



Anticorps rares des myosites et myopathies Techniques de détection et Intérêt clinique

Nicole Fabien



Hospices Civils de Lyon

9^{ème} colloque GEAI 2016



Signes fonctionnels musculaires

Myalgie
Fatigabilité musculaire à l'effort
Faiblesse musculaire

Élévation isolée des enzymes musculaires (CK)

Myopathie génétique ou **acquise**: toxique, infectieuse, endocrinienne ou **auto-immune**?

Myosite ou myopathie nécrosante avec ou sans atteinte extramusculaire?

119th European Neuromuscular Centre (ENMC) International Workshop 2003, Hoogendijk et al. 2004; Troyanov Y and Targoff, 2005

- **Dermatomyosite: DM + DM amyopathique+ DM Juvénile**
 - **Myopathies nécrosantes à médiation immune**
- **Myosites de « chevauchement »: Myosite + signes extra-musculaires et/ou anticorps**

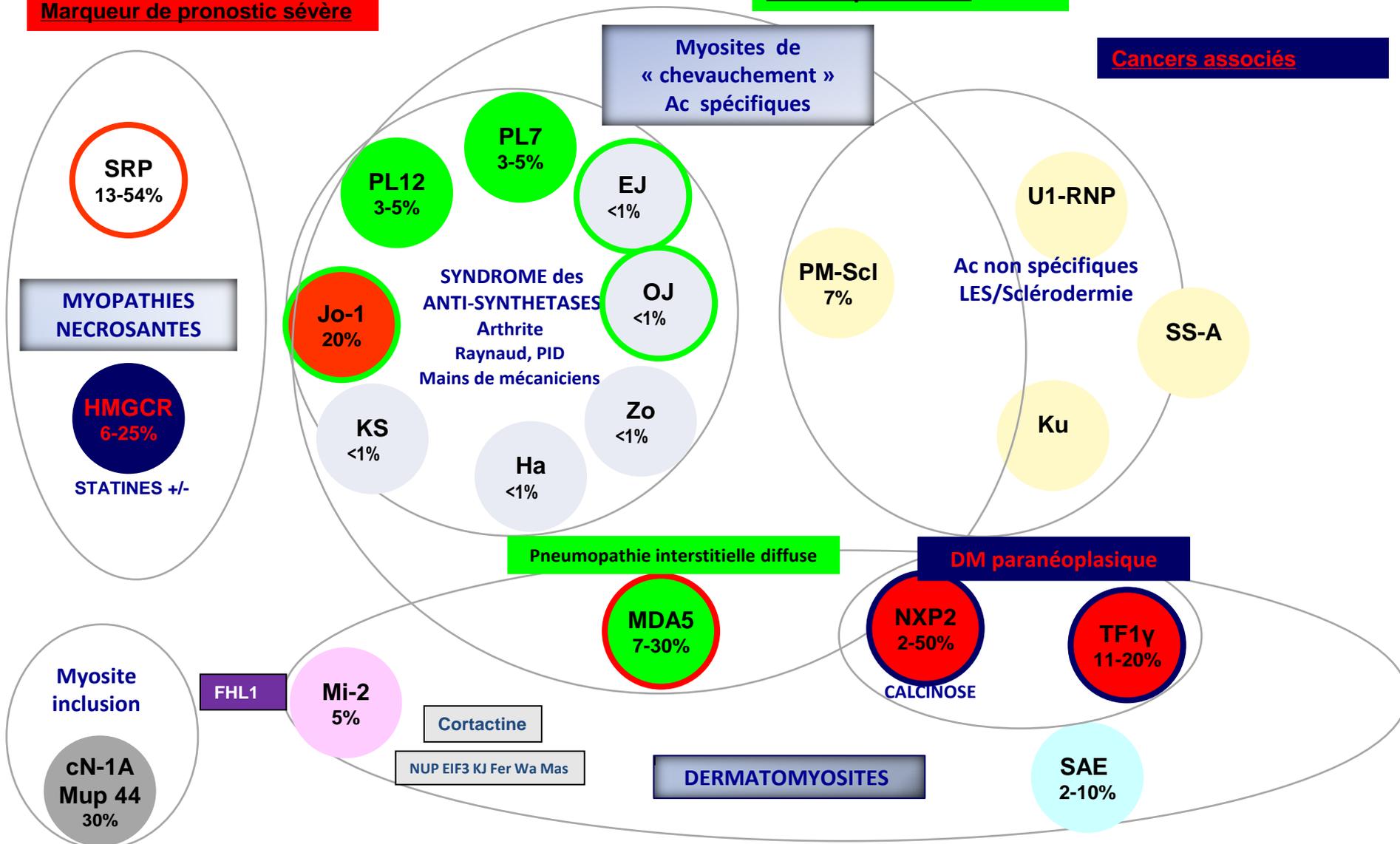
Electromyogramme
Imagerie
Histologie: biopsie musculaire
Recherche d'autoanticorps

