

Das Komplement-System

Autor(en): **Isliker, H. / Fellenberg, R. von**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **21 (1965)**

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-307625>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

« Institut de Biochimie » der Universität Lausanne

Das Komplement-System

Von H. Isliker und R. von Fellenberg

Schon 1792 beobachtete *Hunter* [1], daß frisches Blut der Fäulnis weniger anheimfällt als andere Substanzen tierischer Herkunft. 1889 wies *Buchner* [2] darauf hin, daß frisches, leukocytenfreies Serum Keime wie Typhusbazillen abtötet. Das für diese Wirkung verantwortlich gemachte Alexin ist gegen gramnegative Keime gerichtet und wurde von seinem Entdecker chemisch nicht näher untersucht. Die Tatsache, daß Alexin die Wirkung der Antikörper ergänzt, indem es antikörperbeladene Zellen auflöst, trug diesem später den Namen *Komplement* ein. Es handelt sich um eine Substanz, die körperfremde Zellen (z. B. Bakterien) abtötet oder auflöst. Damit diese vom Organismus als körperfremd erkannt werden, müssen sie vorerst durch Antikörper markiert werden. Erst die so gekennzeichneten Zellen können als solche durch das Komplementsystem aufgelöst werden. Bei der Phagocytose spielt das Komplement eine bedeutende Rolle in der Chemotaxis polymorphkerniger Leukocyten und in der Opsonisierung körperfremder Zellen.

Im Falle von Autoimmunkrankheiten, wo körpereigene Zellen durch Autoantikörper gekennzeichnet sind, kann das Komplement eine cytotoxische für den Organismus schädliche Wirkung ausüben. Komplement wird z. B. in der Niere bei Glomerulonephritiden fixiert und ist am Gewebsschaden direkt beteiligt. Es wirkt auch als Vermittlersubstanz bei immunologischer Vasculitis (Arthus-Phänomen) und bei andern allergischen Reaktionen.

A. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Komplementes

Die Schlüsselrolle des Komplementsystems bei der Infektabwehr und beim Ablauf zellschädigender Mechanismen hat schon früh das Interesse bedeutender Immunologen erweckt (*Ehrlich* [3], *Heidelberger* [4]). Das Komplement wurde zuerst als einheitliche Substanz angesehen.

Erst *Ferrata* [5] und *Pillemer* [6] gelang es, durch Dialyse gegen destilliertes Wasser und durch spezifische Inaktivierung mit Chemikalien und Fermenten, 4 Komponenten (C'1, C'2, C'3 und C'4) voneinander abzugrenzen. Mit Hilfe modernster Verfahren können heute zehn Komponenten des Komplementes unterschieden werden, die zum Teil in reiner Form isoliert wurden (*Müller-Eberhard* u. Mitarb. [7–9]). Die Nomenklatur ist aus Tabelle 1 ersichtlich und stützt sich vorwiegend auf historische Gesichtspunkte. Eine von *Müller-Eberhard* [10] vorgeschla-

Tabelle 1
Nomenklatur der Komplementkomponenten, nach der Reihenfolge ihrer Fixierung geordnet

Nach Müller-Eberhard [11]	Unter-komponenten	Andere Bezeichnungsweise
C' 1	C'1q C'1r C'1s	11 S-
C' 4		β_{1E}
C' 2		
C' 3	(C'3a)	β_{1C}
C' 5	(C'3b)	β_{1F}
C' 6	(C'3c)	
C' 7	(blockiert durch EDTA ¹)	
C' 8	(blockiert durch BSA ²)	

¹ EDTA: Äthylendiamintetraacetat.

² BSA: Bovines Serumalbumin 25%.

gene Nomenklatur trägt wesentlich zur Vereinfachung der Terminologie bei. Die Eigenschaften der vier bisher in reiner Form isolierten Komponenten sind in Tabelle 2 wiedergegeben [10, 11]: drei dieser Komponenten finden sich in der β -Fraktion und wurden entsprechend ihrem Verhalten in der Immunoelktrophorese bezeichnet (β_{1C} -, β_{1E} - und β_{1F} -Globulin). Die Sedimentationskonstanten der bisher isolierten Komponenten sind von derselben Größenordnung (9–10 S). Trotz der scheinbaren Ähnlichkeiten der 4 Komponenten bezüglich Ladung und Masse konnten mit Hilfe spezifischer Immunsereen keine Antigengemeinschaften festgestellt werden.

Ein abweichendes Verhalten zeigt die «11 S-Komponente» (C'1q). Die hohe Asymmetrie und das stark basische Verhalten machen die «11 S-Komponente» besonders geeignet, als erste an den Antigen-Antikörper-Komplex angelagert zu werden.

Tabelle 2
Eigenschaften der isolierten Komplementkomponenten¹

	II S-Komponente	β_{1E} -Globulin	β_{1C} -Globulin	β_{1F} -Globulin
$S_{20,w}^{\circ}$	11,1 S	10,0 S	9,5 S	8,5 S
Elektrophoretische Beweglichkeit	γ_2	$\gamma_1 - \alpha_2$	$\beta_2 - \beta_1$	$\beta_1 - \alpha_2$
Serumkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	20-30	30-50	300-400	30-50
Aktivität	C'1q	C'4	C'3	C'5
Rezeptor	EA	EAC'1a	EAC'1a,4,2a	EAC'1a,4,2a,3
Inaktiviert durch	Hitze	N_2H_2	N_2H_2	Hitze

¹ Nach Müller-Eberhard [10].

Die *Bestimmung der Komplementaktivität* erfolgt mit Hilfe eines Indikatorsystems, bestehend aus Schafsblutzellen, die mit spezifischem Antikörper beladen sind. Diese «sensibilisierten» Erythrocyten werden beim Zusetzen von Komplement lysiert, und das freigesetzte Hämoglobin wird nach Abzentrifugieren photoelektrisch bestimmt. Zur Bestimmung der Einzelkomponenten werden sogenannte R-Seren verwendet, d. h. Seren, die außer der zu bestimmenden Komponente alle andern Komponenten in hinreichender Menge enthalten [12].

B. Die Sequenz der Fixierung der Einzelkomponenten

Vorbedingung zur Fixierung der ersten Komponente ist die Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes. In Abb. 1 sind das Antigen (Schafserythrocyten) mit S und dessen Antikörper mit A bezeichnet.

