



La recherche des anticorps anti-tissus et spécifiques d'organes

RS HÔPITAUX
ROBERT
SCHUMAN

www.hopitauxschuman.lu

8 Décembre 2016

Les jeudis de Fleurus

Dierge Laurine, Ph biologiste



SOMMAIRE

1. Introduction
2. Les principaux autoanticorps anti-tissus

Introduction : autoimmunité

- Développement d'une réponse de **l'immunité adaptative** contre des antigènes du soi. Présence de lymphocytes autoréactifs avec production d'**auto-anticorps**
- Lorsqu'il y a **rupture de tolérance**, la réaction immunitaire est amplifiée pouvant donner lieu à une MALADIE auto-immunitaire → chronicité ou récurrence
- **Maladies autoimmunes** = plus d'une centaine d'affections, souvent chroniques nécessitant une surveillance longue et un traitement complexe

Introduction : autoimmunité

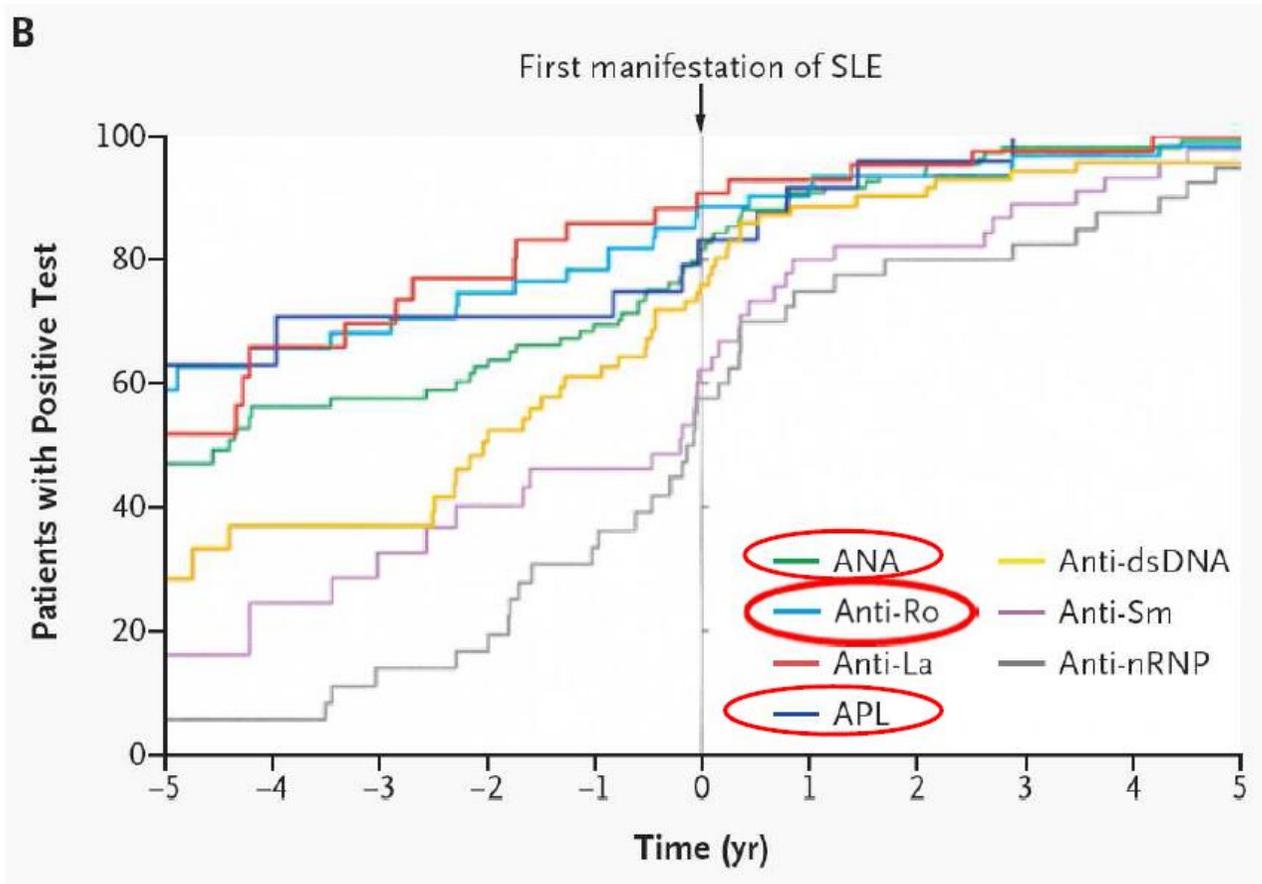
- 5% à 7% de la population atteinte des pays industrialisés (la fréquence est probablement sous-estimée).
Augmentation de l'incidence au cours du temps
- 3^{ème} cause de morbidité dans les pays développés
- Plus fréquent chez les **femmes** que les hommes (75><25%)
- Les autoanticorps sont des **biomarqueurs** utiles au diagnostic des maladies autoimmunes

Introduction : autoimmunité

- Les autoanticorps peuvent être des **marqueurs précoces** d'une pathologie à venir
- Le **suivi du taux d'anticorps** peut dans certains cas être corrélés à l'évolution de la maladie et à la gravité de l'état clinique du patient (ex DsDNA dans le lupus)
- S'il n'y a pas de spécificité antigénique identifiée pour l'auto-réactivité, on parle de **maladies auto-inflammatoires**

Introduction : autoimmunité

Auto-anticorps qui prédisent la survenue du LED



Initiation de la production d'anticorps contre des auto-antigènes → auto-anticorps souvent détectés avant la maladie

Introduction : maladies autoimmunes

- **Systemiques** (atteintes simultanée de plusieurs organes = connectivites)
- **Spécifiques d'un organe**
- **Syndrome de chevauchement**

Systemiques (non spécifiques d'organes)

- **Polyarthrite rhumatoïde** (articulations)
- **Lupus érythémateux disséminé** (certaines articulation, peau, reins)
- **Maladie de Sjögren** (glandes exocrines)
- **Sclérodermie, Sclérose progressive systémique** (peau)
- **Polymyosite/dermatomyosite** (muscles)
- **Vascularites** (vaisseaux)

Spécifiques d'organes (1)

- **Estomac** : *Anémie de Biermer, Gastrite autoimmune*
- **Foie** : *Hépatite Autoimmune, CPB*
- **Intestin** : *Maladie cœliaque, Crohn, RCHU*
- **Jonction neuromusculaire**: *Myasthénie*
- **Nerf** : *neuropathie périphérique*
- **Pancréas** : *Diabète insulinodépendant (type 1)*

Spécifiques d'organes (2)

- **Peau**: *Pemphigus, psoriasis, vitiligo*
- **Rein**: *Syndrome de Goodpasture*
- **Surrénales** : *Maladie d'Addison, maladie de Cushing*
- **Systeme nerveux**: *Sclérose en plaque*
- **Thyroïde**: *Maladie de Basedow, thyroïdite d'Hashimoto*



SOMMAIRE

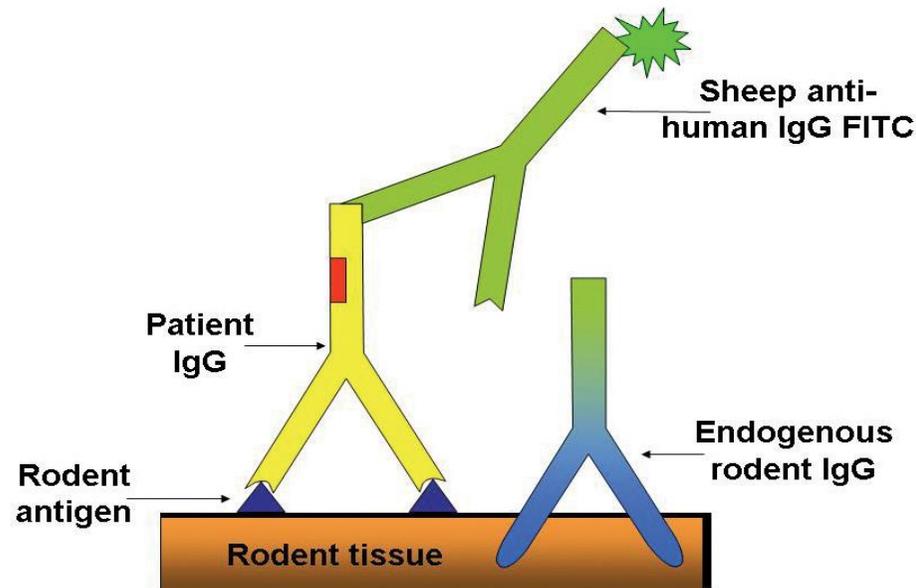
1. Introduction
2. Les principaux autoanticorps anti-tissus

Les autoanticorps anti-tissus

- **Choix de l'organe**
 - AC non spécifiques d'organes → coupe de rein, foie, estomac
 - AC spécifiques d'organes → organe particulier
- **Coupe de l'organe**
 - Les différentes couches doivent être présentes
 - (ex : rein : de la médullaire à la corticale)
- **Choix de l'antiglobuline ou du conjugué**
 - Antiglobuline polyvalente (IgG, IgM, IgA)
 - anti-IgG détectant les chaînes lourdes et légères (les autoanticorps sont habituellement des IgG)

Les autoanticorps anti-tissus

- Choix de l'espèce
 - Les AC non spécifiques d'organes n'ont pas de spécificité d'espèce et peuvent être recherchés sur des tissus de rongeurs (rat ou souris)



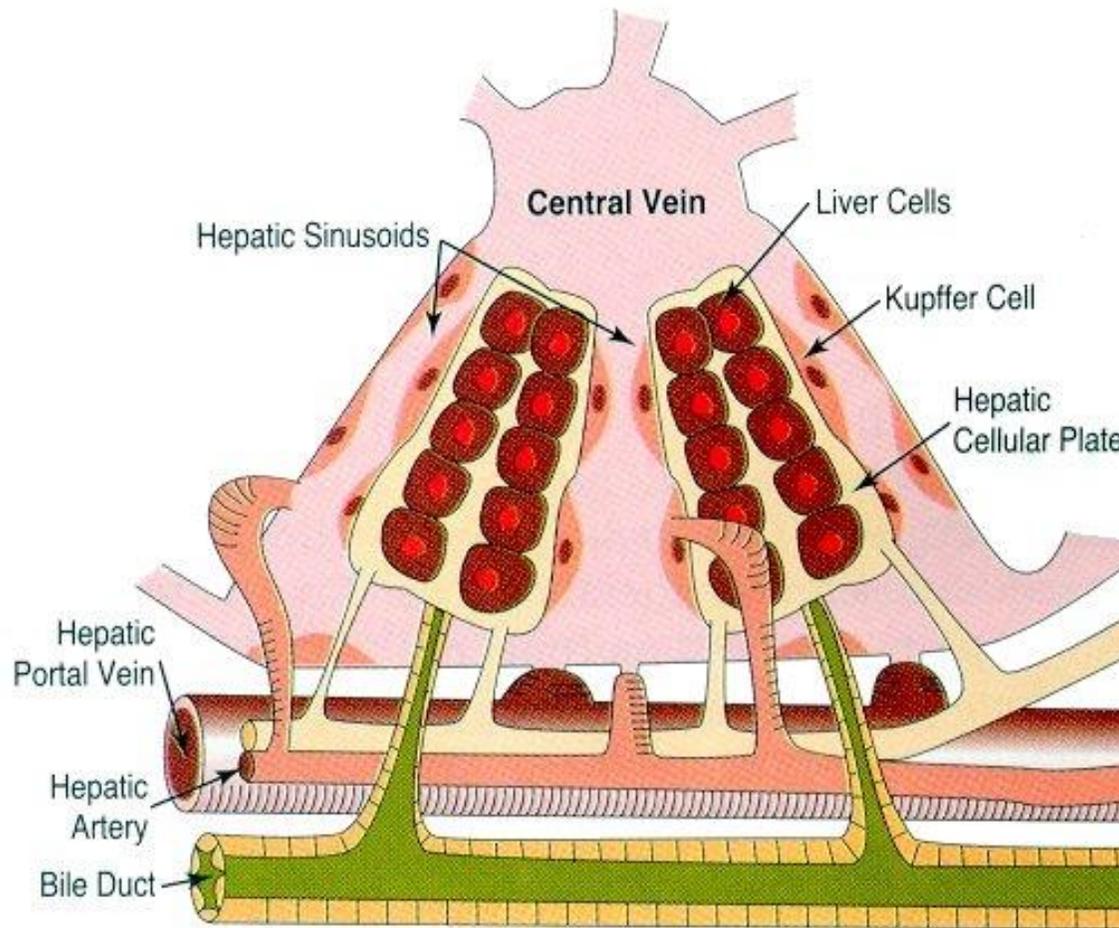
- L'antigène du rongeur (▲) est similaire mais pas identique à l'antigène humain. Ceci peut parfois entraîner un manque de sensibilité (certains autoac ne seraient pas reconnus)

SR

S

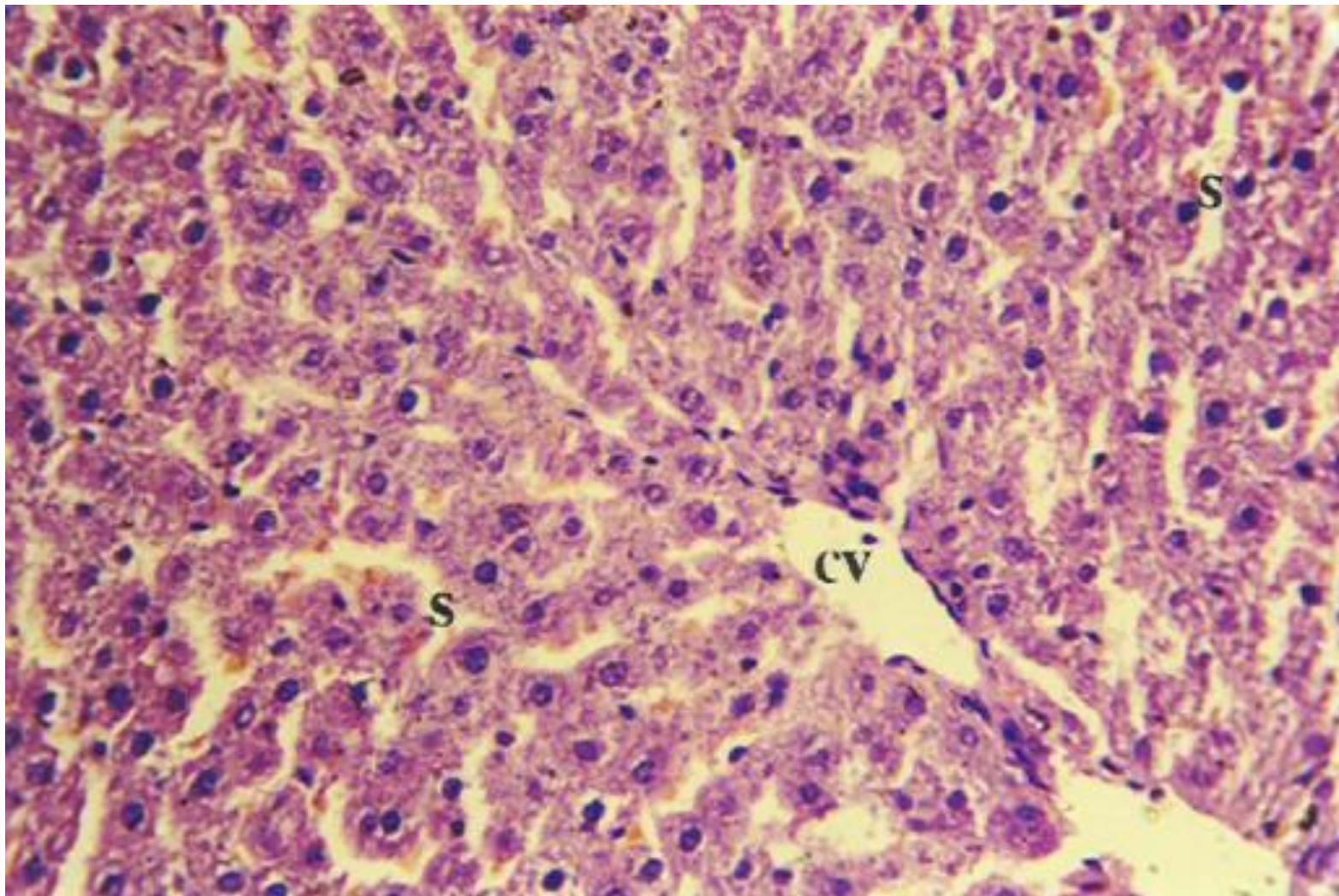
Les autoanticorps anti-tissus

- La **localisation** précise de la fluorescence au niveau des différentes structures tissulaires permet d'avoir des renseignements sur la **nature** des antigènes reconnus, ce qui nécessite une connaissance de l'**histologie** des différents tissus

