

ISSN 1773-035X



ELSEVIER

mensuel

N° 504 bis
juillet-août 2018

76823

Revue Francophone des Laboratoires

SUPPLÉMENT

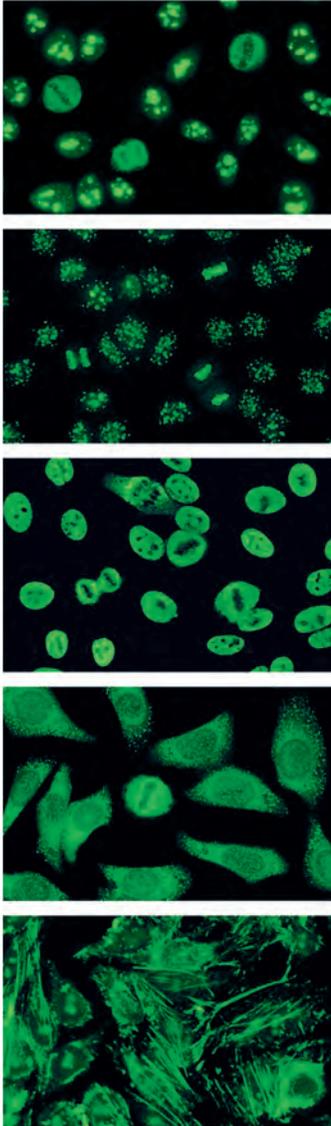
Actualités

Autoanticorps

10^e Colloque • GEAI2018

LUNDI 25 ET MARDI 26 JUIN 2018

geai



EUROPattern

Microscope IFI automatisé pour l'auto-immunité



SIL



Automate d'immunoblot
EUROBlotOne



Préparateur de lames IFI
Sprinter

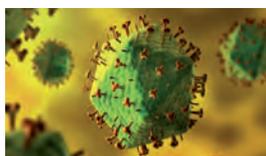


Middleware
EUROLabOffice

Auto-immunité



Sérologie infectieuse



Allergologie



Détection d'antigènes



Diagnostic moléculaire





Elsevier Masson SAS
Société par actions
simplifiées à associé unique
au capital de 47 275 384 €
RCS Nanterre B 542 037 031

65, rue Camille-Desmoulins
92130 Issy-les-Moulineaux

Tél./Fax: 01 71 16... + les 4 chiffres
de votre correspondant
<http://www.elsevier-masson.fr>

PRÉSIDENT ET DIRECTEUR DE LA PUBLICATION :
Daniel Rodriguez

DIRECTRICE DES REVUES PROFESSIONNELLES,
RÉDACTRICE EN CHEF :
Yasmina Ouharzoune
y.ouharzoune@elsevier.com

COLLABORATEUR DE LA RÉDACTION :
Actualités – Revue de presse –
Santé publique – Veille juridique :
Jean-Marie Manus

FAX-RÉDACTION : 01 71 16 51 59
MARKETING – RESPONSABLE DE MARCHÉ :
Anne-Claire Nonnotte (55 83)
a.nonnotte@elsevier.com

PUBLICITÉ – RESPONSABLE DE PUBLICITÉ :
Nicolas Zarjevski (51 38)
Mobile: 06 14 68 51 26
n.zarjevski@elsevier.com

SERVICE ABONNEMENTS :
Tél.: 01 71 16 55 99 – Fax: 01 71 16 55 77
<http://www.em-consulte.com/infos>

MAQUETTE : Humancom

INFORMATIONS ENVIRONNEMENTALES :
Origine du papier : Allemagne
Pourcentage des fibres recyclées : 0%
Certification des fibres : PEFC, FSC
Eutrophisation de l'eau: 14g P tonne⁻¹

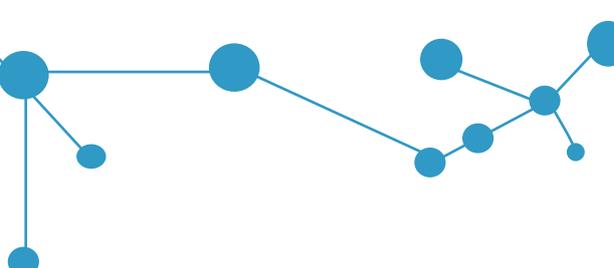
IMPRESSION :
Lescure Théol, 27 Douains.

Dépôt légal : à parution

Couverture
© DR

Index des annonceurs –
Elsevier Masson 2 - 4 - 37 - 40
eurobio ingen 4^e de couv
PerkinElmer company 2^e de couv

Copyright© 2018 — Elsevier Masson SAS — Tous droits réservés.
Cette publication et son contenu sont protégés par le copyright de Elsevier Masson SAS, et les dispositions suivantes s'appliquent à son utilisation: Les simples photocopies d'articles isolés sont autorisées pour un usage privé, dans la mesure où les lois nationales relatives au copyright le permettent. L'autorisation de l'éditeur et le paiement de redevances est obligatoire pour toutes les autres photocopies, y compris les copies multiples ou systématiques, les copies effectuées à des fins promotionnelles ou de publicité, la revente et toute autre forme de distribution de documents. Des tarifs spéciaux sont disponibles pour les institutions d'enseignement qui souhaitent faire des photocopies à des fins non commerciales d'enseignement. Les personnes peuvent obtenir les autorisations nécessaires et payer les redevances correspondantes auprès du Centre Français d'Exploitation du Droit de la Copie (20, rue des Grands-Augustins, F – 75006 Paris). Les abonnés sont autorisés à effectuer des copies des tables des matières, ou établir des listes d'articles comprenant des extraits pour un usage interne à l'intérieur de leurs institutions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour toute revente ou divulgation en dehors de l'institution. L'autorisation de l'éditeur est requise pour tous autres travaux dérivés, y compris les compilations et les traductions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour saisir de façon électronique tout élément contenu dans la présente publication, y compris tout ou partie d'un article. Prière de prendre contact avec l'éditeur à son adresse indiquée ci-dessus. À l'exception de ce qui est indiqué ci-dessus, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, saisie dans un système de sauvegarde, ou transmise sous quelque forme que ce soit, électronique, mécanique, par photocopie, enregistrement ou autre, sans l'autorisation préalable et écrite de l'éditeur. La responsabilité de l'éditeur ne saurait en aucune façon être engagée pour tout préjudice et/ou dommage aux personnes et aux biens, que cela résulte de la responsabilité du fait des produits, d'une négligence ou autre, ou de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées contenus dans la présente publication. En raison de l'évolution rapide des sciences médicales, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.



Édito

10^e Colloque du Geai

Le GEAI, Groupe d'Étude de l'Autoimmunité, organise pour la 10^e fois son Colloque dans cette vénérable maison de Louis Pasteur. Le GEAI, créé le 4 décembre 1992, n'a pas la prétention d'être une Société Savante, mais ces 26 années de confrontation régulière de l'expérience quotidienne de ses membres lui ont conféré une pleine légitimité pour afficher sa compétence en autoimmunologie pratique. Sa mission principale est de parfaire la recherche des autoanticorps en se penchant sur les paramètres des différentes méthodes utilisées en pratique courante et d'apprécier leur utilité pour le diagnostic des maladies autoimmunes.

L'autoimmunologie évolue sans cesse. Chaque mois nous découvrons de nouvelles publications annonçant la découverte de nouveaux anticorps, de nouvelles méthodes, de nouveaux kits de réactifs, de nouveaux appareils, dont nous devons évaluer les pertinences et les performances. La recherche des autoanticorps a été simplifiée et automatisée, ce qui a incité beaucoup de laboratoires à se lancer en diagnostic autoimmun. Or il faut savoir qu'un autoanticorps n'est pas un constituant chimique comme le glucose ou le cholestérol et ne se recherche pas par une simple pression sur un bouton. Il est indispensable de connaître en détail les techniques utilisées. La fonction anticorps, caractérisée par la spécificité de reconnaissance d'un épitope donné d'une molécule d'antigène, est supportée par l'immunoglobuline qui est un homodimère complexe dont les domaines constants, qui ne participent pas au site anticorps, sont néanmoins susceptibles d'interagir avec toute sorte de molécules par des liaisons hydrogène, électrostatiques ou hydrophobes, ce qui influe grandement sur la standardisation et le choix des « sérums étalons de calibration ». Cette situation devrait aussi être rappelée aux « accréditeurs » qui comparent les courbes d'étalonnage pour le dosage de la créatinine à celle de la mesure des anticorps anti-DNA et tenter de leur expliquer qu'il est difficile de comparer les résultats obtenus avec les différentes méthodes pour un même sérum. Tout doit être fait sur l'amélioration des performances analytiques, mais en chimie c'est la quantité qui compte, alors qu'en autoimmunologie, c'est la spécificité qui prime. Les différentes sessions de ce Colloque permettront, je l'espère, de trouver des réponses à ces questions. ■■

Merci pour votre présence, votre fidélité et votre amitié

Professeur René-Louis Humbel
Président du GEAI

Remerciements

Le Professeur René-Louis Humbel, président du GEAI, ainsi que tous les membres du GEAI adressent leurs remerciements aux sociétés suivantes dont le soutien financier a permis l'organisation de ce 10^e colloque : Biologie prospective – Biorad – Bühlmann – DTEK – DIAsource – Eurobio/InGen – Euroimmun France – Immunodiagnostic System – Launch Diagnostic – Orgentec – Theradiag – Thermofisher scientific Phadia – Werfen

Groupe d'étude de l'auto-immunité (GEAI)

PRÉSIDENT : René-Louis Humbel, Luxembourg.
VICE-PRÉSIDENTE : Joëlle Goetz, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg.
TRESORIER : Alain Chevailler, CHU, Angers.
SECRETARIE : Catherine Johanet, CHU Saint-Antoine Paris.
WEBMASTER : Pascale Chrétien, CHU Le Kremlin-Bicêtre Paris
MEMBRES : Isabel Abreu, Faculté de médecine de Lisbonne, Portugal - Xavier Bossuyt, Hôpitaux universitaires, Leuven, Belgique - Sophie Desplat-Jego, Hôpital de la Conception, Marseille - Sylvain Dubucquoi, CHRU, Lille - Nicole Fabien HCL Lyon Sud, Pierre-Bénite - Françoise Fortenfant, Hôpital Rangueil, Toulouse - Sophie Hüe, CHU Henri Mondor, Créteil - Catherine Johanet CHU Saint-Antoine, Paris - Daniela Lakomy, CHU, Dijon - Nils-Olivier Olsson, in memoriam - Thierry Vincent, CHU Saint-Éloi, Montpellier

Sommaire

Supplément RFL • N° 504 bis • Juillet/Août 2018

Lundi 25 et mardi 26 juin 2018 – Institut Pasteur

Actualités sur les autoanticorps 10^e Colloque du GEAI 2018

- ▶ **Trente ans d'expérience en auto-immunité**
Joëlle Goetz **p. 5**

- ▶ **Autoanticorps utiles au diagnostic et au pronostic des sclérodermies**
Nicole Fabien, Joëlle Goetz..... **p. 6**

- ▶ **Dermatoses bulleuses auto-immunes: pemphigus, pemphigoïde bulleuse**
Sophie Hue..... **p. 14**

- ▶ **Marqueurs des glomérulonéphrites extra-membraneuses idiopathiques**
*Catherine Johanet, Éric Anton, Chantal Desgruelles, Éric Ballot,
Francoise Fortenfant*..... **p. 23**

- ▶ **Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles:
30 ans d'expérience angevine**
*Gilles Renier, Jean-François Augusto, Céline Beauvillain, Pascale Jeannin,
Jean-François Subra, Alain Chevailler*..... **p. 27**

- ▶ **Autoanticorps anti-MOG**
Florian Piques, Pascale Chrétien..... **p. 31**

- ▶ **Autoanticorps anti-CarP**
Thierry Vincent..... **p. 32**

- ▶ **Autoanticorps anti-TRIM21 (SS-A/Ro52)**
Maeva Rodriguez, Thierry Vincent..... **p. 34**

- ▶ **Autoanticorps anti-HMG-Coenzyme A réductase**
Nicole Fabien..... **p. 38**

- ▶ **À propos de la nouvelle nomenclature concernant la recherche
des anticorps antinucléaires par immunofluorescence indirecte**
René-Louis Humbel..... **p. 41**

LA PLUS GRANDE BIBLIOTHÈQUE MÉDICALE EN LIGNE

LIVRES • REVUES • EBOOKS • TRAITÉS EMC

www.elsevier-masson.fr votre boutique en ligne

Frais de livraison à **0,01€***



ACCÉDER

à notre catalogue exhaustif adapté pour tous !

Étudiants, professionnels paramédicaux ou médecins.



TROUVER

en un clic ce que vous cherchez où que vous soyez.



CONSULTER

la présentation détaillée de tous nos produits pour une recherche efficace.



PAYER

en toute sérénité avec le paiement 100% sécurisé (Paypal, CB, chèque).

* Livraison à 0,01€ sur les livres sans minimum d'achat.

ELSEVIER

Trente ans d'expérience en auto-immunité

Joëlle Goetz

Laboratoire d'Immunologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Nouvel Hôpital Civil, 67091 Strasbourg Cedex, France.

*Auteur correspondant : Joelle.Goetz@chru-strasbourg.fr (J. Goetz).

C'est grâce au Pr Georges Hauptmann que j'ai débuté en auto-immunité dans le cadre de mon mémoire de dermatologie portant sur la recherche des anticorps (Ac) anti-Ro/SS-A par immunodiffusion double selon Ouchterlony. Passionnée par la discipline, sous son impulsion et la bienveillance du Pr René-Louis Humbel, nous avons ensuite introduit l'immunofluorescence indirecte (IFI), l'ELISA, l'immunodot et peu à peu sommes devenus le seul laboratoire du CHU de Strasbourg à rechercher les auto-Ac utiles au diagnostic, au suivi, voire au pronostic des maladies auto-immunes (MAI). De ces 30 ans d'expérience, voici ce qu'il ne faut pas oublier pour la pratique quotidienne.

Les résultats de la détection des auto-Ac utiles en pathologie humaine sont tributaires de la nature et de la qualité des antigènes (Ag) et des techniques utilisées. L'immunofluorescence sur coupes de tissus ou cultures cellulaires a pour avantage de présenter l'Ag sous sa forme native limitant la perte de spécificité liée à une mauvaise conformation antigénique.

Pour l'identification fine des Ac, les Ag extraits de tissus doivent être préférés aux Ag recombinants obtenus à partir d'eucaryotes même s'ils peuvent être dénaturés lors de leur purification et avoir une taille ou structure différente de l'Ag natif susceptible de modifier leur réactivité. L'utilisation d'Ag recombinants bactériens et les peptides de synthèse sont à éviter, les épitopes conformationnels étant exprimés sur la molécule native. Si l'automatisation des techniques de détection et d'identification des auto-Ac a été une étape importante pour nos laboratoires, l'interprétation des résultats n'est pas toujours facile. À sources antigéniques et techniques multiples, les résultats peuvent être discordants. Après avoir éliminé un problème pré-analytique ou analytique pur, il faut contacter le clinicien, demander le motif de la prescription et, de concert avec lui, trouver l'origine de la discordance (résultats antérieurs, traitements...). Un prélèvement de contrôle peut s'avérer utile pour trouver l'origine des discordances.

À côté des pièges techniques évoqués ci-dessus, il existe des pièges diagnostiques. La présence d'auto-Ac n'est pas synonyme de MAI. Il existe chez tout individu une « auto-réactivité » physiologique. Des auto-Ac peuvent être présents avant les premiers signes cliniques de MAI ou manquer au début et apparaître par la suite. Ils peuvent être induits par des médicaments, des agents infectieux ou apparaître avant ou au cours de cancers. L'absence d'auto-Ac n'exclut pas le diagnostic de MAI, les Ac peuvent manquer si le patient a une cryoglobuline ou un déficit immunitaire.

Enfin, la répétition de certains actes est inutile comme celle des anticorps antinucléaires lors du suivi d'un lupus systémique avec anti-ADNdb positifs, celle du suivi d'anti-antigènes nucléaires solubles positifs (sauf si l'aspect de l'IFI sur HEp-2 a changé) et d'anti-peptides cycliques citrullinés en cas de test antérieur positif.

Garant de la qualité des résultats rendus, le biologiste doit parfaitement connaître les limites et les pièges des tests utilisés. Le clinicien doit confier la recherche des marqueurs à un laboratoire capable non seulement de mettre en œuvre l'ensemble des techniques nécessaires à leur détection/identification mais aussi de le guider si nécessaire dans le choix des investigations complémentaires et l'interprétation des résultats tout en sachant que dans une MAI aucun auto-Ac n'est constant ni spécifique à 100%. ■

Liens d'intérêts : l'auteure déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

Goetz J, Nespola B. Le dialogue clinico-biologique en auto-immunité. Journal de Biologie Médicale 2015;15:204-8.

Autoanticorps utiles au diagnostic et au pronostic des sclérodermies

Nicole Fabien¹, Joëlle Goetz²

¹ Service d'Immunologie, UF Autoimmunité, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Hospices civils de Lyon, 69495 Pierre-Bénite Cedex, France.

² Laboratoire d'Immunologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Nouvel Hôpital Civil, 67091 Strasbourg Cedex, France.

*Auteurs correspondants : nicole.fabien@chu-lyon.fr (N. Fabien).

► Introduction

Le diagnostic des sclérodermies systémiques (ScS), maladies auto-immunes rares appartenant au groupe des connectivites, repose sur un ensemble de signes cliniques et de signes biologiques. Quatre-vingt-dix pour cent des patients atteints de ScS ont des autoanticorps (aAc) antinucléaires (ANA) : trois spécificités d'ANA (aAc anti-centromères, aAc anti-Scl-70, aAc anti-ARN polymérase III) en sont des critères de classification définis par l'ACR (*American College of Rheumatology*) et l'EULAR (*European League Against Rheumatism*). D'autres ANA peuvent être observés dans les ScS, en particulier ceux dirigés contre des cibles nucléolaires (fibrillarine/U3-RNP,...) et ceux associés aux syndromes de chevauchement comme les scléromyosites (aAc anti-PM-Scl, anti-Ku,...) ou la connectivite mixte (aAc anti-UI-RNP). Nous excluons les aAc anti-centromères et les aAc anti-Scl-70 bien connus et nous nous limiterons aux aAc plus rares mais utiles au diagnostic voire au pronostic des ScS et des syndromes de chevauchement. Les différentes spécificités d'ANA observées au cours des ScS cutanées limitées ou diffuses ont permis d'établir une classification de ces maladies et d'identifier des groupes d'individus avec des tableaux cliniques, réponses aux traitements et pronostics différents.

Diagnostic clinique

Les ScS touchent en France 6 000 à 9 000 personnes avec une nette prédominance féminine (3 à 8 femmes pour un homme) avec un pic de fréquence entre 45 et 64 ans. Les manifestations cliniques sont en rapport avec les deux types de lésions caractéristiques de la maladie : la fibrose/sclérose cutanée et/ou viscérale et la dystrophie des petits vaisseaux (microangiopathie).

Les sclérodermies systémiques

Le phénomène de Raynaud est souvent le premier signe de la maladie. Trouble vasomoteur des extrémités déclenché le plus souvent par une exposition au froid ou à une variation de température, il se manifeste par un changement de couleur des extrémités qui passe du rosé naturel au blanc, au bleu (parfois) puis au rouge (retour de la circulation) avec ou sans fourmillements et engourdissement et qui peut durer de quelques minutes à plusieurs heures. Il est souvent associé à des cicatrices pulpaire ou des ulcérations digitales.

L'atteinte cutanée est marquée par un épaississement de la peau qui ne peut plus être plissée, parfois précédé d'une phase œdémateuse (gonflement des doigts et des mains). La fibrose/sclérose du visage entraîne une disparition des rides du front, une diminution de l'ouverture de la bouche. Selon le degré d'extension de l'atteinte cutanée, mesurée par le score de Rodnan, les ScS sont classées en 3 formes : la ScS cutanée diffuse (DcScS) si la sclérose monte au-dessus des coudes et/ou des genoux, la ScS cutanée limitée (LcScS) si la sclérose ne remonte pas au-dessus des coudes et/ou des genoux et la ScS sans sclérose cutanée « sine scleroderma » (forme rare secondaire à une exposition chimique type pesticides ou autres).

L'atteinte viscérale peut concerner

- le poumon : une pneumopathie interstitielle des bases est fréquente, elle peut évoluer vers une forme diffuse parfois sévère. Près de 10% des patients ayant une ScS ont une hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) qui nécessite un dépistage annuel par échographie cardiaque trans-thoracique même si le malade est asymptomatique
- le rein : la crise rénale sclérodermique est une complication rare mais grave de la maladie, survenant surtout chez des patients ayant une forme diffuse et rapidement progressive et sous corticothérapie à fortes doses. Elle se traduit par une hypertension artérielle sévère, une insuffisance rénale aiguë et la présence



de schizocytes nécessitant une prise en charge en urgence

- ▶ le cœur: une péricardite souvent asymptomatique et de découverte fortuite est fréquente, la myocardiopathie est rare
- ▶ l'appareil digestif: l'atteinte la plus fréquente est le reflux gastro-oesophagien lié à l'hypotonie du bas œsophage qui peut être parfois très invalidant. Le risque de survenue d'hémorragies digestives est augmenté chez les patients ayant des aAc anti-ARN polymérase III et des ectasies vasculaires antrales (GAVE) [1-3].

Classification des sclérodermies systémiques

Les nouveaux critères de classification des ScS établis en 2013 par l'ACR et l'EULAR figurent dans le **tableau 1**. Comparés aux critères diagnostiques de Leroy et coll. établis précédemment (1988-2001), ils apportent une meilleure sensibilité et spécificité pour la classification des malades. Les patients sont classés comme ayant une ScS définie si le score total est égal ou supérieur à 9.

Diagnostic biologique

La sensibilité des ANA pour les ScS varie de 7 à 71 % selon les études reflétant les différentes spécificités antigéniques, les méthodes de détection utilisées, les différents critères cliniques des ScS et les différents groupes ethniques.

La sensibilité des aAc anti-centromères et/ou anti-Scl70 n'atteignant pas 100 %, il est alors bien utile de rechercher d'autres spécificités antigéniques telles que les aAc anti-ARN polymérase III (ARA III), anti-fibrillarine et anti-PM-Scl, d'autant plus que leur présence est mutuellement exclusive mise à part quelques cas d'association rapportés dans la littérature et dans nos expériences personnelles [4, 5].

Autoanticorps anti-ARN polymérase-III (ARA III)

Les aAc anti-ARN polymérase (ARA) ont pour cibles les ARN polymérase qui sont, chez l'homme, au nombre de trois (ARN polymérase I, II, et III) et formées de 12 à 17 sous-unités (dont des paralogues et des spécifiques). Si les ARA I et II ont peu d'intérêt en pathologie humaine, les ARA III ont une valeur diagnostique et pronostique incontestable dans les ScS dont ils constituent un critère de classification. Le **tableau 2** résume la localisation, le rôle de leur cible dans la cellule et leurs méthodes de détection.

Méthodes de détection

Les ARA III ont été mis en évidence en 1993 par Okano par radioimmunoprécipitation [6].

Après la découverte en 2002 d'un épitope immunodominant appelé RPC155 sur l'ARN polymérase III reconnu par tous les sérums de patients ayant une ScS et des ARA, des techniques immuno-enzymatiques ont été développées [7]. La prévalence et la valeur diagnos-

Tableau 1. Nouveaux critères de classification des sclérodermies systémiques (ScS) établis en 2013 par l'ACR et l'EULAR.

Items	Sous-items	Score
Épaississement cutané (prendre en compte le score le plus élevé)	• Épaississement cutané des doigts des deux mains s'étendant au-delà des articulations métacarpophalangiennes (MCP)	9
	• Doigts boudinés	2
	• Atteinte des doigts ne dépassant pas les articulations MCP (sclérodactylie)	4
Lésions pulpaire (prendre en compte le score le plus élevé)	• Ulcères pulpaire digitaux	2
	• Cicatrices déprimées pulpaire	3
Télangiectasies	/	2
Anomalies capillaroscopiques	/	2
Atteinte pulmonaire (score max 2)	• Hypertension artérielle pulmonaire	2
	• Pneumopathie infiltrative (fibrose pulmonaire)	2
Phénomène de Raynaud	/	3
Autoanticorps (aAc) associés aux ScS	• aAc anti-centromères, anti-Scl-70, anti-ARN polymérase III	3

Tableau 2. Localisation, rôle des cibles antigéniques et méthodes de détection des autoanticorps anti-ARN polymérase III, fibrillarine et PM-Scl.

