B et d'assembler une convertase en phase fluide C3uBb, elle-même capable de cliver C3. Le facteur H contrôle l'assemblage de cette convertase, en déplaçant Bb et en étant le cofacteur de l'inactivation du C3u par le facteur I.

avoisinant la cible ainsi que dans la phase fluide.

C3a et C5a sont les anaphylatoxines\* jouant un rôle majeur dans les principaux événements de la réaction inflammatoire. Elles sont en particulier responsables du recrutement chimiotactique et de l'activation des neutrophiles, de l'augmentation de la perméabilité vasculaire et de la libération d'histamine par les mastocytes et les basophiles. Enfin, le complexe d'attaque membranaire (C5b-9) est construit à partir du C5b et des derniers composants (C6, C7, C8 et C9) du système. Il a la propriété de s'insérer dans la double couche lipidique des membranes biologiques, contribuant ainsi à la destruction de la cible.

Outre son rôle de défense contre les agents infectieux, le complément joue un rôle crucial dans l'élimination des complexes immuns. Les complexes immuns activent le complément. La déposition de C3b au niveau des complexes immuns est le facteur essentiel permettant leur solubilisation, c'est-à-dire la réduction de leur taille [3]. D'autre part, nous verrons plus loin comment le récepteur pour le complément type 1 intervient dans le transport des complexes immuns.

### Les protéines de régulation du complément

Un ensemble de protéines plasmatiques et membranaires régule l'activation du complément (figures 1, 2 et 5, Tableau I, p. 239). Ces protéines interviennent à différents niveaux, constituant autant de « verrous de sécurité ». Elles permettent d'éviter les risques d'activation des protéines du système dans la phase fluide ou au contact des surfaces de l'hôte, ainsi que les risques de diffusion des produits actifs libérés lors de l'activation du complément. Dans cette synthèse, nous mettrons l'accent sur les protéines régulant la formation des C3/C5 convertases.

\* Substance ayant la propriété de déclencher des manifestations apparentées à celles du choc anaphylactique.

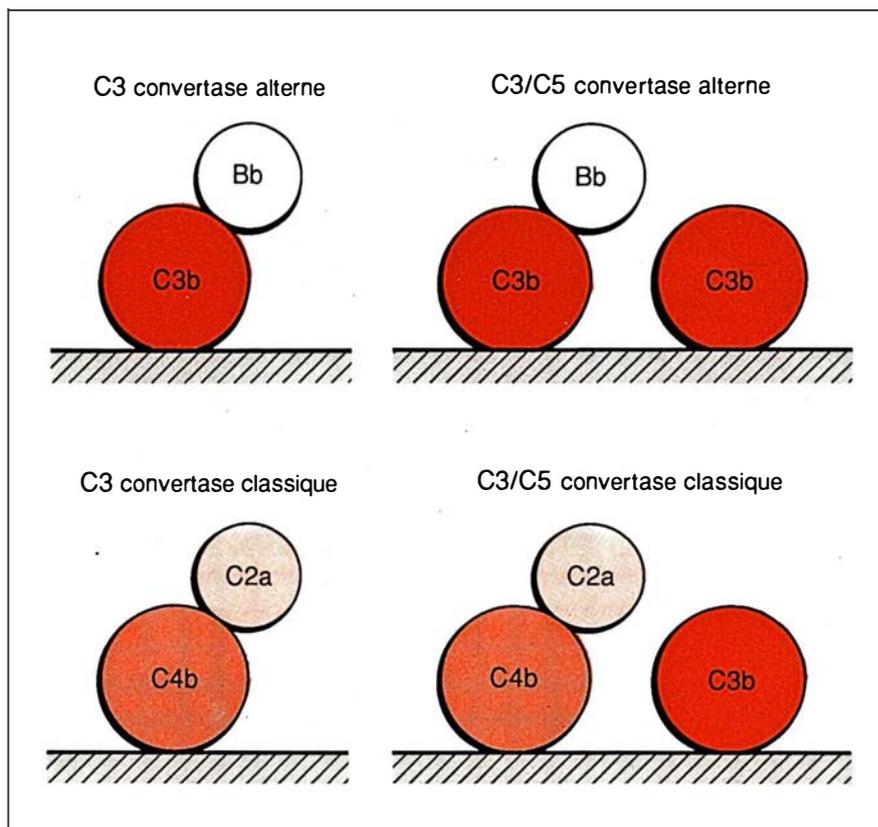


Figure 3. **Composition moléculaire des C3/C5 convertases.** Les C3/C5 convertases sont schématiquement représentées, assemblées sur une surface. Le biochimiste distingue la C3 convertase de la C3/C5 convertase. La C3 convertase acquiert la capacité de cliver le C5 dès la fixation d'une molécule additionnelle de C3b dans sa proximité immédiate (nécessaire à la fixation et à la présentation du C5). On parle alors de C3/C5 convertase.

