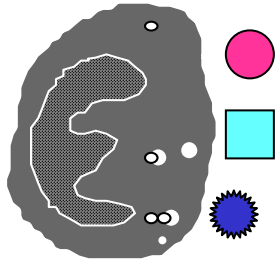


IMMUNITE INNEE:
SYSTÈME DU COMPLEMENT
Et
POLYNUCLEAIRES NEUTROPHILES

Pr MA GOUGEROT-POCIDALO
Faculté Paris7-Bichat

DIFFERENTS TYPES DE REponses IMMUNITAIRES

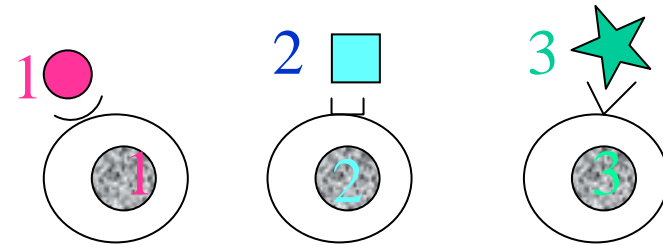
Naturelle = innée
Non spécifique



Immédiate
Pas de mémoire

Barrière cutanéomuqueuse
Cils de C. muqueuses
pH
Equilibre de la flore
Substances microbicides
Syst. Complément
Phagocytes (PN, mono/m Φ)
Cellules Natural Killer (NK)
Cellules dendritiques

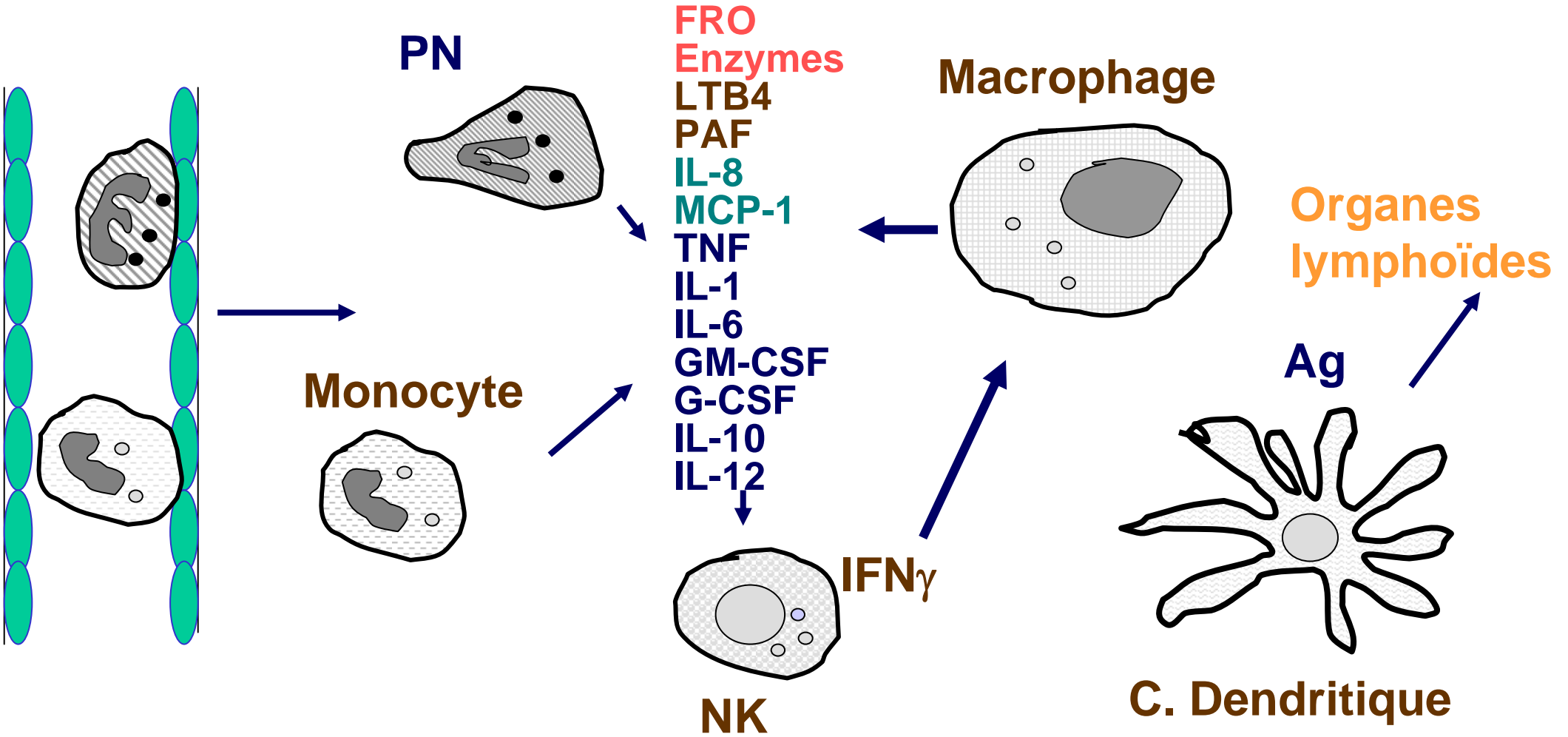
Adaptative
Spécifique



Qlqs jours
+efficace lors de contacts répétés
mémoire I°
base des vaccinations

Lymphos T
Lymphos B
Anticorps

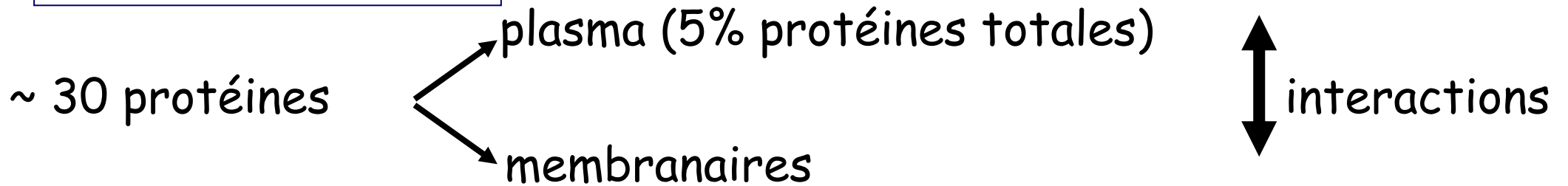
Agent Pathogène		
<i>Complément</i>	<i>N-formyl peptides</i>	<i>Endotoxines</i>
<i>C3a C5a</i>		



Le système du complément

- Introduction
- Les composants
- Voie classique
- Voie alterne
- Voie des lectines
- Complexe d'attaque membranaire
- Régulation
- Conséquences biologiques
- Déficits congénitaux

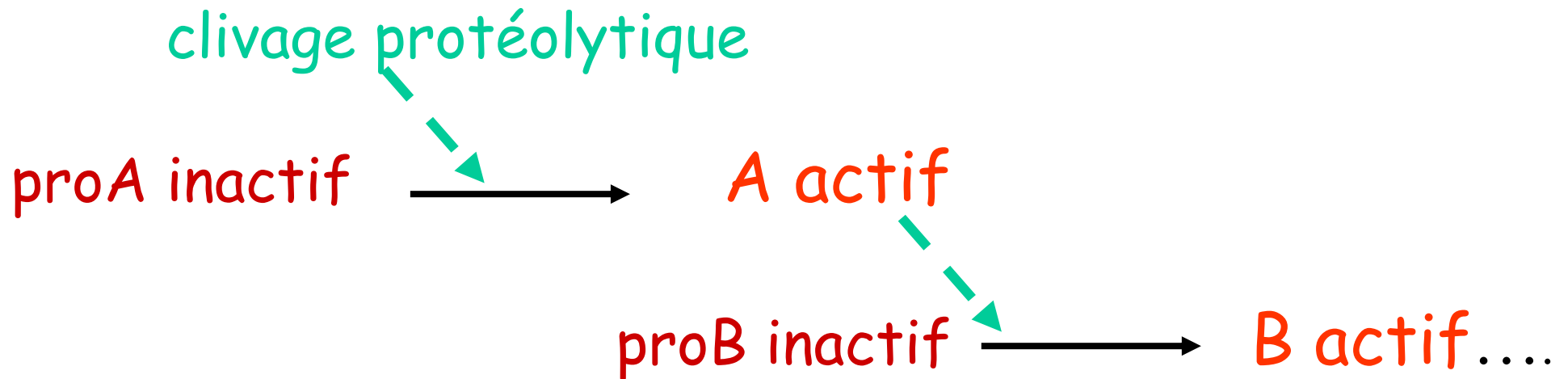
Introduction



- Capable d'intervenir rapidement et de façon localisée
→ « urgence »
- Activations en cascade
- 3 voies d'activation distinctes, parallèles → clivage du C3
- 1 seule voie commune effectrice terminale (complexe d'attaque membranaire)
- Nombreux effets biologiques
 - étapes intermédiaires
 - fin de la cascade
- Régulations fines et indispensables

Les composants du complément

- Protéines synthétisées par les hépatocytes
- $\frac{1}{2}$ vie courte ~ 24h (consommation permanente)
- Circulent dans le plasma sous forme inactive



- Fragments actifs rapidement inactivés s'ils ne réagissent pas avec le fragment suivant de la cascade

Nomenclature

- voie classique et Complexe d'Attaque Membranaire : C1.... C9
- 3 sous-unités du C1 : C1q C1r C1s
- fragment de clivage protéolytique : a, b (C3a, C3b...)
- i: molécule inactivée (C3bi...)
- voie alterne et voie des lectines : lettre majuscule (D, MBL...)
- composant : composant à activité enzymatique

**VOIE CLASSIQUE:
Ag-Ac**

VOIE DES LECTINES

C1q

Liaison aux immuns complexes

MBL

(Mannan binding lectin)

Liaison aux sucres des surfaces microbiennes

C1r, C1s

MASP

**Activation de C4 puis de C2
C4b2a**

C3 convertase

Activation de C3

C5 convertase

C5-C9

**Voie finale commune:
Complexe d'attaque
membranaire**

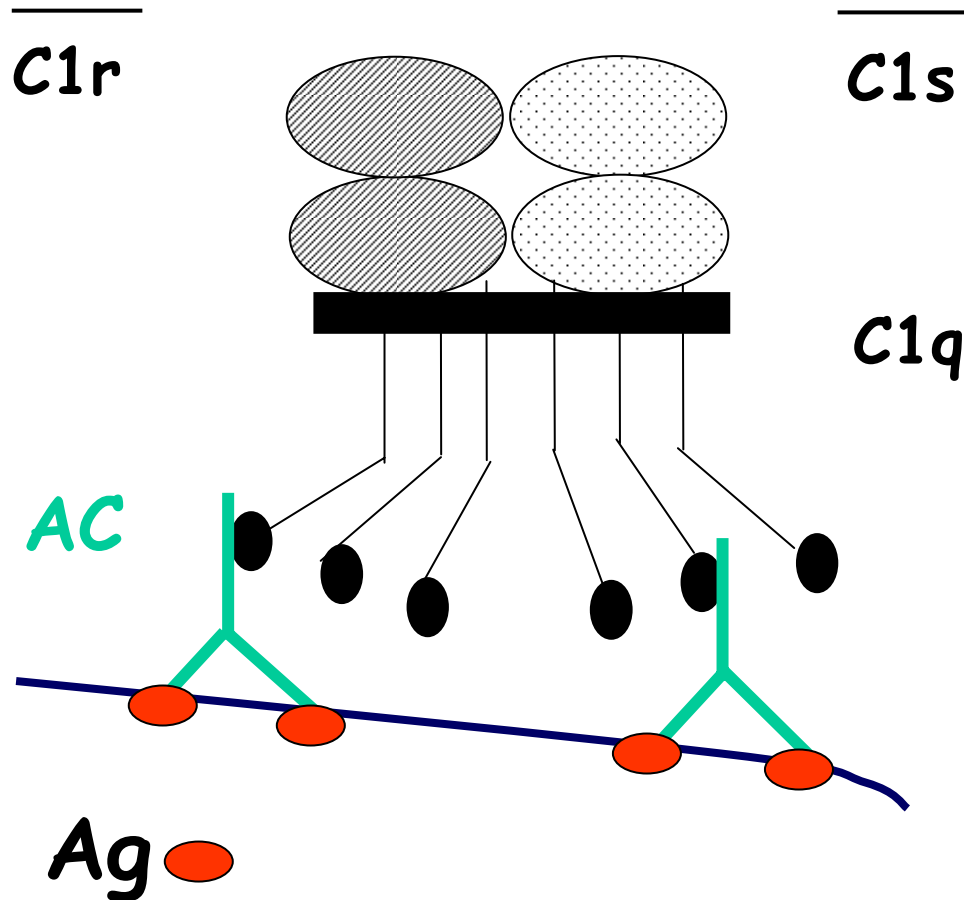
VOIE ALTERNE

C3 convertase

C3, B, D

**Liaison aux surfaces des
micro-organismes**

Activation de la voie classique



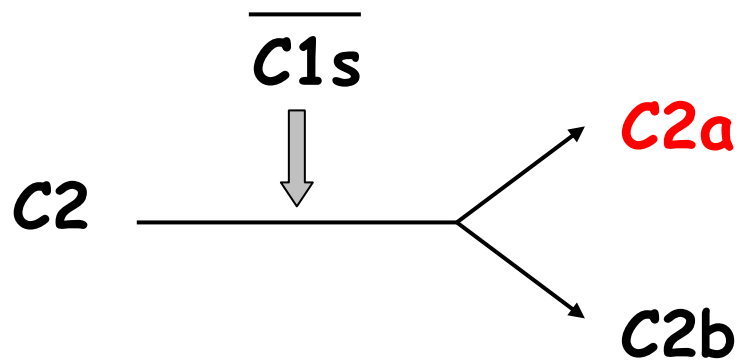
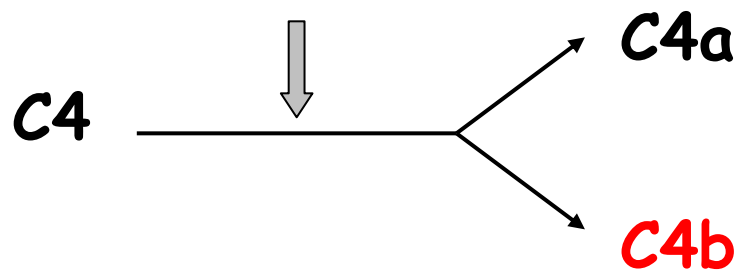
Par ex à la surface d'une mb

Activateurs du C1 :

- Complexe Ag/Ac
via 2 IgG_{1,2,3} ou 1 IgM
- CRP, paroi bactérienne,
- LPS, enveloppe de virus (VIH)