Autoanticorps spécifiques: Diagnostic et Pronostic

Marqueur de pronostic sévère

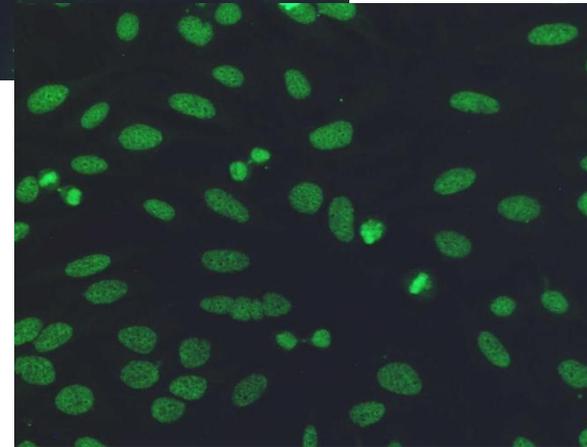
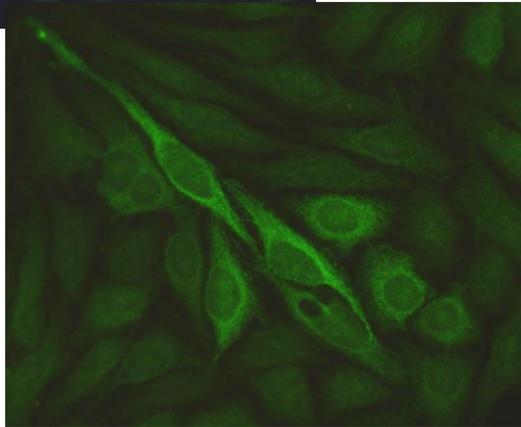
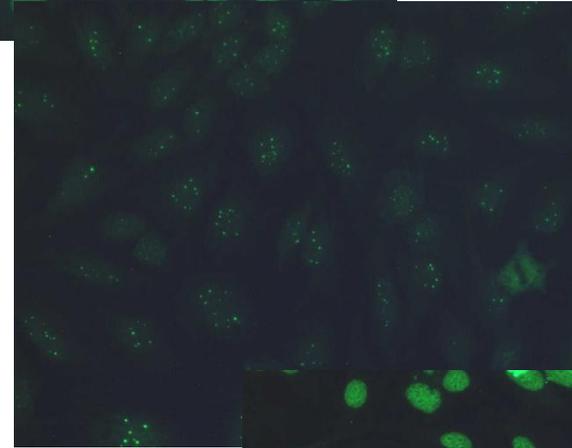
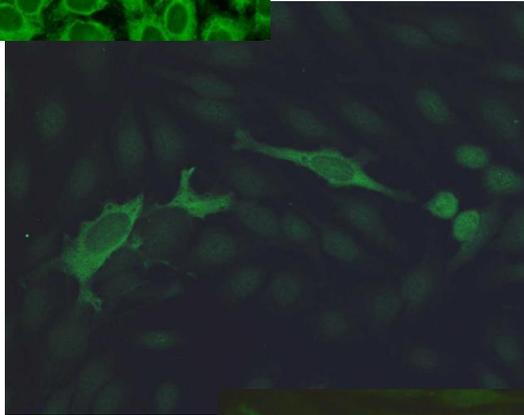
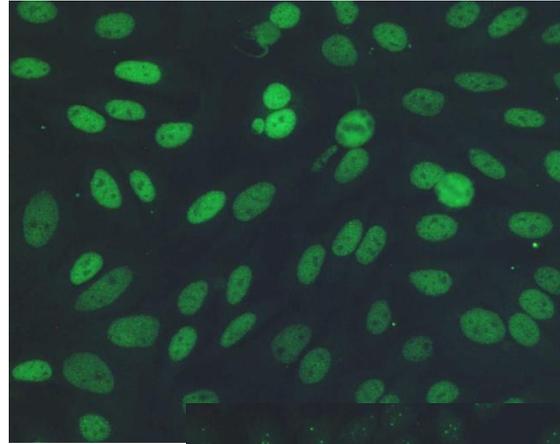
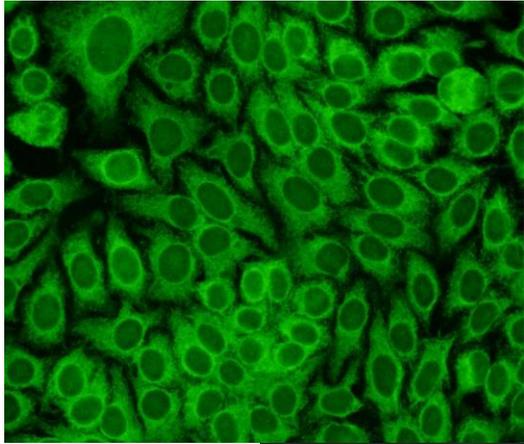
Atteinte pulmonaire

Cancers associés



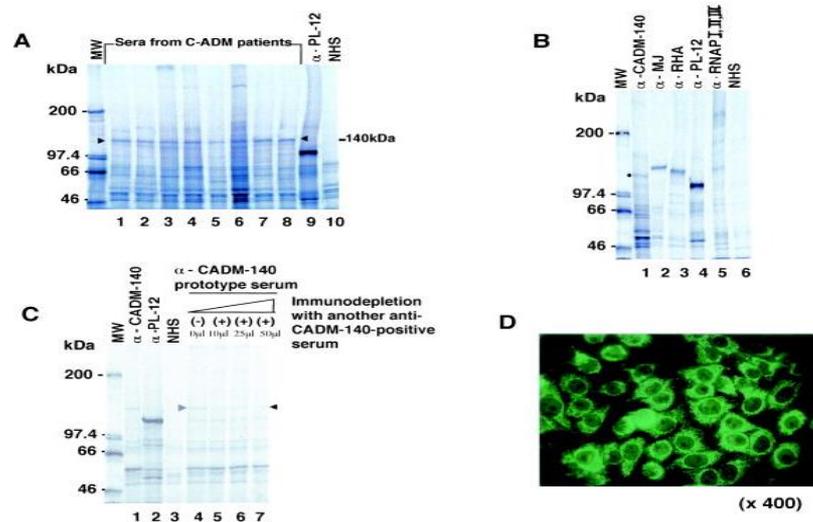
METHODE de DETECTION

Immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEp-2



METHODES d'identification

- Technique de dot
- Techniques immunoenzymatiques
 - *de type ELISA
 - *de type ALBIA (adressable laser bead immunoassay)
- Technique de radioimmunoprécipitation



Anticorps anti-CADM-140 / MDA- 5

C-ADM: clinically amyopathic dermatomyositis/ dermatomyosites amyopathiques

MDA-5 : melanoma differentiation-associated protein 5 /gène associé à la différenciation du mélanome