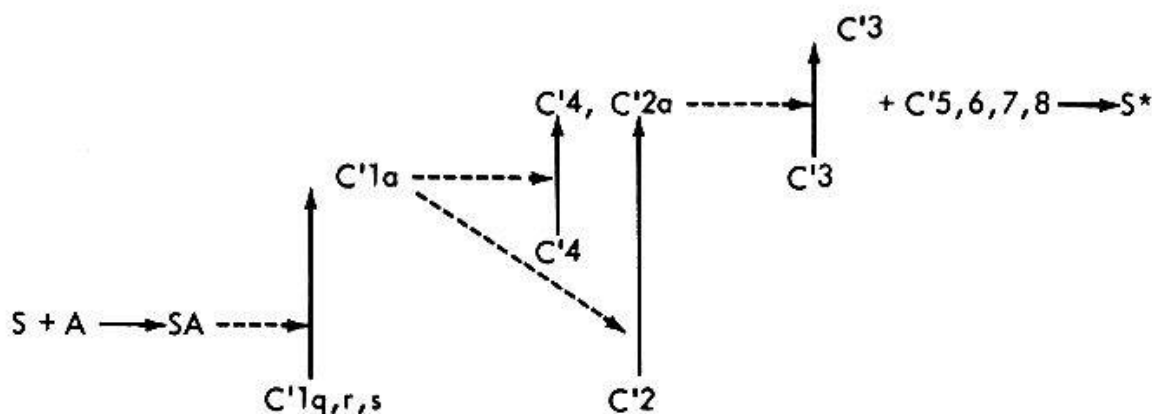


Abb. 1. Sequenz der Fixierung der Komponenten des Komplementes auf der Oberfläche eines sensibilisierten Erythrocyten. Nach Müller-Eberhard [11]. S: Antigen-gruppe, A: spezifischer Antikörper gegen diese Gruppe, S*: geschädigte Stelle der Zell-membran.

Die *erste Komponente* (C'1) ist kürzlich von *Lepow* u. Mitarb. [13] als makromolekularer Komplex mit einer Sedimentationskonstante von 18 S erkannt worden. Sie zerfällt beim Zusetzen von Äthylendiamintetraacetat in 3 Unterkomponenten C'1q, C'1r und C'1s mit Sedimentationskonstanten von 11 S, 7 S und 4 S. Diese 3 Komponenten bilden im Serum eine strukturelle Einheit, die durch Calciumionen zusammengehalten wird (Abb. 2).

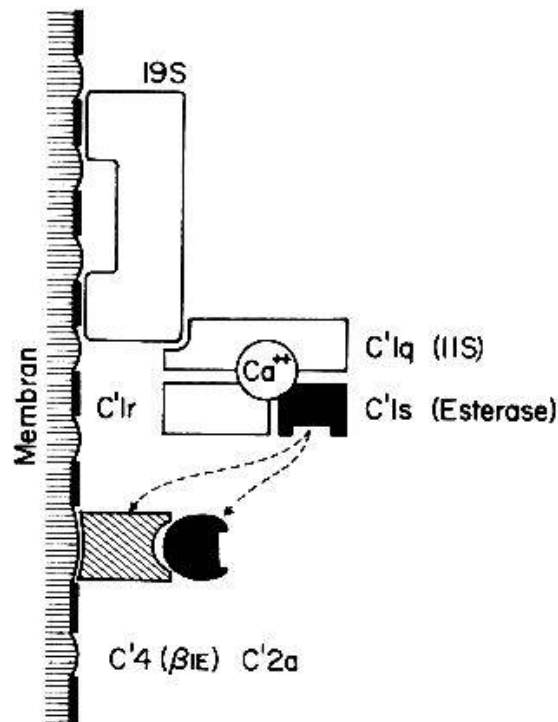


Abb. 2. Schematische Darstellung der Fixierung der Komplement-Komponenten C'1, C'4 und C'2 auf der Zellwand eines mit 19 S-Antikörpern sensibilisierten Erythrocyten, vgl. Text (nach *Lepow* u. Mitarb. [13] und *Müller-Eberhard* [11]).

Die Anlagerung an den Antikörper-Zell-Komplex erfolgt wahrscheinlich durch den C'1q-Anteil. Diese Komponente hat an sich schon die Fähigkeit, mit modifizierten γ -Globulinen zu reagieren. Der C'1s-Anteil, der von *Lepow* [14] und *Becker* [15] als Proesterase erkannt wurde, wird durch die Anlagerung in eine Esterase umgewandelt. Dieser erste Aktivierungsprozeß ist in Abb. 2 schematisch veranschaulicht. Er leitet die Phase der Anlagerung der vierten und zweiten Komponente ein.

Die *vierte Komponente* (C'4, β_{1E} , $S_{20} = 10$ S) wird durch die C'1-Esterase unter Ablösung eines Peptides in eine 9,4 S Komponente übergeführt. Diese Modifikation führt zu einer Fixierung von C'4 direkt an die Zellmembran (vgl. Abb. 2). Tatsächlich gelingt es, den Antikörper von der Zelloberfläche abzulösen, ohne daß C'4 abdissoziiert wird [17].

Die *zweite Komponente* (C'2) wird teilweise durch die C'1-Esterase zerstört, teilweise über die aktivierte C'4-Komponente an die Zellmembran angelagert (Mayer [18]). Der so entstandene C'4-C'2-Komplex ist für die Konversion und Anlagerung der dritten Komponente verantwortlich.

Die *dritte Komponente* (C'3 oder β_{1C}), die mengenmäßig am meisten ins Gewicht fällt (300–400 $\mu\text{g/ml}$ Serum), wird nur zum kleinsten Teil durch den verankerten C'4-C'2-Komplex an die Zellmembran fixiert (Abb. 3). Der größte Teil wird in modifizierter, inaktiver Form (als β_{1G} -Globulin) wieder in das umgebende Milieu abgegeben. Aus der Stöchiometrie und Kinetik muß auf eine enzymatische Reaktion geschlossen werden [11].