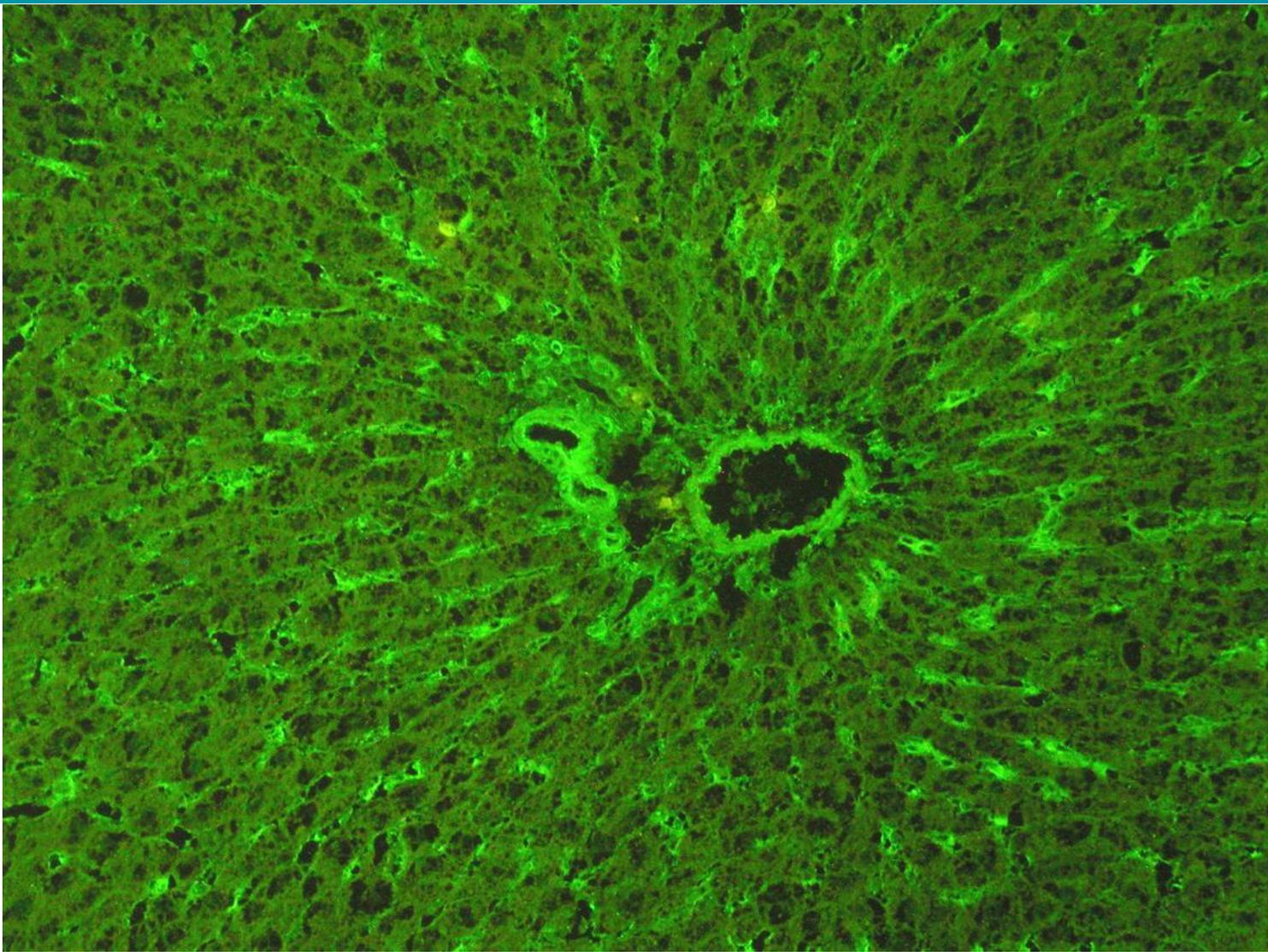


A LIVER LOBULE

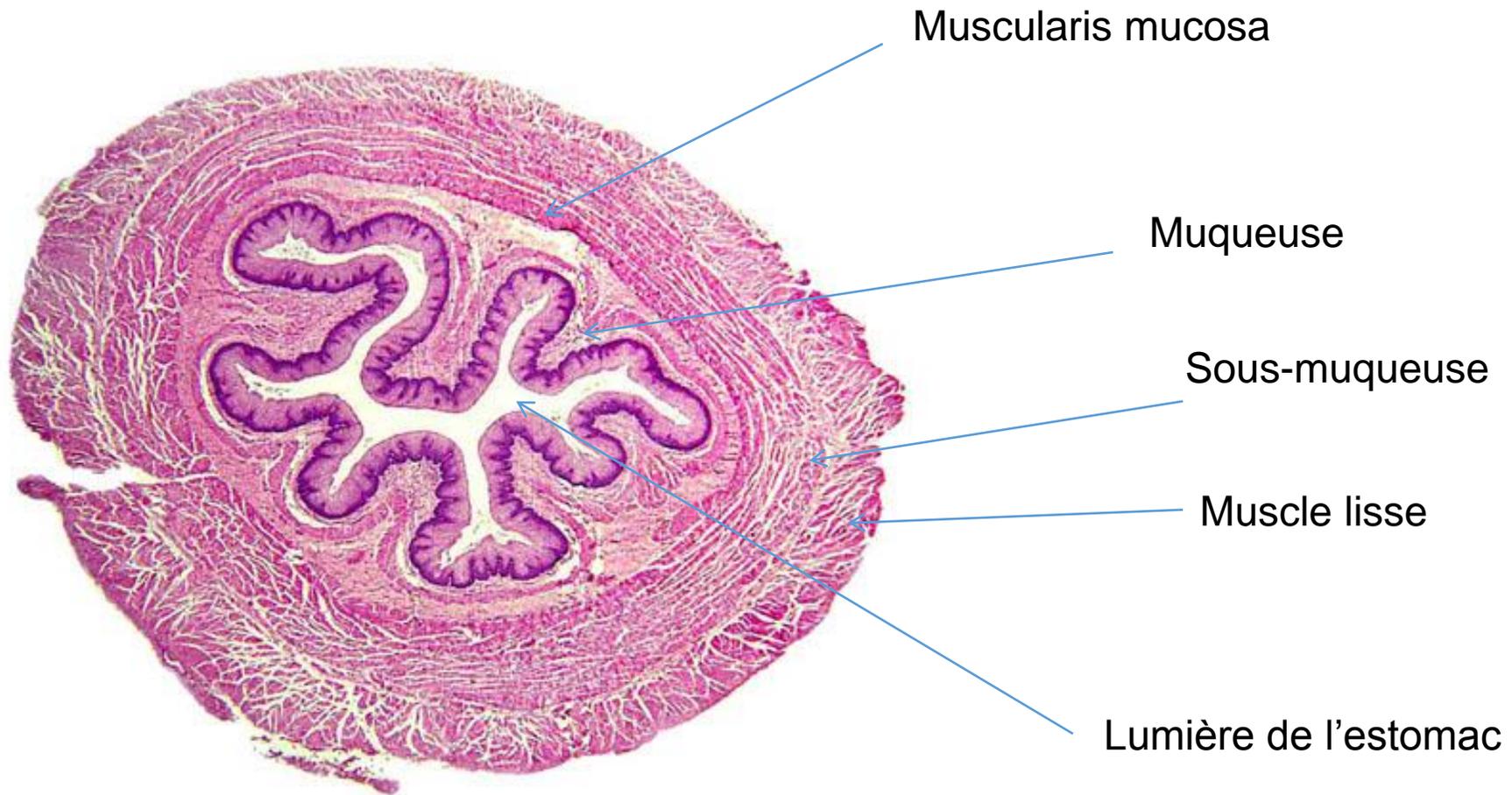
FOIE



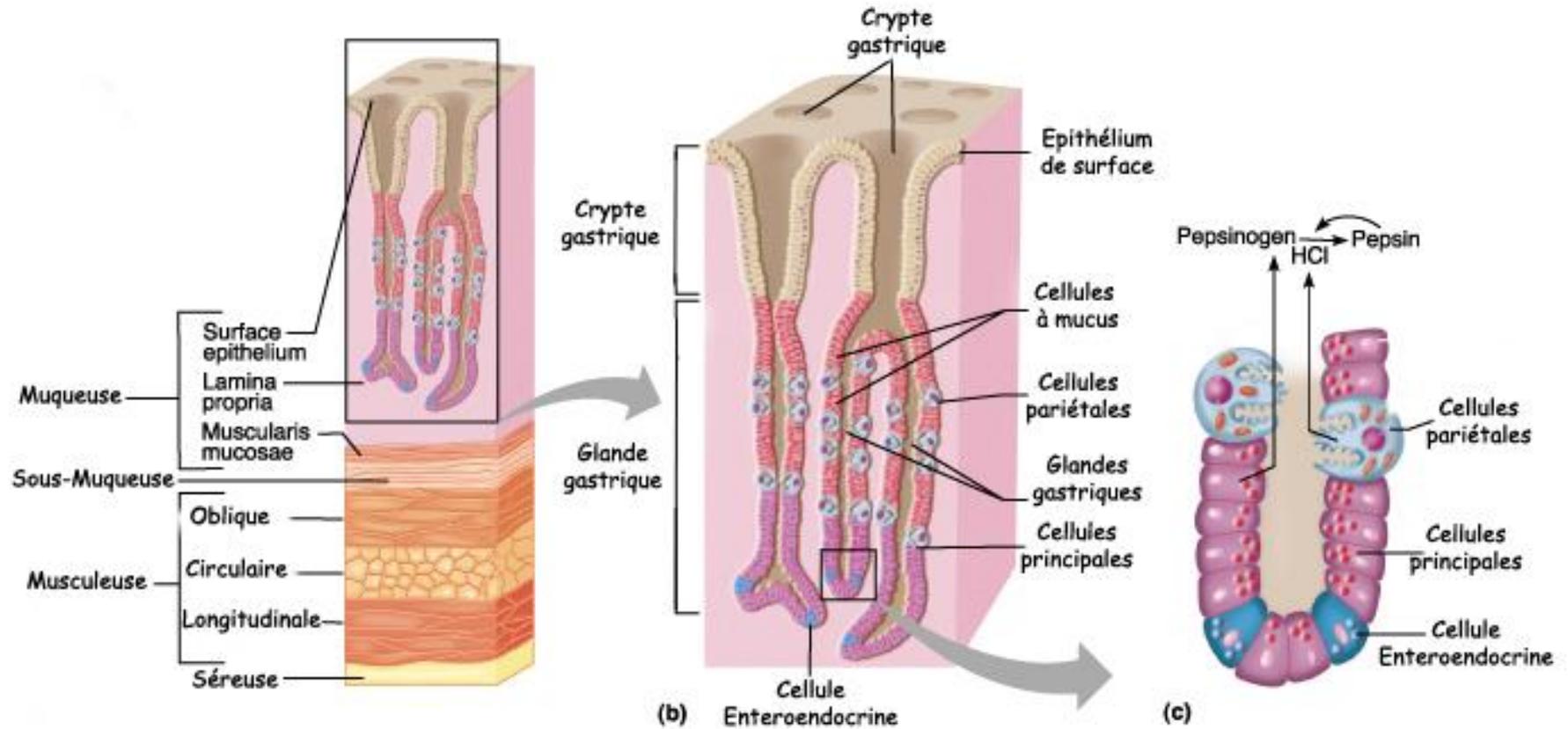
FOIE



ESTOMAC

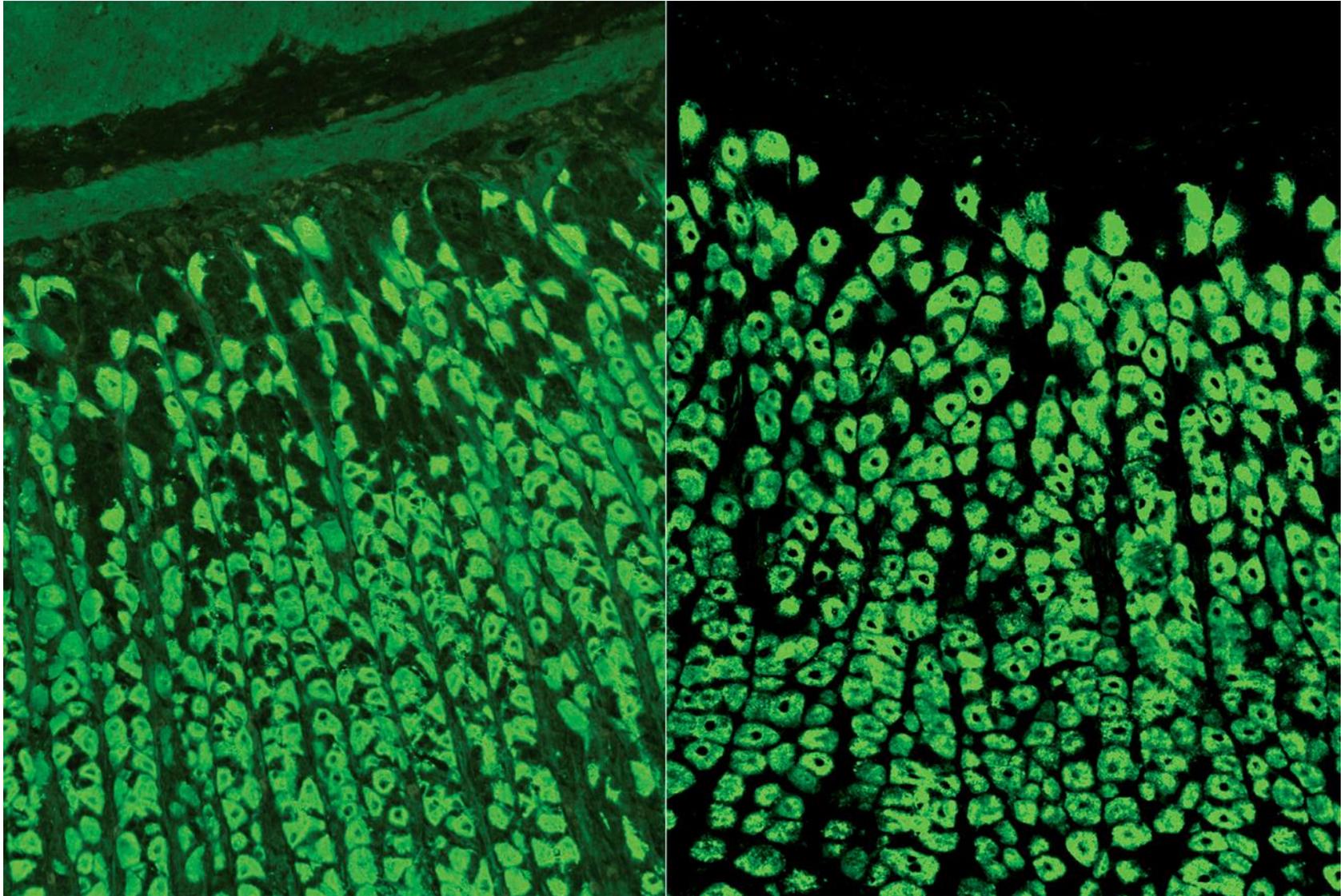


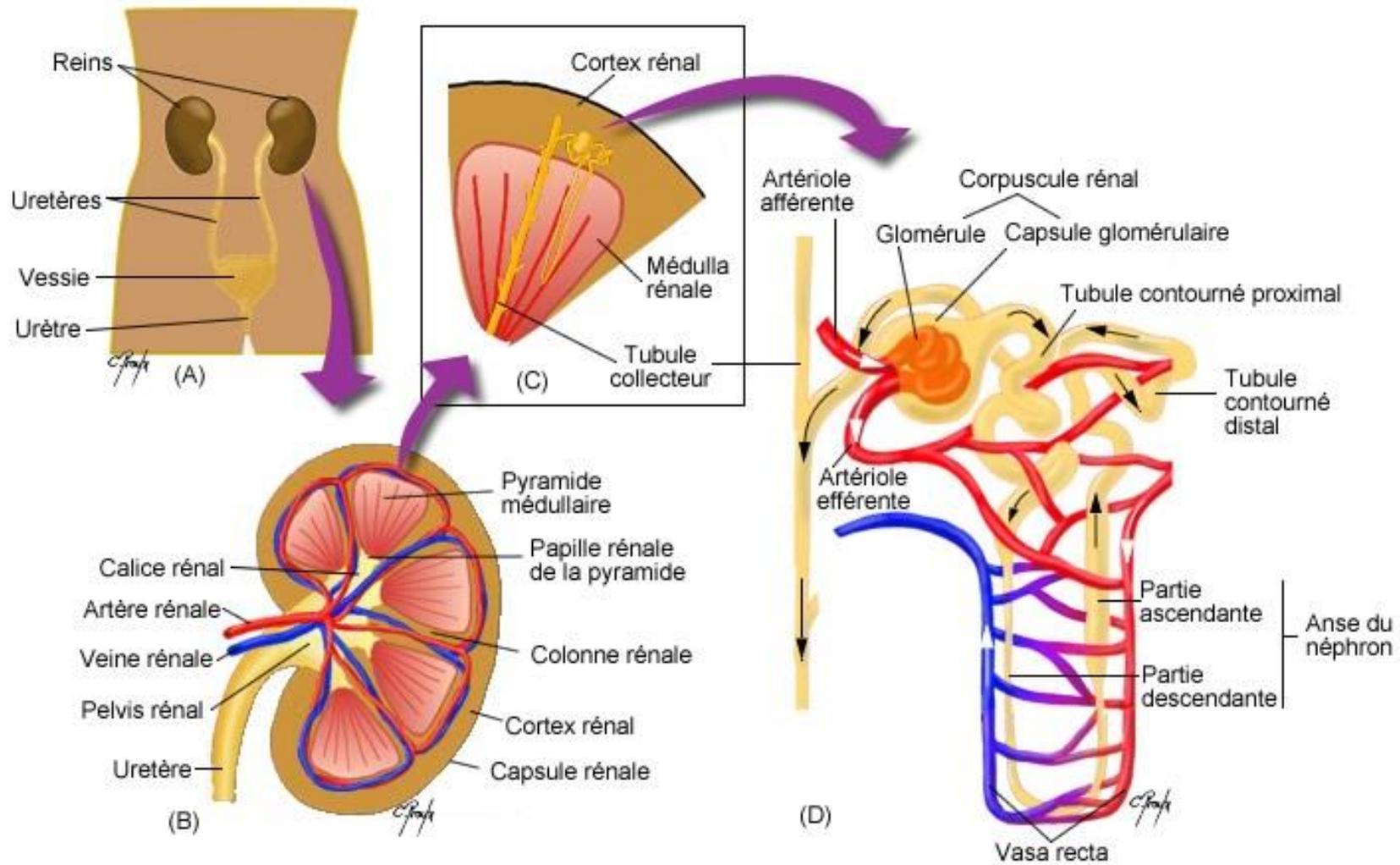
ESTOMAC

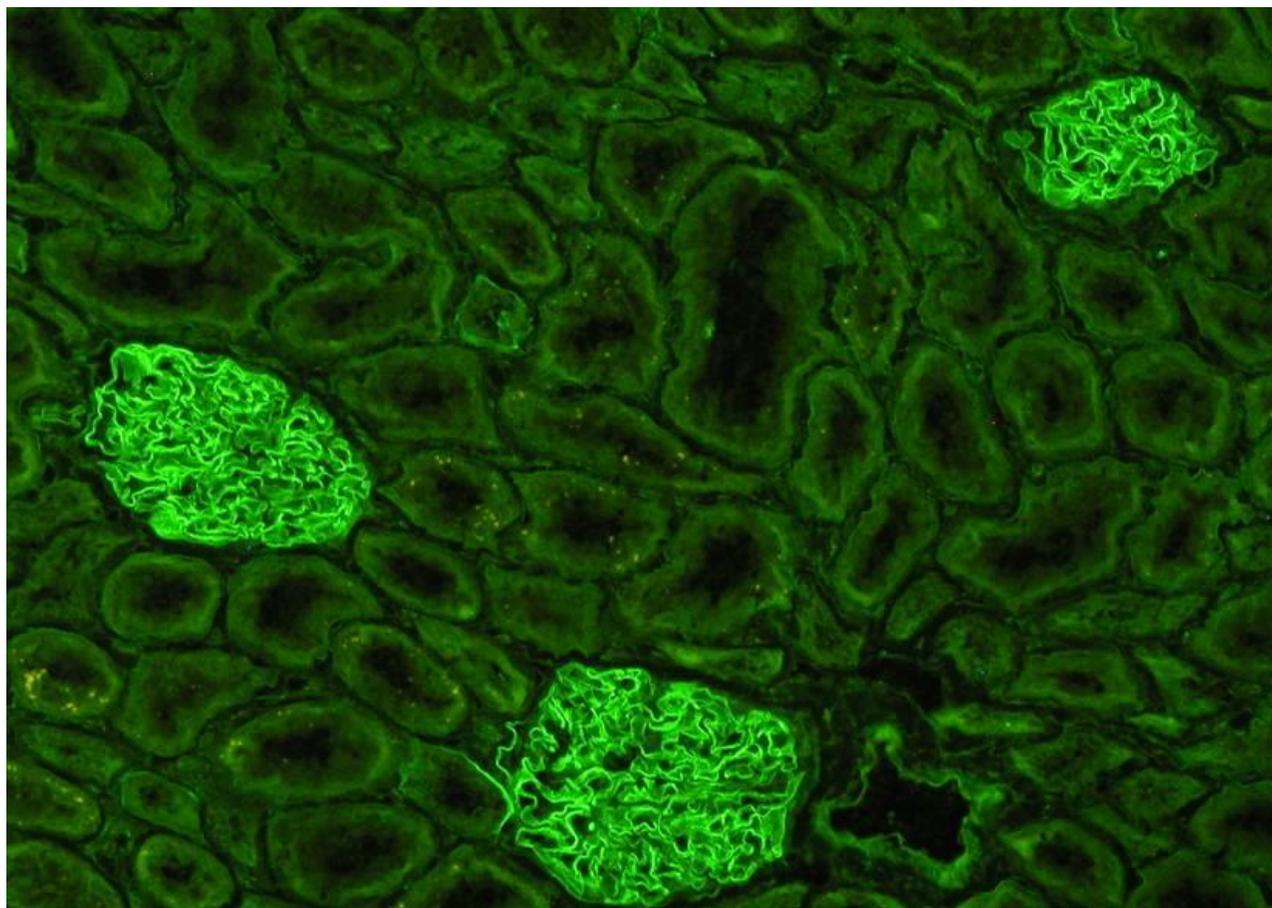


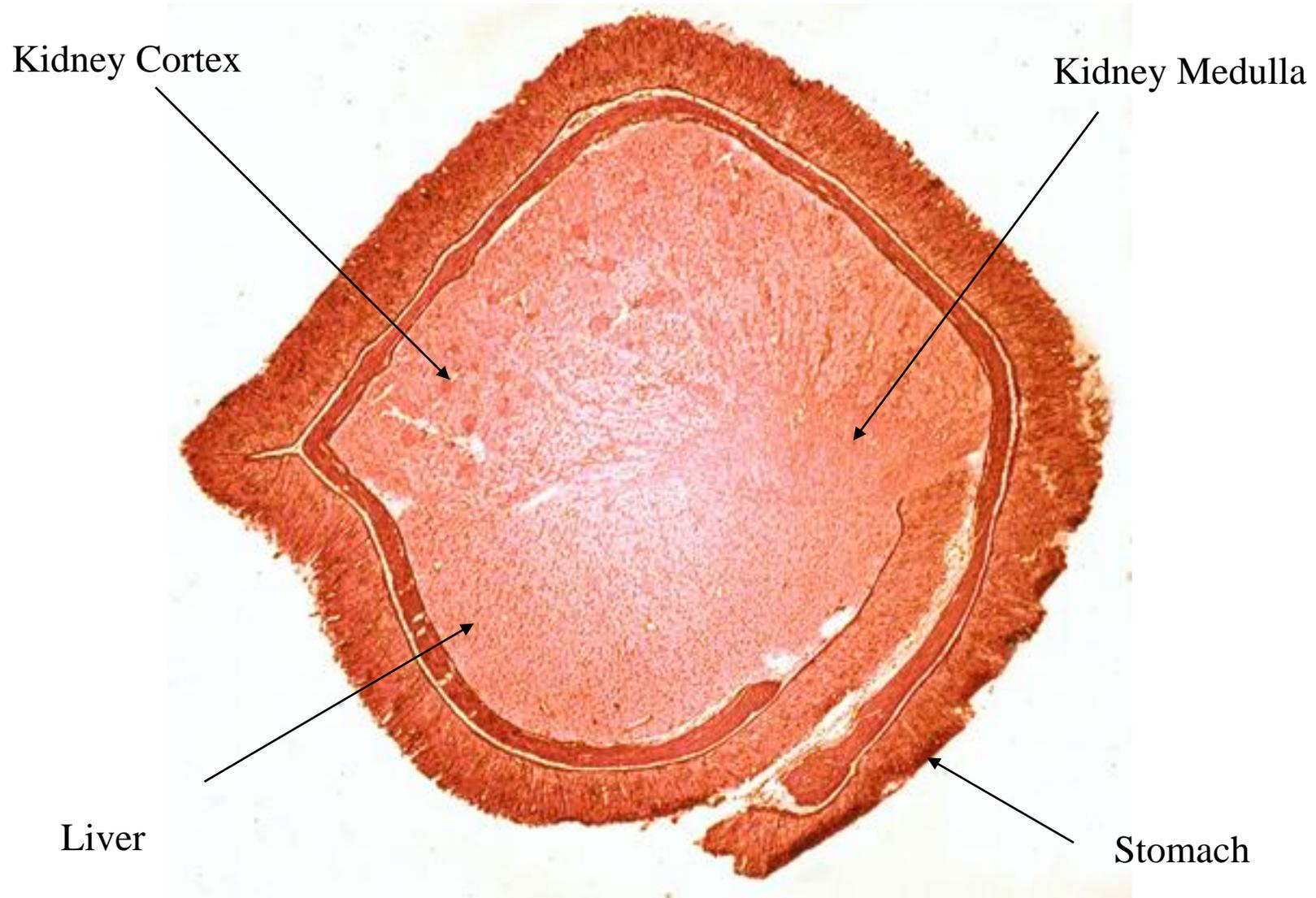
Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

ESTOMAC (Cellules pariétales de RAT et de SINGE)









Coupe de ESTOMAC-FOIE-REIN

- Que recherche-t-on par IIF sur ces coupes de tissus de rongeurs?
 - HAI : Hépatite Autoimmune → anti-ASMSA, anti-LKM, anti-LC1
 - CBP: Cholangite Biliaire Primitive → anti-AMA
 - Gastrite autoimmune et anémie pernicieuse → CP

Hépatites auto-immunes : HAI

- Origine des hépatites chroniques actives:
 - Hépatites auto-immunes: 5%
 - Hépatites médicamenteuses :1%
 - Infection virale < HCV: 50%
 - Infection virale < HBV: 40%
- HAI: Manifestations cliniques variables, souvent insidieuses et non spécifiques chez les adultes
- 25% découvertes par hasard de tests hépatiques perturbés, patients asymptomatiques souvent évolution subclinique depuis des années
- 30-40% : début mimant une hépatite aigüe

HAI

- Maladie rare (50-200 cas/million), affecte principalement les **femmes** (80%)
- 2 types : **HAI-1** et **HAI-2**
- Clinique : **hétérogène** allant de la maladie asymptomatique à l'hépatite ictérique jusqu'à l'hépatite fulminante + symptômes non spécifiques tels que prurit, asthénie, malaise, anorexie, nausée, douleurs abdominales, arthralgies,...
- Pathogénèse inconnue : **perte de tolérance** contre les tissus hépatiques et prédisposition génétique (HLA A1, Cw7, B8, DR3, DR4)
- Terrain **dysimmunitaire** avec thyroïdite, RCUH, diabète, connectivite, CBP, PSC...

HAI

- Anticorps: Nature auto-immune de l'affection et classification

HAI-1		HAI-2	
<p>AC anti-nucléaire :</p> <ul style="list-style-type: none"> Anti-dsDNA Anti-RNP Anti-centromères Anti-Histones Souvent spécificité non identifiées Parfois pANCA atypique 	15%	Anti-LKM	70%
AC anti-muscle lisse type F-actine	50-80%	Anti-LC1	10%