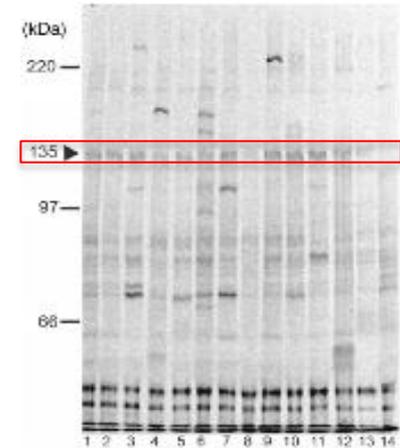
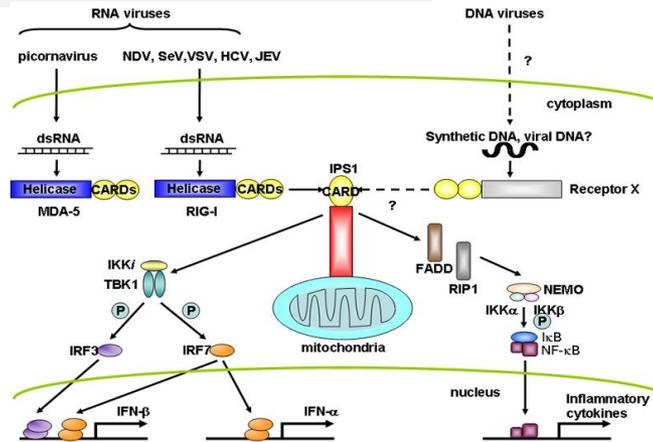
IFIH1 : IFN induced with helicase C domain protein 1

Localisation cytoplasmique

Réponse immunitaire innée antivirale:

reconnaissance ARN viraux

- . apoptose / régulation croissance cellulaire
- . via synthèse IFN: signature IFN type I des DM



The RIG-I-like receptor IFIH1/MDA-5 is a dermatomyositis-specific autoantigen identified by the anti-CADM-140 antibody
R. Nakashima et al, Rheumatology, 2010

•Dermatomyosite	13-35%
•Dermatomyosite amyopathique	53-73%
•Dermatomyosite juvénile	7-31%

*Risque +++ **Pneumopathie interstitielle diffuse** rapidement progressive et réfractaire (50%) / Adulte

***Lésions cutanées sévères:** ulcérations et papules palmaires

* **Ulcérations buccales**

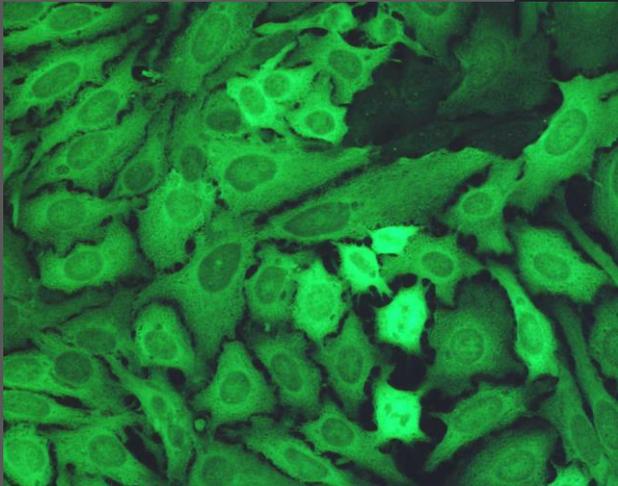
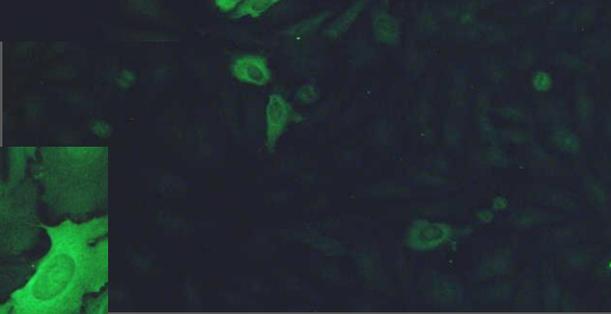
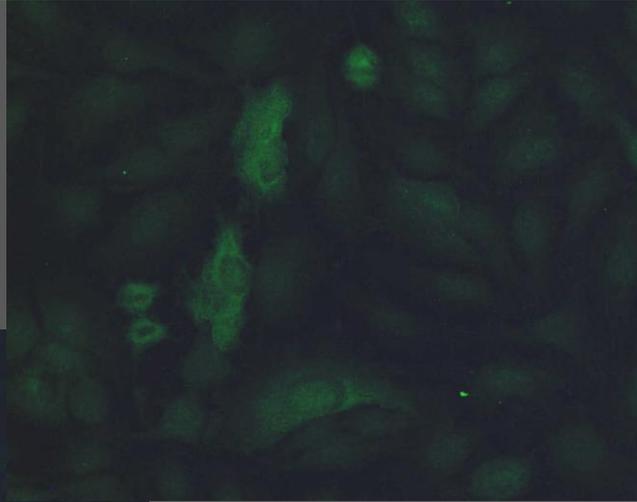
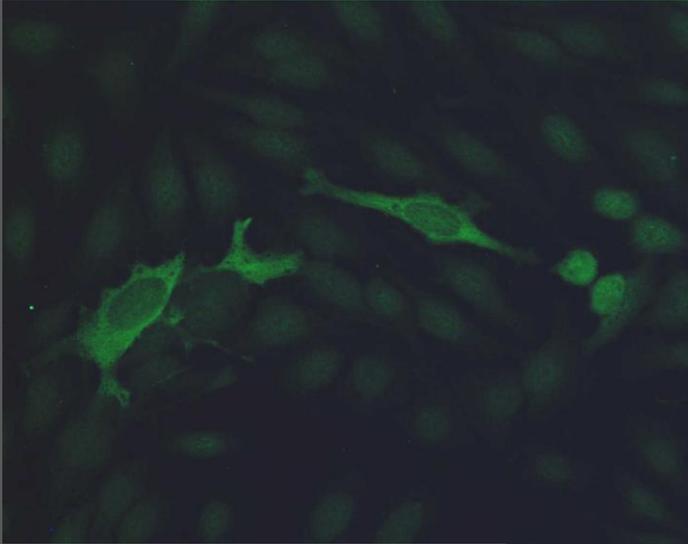
***Arthralgies, arthrites**