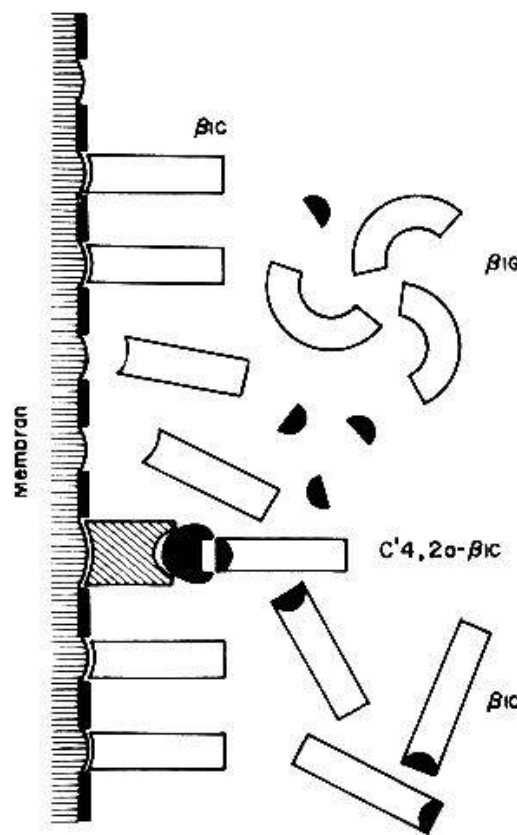


Abb. 3. Schematische Darstellung der Aktivierung der dritten Komplement-Komponente (β_{1C}) durch den C'4-C'2-Komplex. Sekundäre Reaktionen begrenzen die Dauer des aktivierten Zustandes und führen zur Bildung inaktiver β_{1G} -Globuline, vgl. Text (nach Müller-Eberhard [11]).

Die *fünfte Komponente* (C'5, β_{1F}) bildet mit der *sechsten Komponente* einen in der Ultrazentrifuge nachweisbaren Komplex [16]. Eine Fixierung an die Zelloberfläche konnte bisher nicht nachgewiesen werden. Die Wirkung des Komplexes ist stark temperaturabhängig und enzymatischer Natur.

Die *siebente* (C'7), durch EDTA blockierbare sowie die *achte* (C'8), durch bovines Serumalbumin hemmbare Komponente konnten bisher nicht im Reinzustand isoliert werden [18].

Erst nach Ablauf der obgeannten Reaktionen kommt es zur eigentlichen Zell-Lyse. *Borsos* u. Mitarb. [19] konnten mit Hilfe des Elektronenmikroskops die Entstehung von Löchern von 80–100 Å Durchmesser in den Zellmembranen nachweisen. Gewisse Autoren sind der Ansicht, daß die Bildung einer lysolecithin-ähnlichen Substanz für die Zellschädigung verantwortlich ist. Herr *H. Fischer* wird im nächstfolgenden Referat über solche Versuche berichten.

Die Ausarbeitung des Mechanismus der Komplementfixierung gehört zu den wichtigsten Beiträgen der modernen Immunologie. Erstaunlicherweise sind unsere Kenntnisse über einen der wesentlichsten Punkte noch sehr mangelhaft. Welches ist der eigentliche auslösende Faktor der Komplementaktivierung? Unser Institut hat sich seit einiger Zeit mit dieser Frage auseinandergesetzt.

Die Aktivierung von Komplement ist an die Gegenwart von Antigen-Antikörper-Komplexen gebunden. Der auslösende Faktor kann entweder auf dem Antigen, dem Antikörper oder auf einem Bereich lokalisiert sein, der beiden Komponenten gemeinsam ist. Die Natur der durch die Bindung mit Antigen herbeigeführten Strukturveränderungen ist nicht abgeklärt. Im folgenden werden die bisher bekannten inter- und intramolekularen Voraussetzungen, die für die Komplementbindung notwendig sind, auseinandergesetzt.

C. Intermolekulare Voraussetzungen, welche zur Fixierung von Komplement führen

Ishizaka u. Mitarb. [20, 21] haben gezeigt, daß *lösliche Antigen-Antikörper-Komplexe* nur unter bestimmten Bedingungen Komplement aktivieren. In quantitativen Präzipitationsreaktionen mit dem System bovines Serumalbumin-Antiserumalbumin vom Kaninchen wurde in den Überständen die Komplementfixation der löslichen Komplexe geprüft. Dabei ergab sich, daß nur Komplexe in leichtem Antigenüberschuß Komplement fixieren, welche mindestens zwei Antikörpermoleküle enthalten. Komplexe in hohem Antigenüberschuß, welche nur ein Antikörpermolekül enthalten, fixieren kein Komplement. Dieser Befund gilt für verschiedene Immunsysteme mit menschlichen und Kaninchenantikörpern [22]. Im Gegensatz dazu fixieren Rinder-, Hühner- und Pferdeantikörper kein Komplement.

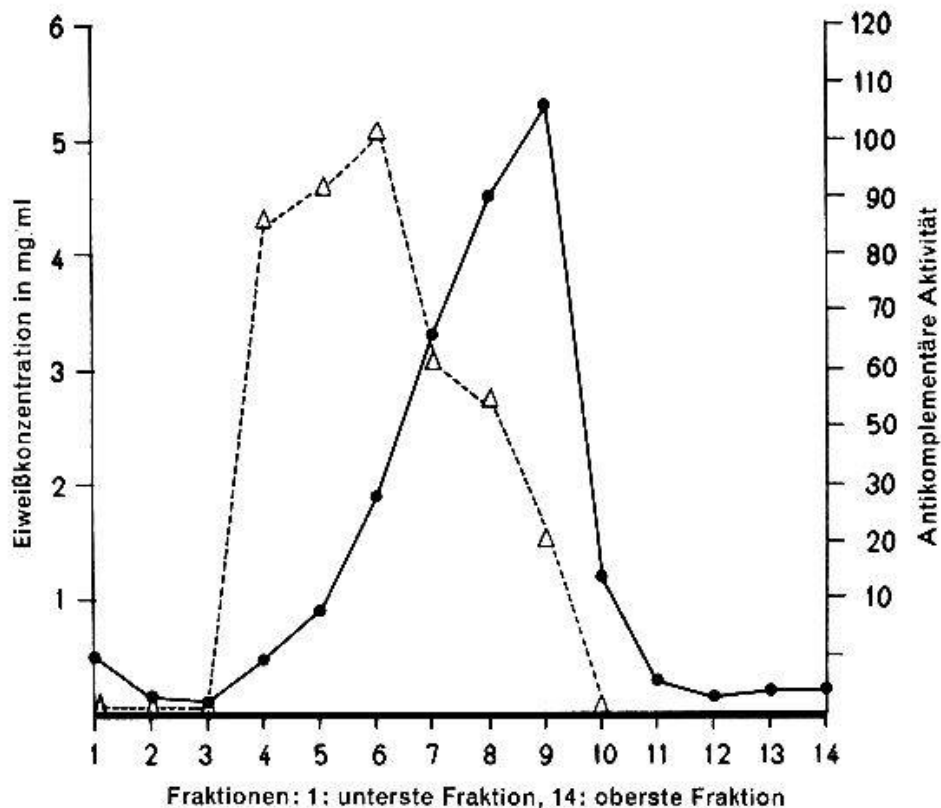


Abb. 4. Ultrazentrifugation von γ -Globulin (frei von hochmolekularen 30–150 S-Aggregaten) im Saccharosegradienten (10–40% Saccharose) während 12 Std. bei 100 000 g. — — — Eiweißkonzentration (mg/ml); - - - - = Antikomplementäre Aktivität pro mg Eiweiß (liegt vornehmlich in der 9 S-Fraktion vor).

