7e édition

RENCONTRES EN IMMUNOLOGIE & IMMUNOTHERAPIE PRATIQUES

Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

Fabienne Jouen, CHU Rouen

Du **14** au **16** MARS 2018

UIC-P - Espaces Congrès - 16, rue Jean Rey - 75015 Paris

Sous l'égide de :

Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

- L'interprétation commence au laboratoire: jusqu'à 20 auto-anticorps dirigés contre des molécules ubiquitaires à maîtriser, correspondant à au moins moins 5 cadres nosologiques

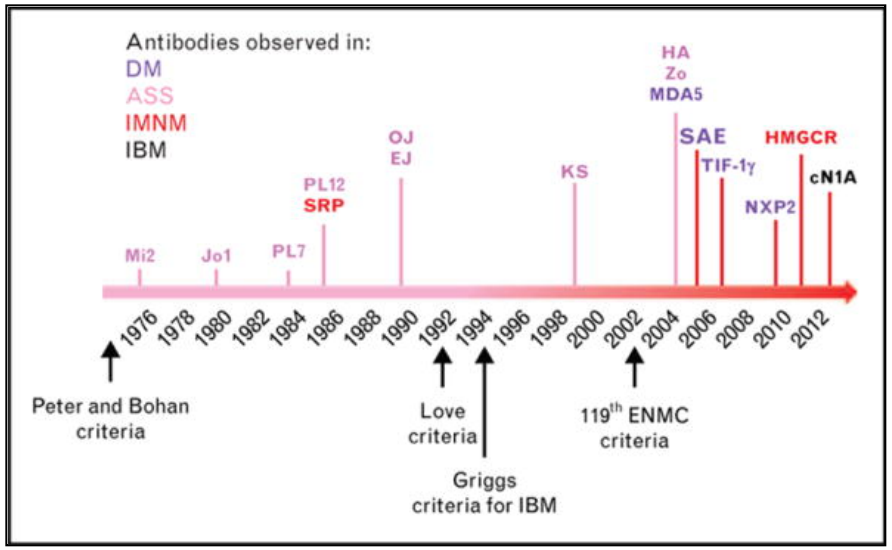


FIGURE 1 . Dates of discovery of myositis-specific antibodies/myositis-associated antibodies and idiopathic inflammatory myopathies classifications.

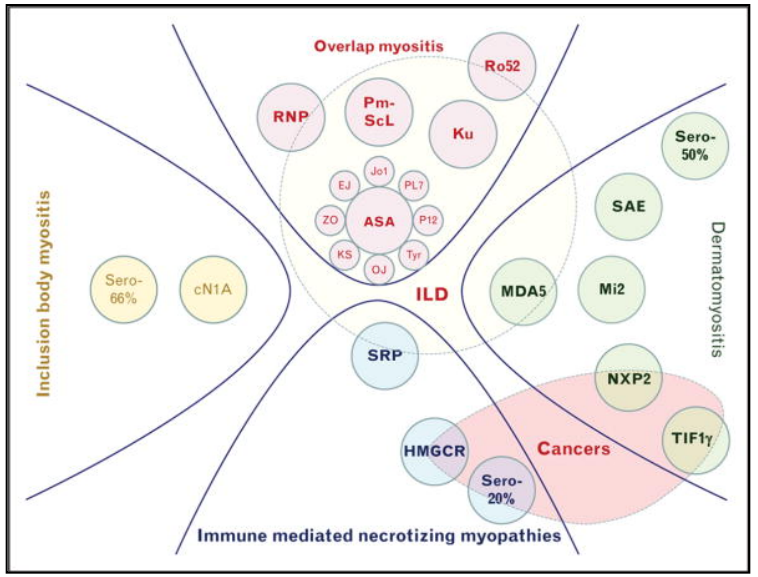


FIGURE 2 . Idiopathic inflammatory myopathies classification regarding their clinical and pathological phenotypes, but also the presence of myositis-specific antibodies/myositis-associated antibodies. ASA, antisynthetase antibodies; ILD, interstitial lung disease; Sero-, seronegative idiopathic inflammatory myopathies.

Curr Opin Neurol. 2016 Oct;29(5):662-73. doi: 10.1097/WCO.0000000000000376. Advances in serological diagnostics of inflammatory myopathies. Benveniste O[1], Stenzel W, Allenbach Y.
PMID: 27538058

Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

- L'interprétation commence au laboratoire: les dessous de la phase analytique

  Absence de standardisation ou de recommandations mais de plus en plus de littérature et d'expérience dans les laboratoires

  –De quels facteurs dépendent les performances de la phase analytique?