### Contrôle de l'assemblage des C3/C5 convertases généralités

Cette régulation repose sur deux mécanismes (figure 4, p. 238) : l'accélération de la dissociation des C3/C5 convertases et l'inactivation par protéolyse du C3b et/ou du C4b. La dissociation des C3/C5 convertases consiste en un déplacement par une protéine de régulation du fragment Bb (C3/C5 convertase alterne) ou C2a (C3/C5 convertase classique) de leur ligand respectif C3b et C4b. Cette dissociation est un phénomène spontané, mais considérablement accéléré en présence d'une protéine de régulation. L'inactivation protéolytique du C3b et/ou du C4b est assurée par une enzyme plasmatique,

le facteur I. Le facteur I ne peut cependant cliver C3b et/ou C4b que lorsque ces derniers sont associés à une protéine de régulation. Cette dernière est dite « cofacteur du facteur I » dans cette réaction, et l'on parle d'activité cofactrice pour désigner ce phénomène. Certaines des protéines de régulation des convertases agissent à la fois par les deux mécanismes, certaines par l'un ou l'autre seulement (Tableau I).

Le clivage du C3b par le facteur I aboutit à la formation du iC3b (« i » pour inactivé). Le clivage du C4b par le facteur I aboutit à la formation de produits de dégradation nommés C4c et C4d. Ni C3b ni les produits de dégradation du C4 ne peuvent fixer le facteur B et le C2 respectivement et donc assembler une convertase. Dissociation des convertases et

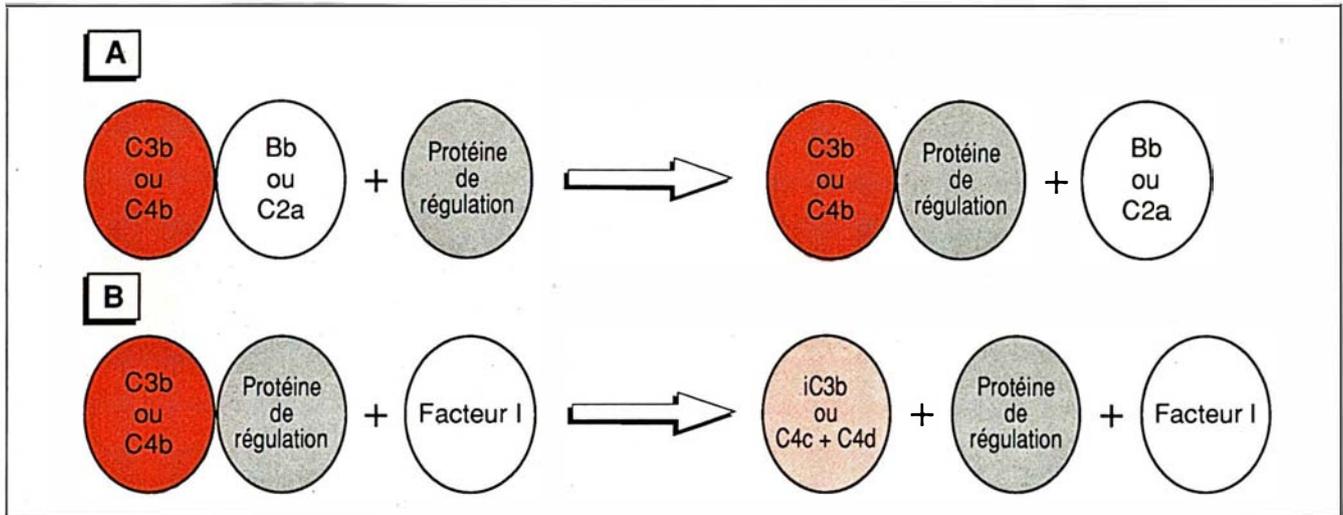


Figure 4. **Mode d'action schématique des protéines de régulation des C3/C5 convertases. A.** Accélération de la dissociation des convertases. **B.** Activité cofactrice dans l'inactivation protéolytique du C3b et/ou du C4b par le facteur I.

inactivation du C3b et/ou du C4b contribuent ainsi à bloquer l'activation du système.

Le facteur I est une sérine-protéase plasmatique possédant une remarquable spécificité pour C3b et C4b. Le facteur I clive C3b et/ou C4b, en présence d'une protéine cofactrice. Une dizaine de cas de patients avec un déficit en facteur I ont été rapportés. Ces patients présentent une susceptibilité importante aux infections bactériennes. Sur le plan biologique, il existe des signes témoignant d'une activation incontrôlée de la voie alterne tels que des taux abaissés de C3 et de facteur B. Dans une observation, l'administration de facteur I purifié a corrigé les concentrations abaissées du C3 et du facteur B [4].

Deux protéines plasmatiques, le facteur H et la C4bp (*C4 binding protein*), et trois protéines membranaires, CR1 (*complement receptor type 1*), DAF (*decay accelerating factor*) et MCP (*membrane cofactor protein*), contrôlent la dissociation des C3/C5 convertases et l'inactivation par le facteur I du C3b et/ou du C4b. Ces protéines ont toutes pour ligand le C3b et/ou le C4b et possèdent une très frappante homologie structurale (figure 5, p. 241). Leur structure primaire est organisée autour d'une unité répétitive commune de

60 acides aminés. Chacune de ces unités a une structure modulaire d'un diamètre d'environ 30-35 Å. Ces protéines apparaissent ainsi comme des structures très allongées, faites de l'arrangement linéaire de ces unités modulaires, comme semblent l'indiquer les images obtenues à présent pour le facteur H et la C4bp en microscopie électronique. Cette parenté structurale et fonctionnelle est également soulignée par le fait que les gènes de structure codant pour le facteur H, la C4bp, CR1, DAF et MCP sont localisés dans une même région, au niveau du chromosome 1, maintenant appelée « groupe de liaison RCA » (*regulators for complement activation*). Ces protéines contrôlant les C3/C5 convertases constituent une superfamille de protéines ayant probablement évolué par des mécanismes de duplication d'un exon codant pour une unité répétitive ancestrale [5, 6].