Anticorps anti-	ARN polymérase III (ARA III)	Fibrillarine (U3-RNP)	PM-Scl
Localisation cellulaire	• Nucléoplasmique	• Nucléolaire	• Nucléoplasmique • Et composant granulaire du nucléole
Nature	• 17 (5 spécifiques) • 155/138 kDa	• 34 kDa associée à l'U3-RNP • Cibles des aAc: conformationnels partie C-terminale (entre AA 257 à 312) et partie N terminale (premiers 156 AA)	• Complexe de 11 à 16 protéines: 20 à 100 kDa. • Cibles majeures des aAc: 2 protéines: 100 et 75 kDa
Rôle dans la cellule	• Synthèse de l'ARNr 5S • Transcription de gènes codants pour les ARN de transfert et petits ARN non codants	• Maturation des pré-ARNr, formation sous-unités ribosomales et assemblage ribosomes. • transport des pré-ARNm et des pré-ARNr	• Maturation ribosomale et/ou de transport des ribosomes
1^{re} description aAc	• Okano et al. 1993 [6]	• Okano et al. 1992 [30]	• Ge et al. 1994 [33]
Détection des aAc	• IFI HEP-2: Fluorescence: (cf figure 1A) non typique, voire négative • Identification: ELISA, EliA, immunodot	• IFI HEP-2: Fluorescence: (cf figure 1B) nucléolaire homogène aspect « clumpy » chromosomes condensés dans les cellules en métaphase, nucléoplasme des cellules interphasiques négatif • Identification: Immunodot, Westernblot, EliA	• IFI HEP-2: Fluorescence: (cf figure 1C) nucléolaire homogène nucléoplasme moucheté • Identification: ELISA, immunodot

tique et pronostique des ARA III ont ainsi pu être précisées. Dans une étude multicentrique du GEAI nous avons évalué les performances de quatre kits de détection des ARA III sur 78 sérums de patients positifs en ARA III. La source antigénique est constituée d'un fragment purifié recombinant de la sous-unité RPC155 pour les 4 méthodes, pour l'EliA elle comporte un fragment purifié recombinant supplémentaire de la sous-unité RPC11 de l'ARN polymérase III. L'ELISA a la sensibilité la plus élevée (96,8%) mais la spécificité la plus faible (44,7%) notamment à des taux faibles, l'EliA a la spécificité la plus élevée (87,9%) mais la sensibilité la plus faible (66,7%), les performances de l'immunodot sont intermédiaires. L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEP-2 n'est pas performante pour le dépistage des ARA III (*figure 1A*), certains sérums sont négatifs en IFI alors que les titres sont fortement positifs en ARA III.

Signification clinique

La prévalence des ARA III a été évaluée à 11% dans le monde mais avec de grandes disparités selon les pays et les origines ethniques des patients. Les prévalences les plus élevées ont été observées aux USA, au Brésil et en Australie. En France, la prévalence des ARA III varie selon les techniques utilisées entre 6 et 8% [8].

Les ARA III sont retrouvés principalement dans les formes diffuses de ScS généralement marquées par une atteinte cutanée sévère et rapidement progressive [9]. Les ARA III semblent aussi être un facteur de risque majeur de survenue de crise rénale sclérodermique, avec une fréquence de crise rénale beaucoup plus élevée [10-13]. Il semble aussi que les ARA III soient associés à plus d'atteintes cardiaques et moins de complications pulmonaires. Une augmentation de la fréquence des GAVE (ectasies vasculaires antrales) a aussi été rapportée [14]. Des associations ARA III et cancers ont été décrites [10,15-18].

Dans une étude longitudinale au CHU de Strasbourg rétrospective, descriptive et monocentrique comparant des patients sclérodermiques positifs en ARA III positifs et d'autres positifs en aAc anti-Scl-70 [19], nous avons retrouvé les associations décrites en ce qui concerne

- le score de Rodnan significativement plus élevé chez les patients positifs en ARA III [9,10].
- les données d'association avec les cancers avec une fréquence plus élevée du nombre de cas de cancers apparus après le diagnostic de ScS observé dans le groupe des patients positifs en ARA III (20%) comparé à ceux positifs en Ac anti-centromères (0%) avec un délai moyen d'apparition du cancer (11 mois) en



accord avec les données de la littérature [16,20] Les données d'association avec les cancers ont été aussi confirmées dans une étude aux Hospices Civils de Lyon avec 27% des patients ayant une ScS (7/26) avec ARA III présentant un cancer vs 7% sans ARA III.

- ▶ D'autres associations décrites dans la littérature n'ont pas été retrouvées comme la fréquence plus élevée de crise rénale sclérodermique ou de GAVE peut-être en raison du nombre restreint de patients (44 avec des aAc anti-Scl70 et 10 avec des ARA III).

Autoanticorps anti-fibrillarine/ U3-RNP

L'antigène cible est la fibrillarine, protéine localisée dans le composant fibrillaire dense du nucléole. Le **tableau 2** résume la localisation, le rôle de leur cible dans la cellule et leurs méthodes de détection.

Méthodes de détection

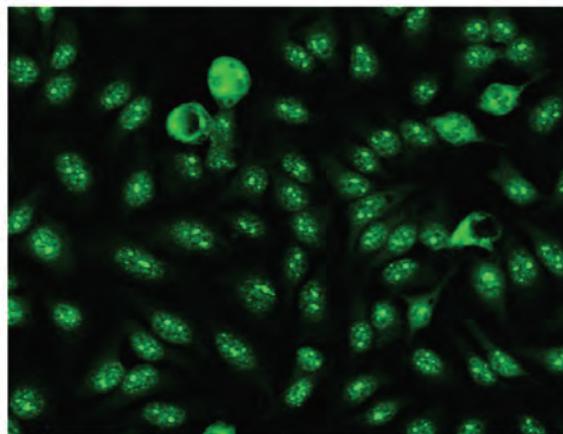
Ces aAc sont bien dépistés en IFI de par leur aspect nucléolaire typique (**figure 1B**); ils sont identifiés en routine par des techniques de type immunodot ou de type EliA utilisant des antigènes recombinants ou par une technique d'immunotransfert/Westernblot utilisant des noyaux purifiés comme source antigénique. Il est cependant inutile de rechercher des aAc anti-fibrillarine par ces techniques si l'aspect en IFI n'est pas compatible.

Signification clinique

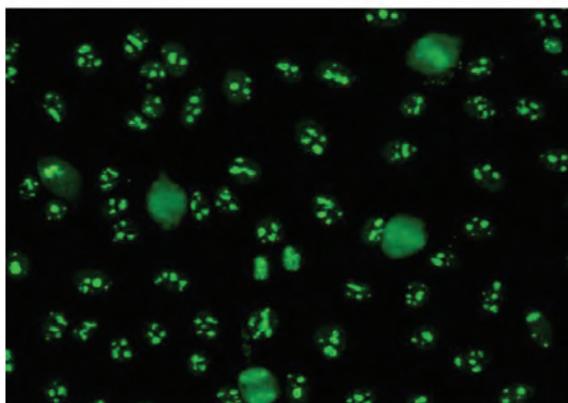
Les aAc anti-fibrillarine/U3-RNP sont décrits avec une prévalence entre 4 et 12% [21-28]. La qualité des techniques de détection revêt toute son importance dans les prévalences rapportées dans la littérature; en effet les prévalences très faibles correspondent à l'utilisation de certaines techniques de dot de performance médiocre en terme de sensibilité (méta-analyse de 22 cohortes représentant 10312 patients en cours de publication).

Les aAc anti-fibrillarine sont plus fréquents chez les afro-américains (24,5%) en comparaison des populations hispaniques américaines (8,9%) et caucasiennes (4,8%) [22,25,27,29]. Ces aAc sont décrits dans certaines études comme étant plus fréquents chez des sujets jeunes et de sexe masculin [22,23,25,30,31]. L'association avec des atteintes digestives du grêle, des complications rénales et cardiaques a été également rapportée [23,25,27,30]. Associés le plus souvent à des manifestations cutanées sévères, à des signes de myosite et à des arthralgies, ils sont considérés comme étant des marqueurs de mauvais pronostic sans toutefois toucher la survie des patients. Les données d'association avec certains signes cliniques peuvent être différentes

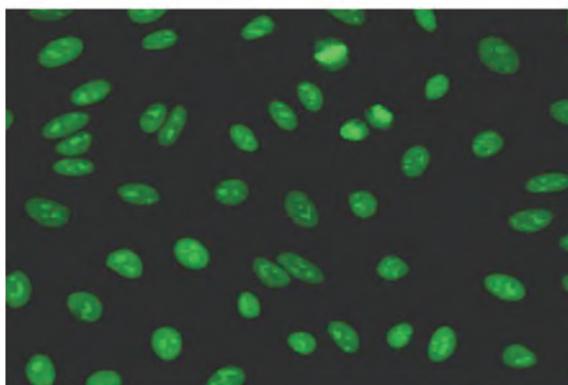
Figure 1. Aspect en immunofluorescence indirecte sur cellules HEp-2 des aAc anti-ARN polymérase III, anti-fibrillarine et anti-PM-Scl.



IA: Fluorescence de type anti-ARN polymérase III non typique (différents aspects sont possibles) voire négative un aspect possible: nucléolaire et nucléoplasme moucheté



IB: Fluorescence de type anti-fibrillarine nucléolaire homogène aspect « clumpy », chromosomes condensés dans les cellules en métaphase; nucléoplasme des cellules interphasiques négatif



IC: Fluorescence de type anti-PM-Scl: nucléolaire homogène et nucléoplasme moucheté

en fonction des populations étudiées notamment pour l'association avec le type de ScS diffuse ou limitée, les manifestations pulmonaires de type HTAP ou pneumopathie interstitielle diffuse (PID), les complications cardiaques et la survie des patients [23,29,32]. Très spécifiques des ScS, quelques rares cas de positifs ont été rapportés dans d'autres maladies autoimmunes tels que le lupus érythémateux systémique (LES), la polyarthrite rhumatoïde (PR), le syndrome de Sharp et le syndrome de Gougerot-Sjögren.

Autoanticorps anti-PM-Scl

Ces aAc ont été nommés ainsi car ils ont été décrits chez des patients atteints d'un syndrome de chevauchement polymyosite/sclérodémie. Le **tableau 2** résume la localisation, le rôle de leur cible dans la cellule et leurs méthodes de détection.

Méthodes de détection

La première technique de détection utilisée était l'immunodiffusion d'Ouchterlony et l'immunotransfert détectant onze bandes positives dont une bande intense au niveau de la protéine de 100 kDa et d'autres bandes entre 68 à 80 kDa et entre 20 à 39 kDa. Les techniques actuelles utilisables en routine sont des techniques ELISA et des techniques de dot utilisant des antigènes recombinants de PM-Scl de 100 kDa (considéré comme l'antigène majeur) ou peptide PM1 et/ou de 75 kDa [33,34]. En IFI ces aAc donnent un aspect moucheté associé à un aspect nucléolaire homogène (**figure 1C**).

Signification clinique

Ces aAc sont présents dans 3 à 13% des patients atteints de ScS. La plupart des patients sont porteurs de l'haplotype HLA DR3-DQ2 [35]. Les aAc anti-PM-Scl sont également décrits dans le syndrome de Gougerot-Sjögren et pourraient être considérés comme des marqueurs prédictifs d'une maladie sous-jacente avec des manifestations sub-cliniques ou atypiques de maladies habituellement associées aux ScS [36]. Ces aAc identifient un sous-groupe de patients présentant fréquemment une ScS limitée ou un syndrome de chevauchement des deux maladies, une myosite, un plus jeune âge au diagnostic [35,37,38]. Ce sont des aAc détectés également chez des patients atteints de dermatomyosites ou polymyosites sans signe de sclérodémie avec une prévalence de 9 et 6% respectivement [39]. Leur fréquence est élevée dans les syndromes de Raynaud isolés, certaines PID ou arthrites [38,40]. Le risque de développer une fibrose pulmonaire en association à une myosite est plus élevé. Les deux signes cliniques les plus fréquents et signi-

ficativement plus sensibles par rapport aux autres aAc sont la calcinose et l'arthrite. Certains auteurs décrivent une faible évolutivité de ces syndromes avec une meilleure survie à 10 ans et aucune complication viscérale sérieuse n'a été notée, conférant à ces aAc un bon pronostic [35,38,39].

Comme pour tous les aAc un taux proche du seuil de positivité doit être interprété avec prudence. Il a été démontré que des taux compris entre 20 et 50 UA/mL pour un seuil à 20 UA/mL pouvaient correspondre à d'autres maladies autoimmunes voire non autoimmunes (données personnelles). De même il est difficile d'interpréter les faibles positifs en dot voire sans image en IFI compatible car cela peut correspondre à de faux positifs analytiques comme ceci a déjà été démontré pour les aAc anti-SRP [41].

L'intérêt de rechercher les aAc anti-PM-Scl-75 en association avec les aAc anti-PM-Scl-100 pour augmenter la sensibilité dans les ScS reste à confirmer [4]. En effet leur détection en dot peut correspondre à de faux positifs analytiques, notamment pour des dots faiblement positifs et en cas d'IFI négative; une étude multicentrique est en cours pour valider cette hypothèse.

Autres autoanticorps

Les aAc anti-Th/To

Les aAc anti-Th/To reconnaissent une protéine nucléaire de 40 kDa de la ribonucléoprotéine-7-2/MRP-RNP présente dans le composant granulaire de la région fibrillaire du nucléole qui correspond à une endoribonucléase [42]. Leur aspect en IFI sur cellules HEp-2 est de type nucléolaire homogène. Les techniques d'identification sont des techniques de dot réalisables en pratique courante. Ils sont détectés chez 2 à 10% des patients atteints de ScS plutôt limitée [27,43]. La spécificité est de 99% par comparaison à d'autres connectivites. Ils sont présents surtout dans les formes moyennement sévères des sclérodermies, souvent associés à une HTAP, une fibrose pulmonaire, une atteinte digestive basse et des lésions cutanées plutôt limitées [42,44-47]. D'autres données précisent une association avec des fibroses pulmonaires sévères et des complications rénales [43]. Leur intérêt en tant que marqueur prédictif d'une évolution vers une ScS est avancé [43].

Les aAc anti-NOR

Les aAc anti-NOR sont dirigés contre une protéine de 90 kDa localisée dans la région d'organisation du nucléole ou NOR, région dans laquelle les antigènes fibrillaires et ARN polymérase I sont également loca-



Tableau 3. Caractéristiques des différentes études et résultats obtenus pour les autoanticorps anti-Ku.

	Cavazzana I et al 2013 [49] (Etude sur 14 ans, 1995-2012)	Mahler M et al 2016 [50]	Hoa S et al, 2016 [51] (Canada, USA, Australie, Mexique)
Patients	13 ScS +/- chevauchement 9 LES 12 connectivites non classées	70 ScS 305 LES 109 Myopathies AI	2140 ScS (Critères ACR/ EULAR > 98%)
Technique	Contre-immunoelectrophorese	Chemiluminescence	Immunodot
Fréquence aAc	2% parmi les anti-ENA positifs sur une période de 14 ans	ScS: 4,3% LES: 9,8% Myopathies AI: 3,7%	ScS: 1,1% / /
Associations clinicobiolo- giques	ScS: + myosite et PID, le + souvent aAc présents isolément LES: Autres aAc présents, Raynaud, anomalies capillaires	ScS: précoce et associée à un syndrome de chevauchement	Si anti-Ku isolés - PID + fréquentes - ↑ activité CK

AI: auto-immune, **CK**: créatine kinase, **LES**: lupus érythémateux systémique, **PID**: pneumopathie interstitielle diffuse.

lisés. Cette région correspond au site où les nucléoles se reforment après la mitose. L'antigène « NOR 90 » se lie au promoteur du gène des ARN ribosomiaux et augmente l'activité transcriptionnelle de l'ARN polymérase I. Par IFI sur cellules HEp-2, ces aAc sont caractéristiques au niveau des cellules se divisant en métaphase par un aspect moucheté au niveau du nucléole et des petits dots distincts, aspect caractéristique mais néanmoins proche de celui observé avec les aAc anti-ARN polymérase I. Ces aAc peuvent être identifiés en routine par dot. Ils sont associés à des PID mais à un pronostic favorable [26]. Cependant la signification clinique de ces aAc est limitée du fait de leur faible prévalence et de leur spécificité. En effet ils sont également décrits chez des patients atteints de LES, PR et carcinome hépatocellulaire [48].

Les aAc Anti-Ku

Les Ac anti-Ku font partie des ANA rares. Située dans le nucléoplasme et, pour certains, aussi dans le nucléole, leur cible est un hétérodimère de 70 et 80 kDa qui constitue la sous-unité régulatrice de la protéine kinase dépendante de l'ADN et qui se lie à l'ADN pour le réparer.

Les Ac anti-Ku donnent un aspect finement moucheté en IFI sur cellules HEp-2. Dans les années 2000, les techniques d'immunodiffusion, contre-immunoelectrophorese et radio-immunoprécipitation ont été abandonnées au profit des immunodots, ELISA et chemiluminescence avec des antigènes le plus souvent recombinants pour leur détection.

Initialement décrits dans des syndromes de chevauchement sclérodermie-polymyosites, le LES et les ScS, de nouvelles associations clinicobiologiques ont été

relevées ces dernières années non seulement grâce aux progrès technologiques mais aussi grâce aux études portant sur de grandes cohortes internationales de patients. Le **tableau 3** résume les caractéristiques des différentes études et les résultats obtenus [49-51].

Des aAc anti-Ku ont été décrits avec une faible prévalence dans d'autres maladies systémiques (PR, syndrome de Gougerot-Sjögren primaire ou secondaire, syndrome des anti-phospholipides, connectivite non classée) et des sérums de routine de laboratoires spécialisés en auto-immunité, le plus souvent à des titres faibles [49-51].

Dans une étude interférentielle et multidimensionnelle réalisée au CHU de Strasbourg nous avons étudié la signification des Ac anti-Ku mis en évidence par immunodot au laboratoire sur une période de 10 ans. Les 24 patients porteurs de ces aAc ont pu être classés en deux phénotypes : ceux souffrant de scléromyosite (myosite, signes de sclérodermie et PID) fréquemment traités par de fortes doses de corticoïdes sans autres aAc associés et ceux ayant un lupus systémique (atteintes cutanéomuqueuse, rénale, cytopénie) avec des Ac anti-ADN double brin (ADNdb). L'absence ou la présence d'aAc anti-ADNdb permet de différencier les patients à risque d'atteinte musculaire et pulmonaire (aAc anti-ADNdb négatifs) et les patients à risque d'atteinte rénale (aAc anti-ADN db positifs) [52].

Les aAcs anti-U1 RNP

Les aAcs anti-UI RNP sont décrits dans les ScS cutanées limitées et souvent associés à des arthrites, myosites et HTAP.

Autres autoanticorps non recherchés en pratique courante

Parmi de nombreux autres aAc détectés nous en citerons uniquement trois, sachant qu'ils ne sont pas recherchés en pratique courante en raison de leur faible spécificité ou des méthodes de détection non réalisables ou non validées en routine.

Les aAc anti-nucléophosmine/B23

Les aAc anti-nucléophosmine/B23 sont dirigés contre une phosphoprotéine associée à l'ARN de 37 kDa, localisée dans le composant granulaire du nucléole; cette protéine est impliquée dans les stades tardifs de l'assemblage des ribosomes et peut-être impliquée dans le transport des ribosomes du nucléole au cytoplasme. Ces aAc, identifiés grâce à une technique d'immuno-transfert utilisant une protéine recombinante puis grâce à une technique ELISA, ont été décrits dans 11 % des sclérodermies. Leur aspect en IFI sur cellules HEP-2 est de type nucléolaire homogène. Leur prévalence serait plus élevée dans l'HTAP [53].

Les aAc anti-U11/U12-RNP

Les aAc anti-U11/U12-RNP présents chez 3 % des patients atteints de ScS, seraient des marqueurs de fibrose pulmonaire [54].

Les aAc dirigés contre le récepteur du *platelet-derived growth factor* (PDGF)

Les aAc dirigés contre le récepteur du *platelet-derived growth factor* (PDGF) qui activeraient le récepteur du PDGF entraînant ainsi l'expression du gène codant pour le collagène ont également été décrits. Le test d'identification de ces aAc est un test fonctionnel de mesure de la production des radicaux libres après incubation des sérums avec des fibroblastes de souris exprimant ou non des récepteurs du PDGF [55]. À l'heure actuelle seul un test en dot peut être réalisé en routine mais celui-ci ne semble pas assez performant pour les identifier [26].

Conclusion

Si les prévalences et les valeurs diagnostiques et/ou pronostiques des aAc associés aux ScS dépendent des performances des tests utilisés et des populations étudiées, les nouveaux critères ACR de classification de ces affections et les méthodes récentes de détection des aAc associés ont largement contribué à une meilleure prise en charge de ces connectivites. ■

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] www.orphanaide.com. Sclérodermie systémique : synthèse. 2012.
- [2] www.has-sante.fr/portail/jcms/c_717291/fr/sclerodermie-systemique-pnds. Sclérodermie systémique - PNDs - HAS. 2017.
- [3] Ghrenassia E, Avouac J, Khanna D, et al. Prevalence, correlates and outcomes of gastric antral vascular ectasia in systemic sclerosis: a EUSTAR case-control study. *J Rheumatol*. 2014;41:99-105.
- [4] Villalta D, Imbustaro T, Di Giovanni S, et al. Diagnostic accuracy and predictive value of extended autoantibody profile in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*. 2012;12:114-20.
- [5] Patterson KA, Roberts-Thomson PJ, Lester S, et al. Interpretation of an Extended Autoantibody Profile in a Well-Characterized Australian Systemic Sclerosis (Scleroderma) Cohort Using Principal Components Analysis. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67:3234-44.
- [6] Okano Y, Steen VD, Medsger TA Jr. Autoantibody reactive with RNA polymerase III in systemic sclerosis. *Ann Intern Med*. 1993;119:1005-13.
- [7] Satoh T, Ishikawa O, Itoh H, et al. Clinical usefulness of anti-RNA polymerase III antibody measurement by enzyme-linked immunosorbent assay. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48:1570-74.
- [8] Sobanski V, Dauchet L, Lefevre G, et al. Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis: New data from a French cohort and a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66:407-17.
- [9] Motegi S, Toki S, Yamada K, et al. Demographic and clinical features of systemic sclerosis patients with anti-RNA polymerase III antibodies. *J Dermatol*. 2015;42:189-92.
- [10] Nikpour M, Hissaria P, Byron J, et al. Prevalence, correlates and clinical usefulness of antibodies to RNA polymerase III in systemic sclerosis: a cross-sectional analysis of data from an Australian cohort. *Arthritis Res Ther*. 2011;13:R211.
- [11] Bose N, Chiesa-Vottero A, Chatterjee S. Scleroderma renal crisis. *Semin Arthritis Rheum*. 2015;44:687-94.
- [12] Terras S, Hartenstein H, Hoxtermann S, et al. RNA polymerase III autoantibodies may indicate renal and more severe skin involvement in systemic sclerosis. *Int J Dermatol*. 2016;55:882-5.
- [13] Lynch BM, Penn H, Harvey J, et al. The Prognosis of Scleroderma Renal Crisis in RNA-Polymerase III Antibody-Positive Compared to RNA-Polymerase III Antibody-Negative Patient. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53:i179.
- [14] Ceribelli A, Cavazzana I, Airo P, et al. Anti-RNA polymerase III antibodies as a risk marker for early gastric antral vascular ectasia (GAVE) in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2010;37:1544.
- [15] Airo P, Ceribelli A, Cavazzana I, et al. Malignancies in Italian patients with systemic sclerosis positive for anti-RNA polymerase III antibodies. *J Rheumatol*. 2011;38:1329-34.
- [16] Moinzadeh P, Fonseca C, Hellmich M, et al. Association of anti-RNA polymerase III autoantibodies and cancer in scleroderma. *Arthritis Res Ther*. 2014;16:R53.
- [17] Saigusa R, Asano Y, Nakamura K, et al. Association of anti-RNA polymerase III antibody and malignancy in Japanese patients with systemic sclerosis. *J Dermatol*. 2015;42:524-7.
- [18] Lazzaroni MG, Cavazzana I, Colombo E, et al. Malignancies in Patients with Anti-RNA Polymerase III Antibodies and Systemic Sclerosis: Analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research Cohort and Possible Recommendations for Screening. *J Rheumatol*. 2017;44:639-647.
- [19] Lefevre P. Les anticorps anti-ARN polymérase III. Comparaison de méthodes de détection. Signification clinico-biologique. Mémoire du DES de biologie médicale Université de Strasbourg. 2017;
- [20] Shah AA, Rosen A, Hummers L, et al. Close temporal relationship between onset of cancer and scleroderma in patients with RNA polymerase I/III antibodies. *Arthritis Rheum*. 2010;62:2787-2795.