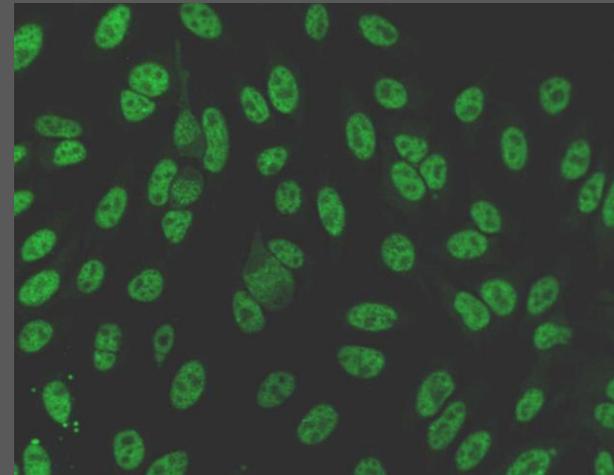
*Association cancer? Quelques cas de cancer pulmonaire

Anticorps anti-MDA5
IFI sur HEp2 : 60% + 40% -

Fluorescence cytoplasmique : 40%

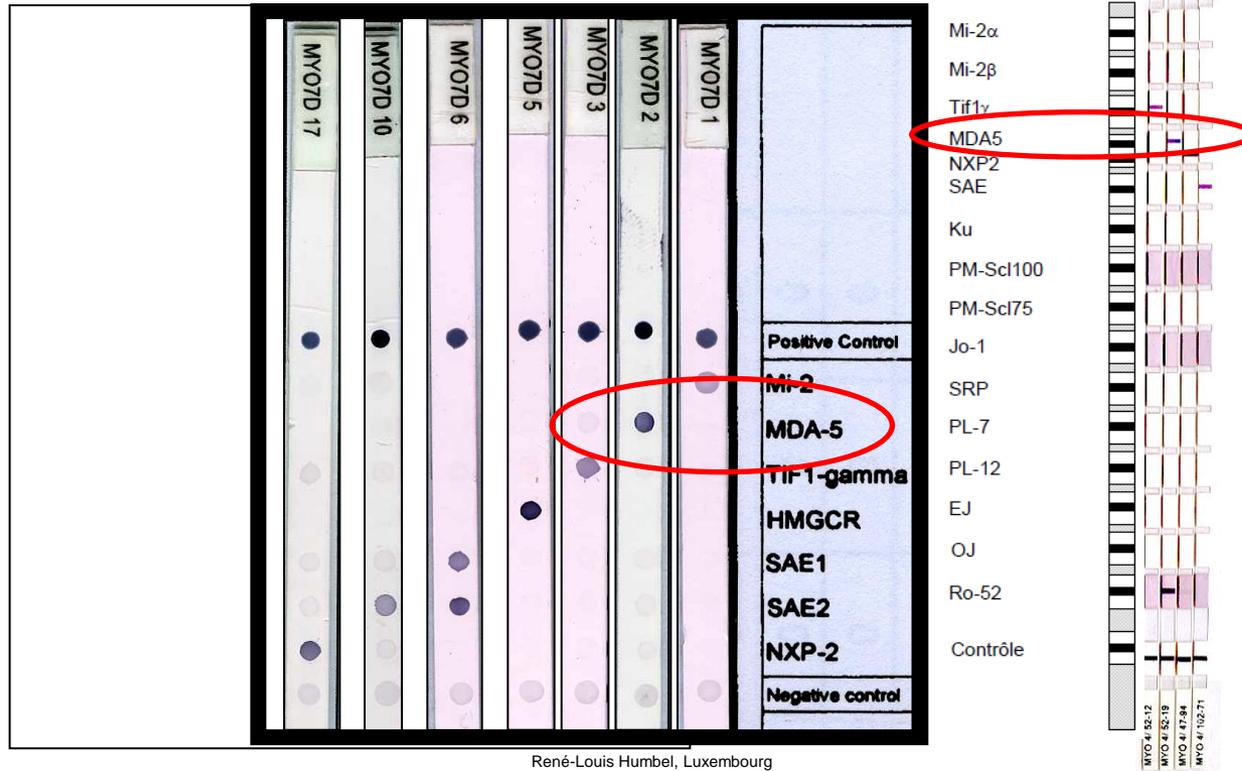


Fluorescence nucléaire mouchetée : 20%



Anticorps anti-MDA-5 : méthodes d'identification

• Technique de dot



• **Technique ELISA** (Pascale Nicaise, Bichat, PARIS; technique commercialisée):

• **Taux:** marqueur d'activité et prédictif réponse thérapeutique

Clinical Utility of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detecting Anti-Melanoma Differentiation-Associated Gene 5 Autoantibodies. Sato et al, Plos One 2016;11

• **Technique IFI** sur cellules transfectées non commercialisée

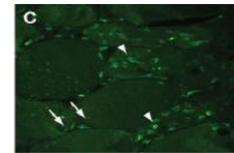
Anticorps anti-TIF1 γ = Transcriptional Intermediary Factor 1 γ

Localisation nucléaire

régulation transcription et prolifération cellulaire *maintien homéostasie tissulaire

*apoptose, régulation de p53 et carcinogénèse*Régulées / IFN

Expression +++ /cellules musculaires en régénération et certains cancers



•Dermatomyosite adulte	17-21%
Dermatomyosite	68%
Dermatomyosite amyopathique	32%
•Dermatomyosite juvénile	17-29%
•Myosite de chevauchement	33%

*Atteintes musculaires sévères

* Manifestations cutanées sévères et étendues

Ulcérations et anomalies périunguéales: 88%

*Atteintes vasculaires

*Arthrites

*Peu de PID

Cancer (adulte) : 42-100%

poumon > digestif > ovaire ou sein

58-71 % aAc + vs 9-11% aAc - ($P < 0.001$)