  - Les méthodes
    - Immunoprécipitation
    - EIA (ELISA et dérivés type FEIA, chimiluminescence)
    - ALBIA (adressable laser bead immunoassay)
    - L'immunodot +++ : mauvaise performance en terme de reproductibilité, mais aussi la seule méthode possible actuellement pour rechercher la plupart de ces Aac, 3 fournisseurs (D-Teck=Alpha-Dia, Belgique; Euroimmun, Allemagne. Trinity Biotech,-Immco, USA)
    - L'IFI sur cellules HEP2 (recherche des ANA): une aide potentielle

    → Performance diagnostic de chaque méthode

    → Reproductibilité de chaque méthode (inter lot en particulier)

  - Quel auto-antigène est utilisé dans la trousse
    - Origine de la molécule: purifiée, recombinante (si oui quelle est la cellule de production: eu ou procaryote), qualité de la purification
    - 1 ou plusieurs molécules
      - » PM/Scl: PM/Scl 1OO et PM/Scl 75
      - » Mi 2: Mi2 alpha et Mi2 béta

      Présence sur le CR non obligatoire

Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

- L'interprétation commence au laboratoire: les dessous de la phase analytique

  Absence de standardisation ou de recommandations mais de plus en plus de littérature et d'expérience dans les laboratoires

  –De quels facteurs dépendent les performances de la phase analytique?

    - Contrôles externes de la qualité (EEQ)
      - 1 seul fournisseur (UK-NEQAS) propose une distribution d'Auto-anticorps des myopathies AI, étude pilote (Réponses prévues: anti-JO1, PL7, PL12, anti-SRP, anti-Mi2, anti-PM/Scl, autres: seront ils proposés à l'évaluation?). 6 distributions par an (2 sérums par distribution)
      - Echanges inter-laboratoires (le plus souvent 2 distributions par an et au moins 2 échantillons par distribution)

    - Quel est la stratégie du laboratoire
      - Gestion des contrôles internes de qualité (CIQ)
      - Conservation des valeurs de référence du fournisseur?
      - Quelles sont les stratégies potentielles de repasses?
      - Comment intervient l'aspect des ANA dans la réponse qui est faite?

Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

- Echanges cliniciens/biologistes indispensable
  - Echanger sur la maîtrise de la phase analytique:
    - le biologiste a besoin du clinicien pour mieux connaître les méthodes qu'il propose
    - Le clinicien a besoin du biologiste pour bien comprendre le compte rendu

  - Poser correctement les indications: probabilité pré-test adaptée. Quelle est l'information demandée par le clinicien?:
    - Recherche d'argument pour le diagnostic
    - Recherche d'argument d'ordre pronostic

Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

- Les études montre globalement une bonne concordance entre les résultats des tests commerciaux et ceux des méthodes de référence (immuno-précipitation en particulier). Méthode la moins robuste sur le plan analytique: immunodot. La littérature rapporte des difficultés avec les anti-JO-1 que nous rencontrons très peu fréquemment dans notre centre (variabilité inter-centre liées à la façon de faire la réaction (manuel, automate si oui lequel)?, variabilité inter-lot des trousses des fournisseurs?)
- 1 étude récente comparative des 3 immunodots disponibles commerciaux: indique clairement une nécessité de standardisation
- Les difficultés du biologiste
  - les valeurs de référence pour chaque auto-anticorps:
    - Proposer une réponse avec une bonne spécificité tout en restant sensible pour chaque AAc
    - Prendre des dispositions de valeurs de référence qui ne soient pas à géométrie variable (en particulier influencée par la clinique)
  - Pour des raisons économiques, il peut être est difficile d'avoir plusieurs méthodes différentes

Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

Interprétation, les points forts

–Anti-Jo1 immunodot seul non recommandé

–Plus le taux est fort, plus le risque de faux positif est faible: notion non discutable mais est-ce vrai pour tous les anticorps? Equipe de Nantes propose dans l'exemple de l'immunodot Euroimmune de retenir comme significatif les valeurs supérieurs à 25 pour un seuil à 10 (mais est ce vrai pour tous les auto-anticorps, ex: anti-MDA-5 ou anti-TIF faibles ou anti-OJ forts)

–Si 2 méthodes positives concordantes, risque de faux positif lié à la phase analytique plus faible (exemple: immunodot+aspect ANA compatible, ou immunodot+ALBIA).