- [21] Takeuchi K, Turley SJ, Tan EM, et al. Analysis of the autoantibody response to fibrillarin in human disease and murine models of autoimmunity. *J Immunol.* 1995;154:961-971.
- [22] Kuwana M, Okano Y, Kaburaki J, et al. Racial differences in the distribution of systemic sclerosis-related serum antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum.* 1994;37:902-906.
- [23] Tormey VJ, Bunn CC, Denton CP et al. Anti-fibrillarin antibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford).* 2001;40:1157-62.
- [24] Villalta D, Morozzi G, Tampoia M, et al. Antibodies to fibrillarin, PM-Scl and RNA polymerase III detected by ELISA assays in patients with systemic sclerosis. *Clin Chim Acta.* 2010;411:710-3.
- [25] Tall F, Dechomet M, Riviere S, et al. The Clinical Relevance of Antifibrillarin (anti-U3-RNP) Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Scand J Immunol.* 2017;85:73-79.
- [26] Liaskos C, Marou E, Simopoulou T, et al. Disease-related autoantibody profile in patients with systemic sclerosis. *Autoimmunity.* 2017;50:414-21.
- [27] Nandiawada SL, Peterson LK, Mayes MD, et al. Ethnic Differences in Autoantibody Diversity and Hierarchy: More Clues from a US Cohort of Patients with Systemic Sclerosis. *J Rheumatol.* 2016;43:1816-24.
- [28] Markusse IM, Meijis J, de Boer B, et al. Predicting cardiopulmonary involvement in patients with systemic sclerosis: complementary value of nailfold videocapillaroscopy patterns and disease-specific autoantibodies. *Rheumatology (Oxford).* 2016;56:1081-1088.
- [29] Sharif R, Fritzler MJ, Mayes MD, et al. Anti-fibrillarin antibody in African American patients with systemic sclerosis: immunogenetics, clinical features, and survival analysis. *J Rheumatol.* 2011;38:1622-30.
- [30] Okano Y, Steen VD, Medsger TA, Jr. Autoantibody to U3 nucleolar ribonucleoprotein (fibrillarin) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1992;35:95-100.
- [31] Arnett FC, Reveille JD, Goldstein R, et al. Autoantibodies to fibrillarin in systemic sclerosis (scleroderma). An immunogenetic, serologic, and clinical analysis. *Arthritis Rheum.* 1996;39:1151-60.
- [32] Nihtyanova SI, Schreiber BE, Ong VH, et al. Prediction of pulmonary complications and long-term survival in systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66:1625-1635.
- [33] Ge Q, Wu Y, Trieu EP, et al. Analysis of the specificity of anti-PM-Scl autoantibodies. *Arthritis Rheum.* 1994;37:1445-52.
- [34] Mahler M, Fritzler MJ. PM1-Alpha ELISA: the assay of choice for the detection of anti-PM/Scl autoantibodies? *Autoimmun Rev.* 2009;8:373-8.
- [35] Oddis CV, Okano Y, Rudert WA, et al. Serum autoantibody to the nucleolar antigen PM-Scl. Clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum.* 1992;35:1211-1217.
- [36] Vanderghynst F, Ocmant A, Sordet C, et al. Anti-pm/scl antibodies in connective tissue disease: Clinical and biological assessment of 14 patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24:129-33.
- [37] D'Aoust J, Hudson M, Tatibouet S, et al. Clinical and serologic correlates of anti-PM/Scl antibodies in systemic sclerosis: a multicenter study of 763 patients. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66:1608-15.
- [38] Koschik RW 2nd, Fertig N, Lucas MR, et al. Anti-PM-Scl antibody in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30:512-16.
- [39] Lega JC, Fabien N, Reynaud Q, et al. The clinical phenotype associated with myositis-specific and associated autoantibodies: A meta-analysis revisiting the so-called antisynthetase syndrome. *Autoimmun Rev.* 2014;13:883-91.
- [40] Gaudin C, Fortenfant F, Adoue D, et al. Autoanticorps anti-PM-Scl. Étude de prévalence et de signification. *Rev Med Interne.* 2006;27:665-70.
- [41] Picard C, Vincent T, Lega JC, et al. Heterogeneous clinical spectrum of anti-SRP myositis and importance of the methods of detection of anti-SRP autoantibodies: a multicentric study. *Immunol Res.* 2016;64:677-86.
- [42] Okano Y, Medsger TA Jr. Autoantibody to Th ribonucleoprotein (nucleolar 7-2 RNA protein particle) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1822-8.
- [43] Mahler M, Fritzler MJ, Satoh M. Autoantibodies to the mitochondrial RNA processing (MRP) complex also known as Th/To autoantigen. *Autoimmun Rev.* 2015;14:254-7.
- [44] Falkner D, Wilson J, Medsger TA Jr, et al. HLA and clinical associations in systemic sclerosis patients with anti-Th/To antibodies. *Arthritis Rheum.* 1998;41:74-80.
- [45] Mitri GM, Lucas M, Fertig N, et al. A comparison between anti-Th/To- and anticentromere antibody-positive systemic sclerosis patients with limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum.* 2003;48:203-9.
- [46] Fischer A, Pfalzgraf FJ, Feghali-Bostwick CA, et al. Anti-th/to-positivity in a cohort of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Rheumatol.* 2006;33:1600-05.
- [47] Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;35:35-42.
- [48] Imai H, Fritzler MJ, Neri R, et al. Immunocytochemical characterization of human NOR-90 (upstream binding factor) and associated antigens reactive with autoimmune sera. Two MR forms of NOR-90/hUBF autoantigens. *Mol Biol Rep.* 1994;19:115-124.
- [49] Cavazzana I, Fredi M, Taraborelli M, et al. A subset of systemic sclerosis but not of systemic lupus erythematosus is defined by isolated anti-Ku autoantibodies. *Clin Exp Rheumatol.* 2013;31:118-121.
- [50] Mahler M, Swart A, Wu J, et al. Clinical and serological associations of autoantibodies to the Ku70/Ku80 heterodimer determined by a novel chemiluminescent immunoassay. *Lupus.* 2016;25:889-96.
- [51] Hoa S, Hudson M, Troyanov Y, et al. Single-specificity anti-Ku antibodies in an international cohort of 2140 systemic sclerosis subjects: clinical associations. *Medicine (Baltimore).* 2016;95:e4713.
- [52] Spielman LSM, Goetz J, et al. Hierarchical cluster study of patients with anti-Ku antibodies identifies two phenotypical subgroups with distinct prognosis recognized by anti-DNA status. *EULAR.* 2016;Abstract 6145.
- [53] Ulanet DB, Wigley FM, Gelber AC, et al. Autoantibodies against B23, a nucleolar phosphoprotein, occur in scleroderma and are associated with pulmonary hypertension. *Arthritis Rheum.* 2003;49:85-92.
- [54] Fertig N, Domsic RT, Rodriguez-Reyna T, et al. Anti-U11/U12 RNP antibodies in systemic sclerosis: a new serologic marker associated with pulmonary fibrosis. *Arthritis Rheum.* 2009;61:958-65.
- [55] Baroni SS, Santillo M, Bevilacqua F, et al. Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor in systemic sclerosis. *N Engl J Med.* 2006;354:2667-76.

Dermatoses bulleuses auto-immunes : pemphigus, pemphigoïde bulleuse

Sophie Hüe

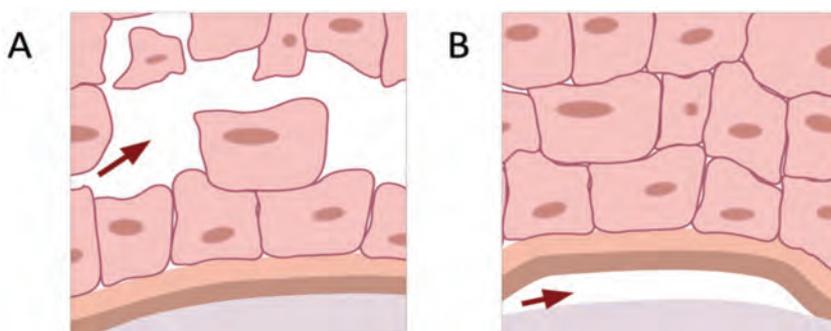
Service d'immunologie biologique, AP-HP, Groupe Hospitalier Henri Mondor, Université-Paris-Est-Créteil (UPEC), Créteil, France

Auteur correspondant : sophie.hue@aphp.fr (S. Hüe).

Introduction

Les dermatoses bulleuses auto-immunes sont représentées par deux grands groupes : (i) les pemphigus caractérisés par des anticorps (Ac) dirigés contre la substance intercellulaire (SIC) et (ii) les pemphigoïdes dont les Ac sont dirigés contre la jonction dermo-épidermique (JDE) appelés anti-membrane basale (MB) cutanée. Ces Ac contre les divers constituants protéiques assurant la cohésion entre les kératinocytes ou entre l'épiderme et le derme provoquent la formation de bulles intra-épidermiques (anti-SIC) ou sous-épidermiques (anti-MB) (*figure 1*).

Figure 1 : Représentation schématique des bulles intra-épidermiques et sous-épidermiques.



Les bulles intra-épidermiques (A) constituent le groupe des pemphigus et les bulles sous-épidermiques (B) correspondent aux pemphigoïdes.

Autoantigènes de la peau

Les desmosomes

Les desmosomes (*figure 2*) sont les jonctions adhésives permettant la cohésion des kératinocytes entre eux dans l'épiderme [1-2]. Ils sont également retrouvés dans la plupart des tissus de l'organisme (vessie, épithélium intestinal ou pulmonaire, myocarde...). Ils sont constitués de protéines transmembranaires appartenant à la famille des cadhérines, les desmocollines et les desmoglénines (DSG), dont il existe respectivement 3 et 4 isoformes chez l'homme. La partie extracellulaire des desmocollines et des desmoglénines, qui s'assemblent de façon homo ou hétérotypique, permet l'adhérence intercellulaire, alors que leur partie intracellulaire s'associe aux autres protéines de la plaque desmosomale : plakoglobine, plakophilines,

desmoplakines I et II, couple périplakine-envoplakine. La plaque desmosomale est en contact étroit avec les filaments intermédiaires de kératine du cytosquelette. La desmoglénine 3 est abondamment exprimée dans la muqueuse orale et la couche suprabasale de l'épiderme. À l'inverse, la desmoglénine I est principalement exprimée dans l'épiderme superficiel, moins dans la muqueuse orale.

La jonction dermo-épidermique

Elle permet l'adhérence du derme à l'épiderme [3] (*figure 2*). Elle se compose de plusieurs zones distinctes : les hémidesmosomes, structure d'attache des kératinocytes basaux à la membrane basale, elle-même constituée de deux couches, la lamina lucida, claire en microscopie électronique, la lamina densa, dense aux électrons, et enfin les fibrilles d'ancrage. La protéine BP230 ou BPAG1, et la plectine sont les composants majeurs de la plaque hémidesmosomale, intracellulaire. La BPI80, ou BPAG2 ou collagène XVII, est une

protéine transmembranaire, avec une extrémité N-terminale intracellulaire et une extrémité C-terminale qui se prolonge dans la lamina lucida. Elle est composée d'une alternance de domaines collagéniques et non collagéniques. Le domaine NC16A, immédiatement juxta-membranaire, est la cible majeure des anticorps anti-BP180 dans la pemphigoïde bulleuse (PB). Les autres protéines majeures de la membrane basale sont l'intégrine $\alpha6\beta4$, dans la lamina lucida, et la laminine 5 (ou laminine $\alpha3\beta3\gamma2$ ou laminine 332), dans la lamina densa. Toutes ces protéines interagissent entre elles. Enfin, le collagène VII, constituant majeur des fibrilles d'ancrage, permet la cohésion entre le derme et la membrane basale.

Formes cliniques des dermatoses bulleuses auto-immunes

Il existe différentes formes cliniques des dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI) (*tableau 1*).

DBAI de la jonction dermo-épidermique

Pemphigoïde bulleuse

La Pemphigoïde bulleuse (PB) est la plus fréquente des DBAI et touche surtout des sujets âgés, en moyenne 70 ans, sans prédominance de sexe [4,5]. Les lésions bulleuses sont précédées par un prurit, des lésions eczématiformes ou urticariennes. Les bulles apparaissent sur un érythème. Elles sont tendues et contiennent une sérosité claire. Elles surviennent sans traumatisme préalable. L'état général est bon. Il n'y a pas de lésion des muqueuses.

Les antigènes-cibles de la PB sont les protéines BP180 (BPAG2) ou BP230 (BPAG1) localisées dans la lamina lucida. Les facteurs déclenchants ne sont pas connus mais il est démontré que la réaction auto-immune est à la fois cellulaire et humorale. Elle commence par la synthèse d'autoanticorps anti-BP180, essentiellement dirigés contre le domaine NC16A, suivie de la synthèse secondaire d'autoanticorps anti-BP230 une fois l'antigène exposé au système immunitaire par lésion de l'hémidesmosome (dérive épitopique ou *epitope spreading*). Alors que le rôle pathogène des Ac anti-BP230 est mal connu, celui des Ac anti-BP180 est démontré par un modèle animal. La formation des bulles résulte d'un mécanisme inflammatoire avec une cascade d'événements : activation du complément, dégranulation des mastocytes, recrutement de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles à l'origine des dommages cellulaires par relargage de protéinases.

Une forme rare de PB, appelée pemphigoïde p200, est liée à une auto-réactivité contre la laminine $\gamma1$, autre constituant de la membrane basale [6,7].

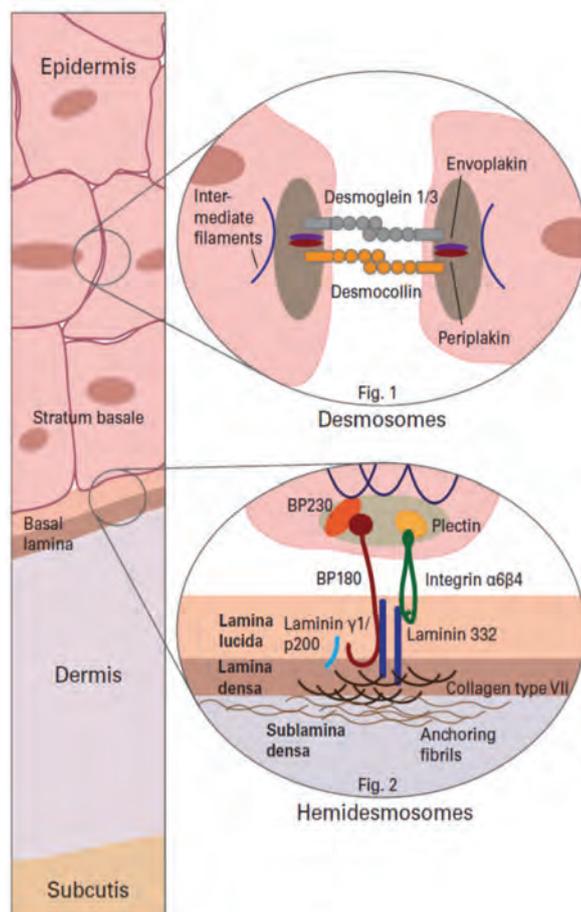
La pemphigoïde de la grossesse ou herpes gestationis

Il s'agit d'une forme particulière de pemphigoïde bulleuse qui survient pendant la grossesse ou le post-partum. Le risque fœtal est *a priori* limité, sans risque d'avortement, ni de mortalité périnatale. L'antigène cible est BP180 (BPGA2) [8].

La pemphigoïde cicatricielle

La pemphigoïde cicatricielle (PC) survient préférentiellement chez le sujet âgé (âge moyen entre 60 et 70 ans),

Figure 2. Représentation schématique des desmosomes et hémidesmosomes.



© EUROIMMUN

Tableau 1. Principales caractéristiques des dermatoses bulleuses auto-immunes.

Pathologies		Lésions cutanées	Lésions muqueuses (% des cas)	Dépôts en IFD	Marquage en IFI	Cible antigénique
DBAI de la JDE	Pemphigoïde bulleuse	Grandes bulles tendues sur peau saine ou sur érythème, dans les zones de flexion	Bouche (10-20%)	Dépôt linéaire d'IgG +/- C3 au niveau de la JDE dans 90-95 % des cas	Positive au niveau de la JDE sur versant épidermique	<ul style="list-style-type: none"> • BPAG1 (BP230) • BPAG2 (BP180)
	Pemphigoïde gestationnelle	Papules et érythème Vésico-bulles périombilicales sur fond inflammatoire	Pas de lésion	Dépôt linéaire de C3 surtout et plus rarement d'IgG au niveau de la JDE	Négatif	BPAG2 (BP180)
	Pemphigoïde cicatricielle	Erosions peu nombreuses de la tête et du thorax, inconstantes	<ul style="list-style-type: none"> • Bouche (85 %) • Conjonctive (60 %) • ORL (15 %) • Muqueuses génitales (15 %) 	Dépôt linéaire d'IgG, C3 et IgA au niveau de la JDE dans 50-60 % des cas	Positive au niveau de la JDE dans 20-80 % des cas	<ul style="list-style-type: none"> • BPAG2 (BP180) • BPAG1 (BP230) • laminine 5 • sous-unité β4 de l'intégrine • collagène VII
	Epidermolyse bulleuse acquise	Bulles mécaniques parfois sur fond inflammatoire	Possible (<10 %)	Linéaire d'IgG, de C3 (rarement IgA) au niveau de la JDE	Positive au niveau du plancher de la bulle sur peau clivée dans 25-30 % des cas	Collagène VII
	Dermatose à IgA linéaire	Bulles de taille variable en regroupement herpétiforme	<ul style="list-style-type: none"> • Bouche (25 %) • Muqueuse génitale (15 %) • Conjonctive (10 %) 	Linéaires d'IgA (rarement de C3) dans 60 % des cas (JDE)	Avec anti-IgA (rares)	Fragment protéolytique de 97/120 kD de la protéine BPAG2
	Dermatite herpétiforme	Eruption papulo-vésiculeuse des faces d'extension en groupement herpétiforme	Bouche (20 %)	Sommet des papilles dermiques, granuleux dans 65 % des cas	Négatif	Transglutaminase épidermique
Pemphigus	Pemphigus profond ou vulgaire	Bulles flacides des zones de pression du tronc	<ul style="list-style-type: none"> • Bouche (80 %) • Muqueuses génitales • Conjonctive • Œsophage, rectum 	Dépôts en « résille » (IgG, C3, IgA) sur la membrane des kératinocytes de tout l'épiderme	IgG anti-SIC 80-90 %	<ul style="list-style-type: none"> • DSG 3 • DSG1 dans 50% des cas
	Pemphigus superficiels	<ul style="list-style-type: none"> • Lésions croûteuses parfois érosives du visage • Bulles suivies d'une érythrodermie desquamative 	Pas de lésion	Dépôts en « résille » (IgG, C3, IgA) sur la membrane des kératinocytes surtout dans les couches superficielles	IgG anti-SIC 80-90 %	DSG1
	Pemphigus paranéoplasique	<ul style="list-style-type: none"> • Lésions polymorphes avec érosions superficielles et bulles flacides • Parfois bulles de type pemphigoïde • Lésions de type érythème polymorphe et/ou lichen 	<ul style="list-style-type: none"> • Bouche • Conjonctive • Œsophage 	<ul style="list-style-type: none"> • Dépôts en « résille » plus épais et discontinus sur la membrane des kératinocytes • Dépôts linéaires le long de la JDE 	Anti-SIC dans 60-70 % Anti-JDE dans 30%	<ul style="list-style-type: none"> • DSG 3 le plus souvent • DSG 1 • DSP1 et DSP2 • Envoplakine • Périplakine • Plectine • BPAG1

Abréviations :

IFD : immunofluorescence directe; **IFI** : immunofluorescence indirecte; **DSG** : desmogléine; **DSP** : desmoplakine; **JDE** : jonction dermo-épidermique; **SIC** : substance inter-cellulaire.



avec une certaine prédominance féminine. Elle est caractérisée cliniquement par son atteinte élective des muqueuses et son évolution synéchiante. L'atteinte cutanée est inconstante. La forme la plus fréquente touche les muqueuses, notamment buccales et oculaires. Le polymorphisme clinique de la PC est corrélé à une importante hétérogénéité immunopathologique. L'antigène BP180 est la principale cible des autoanticorps synthétisés par les malades atteints de PC [9-12]. Cependant d'autres antigènes cibles ont été identifiés ces dernières années comme l'antigène BP230, la sous-unité β des laminines 5 et 6 chez 20 % des patients, la sous-unité $\beta 4$ de l'intégrine et le collagène VII [13-14].

Épidermolyse bulleuse acquise

L'épidermolyse bulleuse acquise (EBA) est une dermatose bulleuse rare de la JDE, mais le clivage est plus profond que celui de la PB. Les autoanticorps sont dirigés contre le domaine NCI du collagène VII [15]. Elle s'associe parfois à des maladies inflammatoires de l'intestin [16]. Cliniquement, les bulles surviennent chez l'adulte d'âge moyen, dans des zones exposées aux traumatismes (pieds, mains, fesses) et dans les muqueuses. Elle peut se présenter soit sous une forme chronique, marquée par une fragilité cutanée prédominant sur les zones de frottement, des cicatrices atrophiques et des grains de milium, soit sous une forme plus aiguë et inflammatoire, mimant alors une pemphigoïde bulleuse ou une pemphigoïde cicatricielle.

Dermatose à IgA linéaire

La dermatose à IgA linéaire (DIgAL) est une DBAI de la jonction dermo-épidermique caractérisée par des dépôts linéaires d'autoanticorps IgA isolés ou prédominants à la jonction dermo-épidermique. Elle touche l'adulte ou l'enfant, chez qui elle représente la DBAI la plus fréquente [17]. Elle peut être induite par des médicaments, au premier rang desquels la vancomycine, et s'associe dans certains cas à une maladie inflammatoire de l'intestin [17]. Cliniquement, elle se caractérise typiquement par des vésicules ou des bulles disposées en rosettes sur peau saine ou en placards érythémateux. Chez l'adulte, l'éruption est souvent moins typique que chez l'enfant et s'accompagne plus souvent d'une atteinte muqueuse.

Le diagnostic est confirmé par la mise en évidence de dépôts linéaires d'IgA le long de la membrane basale en immunofluorescence directe. La recherche d'anticorps circulants est inconstamment positive. Les IgA sont dirigés contre un fragment protéolytique de 97/120 kDa

de la protéine BPAG2 (BP180), appelé LABD (linear IgA bullous dermatosis) Antigen 1 ou LAD1 (linear IgA disease) ou ladinine [17].

Dermatite herpétiforme

La dermatite herpétiforme (DH) est une affection auto-immune avec dépôts d'IgA [18]. Son nom est dû à sa présentation clinique sous forme de petites vésicules groupées, pseudo-herpétiques, très prurigineuses. Leur répartition est souvent bilatérale et symétrique, les sites préférentiels sont les membres, les fesses et le tronc. Les patients sont de jeunes adultes, voire des enfants. Chez 15 à 25 % des patients, la DH est associée à une maladie cœliaque. La symptomatologie cutanée et digestive est améliorée par le régime sans gluten.

Maladies bulleuses intra-épidermiques : les pemphigus

Les pemphigus forment un groupe de maladies bulleuses cutanées et muqueuses. Tous les pemphigus sont dus à la production d'anticorps spécifiques dirigés contre les desmosomes. Il existe 4 formes : pemphigus vulgaire, foliacé, paranéoplasique, induit. Les pemphigus vulgaire et foliacé sont les plus fréquents. Les modèles animaux et les études physiopathologiques ont montré que les anticorps anti-DSG, majoritairement IgG4 et IgG1, résultant d'une auto-réactivité lymphocytaire T et B, sont directement pathogènes et entraînent la perte d'adhérence entre cadhérines desmosomales par encombrement stérique et activation du complément suite à leur fixation sur leur antigène cible. Ils favorisent également la synthèse par les kératinocytes d'activateurs de protéases [19,20].

Pemphigus profond ou vulgaire

Le pemphigus vulgaire (PV) [21] est une affection rare qui touche surtout l'adulte de 40 ou 50 ans sans prédominance de sexe. La zone de clivage est profonde située au-dessus de la couche basale de l'épiderme. Les lésions des muqueuses sont quasi-constantes et souvent inaugurales, notamment les érosions buccales (érosions douloureuses, traînantes, pouvant gêner l'alimentation) plus fréquentes que les atteintes génitales et oculaires. Il existe une fragilité cutanée, les décollements sont provoqués par le simple frottement (signe de Nicholsky). Les bulles flasques à contenu clair, siégeant en peau non érythémateuse aboutissent rapidement à des ulcérations. Elles sont habituellement peu ou pas prurigineuses. Les antigène-cibles sont les desmoglénines 1 (DSG-1) et 3 (DSG-3) présentes dans la peau et les muqueuses. La DSG-3 est plus représentée que la DSG-1 dans les muqueuses [19,22].