Sensibilité: 78%

Spécificité: 89%

LR+ : 6.8

LR- : 0.3

VPP: 58%

VPN: 95%

Cancer associé /cohorte lyonnaise : 88%

poumon (32%)/sein (26%),ORL (16%)

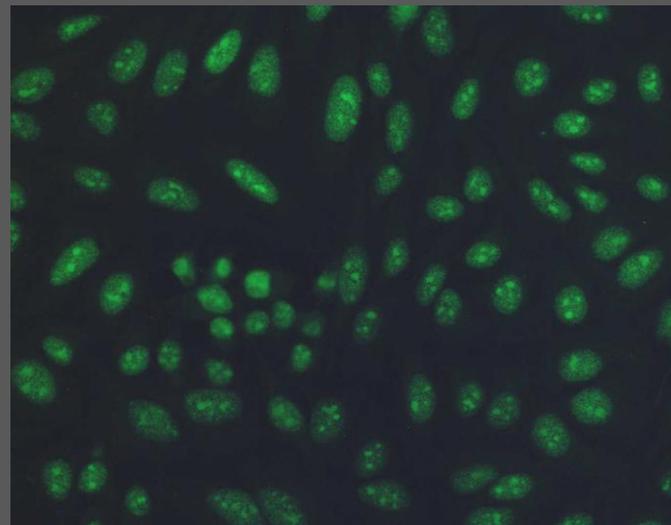
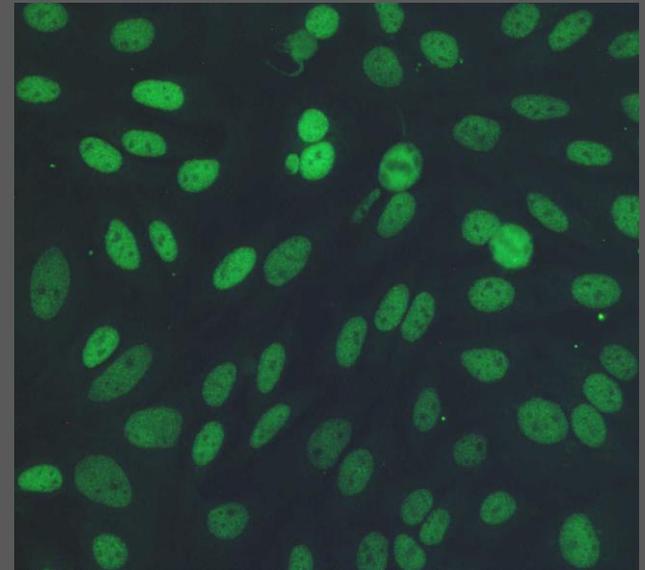
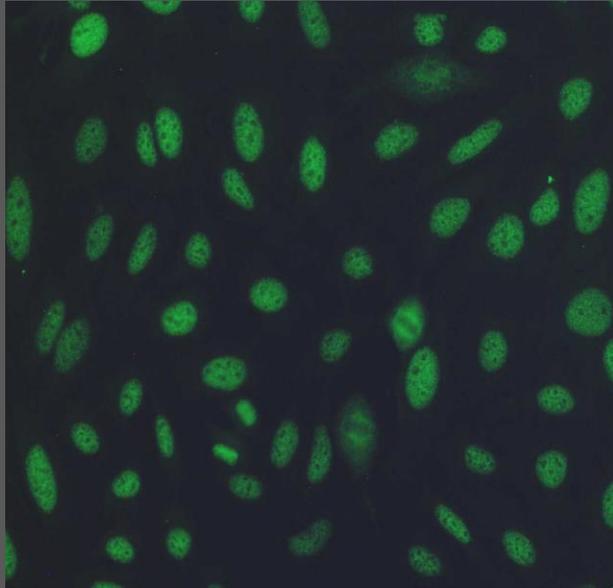
Diag concomitant : 45%

Diag postérieur à la myosite : 30%, délai médian : 10 mois (1-34)

3 décès (cancer)

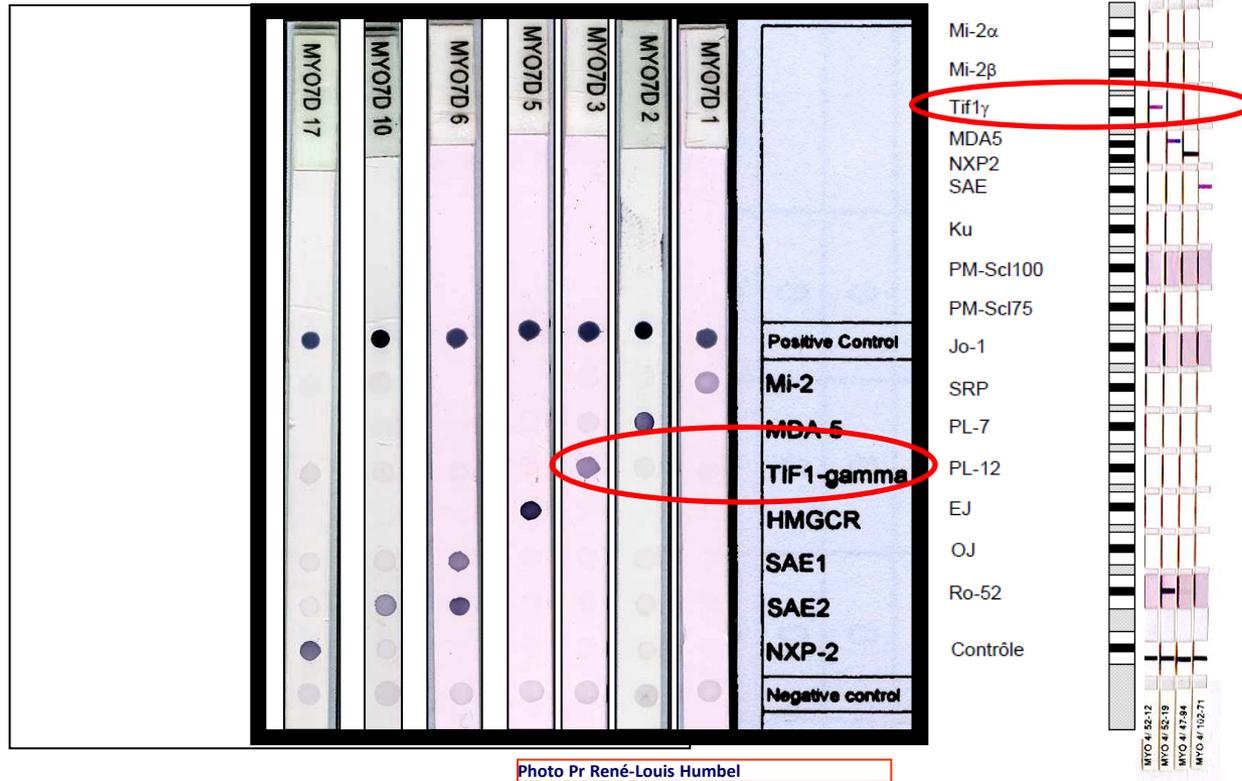
**Anticorps anti-TIF1γ
IFI sur HEp2 : 100% +**