–Les antinucléaires ne peuvent pas servir d'étape de dépistage mais peuvent être utilisés

–Le biologiste doit fournir une réponse simple mais non dégradée sur le plan de l'information

–Les contrôles sur un nouveau prélèvement ont leur indications

–Pas d'indication validée d'utilisation des taux pour le suivi (prédiction d'un risque de réponse au traitement non évaluée en particulier). Des corrélations ont pu être montrés entre les taux et l'activité de la maladie ou les taux de CPK pour certains auto-anticorps (anti-JO1, anti-MDA-5, anti-SRP, anti-HMGCR) mais cela n'a qu'un intérêt physiopathologique pour l'instant (argument pour une pathogénicité des Aac)

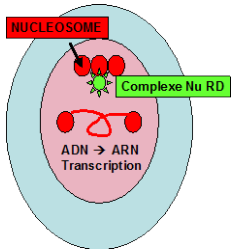
Les auto-anticorps des myopathies auto-immunes : interprétation

- L'exemple de la stratégie de Rouen:
  - Les résultats faiblements positifs sans antériorité connue sont systématiquement contrôlés (notion de repasse)
  - Les valeurs de référence des fournisseurs sont conservées, c'est le commentaire qui permet de savoir si la réponse correspond à un résultat significatif. Le commentaire indique si un contrôle est souhaitable.
  - Réalisation d'une seconde méthode en cas d'immunodot positif chaque fois que possible (mise en place de méthodes alternatives à l'immunodot =ALBIA pour anti-TIF et anti-SRP)
  - Si plusieurs auto-antigènes pour un même auto-anticorps: une seule réponse globale. Exemples:
    - Anti-Mi2: une réponse globale pour les 2 antigènes, Mi2 alpha ou béta faible += rendu positifs faibles mais non significatif sauf si aspect ANA compatible
    - Anti-PM/Scl: une réponse globale pour les 2 antigènes, PM/Scl 75 ou 100 faible += rendu positifs faible mais non significatif sauf si aspect ANA compatible
  - Anti-OJ: prudence quand à la spécificité
  - Pas d'expérience des anti-KS, ZO, HA

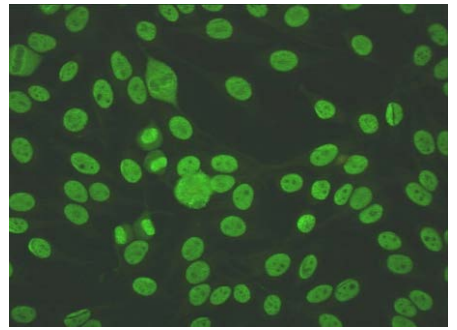
Interprétation diagnostique et pronostique

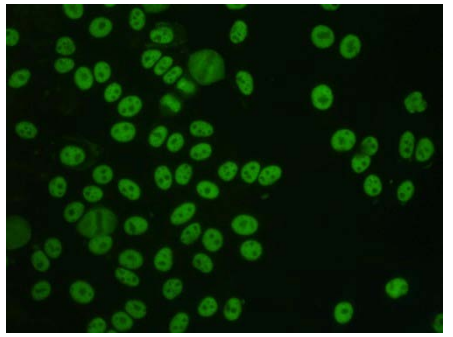
- Différente chez l'Adulte et l'enfant:
- Exemples:
  - Anti-TIF1 gamma: sur-risque de cancer non retrouvé chez l'enfant
  - Anti-MDA5: sur-risque d'atteinte pulmonaire non retrouvé chez l'enfant
  - Anti-NXP2: sur-risque d'atteinte pulmonaire et de cancer non retrouvé chez l'enfant

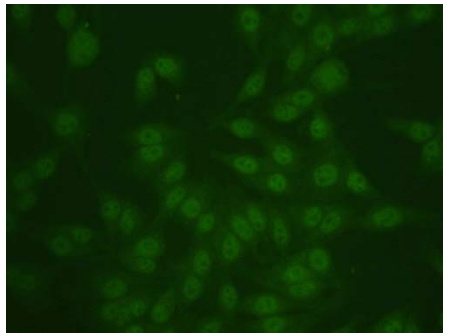
Les données suivantes ne concernent que l'adulte