ANA + anti-ASMA	50%	Anti-LKM + LC1	20%
Anti-SLA/LP : (très spécifiques et de mauvais pronostic)	10-30%		
Tout âge Sévérité variable		Surtout enfants et jeunes adultes Souvent sévère	

- Critères internationaux de diagnostic des HAI

International autoimmune hepatitis group revised diagnostic scoring system.

Parameter	Feature	Score
Sex	Female	+2
ALP: AST (or ALT) ratio	>3	-2
	1.5-3	0
	<1.5	+2
Serum globulins or IgG (times above normal)	>2.0	+3
	1.5-2.0	+2
	1.0-1.5	+1
	<1.0	0
ANA, SMA or anti-LKM-1 titres	>1:80	+3
	1:80	+2
	1:40	+1
	<1:40	0
AMA	Positive	-4
Viral markers of active infection	Positive	-3
	Negative	+3
Hepatotoxic drug history	Yes	-4
	No	+2
Average alcohol	<25 g/day	+2
	>60 g/day	-2
Histological features	Interface hepatitis	+3
	Plasma cells	+1
	Rosettes	+1
	None of the above	-5
	Biliary changes ^a	-3
	Atypical changes ^b	-3
Immune diseases	Thyroiditis, colitis, other	+2
HLA	DR3 or DR4	+1
Seropositivity for other autoantibodies	Anti-SLA/LP, actin, ASGPR, pANNA	+2
Response to therapy	Remission	+2
	Relapse	+3

Pre-treatment score >15: definite AIH; 10-15: probable AIH; Post-treatment score >17: definite AIH; 12-17: probable AIH.

- Critères simplifiés pour le diagnostic des AIH (*Hennes, 2008*)

	1 point	2points
IgG	> 16 g/L	> 18 g/L
ANA ou anti-actine ou anti-LKM	≥ 1/40	≥ 1/80 ou anti-SLA/LP +
Histologie	Compatibles avec HAI	Typiques de l'HAI
Marqueurs viraux		Négatifs

- → 6: HAI probable, ≥ 7: HAI certaine

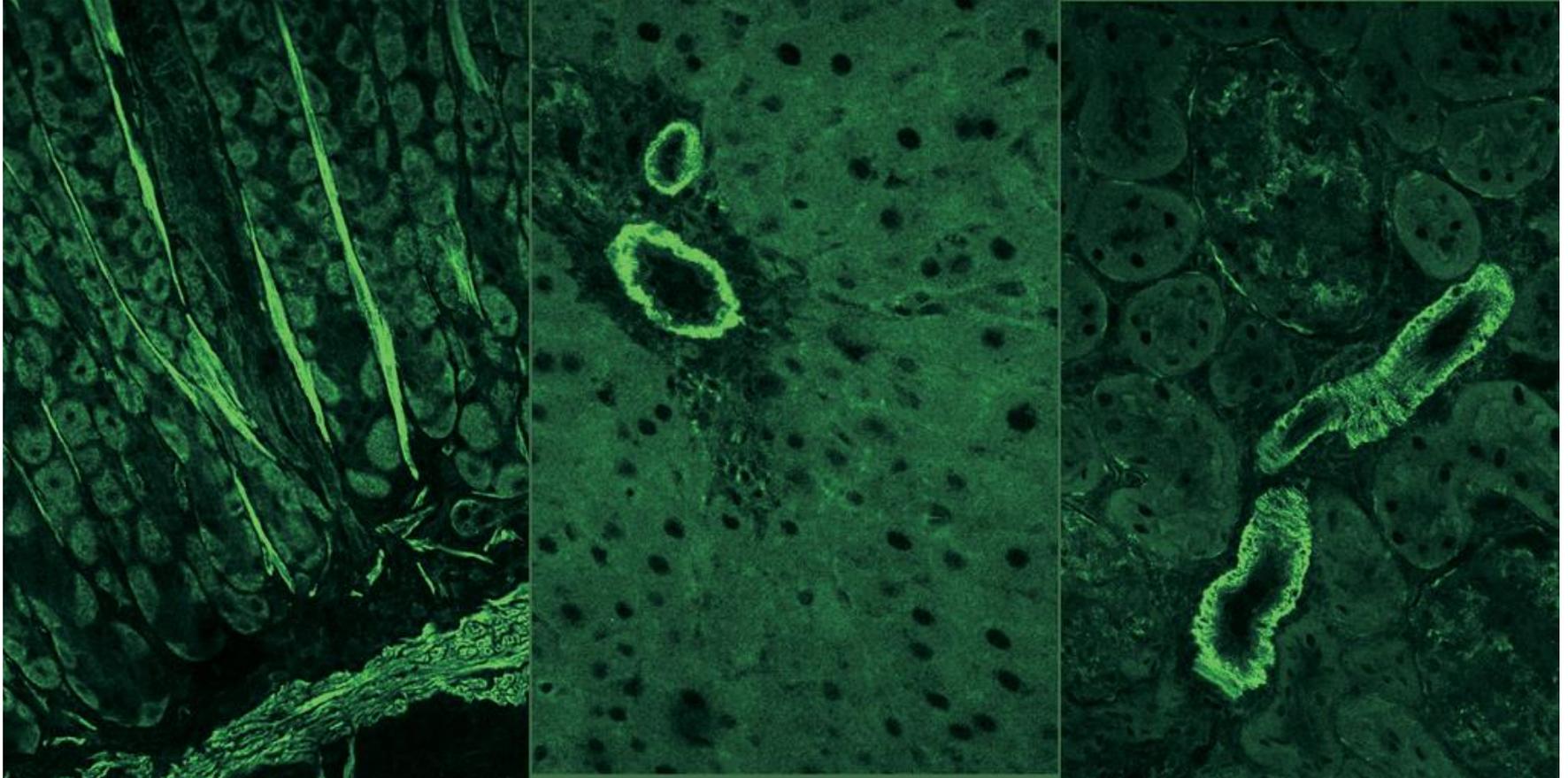
HAI

- Biologie:
 - Cytolyse : Transaminases élevées (x5)
 - Hyper IgG polyclonale
- Traitement :
 - corticoïdes et azathioprine
 - 50% de mortalité dans les 3-5 ans si non traitée
 - Transplantation hépatique

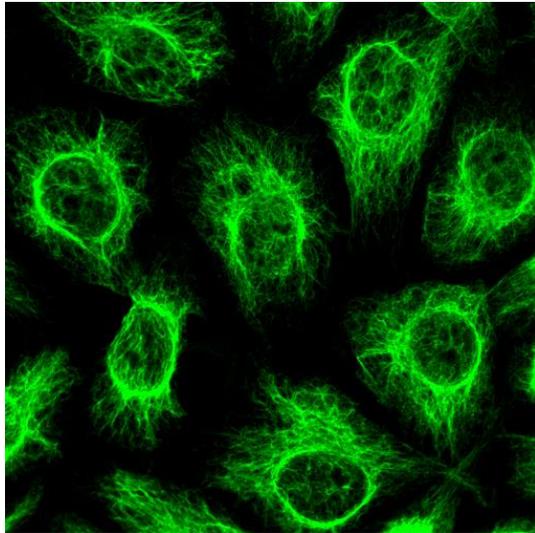
Les autoanticorps anti-muscles lisses

- ASMA (*anti-smooth muscle antibodies*)
 - Anti-filaments intermédiaires
 - Desmine : HBV, myocardite
 - Vimentine : connectivites
 - Anti-microtubules
 - Tubuline : MNI, thyroidites, Hépatite alcoolique
 - Anti-microfilaments
 - Actine G : cirrhose alcoolique
 - **Actine F : HAI type 1**
 - Myosine : cardiopathies
- +HCV, connectivites, sujets sains....