Les pemphigus superficiels

Cette entité regroupe le pemphigus érythémateux, le pemphigus foliacé et le pemphigus endémique (Tunisie, Brésil) qui sont des affections touchant surtout l'adulte jeune [21]. Le clivage est superficiel, situé sous la couche cornée, dans la granuleuse. Les bulles très fugaces sont remplacées par des lésions squamo-croûteuses sur les zones séborrhéiques pour le pemphigus séborrhéique et de localisation plus diffuse dans le pemphigus foliacé sporadique ou endémique. Il n'y a habituellement pas de lésion muqueuse : l'antigène cible est la DSG-1 qui est présente dans la partie superficielle de l'épiderme et peu présente dans les muqueuses [22].

Pemphigus paranéoplasique

Le pemphigus paranéoplasique (PPN) est associé à une pathologie maligne, le plus souvent un lymphome ou une autre hémopathie qu'il peut révéler. Les lésions cliniques et histologiques sont très polymorphes. Des érosions muqueuses peuvent être inaugurales. Les lésions cutanées sont des bulles ou des papules dont l'aspect histologique peut être lichénoïde ou ressembler à un érythème polymorphe. Les antigènes-cibles appartiennent au groupe des plakines : les desmoplakines I et II (250 et 210 kDa), la BP230, la plectine, et surtout le couple envoplakine (210 kDa) et périplakine (190 kDa) [23,24].

Pemphigus induit

La présentation anatomo-clinique de ces pemphigus est variable. Elle peut être de type vulgaire ou foliacé. Les antigènes-cibles sont les DSG-1 et/ou DSG-3. De nombreux médicaments peuvent être incriminés [25]. Entre autres médicaments, citons les agents thiolés comme la D-pénicillamine qui est une cause de pemphigus chez 7% des patients traités. Ils pourraient agir en inhibant des enzymes indispensables à la synthèse des molécules d'adhérence des kératinocytes.

Méthodes de détection des autoanticorps associés aux DBAI

Immunofluorescence directe

L'immunofluorescence directe (IFD) permet de montrer le dépôt des anticorps « *in situ* ». Les biopsies de peau ou de muqueuse pour IFD sont réalisées en zone péri-bulleuse puis adressées au laboratoire d'anatomie pathologique congelées ou conservées dans du milieu de Michel. Les coupes sont analysées avec un conjugué polyspécifique (anti-IgG-A-M), un

anti-IgG, un anti-IgA, un anti-IgM et un anti-C3. Deux principaux aspects de fluorescence sont observés : soit un marquage intercellulaire, en nid d'abeille, de l'épithélium, qui est constant dans les pemphigus, soit un marquage linéaire de la membrane basale, caractéristique des dermatoses bulleuses de la jonction dermo-épidermique. Dans la PB, les dépôts d'immunoglobulines sont des IgG, en général associées à du C3. La présence d'un double marquage, en résille et à la jonction, doit faire évoquer un PPN.

Dans certains cas, quand la biopsie est effectuée sur des lésions trop précoces, trop anciennes, surinfectées ou grattées, elle peut être négative ou difficilement interprétable.

Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte (IFI) est la méthode de choix pour le dépistage des autoanticorps sériques associés aux DBAI. Différents substrats, qui comportent tous un épithélium malpighien, peuvent être utilisés : œsophage de singe ou de rat, ou peau humaine. Les sensibilités et spécificités de ces différents substrats sont variables selon les activités anticorps recherchées.

Des coupes d'œsophage de rat ou de singe sont utilisées en première intention, l'œsophage de singe étant plus sensible pour la détection des anti-DSG3, donc pour le PV. Les Ac anti-desmosomes ou anti-substance intercellulaire (Ac anti-SIC) donnent un marquage en nid d'abeille limité à l'épithélium (**figure 3**). Les Ac anti-jonction dermo-épidermique ou anti-membrane basale d'épithélium malpighien donnent un marquage linéaire de la membrane basale (**figure 4A**).

Ces Ac sont recherchés en dépistage dans les sérums dilués au 1/10, en utilisant de préférence des anticorps anti-immunoglobulines humaines polyvalentes (anti-IgG, IgA et IgM) fluorescents (conjugué) ou en parallèle des anti-IgG et des anti-IgA. En effet, si l'isotype de ces Ac est en général des IgG, des IgA peuvent prédominer dans la dermatose à IgA linéaire. Les sérums positifs sont titrés (le titre correspondant à la dernière dilution donnant encore une fluorescence).

Des alloanticorps peuvent être à la source de faux positifs dans la recherche d'Ac anti-SIC sur le substrat œsophage de singe. L'épithélium malpighien de singe exprime des antigènes de groupe sanguin A et B : les sérums de patients qui contiennent des titres élevés d'Ac anti-A et/ou anti-B peuvent donner un marquage en nid d'abeille de l'épithélium, comparable à celui donné par les Ac du pemphigus. Il est donc recommandé de contrôler les sérums positifs sur épithélium de singe après adsorption sur des substances de groupe sanguin.



Les coupes de peau humaine peuvent être utilisées comme substrat pour confirmer les données obtenues sur substrat œsophage de rat ou de singe. Les coupes de peau clivée (traitée au préalable par du NaCl 1M), sont le substrat le plus sensible pour les anticorps de la PB, et permettent d'analyser le marquage de la jonction dermo-épidermique [26]. En effet, ce traitement dissocie la membrane basale entre la lamina densa et la lamina lucida et permet de préciser si les auto-Ac se fixent sur le versant dermique (évoquant alors une EBA, un lupus bulleux ou une PC à laminine 5) (*figure 5*) et/ou sur le versant épidermique (évoquant mais non spécifique d'une PB) (*figures 4B et 5*). L'IFI sur vessie de rat ou de singe, quant à elle, peut être réalisée de façon complémentaire pour mettre en évidence la présence additionnelle des anticorps anti-plakines (mieux exprimées au niveau de l'épithélium transitionnel sur ces coupes spécifiques par rapport aux coupes classiques d'œsophage) dans le PPN [27].

Les techniques de caractérisation des cibles

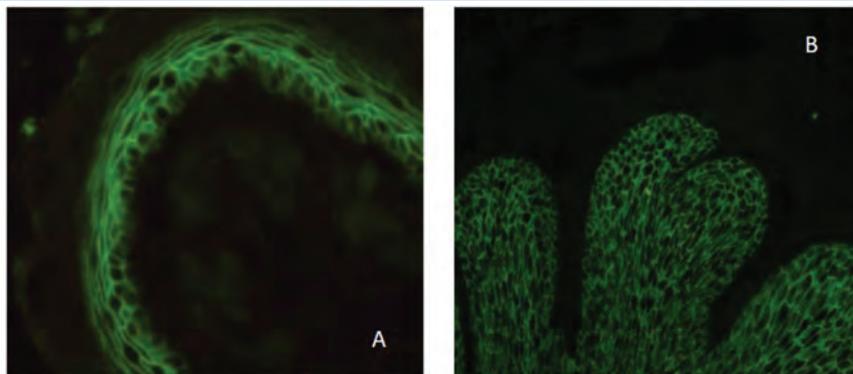
Les techniques de type ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Elles permettent d'identifier les cibles antigéniques. Des trousse commerciales permettent de quantifier les IgG dirigés contre la DSG1 (anti-DSG1), contre la DSG3 (anti-DSG3) et utilisent des protéines recombinantes produites dans un système de production par baculovirus et dont la conformation des épitopes est maintenue par la présence de calcium. Pour l'identification des anti-BP180, le fragment NC16A recombinant de la BP180 est utilisé dans les kits ELISA. Pour l'identification des anti-BP230, l'antigène utilisé est une protéine recombinante comprenant ses parties N- et C-terminales.

Autres techniques

Certaines utilisent des cellules eucaryotes transfectées exprimant des pro-

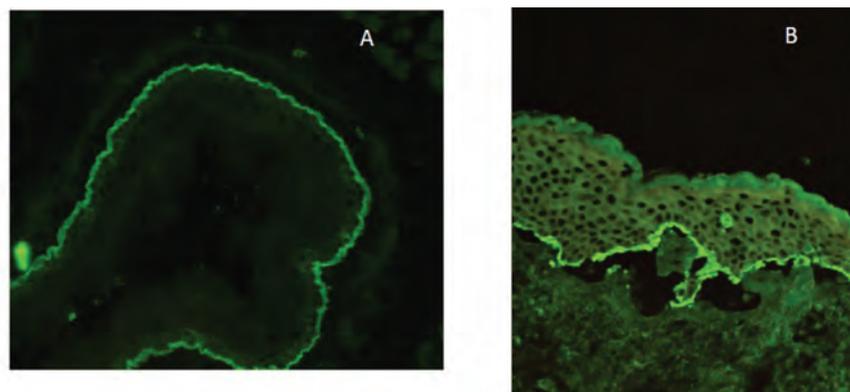
Figure 3. Marquage interkératinocytaire en résille dans un pemphigus.



IFI sur œsophage de rat (A) et de singe (B).

© EUROIMMUN

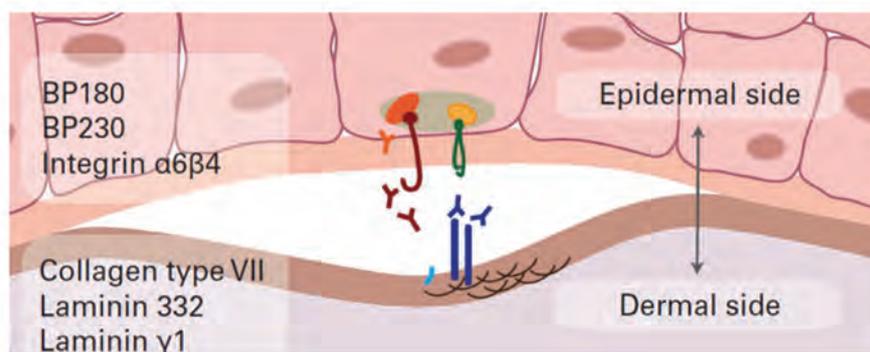
Figure 4. Marquage au niveau de la JDE dans une PB.



IFI sur œsophage de rat (A) ou sur peau clivée donnant un marquage sur le versant épidermique (B).

© EUROIMMUN

Figure 5. IFI sur peau clivée.



L'IFI sur peau clivée permet de distinguer les Ac anti-JDE se fixant sur le versant épidermique (PB) des Ac se fixant sur le versant dermique (EBA)

© EUROIMMUN

téines entières ou certains domaines. Les anticorps sériques sont alors détectés par une technique d'IFI sur ces cellules.

L'immunoblot ou immunotransfert permet théoriquement la recherche de tous les anticorps impliqués dans les maladies bulleuses, qu'il soit réalisé à partir d'extraits totaux de peau humaine, de cellules en culture ou de membrane placentaire (qui contient tous les antigènes du derme et de l'épiderme) [28]. Sa sensibilité peut varier en fonction de l'antigène cible recherché, celui-ci pouvant être plus ou moins représenté dans l'extrait utilisé. L'immunoblot peut également être réalisé sur protéine recombinante, ce qui permet d'améliorer sa sensibilité. L'orientation de la demande par le clinicien est primordiale pour permettre l'utilisation des bons marqueurs. En pratique, cette analyse n'est réalisée que dans certains laboratoires spécialisés (techniques « maison ») car elle est délicate et coûteuse. Elle ne doit être demandée qu'en deuxième intention, pour la recherche d'anticorps rares pour lesquels l'identification par ELISA n'est pas possible ou non contributive, d'un isotype particulier (IgA par exemple) ou pour étayer des résultats atypiques par les autres méthodes.

Interprétation biologique

Anticorps anti-membrane basale

Dans la PB, l'IFI est positive dans 90 % des cas, et, dans les cas difficiles, la réalisation d'une recherche complémentaire en peau clivée représente une aide substantielle en montrant un marquage du toit de la bulle. Elle permet ainsi d'écarter par exemple une EBA et une PC à laminine 5 [26]. Au diagnostic de la maladie, l'ELISA BP180-NC16A est positif dans plus de 90 % des cas et bien corrélé avec l'IFI alors que l'ELISA BP230 n'est positif que dans 60 % des cas environ. L'addition des deux tests ELISA n'augmente que faiblement la sensibilité de l'ELISA BP180 [29,30]. De plus, au cours du traitement, l'IFI semble être un meilleur facteur pronostique de rechute que le taux des anticorps anti-BP180 et anti-BP230 en ELISA après l'arrêt du traitement [31]. L'ELISA anti-BP180-NC16A présente un intérêt dans la pemphigoïde de la grossesse car l'IFI standard est en général négative [8].

Malgré une excellente spécificité pour ces deux tests [9], l'ELISA BP180-NC16A ne permet pas un diagnostic formel, pouvant aussi être positif dans la PC, même si l'épitope dominant est, dans la PC, plutôt situé dans la région C-terminale de la protéine [10-12]. L'ELISA BP230 peut lui aussi être positif dans la PC [13]. Enfin, l'ELISA BP180-NC16A est positif dans le lichen plan pemphigoïde [32].

Devant une PB présentant des atypies (sujet de moins de 70 ans, lésions prédominant sur la tête et le cou, cicatrices atrophiques, lésions muqueuses), et/ou une évolution peu favorable sous corticothérapie, un immunoblot ou une recherche sur cellules transfectées (collagène VII) peuvent être justifiés pour rechercher les anticorps plus rares (épitopes autres que NC16A sur la BP180, laminines, intégrines, collagène VII).

Chez les patients âgés indemnes de toute dermatose bulleuse, la prévalence des anticorps anti-BP180 ou BP230 par test ELISA est d'environ 7%, alors que l'IFI est négative. Cependant, la présence isolée de ces anticorps incite à une surveillance clinique et à la réalisation d'une deuxième IFD en cas d'apparition de plaques érythémateux et, *a fortiori*, de bulles [33,34]. La signification physiopathologique de ces anticorps isolés n'est pas connue mais pourrait être liée à la présence d'isoformes de BP180 et BP230 dans le système nerveux central, à l'origine d'une réaction immunologique croisée [35].

Un marquage au plancher en IF directe ou indirecte sur peau clivée par NaCl molaire est présent dans 40 % des cas des EBA. Cependant, ce marquage peut également se rencontrer dans les DBA1 en rapport avec des anticorps dirigés contre les chaînes $\alpha 3, \beta 3$ ou $\gamma 2$ de la laminine 5 (ou laminine 332) ou la laminine $\gamma 1$ (antigène p200) (figure 5).

La caractérisation des Ac anti-collagène VII peut être réalisée soit par un ELISA NCI/NC2 C7, utilisant des protéines recombinantes correspondant aux fragments NCI et NC2 du collagène 7 soit par IFI sur une BIOCHIP col 7, contenant des cellules transfectées exprimant la portion NCI du collagène VII. Ces tests permettent de détecter environ 90 % des sérums positifs en IFI sur peau clivée mais uniquement 30 % des sérums d'EBA tout venant. Étant donné la faible sensibilité des examens sérologiques, l'absence d'anticorps anti-collagène 7 n'élimine pas un diagnostic d'EBA. Inversement, la présence d'anticorps dirigés contre d'autres antigènes de la membrane basale (BP230, BP180, laminine 5) est possible dans d'authentiques EBA (phénomène de dérive épitopique).

Anticorps anti-desmosomes

La positivité de l'IFD est le seul examen indispensable au diagnostic au cours du pemphigus. Cependant, les tests ELISA DSG1 et DSG3 réalisés simultanément permettent de faire la distinction immunologique entre PV et PS [36]. Les Ac anti-SIC sont retrouvés positifs en IFI dans 80 % des cas et en ELISA dans 90 % des cas. Leur taux en IFI est parallèle à l'évolution de la maladie et leur surveillance en cours de traitement est donc utile,



notamment pour dépister une rechute en phase minimale de traitement ou après l'arrêt de celui-ci [21]. En revanche, le suivi des titres des anticorps anti-DSG1 ou DSG3 en test ELISA semble moins corrélé à l'évolution clinique [37].

La mise en évidence d'anticorps circulants anti-DSG sans pemphigus a une valeur incertaine et n'a été montrée, avec une signification physiopathologique mal connue, que chez des membres de la famille de patients ou dans les zones endémiques de Tunisie [38-39].

En cas de suspicion de PPN (contexte, présentation clinique, histopathologique avec double fixation en IFD en résille dans l'épiderme et sur la membrane dermo-épidermique), la réalisation d'une IFI sur épithélium de vessie de rat ou de singe, d'un ELISA anti-envoplakine et/ou d'un immunoblot est recommandée pour rechercher les anticorps les plus typiques (anti-envoplakine et anti-périplakine, anti-desmoplakine) [40]. À l'inverse, devant un pemphigus d'allure plus banale mais de profil immunologique particulier (positivité de l'IFI sur épithélium transitionnel et présence du couple envoplakine-périplakine en immunoblot), un cancer sous-jacent doit être recherché.

Conclusion

L'IFI est la technique de dépistage des Ac circulants et les tests ELISA permettent de déterminer la cible antigénique. L'immunoblot est réservé pour des laboratoires spécialisés et permet d'identifier des antigènes cibles rares.

Le pemphigus vulgaire est caractérisé par la présence d'Ac anti-DSG1 et anti-DSG3. En revanche, dans le pemphigus superficiel qui ne touche pas les muqueuses, on ne retrouve que des Ac anti-DSG1. Pour le diagnostic de pemphigus paranéoplasique, il est recommandé de réaliser une IFI sur épithélium de vessie de rat ou de singe, et de rechercher des anti-envoplakine et anti-périplakine, anti-desmoplakine par ELISA ou immunoblot. Les protéines BPAG1 (BP230) et BPAG2 (BP180), composants majeurs de la JDE sont les cibles principales des Ac de la PB. La réalisation d'une IFI sur peau clivée permet de mettre en évidence des Ac plus rares comme les Ac anti-collagène VII retrouvés dans l'EBA. ■

Liens d'intérêts : l'auteure déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Delva E, Tucker DK, Kowalczyk AP. The desmosome. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(2):a002543.
- [2] Karashima T, Watt FM. Interaction of periplakin and envoplakin with intermediate filaments. *J. Cell. Sci.* 2002;115:5027-5037.
- [3] Borradori L, Sonnenberg A. Structure and function of hemidesmosomes: more than simple adhesion complexes. *J. Invest. Dermatol.* 1999;112:411-418.
- [4] Kasperkiewicz M, Zillikens D. The pathophysiology of bullous pemphigoid. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007;33:67-77.
- [5] Kasperkiewicz M, Zillikens D, Schmidt E. Pemphigoid diseases: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Autoimmunity.* 2012;45:55-70.
- [6] Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, et al. Anti-laminin gamma-1 pemphigoid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009;106:2800-2805.
- [7] Dainichi T, Koga H, Tsuji T, et al. From anti-p200 pemphigoid to anti-laminin gamma 1 pemphigoid. *J. Dermatol.* 2010;37:231-238.
- [8] Powell AM, Sakuma-Oyama Y, Oyama N, et al. Usefulness of BP180 NC16a enzyme-linked immunosorbent assay in the serodiagnosis of pemphigoid gestationis and in differentiating between pemphigoid gestationis and pruritic urticarial papules and plaques of pregnancy. *Arch Dermatol.* 2005 Jun;141(6):705-10.
- [9] Bédane C, McMillan JR, Balding SD, et al. Bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid autoantibodies react with ultrastructurally separable epitopes on the BP180 ectodomain: evidence that BP180 spans the lamina lucida. *J. Invest. Dermatol.* 1997;108:901-907.
- [10] Kromminga A, Sitaru C, Meyer J, et al. Cicatricial pemphigoid differs from bullous pemphigoid and pemphigoid gestationis regarding the fine specificity of autoantibodies to the BP180 NC16A domain. *J. Dermatol. Sci.* 2002;28:68-75.
- [11] Lee JB, Liu Y, Hashimoto T. Cicatricial pemphigoid sera specifically react with the most C-terminal portion of BP180. *J. Dermatol. Sci.* 2003;32:59-64.
- [12] Balding SD, Prost C, Diaz LA, et al. Cicatricial pemphigoid autoantibodies react with multiple sites on the BP180 extracellular domain. *J. Invest. Dermatol.* 1996;106:141-146.
- [13] Leverkus M, Bhol K, Hirako Y, et al. Cicatricial pemphigoid with circulating autoantibodies to beta4 integrin, bullous pemphigoid 180 and bullous pemphigoid 230. *Br. J. Dermatol.* 2001;145:998-1004.
- [14] Chan LS, Majumdar AA, Tran HH, et al. Laminin-6 and laminin-5 are recognized by autoantibodies in a subset of cicatricial pemphigoid. *J. Invest. Dermatol.* 1997 Jun;108(6):848-53.
- [15] Sitaru C, Mihai S, Otto C, et al. Induction of dermal-epidermal separation in mice by passive transfer of antibodies specific to type VII collagen. *J. Clin. Invest.* 2005;115:870-8.
- [16] Kridin K. Subepidermal autoimmune bullous diseases: overview, epidemiology, and associations. *Immunol. Res.* 2018 Feb;66(1):6-17. doi: 10.1007/s12026-017-8975-2
- [17] Ingen-Housz-Oro S. Linear IgA bullous dermatosis: a review. *Ann Dermatol Venereol.* 2011 Mar;138(3):214-204.
- [18] Ingen-Housz-Oro S. Dermatitis herpetiformis: a review. *Ann Dermatol Venereol.* 2011 Mar;138(3):221-7.
- [19] Amagai M. Autoimmunity against desmosomal cadherins in pemphigus. *J. Dermatol. Sci.* 1999;20:92-102.
- [20] Sitaru C, Zillikens D. Mechanisms of blister induction by autoantibodies. *Exp. Dermatol.* 2005;14:861-875.
- [21] Joly P, Bernard P, Bedane C, et al. [Pemphigus. Guidelines for the diagnosis and treatment. Centres de référence des maladies bulleuses auto-immunes. Société Française de Dermatologie]. *Ann Dermatol Venereol.* 2011;138:252-258.
- [22] Amagai M, Tsunoda K, Zillikens D, et al. The clinical phenotype of pemphigus is defined by the anti-desmoglein autoantibody profile. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1999;40:167-170.
- [23] Kiyokawa C. Envoplakin and periplakin are the paraneoplastic pemphigus antigens. *Kurume Med J.* 1999;46:71-78.
- [24] Nagata Y, Karashima T, Watt FM, et al. Paraneoplastic pemphigus sera react strongly with multiple epitopes on the various regions of envoplakin and periplakin, except for the c-terminal homologous domain of periplakin. *J. Invest. Dermatol.* 2001;116:556-563.
- [25] Bialy-Golan A, Brenner S. Penicillamine-induced bullous dermatoses. *J Am Acad Dermatol.* 1996 Nov;35(5 Pt 1):732-42. Review.
- [26] Ghohestani RF, Nicolas JF, Rousselle P, et al. Diagnostic value of indirect immunofluorescence on sodium chloride-split skin in differential diagnosis of subepidermal autoimmune bullous dermatoses. *Arch Dermatol.* 1997;133:1102-1107



[27] Liu AY, Valenzuela R, Helm TN, et al. Indirect immunofluorescence on rat bladder transitional epithelium: a test with high specificity for paraneoplastic pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:696-9.

[28] Grootenboer-Mignot S, Descamps V, Picard-Dahan C, et al. Place of human amniotic membrane immunoblotting in the diagnosis of autoimmune bullous dermatoses. *Br. J. Dermatol.* 2010;162:743-750.

[29] Charneux J, Lorin J, Vitry F, et al. Usefulness of BP230 and BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assays in the initial diagnosis of bullous pemphigoid: a retrospective study of 138 patients. *Arch Dermatol.* 2011;147:286-291.

[30] Le Saché-de Peuffeilhoux L, Ingen-Housz-Oro S, Hue S, et al. The value of BP230 enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis and immunological follow-up of bullous pemphigoid. *Dermatology.* 2012;224:154-159.

[31] Ingen-Housz-Oro S, Plée J, Belmondo T, et al. Positive Direct Immunofluorescence Is of Better Value than ELISA-BP180 and ELISA-BP230 Values for the Prediction of Relapse after Treatment Cessation in Bullous Pemphigoid: A Retrospective Study of 97 Patients. *Dermatology.* 2015 Apr 14.