Fluorescence nucléaire mouchetée : 100% dont 75% aspect « sablé »



Anticorps anti-TIF1 γ : méthodes d'identification

• Technique de dot



• Technique ALBIA (Fabienne Jouen, Olivier Boyer, CHU Rouen)

Anticorps anti-p140/MJ (NXP2)

Protéine nucléaire de 140 kDa différente des protéines CADM-140 et TIF1 α !

Gène KIAA0136 / : MORC 3 de la famille MORC (*microorchidia*)

Localisation nucléaire: dans les corps PML (promyelocytic leukemia nuclear bodies) associés à la matrice nucléaire

Maintien structure des corps nucléaires, Phosphorylation adressage compartiment intracellulaire/localisation cellulaire

Substrat des protéines SUMO (small ubiquitin-like modifier) « sumoylations » = modifications post-traductionnelles de protéines /fonction ou stabilité

Dermatomyosite juvénile: 18-50*%

Marqueur de sévérité

Calcinose : (54% NXP2 + vs 15% NXP2 -) ➡ **cohortes**

Ulcérations cutanées

Atteintes musculaires sévères avec amyotrophie et contracture

Vascularites digestives, tbes de la déglutition, dysphagie

Tansley et al. Rheumatology 2014, Bodoki et al. Autoimmunity Reviews 2014, Shah et al. Medicine 2013, Gunawardena et al. Arthritis Rheum. 2009, Espada et al. J Rheumatol. 2009

***Etude multicentrique Dr M. Guarella: 60 DJM Lyon/Marseille/Paris**

Dermatomyosite de l'adulte: 2-30%

Marqueur de sévérité

Atteintes musculaires

Atteinte pulmonaire?

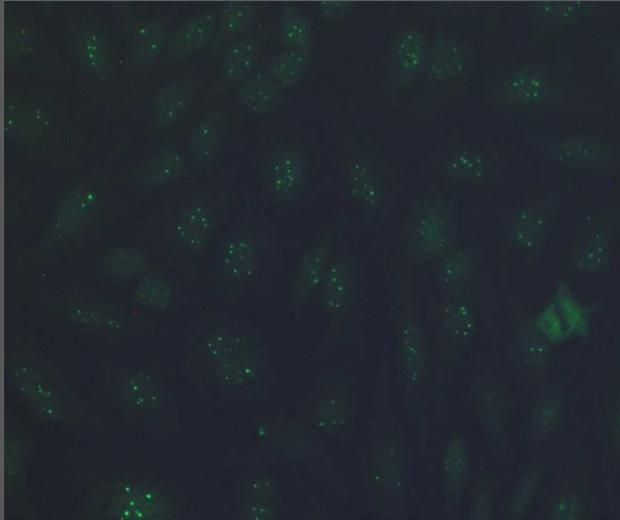
Cancers associés: 22-38% / suivi 3 ans

Ac anti-NXP-2 ou TIF-1 γ + identifient 83% des patients avec un cancer-associé/DM

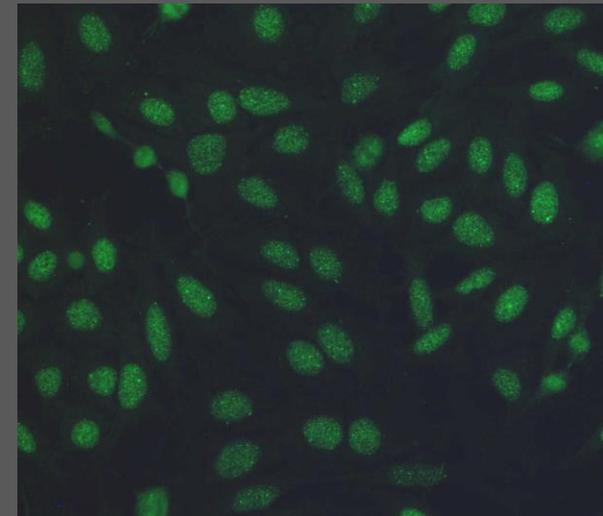
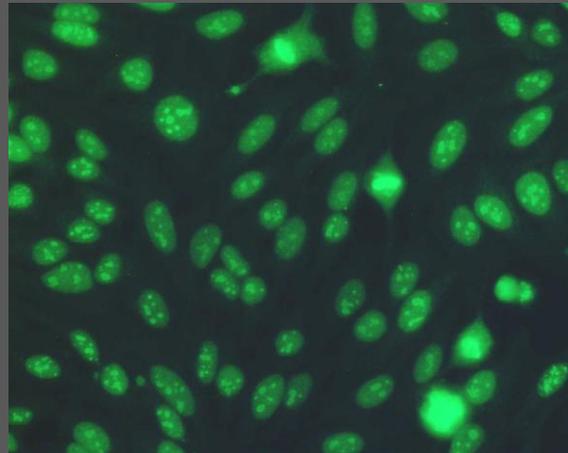
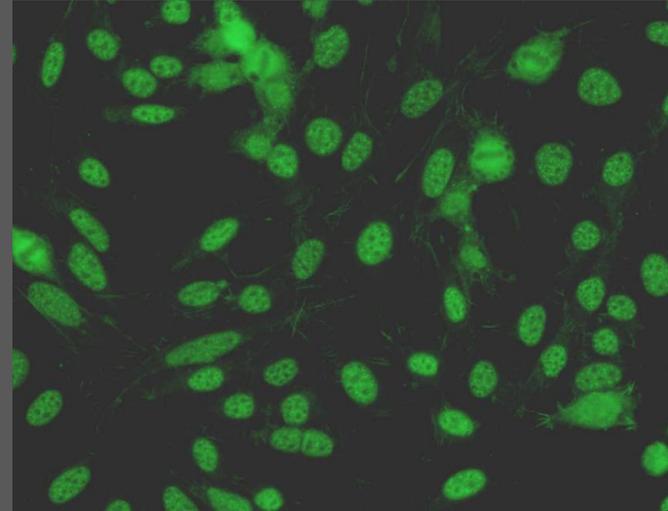
Ceribelli et al. Arthritis Research & Therapy 2012, 14:R97 et Fiorentino et al, Arthritis & Rheumatism 2013 Volume 65, 2954–2962