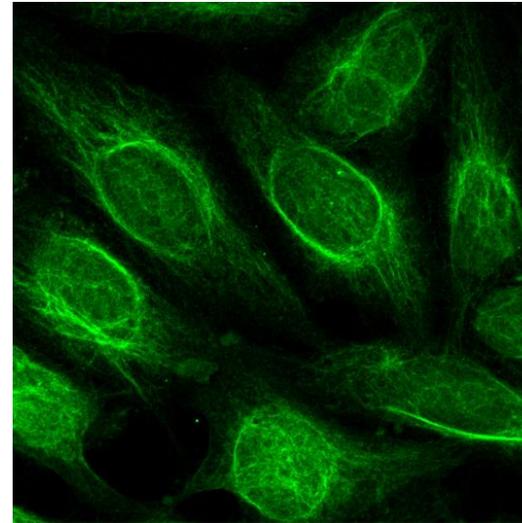
ASMA: Détection sur tissu de rat



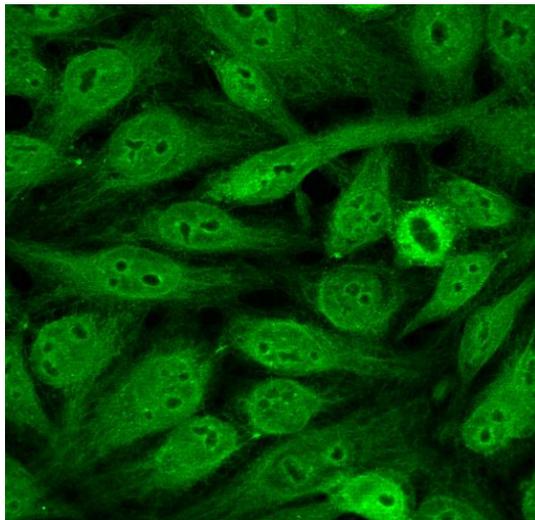
ASMA :Détection sur cellules Hep2



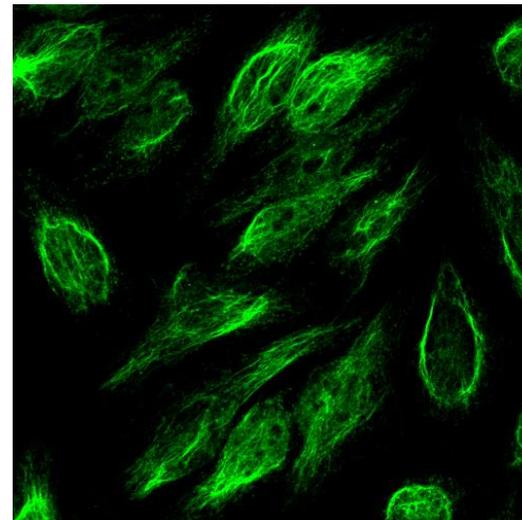
Vimentine



Tropomyosine



Desmine

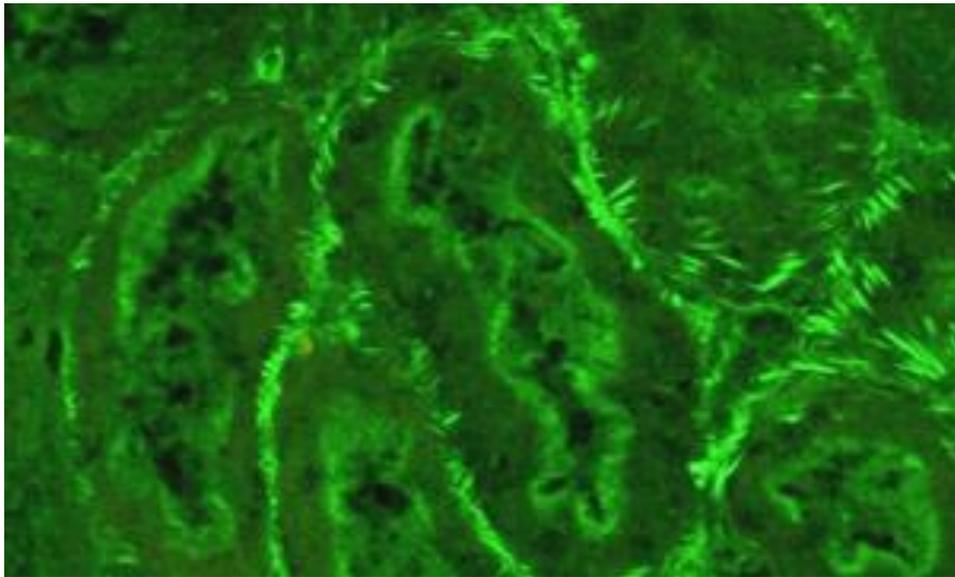
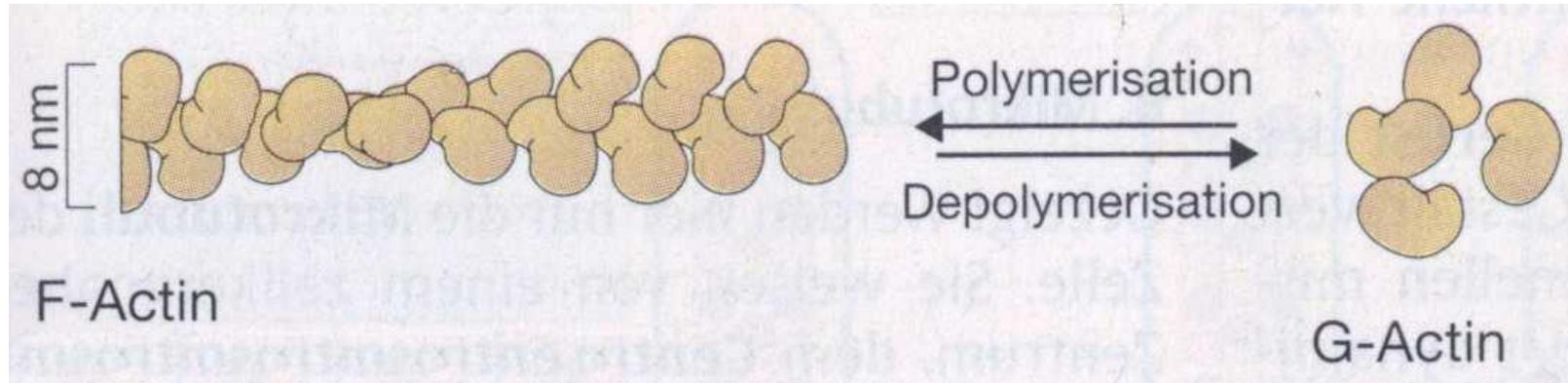


Actine

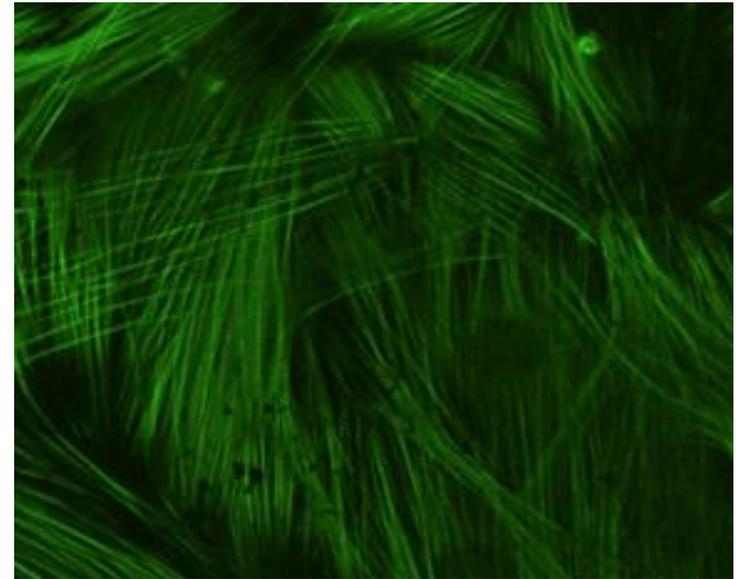
ASMA : Ac anti-muscle lisse de type F-Actine

- Clinique : Si titre élevé > 1/40: **HAI-1 (50-80%)**, CBP (20%), HCV, HBV, cirrhose alcoolique.
- Sensibilité : 85%, spécificité: 85%
- Détection : IIF
 - Cellules hep2 : “câbles d’actine”, possibilité de faux négatifs (titration de 1:160 → 1:1280)
 - Triple substrat (Rein/foie/estomac de rat ou de souris) (1:40 → 1:640)
 - Muscularis mucosae et VS : +
 - Estomac: Filaments radiaux +
 - Foie : Aspect réticulé
 - Tubules rénaux : fines aiguilles +
- Confirmation:
 - ELISA (bonne sensibilité mais manque de spécificité)
 - Immunodot (manque de spécificité)
 - F-actin de lapin purifiée
 - **VMS 47** : actine tridimensionnelle : **bonne spécificité**

ASMA : Ac anti-muscle lisse de type-F-actine



Rein : spicules

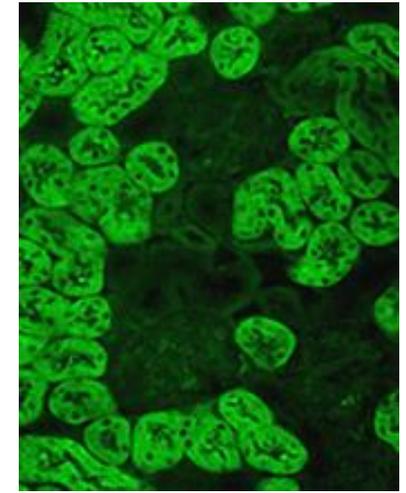
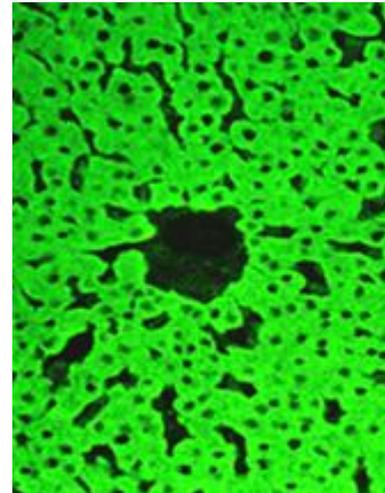
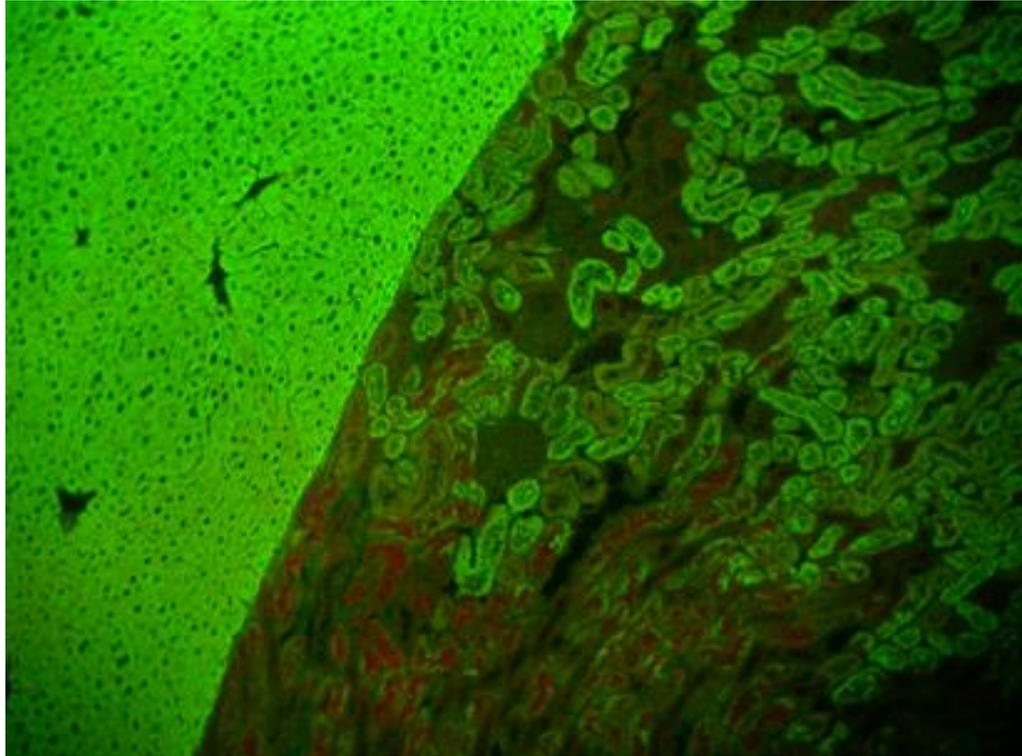


VSM47

Les autoanticorps anti-LKM-1

- LKM : *Liver Kidney Microsomes*. Les AC réagissent avec les microsomes du foie et du rein = composants du reticulum endoplasmique des cellules.
- Antigène : LKM1 = cytochrome P450 2D6
- Clinique :
 - HAI type II (85%)
 - HCV ou HBV (6-10% des cas mais les AC reconnaissent un épitope différent)
 - Drug-induced hepatitis
- Détection (sensibilité de 95-100%)
 - IIF sur tissu (attention peut cacher un anti-LC1)
 - Rein : Tubules Proximaux : + (P3>P2>P1), Tubules Distaux: - ou faible +
 - Foie : Fluorescence homogène du cytoplasme des hépatocytes,
 - Estomac: négatif
 - ELISA ou LIA (protéine recombinante)

Les autoanticorps Anti-LKM1



Les autoanticorps anti-LKM-2

- Antigène :
 - CYP4502C9
- Clinique :
 - Hépatite induite par le traitement par acide tienilique → diurétique seulement commercialisé aux USA et en France
- Détection
 - IIF sur tissu
 - Rein : La fluorescence de la région P3 des tubules proximaux du rein est plus forte que les régions P1 et P2
 - Foie : Fluorescence des hépatocytes centrolobulaires, plus faible fluorescence des hépatocytes périportaux par rapport aux anti-LKM1,
 - Estomac: négatif

Les autoanticorps anti-LKM-3

- Antigène :
 - **Uridine diphosphate glucuronyl transférase**, enzyme exprimée sur la membrane interne du réticulum endoplasmique et jouant un rôle dans la conjugaison et la detoxification
- Clinique :
 - Détectable chez 6-14% des patients avec hépatite D virale, **8-19% des AIH-2** et 6% des HCV
- Détection
 - IIF sur tissu de rein/foie/estomac ~ LKM-1
 - Foie : fluorescence homogène des hépatocytes
 - Rein : Fluorescence homogène des tubules proximaux (tubules distaux -)
 - Fluorescence sur la partie exocrine du pancréas humain