Die Versuche mit löslichen Immunkomplexen sagen wohl aus, daß mindestens zwei Antikörpermoleküle im Komplex vorhanden sein müssen, damit Komplement fixiert wird. Ob jedoch der Komplex als solcher oder nur die Antikörpermoleküle für die Komplementfixation verantwortlich sind, bleibt ungewiß. Der Befund, daß *unspezifische γ -Globulin-Aggregate*, die kein Antigen enthalten, Komplement fixieren, ist von besonderer Bedeutung [23, 24]. Die Art der Aggregation spielt eine geringe Rolle [25]. Behandlung der γ -Globuline durch Hitze, Diazotierung oder durch Harnstoff und Mercaptoäthanol führt zu Aggregaten (30–150 S), welche Komplement fixieren. Für die Aktivierung von Meerschweinchenkomplement durch γ -Globulin-Aggregate besteht die gleiche Spezifität wie für die Antikörper in Immunkomplexen [25]. Ferner besteht für γ -Globulin-Aggregate die gleiche Sequenz der Aktivierung der einzelnen Faktoren des Komplements wie für lösliche Immunkomplexe.

Aus den besprochenen Arbeiten geht hervor, daß mehrere γ -Globulinmoleküle in engen Kontakt gebracht werden müssen, damit Komplement aktiviert wird. Dies kann entweder durch spezifische Komplexbildung mit einem polyvalenten Antigen oder durch unspezifische Aggregation des γ -Globulins erfolgen.

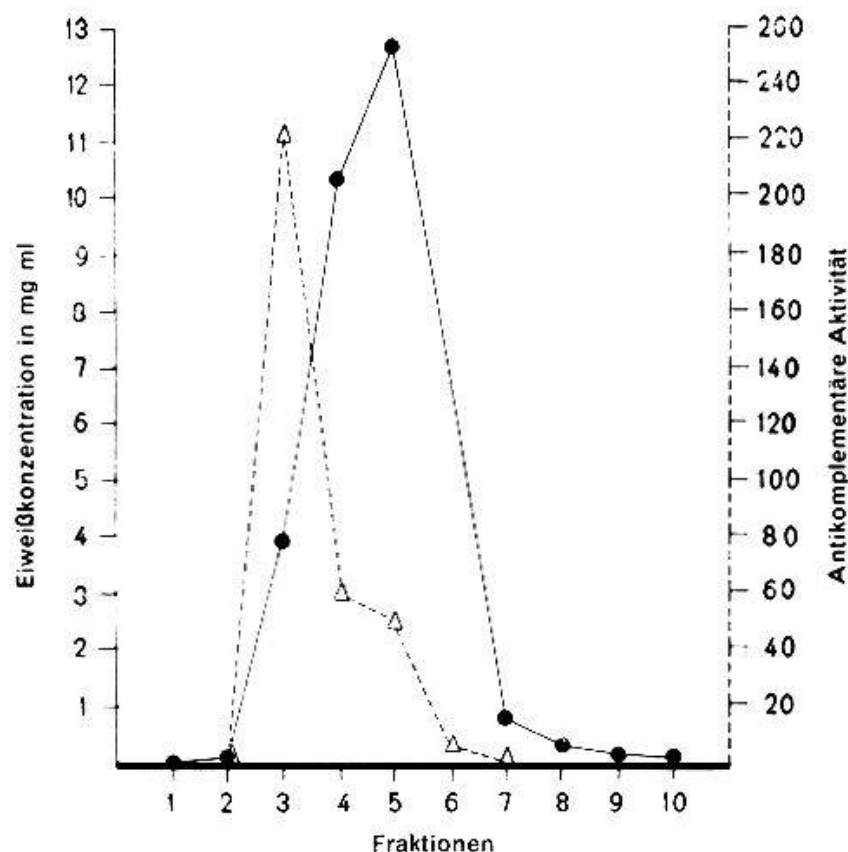


Abb. 5. Gelfiltration von γ -Globulin (frei von hochmolekularen 30–150 S-Aggregaten) auf Sephadex G-200. Dimension der Säule: 1×30 cm; aufgegebene Menge: 67 mg Eiweiß; Fraktionsvolumen: 2,6 ml. — = Eiweißkonzentration (mg/ml); --- = Antikomplementäre Aktivität pro mg Eiweiß (liegt vornehmlich in der 9 S-Fraktion vor).

Auf Grund dieser Befunde haben wir uns die Frage gestellt, ob auch γ -Globulin-Dimere in der Lage sind, Komplement zu fixieren. Alkoholfraktioniertes γ -Globulin besteht zu 80–90% aus Monomeren (6,8 S), 10–20% Dimeren (9 S) und Spuren von höhermolekularen Aggregaten (30–150 S). *Barandun* u. Mitarb. [26] konnten die unspezifische Komplementfixation und die daraus resultierende Unverträglichkeit von alkoholfraktioniertem γ -Globulin nach intravenöser Verabreichung auf dessen Gehalt an höhermolekularen Aggregaten zurückführen. Nach Entfernung der letzteren durch 7stündiges Ultrazentrifugieren bei 40 000 g bleiben aber immer noch 10–20% der ursprünglichen antikomplementären Aktivität vorhanden. Durch 12stündige Ultrazentrifugation im Saccharosegradienten bei 100 000 g konnte nachgewiesen werden, daß die 9 S-Dimeren unspezifisch Komplement fixieren (Abb. 4). Gelfiltration auf Sephadex G-200 führte zum gleichen Ergebnis (Abb. 5). Der Befund von *Edsall* u. Mitarb. [27], daß die 9 S-Dimeren bei Erniedrigung der Eiweißkonzentration dissoziieren, konnte bestätigt werden. Die resultierenden Monomeren sind nicht mehr in der Lage, Komplement zu fixieren.