Anticorps anti-NXP2
IFI sur HEP2 : 80% + 20% -

Fluorescence de type dots nucléaires : 30%

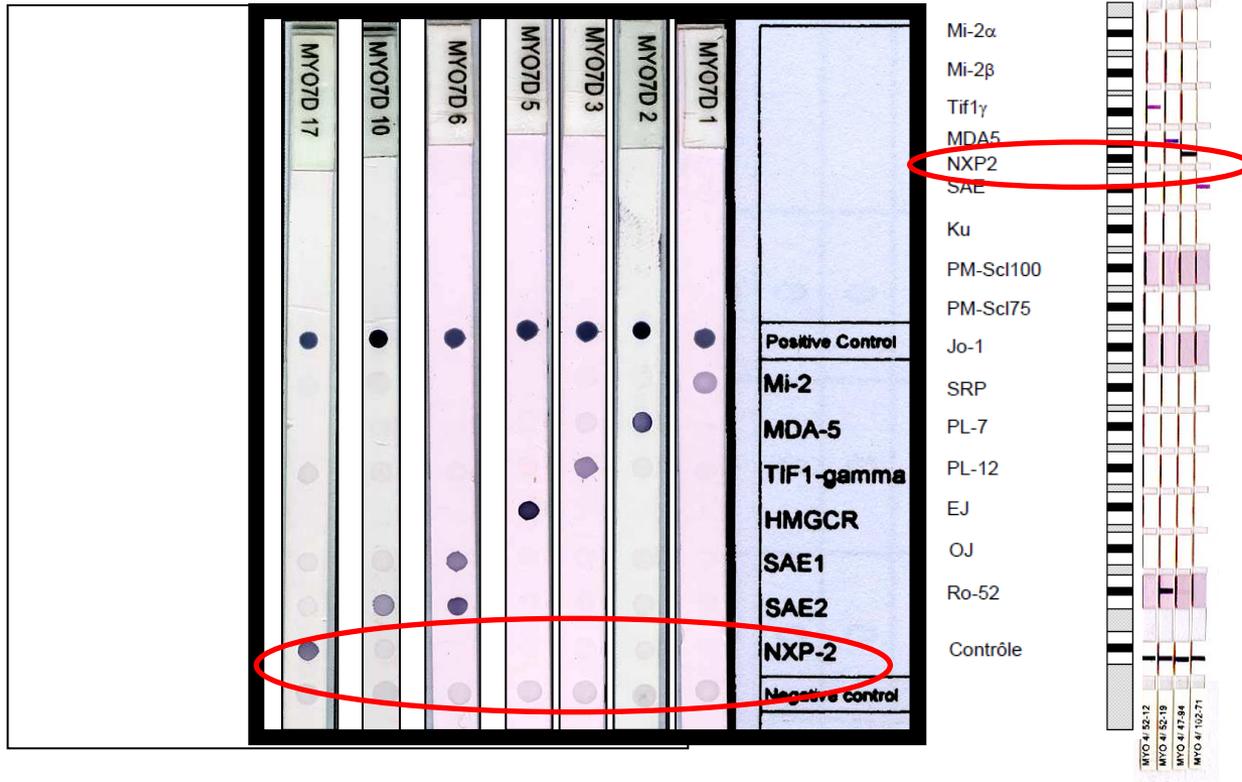


Fluorescence nucléaire mouchetée : 50%



Anticorps NXP2: méthodes d'identification

- Technique de dot



Anticorps anti-small ubiquitin-like modifier (SUMO) activating enzyme (SAE)

Antigènes cibles 40 et 90 kDa, **localisation nucléaire**

2 hétérodimères SAE1 et SAE2

enzymes/mécanismes de sumoylations: liaison SUMO à une lysine de la protéine cible