[32] Zillikens D, Caux F, Mascaro JM, et al. Autoantibodies in lichen planus pemphigoides react with a novel epitope within the C-terminal NC16A domain of BP180. *J. Invest. Dermatol.* 1999;113:117-121.

[33] Wieland CN, Comfere NI, Gibson LE, et al. Anti-bullous pemphigoid 180 and 230 antibodies in a sample of unaffected subjects. *Arch Dermatol.* 2010;146:21-25.

[34] Foureur N, Grootenboer-Mignot S, Descamps V. Value of the detection of circulating antibodies against BP antigens in unaffected subjects. *Arch Dermatol.* 2010;146:801; author reply 802.

[35] Claudepierre T, Manglapus MK, Marengi N, et al. Collagen XVII and BPAG1 expression in the retina: evidence for an anchoring complex in the central nervous system. *J. Comp. Neurol.* 2005;487:190-203.

[36] Amagai M, Komai A, Hashimoto T, et al. Usefulness of enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant desmogleins 1 and 3 for serodiagnosis of pemphigus. *Br J Dermatol.* 1999;140:351-7.

[37] Bellon N, André C, Sbidian E, et al. The value of anti-desmoglein enzyme-linked immunosorbent assay in the immunological follow-up of pemphigus. *Dermatology.* 2014;229(3):256-62.

[38] Abida O, Kallel-Sellami M, Joly P, et al. Anti-desmoglein 1 antibodies in healthy related and unrelated subjects and patients with pemphigus foliaceus in endemic and non-endemic areas from Tunisia. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009;23:1073-1078.

[39] Torzecka JD, Woźniak K, Kowalewski C, et al. Circulating pemphigus autoantibodies in healthy relatives of pemphigus patients: coincidental phenomenon with a risk of disease development? *Arch. Dermatol. Res.* 2007;299:239-243.

[40] Hashimoto T, Amagai M, Watanabe K, et al. Characterization of paraneoplastic pemphigus autoantigens by immunoblot analysis. *J. Invest. Dermatol.* 1995;104:829-834.

Marqueurs des glomérulonéphrites extra-membraneuses idiopathiques

Catherine Johanet^{1,*}, Éric Anton¹, Chantal Desgruelles¹, Éric Ballot¹, Françoise Fortenfant²

1 Unité d'Auto-immunité, Département d'Immunologie biologique, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, 184, rue du Faubourg Saint-Antoine, 75571 Paris Cedex 12, France.

2 Laboratoire d'Immunologie, Hôpital Rangueil, Avenue Jean Poulhes, 31403 Toulouse cedex 4, France.

*Auteur correspondant : Catherine.johanet@sat.aphp.fr (C. Johanet).

Introduction

Quatre-vingt pour cent des glomérulonéphrites extra-membraneuses (GEM) sont des formes primitives ou idiopathiques (GEMi) dues à une rupture de tolérance contre un antigène podocytaire. Plusieurs antigènes cibles ont été identifiés, en particulier : le récepteur à la phospholipase A2 de type M (PLA2R) en 2009 [1] et la thrombospondine type I domaine 7A (THSD7A) en 2014 [2]. Des anticorps (Ac) anti-PLA2R puis des Ac anti-THSD7A ont été mis en évidence dans le sérum des patients ayant une GEMi dans respectivement 70 à 80% et 5% des cas.

Les Ac anti-PLA2R ont déjà été présentés lors du colloque du GEAI en 2012 [3], aussi, nous aborderons principalement les Ac anti-THSD7A.

Cibles antigéniques

Le PLA2R est un récepteur transmembranaire de type I pour la phospholipase soluble, appartenant à la famille des récepteurs au mannose. La THSD7A est une protéine membranaire endothéliale initialement caractérisée au niveau du placenta. Dans le rein, elle est présente au pôle basal des podocytes [4].

Ces deux antigènes ont une structure similaire. Ils sont exprimés à la membrane du podocyte, ont un poids moléculaire élevé (PLA2R : 185kDa et THSD7A : 250kDa) et une région extra-cellulaire importante avec de nombreux domaines N-glycosylé (3 sites de glycosylation pour PLA2R, 14 sites pour THSD7A).

Les IgG éluées de biopsie de patient avec Ac anti-PLA2R réagissent avec le PLA2R recombinant. Ce n'est pas le cas pour les IgG éluées de patients atteints de GEM lupique ou de néphropathie à IgA [1]. De même, les IgG éluées de biopsie de patient avec Ac anti-THSD7A reconnaissent un recombinant THSD7A et ne reconnaissent pas le PLA2R [2].

Détection des anticorps

Les Ac anti-THSD7A comme les Ac anti-PLA2R appartiennent majoritairement à la sous-classe des IgG4.

Les deux anticorps ont d'abord été mis en évidence par western blot dans des conditions non dénaturantes, en utilisant comme antigène un extrait de glomérules humains normaux (PLA2R : 185kDa, THSD7A : 250kDa). Les Ac anti-PLA2R sont détectés en 2011, par une technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) utilisant comme antigène une lignée de cellules rénales embryonnaires humaines transfectées avec le gène du PLA2R et comme contrôle la même lignée cellulaire non transfectée [5] puis en 2012 par une technique ELISA utilisant des récepteurs recombinants humains purifiés obtenus à partir de cellules transfectées. Enfin en 2014, un test ALBIA (*adressable laser bead immunoassay*, ou multiplexage) a été développé et permet par des panels adaptés, de rechercher également certaines des causes de GEM secondaire [4]. La concordance entre l'IFI et l'ELISA est de 94% et il existe une bonne corrélation entre les titres en IFI et l'ELISA [6]. Cependant, les résultats observés par western blot sont majoritairement en accord avec l'IFI [6]. De plus, l'utilisation de l'IFI semble plus pertinente que celle de l'ELISA dans le screening des patients suspects de GEMi. Une étude comparative portant sur 73 patients ayant une GEMi a montré une concordance globale de 92% entre les deux techniques. Les six résultats discordants (tous IIF+/ELISA-) sont présentés (**tableau 1**) [7]. Ce sont des sérums de GEMi au diagnostic ou en activité. À l'inverse, sur 180 patients présentant des pathologies diverses (lupus, polyarthrite rhumatoïde, myosite, diabète, maladie de Crohn, rectocolite ulcéro hémorragique), 10 (5,5%) ont des Ac anti-PLA2R par ELISA vs 0% par IFI (résultats personnels Saint-Antoine, non publiés).

Les Ac anti-THSD7A sont détectés depuis 2017 par un test d'IFI utilisant des cellules transfectées avec l'antigène THSD7A selon le même principe que pour la détection des anti-PLA2R. Comparée au western blot qui est la

**Tableau 1. Détection des Ac anti-PLA2R par IFI et ELISA.
Étude des 6 sérums présentant un résultat discordant (cohorte Saint-Antoine).**

IFI (titre)	1/10	1/50	1/50	1/50	1/10	1/10
ELISA	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif
Protéinurie (g/24h)	<0,1	3,5	5	9,2	2,8	3,8
Rémission	oui	non ^a	non ^b	non ^b	partielle ^b	non ^b

a : GEMi au diagnostic, avant traitement ; b : GEMi sous traitement

technique de référence, l'IFI a une sensibilité de 92% et une spécificité de 100% [8].

Anticorps comme marqueurs diagnostiques des GEMi

Toutes études confondues, les Ac anti-PLA2R apparaissent comme un excellent marqueur diagnostique des GEMi (sensibilité de 57 à 82%, spécificité de 89 à 100%) [1,5,9-13]. La combinaison de la détection de l'Ac sérique et de l'antigène dans la biopsie augmente la sensibilité diagnostique [14]. Ces Ac ne sont pas détectés ou sont détectés dans de très rares cas de GEM secondaires [12]. Une étude fait exception et montre un taux élevé d'Ac (72%) dans une population chinoise de GEM secondaires [15].

Les Ac anti-PLA2R et les Ac anti-THSD7A semblent mutuellement exclusifs [1,16]. Cependant, Larsen et al [17] ont montré une double positivité de ces

Ac dans 1% des cas (2/258). Approximativement 2,5 à 5% des patients ayant une GEMi ont des Ac anti-THSD7A ce qui représente 8 à 14% des patients atteints de GEM et séronégatifs pour les Ac anti-PLA2R [1,16-18]. Une étude récente de Saint-Antoine (non publiée), portant sur une population de 79 GEMi (47 anti-PLA2R+ et 32 anti-PLA2R-) montre une fréquence des Ac anti-THSD7A de 0% dans la population anti-PLA2R positive vs 16% (5/32) dans la population séronégative (p=0,009, test exact de Fischer), résultat similaire aux études publiées (**tableau 2**). À l'inverse, une étude préliminaire de Toulouse (non publiée) ne retrouve aucun Ac anti-THSD7A positif sur une population de 22 GEMi séronégatives pour les Ac anti-PLA2R (**tableau 2**).

Alors que la GEMi est plus fréquente chez l'homme, les Ac anti-THSD7A semblent plus fréquemment présents chez la femme. Dans l'étude de Hoxha et al. [8] la cohorte étudiée est composée de 67% d'hommes, les populations anti-PLA2R+ et anti-THSD7A+ sont

Tableau 2. Études Saint-Antoine (Paris) et Toulouse.

a) Caractéristiques de la population et fréquence des Ac anti-THSD7A			
population	Age moyen	Sexe (% homme)	Fréquence des Ac anti-THSD7A
Saint-Antoine			
Anti-PLA2R positif, n=47	58 ans	40 H/7F soit 85%H	0%
Anti-PLA2R négatif, n=32	52 ans	18H/14F soit 56%H	5/32 soit 16%*
Toulouse			
Anti-PLA2R négatif, n=22	56 ans	13H/9F soit 59%H	0%
* 16% vs 0%: p=0,009 test exact de Fisher			
b) Caractéristiques des 5 patients avec Ac anti-THSD7A+			
Age moyen	Sexe (% homme)	Données clinico-biologiques	
65 ans	2H/3F soit 40%H	<ul style="list-style-type: none"> • H 56 ans :GEMi anti-PLA2R sérique négatif mais dépôts marqués par l'Ac anti-PLA2R • F 97ans : GEMi sous rituximab, ATCD de cancer du sein • F 38 ans : GEM sous rituximab + gammopathie monoclonale • F 35 ans : GEM + épanchement pleural récidivant • H 63 ans : GEM +Waldenström + amylose 	



composées de respectivement 69% et 43% d'hommes ($p=0,002$).

Les résultats obtenus sont similaires dans l'étude de Saint-Antoine (non publiée), les populations anti-PLA2R+, anti-PLA2R- /anti-THSD7A- et anti-THSD7A+ sont composées respectivement de 85%, 61% et 40% d'hommes.

La prévalence des cancers semble plus élevée chez les patients avec Ac anti-THSD7A (20%) que chez les patients ayant une immunité anti-PLA2R (5%) ou les patients négatifs pour les deux Ac (10%) [8]. Le premier cas a été publié par Hoxha en 2016 [19] chez une femme ayant de façon concomitante une GEM et un cancer de la vésicule biliaire métastasé. L'antigène THSD7A a été détecté dans le rein, les cellules tumorales et un ganglion. Les Ac anti-THSD7A ont disparu après chimiothérapie. Puis dans une seconde étude des mêmes auteurs [8], sur les 40 patients ayant une GEM avec Ac anti-THSD7A, 8 ont développé un cancer dans un intervalle de temps inférieur à trois mois.

Dans notre étude, 2 patients sur les 5 ayant des Ac anti-THSD7A présentent un cancer associé à la GEM.

Anticorps comme marqueurs pronostiques

Les Ac anti-PLA2R apparaissent comme des marqueurs d'activité de la maladie. Il existe une corrélation entre la présence de l'Ac anti-PLA2R et une maladie cliniquement active avec protéinurie et hypoalbuminémie [1,20]. Ces Ac diminuent ou disparaissent pendant la phase de rémission (avant la baisse de la protéinurie) et réapparaissent en cas de récurrence de la maladie [10,14]. La caractérisation des épitopes du PLA2R a permis de montrer que la reconnaissance d'un épitope riche en cystéine était associée à un fort taux de rémission, alors qu'une dérive épitopique était en faveur d'un mauvais pronostic [21].

Les Ac anti-THSD7A apparaissent également comme des marqueurs d'activité de la maladie mais les effectifs étudiés restent faibles [2,8].

Anticorps dans le suivi des GEMi

Chez les patients sous rituximab, les Ac anti-PLA2R sont un biomarqueur beaucoup plus sensible que la protéinurie pour la surveillance de l'efficacité du traitement [11,22,23].

Il n'y a pas encore de données concernant les Ac anti-THSD7A.

Anticorps et récurrence post-transplantation

Les Ac anti-PLA2R sont impliqués dans 50% des récurrences de GEM après transplantation rénale, mais ne sont pas présents dans les GEM *de novo* [24].

Des données préliminaires vont dans le même sens pour les Ac anti-THSD7A [25].

Pathogénicité des anticorps

La pathogénicité des Ac anti-PLA2R n'a pas pu être démontrée du fait de l'absence d'expression de l'antigène sur les podocytes murins et de modèle de souris transgénique. Cependant, les corrélations entre le taux d'Ac anti-PLA2R et l'activité clinique de la maladie suggèrent une relation de cause à effet.

La présence de l'antigène THSD7A à la surface des podocytes de souris a permis d'établir la pathogénicité des Ac anti-THSD7A humains. Les animaux développent une GEM avec protéinurie après injection de sérum de patient ou d'IgG purifiées [25].

L'équipe de Stahl et al [26] a montré que l'expression de THSD7A dans les cellules tumorales (gain ou perte comparé aux cellules saines) était associée à une invasion vasculaire et à la présence de métastases suggérant que THSD7A serait impliqué dans les mécanismes d'invasion vasculaire, de métastases et d'angiogenèse dans l'environnement tumoral. Le potentiel rôle de THSD7A dans le développement des tumeurs et comme cible thérapeutique demande de nouvelles investigations.

Conclusion

Les Ac anti-PLA2R sont d'excellents marqueurs diagnostiques de la GEMi. Leur présence est corrélée à l'activité de la maladie et ces Ac sont plus sensibles que la protéinurie pour la surveillance de l'efficacité du traitement immunosuppresseur.

Les Ac anti-THSD7A représentent le second marqueur diagnostique et semblent également être corrélés à l'activité de la maladie. Ils seraient associés à une forte prévalence de cancers.

Les deux Ac seraient le plus souvent mutuellement exclusifs. ■

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Remerciements

Nous tenons à remercier l'ensemble des néphrologues et des biologistes qui nous ont fourni les renseignements clinico-biologiques.

Références

- [1] Beck LH, Bonaglio RGB, Lambeau G et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009 ;361(1) :11-21.
- [2] Tomas NM, Beck LR, Meyer-Schwesinger C et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in primary membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2014;371(24):2277-87.
- [3] Denizaut G, Mougari F, Anton E et al. Anticorps anti-récepteur à la phospholipase A2: marqueur sérologique de la glomérulonéphrite extra-membraneuse. *RFL* 2012 ;344bis :25-8.
- [4] Miot C, Poli C, Beauvillain C et al. Apport de l'immunologie à la prise en charge diagnostique et thérapeutique des glomérulonéphrites extramembraneuses. *RFL* 2017 ;495 :38-46.
- [5] Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011 ;364(7):689-90.
- [6] Hofstra JM, Debiec H, Short CD, Pellé T, Kleta R, Mathieson PW et al. Antiphospholipase A2 receptor antibody titer and subclass in idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1735-43.
- [7] Chantran Y, Laurent H, Dahan K et al. Autoantibodies against phospholipase A2 receptor detected by immunofluorescence test and ELISA in 434 French patients with membranous nephropathy. 9th international congress on Autoimmunity, Nice 2014.
- [8] Hoxha E, Beck LH, Wiech T et al. An indirect immunofluorescence method facilitates detection of thrombospondin type I domain-containing 7A-specific antibodies in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(2):520-31.
- [9] Gunnarsson I, Schlumberger W, Rönnelid J. Antibodies to M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) and membranous lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 2011; Dec 16.
- [10] Hofstra JM, Beck LH, Beck DM et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(6):1286-91.
- [11] Beck LH, Fervenza FC, Beck DM et al. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(8):1543-50.
- [12] Qin W, Beck LH, Zeng C et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(6):1137-43.
- [13] Du Y, Li J, He F et al. The diagnosis accuracy of PLA2R-AB in the diagnosis of idiopathic membranous nephropathy : a meta-analysis. *PloS ONE* 2014;9(3):e104936.
- [14] Pourcine F, Dahan K, Mihout F et al. Prognostic value of PLA2R autoimmunity detected by measurement of anti-PLA2R antigen in membranous nephropathy: a single-centre study over 14 years. *PloS ONE* 2017; 12(3):e0173201.
- [15] Li L, Wei MW, Xiao XP et al. Biomarkers to detect membranous nephropathy in Chinese patients. *Oncotarget* 2016;7(42):67868-78.
- [16] Iwakura T, Ohashi N, Kato A et al. Prevalence of enhanced granular expression of thrombospondin type-1 domain-containing 7A in glomeruli of Japanese patients with idiopathic membranous nephropathy. *PloS one* 2015;10(9):e0138841.
- [17] Larsen CP, Cossey LN, Beck LH. THSD7A staining of membranous glomerulopathy in clinical practice reveals cases with dual autoantibody positivity. *Mod Pathol* 2016 ;29:421-26.
- [18] Gödel M, Grahmmer F, Huber TB. Thrombospondin type-I domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2015;372(11):1073.
- [19] Hoxha E, Wiech T, Stahl PR et al. A mechanism for cancer-associated membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2016;374(20):1995-6.
- [20] Beck LH, Salant DJ. Membranous nephropathy: recent travels and new roads ahead. *Kidney international* 2010;77(9):765-70.
- [21] Seitz-Polski B, Dolla G, Payré C et al. Epitope spreading of autoantibody response to PLA2R associates with poor prognosis in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(5):1517-33.
- [22] Cravedi P, Ruggenenti P, Remuzzi G. Circulating anti-PLA2R autoantibodies to monitor immunological activity in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(8):1400-2.
- [23] Dahan K, Debiec H, Plaisier E et al. Rituximab for severe membranous nephropathy : a 6-month trial with extended follow-up. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(1):348-58.
- [24] Debiec H, Martin L, Jouanneau C et al. Autoantibodies specific for the phospholipase A2 receptor in recurrent and de novo membranous nephropathy. *Am J Transplant* 2011;11(10):2144-52.
- [25] Tomas NM, Hoxha E, Reinicke AT et al. Autoantibodies against thrombospondin type I domain-containing 7A induce membranous nephropathy. *J Clin Invest* 2016;126(7):2519-32.
- [26] Stahl PR, Hoxha E, Wiech T et al. THSD7A expression in human cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2017 ;56 :314-27.

Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles : 30 ans d'expérience angevine

Gilles Renier^{1,2}, Jean-François Augusto^{3,4}, Céline Beauvillain^{1,4}, Pascale Jeannin^{1,4},
Jean-François Subra^{3,4}, Alain Chevailler^{1,4,*}

1 Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie, CHU d'Angers, Angers, Cedex 09, F-49933 France.

2 Université d'Angers, UPRES EA 3142, Angers, F-49933, France.

3 Service de Néphrologie-Dialyse-Transplantation; CHU d'Angers, Angers, Cedex 9, F-49933, France.

4 Université d'Angers, Angers, France; Inserm, Unité 1232, Angers, France; LabEx IGO «Immuno-Graft-Onco», Angers, France.

*Auteur correspondant: AIChevailler@chu-angers.fr (A. Chevailler).

► Introduction

Jeunes biologistes pour deux d'entre nous (GR, AC), nous avons eu la chance de commencer notre carrière au moment où, au milieu des années 1980, étaient publiés les articles fondateurs de la saga des ANCA (*antineutrophil cytoplasmic antibodies*) [1, 2]. À ce stade l'étroite collaboration avec nos collègues cliniciens, néphrologues et hématologues, avec qui nous avons partagé nos études de médecine et années d'internat, nous a permis, en l'étendant progressivement aux autres disciplines concernées par les ANCA (médecine interne, rhumatologie, réanimation médicale, pédiatrie) de développer une thématique de recherche clinique qui a donné lieu à 12 articles originaux dans des revues anglo-saxonnes dont 2 revues générales, 8 articles originaux dans des revues françaises dont 4 revues générales, et s'est traduit par des communications à 11 des 18 Vasculitis&ANCA International Workshop et à 3 International Autoimmunity Congress.

► ANCA et leucémie myéloïde chronique

Tout a commencé à lecture de l'article de Martin Lockwood qui faisait l'hypothèse que, ce que l'on appelait à l'époque l'antigène du Wegener de 29 kD, pouvait être la phosphatase alcaline leucocytaire (PAL) [3]. Pour valider cette hypothèse, nous décidâmes de tester 5 sérums ANCA positifs, confirmés par Laure-Hélène Noël, référente nationale des ANCA au labo-

ratoire d'anatomopathologie du CHU de Necker à Paris avec 5 frottis de polynucléaires neutrophiles (PNN) de patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC), pathologie caractérisée par un score des PAL nul. La positivité de l'immunofluorescence indirecte (IFI) nous a permis d'infirmier l'hypothèse de Lockwood, en développant, en collaboration avec Philippe Lesavre, néphrologue à Necker et dans le service duquel l'un d'entre nous (AC) avait passé 6 mois d'internat, une technique d'IFI sur PNN de LMC présentée au 2^e Vasculitis&ANCA International Workshop et publiée [4, 5]. Parallèlement nous faisons la preuve qu'il n'existait pas de technique de western blot universelle qui respecte toutes les cibles des ANCA [6] et développons un test ELISA de détection des ANCA anti-myéloperoxydase [7].

► ANCA et silice

Pendant plus de dix ans, cette technique d'IFI maison a été notre technique de dépistage avant que des contraintes de temps technicien nous conduisent à adopter des lames commerciales. Le deuxième temps fort a été secondaire à un biais de sélection. Très rapidement, alors que notre cohorte de patients ANCA positifs se constituait, il nous est apparu une forte prédominance d'anciens mineurs présentant tous, en plus de leur silicose pulmonaire ou d'une exposition reconnue par la médecine du travail, une glomérulonéphrite extra-capillaire (GNEC) à croissant associée à des ANCA anti-myéloperoxydase (MPO). L'existence des mines d'ardoise de Trélazé, dans la banlieue d'Angers, et des mines de fer du Segréen, expliquait ce biais. Nous avons été les premiers à rapporter cette association au 3^e Vasculitis&ANCA International Workshop, publiée

dans la foulée [8, 9]. Elle a été confirmée par la suite par une équipe italienne et des études épidémiologiques [10, 11]. Cette observation initiale a été le point de départ pour l'obtention d'un PHRC national lors de la première vague en 1994, qui a conclu à la présence d'une lymphopénie significative chez les anciens mineurs exposés à la silice [12].

► ANCA de diagnostic rapide

Rapidement la détection des ANCA a bouleversé la prise en charge des patients atteints de vascularite nécrosante primitive en offrant la possibilité, dans les contextes cliniques évocateurs (glomérulonéphrite rapidement progressive, syndrome pneumorénal), d'apporter dans la journée un argument diagnostique suffisamment fort pour mettre en route la thérapeutique immunosuppressive avant même le résultat de l'anatomopathologie au délai de rendu contraint. Dès le début de notre pratique, en collaboration avec les néphrologues et les réanimateurs médicaux, nous avons établi une procédure de recherche d'ANCA en urgence initiée par une demande téléphonique séniorisée et reposant sur une recherche par IFI sur trois types de frottis de PNN (fixés par l'éthanol, le formol et le méthanol) et au moins deux tests en phase solide (immunodot et multiplexage). En 2014, nous avons publié l'évaluation d'application sur sept ans de cette procédure: la sensibilité et la spécificité de l'IFI combinée à un test de phase solide pour poser le diagnostic de vascularite nécrosante primitive sont respectivement de 83,3 % et 100 %, permettant ainsi une mise en route rapide du traitement adapté [13]. Il faut cependant garder à l'esprit, et un cas clinique présenté au colloque du GEAI de 2014 [14] en est l'illustration, que la réponse auto-immune, polyclonale au diagnostic, sous l'effet de traitement immunosuppresseur, peut devenir oligoclonale, et selon la disponibilité des épitopes reconnus dans les différents tests, les résultats peuvent être discordants. Dans un tel contexte, la proposition récente [15] d'abandonner le dépistage par l'IFI ne nous paraît pas légitime et constitue une perte de chance pour le malade. Enfin, COFRAC (Comité Français d'Accréditation) et absence de financement pour une astreinte 24/24 obligent, nous avons renommé cette procédure «ANCA de diagnostic rapide».