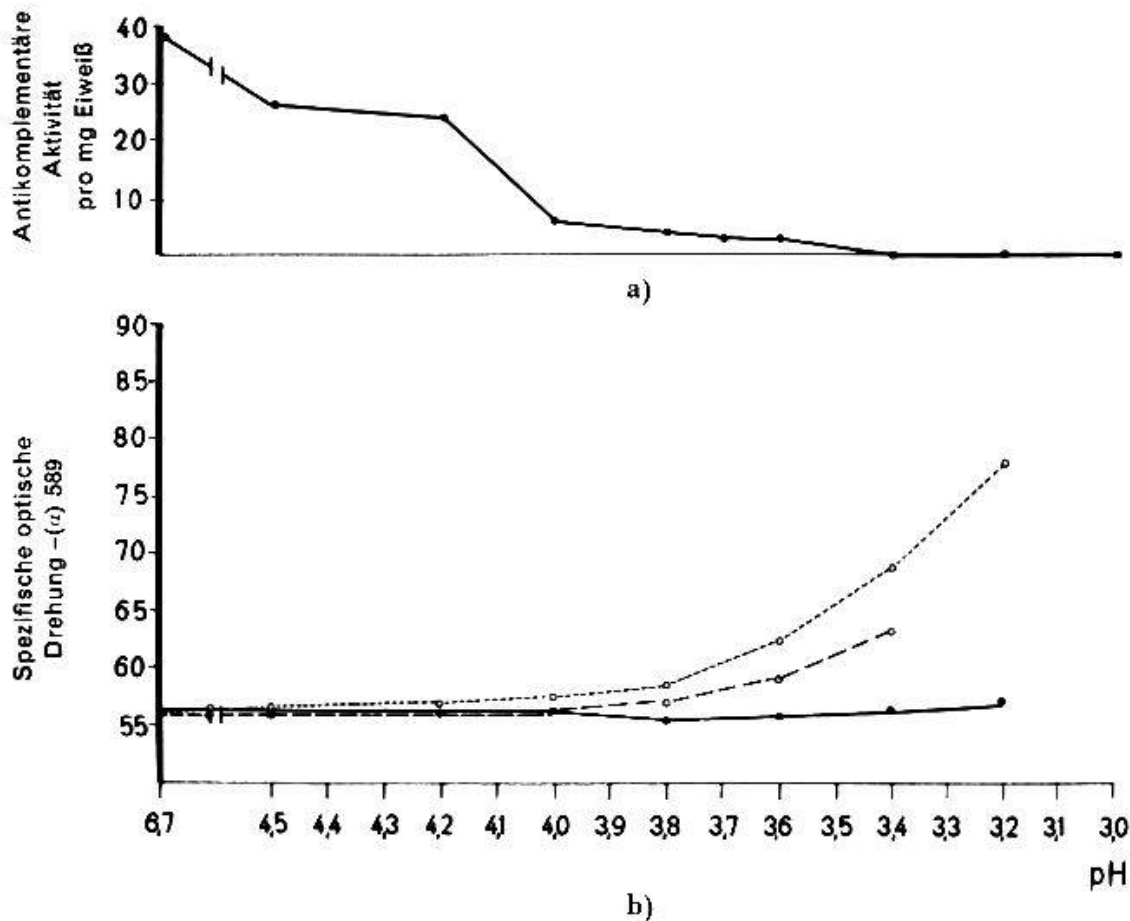


Abb. 6. – a) Antikomplementäre Aktivität von γ -Globulin als Funktion des pH. Jeder Meßpunkt entspricht einem gesonderten Ansatz, dessen pH nach 17stündiger Inkubation bei 37° C auf 6,7 eingestellt wurde. – b) Die spezifische optische Drehung $-[\alpha]_{589}$ von γ -Globulin als Funktion des pH nach 17stündiger Inkubation bei 37° C (obere gestrichelte Kurve). – Werden die Lösungen nach Inkubation auf pH 6,7 eingestellt, so ergibt sich die mittlere gestrichelte Kurve; die Veränderung der optischen Drehung ist nur zum Teil reversibel. Werden die Lösungen bei 0° C inkubiert, so sind die oberhalb pH 3,2 eingetretenen Veränderungen der optischen Drehung völlig reversibel (ausgezogene Kurve).

Werden γ -Globulin-Lösungen auf pH 4,0 eingestellt, 24 Std. bei 37° C inkubiert und das pH wieder auf 6,7 eingestellt, so verlieren sie die Fähigkeit, Komplement zu fixieren [26]. Der gleiche Endeffekt kann erzielt werden, wenn das γ -Globulin bei pH 3 und 0° C inkubiert wird und das pH auf 7,0 zurückgestellt wird [26]. In einem System, welches nur aus Monomeren und aus Dimeren besteht, konnte festgestellt werden, daß durch die Behandlung bei tiefem pH die 9 S-Dimeren modifiziert werden. Die Sedimentationskonstanten steigen je nach dem eingestellten pH auf 9,4–10,8 S. Werden die hochmolekularen Bestandteile (30–150 S) von den Dimeren abgetrennt und in einem getrennten Ansatz bei pH 4 und 37° C behandelt, so kommt es gleichfalls zu einer Erhöhung der Sedimentationskonstanten. In allen Fällen verschwindet die antikomplementäre Aktivität.

Phelps u. Mitarb. [28] konnten zeigen, daß durch Erniedrigung des pH die γ -Globulin-Moleküle anschwellen und eine mehr symmetrische Form annehmen. Die Autoren nehmen an, daß die Formveränderungen mit der Spaltung von Wasserstoffbrücken verbunden sind. Unsere Arbeitsgruppe konnte durch Bestimmung der spezifischen optischen Drehung diese Annahme bekräftigen. Nach Wiedereinstellen des pH auf 7,0 bilden sich die Wasserstoffbrücken zum Teil auch intermolekular, unter Bildung von Aggregaten, wieder zurück.

Abb. 6 a) und b) veranschaulichen die Beziehungen zwischen der Abnahme der antikomplementären Aktivität und der durch Verfolgung der spezifischen optischen Drehung feststellbaren Strukturveränderung des γ -Globulins. Nach 17-stündiger Inkubation steigt die optische Drehung bei pH-Werten unter 4 an (gestrichelte obere Kurve in Abb. 6 b). Wird nach erfolgter Inkubation das pH auf 6,7 zurückgestellt, so ergeben sich irreversible Veränderungen (gestrichelte mittlere Kurve). Werden die Lösungen bei 0° C inkubiert, so sind die oberhalb pH 3,2 eingetretenen Veränderungen der optischen Drehung weitgehend reversibel (ausgezogene Kurve).