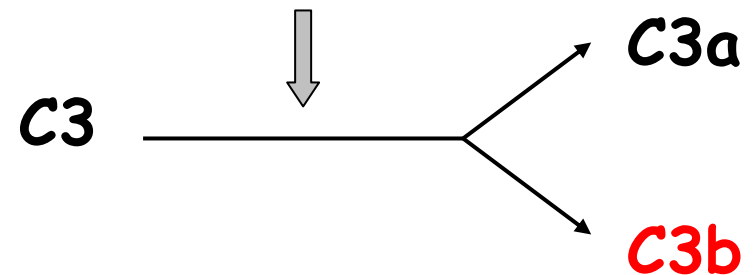
- Ca⁺⁺

C1 estérase= $\overline{C1s}$

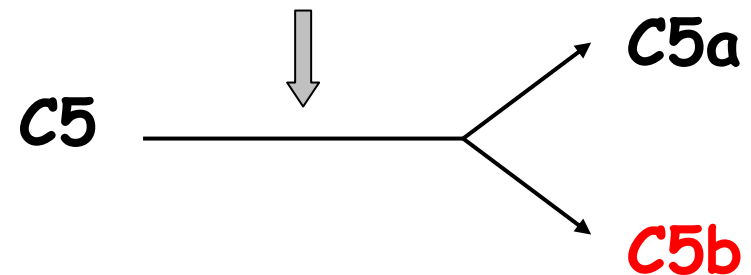


fixation covalente sur Ag/AC

$C4b2a = C3$ convertase classique



$C4b2a3b = C5$ convertase



Activation de la voie alterne

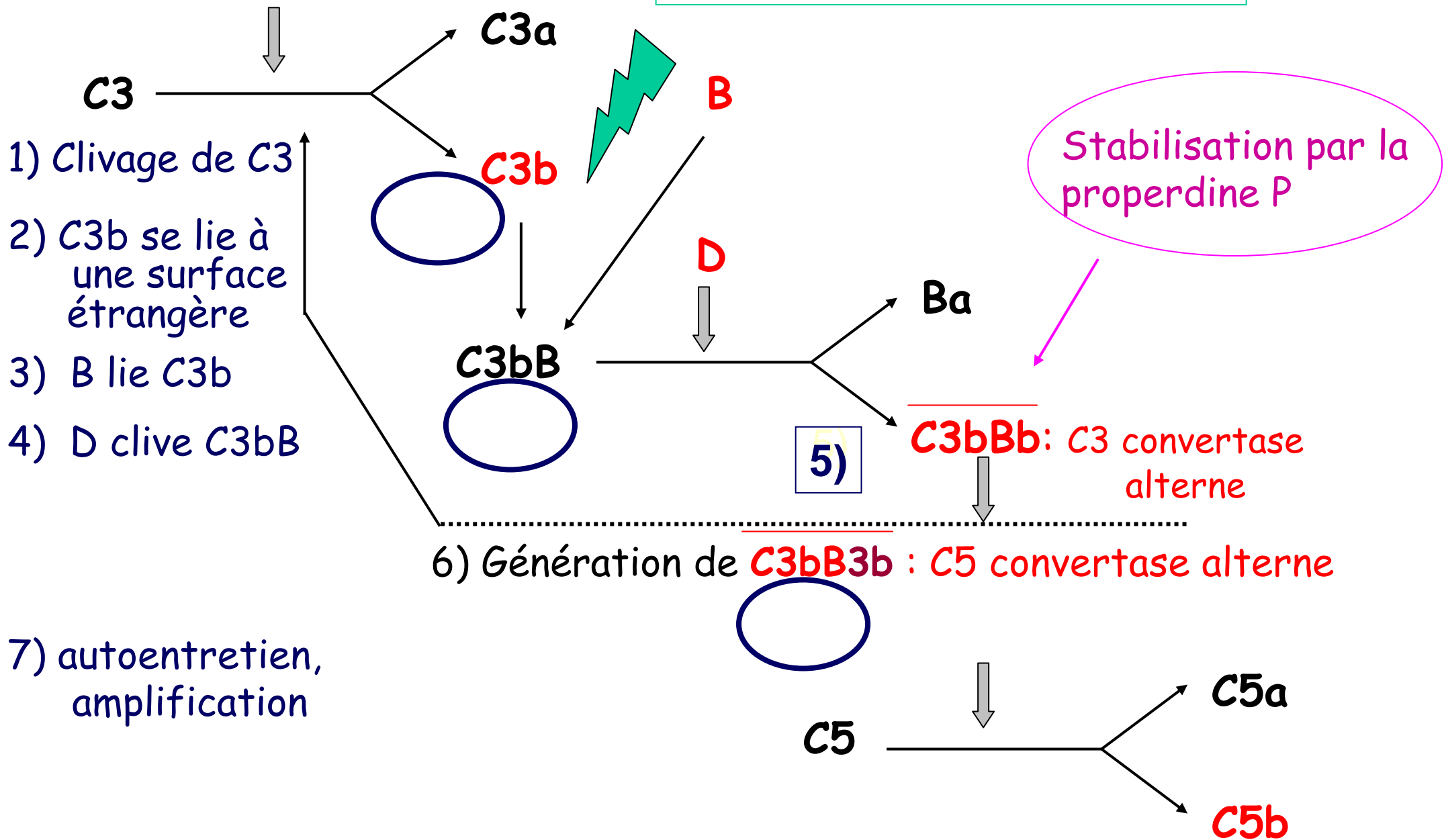
- Immunité innée : le complexe Ag/AC n'est pas nécessaire

Activateurs : LPS, paroi des bactéries gram+ et gram-, de levures, de parasites

- Système « en veille » permanente. Voie d'urgence.
- Boucle d'amplification de la production de C3b

Hydrolyse spontanée
de la liaison thioester

Activation de la voie alterne




Activation par la voie des lectines

- Immunité innée (~ voie alterne) - mécanisme ~ voie classique
- Activateurs : résidus mannose de glycoprotéines ou de sucres à la surface des microorganismes
- Protéine de reconnaissance : protéine de liaison du mannose (MBP ou MBL); famille des collectines (collagène - lectine); synthétisée par le foie au cours de l'inflammation, structure proche du C1q
- Fixation de MBL \longrightarrow activation de deux sérine protéases
MASP1 et MASP2 (proches de C1r et C1s)

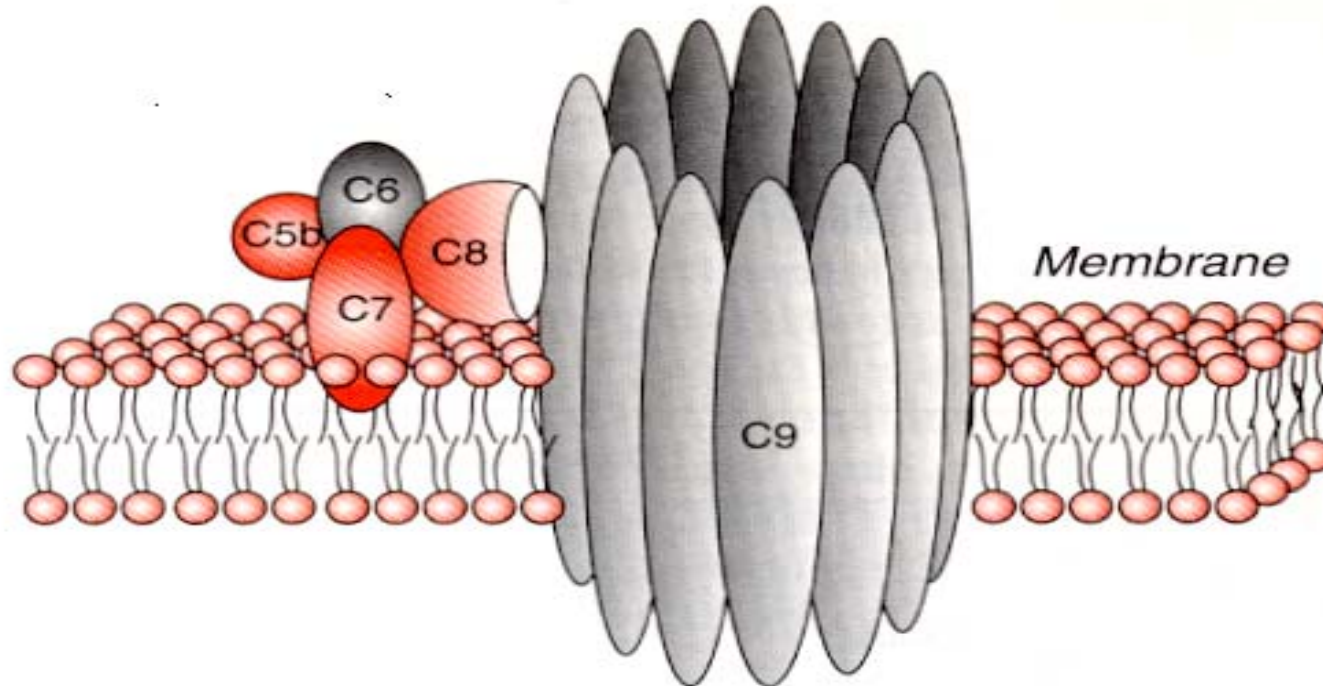
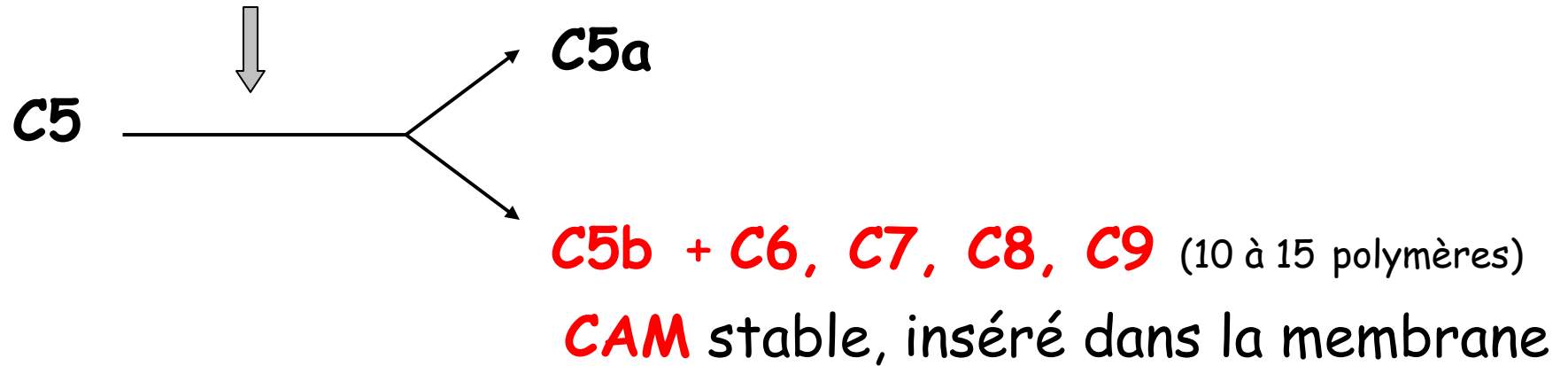
Clivage de **C2** et **C4**

 C4b2a: **C3 convertase** \longrightarrow clivage de **C3**

 C4b2a3b: **C5 convertase**

Le complexe d'attaque membranaire (CAM)

C5 convertase (classique, alterne, lectines)



Le complexe d'attaque membranaire

- Création de pores (10 nm de diamètre)
- Désorganisation de la couche lipidique mb
- Destruction de la cellule cible
(GR++, cellules nucléées +/-, bactéries)

Voie classique

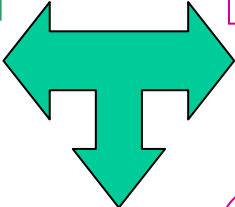
Ag/Ac

C1q, C1r, C1s

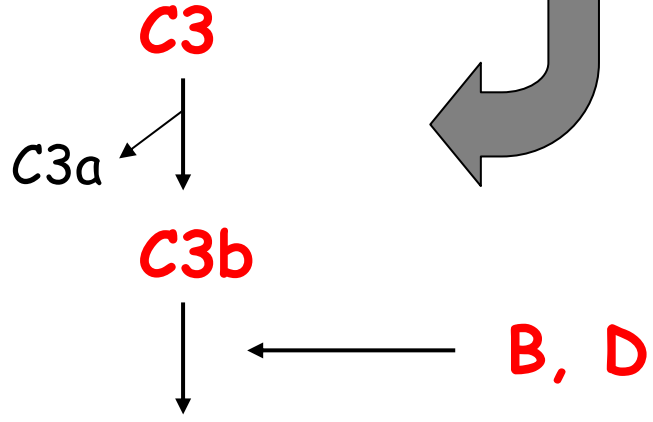
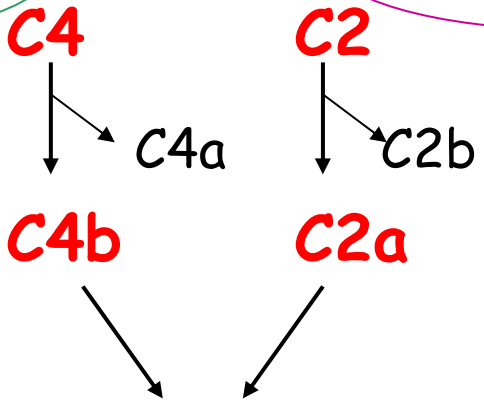
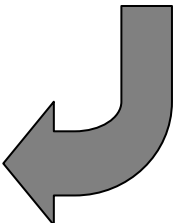
Voie des lectines

Paroi des agents microbiens

Voie alterne



MBL, MASP



C4b2a
(C3 convertase classique)

C3bBb
(C3 convertase alterne)

C3

C3b

C5 convertase

C5

C5b

C5b-9

CAM

C3a

B, D

Régulation des différentes voies

Régulations fines indispensables pour éviter l'auto-entretien, l'hyperconsommation et la destruction des cellules de l'hôte.