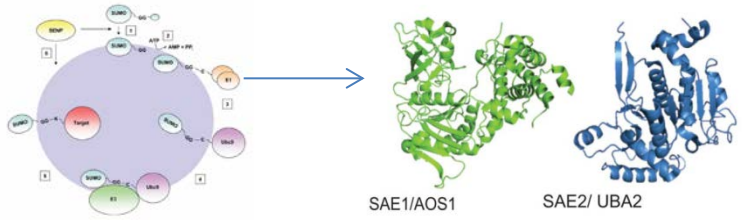
Anti-Mi2



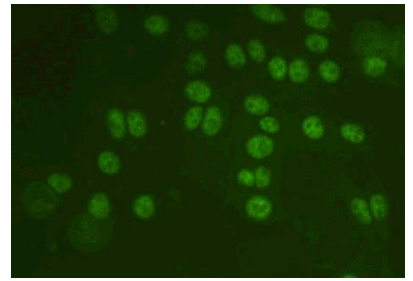


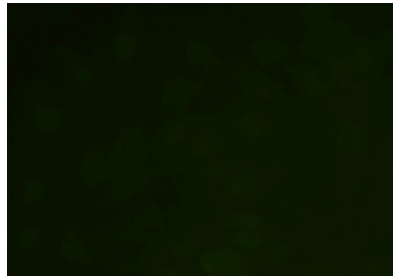


- Antigène:
  - Molécule nucléaire, protéines du complexe de remodelage de la chromatine NuRD (nucleosome remodeling-deacetylase complex). Impliqué dans la régulation de la transcription
  - Mi2 béta > Mi2 alpha
- Méthodes de détection accessible: Immunodot, (EIA)
- HEP2 : Moucheté grain fin, informatif, mais pas toujours ou très très faible
- Myopathie AI associée : Dermatomyosite
- Particularités cliniques :
  - Atteinte musculaire : oui, classique
  - Atteinte cutanée: oui, classique
  - Atteinte pulmonaire : rare
  - Atteinte articulaire: rare
  - Calcinose: non
  - Cancer: non
- Réponse au traitement:
  - Bonne
  - DM de bon pronostic



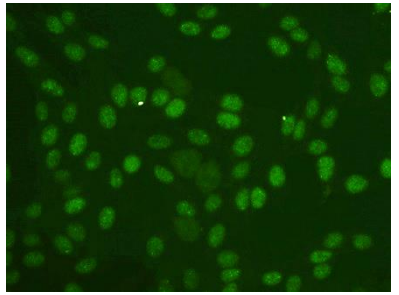
Anti-SAE

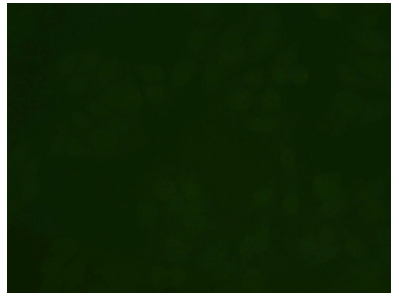




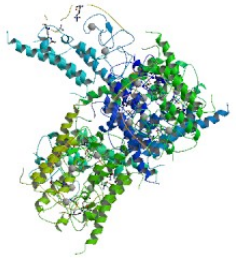
- Antigène: small ubiquitin-like modifier activating enzyme, SUMOlisation des protéines → modification de la localisation intra-cellulaire des protéines, des inter-actions protéines-protéines, de la stabilité des protéine: régulation de nombreux processus cellulaires: réplication de l'ADN, traduction maturation des ribosmes, formation du noyau, trafic nucléo-cytoplasmique, cycle cellulaire, transcription et répression de la transcription
- Méthodes de détection accessible: Immunodot (EIA)
- HEP2 :+/-, moucheté, peu informatif
- Myopathie AI associée : Dermatomyosite
- Particularités cliniques :
  - Atteinte musculaire: +/- peu sévère, début formes **amyopathiques**, dysphagie
  - Atteinte cutanée: classique, population asiatique: rash diffus érythémateux (sombre) ou pseudo-pigmenté associé à des ulcérations
  - Atteinte pulmonaire: rare sauf dans la population asiatique (PID)
  - Atteinte articulaire: rare
  - Calcinose: non
  - Cancer: non (oui éventuellement dans la population asiatique?)
- Réponse au traitement: bonne réponse au traitement immuno-suppresseur

Anti-NXP2

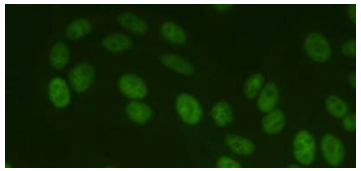


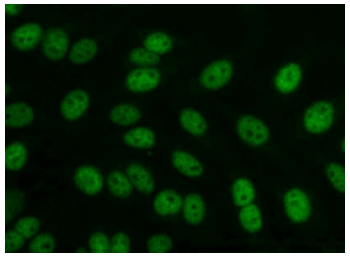


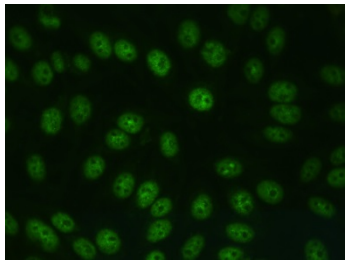
- Antigène: Nuclear Matrix Protein 2, protéine nucléaire. Protéine associée à la matrice nucléaire, capable de fixer les ARN viraux (implication dans la transcription du virus influenzae?)
- Méthodes de détection accessible: Immunodot (EIA)
- HEP2 : +/- moucheté, matrice nucléaire, peu informatif
- Myopathie AI associée : Dermatomyosite (forme juvénile mieux connues)
- Particularités cliniques : clinique Adulte/Enfant relativement proche
  - Atteinte musculaire: oui souvent importante
  - Atteinte cutanée: conf calcinose (pas toujours retrouvé chez l'adulte)
  - Atteinte pulmonaire: PID variable selon les études (adulte)
  - Atteinte articulaire: non
  - Calcinose: Oui
  - Cancer: Oui, adulte
- Réponse au traitement: plutôt résistant, persistance d'une maladie active à 2 ans fréquente