### Les protéines plasmatiques contrôlant l'assemblage des C3/C5 convertases

Le facteur H est une très abondante glycoprotéine plasmatique, synthétisée par le foie, les cellules du système macrophagique et la cellule endothé-

liale [7]. Il est constitué d'une chaîne polypeptidique unique faite de l'association de 20 des unités répétitives décrites plus haut [8]. Le facteur H a la propriété de se fixer au C3b, que ce dernier soit en phase fluide ou attaché à une surface. Il régule l'assemblage de la C3/C5 convertase alterne par les deux mécanismes décrits plus haut : accélération considérable de la vitesse de dissociation de la convertase alterne par compétition avec le facteur B et activité cofactrice dans l'inactivation protéolytique du C3b par le facteur I. Nous avons vu qu'il existait un double risque d'activation de la voie alterne sur les surfaces de l'hôte et dans la phase fluide. Le facteur H est la seule protéine protégeant de l'activation de la voie alterne dans la phase fluide. Au niveau des surfaces de l'hôte, cette protection fait également appel aux protéines membranaires CR1, DAF et MCP. Le facteur H contrôle également la boucle d'initiation de la voie alterne en contrôlant l'assemblage de la convertase initiale en phase fluide C3uBb (figure 2). Quelques observations de patients présentant un déficit héréditaire en facteur H ont été rapportées [9, 10]. Il s'agit de déficits incomplets. L'existence d'une glomérulonéphrite apparaît être extrêmement

fréquente chez ces patients, avec une grande hétérogénéité dans le type anatomique des lésions glomérulaires. Les taux abaissés de C3 et de facteur B, ainsi que la présence de produits de dégradation de C3 à la surface des globules rouges, reflètent l'activation incontrôlée de la voie alterne du complément. Les relations de cause à effet entre le déficit en facteur H et les lésions glomérulaires ne sont pas encore comprises. Par la régulation de la C3 convertase alterne, le facteur H joue un rôle crucial dans le phénomène de la dis-

tingtion par la voie alterne entre surfaces dites « activatrices » et « non activatrices ». Sur une surface cible activatrice, le C3b peut assembler une C3/C5 convertase et activer ainsi la boucle d'amplification de la voie alterne. Sur les surfaces de l'hôte, et plus généralement sur une surface non activatrice, l'assemblage de la C3/C5 convertase alterne n'est pas possible. Le facteur H et les protéines membranaires de régulation des C3/C5 convertases sont à l'origine de cette discrimination.

Le rôle du facteur H est illustré par

le fait expérimental suivant : au niveau d'une surface activatrice, le C3b est inaccessible au facteur H. Le C3b peut donc assembler une C3/C5 convertase alterne. En revanche, au niveau d'une surface non activatrice, le C3b est accessible au facteur H, et il ne peut donc y avoir assemblage d'une convertase alterne. Sur le plan biochimique, on observe que l'affinité du facteur H pour le C3b fixé sur une surface activatrice est de plusieurs ordres de grandeur inférieure à l'affinité du facteur H pour le C3b fixé sur une surface non activa-

Tableau I  
LES PROTÉINES CONTRÔLANT L'ASSEMBLAGE DES C3/C5 CONVERTASES  
PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES ET DISTRIBUTION

	PM approximatif	Distribution	Ligand	Mode d'action
<b>Facteur H</b>	155 000 1 chaîne	Plasmatique (500 µg/ml) Forme membranaire décrite	C3b	Accélération de la dissociation de la C3/C5 convertase alterne Cofacteur du facteur I dans l'inactivation du C3b
<b>C4bp</b>	500 000 7 chaînes identiques	Plasmatique (250 µg/ml)	C4b	Accélération de la dissociation de la C3/C5 convertase classique Cofacteur du facteur I dans l'inactivation du C4b
<b>CR1</b>	200 000 1 chaîne	Membranaire (érythrocytes, lymphocytes B, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, monocytes/macrophages, cellules dendritiques des follicules lymphoïdes, podocytes glomérulaires) Forme plasmatique décrite	C3b et C4b	Accélération de la dissociation des C3/C5 convertases alterne et classique Cofacteur du facteur I dans l'inactivation du C3b et du C4b
<b>DAF</b>	70 000 1 chaîne	Membranaire largement distribuée (érythrocytes, plaquettes, tous les leucocytes, les cellules épithéliales, les cellules endothéliales) Forme plasmatique décrite	C3b et C4b	Accélération de la dissociation des C3/C5 convertases alterne et classique
<b>MCP</b>	45 000-70 000 1 chaîne	Membranaire largement distribuée (réticulocytes, polynucléaires neutrophiles, monocytes, lymphocytes B et T, les plaquettes, les cellules épithéliales, les cellules endothéliales, les fibroblastes) Plasmatique (20 µg/ml)	C3b et C4b	Cofacteur du facteur I dans l'inactivation du C3b et du C4b
<b>Properdine</b>	Polymères d'une chaîne de 56 000	Plasmatique (20 µg/ml)	C3b	Stabilise la C3/C5 convertase alterne
<b>Facteur I</b>	88 000 2 chaînes	Plasmatique (30 µg/ml)	Complexe C3b + cofacteur et/ou C4b + cofacteur	Inactivation protéolytique du C3b et/ou du C4b en présence du cofacteur correspondant