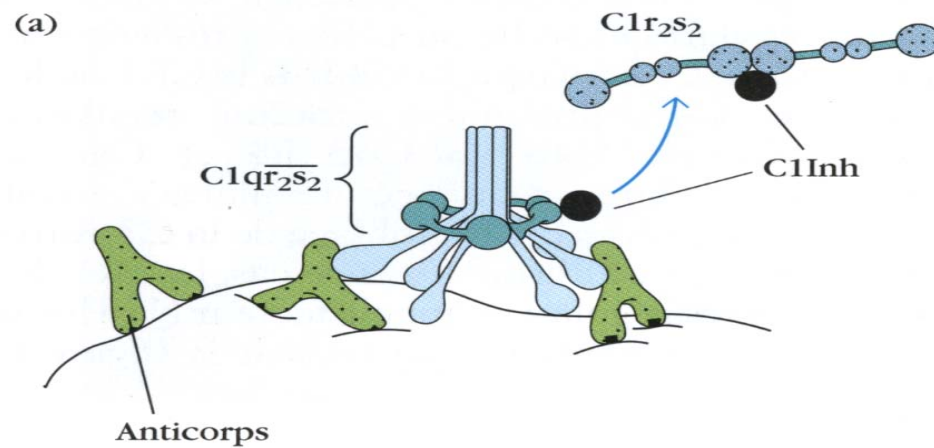
1. **Mécanisme général** : de nombreuses protéines des 3 voies d'activation sont labiles, s'inactivent spontanément à distance de leur cible

2. **Mécanismes spécifiques** : présence de protéines inhibitrices de différents composants (solubles ou membranaires)

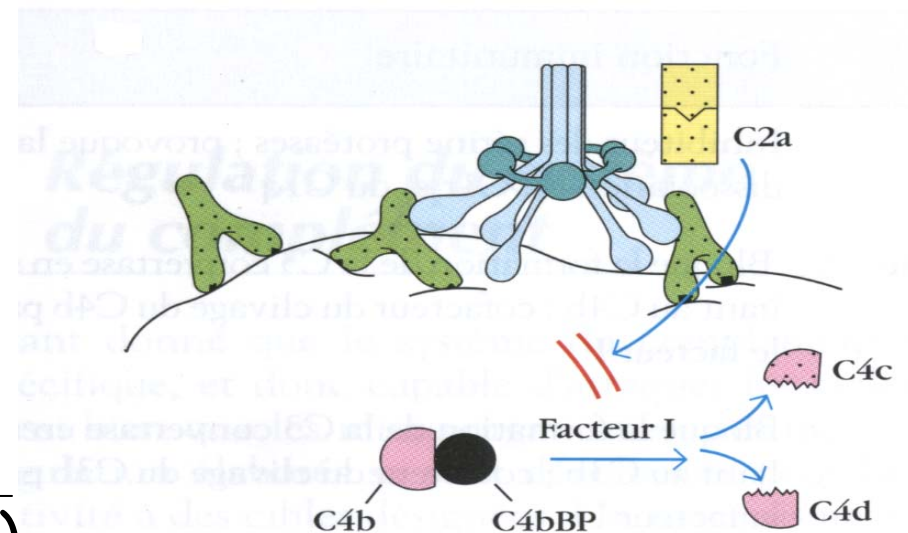
Exemples de Régulation des différentes voies (1)

1. Voie classique

- **C1-Inhibiteur (C1-Inh)** : dissocie le complexe C1rC1sC1q



- **Protéine de liaison du C4 (C4BP)** :
se lie à C4b
empêche la formation
de la C3convertase classique (C4b2a)



Régulation des différentes voies (2)

2. Voie alterne

- **Facteur H** : - se fixe au C3b et empêche la formation de la C3convertase alterne par compétition avec le facteur B

3. Complexe d'attaque membranaire

EX: • Protéine S: Se fixent au complexe trimérique C5b67 et empêche son insertion dans la membrane.

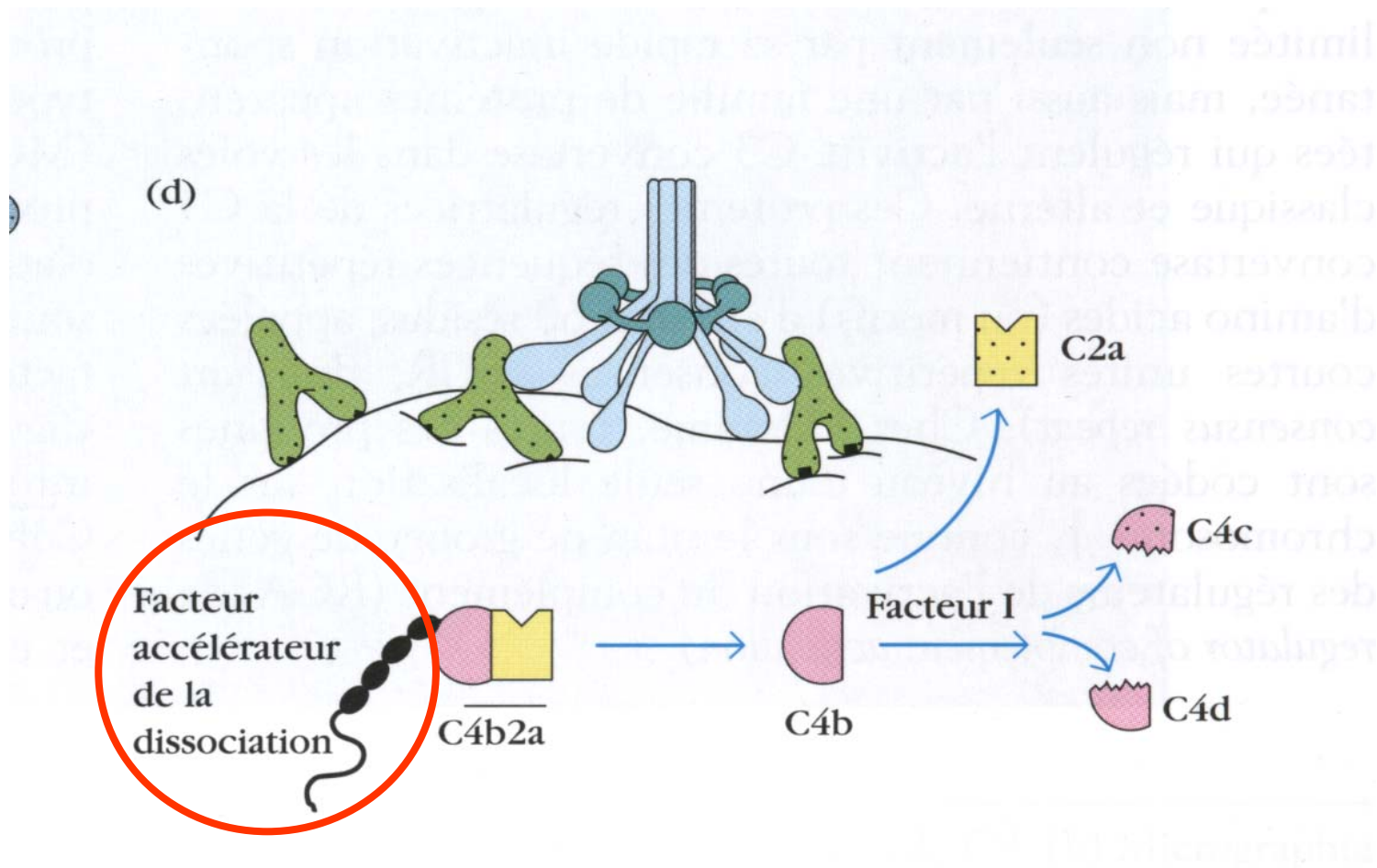
Le complexe libre ne peut pas attaquer les cellules voisines

Inhibiteurs membranaires

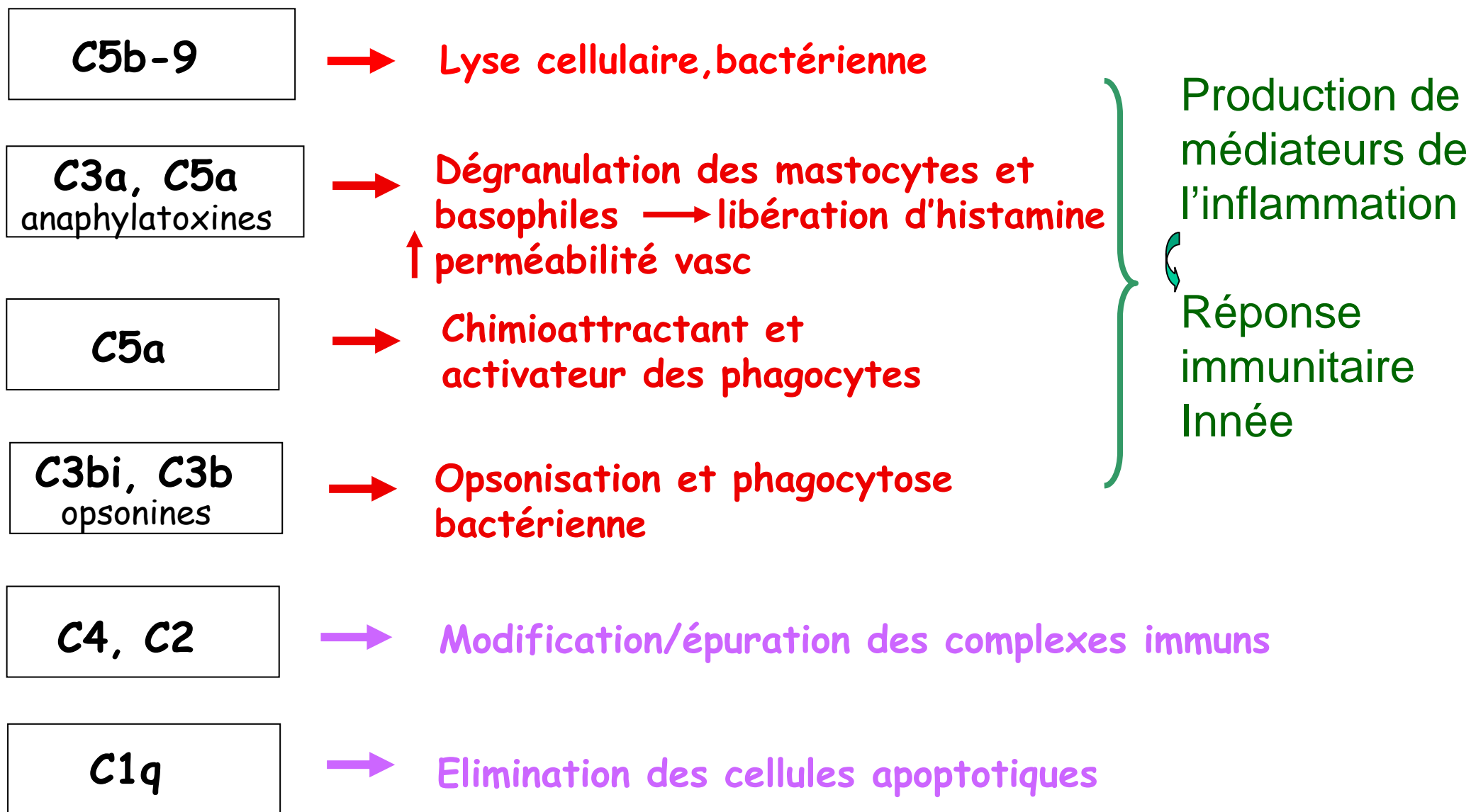
= Capables d'inactiver les convertases et le CAM

• Decay accelerating factor (DAF) (CD55) :

→ dissocie les C3 et C5 convertases

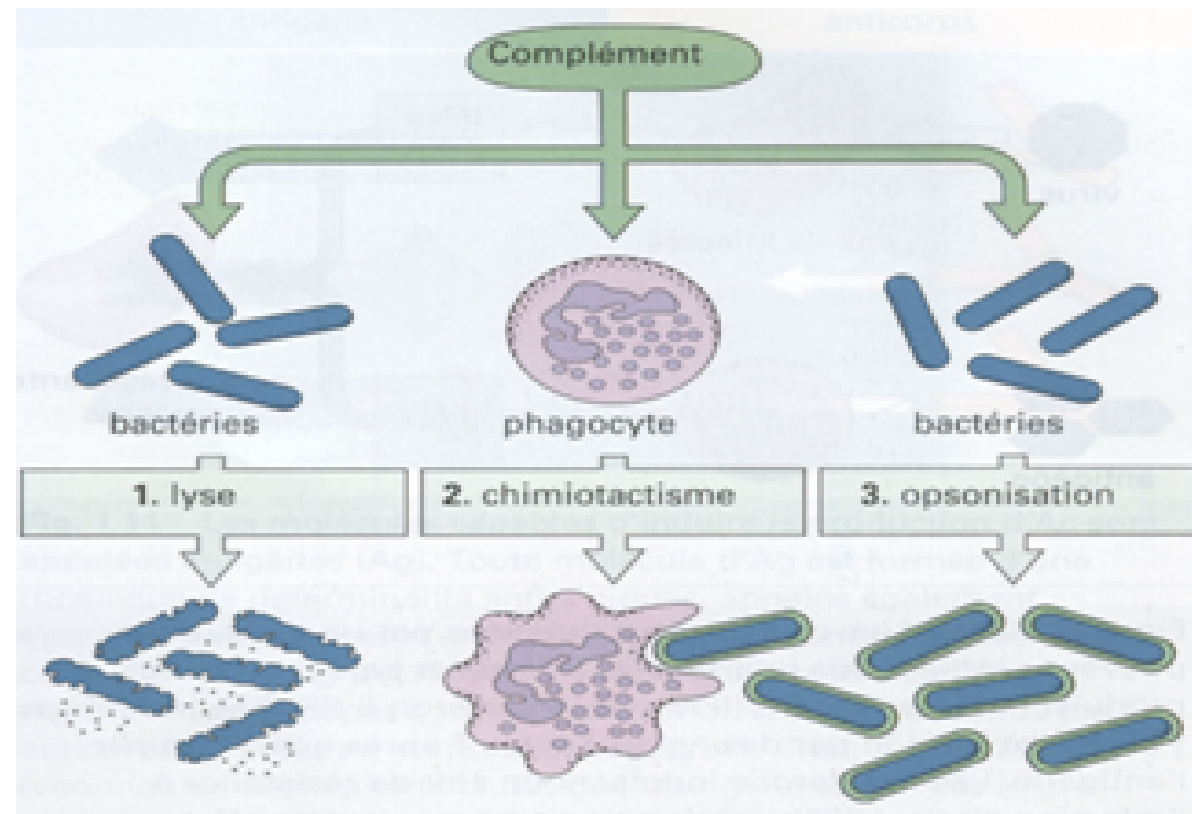


Conséquences de l'activation du complément



Rôle du complément dans la défense anti-bactérienne

Systeme de protéines dont l'activation en cascade est déclenchée par l'agent pathogène ou un complexe Ag-Ac, produit des médiateurs de l'inflammation, opsonise les bactéries, possède une activité cytolytique



Pathologie:
Quelques exemples:

-Déficits en C3 ou protéines du complexe d'attaque membranaire:
déficits immunitaires = **Infections** graves et répétées

-Déficits dans les facteurs régulateurs des cascades d'activation:

Déficit en C1-Inh (Oedème angioneurotique)

pas de limitation de l'autoactivation spontanée du C1

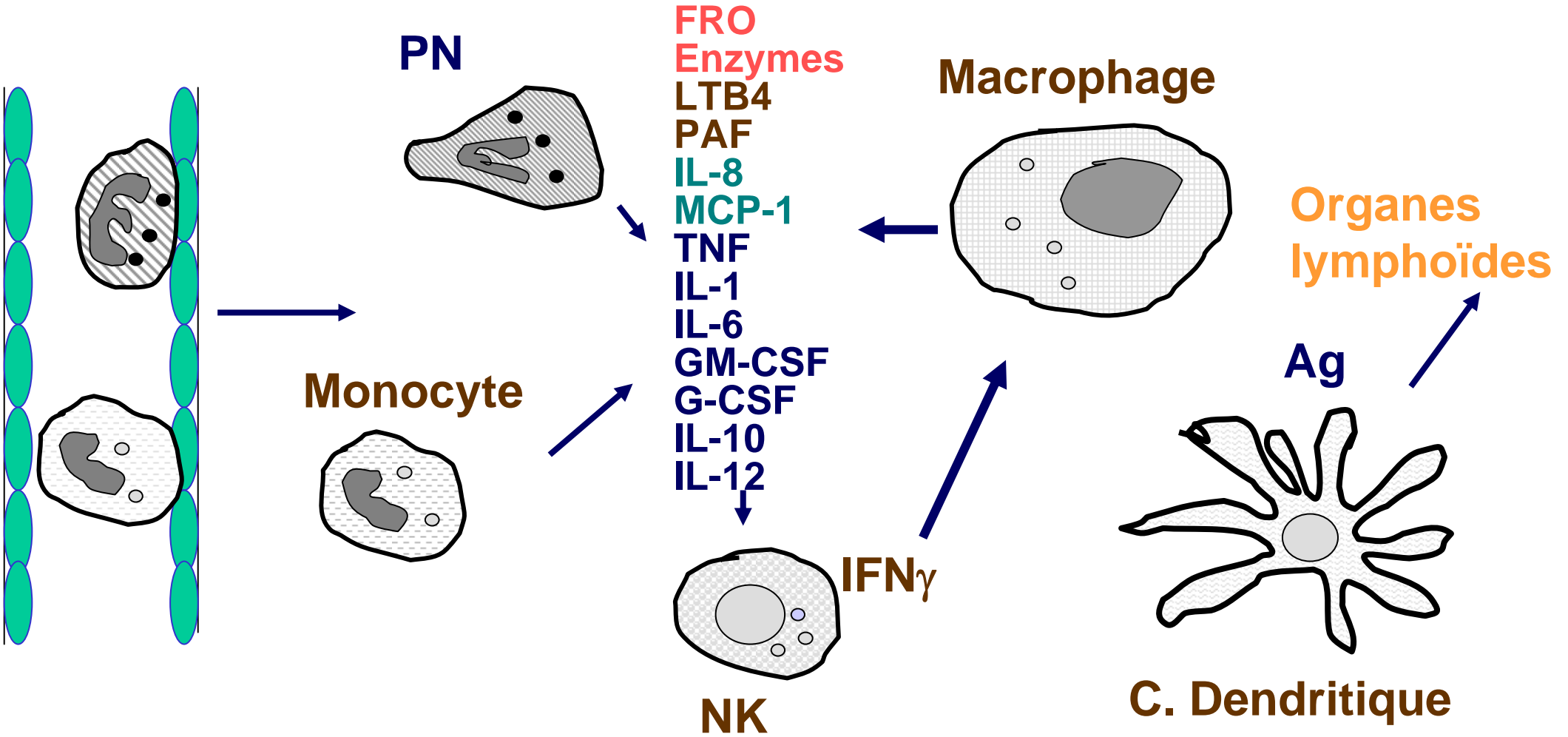
syndrome inflammatoire excessif

Oedèmes localisés, à répétition de la peau et des muqueuses
(larynx, intestin) survenant par crises.

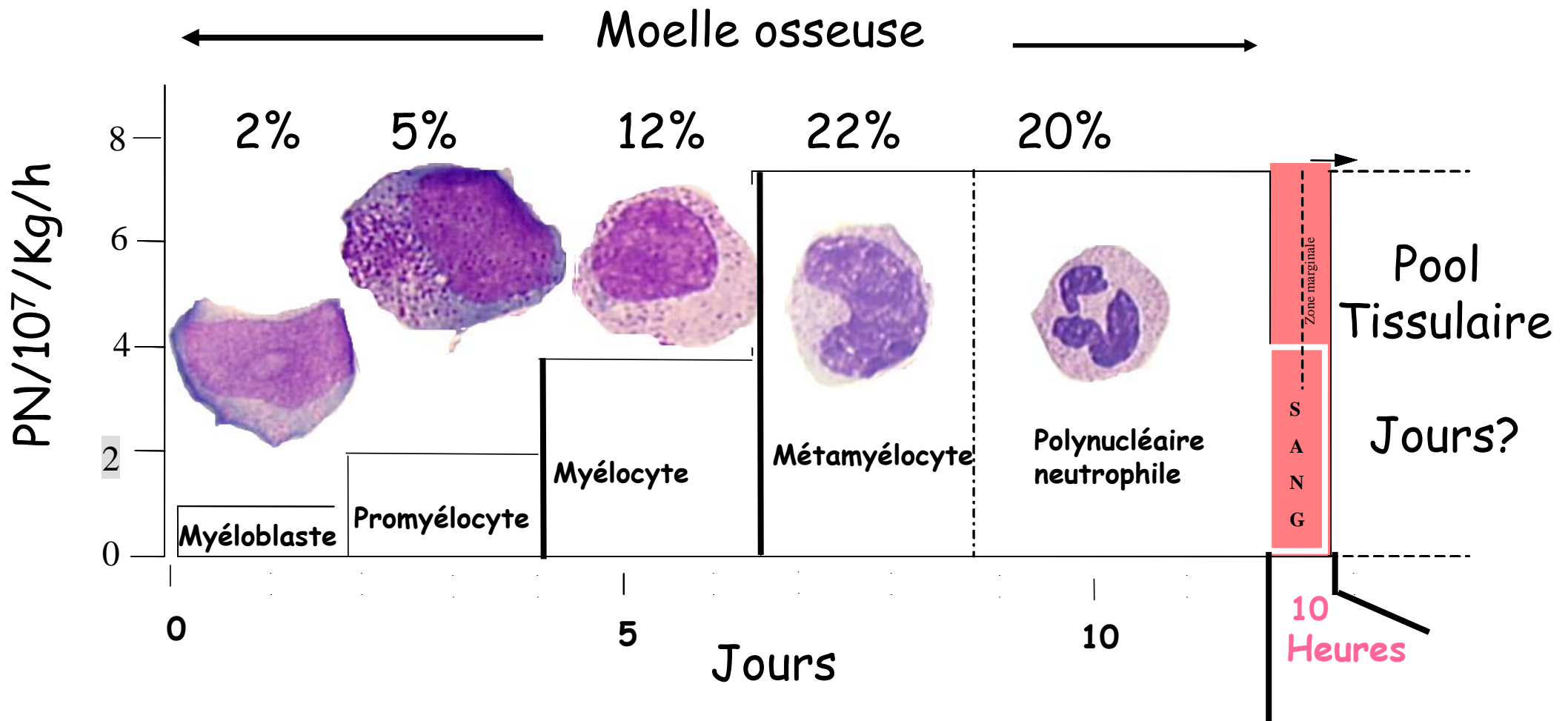
CELLULES PHAGOCYTAIRES

- Polynucléaires neutrophiles
- Monocytes
- Macrophages résidents
- Cellules dendritiques

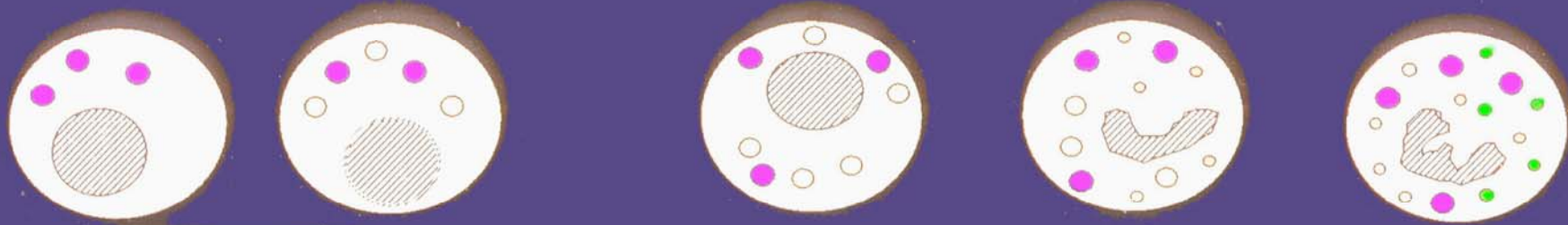
Agent Pathogène		
<i>Complément</i>	<i>N-formyl peptides</i>	<i>Endotoxines</i>
<i>C3a C5a</i>		



GRANULOPOIÈSE



GRANULATIONS DES POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES



CD63

Cytochrome b₅₅₈
CD11b/CD18 (CR3, αMβ2)

Lysozyme

CD35

Myeloperoxidase

Lactoferrin
NGAL

Elastase
Cathepsin G

Gelatinase

Defensins

Peroxidase-positive granules
Azurophil granules

Peroxidase-négative granules

Secretory
vesicles

defensin poor | Defensin rich

Specific granules | Gelatinase granules

CONTENU DES GRANULATIONS DU PN

Azuropiles

**Spécifiques/
Gélatinase**

Secrétoires

Mb

H⁺-ATPase

Cyt b 558/Rap1

Récepteurs:

fMLP-R

CR3 (CD11b/CD18)