Les autoanticorps anti-LM

- LM: *Liver Microsomal antibodies*
- antigène :
 - CYP450 1A2
- Clinique:
 - Hépatite induite par la dihydralazine
 - AIH dans le contexte de l'autoimmune polyglandular syndrome type 1
 - HCV
- Détection :
 - IIF sur triple substrat :
 - Foie : fluorescence du cytoplasme hépatocellulaire
 - Rein : négatif

Les autoanticorps anti-LC1

- Anti-Liver Cytosol de type 1
- Antigène :
 - **Formiminotransférase cyclodésaminase** (enzyme intervenant dans le métabolisme des folates, abondante dans le foie)
- Clinique :
 - **HAI de type II (marqueur diagnostique)**
 - 22% HAI de type II: anti-LC1 sans anti-LKM
 - Spécificité anti-LC1 + > spécificité Anti-LKM
- Détection :
 - Tissu (foie de rat ou de souris) (seuil 1/40)
 - Fluorescence du cytoplasme des hépatocytes avec faible intensité autour des veines sus-hépatiques. Cytoplasme des cellules hépatiques avec affaiblissement dans la zone centrolobulaire
 - Confirmation par immunodot (positif/négatif, quantification en “+”)
 - Attention :
 - Faux positif dans infection HCV (2-10%) et parfois présents dans AIH-1

Les autoanticorps anti-LC1

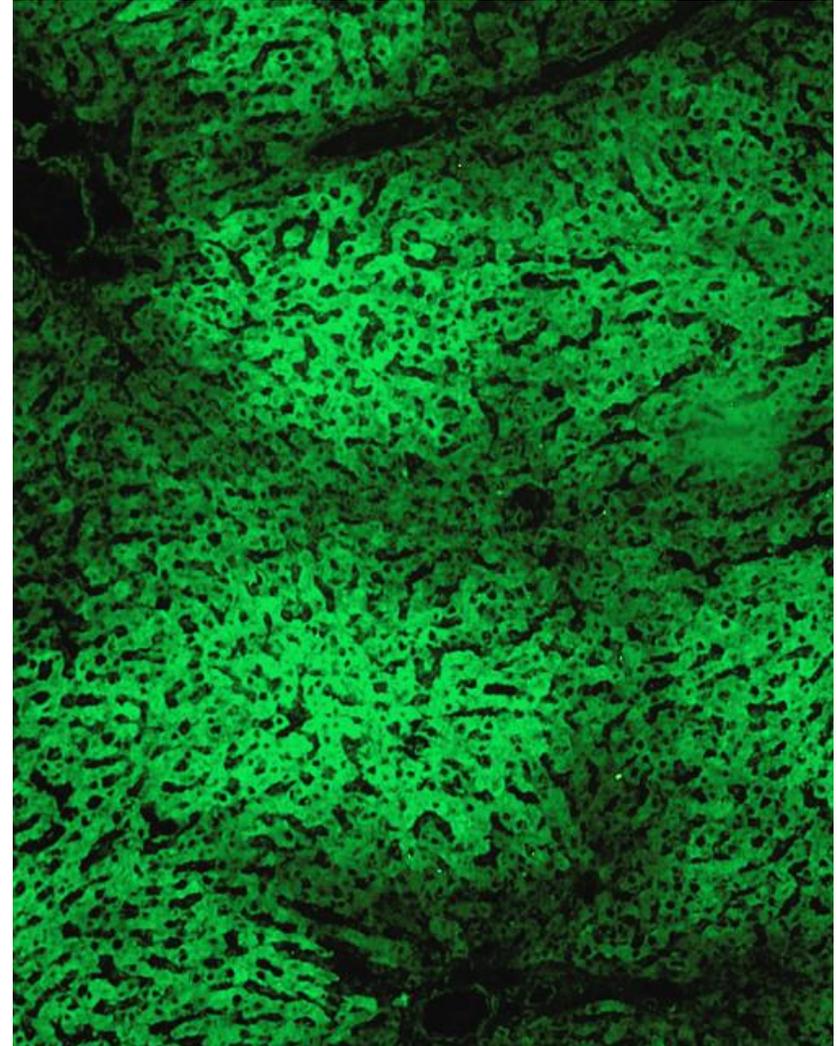
Rein : négatif

Foie : fluorescence homogène des hépatocytes, épargnant les hépatocytes jouxtant les veines centrolobulaires

Estomac: négatif

Présence et titre sont corrélés à l'activité clinique

Rem: Si anti-LKM1 présents à titre élevé → les anti-LC1 peuvent être masqués



Les autoanticorps anti-LMA

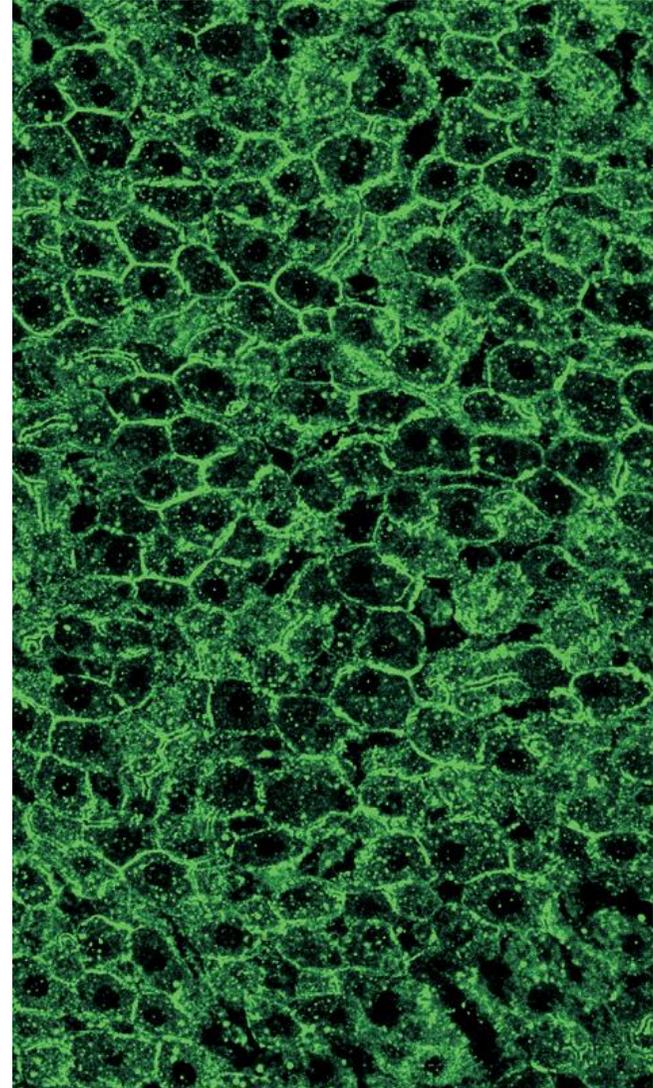
Liver Membrane Antigen

Antigène inconnu

Fluorescence de la membrane des
hépatocytes

Association clinique non spécifique:

- HAI
- CBP
- Hépatite virale
- SLE



	Foie	Rein					Estomac			
	H*	G*	P1*	P2*	P3*	D*	Pa*	Pr*	M*	APUD*
Anti-LKM1	+++	-	+	++	+++	-/+	-	-	+	-
Anti-LKM2	+++	-	+++	+++	+	-	-	-	+	-
Anti-LKM3	+++	-	++	+++	++	-/+	-	-	+	-
Anti-LM	+++***	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Anti-LC1	+++****	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-R**	+++	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+++	-	-

*H= hépatocytes; G= glomérules; P1, P2 et P3 = portions du tubule proximale; D= tubules distaux; Pa= cellules pariétales; Pr= cellules principales; M= cellules à mucus ou du collet APUD= cellules du système APUD
 **Anti-R= anti-ribosomes
 ***Hépatocytes centrolobulaires

BMD formation 2007

Les autoanticorps anti-SLA/LP

- *Anti-Soluble Liver Antigen/Liver Pancreas*
- Marqueur diagnostique spécifique:
 - HAI de type 1 (15-35%)
 - Formes mixtes HAI/CBP (4%)
- Antigène : o-phosphoséryl-ARNt(sec)-sélénium transférase (tRNP (ser)sec)
- Parfois le seul anticorps dans 11% des cas
- Les autres anticorps peuvent apparaître tardivement
 - Sensibilité : 15-35%
 - Spécificité : 98%
- Marqueurs de mauvais pronostic (récidives, sévérité)
- HLA B8BR3
- Ne se détecte pas en IIF sur triple substrat mais sur EIA/immunodot → retard de diagnostic

Les autoanticorps anti-ASGPR

- *AsialoGlycoProtein Receptor* antibodies
- Antigène :
 - récepteur transmembranaire à l'asialoglycoprotéine sur la surface des hépatocytes dont le rôle est de capturer et de transporter les antigènes étrangers et du soi
- Clinique:
 - HAI: 67-88 %
 - HBV chronique: 7 %
 - HCV chronique: 14 %
 - Acute hepatitis B : 35 %
 - Alcoholic liver diseases : 8%
 - CBP : 14-22 %
 - Children with AIH type 1 : 75
 - Children with AIH type 2 : 40 %

Les autoanticorps anti-ASGPR

- Marqueurs de **sévérité** (corrélation des titres avec l'activité de la maladie et avec l'histologie)
- Recherche utile en seconde intention lorsque les marqueurs classiques sont négatifs
- Détection :
 - RIA ou ELISA
 - La spécificité dépend du test utilisé (ASGPR de lapin purifié)

Cholangite Biliaire primitive : CBP

- Epidémiologie :
 - Femme > 90%
 - Entre 40 – 60 ans
 - 0.7-49 cas/millions par an
- Clinique :
 - inflammation chronique et progressive des canaux biliaires exclusivement intra-hépatiques aboutissant à leur destruction, puis à une fibrose et à une cirrhose+ atteinte d'autres organes à fonction exocrine (glande salivaires et lacrymales, pancréas)
- Symptômes :
 - Prurit, fatigue, douleur dans la région haute de l'abdomen droit. Jaunice après qqs temps.
- Diagnostique différentiel avec d'autres maladies hépatiques chroniques :
 - Hépatites virales (HCV)
 - HAI
 - Cholangéite primaire sclérosante

CBP

- Biologie:
 - Augmentation cholestérol
 - Fonctions hépatiques : PAL ↑ et GGT
 - éosinophilie
 - Augmentation modérée des aminotransférases. Si augmentation : overlap
 - **Élévation IgM polyclonale sérique**
- Anticorps :
 - **AMA** : Les anticorps anti-mitochondries de **type M2** sont les plus sensibles et spécifiques. Ils sont trouvés chez 94 % des patients CBP
 - **ANA** non spécifiques. Ils sont trouvés chez 40% des patients et > 60% des patients sans AMA.
 - Membrane nucléaire : **Anti-gp210 et p62**
 - Multiple nuclear dots : **Anti-Sp100, anti-PML**
 - **Centromère**

CBP

- Association à d'autres manifestations auto-immunes : Sjogren, thyroïdite, Raynaud, sclérodermie, LED,
- 10 à 20% des patients développent une HAI secondaire (syndrome d'overlap) avec anticorps positifs par exemple SLA/P
 - → Tester les autoanticorps (notamment SLA) et les IgG une fois par an pour exclure le développement d'une HAI
- Traitement:
 - **Acide ursodésoxycholique**
 - cholestyramine
 - GC, MTX, AZA,...
 - Transplantation hépatique

Les autanticorps anti-mitochondries

- Antigènes :
 - 10 types différents
- Le plus important est le M2 : complexe pyruvate déshydrogénase
- Détection
 - Cellules Hep2 (M2 et M3)
 - Tissu de rongeur- conjugué polyvalent (M1, 2, 3, 5, 6, 10)
 - ELISA (M2)

Les autanticorps anti-mitochondries

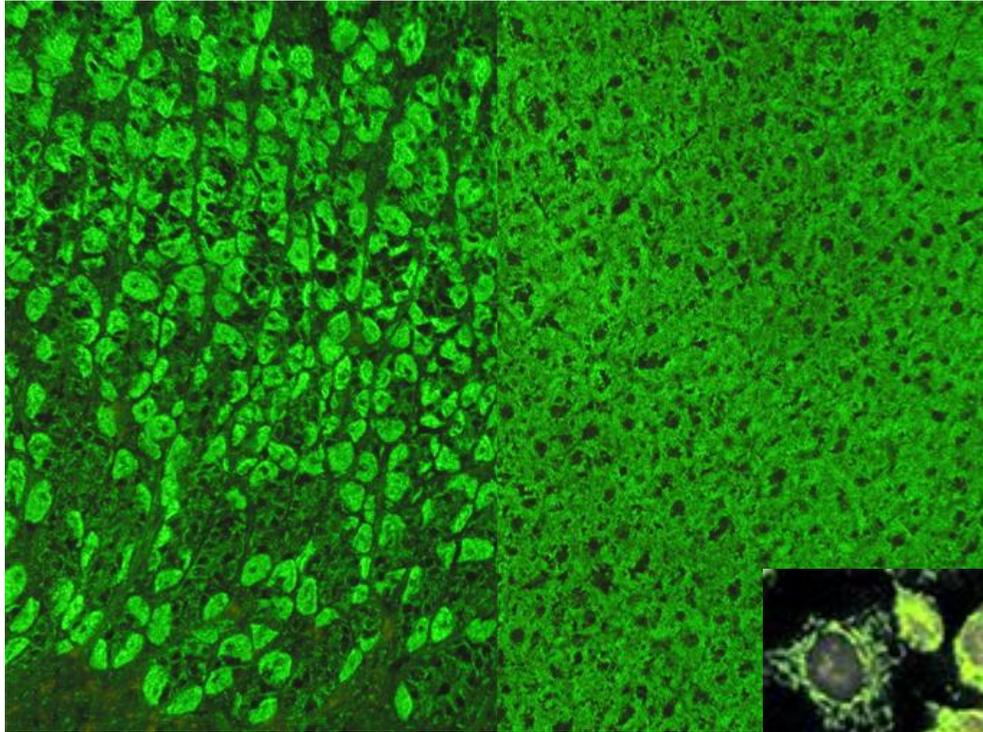
Sous-type	Autoantigène	Localisation sur la mb mitochondriale	Association clinique
M1	cardiolipine	Interne	Syphillis, SAPL
M2	Complexe multienzymatique de la pyruvate déshydrogénase	Interne	CBP
M3	?	externe	Lupus induit (vénocuran)
M4	Sulfite oxydase, sous-unité E1 de la pyruvate dehydrogénase	externe	CBP
M5	?	Interne et externe	Connectivite, AHAI, SAPL
M6	Monoaminoxidase B	externe	Hépatite (iduite par l'iproniazide)
M7	Sarcosine dhydrogenase	Interne	Myocardite, cardiomyopathies
M8	?	externe	CBP
M9	Glycogen phosphorylase	externe	CBP

Les AMA de type M2

- Cible antigénique:
 - **Complexe d'enzyme de la 2-oxoacid dehydrogenase** présent dans la chaîne respiratoire des mitochondries incluant : (EPITOPE : Sous-unité E2)
 - branched-chain-2-oxoacid dehydrogenase (**BCOADC**)
 - pyruvate dehydrogenase (**PDH**)
 - 2-oxoglutarate dehydrogenase (**OGDC**)
- Prévalence dans la CBP: (anti-BCOADC et/ou OGDC seuls : 3-10%)
 - anti-BCOADC : 50-70%
 - Anti-PDH : 80-90%
 - Anti-OGDC: 30-80%
- Les épitopes immunodominants des 3 enzymes sont des domaines liant le lipoyl. **L'antigène artificiel 3^E(BPO)** est un **anticorps recombinant** contenant les 3 épitopes relevant de du complexe enzymatique → **augmente la sensibilité**
- **Antigène M2 native** : purifiée du complexe PDH