## RÉFÉRENCES

11. Kazatchkine MD, Fearon DT, Austen KF. Human alternative complement pathway: membrane-associated sialic acid regulates the competition between B and  $\beta$ 1H for cell-bound C3b. *J Immunol* 1979; 122: 75-81.
  12. Okada N, Yasuda T, Okada H. Restriction of alternative complement pathway activation by sialoglycolipids. *Nature* 1982; 299: 261-3.
  13. Joiner KA, Brown EJ, Frank MM. Complement and bacteria: chemistry and biology in host defense. *Ann Rev Immunol* 1984; 2: 461-91.
  14. Oldstone MBA, Sissons JGP, Fujinami RS. Action of antibody and complement in regulating virus infection. In: Fougereau M, Dausset J, eds. *Progress in Immunology IV, Vol. 1*. London: Academic Press, 1980: 599-621.
  15. Edwards MS, Nicholson-Weller A, Baker LJ, Kasper DL. The role of specific antibody in alternative complement pathway-mediated opsonophagocytosis of type III, group B streptococcus. *J Exp Med* 1980; 151: 1275-87.
  16. Chung LP, Bentley DR, Reid KBM. Molecular cloning and characterisation of the cDNA coding for C4b-binding protein, a regulatory protein of the classical pathway of the human complement system. *Biochem J* 1985; 230: 133-41.
  17. Villiers MB, Thielens NM, Villiers CL, Colomb MG. Ultrastructure of human C4-binding protein: proposition for a new model. *Eur J Immunol* 1985; 15: 941-5.
  18. Low MG. Biochemistry of the glycosylphosphatidylinositol membrane protein anchors. *Biochem J* 1987; 244: 1-13.
  19. Caras IW, Dovitz MA, Rhee L, Weddell G, Martin, Jr DW, Nussenzweig V. Cloning of decay accelerating factor suggests novel use of splicing to generate two proteins. *Nature* 1987; 325: 545-8.
  20. Medof ME, Kinoshita T, Silber R, Nussenzweig V. Amelioration of the lytic abnormalities of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with Decay Accelerating Factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 2980-4.
  21. Klickstein LB, Wong WW, Smith JA, Weis JH, Wilson JG, Fearon DT. Human C3b/C4b receptor (CR1). Demonstration of long homologous repeating domains that are composed of the short consensus repeats characteristic of C3/C4 binding proteins. *J Exp Med* 1987; 165: 1095-112.
- trice [2]. Les caractéristiques biochimiques de la surface sont responsables de cette modification de l'affinité du facteur H pour le C3b. On a fait jouer un grand rôle à l'acide sialique de surface [11]. Dans un système utilisant des liposomes, on a pu montrer que des modifications des caractéristiques biochimiques de la membrane conditionnent le caractère activateur de cette dernière, l'incorporation de glycolipides contenant de l'acide sialique dans la membrane du liposome rendant cette dernière non activatrice [12]. La présence d'une capsule, riche en acide sialique, est un facteur de résistance des bactéries à la voie alterne du complément [13]. Ainsi, selon la nature de leur surface, les micro-organismes peuvent activer plus ou moins efficacement la voie alterne. Mentionnons ici l'importance des anticorps spécifiques dans le recrutement de la voie alterne. Il a été montré que, pour de nombreuses cellules infectées par un virus [14] et des bactéries (voir, par exemple, le streptocoque type III groupe B [15]), la fixation d'un anticorps spécifique peut rendre activateur une surface qui l'était peu ou pas. Le mécanisme en jeu n'est pas encore clairement élucidé, mais tout se passe comme si l'anticorps protégeait la surface cible de l'intervention du facteur H, autorisant ainsi le recrutement de la voie alterne.
- Pour ce qui est des surfaces de l'hôte, le facteur H n'est pas le seul en cause dans la protection contre l'assemblage de la C3/C5 convertase alterne. La présence des protéines membranaires de régulation (voir intertitre suivant) contribue également à cette protection. Ainsi, lorsque du C3b se dépose au niveau des surfaces de l'hôte, le jeu combiné des protéines membranaires de régulation et du facteur H contribue à empêcher la formation d'une C3/C5 convertase alterne. C'est là que réside le phénomène de la reconnaissance du soi par la voie alterne. Au niveau d'une surface activateur, l'absence des protéines membranaires de régulation et l'inaccessibilité au facteur H permettent l'assemblage d'une C3/C5 convertase alterne.
- La C4bp est une protéine plasmaticque principalement synthétisée par le foie. Elle possède une structure multichaîne très particulière, chaque chaîne comportant huit des unités répétitives décrites plus haut [16, 17]. La C4bp contrôle la formation de la convertase classique C4b, C2a. Elle accélère sa dissociation spontanée et elle est le cofacteur nécessaire au clivage et à l'inactivation du C4b par le facteur I. Dans les deux cas, la C4bp agit en se fixant sur son ligand spécifique, le C4b. Elle contribue à limiter l'assemblage de la C3/C5 convertase classique à la proximité immédiate de l'anticorps et inactive le C4b ayant pu diffuser à distance, qu'il soit en phase fluide ou fixé à une surface.