TNF-R

Fibronectine-R

Récepteurs

CR1

CR3

Myéloperoxydase

**M
a
t
r
i
c
e**

Lysosyme

BPI

Défensines

Elastase

Cathepsine G

Pr3

Hydrolases acides

Cytokines

Lactoferrine

Lysosyme

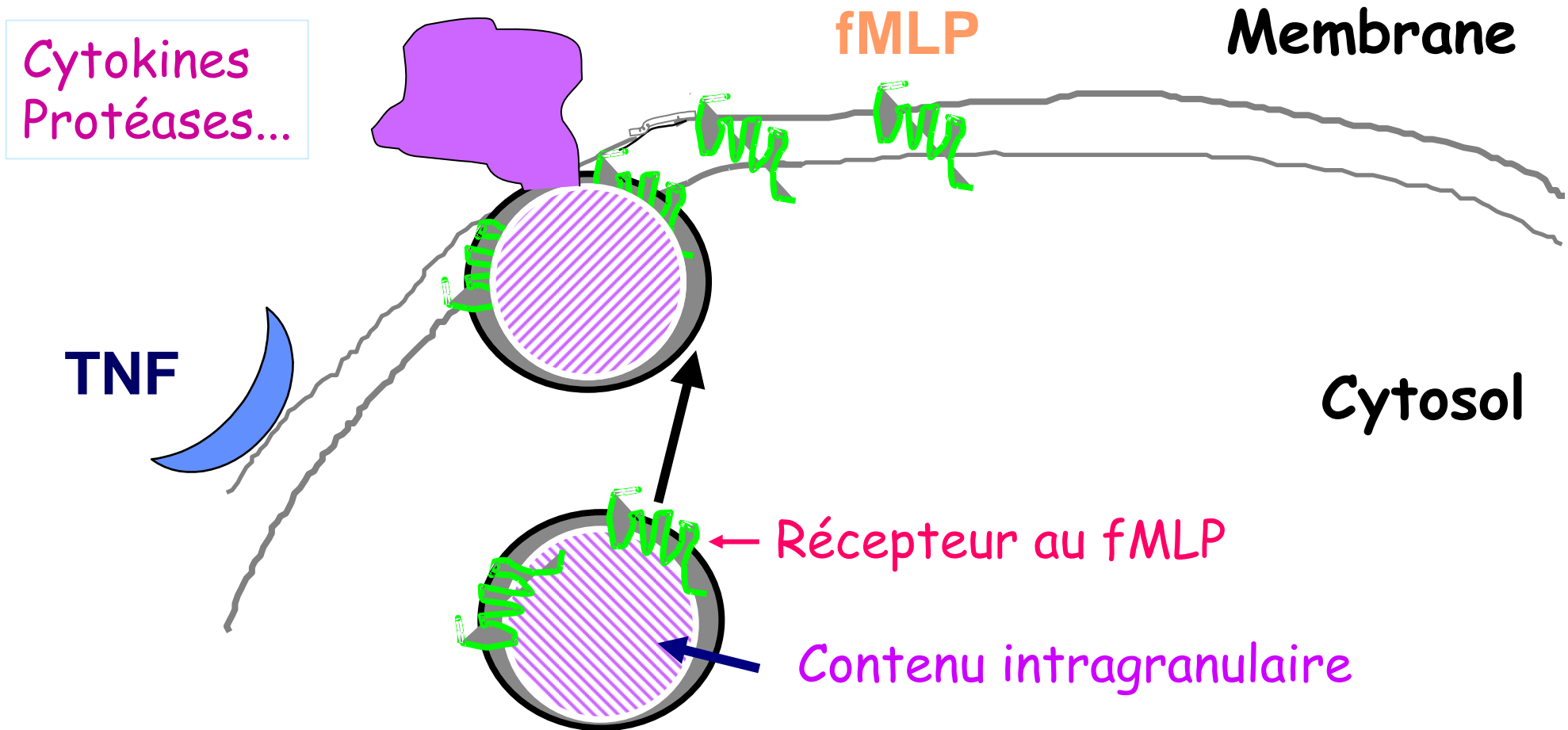
Collagénases

Gélatinase

Phosphatase

alcaline

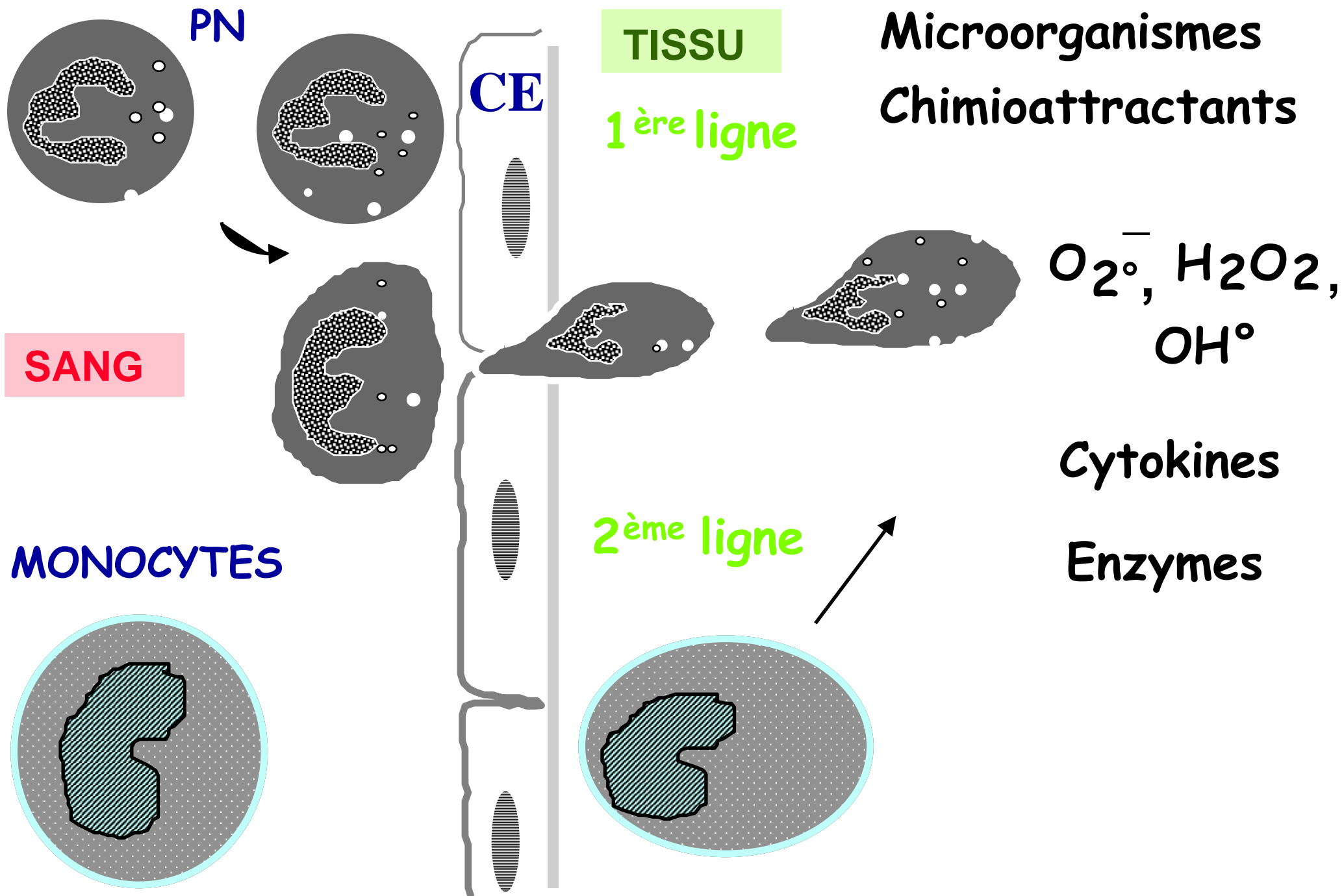
Gélatinase



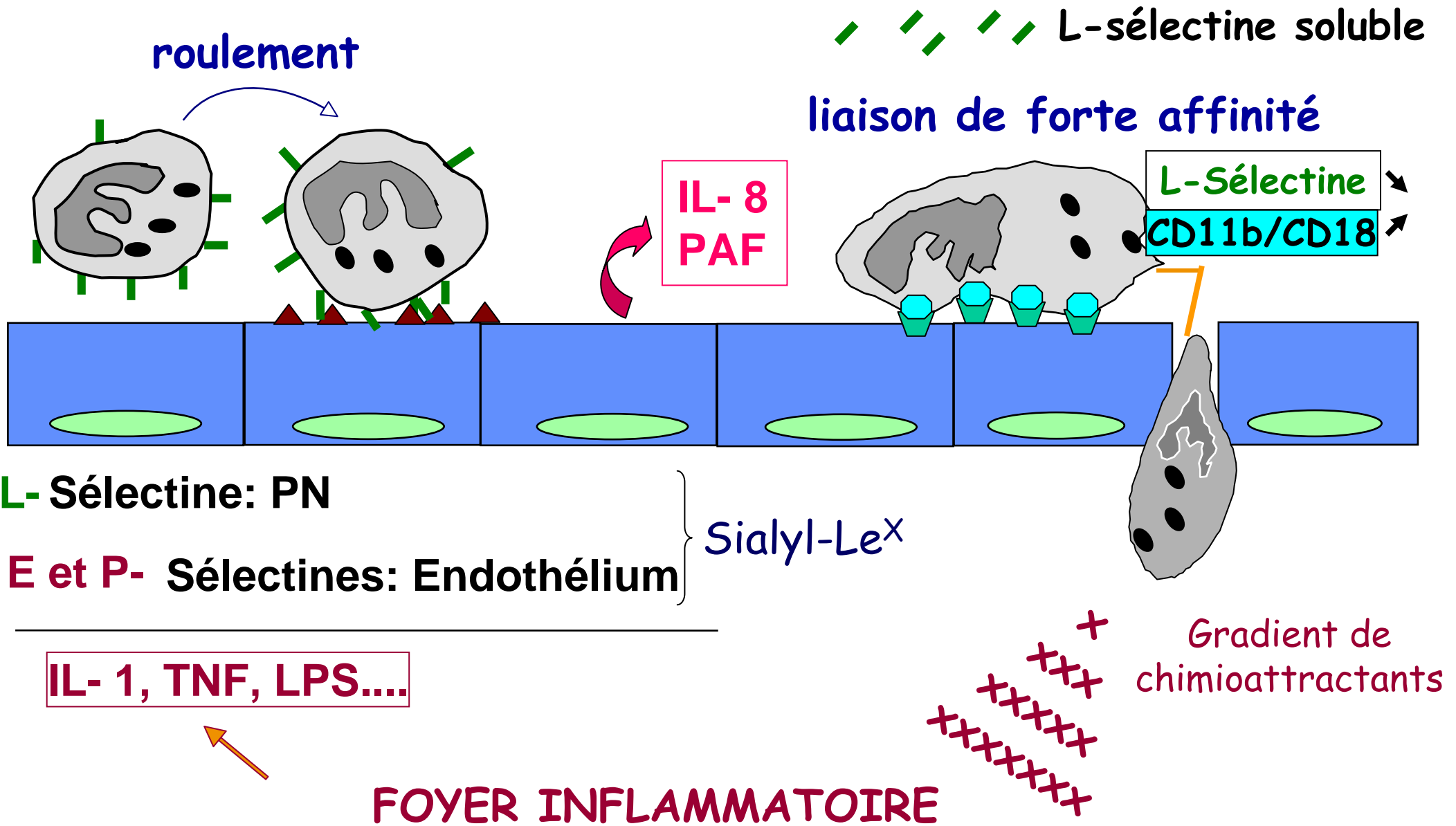
Granulation spécifique/gélatinase

Fusion granulation spécifique/gélatinase à la membrane

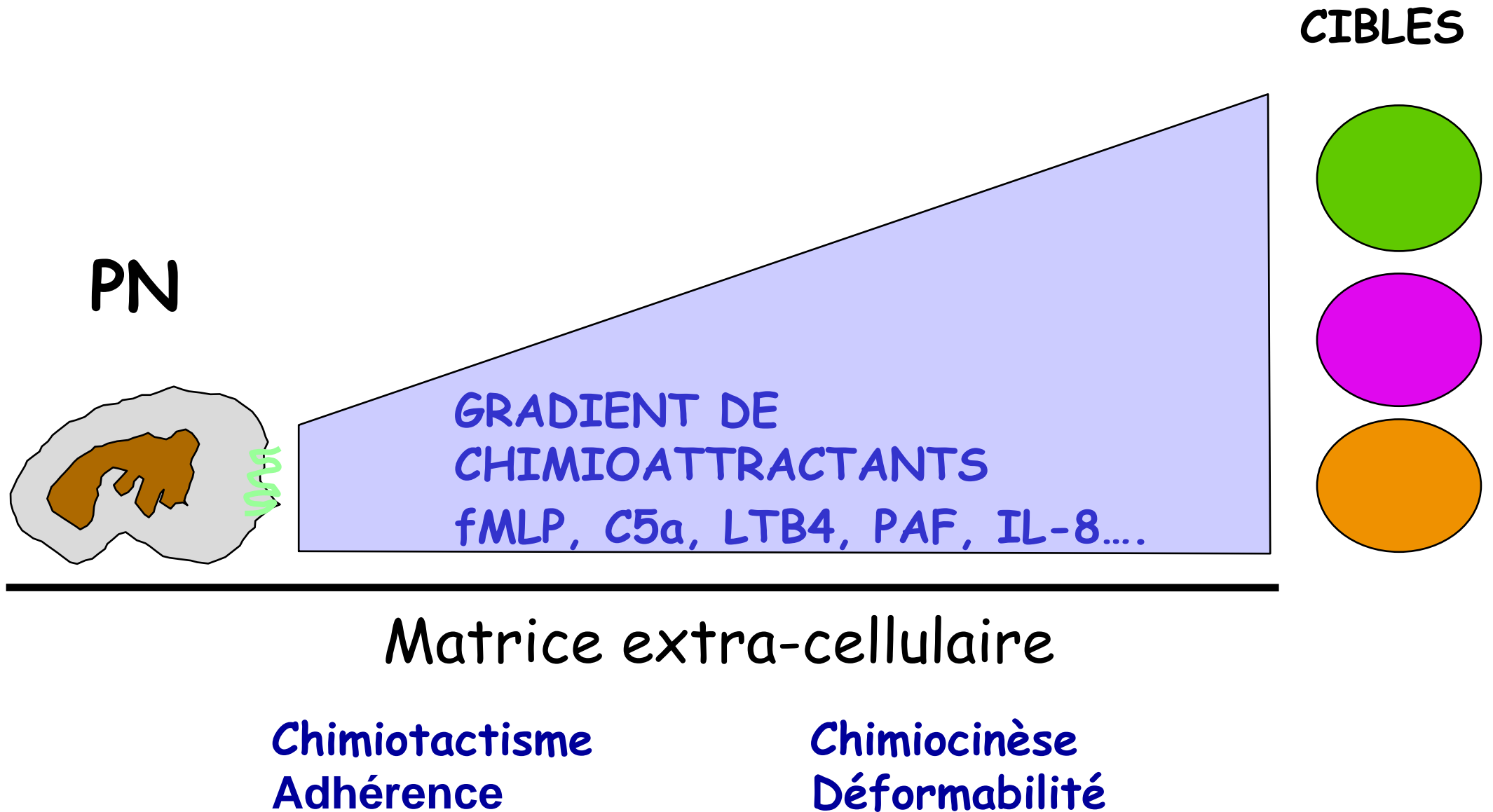
- ↳ **↑ expression des fMLP-R à la membrane**
- ↳ **Libération du contenu intragranulaire**



MIGRATION TRANSENDOTHELIALE DES PN



B- Migration vers l'agent pathogène

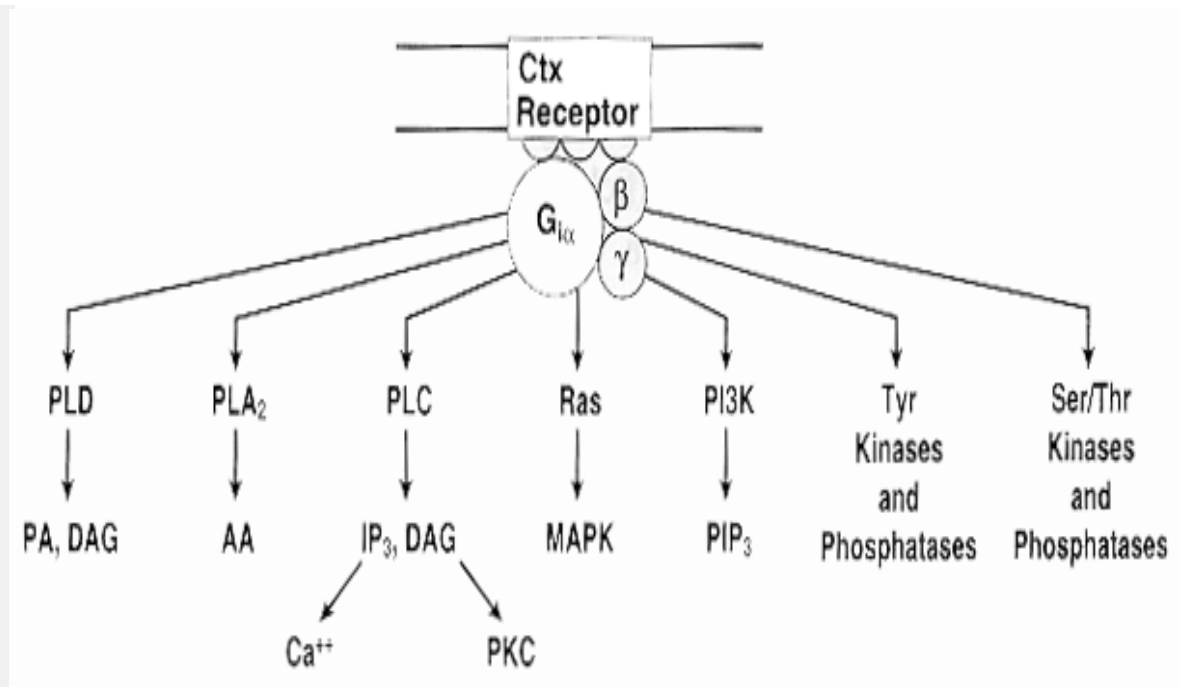
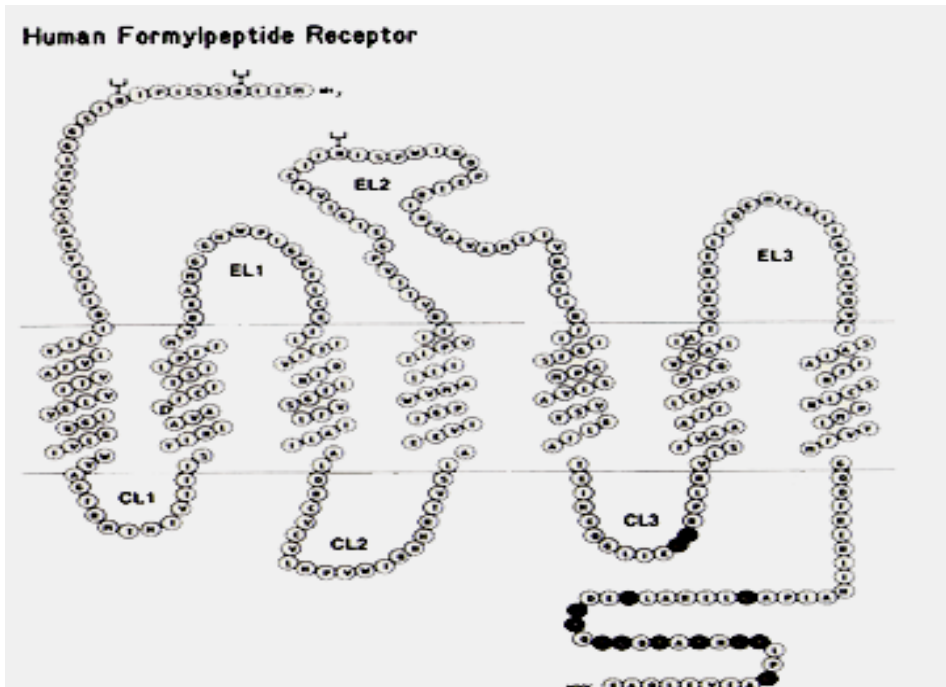


PRINCIPAUX FACTEURS CHIMIOATTRACTANTS

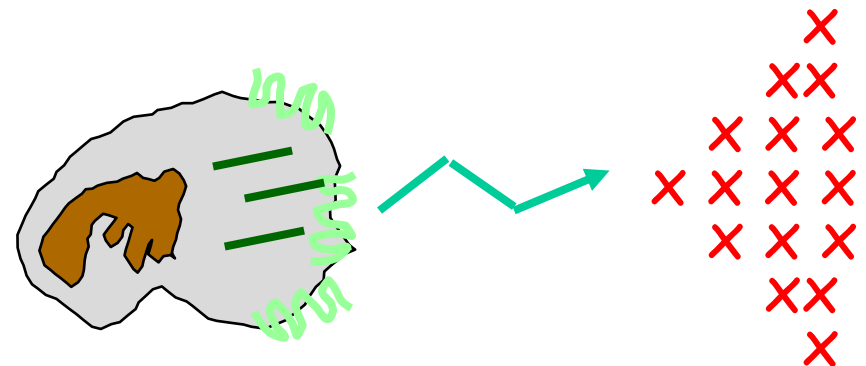
- **Peptides signaux des protéines bactériennes:**
 - N-formyl-peptides : fMLP
 - **C5a** produit par activation du complément
 - **Médiateurs produits par les cellules du foyer inflammatoire**
 - PAF (C. endothéliales, PN, monocytes)
 - Leucotriène B4 (PN, monocytes, mastocytes)
 - Chimiokines : IL-8, GRO, NAP-2..
(PN, mono/macro ϕ , CE, fibroblastes, lymphocytes...)
- ↳ **amplification de la migration phagocytaire**