► La place des ANCA

Fort d'un recrutement dépassant largement le seul bassin de notre CHU, nous avons pu identifier des particularités épidémiologiques, cliniques et biologiques des maladies associées aux ANCA.

ANCA et infection

Alors qu'après 7 ans de prospection (1989-1996) nous totalisons 274 patients ANCA positifs, pour 7 d'entre eux (2,5 %), le seul diagnostic était celui d'une maladie infectieuse, dont deux endocardites subaiguës avec d'authentiques cANCA anti-protéinase 3 (PR3) [16]. Il est important que les cliniciens gardent présente à l'esprit cette possible occurrence devant des manifestations systémiques possiblement évocatrices d'une granulomatose avec polyangéite (GPA, ex Wegener) dont la thérapeutique est diamétralement opposée (immunosuppresseur versus antibiothérapie) avec des conséquences dramatiques en cas de prescription inopportune par erreur diagnostique.

ANCA et suivi des vascularites

Rapidement nous avons pu confirmer que les variations du taux des ANCA ne pouvaient à elles seules justifier une éventuelle intensification thérapeutique, ce que seules quelques équipes ont osé [17], sans faire le consensus dans la communauté médicale [18], mais étaient à confronter aux données cliniques [19].

ANCA en pédiatrie

Avec nos collègues pédiatres, nous avons confirmé que la présence d'ANCA chez les jeunes patients atteints de mucoviscidose s'observait essentiellement chez les malades les plus graves avec un statut infectieux sévère et qu'ils étaient les témoins de l'importance des phénomènes inflammatoires [20]. Une étude rétrospective menée de juin 2004 à juin 2010, a retrouvé 7,3 % de demandes d'ANCA pour des patients de moins de 15 ans, avec 37 patients ANCA positifs se répartissant principalement dans des pathologies autres que les vascularites associées aux ANCA (VAA), à savoir des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), des infections et des arthrites chroniques juvéniles préférentiellement associés à des ANCA anti-élastase [21].

Cibles majeures et mineures des ANCA

Nous nous sommes intéressés aux cibles mineures des ANCA, détectables par certaines troupes ELISA commerciales, à savoir cathepsine G, élastase, lactoferrine et BPI (*bactericidal increasing permeability protein*) par opposition aux deux cibles majeures, PR3 et MPO, dont la pertinence clinique pour les vascularites



nécrosantes primitives reste indéniable, à condition de ne pas méconnaître la possibilité d'infection ou de MICI. Nos résultats, présentés à deux *International Autoimmunity Congress* et un colloque du GEAI, sont en faveur d'une stimulation chronique des PNN qui déversent le contenu de leurs granules dans un milieu inflammatoire dont les cytokines favorisent une rupture de tolérance vis-à-vis de ces cibles et ces ANCA sont donc associés à des pathologies autres que les vascularites associées aux ANCA (VAA) [22-24]. De manière plus surprenante, une étude rétrospective conduite avec nos collègues du CHU de Dijon, Nils-Olivier Olsson et Daniela Lakomy, a retrouvé sur une période de 8 ans, 23 patients avec des ANCA ciblant simultanément la PR3 et la MPO : pour ces 0,9 % de patients, aucun n'avait une vascularite nécrosante primitive, résultats présentés au 16^e Vasculitis&ANCA International Workshop et publié [25, 26].

ANCA et complément

Confirmant les données récentes en faveur d'une activation de la voie alterne du complément [27], nous avons montré que le taux sérique du composant C3 était un facteur prédictif des VAA : un taux inférieur à 120 mg/dL est significativement corrélé à une baisse du composant C4, de la filtration glomérulaire et à un pourcentage élevé de croissants glomérulaires [28].

▶ ANCA anti-pentraxine 3

L'arrivée à Angers de Pascale Jeannin et de Yves Delneste avec la constitution d'une équipe de recherche labellisée (INSERM UI232, équipe 7), orientée sur l'étude des effecteurs de l'immunité innée et à laquelle cinq d'entre nous émargeons, a permis une synergie entre recherche fondamentale et recherche clinique. Cette émulation nous a conduits à identifier une nouvelle cible des ANCA parmi les récepteurs solubles de l'immunité innée, à savoir la pentraxine 3 (PTX3), d'abord chez des patients lupiques [29], puis chez des patients ayant une VAA. Pour les VAA, ces PTX3-ANCA apparaissent comme des marqueurs d'activité prometteurs, notamment chez les patients dépourvus de PR3-ANCA ou de MPO-ANCA [30-32].

▶ Conclusion

Tout au long de ces trente années, nous nous sommes efforcés de partager notre expérience dans des revues générales, lors de congrès [33-38] ou dans le cadre de formations pour biologistes (Bioforma et Bioformation). ■

Liens d'intérêts : Thermofisher Scientific a pris en charge la participation d'Alain Chevailler à la session ANCA organisée par cette société lors de l'International Autoimmunity Congress de Leipzig en 2016. Les autres auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

[1] Davies DJ, Moran JE, Niall JF, et al. Segmental necrotizing glomerulonephritis with anti-neutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br. Med. J.* 1982, 285 : 606.
[2] van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, et al. Antibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985, 1 : 425-429.
[3] Lockwood CM, Bakes D, Jones S, et al. Association of alkaline phosphatase with an autoantigen recognised by circulating anti-neutrophil antibodies in systemic vasculitis. *Lancet*. 1987 Mar 28; 1 (8535):716-20
[4] Chevailler A, Subra JF, Renier G, et al. Detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) by indirect immunofluorescence method. Staining pattern with fresh myeloid granulocytes from patients with chronic granulocytic leukemia (CGL). Communication orale. 2nd International ANCA Workshop. Leiden, Mai 1989.
[5] Chevailler A, Noel LH, Renier G, et al. Determination of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) specificity by immunofluorescence on chronic myelocytic leukemia cells. *J. Immunol. Meth.* 1992, 147: 101-9.
[6] Chevailler A, Taouil K, Carrere F, et al. Détection des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles à spécificité anti-protéinase 3 par immunoeempreintes. *Pathol. Biol.*, 1994, 42: 575-80
[7] Chevailler A, Subra JF, Renier G, et al. Anti-myeloperoxydase antibodies and associated diseases. in "ANCA- associated vasculitides: immunological and clinical aspects" Gross WL (ed) *Adv. Exp. Med. Biol.* 1993, 336: 263-6.

[8] Chevailler A, Subra JF, Renier G, et al. Anti-myeloperoxydase antibodies and silicosis with renal involvement: new association or coincidental event? Communication affichée. 3rd International ANCA Workshop. Washington, Novembre 1990. *Am J Kidney Dis* 1991, 18: 213 (abstract 61)
[9] Chevailler A, Carrere F, Renier G, et al. Silicon nephropathy and myeloperoxydase antibodies. *Ann Rheum Dis*, 1994, 53: 781-2.
[10] Gregorini G, Tira P, Frizza J, et al. ANCA-associated diseases and silica exposure. *Clin Rev Allergy Immunol.* 1997 ; 15, 21-40.
[11] Gómez-Puerta JA, Gedmintas I, Costenbader kh. The association between silica exposure and development of ANCA-associated vasculitis: Systematic review and meta-analysis. *Autoimmunity Reviews* 12 (2013) 1129-1135
[12] Subra JF, Renier G, Reboul P, et al. Lymphopenia in occupational pulmonary silicosis with or without autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2001, 125 : 1-6
[13] Sayegh J, Poli C, Chevailler A, et al. Emergency testing for antineutrophil cytoplasmic antibodies combined with a dialog-based policy between clinician and biologist: effectiveness for the diagnosis of ANCA-associated vasculitis. *Intern Emerg Med.* 2014 Oct 25. [Epub ahead of print]
[14] Poli C, deguigne pa, augusto jf, et al. Evaluation de la pratique en urgence de la recherche des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles. *Revue Francophone des Laboratoires* 2014, 464 bis : 29-35
[15] Bossuyt X, Cohen Tervaert JW, Arimura Y, et al. Position paper: Revised 2017 international consensus on testing of ANCA in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. *Nat Rev Rheumatol.* 2017 Nov;13(11): 683-692.

- [16] Subra JF, Michelet C, Laporte J, et al. The presence of cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies (c-ANCA) in the course of subacute bacterial endocarditis with glomerular involvement, coincidence or association? *Clin Nephrol*. 1998; 49 : 15-8.
- [17] Cohen-Tervaert JW, Huitema MG, Hene RJ, et al. Prevention of relapses in Wegener's granulomatosis by treatment based on anti-neutrophil cytoplasmic antibodies titre. *Lancet* 1990; 336 : 709-711.
- [18] Kerr G.S., Fleisher T.A., Hallahan C.W., et al. Limited prognostic value of changes in antineutrophil cytoplasmic antibody titer in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum*. 1993; 36 : 365-71
- [19] Bergelin A, Subra JF, Carrere F, et al. Place du titrage des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles dans le suivi thérapeutique des patients atteints de vascularite systémique. *Rev Med Interne*. 1993;14(10):1024
- [20] Berlie I, Leboucher B, Leblanc M, et al. Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles au cours de la mucoviscidose. Fréquence et signification. *Arch Pediatr*. 2005 Feb;12(2):140-143.
- [21] Allard L, Giniès JL, Champion G, et al. Auto-anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles en pédiatrie : caractéristiques cliniques. *Arch Pediatr*. 2013 Mar;20(3):232-40.
- [22] Burbán M, Andre C, Chretien P, et al. Clinical significance of ANCA specificity other than proteinase 3 and myeloperoxydase. 4th International congress of autoimmunity, communication orale Budapest 3-7 novembre 2004, *AutoimmunityReviews* 2004, 3, suppl 2 : 45
- [23] Boyer M, Beauvillain C, Jeannin P, et al. Clinical significance of ANCA specificities other than proteinase 3 and myeloperoxydase 7th International congress of autoimmunity, communication affichée Ljubliana, mai 2010
- [24] Boyer M, Chevailler A. Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles de spécificités autres qu'anti-protéinase 3 ou anti-myéloperoxydase: corrélations clinico-biologiques. 6^e colloque GEAI2010. *Revue Francophone des Laboratoires* 2010, 424bis :49-55
- [26] Denommé AS, Lakomy D, Olsson N, et al. Patients positive for both MPO-ANCA and PR3-ANCA do not present idiopathic systemic necrotizing vasculitis. 16th international vasculitis and ANCA workshop, Paris, 14-17 avril 2103, communication
- [20] Denommé AS, Lakomy D, Olsson N, et al. Patients with dual MPO- and PR3-ANCA do not present primary systemic necrotizing vasculitis. *Joint Bone Spine*. 2015 Jul;82(4):292-4.
- [27] Chen M, Jayne DRW, Zhao MH. Complement in ANCA-associated vasculitis: mechanisms and implications for management. *Nat Rev Nephrol*. 2017 Jun;13(6):359-367
- [28] Augusto JF, Langs V, Demiselle J, et al. Low Serum Complement C3 Levels at Diagnosis of Renal ANCA-Associated Vasculitis Is Associated with Poor Prognosis. *PLoS One*. 2016 Jul 8;11(7):e0158871. doi: 10.1371/journal.pone.0158871. eCollection 2016
- [29] Augusto JF, Onno C, Blanchard S, et al. Detection of anti-PTX3 autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Apr;48(4):442-4. Epub 2009 Feb 12
- [30] Simon A, Subra JF, Guilpain P, et al. Detection of Anti-Pentraxin-3 Autoantibodies in ANCA-Associated Vasculitis. *PLoS One*. 2016 Jan 21;11(1):e0147091. doi: 10.1371/journal.pone.0147091. eCollection 2016
- [31] Augusto JF, Poli C, Beauvillain C, et al. Anti-pentraxin antibodies in autoimmune systemic diseases: Focus on anti-pentraxin-3 autoantibodies. *Int Rev Immunol*. 2017 May 4;36(3):145-153
- [32] Garnier AS, Poli C, Subra JF, et al. Anticorps anti-pentraxine au cours des maladies auto-immunes. *Revue Francophone des Laboratoires* 2018, 499 : 30-38
- [33] Chevailler A, Renier G, Subra JF. Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles et maladies associées. *Ann. Med. Interne.*, 1991, 142: 530-42.
- [34] Chevailler A, Carrere F, Renier G. Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles: méthodes de détection, principales cibles antigéniques et maladies associées. *Encycl Med Chir (Elsevier Paris), Appareil locomoteur*, 14-001-L-20, 1997, 4p
- [35] Beauvillain C, Delneste Y, Renier G, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: how should the biologist manage them? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008 35(1-2):47-58.
- [36] Beauvillain C, Jeannin P, Delneste Y, et al. Autoanticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) : cibles antigéniques, méthodes diagnostiques. *EMC Biologie médicale* 2012; 7(2) : 1-14 [Article 90-30-0005-A]
- [37] Beauvillain C, Jeannin P, Delneste Y, et al. ANCA et vascularites: diagnostic et physiopathologie. *EMC Biologie médicale* 2012; 7(2) : 1-13 [Article 90-30-0005-B]
- [38] Chevailler A. ANCA detection : 27 years experience with focus on infection and double positivity (PR3&MPO) ANCA. 10th International congress of autoimmunity, communication orale Leipzig, mai 2016

Autoanticorps anti-MOG

Florian Piques, Pascale Chrétien

Service d'Immunologie Biologie, CHU Bicêtre, 78 rue du Général Leclerc, 94270 Le Kremlin Bicêtre, France.

*Auteur correspondant : pascale.chretien@aphp.fr (P. Chretien).

La myéline oligodendrocyte glycoprotéine (MOG) est une glycoprotéine exclusivement exprimée sur la surface externe de la gaine de myéline au niveau du système nerveux central (SNC) [1]. Cette expression en fait une candidate de choix en tant que cible d'autoanticorps au cours de neuropathies démyélinisantes du SNC [2].

Il est maintenant bien admis que la recherche de ces autoanticorps doit être effectuée à l'aide d'un test « cellulaire », utilisant des cellules transfectées ou transduites exprimant la protéine entière, native à la surface cellulaire [2-3]. Ces techniques permettent ainsi la mise en évidence des anticorps conformationnels seuls pertinents pour le diagnostic des syndromes de démyélinisation [2-3]. Le conjugué de révélation peut se révéler également important. En effet, l'emploi d'un anti-IgG1 a été préconisé par une équipe [4]. Cette différence entre anti-IgG total et anti-IgG1 pourrait expliquer certaines différences de résultats obtenus par les diverses équipes travaillant sur le sujet. Nous avons comparé trois techniques cellulaires de recherche des anticorps anti-MOG : deux utilisant des cellules transfectées de source différentes, par cytométrie en flux, la troisième toujours sur cellules transfectées mais par immunofluorescence indirecte. Trente-six sérums ont été ainsi testés révélant des résultats concordants malgré quelques différences. Ces dernières nous ont conduits à en rechercher plus explicitement les causes.

Les anticorps anti-MOG sont principalement mis en évidence dans les sérums pédiatriques. Ils sont notamment présents au cours d'encéphalite aiguë disséminée et démyélinisante (ADEM) ou au cours de névrite optique rétrobulbaire (NORB) ou bien encore au cours de sclérose en plaques pédiatrique [5-6]. Ils sont en revanche beaucoup plus rarement retrouvés chez l'adulte. Selon les études ils ont été mis en évidence dans 5 à 20% des patients atteints de neuro myélite optique ou maladie de Devic en absence d'anticorps anti-aquaporine 4 (AQP4) [7-8]. Ces deux marqueurs seraient par ailleurs mutuellement exclusifs. Le caractère de moindre sévérité de la neuromyélite optique avec anticorps anti-MOG par rapport à celle présentant des anticorps anti-AQP4 a été remis en question [8]. De même, il semblerait que neuro myélite optique avec

anticorps anti-MOG et neuro-myélite optique avec anticorps anti-AQP4 soient des pathologies différentes, du fait de l'atteinte oligodendrocytaire pour l'une contre une astrocytopathie pour l'autre [7-9].

Si les anticorps anti-MOG restent des marqueurs spécifiques de neuropathies inflammatoires démyélinisantes du système nerveux central (96-100%), leur faible prévalence ne permet pas toujours d'orienter les cliniciens. ■

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Davies DJ, Moran JE, Niall JF, et al. Segmental necrotizing glomerulonephritis with anti-neutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br. Med. J.* 1982; 285 : 606.
- [2] van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, et al. Antibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985, 1 : 425-429.
- [3] Lockwood CM, Bakes D, Jones S, et al. Association of alkaline phosphatase with an autoantigen recognised by circulating anti-neutrophil antibodies in systemic vasculitis. *Lancet*. 1987 Mar 28; 1(8535):716-20
- [4] Chevailler A, Subra JF, Renier G, et al. Detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) by indirect immunofluorescence method. Staining pattern with fresh myeloid granulocytes from patients with chronic granulocytic leukemia (CGL). Communication orale. 2nd International ANCA Workshop. Leiden, Mai 1989.
- [5] Chevailler A, Noel LH, Renier G, et al. Determination of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) specificity by immunofluorescence on chronic myelocytic leukemia cells. *J. Immunol. Meth.* 1992, 147: 101-9.
- [6] Chevailler A, Taouil K, Carrere F, et al. Détection des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles à spécificité anti-protéine 3 par immunoelectrotransfert. *Pathol. Biol.*, 1994, 42: 575-80
- [7] Chevailler A, Subra JF, Renier G, et al. Anti-myeloperoxydase antibodies and associated diseases. in "ANCA- associated vasculitides: immunological and clinical aspects" Gross WL (ed) *Adv. Exp. Med. Biol.* 1993, 336: 263-6.
- [8] Chevailler A, Subra JF, Renier G, et al. Anti-myeloperoxydase antibodies and silicosis with renal involvement: new association or coincidental event? Communication affichée. 3rd International ANCA Workshop. Washington, Novembre 1990. *Am J Kidney Dis* 1991, 18: 213 (abstract 61)
- [9] Chevailler A, Carrere F, Renier G, et al. Silicon nephropathy and myeloperoxydase antibodies. *Ann Rheum Dis.* 1994, 53: 781-2.
- [10] Gregorini G, Tira P, Frizza J, et al. ANCA-associated diseases and silica exposure. *Clin Rev Allergy Immunol.* 1997 ; 15, 21-40.
- [11] Gómez-Puerta JA, Gedmintas I, Costenbader KH. The association between silica exposure and development of ANCA-associated vasculitis: Systematic review and meta-analysis. *Autoimmunity Reviews* 12 (2013) 1129-1135
- [12] Subra JF, Renier G, Rebol P, et al. Lymphopenia in occupational pulmonary silicosis with or without autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2001, 125 : 1-6
- [13] Sayegh J, Poli C, Chevailler A, et al. Emergency testing for antineutrophil cytoplasmic antibodies combined with a dialog-based policy between clinician and biologist: effectiveness for the diagnosis of ANCA-associated vasculitis. *Intern Emerg Med.* 2014 Oct 25. [Epub ahead of print]

Autoanticorps anti-CarP

Thierry Vincent

Laboratoire d'Immunologie, Hôpital Saint-Éloi, CHU et Université de Montpellier, 80 Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier, Cedex 5, France

*Auteur correspondant: t-vincent@chu-montpellier.fr (T.Vincent).

► Introduction

La découverte des autoanticorps dirigés contre les protéines ou peptides citrullinés (anti-citrullinated protein antibodies- ACPA) a représenté une avancée considérable dans le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde (PR) justifiant leur inclusion, en compagnie du facteur rhumatoïde (FR), dans les nouveaux critères de classification ACR-EULAR 2010 de la PR. Cependant, environ un tiers des patients atteints de PR restent négatifs pour ces deux anticorps, soulignant la nécessité d'identifier de nouveaux biomarqueurs permettant d'aider au diagnostic et éventuellement de préciser le pronostic de la maladie [1]. Parmi les candidats potentiels figurent les anticorps dirigés contre les protéines ou peptides carbamylés, appelés anticorps anti-CarP (*anti-Carbamylated Protein*), décrits en 2011 [2].

La carbamylation est une modification post-traductionnelle des protéines induisant la transformation de résidus lysine en homocitrulline, acide aminé dont la structure est proche de celle de la citrulline avec seulement un groupe méthylène supplémentaire (=CH₂). Comme la citrullination, la carbamylation survient en particulier lors d'une inflammation et plusieurs protéines carbamylées (albumine, alpha 1 anti-trypsine, fibrinogène...) sont retrouvées dans l'articulation des patients atteints de PR [3,4]. Contrairement aux ACPA, la présence de l'épitope partagé sur les molécules HLA du patient (HLA DR1/DR4) ne semble pas nécessaire au développement des anticorps anti-CarP mais il favoriserait l'apparition secondaire d'ACPA par dérive épitopique [5,6].

► Principales caractéristiques et intérêts des anticorps anti-CarP

Intérêt diagnostique

Une méta-analyse publiée en 2016 montre que les anticorps anti-CarP sont retrouvés chez les patients

atteints de PR avec une sensibilité moyenne de 42 % (95 % IC, 38 % à 45 %) et une spécificité de 96 % (95 % IC, 95 % à 97 %). Les rapports de vraisemblance positifs et négatifs sont respectivement de 10,2 et 0,61 [7]. Dans trois études récentes portant sur de larges cohortes de patients présentant une arthrite récente, les anticorps anti-CarP ont montré une sensibilité de 34-44 % et une spécificité de 87-95 % pour la PR contre 50-66 % et 91-96 % respectivement pour les anti-CCP2 [8-10]. Ils ont également été identifiés au cours d'autres pathologies auto-immunes comme l'arthrite juvénile idiopathique (8-13 %), l'arthrite psoriasique (3-80 %), le lupus (5-16,8 %) et le syndrome de Sjögren (27-31,1 %) [7,11-16].

Les anticorps anti-CarP apparaissent plusieurs années avant le début de la maladie et permettent de prédire le développement d'une PR chez des patients dès les premières arthralgies [17-19].

Plus intéressant, ils sont retrouvés chez 8 à 24 % des patients atteints de PR sans ACPA ni FR avec toujours une bonne spécificité pour la PR, proche de 90 %. Ils peuvent ainsi aider au diagnostic précoce et à la prise en charge des patients présentant une PR séronégative [5,7,9,10].

Intérêt pronostique

Les anticorps anti-CarP sont associés, comme les ACPA, à des formes actives et agressives de PR [10,20-23]. Alors que les formes sans ACPA sont généralement de meilleurs pronostics, la détection d'anticorps anti-CarP chez certains patients séronégatifs permettrait ainsi d'identifier les patients à risque d'évoluer également vers une forme érosive et destructrice de la maladie et d'instaurer précocement une prise en charge thérapeutique adaptée [2,20,22,23]. À noter que l'étude portant sur la cohorte française ESPOIR ne retrouve l'association entre PR agressive et anticorps anti-CarP que lorsqu'ils sont associés à des anti-CCP et/ou du FR et non pour les anti-CarP isolés [10].

La présence d'anticorps anti-CarP au cours de la PR est également associée à une surmortalité, en particulier d'origine respiratoire [24].



Au cours du lupus érythémateux systémique, ils sont fréquemment associés à une atteinte articulaire et parfois à la présence d'érosions articulaires, inhabituelles au cours de cette maladie [14,25].

► Méthodes de détection

Il n'existe aucune standardisation pour la recherche des anticorps anti-CarP. Ils sont le plus souvent mis en évidence par technique ELISA en utilisant différents substrats carbamylés comme cible antigénique: le plus souvent il s'agit des protéines du sérum de veau foetal carbamylées en présence de cyanate (Car-SVF), mais certaines études ont été menées avec d'autres protéines carbamylées comme le Car-fibrinogène, la Car-vimentine, la Car-albumine...

Malgré la grande homologie de structure entre les protéines citrullinées et carbamylées, les réactions croisées entre ACPA et anti-CarP sont possibles mais semblent rares [2].

À ce jour, aucun kit commercial n'est disponible pour un usage diagnostique.