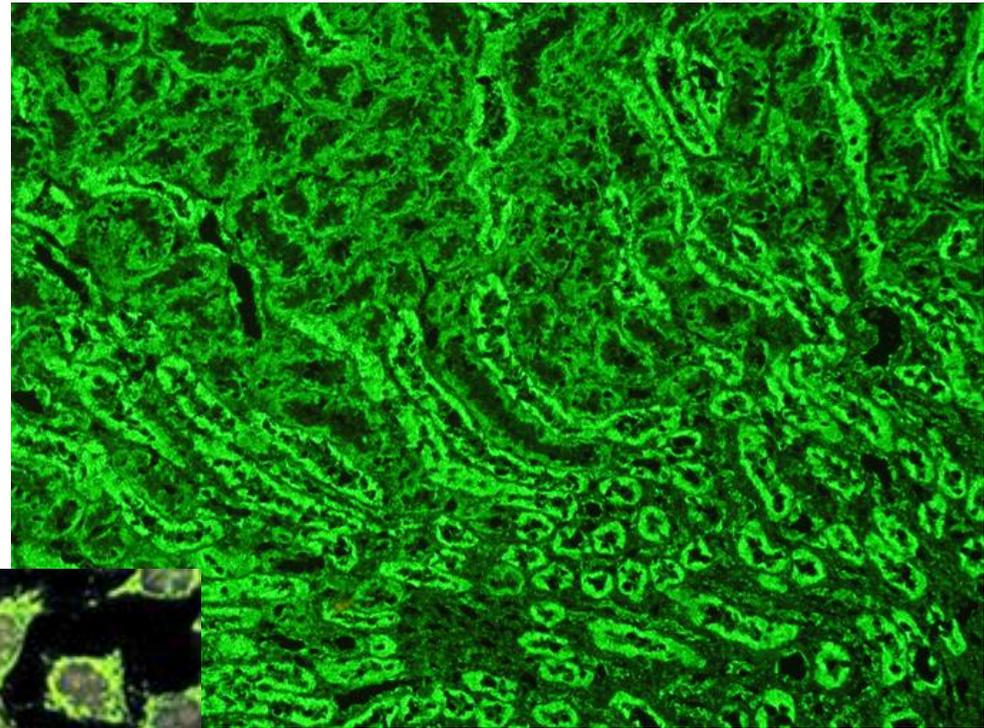
- Detection : IIF sur tissus de rat et de souris: (M2)
 - Rein : Fluorescence granulaire des tubules proximaux et distaux
 - Foie : Fluorescence granulaire du cytoplasme hépatocytes
 - Estomac : Fluorescence granulaire du cytoplasme des cellules pariétales et cellules principales
 - Sur cellules Hep2 : granulations spécifique dans le cytoplasme
- Parfois découverte fortuite: 10-50% des anti-M2 sont découverts en l'absence de signes cliniques. **Marqueur précoce et prédictible de la pathologie**
- 2/3 des patients diagnostiqués sont asymptomatiques. Si suivi de ces patients → diagnostic de CBP dans la plupart des cas

Les AMA de type M2

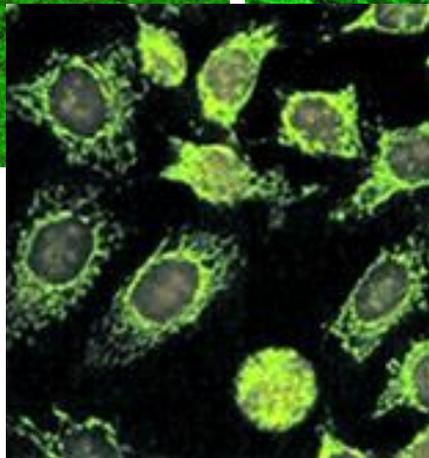


Estomac

Foie



Rein



Cellules Hep2

Les autanticorps anti-mitochondries

	Foie		Rein					Estomac				
	H*	CB*	G*	P1*	P2*	P3*	D*	C*	Pa*	Pr*	M*	APUD*
Anti-M1	++	+	-	++	++	+	+++	+	-	-	-	-
Anti-M2	+	+	(+)	++	++	++	+++	++	+++	+	+	?
Anti-M3	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	+	?
Anti-M5	++	+	(+)	+++	+++	++	+	+	++	++	+	?
Anti-M6	+++	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	+++
Anti-M10	-	++	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	-

*H=hépatocytes; CB = canaux biliaire; G = glomérules; P1, P2 et P3 = 1°, 2° et 3° portion du tubule proximale; D = tubules distaux; C = tubes collecteurs, Pa = cellules pariétales; Pr = cellules principales; M = cellules à mucus ou du collet; APUD = cellules du système APUD.

**Anti-M: Les anticorps anti-M4, anti-M7, anti-M8 et anti-M9 ne sont pas décelables par immunofluorescence.

- BMD formation 2007

CBP : nouveaux anticorps

- **Anti-kelch-like 12 et Anti-hexokinase 1**
- Ils ont été plus fréquemment détectés chez les patients atteints de CBP que chez les patients contrôles ($P < 0,001$)
- Très spécifiques des CBP ($\geq 95\%$)
- Plus sensible que les anti-gp210 et les anti-sp100
- Présents dans 10-35% des patients CBP-AMA négatifs
- Détection par immunodot ou ELISA

CHOLESTASIS AND AUTOIMMUNE LIVER DISEASE

Anti-kelch-like 12 and anti-hexokinase 1: novel autoantibodies in primary biliary cirrhosis

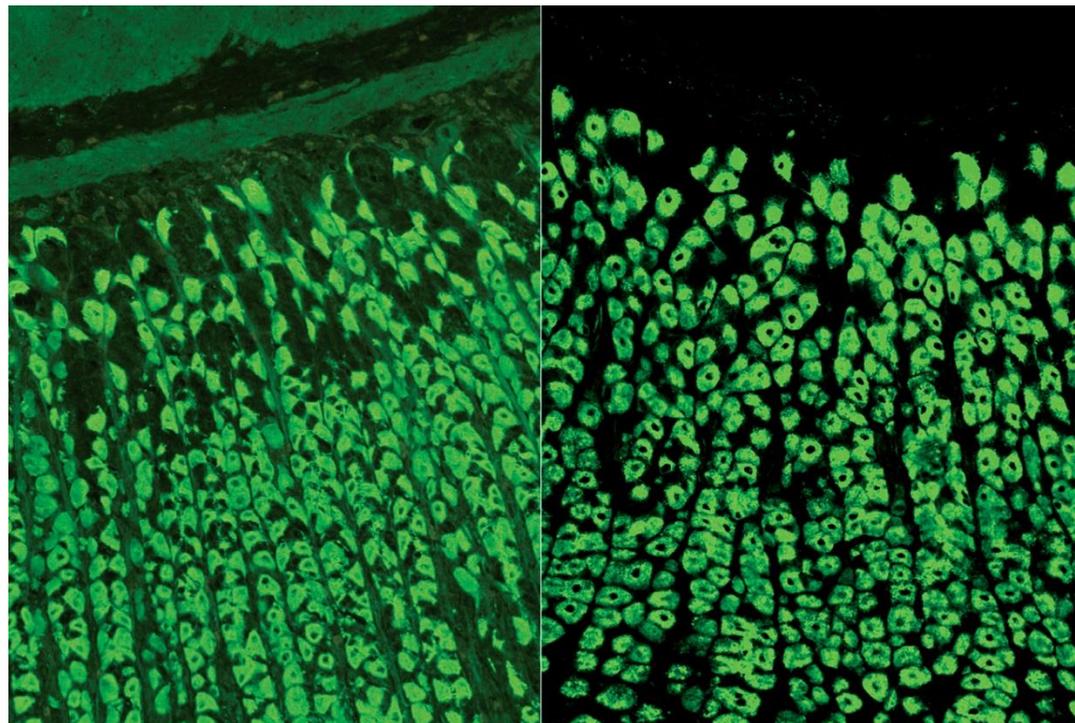
Gary L. Norman^{1,*}, Chen-Yen Yang^{2,*}, Heather P. Ostendorff³, Zakera Shums¹, Mark J. Lim³, Jinjun Wang², Amany Awad³, Gideon M. Hirschfield⁴, Piotr Milkiewicz⁵, Donald B. Bloch⁶, Kenneth J. Rothschild³, Christopher L. Bowlus⁷, Iannis E. Adamopoulos⁸, Patrick S.C. Leung², Harry J. Janssen^{9,10}, Angela C. Cheung⁹, Catalina Coltescu¹¹ and M. Eric Gershwin²

Gastrite autoimmune

- Inflammation chronique de la muqueuse gastrique
- Prévalence 3-5%
- Destruction des cellules pariétales par les lymphocytes Th1 autoréactifs
- Clinique :
 - Asymptomatique au début puis perte des cellules pariétales et infiltration lymphocytaire → ↓ HCL et FI → anémie pernicieuse (de Biermer)
 - Augmentation du risque de développer un adénocarcinome de l'estomac
 - Association avec d'autres maladies autoimmunes : maladie d'Addison, DAB-1, Thyroïdite d'Hashimoto...
- Autoanticops
 - **Anticorps anti-cellules pariétales** (90% des cas)
 - **Anticorps anti-facteur intrinsèque** (50-70% des cas)

Autoanticorps anti-cellules pariétales

- Antigène :
 - sous-unité α et β de la pompe à protons **H+K+ATPase** localisée dans la membrane apicale des cellules pariétales gastriques → Production d'HCl
- Clinique
 - Gastrite autoimmune
 - Anémie pernicieuse
- Détection :
 - IIF sur triple substrat
 - Fluorescence finement granulaire des CP gastrique



Autoanticorps anti-cellules pariétales

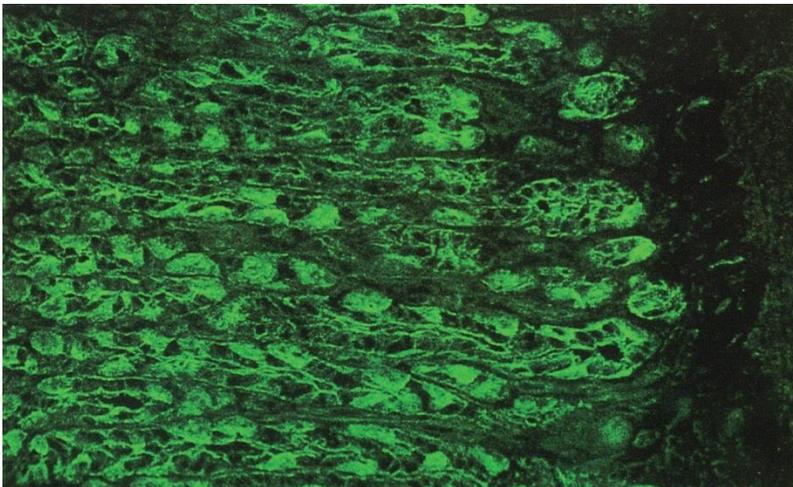
- Confirmation
 - ELISA ou dot (natif ou recombinant)
- Sensibilité : 20-90% des gastrites autoimmunes (selon degré d'atteinte de la muqueuse)
- 95% des Biermer avec IFA (pfs neg dans stades avancés par perte des CP)
- Le titre des CPA n'est pas corrélé avec la sévérité de la maladie
- souvent retrouvés à des maladies endocrines autoimmunes (dans 20-30% des cas, Hashimoto, DAB-1, Addison)
- sont détectables dans 25-47% des gastrites chroniques à *Helicobacter pylori*
- peuvent apparaître après traitement de l'HCV par interféron-alpha.
- Sont présents chez les individus sains (5-10%) et la prévalence augmente avec âge

Autoanticorps anti-facteur intrinsèque

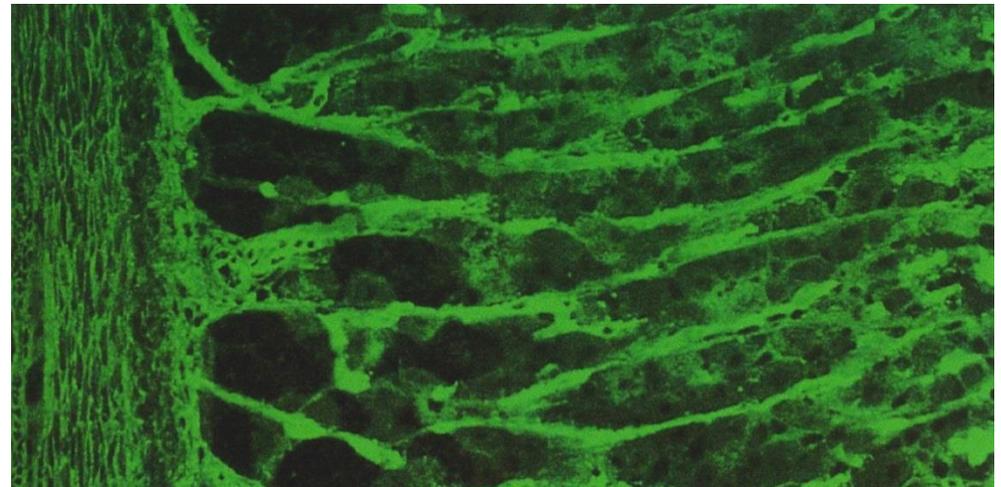
- Antigène : FI
 - Glycoprotéine formée par les cellules pariétales de l'estomac et responsable de la réabsorption de la vitamine B12 dans l'ileon distal
- Il existe 2 types d'anticorps anti-FI:
 - Type 1: bloque les sites de fixation du FI à la vitamine B12
 - Type 2: AC se fixent sur le complexe FI-vitamine B12
 - → Ils empêchent la réabsorption de la vitamine B12
- Détection :
 - RIA/ELISA/IMMUNODOT
- Clinique
 - Gastrite autoimmune (50-70% des cas). Si les IFA sont positifs → haute probabilité de développer une anémie pernicieuse
 - 50-100% des anémies pernicieuses (dépendant du test utilisé)
 - IFA + CPA dans 96% des patients avec anémie pernicieuse :
 - Dans 30% des cas IFA sont présents et CPA absents

Anticorps hétérophiles

- Les cellules de la muqueuse gastrique peuvent également être marquées par divers AC non spécifiques de cet organe:
 - Les **AMA type M2**
 - Les **anticorps hétérophiles** qui se fixent sur les CP de l'estomac de rat (pas de souris ni de singe). Ces anticorps se reconnaissent aussi par leur fixation sur la bordure en brosse des tubes rénaux proximaux, le marquage en nid d'abeille de la muscularis externa de l'estomac et des canalicules biliaire du foie

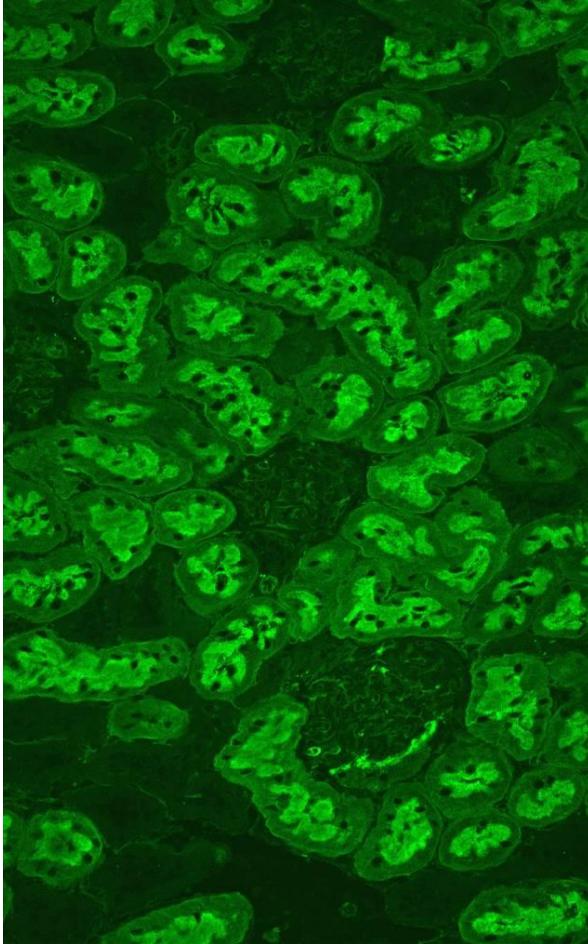


Ac hét. colorant les CP de rat

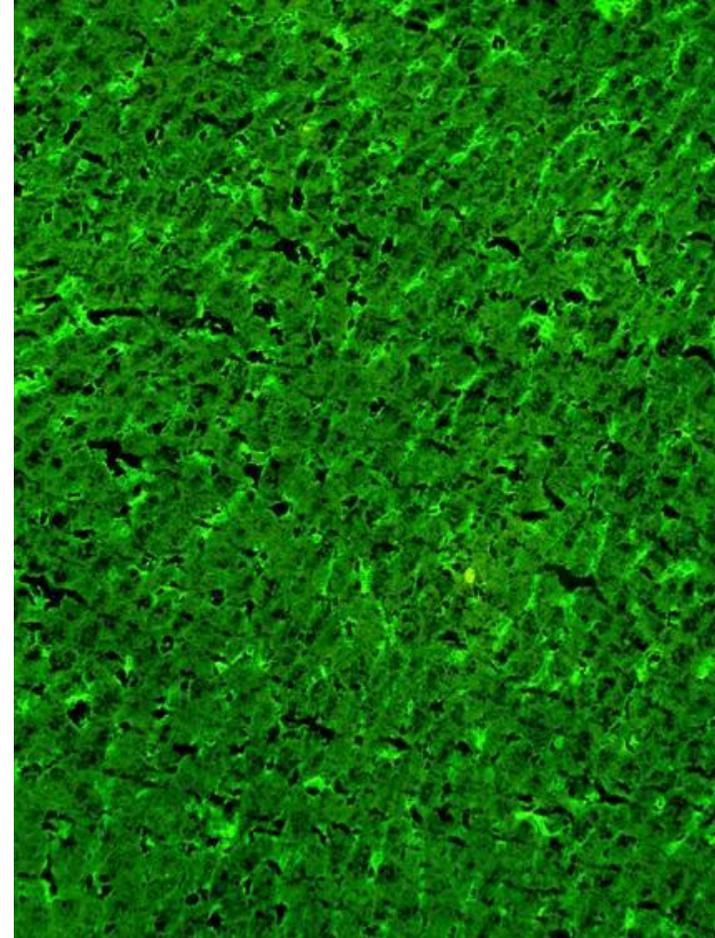


Ac hét. colorant les glandes gastriques du rat similaires au muscle lisse mais VS -