FACTEURS CHIMIOATTRACTANTS

→ Récepteur à 7 domaines transmembranaires couplé aux protéines G hétérotrimériques



→ Modification du cytosquelette
Polymérisation/dépolymérisation
des filaments d'actine



II- Reconnaissance de l'agent pathogène par les neutrophiles pivot de l'immunité innée

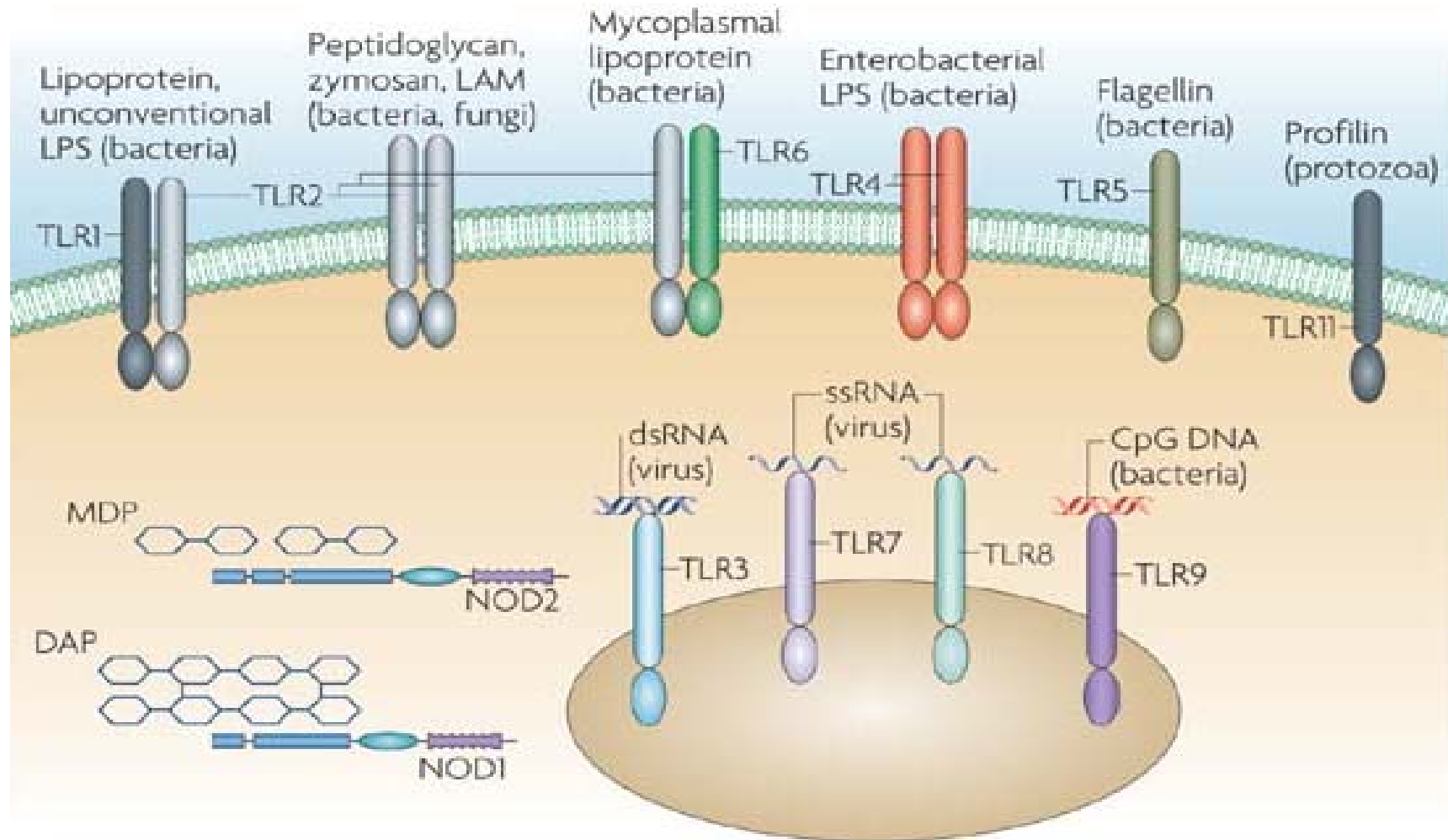
- **1) Pattern Recognition Receptors = PRR: récepteurs de reconnaissance de**
- **motifs conservés au cours de l'évolution:
Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)**

Par ex: « Toll-like receptors »

TLR4 **B. gram-, LPS, Mycobacterium tuberculosis, glycolipides**

TLR2 **B. gram+, peptidoglycan, mycobactéries,
lipoarabinomannan, lipoteichoic acid, lipoprotéines,
glycolipides, HSP60, zymosan, c. nécrotiques**

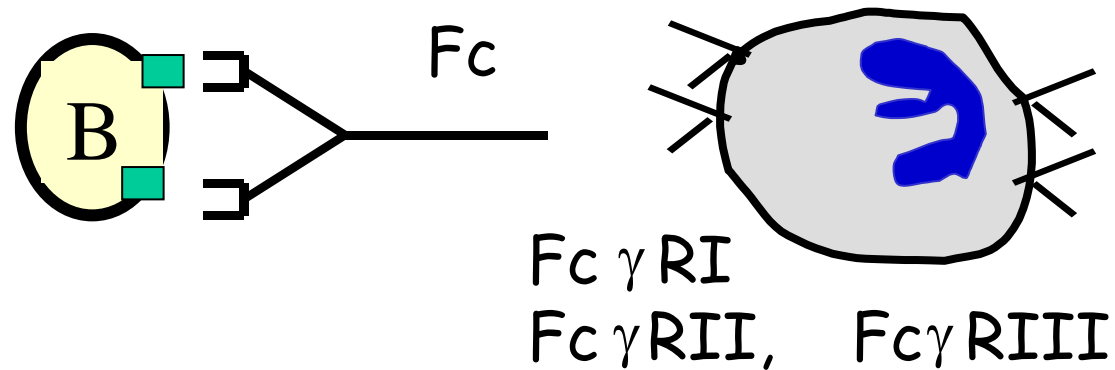
Récepteurs membranaires ou intracellulaires: Reconnaissance des motifs des agents pathogènes [«Pathogen-associated-molecular-patterns » (PAMPs)]



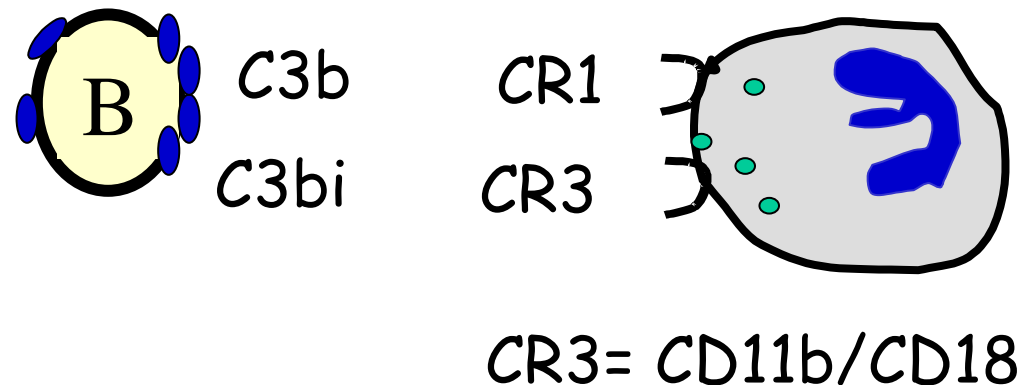
(2) Reconnaissance des agents pathogènes

Adhérence facilitée par les opsonines

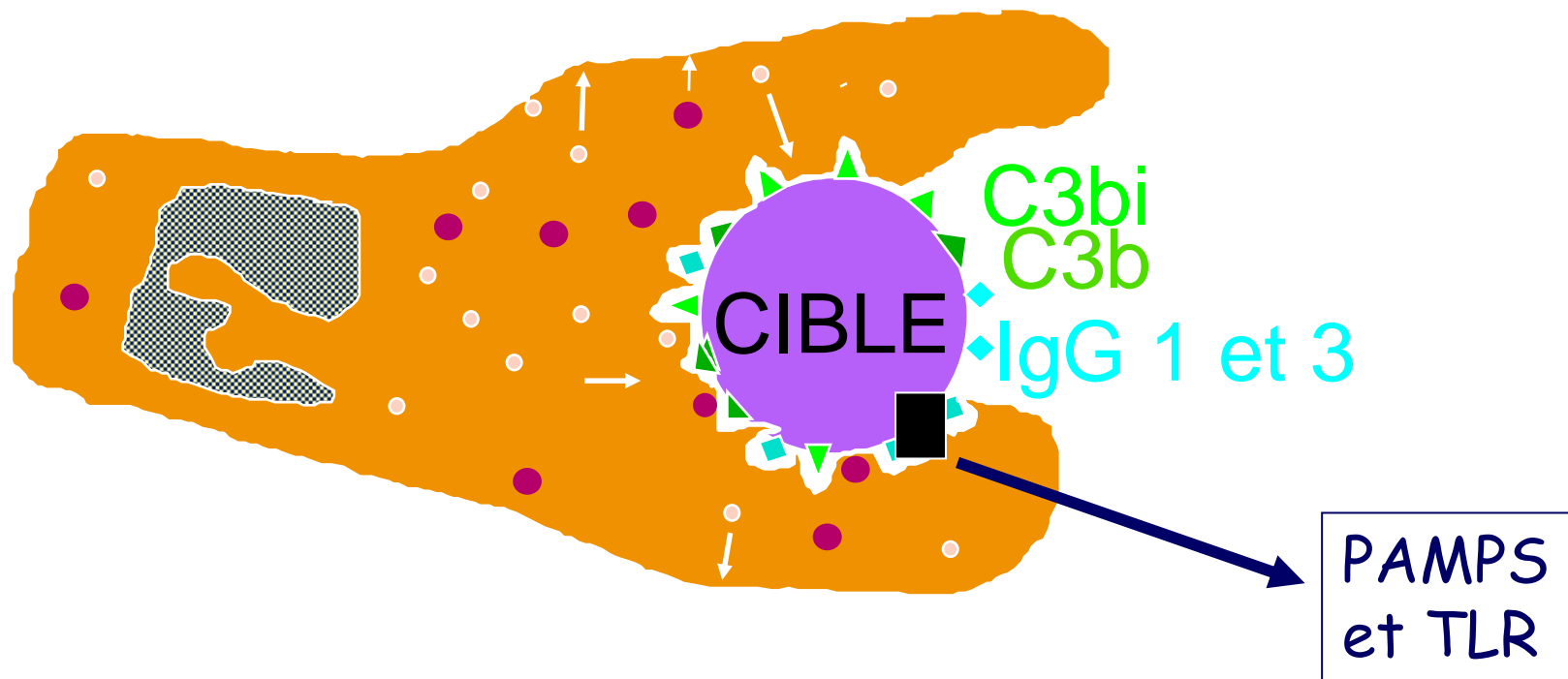
➤ Immunoglobulines de classe G (IgG1 et IgG 3)



➤ Les protéines dérivés du C3 du Complément



III- ADHERENCE ET ENGLOBEMENT



Adhérence → Signalisation



- Englobement
- Fin de la dégranulation
- Activation des fonctions effectrices

IV- DESTRUCTION DE L'AGENT PATHOGENE

1- Phénomènes indépendants de l'oxygène

A- Dégranulation dans le phagosome

↘ PH

Enzymes : hydrolases acides

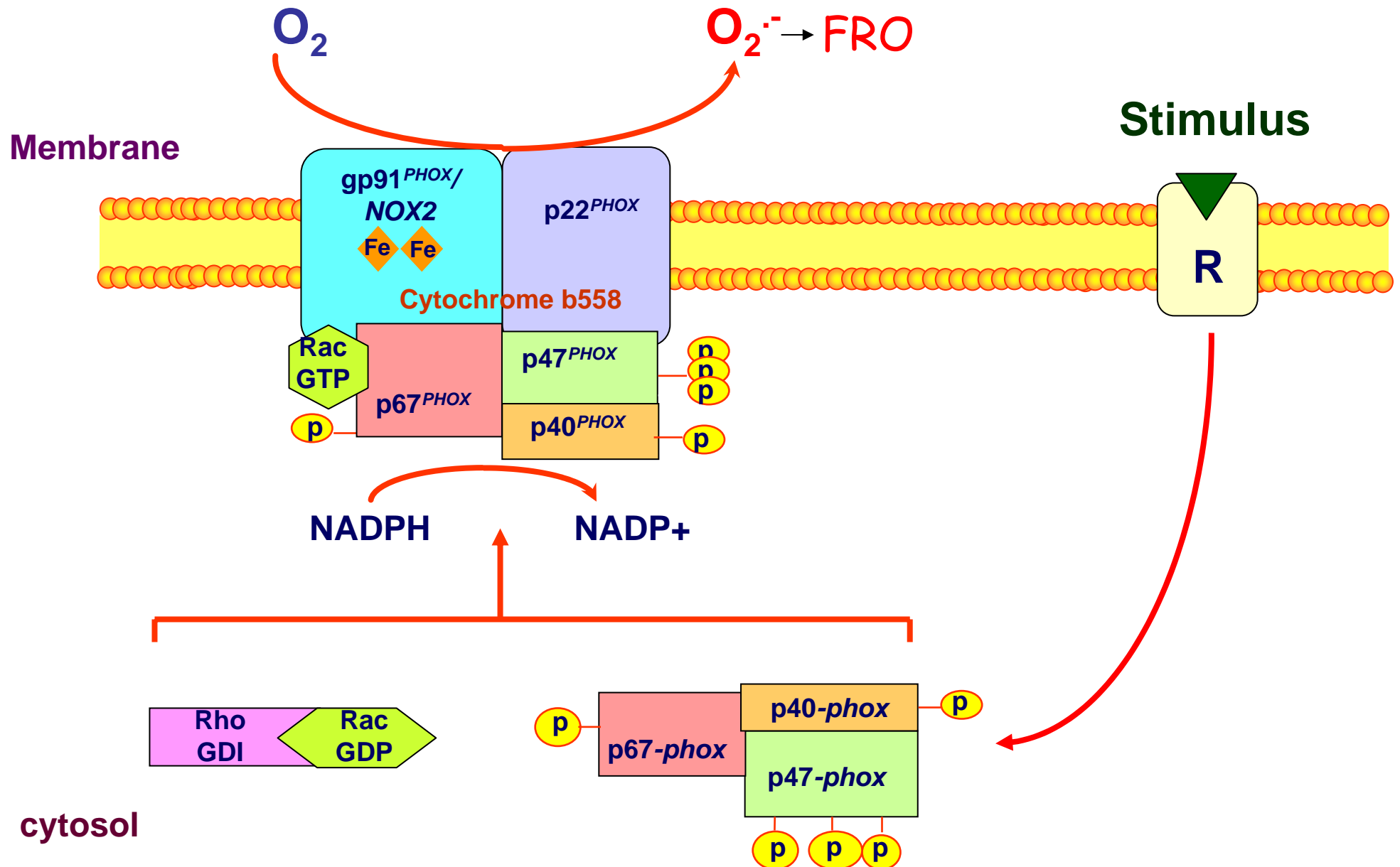
Protéines cationiques à activité bactéricide

- Lysosyme
- BPI : (bactericidal permeability increasing protein)
- Défensines α
- Sérine protéases (élastase, PR3, cathepsine G..)