► Conclusion

Chez les patients atteints de PR, les anticorps anti-CarP sont caractérisés par une bonne spécificité mais pèchent par un défaut de sensibilité, proche de 40%. Ils sont le plus souvent associés aux ACPA mais peuvent également être présents chez certains patients sans ACPA ni FR. Cependant, ici aussi, leur intérêt diagnostique reste limité par leur faible sensibilité, comprise entre 8% et 24% des PR séronégatives. Finalement l'intérêt des anticorps anti-CarP est essentiellement pronostique par leur capacité à identifier les patients à risque de développer des formes agressives et destructrices de PR, qu'ils soient ou non associés à des ACPA et/ou du facteur rhumatoïde. En pratique clinique cependant, la valeur ajoutée des anticorps anti-CarP ne semble pas déterminante par rapport aux ACPA et au FR [9,19,20]. ■

Liens d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Senolt L, Grassi W, Szodoray P, Laboratory biomarkers or imaging in the diagnostics of rheumatoid arthritis? BMC Med 2014;12:49.
- [2] Shi J, Knevel R, Suwannalai P, et al. Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. Proc Natl Acad Sci U S A 2011;108(42):17372-7.
- [3] Turunen S, Koivula MK, Melkko J, et al. Different amounts of protein-bound citrulline and homocitrulline in foot joint tissues of a patient with anti-citrullinated protein antibody positive erosive rheumatoid arthritis. J Transl Med 2013;11:224.
- [4] Dekkers JS, Verheul MK, Stoop JN, et al. Breach of autoreactive B cell tolerance by post-translationally modified proteins. Ann Rheum Dis 2017;76(8):1449-57.
- [5] Jiang X, Trouw LA, van Wesemael TJ, et al. Anti-CarP antibodies in two large cohorts of patients with rheumatoid arthritis and their relationship to genetic risk factors, cigarette smoking and other autoantibodies. Ann Rheum Dis 2014;73(10):1761-8.
- [6] Lac P, Saunders S, Tutunea-Fatan E, et al. Immune responses to peptides containing homocitrulline or citrulline in the DR4-transgenic mouse model of rheumatoid arthritis. J Autoimmun 2017; [Epub ahead of print].
- [7] Li L, Deng C, Chen S, et al. Meta-Analysis: Diagnostic Accuracy of Anti-Carbamylated Protein Antibody for Rheumatoid Arthritis. PLoS One 2016;11(7):e0159000.
- [8] Shi J, van Steenberg HW, van Nies JA, et al. The specificity of anti-carbamylated protein antibodies for rheumatoid arthritis in a setting of early arthritis. Arthritis Res Ther 2015;17:339.
- [9] Regueiro C, Nuno L, Ortiz AM, et al. Value of Measuring Anti-Carbamylated Protein Antibodies for Classification on Early Arthritis Patients. Sci Rep 2017;7(1):12023.
- [10] Truchetet ME, Dublanc S, Barnette T, et al. Association of the Presence of Anti-Carbamylated Protein Antibodies in Early Arthritis With a Poorer Clinical and Radiologic Outcome: Data From the French ESPOIR Cohort. Arthritis Rheumatol 2017;69(12):2292-302.
- [11] Muller PC, Anink J, Shi J, et al. Anticarbamylated protein (anti-CarP) antibodies are present in sera of juvenile idiopathic arthritis (JIA) patients. Ann Rheum Dis 2013;72(12):2053-5.
- [12] Chimenti MS, Triggianese P, Nuccetelli M, et al. Auto-reactions, autoimmunity and psoriatic arthritis. Autoimmun Rev 2015;14(12):1142-6.
- [13] Pecani A, Alessandri C, Spinelli FR, et al. Prevalence, sensitivity and specificity of antibodies against carbamylated proteins in a monocentric cohort of patients with rheumatoid arthritis and other autoimmune rheumatic diseases. Arthritis Res Ther 2016;18(1):276.

- [14] Ziegelsch M, van Delft MA, Wallin P, et al. Antibodies against carbamylated proteins and cyclic citrullinated peptides in systemic lupus erythematosus: results from two well-defined European cohorts. Arthritis Res Ther 2016;18(1):289.
- [15] Scinocca M, Bell DA, Racape M, et al. Antihomocitrullinated fibrinogen antibodies are specific to rheumatoid arthritis and frequently bind citrullinated proteins/peptides. J Rheumatol 2014;41(2):270-9.
- [16] Bergum B, Koro C, Delaleu N, et al. Antibodies against carbamylated proteins are present in primary Sjogren's syndrome and are associated with disease severity. Ann Rheum Dis 2016;75(8):1494-500.
- [17] Shi J, van de Stadt LA, Levarht EW, et al. Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2014;73(4):780-3.
- [18] Shi J, van de Stadt LA, Levarht EW, et al. Anti-carbamylated protein antibodies are present in arthralgia patients and predict the development of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2013;65(4):911-5.
- [19] Gan RW, Trouw LA, Shi J, et al. Anti-carbamylated protein antibodies are present prior to rheumatoid arthritis and are associated with its future diagnosis. J Rheumatol 2015;42(4):572-9.
- [20] Ajeganova S, van Steenberg HW, Verheul MK, et al. The association between anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies and radiographic progression in early rheumatoid arthritis: a study exploring replication and the added value to ACPA and rheumatoid factor. Ann Rheum Dis 2017;76(1):112-8.
- [21] Brink M, Verheul MK, Ronnelid J, et al. Anti-carbamylated protein antibodies in the pre-symptomatic phase of rheumatoid arthritis, their relationship with multiple anti-citrulline peptide antibodies and association with radiological damage. Arthritis Res Ther 2015;17:25.
- [22] Yee A, Webb T, Seaman A, et al. Anti-CarP antibodies as promising marker to measure joint damage and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. Immunol Res 2015;61(1-2):24-30.
- [23] Humphreys JH, Verheul MK, Barton A, et al. Anticarbamylated protein antibodies are associated with long-term disability and increased disease activity in patients with early inflammatory arthritis: results from the Norfolk Arthritis Register. Ann Rheum Dis 2016;75(6):1139-44.
- [24] Vidal-Bralo L, Perez-Pampin E, Regueiro C, et al. Anti-carbamylated protein autoantibodies associated with mortality in Spanish rheumatoid arthritis patients. PLoS One 2017;12(7):e0180144.
- [25] Massaro L, Ceccarelli F, Colasanti T, et al. Anti-carbamylated protein antibodies in systemic lupus erythematosus patients with articular involvement. Lupus 2017;27(1):105-11.

Autoanticorps anti-TRIM21 (SS-A/Ro52)

Maeva Rodriguez, Thierry Vincent*

Laboratoire d'Immunologie, Hôpital Saint-Éloi, CHU et Université de Montpellier, 80 Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier, Cedex 5, France.

Auteur correspondant : t-vincent@chu-montpellier.fr (T.Vincent).

► Introduction

La molécule TRIM21, est la 21^e protéine décrite de la superfamille TRIM (tripartite motif), caractérisée par la présence de domaines Ring, B-box et Coiled coil à son extrémité N-terminale. Les autoanticorps anti-TRIM21 furent décrits pour la première fois en 1988 dans une étude portant sur des patients présentant un syndrome de Gougerot Sjögren. La cible antigénique, d'un poids moléculaire de 52 kDa, semblait interagir avec la protéine SS-A/Ro 60 [1]. Les auteurs conclurent que la protéine cible appartenait très certainement au complexe ribonucléoprotéique SS-A/Ro et la dénommèrent SS-A/Ro52 [1]. Nous savons maintenant qu'il n'en est rien; les protéines SS-A/Ro60 et TRIM21 ont chacune un gène, une structure, une localisation cellulaire et une fonction qui leur sont propres [2-4]. Pour éviter toute ambiguïté nous éviterons de parler de SS-A/Ro52 et recommandons l'usage de la terminologie TRIM21.

TRIM21 est une protéine principalement cytoplasmique. Son expression est augmentée en condition inflammatoire et peut s'accompagner d'une translocation nucléaire [5]. Comme la plupart des membres de la famille TRIM, TRIM21 possède une activité E3 ligase impliquée dans les phénomènes d'ubiquitinylation, en particulier des facteurs de transcription IRF3 (IFN regulatory factor 3), IRF5, IRF7 et IRF8, lui permettant d'intervenir dans la régulation de la synthèse des interférons de type I et de nombreuses autres cytokines inflammatoires. TRIM21 est également capable de se lier au fragment Fc des immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) après leur internalisation dans une cellule. Il s'agit d'un mécanisme de défense antimicrobienne conduisant à l'activation de la cellule et à l'ubiquitinylation de l'antigène reconnu par l'anticorps qui sera ensuite dégradé par le protéasome puis présenté par le CMH-I à la surface de la cellule [6, 7]. L'ensemble de ces propriétés

confère à la molécule TRIM21 une place potentiellement majeure dans la physiopathologie des maladies autoimmunes et du lupus en particulier.

► Intérêt clinique des autoanticorps anti-TRIM21

Intérêt diagnostique

TRIM21 est une des protéines les plus immunogènes de l'organisme [5,8]. Les autoanticorps anti-TRIM21 sont extrêmement fréquents, décrits au cours de diverses maladies autoimmunes mais également chez les sujets sains. On les retrouve en effet de façon significative au cours du lupus érythémateux systémique, du syndrome de Gougerot-Sjögren, des sclérodermies systémiques limitées et diffuses, des myopathies inflammatoires, de la polyarthrite rhumatoïde ou encore des hépatites autoimmunes et de la cirrhose biliaire primitive [9-11]. Les anticorps anti-TRIM21 sont également retrouvés en dehors de contextes autoimmuns comme au cours de viroses ou de diverses néoplasies [12]. Lorsqu'ils sont associés à la présence d'autres autoanticorps, il s'agit le plus souvent de patients atteints de maladies autoimmunes. En revanche, lorsqu'ils sont détectés de façon isolée, très souvent les patients ne présentent aucune maladie auto-immune et les taux sériques d'anticorps sont identiques chez les patients avec ou sans maladie auto-immune [12,13].

Une étude réalisée en 2008 par les CHU de Dijon et d'Angers confirmait l'extrême diversité des contextes cliniques associés à la présence d'anticorps anti-TRIM21 [14]. Nous avons mené une enquête similaire à Montpellier de novembre 2016 à novembre 2017 et abouti à des résultats identiques: parmi les 8340 sérums testés pour recherche d'anticorps antinucléaires (AAN), nous avons mis en évidence des anticorps anti-TRIM21 dans 341 sérums (234 patients), correspondant à 10,3 % des sérums avec AAN positifs (titre \geq 1/160). Ils étaient associés à d'autres autoanticorps chez 207 patients (85 %), et



isolés chez 27 patients (11,5 %). Les anticorps les plus fréquemment associés aux anti-TRIM21 étaient les anticorps anti-Ro60 (présents chez 172 patients sur 207), les anti-SSB (82/207) et les anti-ADN (43/207). Dans ce groupe de patients, les pathologies rencontrées étaient surtout le lupus (81/207 soit 39 %) et le syndrome de Gougerot-Sjögren (50/207 soit 24 %). Le groupe de patients avec anticorps anti-TRIM21 isolés était en revanche très hétérogène avec des patients atteints de syndrome de Gougerot-Sjögren (15 %), de sclérodémie (19 %), de myosites (7 %) et une majorité (55 %) ne présentant aucune atteinte autoimmune.

Au regard de l'extrême diversité des contextes pathologiques, autoimmuns ou non autoimmuns, associés à la présence d'anticorps anti-TRIM21, nous pouvons conclure à l'absence totale de spécificité de cet anticorps ce qui lui enlève tout intérêt diagnostique.

Intérêt pronostique

Malgré l'absence de spécificité diagnostique, les anticorps anti-TRIM21 pourraient dans certains cas permettre de préciser le pronostic et d'anticiper l'apparition de complications. Les atteintes pulmonaires à type de pneumopathie interstitielle diffuse semblent en particulier relativement fréquentes en présence d'anticorps anti-TRIM21, notamment au cours des myopathies inflammatoires, de la sclérodémie ou de la connectivité mixte, qu'ils soient associés à d'autres anticorps comme les anti-ARNt synthétases ou détectés de façon isolée [10,15-20]. Les données de la littérature ne sont cependant pas univoques [9]. Dans notre série de patients, nous avons relevé la présence d'une atteinte pulmonaire interstitielle chez 67 % des patients atteints de sclérodémie avec présence d'anticorps anti-TRIM21.

Au cours du syndrome de Sjögren il semble également que la présence d'anticorps anti-TRIM21 puisse être associée à des formes cliniques particulières avec atteinte musculaire ou hépatique [21].

Au cours de la cirrhose biliaire primitive, la présence d'anticorps anti-TRIM21 semble associée à des formes actives et sévères [22].

Plusieurs études ont également montré que les patients avec anticorps anti-TRIM21 présentaient un risque accru de néoplasie. Selon les séries, lorsqu'ils sont détectés sans anticorps anti-Ro60, les anticorps anti-TRIM21 sont associés à la présence d'un cancer dans près de 20 % des cas [11,13].

Enfin, lorsqu'ils sont présents à taux élevés chez la femme enceinte atteinte de lupus, surtout si elle ne reçoit pas d'hydroxychloroquine, les anticorps anti-TRIM21 sont associés à un risque de bloc auriculoventriculaire (BAV) congénital [23-25]. Dans ce contexte, la valeur prédictive positive des anti-TRIM21 est supérieure à celle des anti-Ro60 mais l'incidence du BAV congénital en présence d'anti-TRIM21 chez la mère reste malgré tout très faible, comprise entre 1 et 5 % [26,27].

Conclusion

Les anticorps anti-TRIM21 font partie des autoanticorps les plus fréquemment détectés au cours de diverses maladies autoimmunes [28]. Certes fréquents au cours du lupus ou du syndrome de Gougerot-Sjögren, ils sont également retrouvés au cours des autres connectivites, de certaines maladies autoimmunes spécifiques d'organes comme les hépatopathies autoimmunes ou encore au cours de viroses ou de cancers mais aussi chez le sujet sain. Cette absence de spécificité rend leur valeur diagnostique plus que discutable [9, 12, 29]. Les anticorps anti-TRIM21 pourraient garder un intérêt pronostique par leur association à certaines situations cliniques particulières comme les atteintes pulmonaires interstitielles ou les cancers mais les données de la littérature sont souvent contradictoires. Les données sont plus consensuelles concernant le risque de lupus et de BAV congénital mais la valeur prédictive des anticorps reste modeste du fait de la rareté de l'atteinte foétale. ■

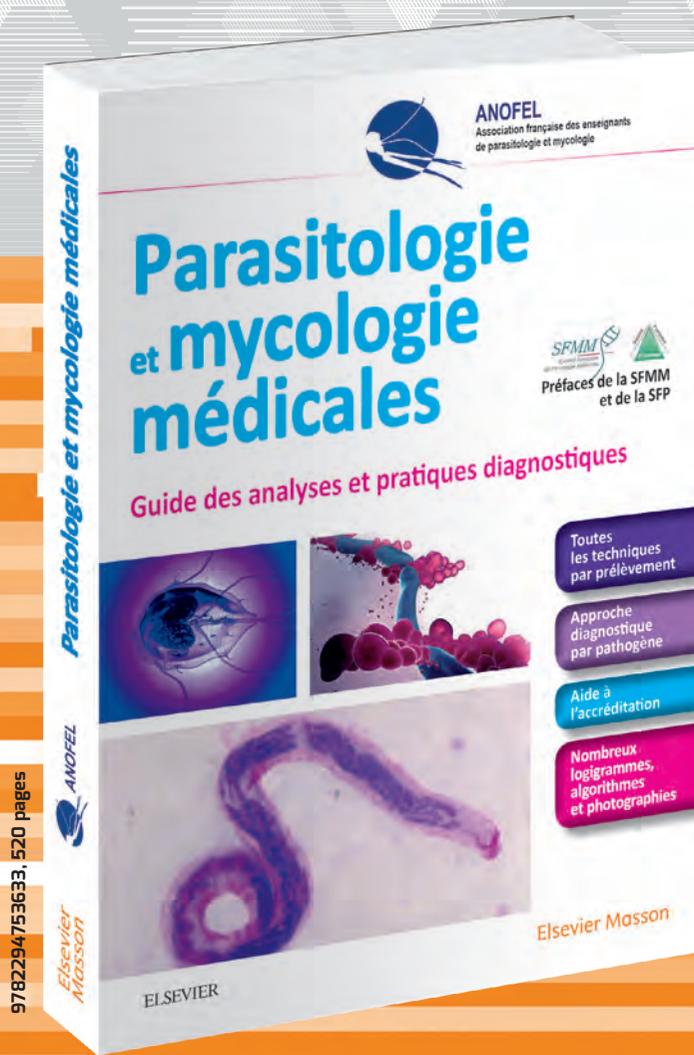
Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Ben-Chetrit E, Chan EK, Sullivan KF, et al. A 52-kD protein is a novel component of the SS-A/Ro antigenic particle. *J Exp Med* 1988;167(5):1560-71.
- [2] Frank MB, Itoh K, Fujisaku A, et al. The mapping of the human 52-kD Ro/SSA autoantigen gene to human chromosome 11, and its polymorphisms. *Am J Hum Genet* 1993;52(1):183-91.
- [3] Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun Rev* 2009;8(7):632-7.

- [4] Yell JA, Wang L, Yin H, et al. Disparate locations of the 52- and 60-kDa Ro/SS-A antigens in cultured human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1996;107(4):622-6.
- [5] Oke V, Wahren-Herlenius M The immunobiology of Ro52 (TRIM21) in autoimmunity: a critical review. *J Autoimmun* 2012;39(1-2):77-82.
- [6] Rhodes DA, Trowsdale J TRIM21 is a trimeric protein that binds IgG Fc via the B30.2 domain. *Mol Immunol* 2007;44(9):2406-14.
- [7] Foss S, Watkinson R, Sandlie I, et al. TRIM21: a cytosolic Fc receptor with broad antibody isotype specificity. *Immunol Rev* 2015;268(1):328-39.

- [8] Burbelo PD, Ching KH, Han BL, et al. Extraordinary antigenicity of the human Ro52 autoantigen. *Am J Transl Res* 2010;2(2):145-55.
- [9] Lee AYS A review of the role and clinical utility of anti-Ro52/TRIM21 in systemic autoimmunity. *Rheumatol Int* 2017;37(8):1323-33.
- [10] Ghillani P, Andre C, Toly C, et al. Clinical significance of anti-Ro52 (TRIM21) antibodies non-associated with anti-SSA 60kDa antibodies: results of a multicentric study. *Autoimmun Rev* 2011;10(9):509-13.
- [11] Murng SHK, Thomas M Clinical associations of the positive anti Ro52 without Ro60 autoantibodies: undifferentiated connective tissue diseases. *J Clin Pathol* 2018;71(1):12-9.
- [12] Hervier B, Rimbert M, Colonna F, et al. Clinical significance of anti-Ro/SSA-52 kDa antibodies: a retrospective monocentric study. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48(8):964-7.
- [13] Menendez A, Gomez J, Escanlar E, et al. Clinical associations of anti-SSA/Ro60 and anti-Ro52/TRIM21 antibodies: Diagnostic utility of their separate detection. *Autoimmunity* 2013;46(1):32-9.
- [14] Lakomy D, Spingart C, Renier G, et al. Intérêt clinique des anticorps anti-TRIM-21 (SS-A/Ro52 kDa) ? *Rev Fr Lab* 2008(404bis):39-44.
- [15] La Corte R, Lo Mo Naco A, Locaputo A, et al. In patients with antisynthetase syndrome the occurrence of anti-Ro/SSA antibodies causes a more severe interstitial lung disease. *Autoimmunity* 2006;39(3):249-53.
- [16] Hudson M, Pope J, Mahler M, et al. Clinical significance of antibodies to Ro52/TRIM21 in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2012;14(2):R50.
- [17] Ferreira JP, Almeida I, Marinho A, et al. Anti-ro52 antibodies and interstitial lung disease in connective tissue diseases excluding scleroderma. *ISRN Rheumatol* 2012;2012:415272.
- [18] Bauhammer J, Blank N, Max R, et al. Rituximab in the Treatment of Jo1 Antibody-associated Antisynthetase Syndrome: Anti-Ro52 Positivity as a Marker for Severity and Treatment Response. *J Rheumatol* 2016;43(8):1566-74.
- [19] Gunnarsson R, El-Hage F, Aalokken TM, et al. Associations between anti-Ro52 antibodies and lung fibrosis in mixed connective tissue disease. *Rheumatology (Oxford)* 2016;55(1):103-8.
- [20] Wodkowski M, Hudson M, Proudman S, et al. Monospecific anti-Ro52/TRIM21 antibodies in a tri-nation cohort of 1574 systemic sclerosis subjects: evidence of an association with interstitial lung disease and worse survival. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33(4 Suppl 91):S131-5.
- [21] Song JS, Do JH, Lee SW The prevalence and the clinical relevance of anti-Ro52 in Korean patients with primary Sjogren's syndrome. *Rheumatol Int* 2011;32(2):491-5.
- [22] Granito A, Muratori P, Muratori L, et al. Antibodies to SS-A/Ro-52kD and centromere in autoimmune liver disease: a clue to diagnosis and prognosis of primary biliary cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26(6):831-8.
- [23] Jaeggi E, Laskin C, Hamilton R, et al. The importance of the level of maternal anti-Ro/SSA antibodies as a prognostic marker of the development of cardiac neonatal lupus erythematosus a prospective study of 186 antibody-exposed fetuses and infants. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(24):2778-84.
- [24] Salomonsson S, Dzikaite V, Zeffer E, et al. A population-based investigation of the autoantibody profile in mothers of children with atrioventricular block. *Scand J Immunol* 2011;74(5):511-7.
- [25] Martinez-Sanchez N, Perez-Pinto S, Robles-Marhuenda A, et al. Obstetric and perinatal outcome in anti-Ro/SSA-positive pregnant women: a prospective cohort study. *Immunol Res* 2017;65(2):487-94.
- [26] Ambrosi A, Wahren-Herlenius M Congenital heart block: evidence for a pathogenic role of maternal autoantibodies. *Arthritis Res Ther* 2012;14(2):208.
- [27] Brito-Zeron P, Izmirly PM, Ramos-Casals M, et al. The clinical spectrum of autoimmune congenital heart block. *Nat Rev Rheumatol* 2015;11(5):301-12.
- [28] Fitch-Rogalsky C, Steber VW, Mahler M, et al. Clinical and serological features of patients referred through a rheumatology triage system because of positive antinuclear antibodies. *PLoS One* 2014;9(4):e93812.
- [29] Lagguth DM, Morris S, Clifford L, et al. Specific testing for "isolated" anti-52 kDa SSA/Ro antibodies during standard anti-extractable nuclear antigen testing is of limited clinical value. *J Clin Pathol* 2007;60(6):670-3.



Parasitologie et mycologie médicales

Guide des analyses et des pratiques diagnostiques

ANOFEL

Association française des enseignants de parasitologie et mycologie

La synthèse la plus à jour et la plus exhaustive sur les techniques d'analyse et les pratiques diagnostiques en parasitologie, mycologie et entomologie médicales.

- **L'identification des pathogènes est facilitée par une riche iconographie issue du fonds ANOFEL.**
- Un **index** permet d'accéder rapidement aux informations recherchées.
- La **démarche diagnostique en fonction du pathogène recherché** grâce à de nombreux tableaux, logigrammes et algorithmes.
- De nombreuses informations utiles, comme les coordonnées des centres de référence et des laboratoires spécialisés dans les pathogènes rares, enrichissent chaque chapitre.
- **Fruit du travail de spécialistes reconnus, sous l'égide de l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (ANOFEL)**



Retrouvez cet ouvrage
en librairie ou sur

www.elsevier-masson.fr/475363



ELSEVIER

Autoanticorps anti-HMG-Coenzyme A réductase

Nicole Fabien

Service d'Immunologie, UF Autoimmunité, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, 69495 Pierre-Bénite Cédex, France.

Auteur correspondant : nicole.fabien@chu-lyon.fr (N. Fabien).

Introduction

Les autoanticorps spécifiques des myosites et myopathies auto-immunes sont des marqueurs biologiques dorénavant intégrés dans la classification de ces pathologies chroniques affectant le muscle squelettique [1,2]. Outre leur intérêt diagnostique, certains anticorps ont également un intérêt pronostique fort. Les anticorps anti-3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A réductase (HMGR) sont principalement décrits chez des patients atteints de myopathies nécrosantes auto-immunes. Leurs caractéristiques en termes d'antigènes cibles ont été décrites dans une précédente revue [3].