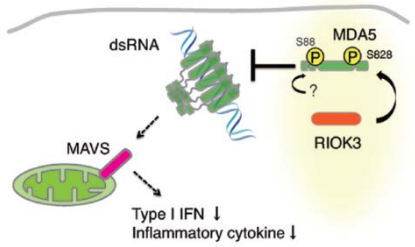
Anti-TIF1 gamma



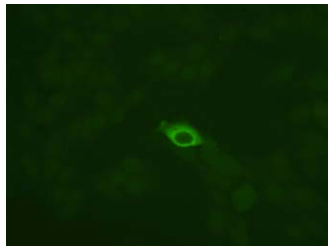


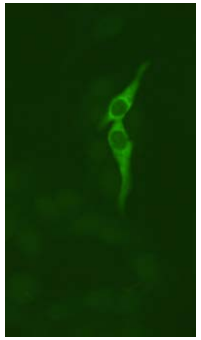


- Antigène: molécule principalement nucléaire TRIM33 (TRIpartite Motif): ubiquitine-ligase (adressage des protéines vers le protéasome)
  - Inhibe la voie du TGF béta (action pro ou anti-oncogénique selon l'environnement cellulaire)
  - Régulateur négatif du cycle cellulaire
  - Inhibiteur de virus endogène (inhibition de la voie des INF de type 1)
- Méthodes de détection accessible: Immunodot, ALBIA, (EIA)
- HEP2 : moucheté faible le plus souvent, informatif
- Myopathie AI associée : Dermatomyosite
- Particularités cliniques :
  - Atteinte musculaire: modérée à sévère, parfois amyopathique
  - Atteinte cutanée: classique de la DM, poïkilodermie, lésions psoriasis like, lésions squameuses du scalp
  - Atteinte pulmonaire: peu fréquente
  - Atteinte articulaire: peu fréquente
  - Calcinose: non
  - Cancer: oui +++, 40 à 80% de cancers associés (pic de survenu: année précédant ou suivant le diagnostic de DM)
- Réponse au traitement: variable, pronostic principalement lié au cancer



Anti-MDA-5





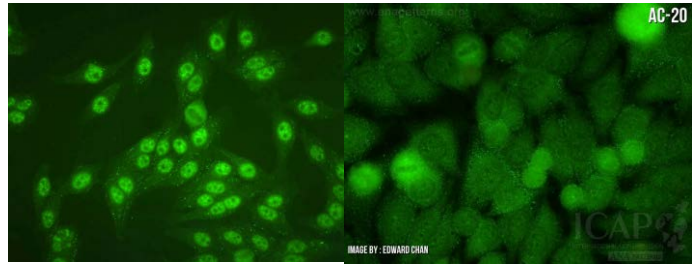
- Antigène: Melanoma Differenciation-Associated gene 5, Molécule cytoplasmique de la famille des RIG-I-like hélicase
  - ligand : ARN double brin viral, Activation:→1-réponse immune de type Interféron de type I, 2-apoptose
  - implication dans les réponses antivirale: déficit immunitaire primitif associé à l'absence de MDA5 fonctionnel → infections virales des voies aériennes supérieures à rhinovirus, virus influenza et VRS.
- Méthodes de détection accessible: immunodot (EIA)
- HEP2 : cytoplasmique sur quelques cellules (idem HMGCR), très peu sensible (< 15% dans l'expérience du centre de Rouen), peu informatif
- Myopathie AI associée : Dermatomyosite
- Particularités cliniques :
  - Atteinte musculaire +/_ : modérée voire absente (DM Amyopathique)
  - Atteinte cutanée +++: Eruption érythémateuse classique de la DM, Main de mécanicien, Papules avec un centre de couleur ivoire, Ulcères
  - Atteinte pulmonaire +++ (pronostic vital): PID, HTAP, Pneumo-médiastinite
  - Atteinte articulaire ++: Peut être inaugurale
  - Calcinose: Oui
  - Cancer: Non
- Réponse au traitement
  - Mise en place rapide d'un traitement immunosuppresseur intensif de première intension améliore le pronostic