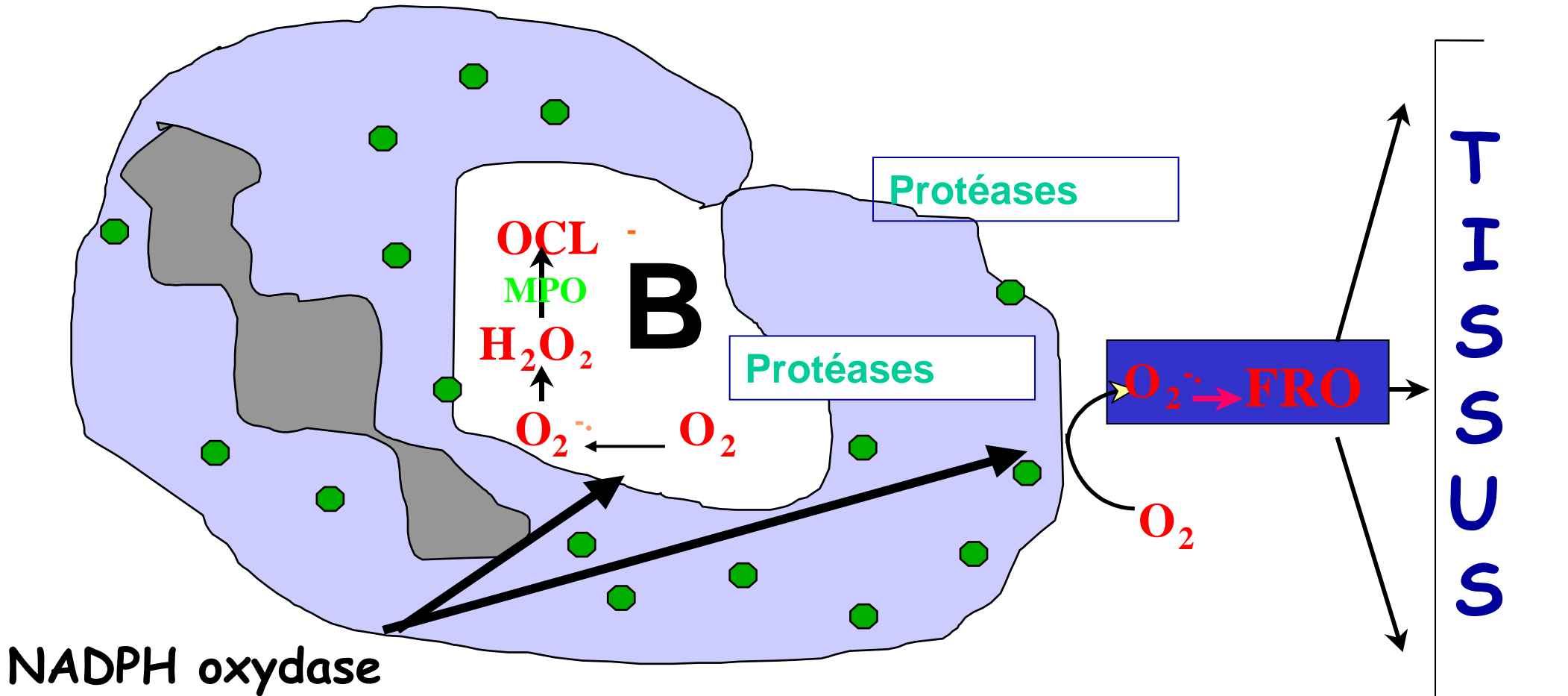
B- Dégranulation à la membrane

↗ **expression des récepteurs (fMLP, CD11b/CD18)**

2- Phénomènes bactéricides dépendants de l'oxygène: activation de la NADPH oxydase



EXPLOSION OXYDATIVE DU PN



NADPH oxydase



Défense immunitaire
 [anti-bactérienne
 anti-fongique

→ Lésions tissulaires
 Inflammation pathologique

GRANULOMATOSE SEPTIQUE CHRONIQUE (CGD)

Déficits d'origine génétique
des différents composants de la NADPH oxydase

$1/2 \times 10^5$ naissances

Composant affecté	Gène	Transmission génétique	Fréquence
gp91phox	<i>CYBB</i>	X	65-70%
p22 phox	<i>CYBA</i>	AR	<5%
p47 phox	<i>NCF-1</i>	AR	20-25%
p67 phox	<i>NCF-2</i>	AR	5%

SIGNES CLINIQUES DE LA CGD

Déficit immunitaire avec infections graves et/ou répétées à bactéries et champignons
(S Aureus, P. aeruginosa , Salmonelle
Serratia, Nocardia, Aspergillus....)

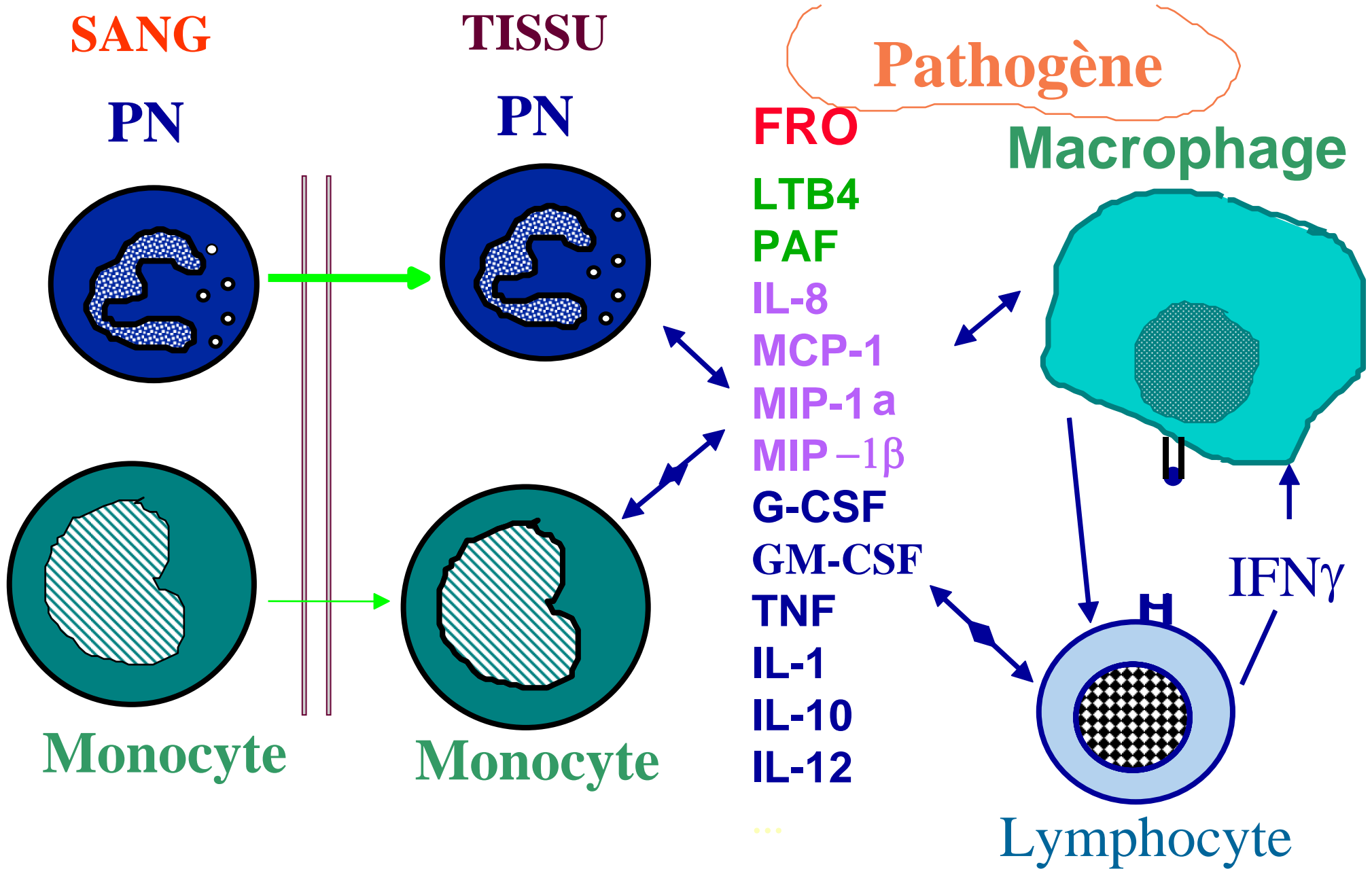
Abcès cutanés, hépatiques, pulmonaires, ostéomyélites

Lymphadénopathie, hépatomégalie, splénomégalie

Atteintes granulomateuses intestinales

ΔG : Déficit de production de l' $O_2^{\circ-}$ + Western Blot
Diagnostic génétique

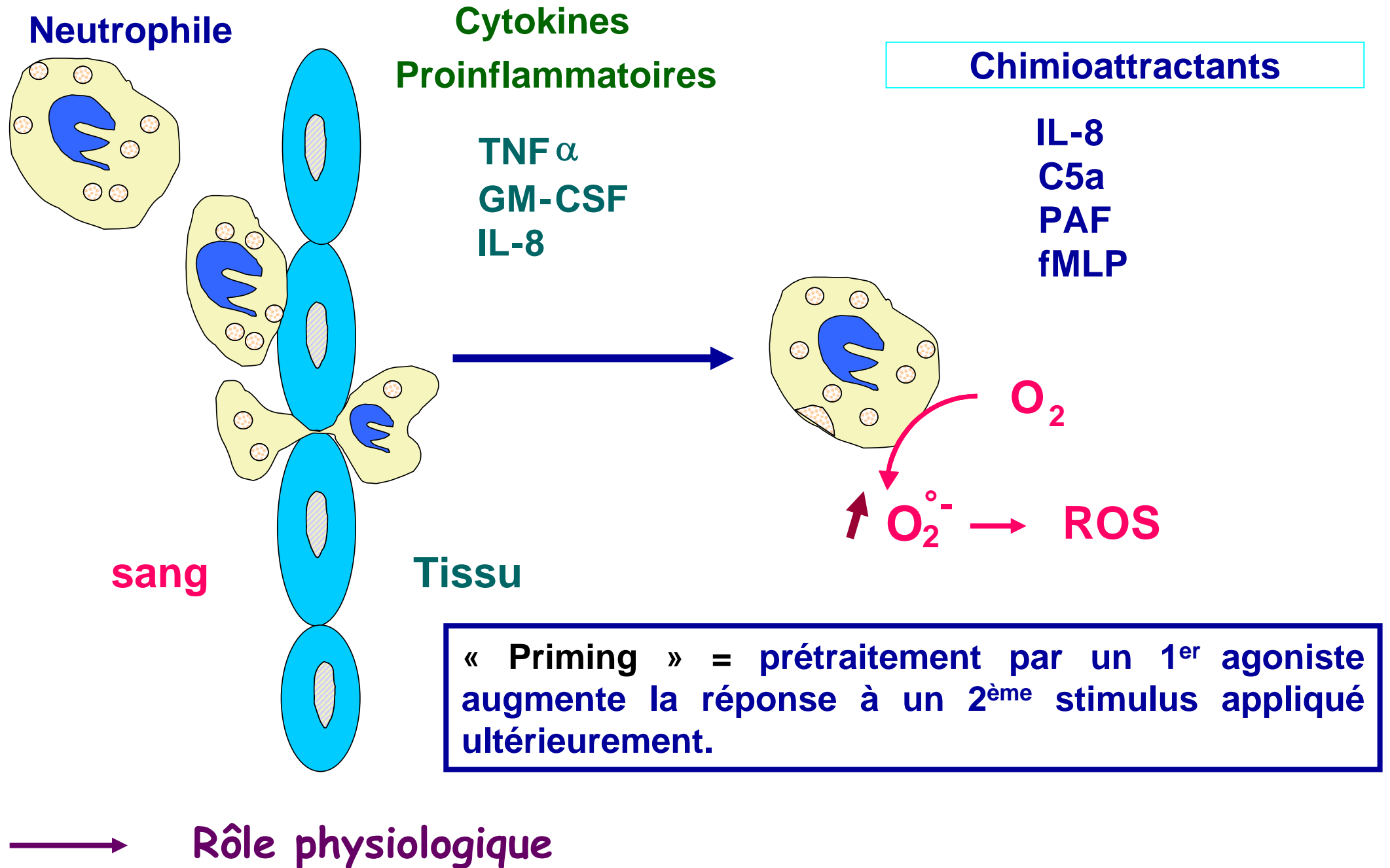
PN au sein du foyer inflammatoire

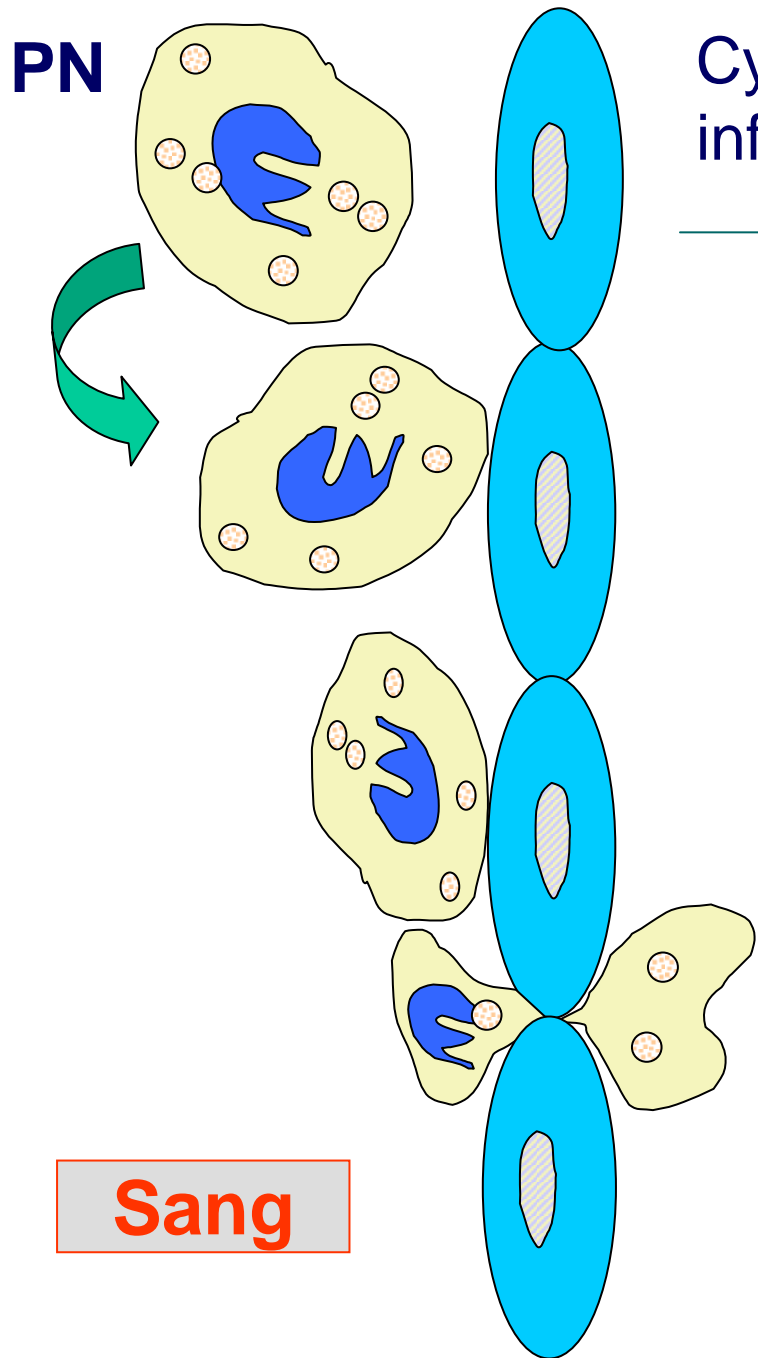


V-Régulation des fonctions phagocytaires

“Priming” = Amorçage : un prétraitement par un agoniste augmente la réponse à un deuxième stimulus.