Techniques de détection

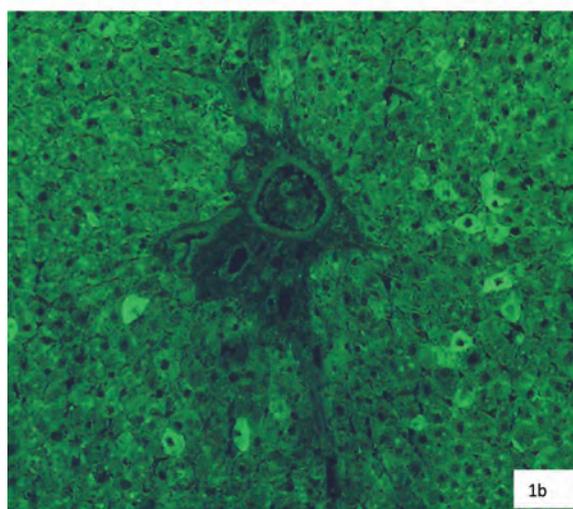
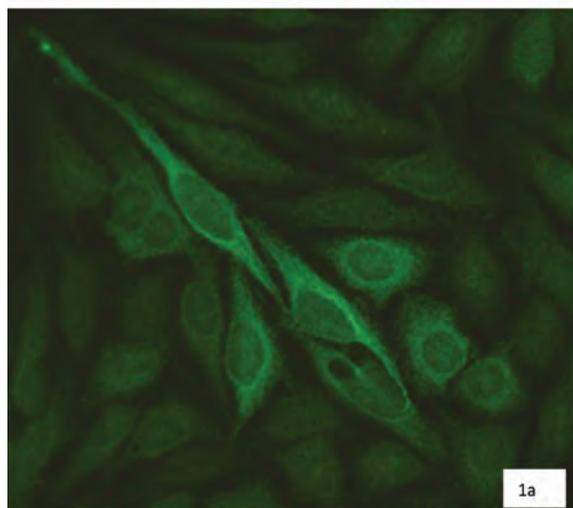
Le dépistage de ces anticorps peut être réalisé par immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEP-2. En fonction de la localisation de son antigène cible, l'aspect théorique détectable en IFI est cytoplasmique (*figure 1a*). Il est à noter que cet aspect n'est pas toujours aussi typique en routine. Par contre nous pouvons aussi utiliser des triples substrats car la fluorescence est typique sur hépatocytes dans la majorité des cas (*figure 1b* et données personnelles) [4]. Les techniques d'identification autres que l'IFI à savoir les techniques de dot ou technique immunoenzymatique de type ALBIA (*adressable laser bead immunoassay*) ou ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) ou en chimioluminescence doivent être réalisées [5,6]. Les techniques de dot, ELISA et en chimioluminescence sont actuellement commercialisées avec une très bonne concordance entre les trois tests [7] (et données personnelles).

Intérêt en clinique

Plusieurs études ont rapporté, chez certains patients traités par des statines, une induction de symptômes musculaires évoluant parfois vers une myopathie nécrosante.

© 2018 – Elsevier Masson SAS
Tous droits réservés.

Figure 1. Dépistage des anticorps anti-HMGR par immunofluorescence indirecte sur cellules HEP-2 (1a) et sur foie de rat (1b).



1a : Fluorescence cytoplasmique uniquement dans quelques cellules en amas (cette fluorescence n'est pas toujours aussi typique en pratique courante)

1b : Fluorescence cytoplasmique dans certains hépatocytes

© N. Fabien



Six à 25 % de ces patients présentent des anticorps anti-HMGCR [8,9]. Ces anticorps sont décrits aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant et une étude récente a démontré leur spécificité élevée [10,11]. Découverts chez des patients ayant été traités par des statines, ces anticorps ont été également détectés chez des sujets exempts de tels traitements correspondant à 1/3 des cas. La recherche des anticorps anti-HMGCR peut être ainsi réalisée même en absence de traitement antérieur par des statines [10-12]. Ces anticorps ont une excellente spécificité de l'ordre de 97 à 99 % selon les cohortes témoins étudiées [13]. Les taux de CPK sont également toujours élevés chez ces patients [10].

Les patients présentent le plus souvent une faiblesse musculaire symétrique et proximale dans plus de 90 % des cas, sévère, aiguë ou chronique, des myalgies fréquentes, des dysphagies et un sex-ratio en faveur des femmes [9,10]. Les atteintes cutanées et pulmonaires sont plus rares. De nombreux cas de cancers associés ont été décrits chez l'adulte sans spécificité particulière pour un organe (sein, rein, mélanome, poumon). Onze pour cent des patients présentant des Ac anti-HMGCR développent un cancer dans les trois ans avant et après le diagnostic; l'incidence de cancer est également supérieure à la population générale [10,14]. D'autres études ne trouvent pas cette corrélation [7].

Des facteurs génétiques de prédisposition existent également, avec le phénotype HLA particulier

DRB1*11:01 [15] et des variants du gène *SLCO1B1* (*solute carrier organic anion transporter family member 1B1*), les homozygotes pour ce variant ayant dix-sept fois plus de risque de développer des symptômes musculaires [16].

L'histologie montre des signes de nécrose et des signes de régénération des fibres musculaires, sans infiltration lymphocytaire [13]. L'apport des biopsies musculaires est fondamental pour tous les diagnostics de myopathie nécrosante autoimmune [17].

Les mécanismes physiopathologiques en cause sont encore mal compris mais une surexpression musculaire de HMGCR dans les cellules musculaires en régénération fréquente dans les myopathies nécrosantes serait impliquée dans l'induction de la synthèse d'anticorps contre cette enzyme [9]. Le rôle pathogène de ces anticorps sur les cellules musculaires avec une atrophie des myotubes a été récemment démontré *in vitro* [18,19].

Conclusion

Malgré leur faible prévalence, la recherche de ces anticorps détectés au cours des myopathies nécrosantes autoimmunes a contribué au diagnostic et pronostic de ces maladies. ■

Liens d'intérêts : l'auteure déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Benveniste O, Dubourg O, Herson S. Nouvelles classifications et physiopathologies des myopathies inflammatoires. *Rev Med Interne* 2007; 28:603-12.
- [2] Troyanov Y, Targoff IN, Tremblay JL, et al. Novel classification of idiopathic inflammatory myopathies based on overlap syndrome features and autoantibodies: analysis of 100 French Canadian patients. *Medicine (Baltimore)* 2005; 84:231-49.
- [3] Fabien N. Les autoanticorps utiles au diagnostic des sclérodermies et myopathies inflammatoires auto-immunes. *Rev Franc Lab* 2010; 424bis:11-21.
- [4] Alvarado-Cardenas M, Marin-Sanchez A, Martinez MA, et al. Statin-associated autoimmune myopathy: A distinct new IFL pattern can increase the rate of HMGCR antibody detection by clinical laboratories. *Autoimmun Rev* 2016; 15:1161-6.
- [5] Drouot L, Allenbach Y, Jouen F, et al. Exploring necrotizing autoimmune myopathies with a novel immunoassay for anti-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase autoantibodies. *Arthritis Res Ther* 2014; 16:R39.
- [6] Musset L, Miyara M, Benveniste O, et al. Analysis of autoantibodies to 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase using different technologies. *J Immunol Res* 2014; 2014:405956.
- [7] Showman O, Gilburd B, Chayat C, et al. Anti-HMGCR antibodies demonstrate high diagnostic value in the diagnosis of immune-mediated necrotizing myopathy following statin exposure. *Immunol Res* 2017; 65:276-81.
- [8] Grable-Esposito P, Katzberg HD, Greenberg SA, et al. Immune-mediated necrotizing myopathy associated with statins. *Muscle Nerve* 2010; 41:185-90.
- [9] Mammen AL, Chung T, Christopher-Stine L, et al. Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum* 2011; 63:713-21.
- [10] Allenbach Y, Drouot L, Rigolet A, et al. Anti-HMGCR autoantibodies in

European patients with autoimmune necrotizing myopathies: inconstant exposure to statin. *Medicine (Baltimore)* 2014; 93:150-7.

[11] Mammen AL. Necrotizing myopathies: beyond statins. *Curr Opin Rheumatol* 2014; 26:679-83.

[12] Kassardjian CD, Lennon VA, Alfugham NB, et al. Clinical Features and Treatment Outcomes of Necrotizing Autoimmune Myopathy. *JAMA Neurol* 2015; 72:996-1003.

[13] Musset L, Allenbach Y, Benveniste O, et al. Anti-HMGCR antibodies as a biomarker for immune-mediated necrotizing myopathies: A history of statins and experience from a large international multi-center study. *Autoimmun Rev* 2016; 15:983-993.

[14] Allenbach Y, Keraen J, Bouvier AM, et al. High risk of cancer in autoimmune necrotizing myopathies: usefulness of myositis specific antibody. *Brain* 2016; 139:2131-5.

[15] Khan S, Christopher-Stine L. Polymyositis, dermatomyositis, and autoimmune necrotizing myopathy: clinical features. *Rheum Dis Clin North Am* 2011; 37:143-58.

[16] Casciola-Rosen L, Mammen AL. Myositis autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24:602-608.

[17] Petiot P, Choumert A, Hamelin L, et al. [Necrotizing autoimmune myopathies]. *Rev Neurol (Paris)* 2013; 169:650-5.

[18] Arouche-Delaperche L, Allenbach Y, Amelin D, et al. Pathogenic role of anti-signal recognition protein and anti-3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase antibodies in necrotizing myopathies: Myofiber atrophy and impairment of muscle regeneration in necrotizing autoimmune myopathies. *Ann Neurol* 2017; 81:538-48.

[19] Allenbach Y, Arouche-Delaperche L, Preusse C, et al. Necrosis in anti-SRP(+) and anti-HMGCR(+) myopathies: Role of autoantibodies and complement. *Neurology* 2018; 90:e507-e517.



Pharmacologie des anti-infectieux

Société française de pharmacologie et de thérapeutique

Collège national de pharmacologie médicale

Sommaire :

I-Généralités. Pharmacologie des anti-infectieux : généralités sur les relations pharmacocinétique-pharmacodynamie.

II-Antibiotiques.

1. Inhibition de la synthèse de la paroi. 1. Bêta-lactamines.
2. Glycopeptides. 3. Fosfomycine. 4. Antituberculeux.
2. Inhibition de la synthèse protéique. 5. Aminosides.
6. Macrolides. 7. Tétracyclines. 8. Oxazolidinones. 9. Acide fusidique.
3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques.
10. Quinolones. 11. Sulfamides antibiotiques.
4. Destruction des membranes bactériennes.
12. Lipopeptides cycliques. 13. Polymyxines.

III-Antifongiques.

14. Antifongiques azolés. 15. Échinocandines.

IV-Antiviraux.

5. Antirétroviraux. 16. Inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse. 17. Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse.
18. Inhibiteurs de protéase. 19. Inhibiteurs d'intégrase.
20. Inhibiteurs de fusion/d'entrée. 21. Antiviraux d'action directe contre le VHC. 22. Anti-Herpesviridae.

- V-Antiparasitaires.** 23. Médicaments antipaludéens.
24. Autres antiparasitaires.

Tout en couleurs, cet ouvrage se présente sous la forme de **fiches détaillées** décrivant, au sein des **quatre grandes catégories d'anti-infectieux** (antibiotiques, antifongiques, antiviraux, antiparasitaires), les **principales classes pharmacologiques** utilisées dans le domaine des pathologies infectieuses.

Pratique, cet ouvrage offre au lecteur les **informations essentielles** pour une vision claire de chaque classe pharmacologique, et les connaissances indispensables **sur leur bon usage selon le contexte physiopathologique du patient**.



Retrouvez cet ouvrage
en librairie ou sur
www.elsevier-masson.fr/475300



ELSEVIER

À propos de la nouvelle nomenclature concernant la recherche des anticorps anti-nucléaires par immunofluorescence indirecte

René-Louis Humbel

Laboratoire Bionext Lab, 2-4 rue du château d'eau, L-3364 Leudelange, Luxembourg.

Auteur correspondant : rlhumbel@pt.lu (RL. Humbel).

L'immunofluorescence indirecte est utilisée depuis 60 ans pour la recherche des anticorps antinucléaires (ANA), initialement réalisée sur des coupes d'organes puis sur des cultures de cellules HEP-2 à partir de 1970. Les cellules HEP-2 étaient à l'origine une lignée cellulaire provenant d'un carcinome laryngé mais celui-ci a été largement contaminé par les cellules Hela provenant d'un cancer de l'utérus. Par conséquent, ce que nous connaissons actuellement sous le nom de cellules HEP-2 sont en réalité des cellules Hela [1].

L'immunofluorescence est la technique de référence pour la recherche des ANA selon les recommandations de l'ACR de 2010 [2]. Les ANA sont classés en fonction de l'aspect de la fluorescence observée, à savoir sa localisation dans la cellule et son apparence ainsi que son intensité. L'aspect observé (le pattern) donne des informations sur la nature possible des antigènes cibles et oriente vers le choix des examens complémentaires permettant de les identifier. La définition de l'image a donc un impact important sur l'interprétation des résultats d'ANA. Cette appréciation nécessite une certaine expérience pour reconnaître les différentes images microscopiques. Des bibliothèques d'images ont été peu à peu constituées et utilisées pour établir des atlas. La classification des images comporte quatre familles se rapportant aux marquages du noyau, du nucléole (**tableau 1**), du cytoplasme (**tableau 2**) et des cellules mitotiques (**tableau 3**). L'aspect de la fluorescence est qualifié d'homogène, de moucheté, de granulaire ou de filamenteux.

Récemment un groupe de spécialistes a proposé une nouvelle nomenclature des ANA dans le but de promouvoir l'harmonisation de la définition des différents aspects d'immunofluorescence indirecte et d'optimiser le rendu des résultats [3].

Ces spécialistes ont estimé que le terme ANA était impropre puisqu'il ne tient pas compte du fait que certains anticorps sont dirigés contre des structures cellulaires autres que le noyau, comme le cytoplasme. Le comité a donc décidé d'utiliser le terme de AC (*anti-Cell*). Il a retenu 29 aspects de fluorescence différents avec une attribution de niveau compétent ou expert. On ne peut qu'être stupéfait par cette nouvelle classification. Conformément à la stratégie conventionnelle, ces nouveaux aspects sont supposés être plus faciles à reconnaître par des personnes « compétentes » par rapport à d'autres aspects uniquement reconnus par des opérateurs ayant atteint le niveau « expert ». Ainsi seuls les « experts » sont aptes à reconnaître les anticorps marquant l'enveloppe nucléaire, les anticorps anti-PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*), les anticorps anti-filaments cytoplasmiques et ceux marquant les cellules en mitose. On constate aussi que cette nomenclature est incomplète car elle ne fait pas état des anti-SRP (*signal recognition particle*). Les anticorps anti-Scl 70 n'y figurent que depuis fin 2017 sous le numéro AC-29. On y relève aussi quelques inexactitudes. Les anticorps anti-MSA3-CENP-F (*mitotic spindle apparatus 3-centromeric protein F*) sont classés dans les PCNA, alors que ceux-ci sont dirigés contre les chromosomes mitotiques avant tout. La rubrique pour les anticorps anti-corps intermédiaire ne tient pas compte des anticorps dits « *anti-passenger proteins* » qui marquent des protéines associées aux chromosomes en début de mitose, et qui se déplacent au niveau du corps intermédiaire après la télophase. Enfin, que va apporter à un prescripteur un résultat d'anticorps anti-AC-5 actuellement appelé anticorps antinucléaire de type moucheté gros grains ?

Mais le problème le plus important qui subsiste sont les différences souvent significatives des aspects de fluorescence en fonction de la préparation des cellules HEP-2 utilisée. Il existe un grand nombre de préparations commerciales qui ne détectent pas

Tableau 1. Tableau comparatif nomenclatures ICAP et classique : anticorps anti-nucléaires

Nouvelle nomenclature ICAP		Nomenclature « classique » (Humbel 1993)*		
Marquage du noyau				
	Marquage	Spécificité	Marquage	Spécificité
AC-1	Homogène Mitoses +	ds DNA, Nucléosome, Histones	Homogène Mitoses +	nDNA, Nucléosome, Histones
AC-2	Moucheté fin et dense Mitoses +	DFS 70/ledgf	Granulaire, grains moyens Mitoses +	DFS 70
AC-3	Centromère Mitoses +	CENP A / B (C)	Ponctué, nombreux grains isolés Mitoses +	Centromère
AC-4	Finement moucheté	SSA, SSB, Mi-2, TIFI, Ku, RNA hélicase Replication protein A	Granulaire grains fins Granulaire fin et dense Très finement granulaire Très finement granulaire dense	SSA SSB Ku, NXP2 Mi-2, TIFI, SAE
AC-5	Moucheté gros grains	hnRNP, U1RNP, Sm, RNA Pol III	Moucheté grains épais Moucheté gros grains irréguliers	Matrice, hnRNP RNP, Sm
AC-6	Multiple dots	Sp100, PAL, MJ/NXP2	Ponctué, nombreux grains isolés	Sp100, PAL
AC-7	Quelques dots	p80 Coilin, SMN	Ponctué, 2-4 gros grains 1 gros grain par noyau accolé au nucléole	p80 Coilin, SMN PTF/OPT
Marquage du nucléole				
AC-8	Nucléole homogène	PMScI 75, PMScI 100, Th/To, B23 Nucléoline, No55 / SC65	Nucléole homogène Nucléole homogène + Noyau finement granulaire	Th/To, Nucléoline, B23 PMScI
AC-9	Nucléole granulaire en motte Mitoses +	U3 snoRNP / fibrillarine	Nucléole-moucheté-granulaire Mitoses +	Fibrillarine
AC-10	Nucléole ponctué	RNA Polymérase I, hUBF/NOR 90	Nucléole granulaire Mitoses=NOR + Nucléole ponctué Mitoses=NOR +	RNA Polymérase I NOR 90
AC-11	Enveloppe nucléaire lisse	Lamines A, B, C, LAP Protéines	Membrane nucléaire homogène	Lamines, LAP
AC-12	Enveloppe nucléaire ponctuée	Complexe du pore nuclear (gp 210)	Membrane nucléaire ponctuée	gp 210, p 58
AC-13	Type PCNA	PCNA	Moucheté pléomorphe, granulaire, nucléolaire Homogène pléomorphe Moucheté, grosses mottes intranucléaires	PCNA Pseudo PCNA 1 Pseudo PCNA 2
AC-14	CENP-F	CENP-F	Noyau granulaire des cellules en G2 Centromère en prophase et métaphase	MSA3 - CENP-F

* D'après [4].



Tableau 2. Anticorps anti-cytoplasmiques.

Nouvelle nomenclature ICAP		Nomenclature « classique » (Humbel 1993)*		
Marquage du cytoplasme				
	Marquage	Spécificité	Marquage	Spécificité
AC-15	Filaments cytoplasmiques linéaires	Actine, Myosine non musculaire	Longs filaments droits	F Actine
AC-16	Filaments cytoplasmiques fibrillaires	Vimentine, cytokératine	Filaments enchevêtrés	Vimentine
AC-17	Filaments cytoplasmiques segmentaires	Alpha Actinine, Vinculine, Tropomyosine	Filaments fins longs et courts nombreux Fuseau mitotique + Épines cytoplasmiques périmoléaires	Tubuline Vinculine
AC-18	Dots cytoplasmiques discrets	SGW182, Su/Ago2, Ge-1	Grains isolés gros (phase S/G2) petits (phase 0)	Corps P
AC-19	Cytoplasme moucheté corsé fin et dense	PL 7, PL 12, Ribo P	Très finement granulaire, grains fins très denses	PL 7, PL 12, EJ, HA ZO, SRP, Ribo P
AC-20	Cytoplasme finement moucheté	Jo1	Finement granulaire, petits grains très nombreux	Jo1
AC-21	Cytoplasme réticulé /AMA	Complexe PDC: PDC-E2/M2 BCOADC-E2, OGDC-E2 E1 α subunit of PDC E3BP / protein X	Granulaire, nombreux gros gains en réseau filamenteux	Mitochondrie
AC-22	Polaire, type Golgi	Golgin Giantin / Macroglon golgin-95/ GM130, golgin-160 golgin-97, golgin-245	Inclusion cytoplasmique en croissant périmoléaire Granulaire, périmoléaire	Ap. de Golgi Réticulum endoplasmique
AC-23	Rods (Tiges) et anneaux	IMPDH2 et autres	Inclusions cytoplasmiques, rondes et bâtonnets	Nématine

* D'après [4].

Tableau 3. Cellules mitotiques.

Nouvelle nomenclature ICAP		Nomenclature « classique » (Humbel 1993)*		
	Marquage	Spécificité	Marquage	Spécificité
AC-24	Centrosome	Péricentrine, ninein, Cep250, Cep110, enolase	Un gros grain à chaque pôle du fuseau mitotique combiné à un gros grains isolé cytoplasmique périmoléaire	Centrosome Centriol
AC-25	Fibres du fuseau	HsEg5	Pôles du fuseau mitotique en triangle Pôle du fuseau mitotique large et filaments, cytoplasme filamenteux	NUMA 2 Tubuline
AC-26	Type NUMA	Centrophiline	Pôles du fuseau mitotique en triangle Noyaux des cellules en interphase granulaire dense	NUMA 1
AC-27	Pont intercellulaire	Aurorakinases, MSA2, CENP-E, KIF 14, MKLP 1	Noyau granulaire des cellules en phase G2 Chromosome en prophase/métaphase Corps intermédiaire en télophase/ cytokinèse Centromère en prophase/métaphase Corps intermédiaire en télophase/ cytokinèse Corps intermédiaire en télophase/ cytokinèse	MSA2 CENP-E MKLP 1 KIF 14
AC-28	Manteau chromosomique mitotique	Histone 3 modifiée, MCA-1	Chromosomes mitotiques en prophase /métaphase	MCA 1-5
AC-29	Scl 70	Topoisomérase I	Noyau granulaire, périmoléaire, Mitoses +	Scl 70

* D'après [4].



10^e Colloque Geai 2018

toutes les spécificités d'anticorps avec la même sensibilité. Les conditions de culture cellulaire, la fixation et la perméabilisation des cellules sont donc des étapes cruciales. Celles-ci sont essentielles car la disponibilité des épitopes et la distribution des antigènes peuvent subir des changements considérables et, par conséquent, donner des images différentes suivant le type de préparation.

Peut-être faudrait-il d'abord standardiser la fabrication des cellules HEP-2 afin d'obtenir un meilleur consensus des aspects de fluorescence avec les différents anticorps ? ■■

Liens d'intérêts : L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

[1] La vie immortelle d'Henrietta Lacks. Skloot R.ed Calman-Levy, Paris 2011

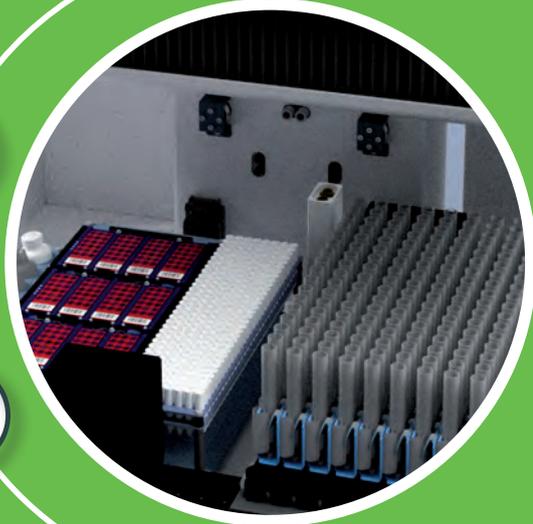
[2] American College of Rheumatology. American College of Rheumatology position statement: methodology of testing for antinuclear antibodies.pp. 1-3,2009, <http://www.rheumatology.org/>

[3] Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEP-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol.*2015 Aug 20;6:412. doi: 10.3389/fimmu.2015.00412.eCollection 2015

[4] OptionBio 1993 supplément N° 8

Automatisez vos lames HEp-2000[®], ANCA, Endomysium, Triple substrat^{1,2}

NOUVEAU PRÉPARATEUR



320 SX

HAUTE CAPACITÉ

- Jusqu'à 12 lames et 160 échantillons

TRACABILITÉ

- Lecture code à barres de tous les réactifs

RAPIDE

- 2 Doubles aiguilles

NOUVELLE VERSION DU LECTEUR AUTOMATISÉ



Image Navigator[®]

OPTIMISE LE FLUX DE TRAVAIL

- Jusqu'à 8 lames de 21 puits d'HEp-2000[®]
- Rapide : 30" par puits pour les cellules et 3' pour les tissus³
- Validation des négatifs et des contrôles en « 1 clic »

FACILITE LE RENDU DES RÉSULTATS

- Aide à l'interprétation
- Historique patient
- Estimation du titre

1. HEp-2000[®] ANA, Lames d'œsophage de singe, Triple Substrat de rat.
 2. Se référer au paragraphe « Performances » de la fiche technique.
 3. Se référer au paragraphe « Numérisation des lames » du manuel d'utilisation.

HTZ (320 SX), NEXUS (Image Navigator[®], «IN») et ImmunoConcept (HEp-2000[®], ANCA, Endomysium, Triple Substrat)
 L'IN et les réactifs sont des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, et sont des produits de santé réglementés qui portent le marquage CE. A destination des professionnels de santé.

Lire attentivement les instructions figurant sur les notices d'utilisation.

Code NABM : HEp-2000[®] (1453), ANCA (1462), Endomysium (1830 et 1831) et Triple Substrat (1465).

EUR0518-AIM01