Anti-tRNA synthétase

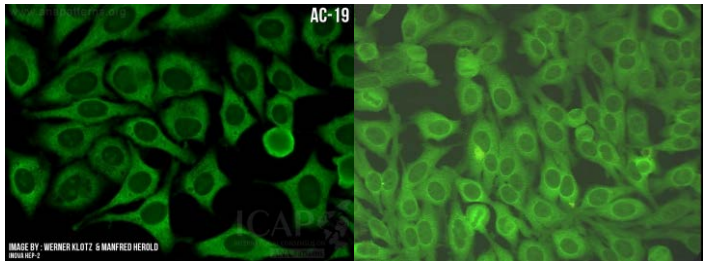
- Antigène: enzyme cytoplasmique, Aminoacyl tRNA Synthétase: → fixation de chaque Acide Aminé sur son ARN de transfert

JO1= histidyl t-RNA synthétase, PL7=thréonyl t RNA synthétase, PL12=alanyl t RNA synthétase, OJ= isoleucyl t RNA synthétase, EJ= glycyl t RNA synthétase, KS= asparaginyl t RNA synthétase, Tyrosyl t RNA synthetase, Zo= phénylalanyl t RNA synthétase

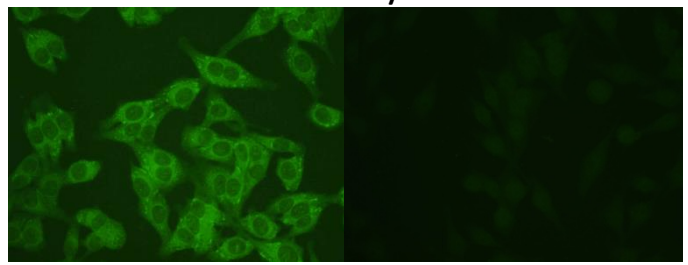
- Méthodes de détection accessible: anti-JO1=EIA (Immunodot), autres Immunodots
- HEP2 : cytoplasmique
- Myopathie AI associée : Myosite de chevauchement type syndrome des anti-tRNA Synthétase
- Particularités cliniques :
  - Atteinte musculaire: oui
  - Atteinte cutanée: main de mécanicien
  - Atteinte pulmonaire: oui+++, peut être inaugurale
  - Atteinte articulaire: oui, peut être inaugurale
  - Syndrome de Raynaud
  - Calcinose: Non
  - Cancer: Non
- Réponse au traitement: anti-JO1=bonne réponse le plus souvent



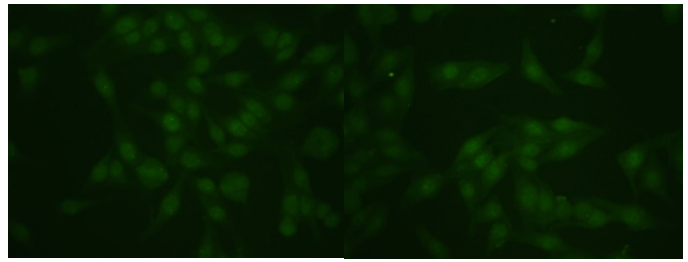
Anti-Jo1



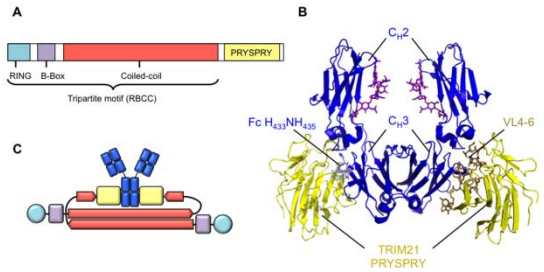
Anti-PL7/PL12



Anti-EJ



Anti-OJ

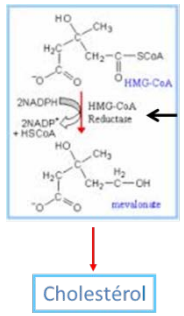


Anti-Ro52 (anti-TRIM21)

- Antigène: TRIM21, ubiquitine-ligase, facilitation de la détection des anticorps reconnaissant un virus non enveloppé (fixation de la partie Fc des Ig)

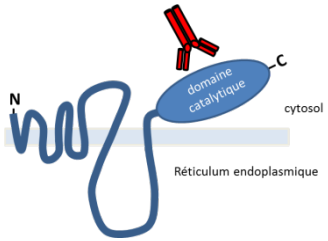
→impliqué dans la réponse anti-viral: activation de la voie du NF-kB (+/-?), lyse virale intra-cellulaire

- Méthodes de détection accessible: EIA, Immunodot
- HEP2 : rien de spécifique
- Myopathie AI associée
  - Auto-anticorps le plus fréquent au cours de Myopathies Auto-Immunes
  - Non spécifique des myopathies AI,
  - Syndrome des anti-t RNA synthétase