### Les protéines membranaires contrôlant l'assemblage des C3/C5 convertases

Elles sont très largement distribuées. Cela témoigne très certainement de leur importance. Pourquoi les seules protéines plasmatiques, facteur H et C4bp, sont-elles insuffisantes pour assurer le contrôle de l'assemblage des C3/C5 convertases? Nous avons vu que C3b et/ou C4b peuvent se fixer sur des groupements chimiques très ubiquitaires que l'on trouve en abondance sur les surfaces cellulaires de l'hôte. Il est probable que, dans certaines localisations, C3b et/ou C4b soient peu ou pas accessibles aux protéines plasmatiques de régulation, ce qui a rendu nécessaire la présence de protéines membranaires de régulation des C3/C5 convertases. Une deuxième possibilité est que, dans les espaces extravasculaires, la disponibilité en protéines plasmatiques de régulation soit insuffisante et que la protection supplémentaire représentée par les protéines membranaires de régulation des C3/C5 convertases ait été rendue nécessaire. Trois protéines ont, à ce jour, été bien caractérisées: DAF, CR1 et MCP.

La distribution cellulaire de DAF est extrêmement vaste (Tableau I). DAF fait partie des protéines associées à la membrane par une liaison glycosylphosphatidylinositol [18]. Sa structure primaire comporte quatre des unités répétitives analysées précédemment à son extrémité N-terminale [19]. DAF accélère la dissociation des deux C3/C5 convertases. A

la différence du facteur H, de la C4bp, de CR1 et de MCP, elle ne possède pas d'activité cofactrice pour l'inactivation du C3b ou du C4b par le facteur I. Au niveau des érythrocytes, seuls CR1 et DAF sont présents pour contrôler l'assemblage des C3/C5 convertases. Des études utilisant des anticorps spécifiques bloquant sélectivement chacune de ces protéines permettent de penser que, au niveau des érythrocytes, DAF est le responsable de la dissociation des C3/C5 convertases, CR1 étant le responsable unique de l'activité cofactrice [2]. Cette observation est très importante dans la compréhension de l'hémoglobinurie nocturne paroxystique. Cette dernière est une anémie hémolytique acquise, caractérisée par la présence d'une population de globules rouges anormalement sensibles à la lyse par le complément. Une population de

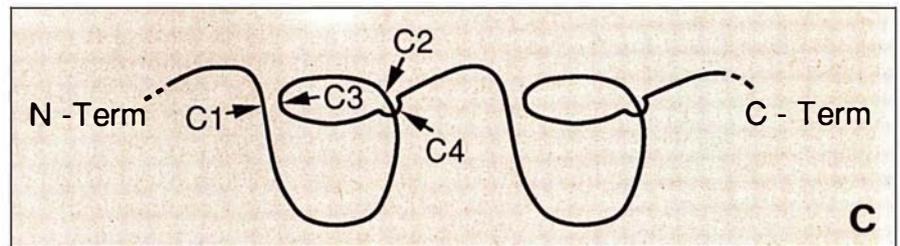
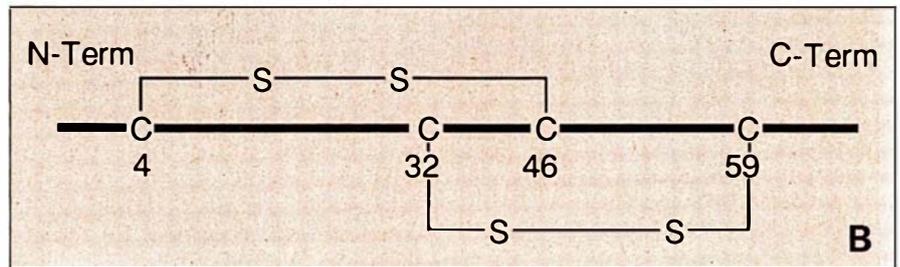
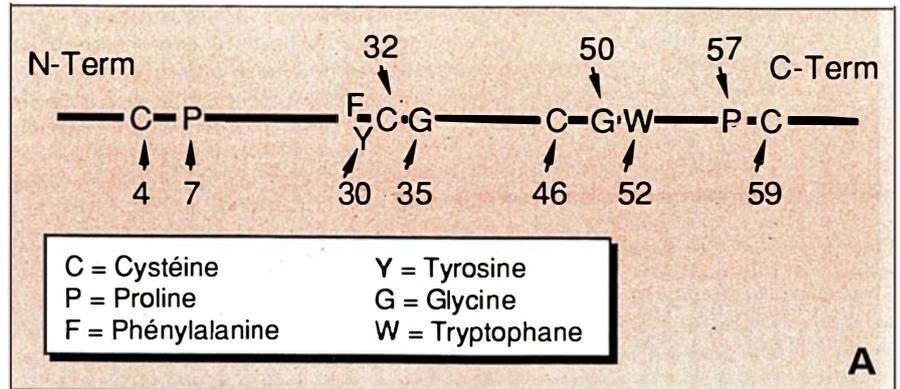
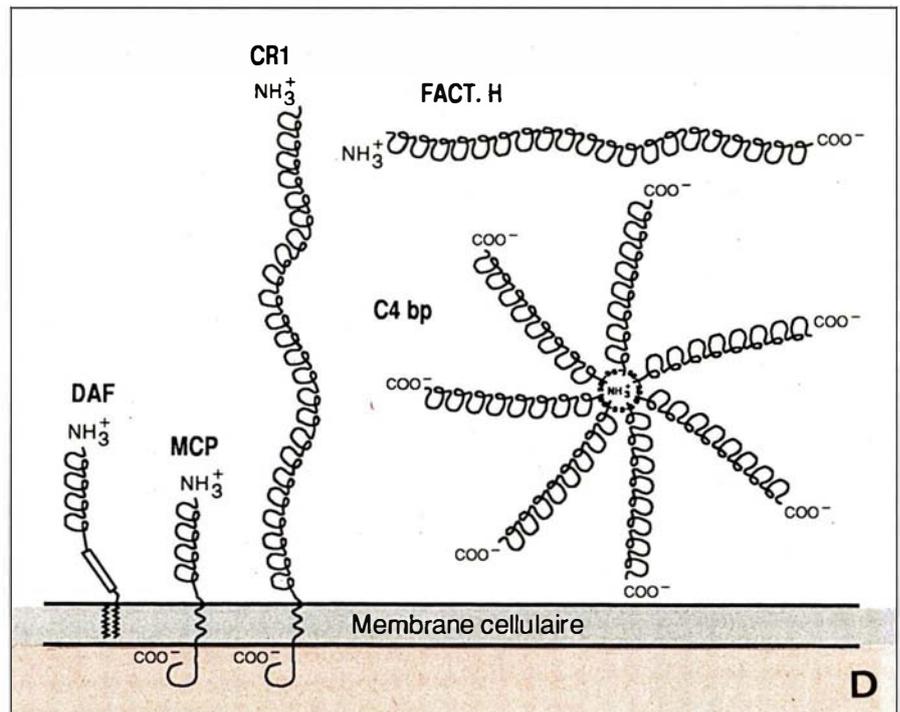