Das Anschwellen der Moleküle nach Erniedrigung des pH und die dadurch bedingte Zunahme der Symmetrie der γ -Globulin-Dimeren steht wahrscheinlich mit der Abnahme der antikomplementären Aktivität in Zusammenhang. Die Distanz zweier Fc-Fragmente, die eine optimale Fixierung von Komplement zulassen, erscheint nach diesen Befunden sehr kritisch. Die Tatsache, daß gewisse Antigen-Antikörper-Komplexe kein Komplement fixieren, kann unter anderm auch darauf zurückzuführen sein, daß die Dichte der Antigen-determinanten auf einer Zellmembran zu klein ist, um eine genügende Annäherung der Antikörpermoleküle einzuleiten.

D. Intramolekulare Voraussetzungen für die Komplementfixierung

Fragmente. Die bis jetzt beschriebenen Versuche haben gezeigt, daß zwei γ -Globulin-Moleküle in engen Kontakt gebracht werden müssen, damit Komplement fixiert wird. Um den für die Komplementfixierung verantwortlichen Bereich näher zu charakterisieren, wurde γ -Globulin von *Taranta* u. Mitarb. [29] mit Papain und Pepsin in Fragmente zerlegt. Die nach Zusatz von Antigen gebildeten Antigen-Antikörperfragment-Komplexe waren nicht mehr befähigt, Komplement zu inaktivieren.

Ishizaka u. Mitarb. [30] fragmentierten γ -Globulin mit Papain nach den Angaben von *Porter* [31, 32]. Sowohl das Fab- (I und II) als auch das Fc-Fragment (III) wurden durch Diazotierung aggregiert. Die aggregierten

gierten Fab-Fragmente fixierten kein Komplement, wohl aber die aggregierten Fc-Fragmente. Diese Arbeiten zeigen, daß die für die Komplementfixierung verantwortlichen Anteile auf dem Fc-Fragment des γ -Globulin-Moleküls lokalisiert sind.

Disulfidbrücken spielen eine große Rolle für die Aufrechterhaltung der Struktur der γ -Globuline. *Barandun* u. Mitarb. [26] konnten durch Reduktion mit 0,1-m Cysteamin und Blockierung der Sulfhydrylgruppen mit Jodacetamid die antikomplementäre Aktivität von γ -Globulin zum Verschwinden bringen. Dieser Befund wurde von *Wiedermann* u. Mitarb. [33] bestätigt. Die mit Jodacetamid behandelten γ -Globuline wurden bei 63° C aggregiert und fixierten nicht mehr Komplement. *Ishizaka* u. Mitarb. [30] reduzierten γ -Globulin mit 0,1-m Mercaptoäthanol in Gegenwart von Harnstoff (2-m oder 6-m) und blockierten die Sulfhydrylgruppen mit Jodacetat. Nach dieser Behandlung aggregierten sie die γ -Globuline durch Diazotierung und bestimmten die antikomplementäre Aktivität. Die in Gegenwart von 2-m Harnstoff reduzierten und alkylierten γ -Globuline waren nach Aggregation durch Diazotierung noch in der Lage, Komplement zu fixieren. In 6-m Harnstoff reduzierte und alkylierte γ -Globuline waren nach Aggregation durch Diazotierung nicht mehr in der Lage, Komplement zu fixieren.

Shur und *Christian* [34] reduzierten Kaninchen-Antikörper gegen humanes Serumalbumin mit 0,1-m Mercaptoäthanol und blockierten die resultierenden Sulfhydrylgruppen mit Jodacetamid. Mit den so reduzierten Antikörpern machten sie Immunpräzipitate in der Äquivalenzzone und prüften deren Fähigkeit, Komplement zu fixieren. Bei Reduktion von 7,4 Disulfidbrücken blieben 98% der Fähigkeit zu präzipitieren erhalten. 90% der Fähigkeit, Komplement zu fixieren, gingen verloren.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Komplementfixierung im wesentlichen durch zwei benachbarte Fc-Fragmente bestimmt wird. Schwellung durch Säurezusatz oder Reduktion einer kritischen Anzahl Disulfidbrücken führt zu einem Verlust der Fähigkeit, Komplement zu fixieren.

Die unspezifische Fixierung von γ -Globulinen auf Zellen und Geweben wird wie die Komplementfixierung auf das Fragment Fc zurückgeführt. Es war naheliegend, festzustellen, ob diese zwei Eigenschaften durch die gleichen molekularen Strukturen vermittelt werden. Tabelle 3 zeigt, daß die Behandlung von humanem γ -Globulin mit Säure und Reduktionsmitteln das Zellfixierungsvermögen und die antikomplementären Eigenschaften eines Antikörpermoleküls verschieden und zum Teil in entgegengesetztem Sinne beeinflussen (*Islaker* u. Mitarb. [32]).

Tabelle 3

Fixierung von humanem γ -Globulin auf menschlichem Lebergewebe; Vergleich mit der antikomplementären Aktivität

γ -Globulin-Präparat	Fixierung auf Lebergewebe % (Mittelwerte ¹)	Anti-komplementäre Aktivität ²
Cohn-Fraktion II (Lot 68)	23,9	16
inkubiert bei pH 4	35,5	<2
inkubiert bei pH 4 mit Pepsin (1:10 000) ..	18,2	<2
aggregiert bei 63° C.....	53,6	1024
aggregiert bei 63° C und inkubiert bei pH 4	60	<2
Cohn-Fraktion II (Lot 66)	21,5	96
inkubiert mit 0,1 m Mercaptoäthylamin und alkyliert	22,9	<2

¹ 1-30 μ g I¹³¹-markierte γ -Globuline wurden mit 100 mg menschlichem lyophilisiertem Lebergewebe während 5 min bei 37° C inkubiert und 3mal gewaschen (nach *Isliker* u. Mitarb. [32]).

² Nach *Kabat* und *Mayer* [12].

E. Biologische Aktivitäten des Komplements am Beispiel der allergischen Sofortreaktion

Injiziert man Meerschweinchen intracutan Antikörper und 30 min später intravenös das entsprechende Antigen gemischt mit Evans-Blau, so bildet sich in der Hautstelle eine Reaktion mit erhöhter Gefäßpermeabilität. Diese «passive cutane Anaphylaxie» kann gehemmt werden, wenn zusammen mit dem Antikörper normale γ -Globuline oder Papainfragment Fc injiziert wird [35].