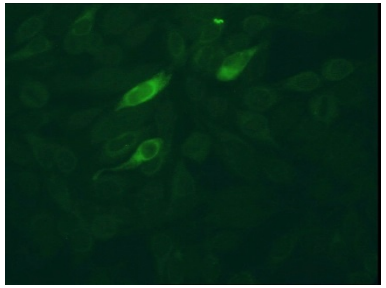


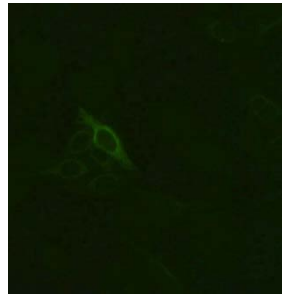
statines

Cholestérol

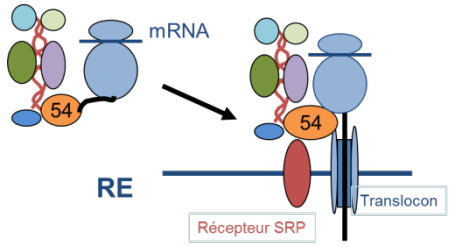


Anti-HMGCR

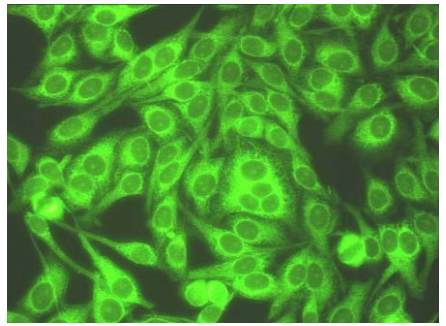


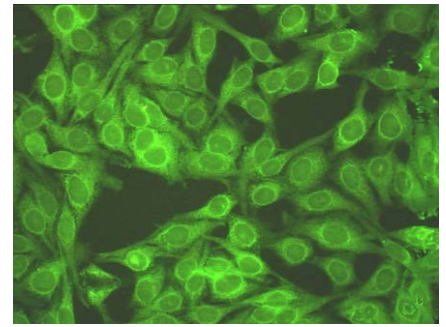


- Antigène: 3-Hydroxy-3 Méthyl-Glutaryl-CoA Réductase, enzyme du cycle du Cholestérol, cible des Statines
- Méthodes de détection accessible: EIA, Immunodot, (ALBIA)
- HEP2 : cytoplasmique, quelques cellules, faible sensibilité <<50%, dépend du fournisseur des trousses d'ANA, peu informatif
- Myopathie AI associée : Myosite Nécrosante Auto-Immune
- Particularités cliniques : association avec un traitement par Statine dans ½ à 2/3 des cas
  - Atteinte musculaire: +++, dystrophique-like possible
  - Atteinte cutanée: rare
  - Atteinte pulmonaire : rare
  - Atteinte articulaire: rare
  - Calcinose: non
  - Cancer: oui
- Réponse au traitement: nécessité fréquente d'un traitement Immunosuppresseur, rapidité de mise en place du traitement favorable sur l'évolution de la fonction musculaire

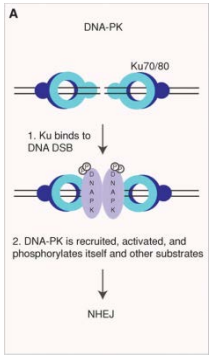


Anti-SRP

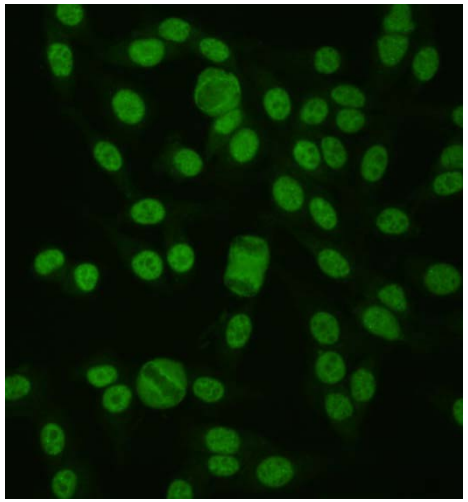




- Antigène: Signal Recognition Particle, adressage des protéines dans le réticulum endoplasmique
- Méthodes de détection accessible: Immunodot, ALBIA, (EIA)
- HEP2 : cytoplasmique, finement granuleux, informatif
- Myopathie AI associée : Myosite Nécrosante Auto-immune
- Particularités cliniques :
  - Atteinte musculaire ++++, grabatisation rapide
  - Atteinte cutanée: rare
  - Atteinte pulmonaire: 20%
  - Atteinte articulaire: rare
  - Calcinose: Non
  - Cancer: Non
- Réponse au traitement: nécessité fréquente d'un traitement Immunosuppresseur, rapidité de mise en place du traitement favorable sur l'évolution de la fonction musculaire