Figure 5. **La superfamille des protéines contrôlant l'assemblage des C3/C5 convertases. Données structurales.** **A. Les unités répétitives de 60 acides aminés.** Ces unités répétitives sont organisées sur un canevas d'acides aminés remarquablement conservés. Les cystéines, en particulier, sont invariablement conservées. Une unité répétitive est schématisée, avec le positionnement respectif des acides aminés conservés. **B. Localisation des ponts disulfures dans chaque unité répétitive.** Dans la limite des unités répétitives étudiées, les ponts disulfures apparaissent très régulièrement organisés selon le schéma : 1<sup>re</sup> cystéine/3<sup>e</sup> cystéine et 2<sup>e</sup> cystéine/4<sup>e</sup> cystéine. **C. Modèle schématique de la structure secondaire d'une unité répétitive.** Ce modèle ne tient compte que de la disposition des ponts disulfures. Chaque unité répétitive apparaît comme un module distinct. **D. Modèle schématique de la structure des protéines contrôlant l'assemblage des C3/C5 convertases.** DAF est inséré dans la membrane par une liaison glycosylphosphatidylinositol, MCP et CR1 par un segment transmembranaire. Il existe un modèle à dix chaînes pour la C4bp [17].



## RÉFÉRENCES

22. Cornacoff JB, Hebert LA, Smead WL, Vanaman ME, Birmingham DJ, Waxman FJ. Primate erythrocyte immune-complex clearing mechanism, *J Clin Invest* 1983 ; 71 : 236-47.
23. Walport MJ, Ross GD, Mackworth-Young C, Watson JV, Hogg N, Lachmann PJ. Family studies of complement receptor type 1 levels: reduced levels in patients with SLE are acquired, not inherited. *Clin Exp Immunol* 1985 ; 59 : 457-554.
24. Kazatchkine MD, Fearon DT, Appay MD, Mandet C, Bariety J. Immunohistochemical study of the human glomerular C3b receptor in normal kidney and in seventy-five cases of renal disease. *J Clin Invest* 1982 ; 69 : 900-12.
25. Seya T, Turner JR, Atkinson JP. Purification and characterization of a membrane protein (gp45-70) that is a cofactor for cleavage of C3b and C4b *J Exp Med* 1986 ; 163 : 837-55.
26. Lublin DM, Liszewski MK, Post TW, et al. Molecular cloning and chromosomal localization of human membrane cofactor protein (MCP). *J Exp Med* 1988 ; 168 : 181-94.
27. Densen P, Weiler JM, Griffis JML, Hoffmann LG. Familial properdin deficiency and fatal meningococemia. Correction of the bactericidal defect by vaccination. *N Engl J Med* 1987 ; 316 : 922-6.
28. Sim RB, Reboul A. Preparation and properties of human C1-inhibitor. *Meth Enzymol* 1981 ; 80C : 43-54.
29. Tschopp J, Masson D, Schafer S, Peitsch M, Preissner KT. The heparin binding domain of S-protein/vitronectin binds to complement components C7, C8 and C9 and perforin from cytolytic T-cells and inhibits their lytic activities. *Biochemistry* 1988 ; 27 : 403-9.
30. Zalman LS, Wood LM, Frank MM, Muller-Eberhard HJ. Deficiency of the homologous restriction factor in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Exp Med* 1987 ; 165 : 572-7.
31. Fries LF, Friedman HM, Cohen GH, Eisenberg RJ, Hammer CH, Franck MM. Glycoprotein C of Herpes simplex virus 1 is an inhibitor of the complement cascade. *J Immunol* 1988 ; 137 : 1636-41.
32. Horstmann RD, Sievertsen HJ, Knobloch J, Fischetti VA. Antiphagocytic activity of streptococcal M protein: selective binding of complement control protein factor H. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 1657-61.