Folgender Mechanismus kann der Reaktion zugrunde gelegt werden: 1. Der intracutan injizierte Antikörper wird unspezifisch durch Fragment Fc an das Gewebe fixiert. Dies erscheint wahrscheinlich, da die passive cutane Anaphylaxie durch Fragment Fc gehemmt werden kann. 2. Das intravenös injizierte Antigen bildet mit dem auf dem Gewebe fixierten Antikörper einen spezifischen Komplex. 3. Der spezifische Komplex aktiviert Komplement, welches über zahlreiche enzymatische Zwischenreaktionen zur Freisetzung von Histamin führt. Daß Komplement an der passiven cutanen Anaphylaxie teilnimmt, konnte direkt durch Immunofluoreszenz nachgewiesen werden [36].

Ishizaka u. Mitarb. bildeten lösliche Antigen-Antikörper-Komplexe *in vitro* und injizierten sie Meerschweinchen intradermal. Intravenös wurde Evans-Blau verabreicht. Die *in vitro* gebildeten Immunkomplexe bewirkten eine gleiche Hautreaktion wie die klassische passive cutane

Anaphylaxie. Dieselbe Reaktion konnte auch hervorgerufen werden, wenn den Meerschweinchen unspezifische γ -Globulin-Aggregate injiziert wurden. Zwischen der Hautreaktion in vivo und der Komplementfixation in vitro besteht eine strenge Korrelation. Nur Immunkomplexe, welche mindestens zwei Antikörpermoleküle enthalten, bewirken eine Hautreaktion [20, 21, 24].

Ratnoff und *Lepow* [37] haben die Wirkung gereinigter C'1-Esterase bei intradermaler Verabreichung untersucht. Sie injizierten Meerschweinchen intracutan gereinigte C'1-Esterase. 15 min später erhielten die Tiere Pontaminblau intravenös. An der Injektionsstelle wurde eine Reaktion mit erhöhter Gefäßpermeabilität sichtbar. Die Reaktion konnte durch den natürlichen C'1-Esterase-Inhibitor und durch Diisopropylfluorophosphat gehemmt werden. Die positive Reaktion konnte auch durch intravenöse Gaben von Triprolidin – ein Antihistaminicum – unterdrückt werden. In vitro ist Triprolidin kein C'1-Esterase-Hemmer. Dies deutet darauf hin, daß die C'1-Esterase erst über Zwischenstufen zur Freisetzung von Histamin führt. *Ben-Efraim* u. Mitarb. [38] zeigten, daß die passive cutane Anaphylaxie in mindestens zwei Phasen abläuft. Mit C'3-defekten Mäusen konnten die Autoren nachweisen, daß in der ersten Phase C'3 nicht notwendig ist. In der zweiten Phase werden alle Komplementfaktoren gebraucht. Die Dauer der ersten Phase ist abhängig von der Menge des intradermal injizierten Antikörpers.

Den direkten Nachweis der Teilnahme von Komplementfaktoren an der passiven cutanen Anaphylaxie erbrachten *Ward* und *Cochrane* [36]. Mit fluoresceinmarkierten Antikörpern gegen C'3 konnten sie 3 Std. nach der intravenösen Verabreichung des Antigens C'3 direkt in den Blutgefäßwänden und im Interstitium nachweisen. C'3 war gleich lokalisiert wie das Antigen (bovines Serumalbumin) und die Antikörper. In dekomplementierten Kontrolltieren konnte kein C'3 mit der beschriebenen Lokalisierung nachgewiesen werden.

Abschließend soll die Frage erörtert werden, weshalb so zahlreiche Faktoren für die Sicherstellung der Komplementfunktion notwendig sind. Die Tatsache, daß verschiedenste Tierspezies im Verlaufe ihrer Evolution identische Mechanismen entwickelt haben, zeugt für deren Zweckmäßigkeit.

Es muß vorweggenommen werden, daß die Ansprüche des Organismus an das Komplementsystem sehr hoch sind: der tierische Organismus verlangt, daß ausschließlich Fremdzellen oder dann alternde, entartete körpereigene Zellen zerstört werden. Dies ist nur möglich, wenn die als Antigen wirkende Zelle durch Antikörper markiert wird und damit selbst die Aktivierung des Komplementsystems in Gang setzt. Lytische Sub-

stanzen dürfen nur in geringsten Mengen freigesetzt werden, um eine Diffusion in gesunde Zellverbände zu vermeiden.

Wie im Falle der Blutgerinnung ist die präzise Regelung und Lokalisierung eines lebenswichtigen Vorgangs nur möglich, wenn eine Vielzahl von Faktoren eingreifen, die im richtigen Augenblick eine Teilreaktion im fördernden oder hemmenden Sinn zu beeinflussen vermögen.

Schließlich muß berücksichtigt werden, daß das Komplementsystem nicht nur zur Bildung von Löchern in Membranen führt, sondern auch chemotaktische und opsonisierende Funktionen ausübt. Es ist in der Arthus-Reaktion, Immunadhäsion und Immunkonglutination beteiligt. Um all diesen Funktionen gerecht zu werden, ist es verständlich, daß das Komplementsystem eine relativ komplexe Struktur aufweisen muß. Die neuesten Befunde weisen darauf hin, daß je nach der zu erfüllenden Aufgabe alle oder nur ein Teil der Komplementkomponenten in die Sequenz der Reaktionen eingreifen.

Zusammenfassung

Es wird eine Übersicht gegeben über die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Komplementes und die Sequenz der Fixierung der bisher bekannten 10 Einzelkomponenten. Anschließend werden eigene Resultate über die inter- und intramolekularen Voraussetzungen gegeben, die zur Fixierung von Komplement an γ -Globulin führen. Einige biologische Eigenschaften des Komplementes werden am Beispiel der passiven cutanen Anaphylaxie erläutert.

Résumé

Un aperçu est donné sur les propriétés physico-chimiques du complément, ainsi que sur la séquence de fixation des 10 composés connus de ce dernier. Des résultats de notre laboratoire sont donnés sur les réactions inter- et intramoléculaires de la γ -globuline qui conduisent à une fixation du complément. Les propriétés biologiques du système du complément sont illustrées dans le cas de l'anaphylaxie cutanée passive.