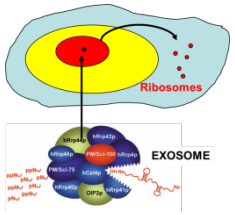


Anti-Ku

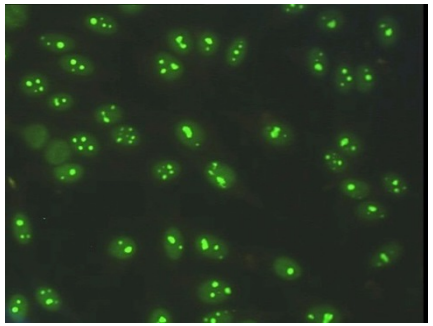


- Antigène: Nucléaire, Appartient au complexe DNA-PK (DNA phosphokinase): p350-Ku80-Ku70, Fonction: réparation de l'ADN en cas de cassure, les molécule Ku servent de Sensor pour l'ADN cassé
- Méthodes de détection accessible: Immunodot, (EIA)
- HEP2 : Moucheté, informatif mais pas toujours
- Myopathie AI associée : Syndrome de chevauchement, Scléromyosite
- Particularités cliniques :
  - Dans le cadre des Scléromyosites qui sont des maladies globalement plus sévères que les Sclérodermie Systémique: lésions cutanées diffuse, âge plus jeune, plus d'atteinte cardiaque et pulmonaire
  - Atteinte pulmonaire: Oui
  - Syndrome de Raynaud ++
  - Calcinose: Non
  - Cancer: Non

Illustration Auto-antigène: Jessica S. Brown et al. Cancer Discov 2017;7:20-37



Anti-PM/Scl



- Antigène: Nucléolaire (lieu de synthèse des ARN ribosomiaux)-Constituant de l'exosome: éxoribonucléase- Au moins 2 molécules reconnues: PM/Scl-100 et PM/Scl-75-Fonction: maturation rRNA
- Méthodes de détection accessible: Immunodot, EIA
- HEP2 : nucléolaire avec marquage du nucléoplasme, informatif mais pas toujours
- Myopathie AI associée : Syndrome de chevauchement Scléromyosite
- Particularités cliniques :
  - Dans le cadre des Scléromyosites: maladie plutôt moins sévère
  - Atteinte cutanée: main de mécanicien possible
  - Calcinose: Non
  - Cancer: Non
- Réponse au traitement: bonne réponse au traitement, bonne survie

Anti-NT5C1A (CN1A, CN-1A)

- Antigène: cytosolic 5'-nucleotidase 1A (NT5C1A): catalyse l'hydrolyse de l'adénosine monophosphate en adénosine et phosphate organique
- Méthodes de détection accessible: (ELISA)
- HEP2 : ?
- Myopathie AI associée : Myosite à Inclusion
- Peu de recul comme outil diagnostique, pas d'expérience du centre de Rouen
- Non spécifique des Myopathies Auto-Immunes: LES= 14 à 20%, Syndome de Sjögren= 23 à 36%.
- Par contre au sein des MAI: bonne sensibilité pour les myosites à inclusion= 33 à 73% et bonne spécificité =95%
- Serait associé à des formes plus graves de la maladie

Bibliographie

- Benveniste O, Stenzel W, Allenbach Y. Advances in serological diagnostics of inflammatory myopathies. Curr Opin Neurol. 2016; 29(5):662-73
- Meyer A, Lannes B, Goetz J et al. Inflammatory Myopathies: a new landscape. Joint Bone Spine. 2018; 8: 23-33
- Simon JP, Marie I, Jouen F et al. Autoimmune Myopathies: Where Do We Stand? Front Immunol. 2016;7:234
- Best M, Jachiet M, Molinari N et al. Distinct cutaneous and systemic features associated withe specific antimyositis antibodies in adults with dermatomyositis: a prospective multicentric study of 117 patients. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2017 Dec 13. doi: 10.1111/jdv.14759
- Fabien N. Anticorps des myopathies autoimmunes: actualités des techniques de détection et intérêt clinique. Revue Francophone des Laboratoire. 2016; 484: 41-46
- Lecouffe-Desprets M, Hémont C, Néel A. Clinical contribution of myositis-related antibodies detected by immunoblot to idiopathic inflammatory myositis: a one year retrospective study. Autoimmunity. 2018. DOI: 10,1080/08916934,2018,1441830
- Vulsteke JB, De Langhe, Clayes KG. Detection of myositis-specific antibodies. Ann Rheum Dis. 2018 Jan 25. pii: annrheumdis-2017-212915. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-212915