plaquettes et de granulocytes présente également cette sensibilité anormale. Sur le plan biologique, on peut observer : (a) que les globules rouges anormaux ont une capacité de fixation élevée de C3b et ceci est corrélé à la durée de vie accrue de la C3 convertase C3b, Bb à la surface de ces globules rouges ; (b) qu'il existe une sensibilité accrue des globules rouges anormaux à la lyse par le complexe C5b-9. L'origine de ces deux anomalies est maintenant comprise. Il existe un déficit en DAF à la surface des érythrocytes anormaux, également retrouvé à la surface de la population anormale de plaquettes et de granulocytes. Ce déficit en DAF explique la demi-vie accrue de la C3 convertase C3b, Bb à la surface des érythrocytes anormaux, puisque DAF est la seule protéine possédant une activité de dissociation des C3 convertases à ce niveau. La réincorporation de DAF corrige cette anomalie [20]. La seconde anomalie biologique est expliquée par une déficience en HRF (voir plus loin). La distribution cellulaire de CR1 est indiquée dans le *Tableau I*. Malgré le nombre modeste de CR1 par globule rouge, le réservoir de CR1 érythrocytaire est le principal dans l'organisme du fait du nombre élevé des globules rouges. CR1 est une glycoprotéine constituée de 30 des unités répétitives décrites précédemment, dans sa forme allotypique la plus courante [21]. CR1 possède à la fois les propriétés du facteur H et de la C4bp dans sa fonction de régulation des convertases. Le rôle précis de CR1 dans la protection des membranes du soi contre l'assemblage des C3/C5 convertases reste encore l'objet de questions. Par exemple, au niveau des globules rouges, comme nous l'avons mentionné, CR1 ne semble pas nécessaire au contrôle de la dissociation des C3/C5 convertases, alors que la protéine purifiée est capable d'accélérer cette dissociation. Ceci est-il vrai pour toutes les membranes sur lesquelles se trouve CR1 ? Il semble que l'inhabituelle longueur de CR1 (*figure 5D*) lui permette d'avoir accès aux membranes voisines et de contrôler l'assemblage des C3/C5 convertases sur des surfaces situées à distance.

C'est par son rôle de récepteur du C3b et/ou du C4b que CR1 joue un

rôle essentiel dans la phagocytose et l'élimination des complexes immuns. Dans ces deux phénomènes, lesquels débordent le cadre de la régulation proprement dite des C3/C5 convertases, CR1 fait intervenir sa propriété de pouvoir fixer une molécule de C3b et/ou de C4b présente sur une surface extérieure à la surface sur laquelle il se trouve. Dans le mécanisme de la phagocytose, CR1 est la molécule responsable de l'adhérence des micro-organismes opsonisés par du C3b et/ou du C4b aux cellules phagocytaires, première étape avant la phase d'ingestion.

En ce qui concerne l'élimination des complexes immuns, un immense intérêt a été attaché au CR1 du fait de son rôle central dans ce phénomène. Les complexes immuns activent le complément et fixent donc du C3b et/ou du C4b [3]. Il a été montré que les complexes immuns ainsi opsonisés par du C3b et/ou du C4b étaient très rapidement adsorbés sur la surface des globules rouges par l'intermédiaire du CR1. Les complexes immuns sont de ce fait soustraits du torrent circulatoire, et ceci semble être un mécanisme majeur de protection contre le risque de leur déposition dans les tissus. D'élégantes expériences ont démontré que les complexes immuns ainsi fixés aux globules rouges étaient transportés jusqu'au système macrophagique du foie où ils étaient libérés [22]. On observe une réduction du nombre des molécules de CR1 érythrocytaire dans un certain nombre de maladies à complexes immuns, telles que le lupus érythémateux disséminé. Certaines communications ont mis l'accent sur une possible origine héréditaire de ce phénomène. Mais de récentes études semblent montrer que la réduction du CR1 érythrocytaire pourrait être un phénomène acquis [23]. L'idée la plus généralement admise est que la libération des complexes immuns dans le système macrophagique du foie s'accompagne d'une perte concomitante du CR1. L'absence ou la réduction de CR1 au niveau des podocytes glomérulaires a été observée dans la hyalinose focale et la néphrite prolifératrice sévère du lupus érythémateux disséminé [24]. Les relations de cause à effet entre ces néphropathies glomérulaires et la réduction du CR1

des podocytes restent cependant à préciser.