Anticorps hétérophiles



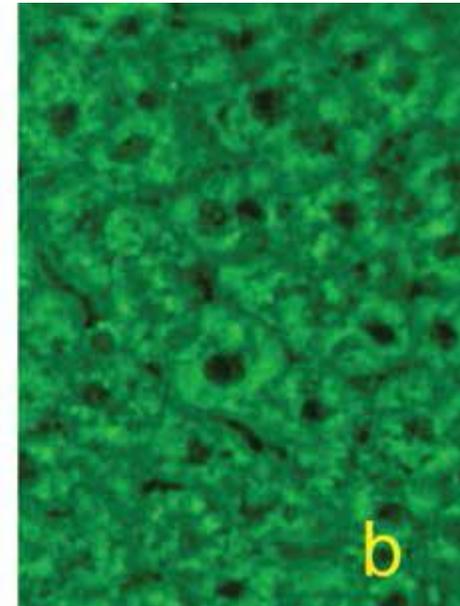
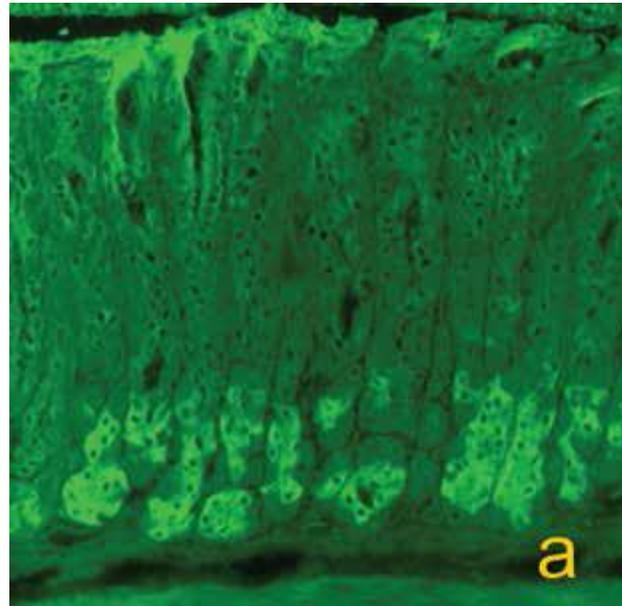
Ac hét. colorant la bordure en brosse des tubules de rat



Ac hét. colorant les sinusoides hépatiques de rat

Les autoanticorps anti-SRP

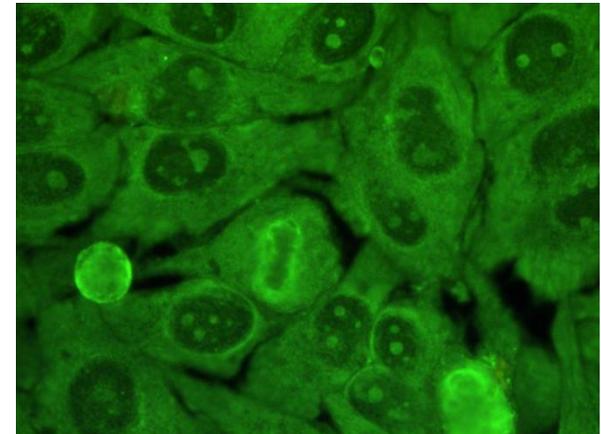
- SRP (*Signal Recognition Particle*): ribononucléoprotéine
- 5% des patients atteints de myopathie inflammatoire idiopathique
- Identification :
 - Immunodot
 - ELISA
 - IIF sur cellules Hep-2 : cytoplasme finement granulaire
- IIF sur triple tissu :
- **Foie** : grosses inclusions irrégulières dans le cytoplasme des hépatocytes
- **Estomac** : cytoplasme des cellules principales mais pas celui des cellules pariétales



Revue Francophone des Laboratoires - Juillet/Aout 2014- n°464 bis // 53

Les autoanticorps anti-ribosome

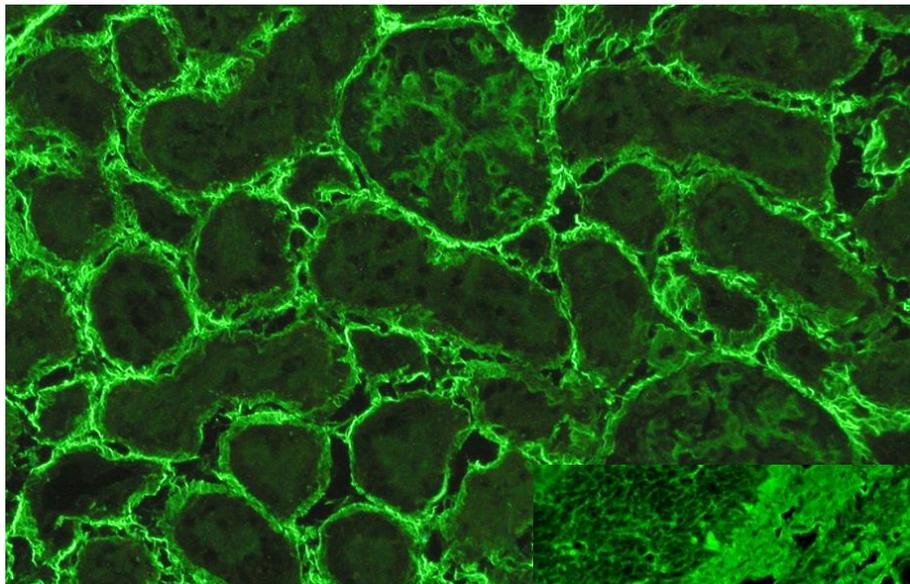
- Complexes formés d'acide nucléique et de protéines
- Antigène :
 - phosphoprotéines P0, P1 et P2
- Cliniques :
 - Lupus avec manifestations neuropsychiatriques (90%)
 - MCTD
 - Sclérodermie
 - PR
- Détection
 - Cellules hep2 (30-60% sont +)
 - ELISA (protéine recombinante)
 - Tissu
 - Foie : Fluorescence périnucléaire en motte des hépatocytes
 - Estomac: Fluorescence cytoplasme des cellules principales



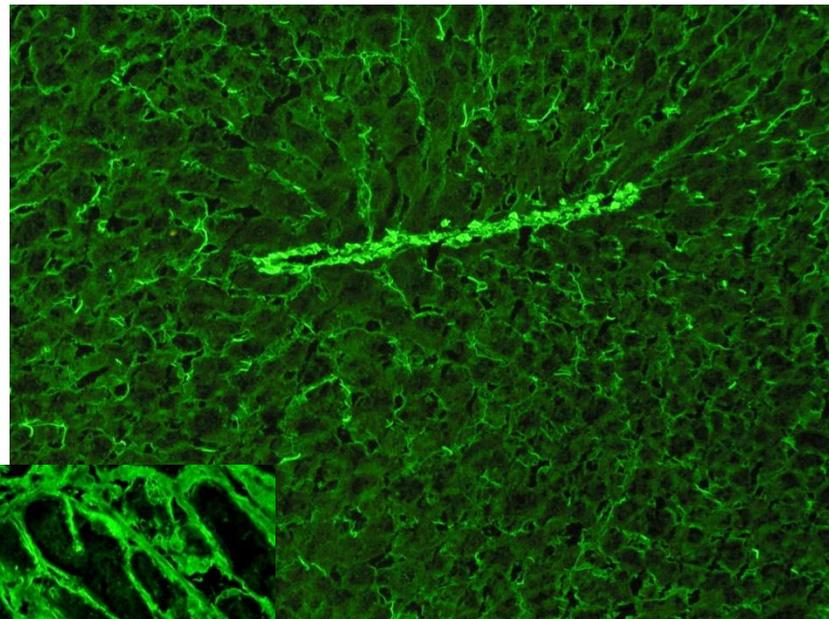
Les autoanticorps anti-réticuline

- Différents types : anti-R1, R2, R3, R4 et R5
- Antigène : ?
- Cliniques : IgA et IgG anti-R1 dans **Maladie coeliaque**
 - ↘ si régime sans gluten
 - Attention si déficit en IgA
 - Faible sensibilité (50%)
 - Grande spécificité (100%)
- Détection : conjugué IgA de préférence
 - Tissu de rat
 - Estomac : muscularis mucosae +, fibrilles entre les cellules épithéliales
 - Rein : Fluo péritubulaire, Fluo périglomérulaire
 - Foie : + vaisseaux, fluo linéaire auour sinusoides
- → remplacement par la recherche des anticorps anti-endomysium sur coupe d'oesophage de singe pour sa plus grande spécificité

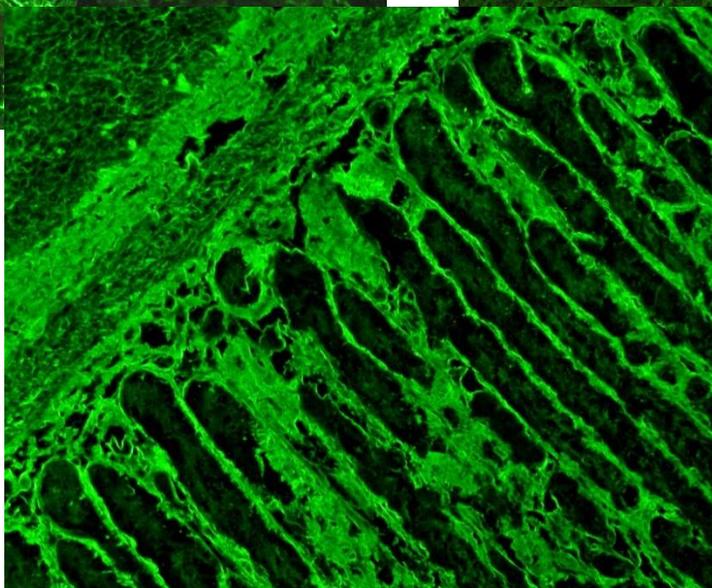
Les autoanticorps anti-réticuline



Rein



Foie

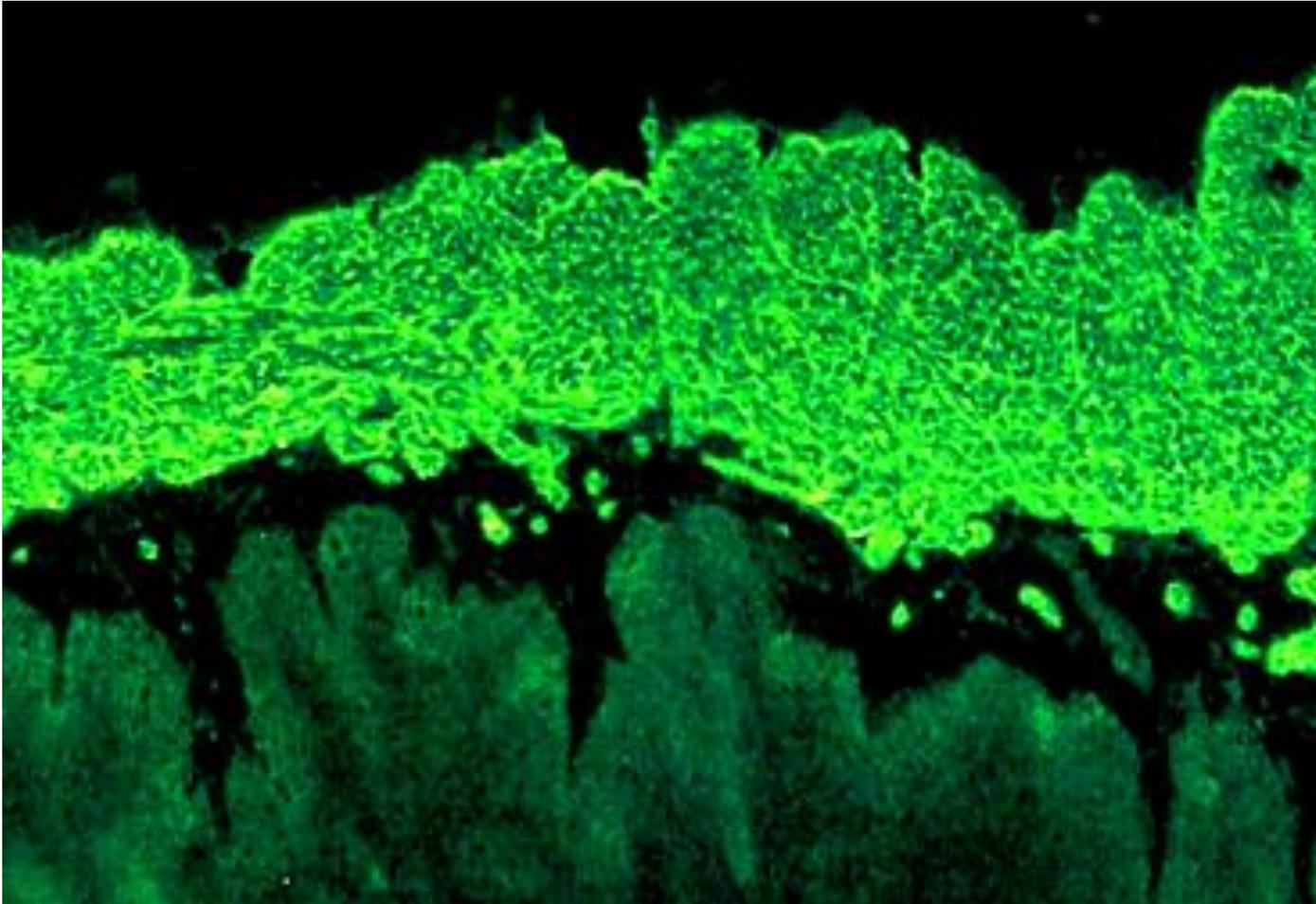


Estomac

Les autoanticorps anti-endomysium (IgA)

- Antigène : transglutaminase tissulaire (Antigène situé sur et entre les myofibrilles des muscles lisses)
- Clinique : **maladie coeliaque**
 - ↘ si régime sans gluten
 - Attention si déficit en IgA
 - Grande sensibilité (85-100%)
 - Grande spécificité (100%)
 - Dermatite herpétiforme
- Détection
 - Tissu (oesophage de singe ou cordon ombilical humain)
 - Fluorescence en nid d'abeille du muscle lisse
 - ELISA (transglutaminase)

Les autoanticorps anti-endomysium (IgA)



- Endomysium : structure anatomique formée de tissu conjonctif lâche qui entoure chaque fibre musculaire lisse.
- Au niveau de certaines muqueuses digestives (*muscularis mucosae* de l'oesophage ou duodénum), cette structure est riche en tTG.