Riassunto

Vengono passate in rivista le proprietà fisico-chimiche del complemento, come pure l'ordine di fissazione dei dieci elementi conosciuti dello stesso. In seguito sono esposti i risultati del nostro laboratorio concernenti le reazioni inter- e intramolecolari della γ -globulina,

conducenti ad una fissazione del complemento. Le proprietà biologiche del sistema del complemento sono illustrate prendendo come esempio il caso dell'anafilassi cutanea passiva.

Summary

A brief review is given on the physico-chemical properties of complement and the sequence of fixation of its known 10 components. Own results are exposed on the inter- and intramolecular reactions of γ -globulin which initiate complement fixation. Some of the biological properties of the complement system are illustrated in the case of passive cutaneous anaphylaxis.

1. Hunter J., zit. in: Zinser H., Enders J. F. und Fothergill L. D.: Immunity. The Macmillan Co., New York 1941. – 2. Buchner H.: Zbl. Bakt. usw. 5, 817 (1889). – 3. Ehrlich P. und Morgenroth J.: Berl. klin. Wschr. 37, 453 (1900). – 4. Heidelberger M.: Science 92, 534 (1940). – 5. Ferrata A.: Berl. klin. Wschr. 44, 366 (1907). – 6. Pillemer L., Ecker E. F., Oncley J. L. und Cohn E. J.: J. exp. Med. 74, 297 (1941). – 7. Müller-Eberhard H. J. und Kunkel H. G.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 106, 291 (1961). – 8. Müller-Eberhard H. J. und Biro C.: J. exp. Med. 118, 447 (1963). – 9. Müller-Eberhard H. J., Nilsson U. und Aronsson T.: J. exp. Med. 111, 201 (1960). – 10. Müller-Eberhard H. J.: The role of antibody, complement and other humoral factors in host resistance to infections, in: Bacterial and Mycotic Infections of Man. Lippincott Co 1964, p. 181. – 11. Müller-Eberhard H. J.: Die Chemie der Komplement-Faktoren. Moosbach Kolloquium (im Druck). – 12. Mayer M. M., in: E. A. Kabat and M. M. Mayer: Experimental Immunochemistry. C. Thomas, Springfield, Ill. 1961. – 13. Lepow I. H., Naff G. B., Todd E. W., Pensky J. und Hinz C. F.: J. exp. Med. 117, 983 (1963). – 14. Lepow I. H., Ratnoff O. D., Rosen F. S. und Pillemer L.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 92, 32 (1956). – 15. Becker E. L.: J. Immunol. 77, 462 (1956). – 16. Nilsson U. und Müller-Eberhard H. J.: J. exp. Med. 122, 277 (1965). – 17. Harboe M.: Brit. J. Haemat. 10, 339 (1964). – 18. Mayer M. M.: Ciba Foundation Symposium on Complement. Churchill Ltd., London 1965. – 19. Borsos T., Dourmashkin R. R. und Humphrey J.: Nature 202, 251 (1964). – 20. Ishizaka K. und Campbell D. H.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 97, 635 (1958). – 21. Ishizaka K., Ishizaka T. und Campbell D. H.: J. exp. Med. 109, 127 (1959). – 22. Ishizaka K., Ishizaka T. und Campbell D. H.: J. Immunol. 83, 105 (1959). – 23. Christian C. L.: J. Immunol. 84, 112 (1960). – 24. Ishizaka T. und Ishizaka K.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 101, 845 (1959). – 25. Ishizaka K. und Ishizaka T.: J. Immunol. 85, 163 (1960). – 26. Barandun S., Kistler P., Jeunet F. und Isliker H.: Vox Sang. (Basel) 7, 157 (1962). – 27. Edsall J. T. und Foster J. F.: J. Amer. chem. Soc. 70, 1860 (1948). – 28. Phelps R. A. und Cann J. R.: Biochim. biophys. Acta (Amst.) 23, 149 (1957). – 29. Taranta A. und Franklin E. C.: Science 134, 1981 (1961). – 30. Ishizaka K. und Ishizaka T.: J. Immunol. 93, 59 (1964). – 31. Porter R. R.: Biochem. J. 73, 119 (1959). – 32. Isliker H., Jacot-Guillarmod H. und Jaton J. C.: Ergebn. Physiol. 56, 67 (1965). – 33. Wiedermann G., Miescher P. A. und Franklin E. C.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 113, 609 (1963). – 34. Shur P. H. und Christian G. D.: J. exp. Med. 120, 531 (1964). – 35. Ishizaka K., Ishizaka T. und Sugahara T.: J. Immunol. 88, 690 (1962). – 36. Ward P. A. und Cochrane Ch.: J. exp. Med. 121, 215 (1965). – 37. Ratnoff O. D. und Lepow I. H.: J. exp. Med. 118, 681 (1963). – 38. Ben-Efraim S. und Cinader B.: J. exp. Med. 120, 925 (1964).

Diskussion:

A. Hässig (Bern): Sind Immunglobuline (Antigen-Antikörper-Komplexe bzw. aggregierte γ -Globuline) zur Aktivierung von Komplement unerlässlich?

H. Fischer (Freiburg i. Br.): Wir haben vor Jahren die Vermutung geäußert, daß der Komplementschwund bei der Verbrennungskrankheit möglicherweise nicht nur durch die Aggregation von γ -Globulinen, sondern auch durch Veränderungen anderer Proteine und der Zelloberflächen verursacht sein könne (Zit.: siehe Abschnitt: «Nicht-immunologische C'-Fixierung» im Vortrag am 15. Mosbacher Kolloquium 1964, Springer-Verlag 9, in Vorbereitung). Bewiesen ist diese Vermutung bisher nicht. *Müller-Eberhard* hat jedoch kürzlich berichtet, daß gereinigtes C'4 nach Reaktion mit aktivierter C'1-Esterase auch in Abwesenheit von Immunglobulinen an Erythrocyten angelagert werden kann. Ob dieser Mechanismus in vivo vorkommt, muß noch untersucht werden.

H. Isliker an A. Hässig: Unseres Wissens sind nur Immunglobuline befähigt, Komplement zu aktivieren. Thrombinpräparate, die eben erwähnt wurden, enthalten öfters γ M-Globuline als Verunreinigung. *Müller-Eberhard* hat kürzlich gezeigt, daß Polyäthylenglykol in Abwesenheit spezifischer Antikörper Komplement aktivieren kann. Diese Wirkung ist aber wahrscheinlich auf eine Aggregation unspezifischer γ -Globuline in unmittelbarer Nähe der Zellmembran zurückzuführen.