La troisième protéine de membrane contrôlant l'assemblage des C3/C5 convertases est MCP. MCP, de caractérisation très récente, a une distribution cellulaire similaire à celle de DAF, mais n'inclut pas les érythrocytes. MCP fixe le C3b et le C4b et a une très puissante activité cofactrice pour l'inactivation du C3b et/ou du C4b par le facteur I. MCP ne possède pas d'activité de dissociation des convertases [25]. Sa structure primaire est organisée autour de quatre des unités répétitives analysées précédemment [26].

### La properdine

La properdine a la particularité de stabiliser la C3/C5 convertase de la voie alterne. La C3 convertase ainsi stabilisée est plus résistante à l'action des protéines de régulation, facteur H et facteur I. Cette protéine joue un rôle essentiel dans la défense contre le méningocoque. De nombreux cas de déficit en properdine ont été décrits. Plus de la moitié des patients avaient une infection gravissime à méningocoque. La stabilisation correcte par la properdine de la C3 convertase alterne à la surface du méningocoque semble donc être essentielle à la destruction de ce dernier [27].

### Les autres protéines de régulation

Le C1 inhibiteur (C1inh) est une glycoprotéine plasmatique dont le foie est la source principale. Il contrôle l'activation du C1 par un double mécanisme de blocage de l'activation spontanée du C1 et de dissociation du C1 activé (28). Le C1inh évite le risque d'activation spontanée du C1 dans la phase fluide et au contact des surfaces de l'hôte. Au niveau d'un activateur de la voie classique, l'activation du C1 l'emporte sur l'effet de contrôle du C1inh. Le déficit héréditaire en C1inh est responsable de l'œdème angioneurotique héréditaire.

Il existe un risque d'insertion du complexe d'attaque membranaire sur les membranes de l'hôte contrôlé par deux protéines : la protéine S et le

HRF (*homologous restriction factor*). La protéine S (ou vitronectine plasmatique) a la propriété de se fixer sur les complexes intermédiaires dans la formation du complexe d'attaque membranaire et de bloquer les sites de fixation aux membranes de ce dernier [29].

HRF est une protéine décrite au niveau de la membrane des érythrocytes, mais qui semble être largement distribuée. HRF a la propriété de fixer le C8 et/ou le C9 entrant dans la composition du complexe C5b-9 et de prévenir la lyse des érythrocytes par le complexe d'attaque membranaire. Fait remarquable, cette action est spécifique d'espèce ; HRF protège les érythrocytes humains de la lyse par un complexe d'attaque membranaire autologue ou homologue, mais non par un complexe d'attaque membranaire hétérologue. Un grand intérêt est attaché à l'étude du HRF ; en effet, cette protéine est absente de la membrane des érythrocytes anormaux des patients atteints d'hémoglobinurie nocturne paroxystique. Cette déficience explique la sensibilité anormale de ces érythrocytes au complexe d'attaque membranaire humain [30]. Mentionnons seulement le rôle de la carboxypeptidase N plasmatique dans le contrôle de la diffusion des anaphylatoxines. Cette enzyme détache les résidus arginines C-terminaux des anaphylatoxines essentiels à l'activité de ces dernières.

### Conclusion

Les protéines de régulation du complément constituent un véritable système de reconnaissance permettant à l'organisme d'éviter l'activation du complément sur ses propres surfaces. De nombreux micro-organismes ont développé des moyens de tromper ce système de reconnaissance par des modifications de leur surface. Nous avons discuté le rôle protecteur de l'acide sialique de surface. Dans le même sens, il est intéressant de noter que les cellules infectées par le virus *Herpes simplex* type I expriment une protéine de surface capable de dissocier les convertases [31], et que les streptocoques du groupe A sont capables de fixer le facteur H de l'hôte, se protégeant ainsi de l'activation de la voie alterne [32] ■

## Summary

### Regulatory proteins of the complement system

Complement activation is precisely regulated by a number of fluid-phase and membrane-bound proteins. Activation of C1 is controlled by plasma C1 inhibitor. The assembly of the C3/C5 convertases is down-regulated by two basic mechanisms : the decay acceleration of the preformed convertases and the proteolytic inactivation of C3b and/or C4b by the serine protease factor I. Plasma (factor H, C4bp), and membrane-bound (CR1, DAF, MCP) proteins contribute to this regulation. By preventing complement activation on the host surfaces, these proteins play a central role in the recognition of self by complement. These proteins have C3b and/or C4b for ligand and recent structural studies have shown that they belong to a superfamily of structurally related proteins. All have in common a 60 amino acids repeat unit based on a framework of highly conserved residues. Properdin has a stabilizing effect on the alternative C3/C5 convertase. At the final steps of complement activation, the risk of formation and insertion of the membrane attack complex into the host membranes is avoided by plasma S-protein and membrane-bound HRF. The anaphylatoxins are inactivated by plasma carboxypeptidase N. Recent advances concerning the regulation of complement activation with special emphasis on the regulation of the assembly of the C3/C5 convertases are presented and discussed.

TIRÉS A PART

J. Ripoché.