Anticorps anti-tTG et DPG

- **Anticorps anti-transglutaminase tTG IgA**
 - Maladie coeliaque (intolérance au gluten)
 - Enzyme intracellulaire assurant la déamidation de la glutamine dans la gliadine des céréales, antigène reconnu par anti-endomysium et réticuline
 - Spécificité 93-100%
 - Sensibilité 91-97%
 - FP dans atteintes hépatiques et giardiase

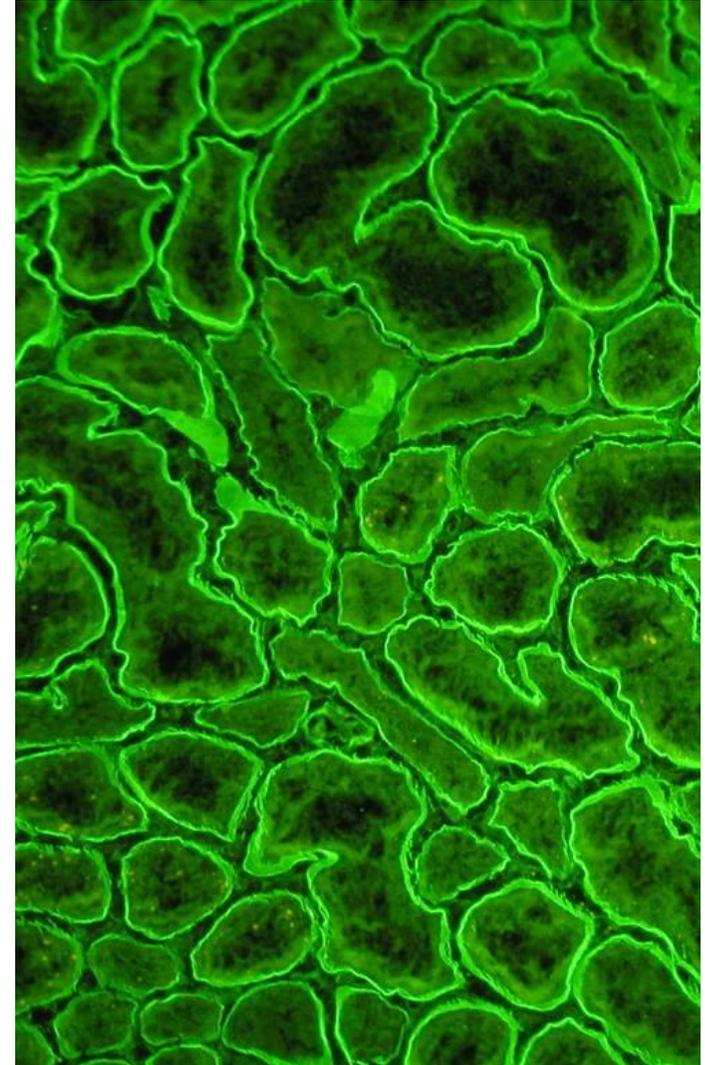
- **Anticorps anti-gliadine IgG et IgA déamidés**
 - Maladie coeliaque (intolérance au gluten)
 - Peptides de gliadine déamidée
 - Sensibilité 91%
 - Spécificité 98%

Anticorps anti-tTG et DPG

- Détection précoce de l'intolérance au gluten par tTg IgA et GDP IgG
- Après 6-12 mois de régime → ac indétectables mais ça ne signifie pas que la muqueuse soit redevenue normale
- Les IgG DPG sont le meilleur reflet d'une atrophie villositaire persistante
- Après 3 mois → diminution prioritaire des IgA
- On ne détecte pas les petits écarts de régime

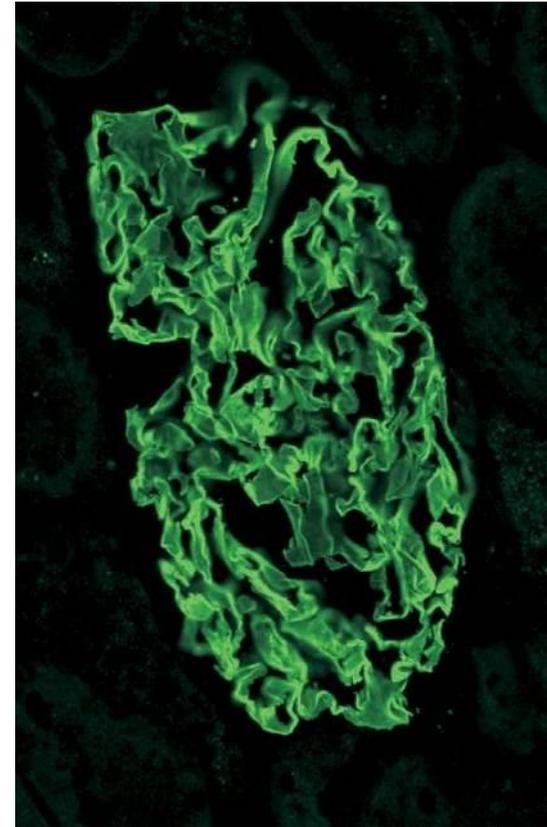
Les autoanticorps anti-membrane tubulaire

- Antigène:
 - protéines de la membrane basale des tubules rénaux
- Clinique :
 - Néphrites interstitielles immunologiques
 - Rejet de greffe
 - Accidents immunologiques dus à certains médicaments (méthicilline)
 - Syndrome de Goodpasture (+ anti-GBM)
- Détection:
 - Rein de singe ou de rat
 - Membrane basale des tubules proximaux +



Les autoanticorps anti-membrane basale glomérulaire

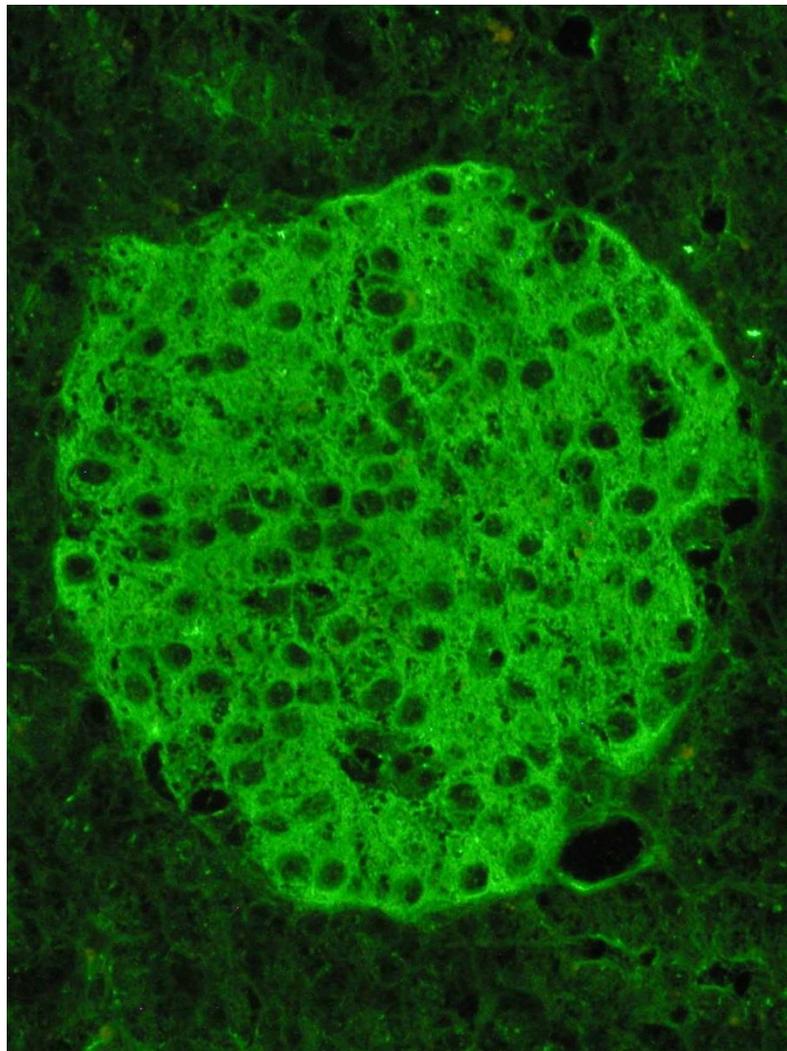
- Antigène :
 - Collagène de type IV sur la membrane basale du rein, des poumons,...
- Clinique :
 - Syndrome de **Goodpasture** (glomérulonéphrite rapidement progressive avec hémorragie pulmonaire)
- Détection
 - Rein de singe ou d'humain → en IIF, prétraitement avec de l'urée pour rendre l'antigène accessible
 - ELISA (beaucoup plus sensible et spécifique) , CLIA
 - Les titres des anticorps sont corrélés à l'activité de la maladie et sont utilisés pour monitorer la progression de la maladie
 - 32% sont aussi + pour les ANCA



Les autoanticorps anti-îlots de Langerhans

- Antigène :
 - **Glutamate décarboxylase (GAD) et tyrosine phosphatase (IA2)**
- Clinique:
 - **Diabète de type 1**
- Détection:
 - **IIF sur coupes de pancréas humain de groupe O ou pancréas de singe**
 - **RIA/ELISA**
 - **Spécificité 96%**
 - **Sensibilité : 80-90% chez enfants et jeunes adultes**
 - **Prévalence des ICA diminue avec le temps (10-20% après 10 ans)**
- Dépistage précoce de pré-diabète (stade préclinique) LADA
- Facteur prédictif de l'évolution vers l'insulinodépendance
- VPP élevée surtout si risque familial apparentés du 1^{er} degré
- Risque d'autant plus élevé que le nombre d'ac détecté est élevé
- Peu d'intérêt pour le suivi : ils disparaissent.

Les autoanticorps anti-îlots de Langerhans



Autres anticorps du Diabète de type 1

- Ac anti-insuline
 - Un des marqueurs le + précoce de pré-diabète
 - + ~ 60% des nouveaux cas de DAB1
 - Surtout pour enfants très jeunes : 100% < 5 ans mais < 20% après 15 ans
 - Concentration en rapport avec le taux de destruction des cellules B
- Ac anti-GAD 65
 - Glutamate décarboxylase 65 kd
 - 70% des nouveaux cas de DAB-I (on les recherche dans les LADA)
 - Mais seul 20 % des dépistages vont évoluer vers un diabète
 - Ac qui reste le plus longtemps
- Ac anti-IA2
 - Insulinoma-associated protein 2 ICA512 – anti-tyrosine-phosphatase
 - Ac qui apparait souvent après les 2 autres (apparition séquentielle)
- Ac anti-ZnT8
 - Cationic efflux transporter protein zinc transporter 8
 - Détectés dans 60-80% au moment du diagnostic

Ac anti-TPO = Ac anti-microsomes

- Antigène : TPO = thyroperoxydase (oxydation de l'I)
- Cliniques :
 - Thyroïdite de Hashimoto (95%): production d'Ac **bloquants** → induction d'apoptose des thyrocytes/**destruction glandulaire** → atrophie → **hypothyroïdie** + effet proinflammatoire
 - Maladie de Grave (18%)
 - carcinomes de la thyroïde
 - autres affections endocriniennes pfs sujets normaux
- Détection:
 - RIA
 - CLIA
 - ELISA
- Taux corrélé au **nombre de lymphocytes autoréactifs infiltrant** la thyroïde et au degré d'hypoéchogénicité
- Seraient présents aux stades plus avancés de l'affection

Ac anti-Thyroglobuline

- Antigène : Thyroglobuline (protéine au sein de laquelle se forment les hormones T3 et T4)
- Cliniques :
 - **Thyroïdite de Hashimoto**
 - **Thyroïdite atrophique**
 - **Basedow**
- Rôle : ?
- Détection:
 - **RIA**
 - **CLIA**
 - **ELISA**
- Marqueur **moins sensible** (60-80% des cas) et moins spécifique (plus souvent retrouvé chez les sujets sains)
- Seraient précoces aux stades **précoces** de l'affection.

Ac anti-récepteur TSH

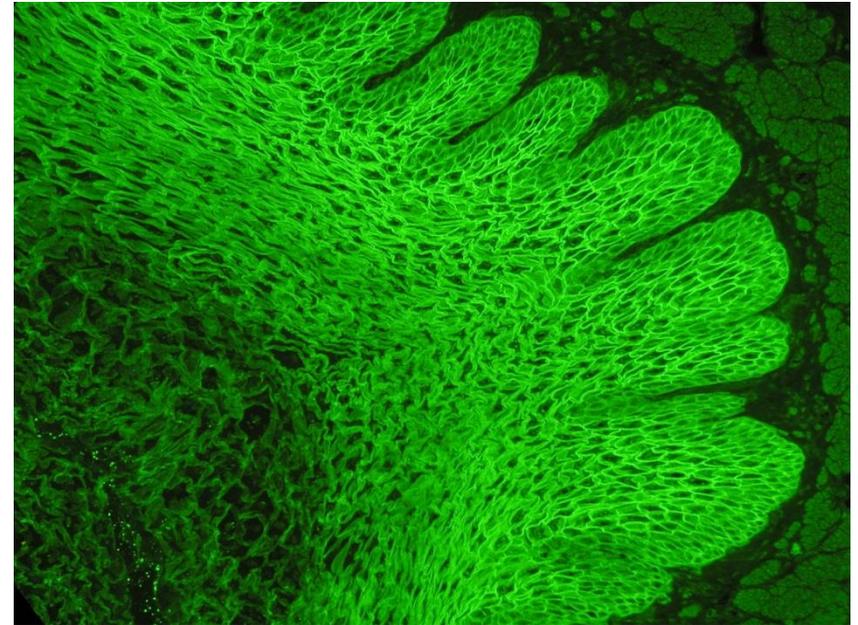
- Antigène : Récepteur TSH
- Cliniques :
 - Basedow : Hyperthyroïdie : production d'Ac stimulants → stimulation synthèse d'HT et inhibition de l'apoptose → hyperthyroïdie
Taux corrélé à la sévérité de l'hyperthyroïdie et de l'atteinte ophtalmique
 - Présents dans 10-15% des Hashimoto. Effet pro-apoptotique et inhibiteur → hypo et atrophie (Ac bloquant)
- Rôle : Stimulation ou blocage du récepteur
- Détection:
 - RIA
 - CLIA
 - ELISA

Les autoanticorps anti-desmosomes

- **Antigène : desmogléine 3 et 1**, ag de la membrane des kératinocytes (< cohésion) (intra-épidermique) → acantholyse par la perte de cohésion entre les kératinocytes → bulles intraépidermiques
- Clinique: **Pemphigus vulgaire**
- 0,6 à 5 cas /millions habitants/an
- Vers 50-60 ans
- Mortalité importante 70% sans traitement
- Débute par des érosions douloureuses de la muqueuse orale puis apparition de bulle → érosions génitales, conjonctivales, nasales → lésions suintantes croûteuses cuir chevelu, ombilic, région des plis (axillaire, coude, genou) et péri-unguéale
- **Bulles fragiles, non tendues, avec signe de Nikolski présent (cicatrisation lente)**

Les autoanticorps anti-desmosomes

- Détection :
 - IIF (anti-cadre cellulaire)
 - Excellente spécificité (90-100%)
- Intérêt pronostic :
 - **Titre corrélé avec la sévérité**
 - **Disparition des anticorps = guérison (suivi du titre)**

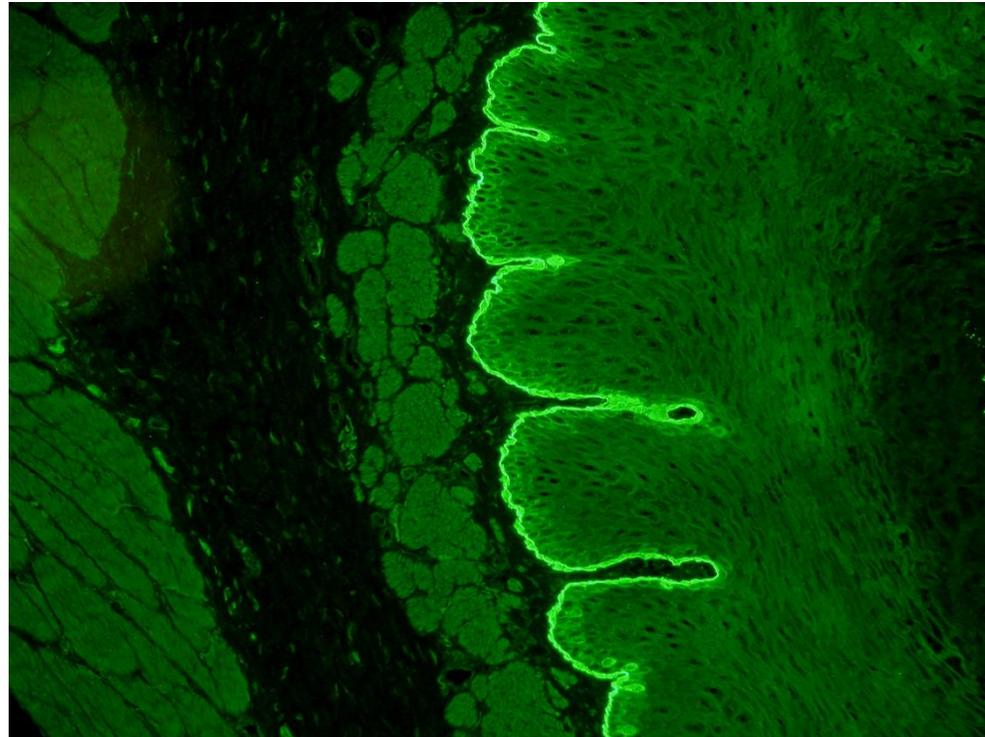


Les autoanticorps anti-hémidesmosomes

- Antigène: **Ac anti-membrane basale**, contre des antigènes de la lamina lucida de la membrane basale (dermo-épidermique) : **protéine BP230 et BP180**
- Activation du complément → attraction cell infl + éosino → protéases → clivage dermoépidermique
- Clinique: **Pemphigoïde bulleuse**
 - 70% des bulloses sous-épidermiques
 - âge moyen 80 ans
 - au début **prurit**
 - perte de la cohésion dermoépidermique → décollement
 - bulle tendue
 - guérison sans cicatrices
 - traitement : surinfection ou DMC locaux ou CS systémiques

Les autoanticorps anti-hémidesmosomes

- Détection :
 - IF : 100% IgG, 90% C3
 - IIF : IgG : 70-80%
 - La sensibilité et la spécificité de l'IIF est moins bonne → FN



Merci de votre attention

Bibliographie

- Atlas of Tissue Autoantibodies, Third Edition, R.G Hughes
- From the most common pattern of tissue sections to the rarest, R-L Humbel
- Autoantibodies in Organ Specific Autoimmunes Diseaes, Karsten Conrad, Autoantigens, autoantibodies, autoimmunity, volume 8-2011
- The General Practice Guide to Autoimmune Diseases, EASI, Y. Shoenfeld
- Guide des analyses en immunologie, Indications, critères de réalisation et limites
- Autoantibodies, Y. Shoenfeld, Third Editin, Elsevier.