Désensibilisation : un premier contact avec un agent pharmacologique diminue la réponse ultérieure.





Cytokines **pro** et **anti**
inflammatoires

Microorganismes

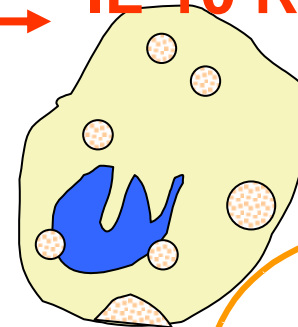
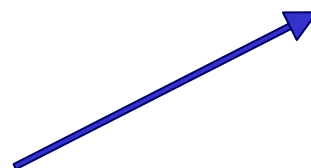
Chimioattractants

TNF α
GM-CSF

fMLP
C5a
PAF

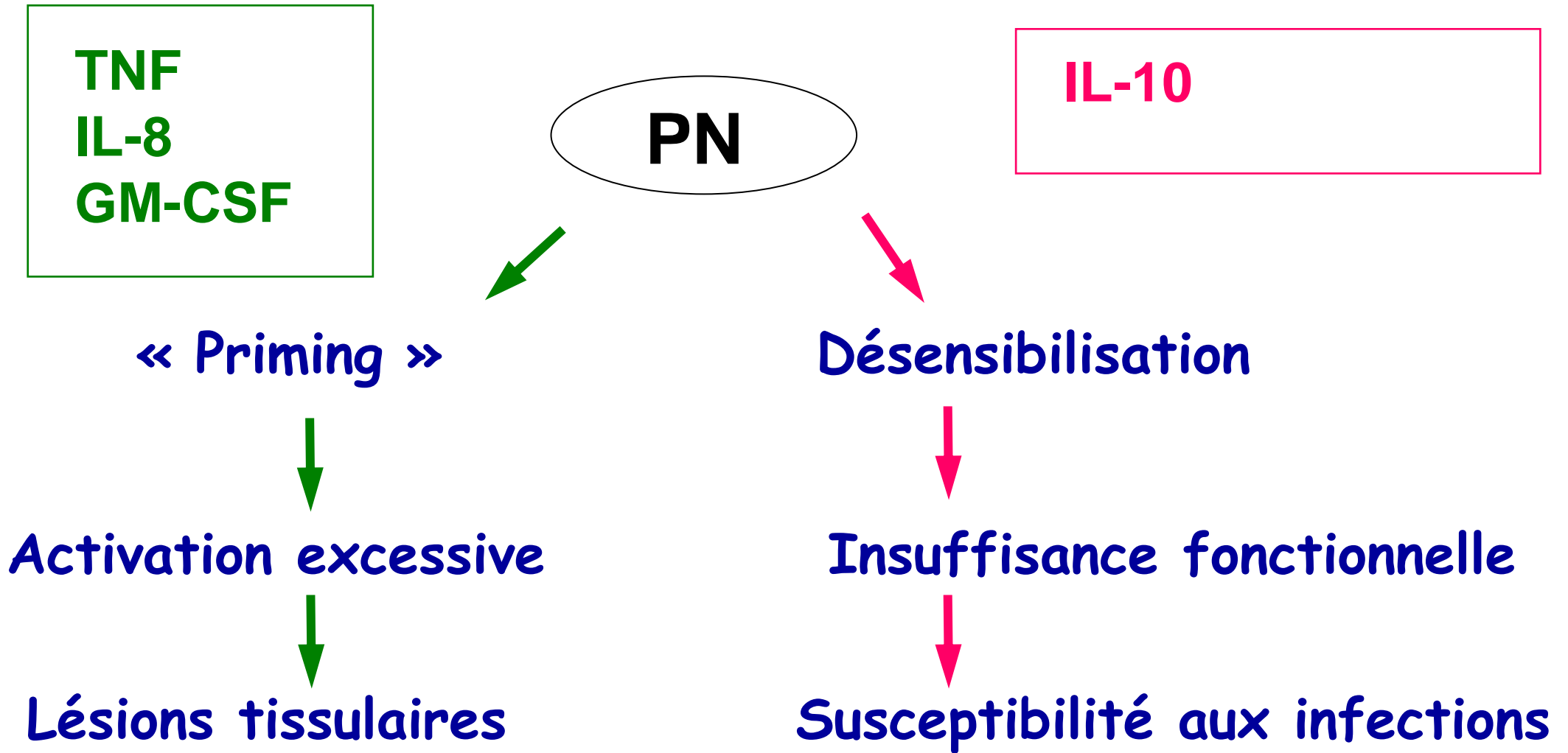
IL-10

IL-10 R



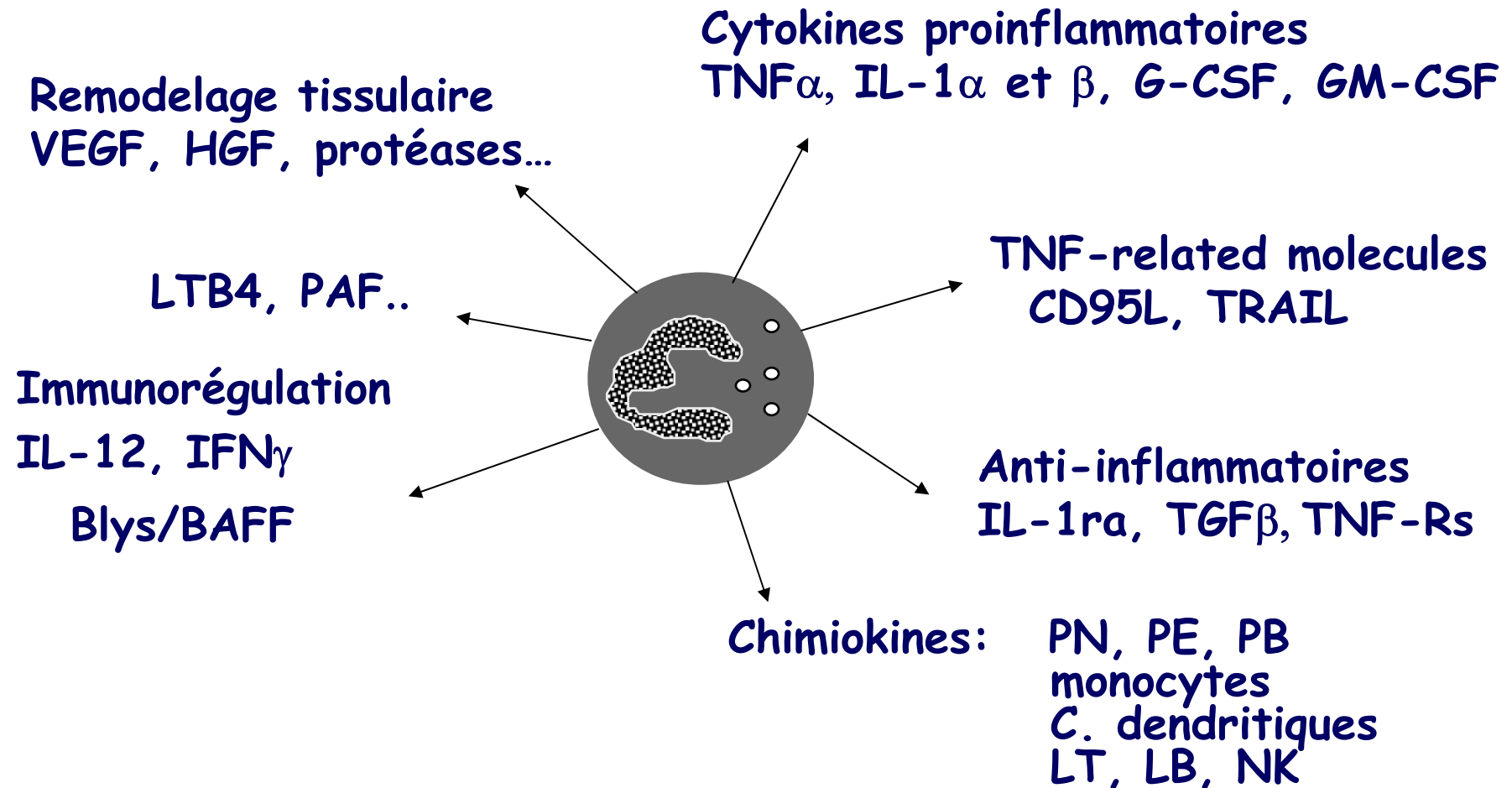
Tissu

Régulation des fonctions des PN par les cytokines



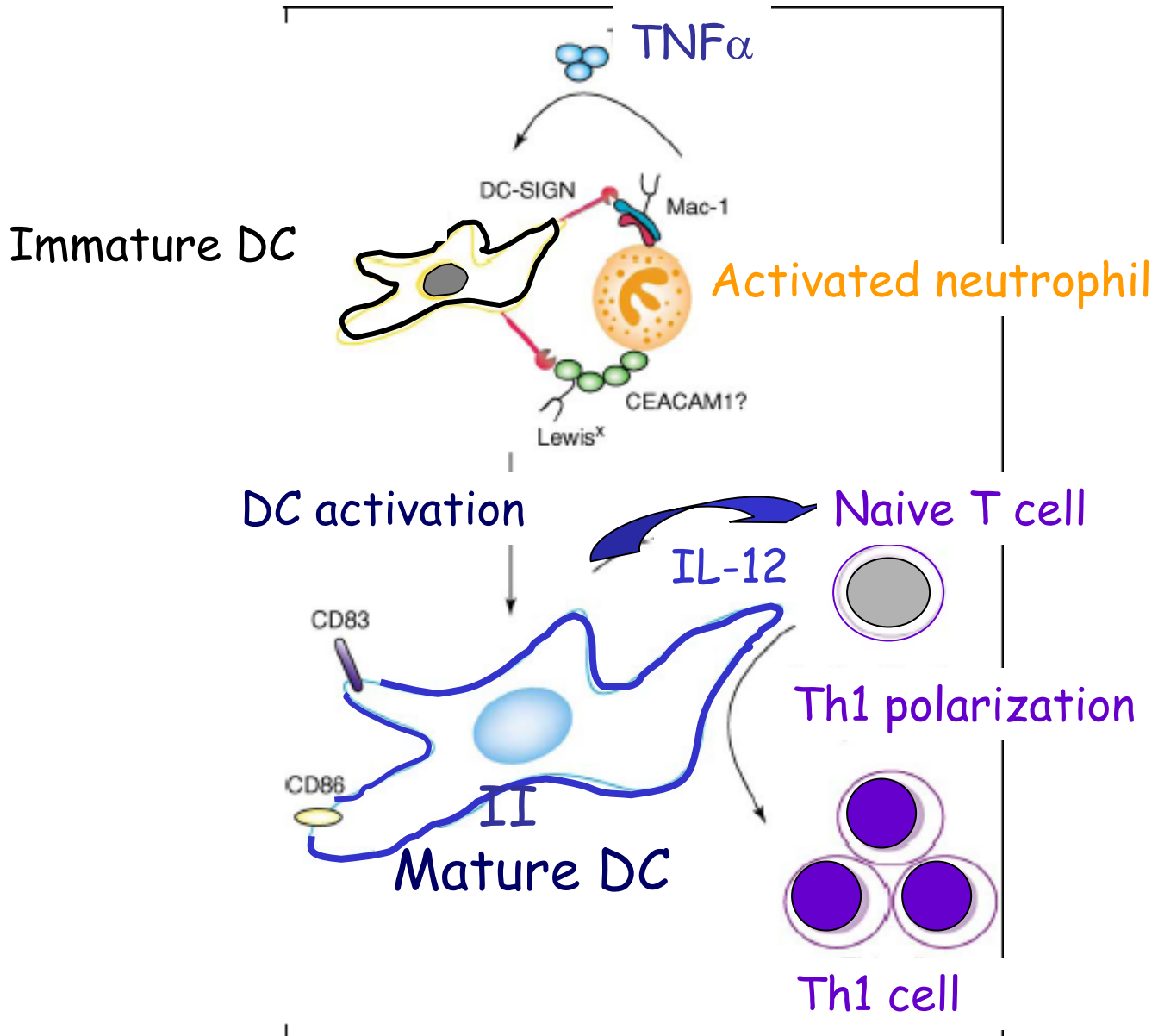
VI Régulation des réponses immunitaires
par
les polynucléaires neutrophiles

Les PN régulent les réponses immunitaires innées et adaptatives: Production de médiateurs de l'inflammation



Production par dégranulation et/ou par synthèse protéique

Interactions entre PN et cellules dendritiques



Cell contact
Cytokines
Ag transfer
S. Boudaly, 2006

Le PN est un acteur cellulaire pivot de l'immunité innée

- Rapidité de migration sur le site infecté
- Stockage de molécules « prêtes à l'emploi » libérées très rapidement sous l'effet des stimuli:
(protéases, médiateurs lipidiques, cytokines)
- Assemblage rapide d'un système multimoléculaire: NADPH oxydase
 - ↳ Production de FRO: Explosion oxydative
- Capable de Synthèse protéique (cytokines)
- Mort par nécrose et/ou par apoptose (résolution de l'inflammation)
 - ↳
 - Destruction de certains agents pathogènes
 - Remodelage tissulaire et cicatrisation
 - Régulation de l'engagement des réponses immunitaires

Le PN est une arme à double tranchant

Stimulé de façon excessive ou dans un lieu inappropriée

↳ Lésions tissulaires sévères dans le cadre de maladies inflammatoires aiguës ou chroniques systémiques ou d'organe

SDRA

Ischémie reperfusion

Vascularites

Polyarthrite rhumatoïde

BPCO

....

Immunité anti-infectieuse

1) Bactéries à multiplication extracellulaire

- Anticorps (Lymphos B/Lymphos CD4+)
Neutralisation des toxines bactériennes
Inhibition de l'adhérence des bactéries aux épithéliums
Opsonisation
- Système du complément
Voie classique (Ag/Ac)
Voie alterne-Voie des lectines
- Polynucléaires neutrophiles

2) Bactéries à multiplication intracellulaire et virus

Cellules T CD4+ et CD8+ cytotoxiques

Macrophages

NK

Coopération entre ces différents acteurs