Dermatomyosite : **2-8%**

Dermatomyosite amyopathique: **8-10%**

Dermatomyosite juvénile : **0.6%**

Atteinte cutanée

évolution secondaire vers une **atteinte musculaire** +/- systémique

Peu de PID

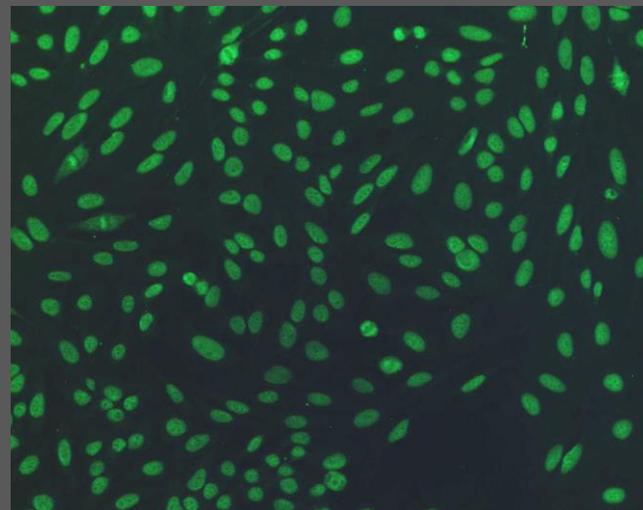
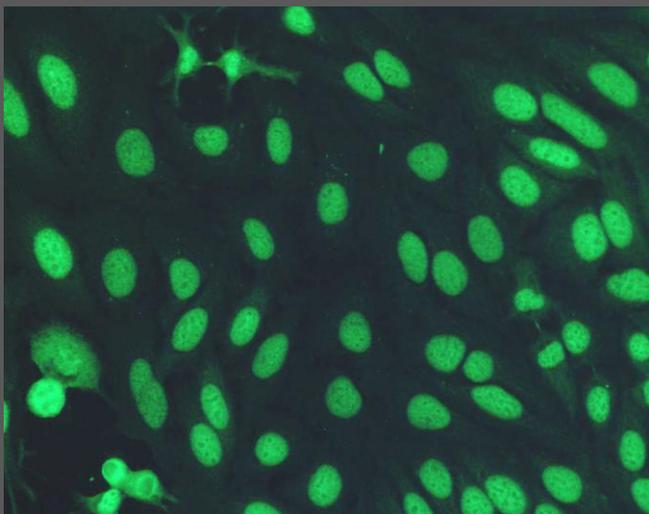
Dysphagie

Quelques cas cancer pulmonaire

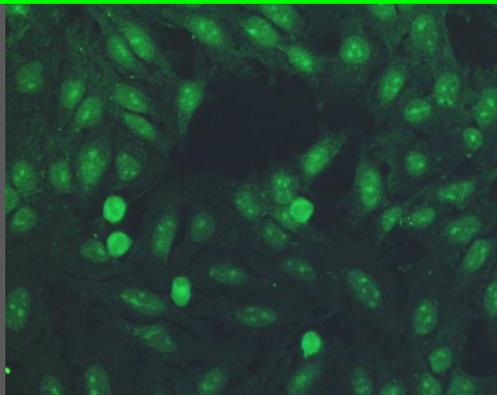
Anticorps anti-SAE 1 ou 2

IFI sur HEp2 : 100% +

Fluorescence nucléaire mouchetée : 80% dont 60% aspect « sablé »

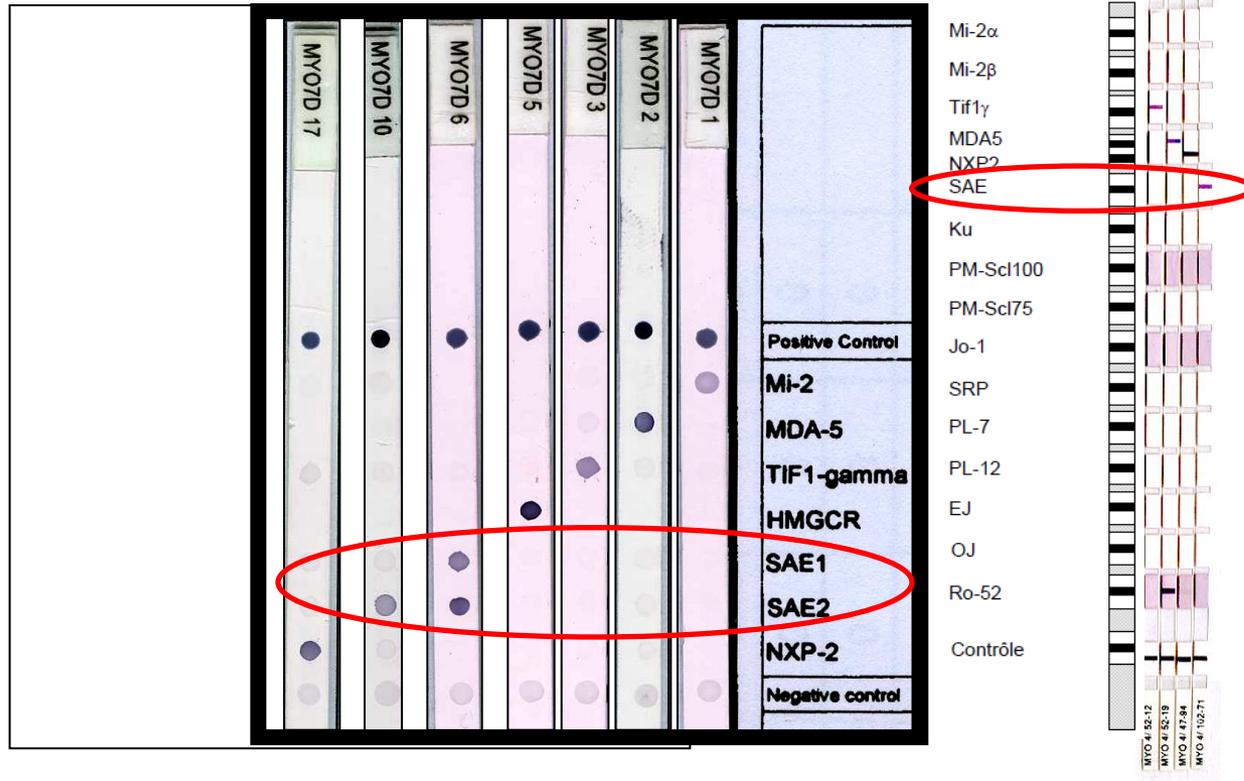


aspect non « sablé »



Anticorps SAE 1 et 2 : méthodes d'identification

- Technique de dot

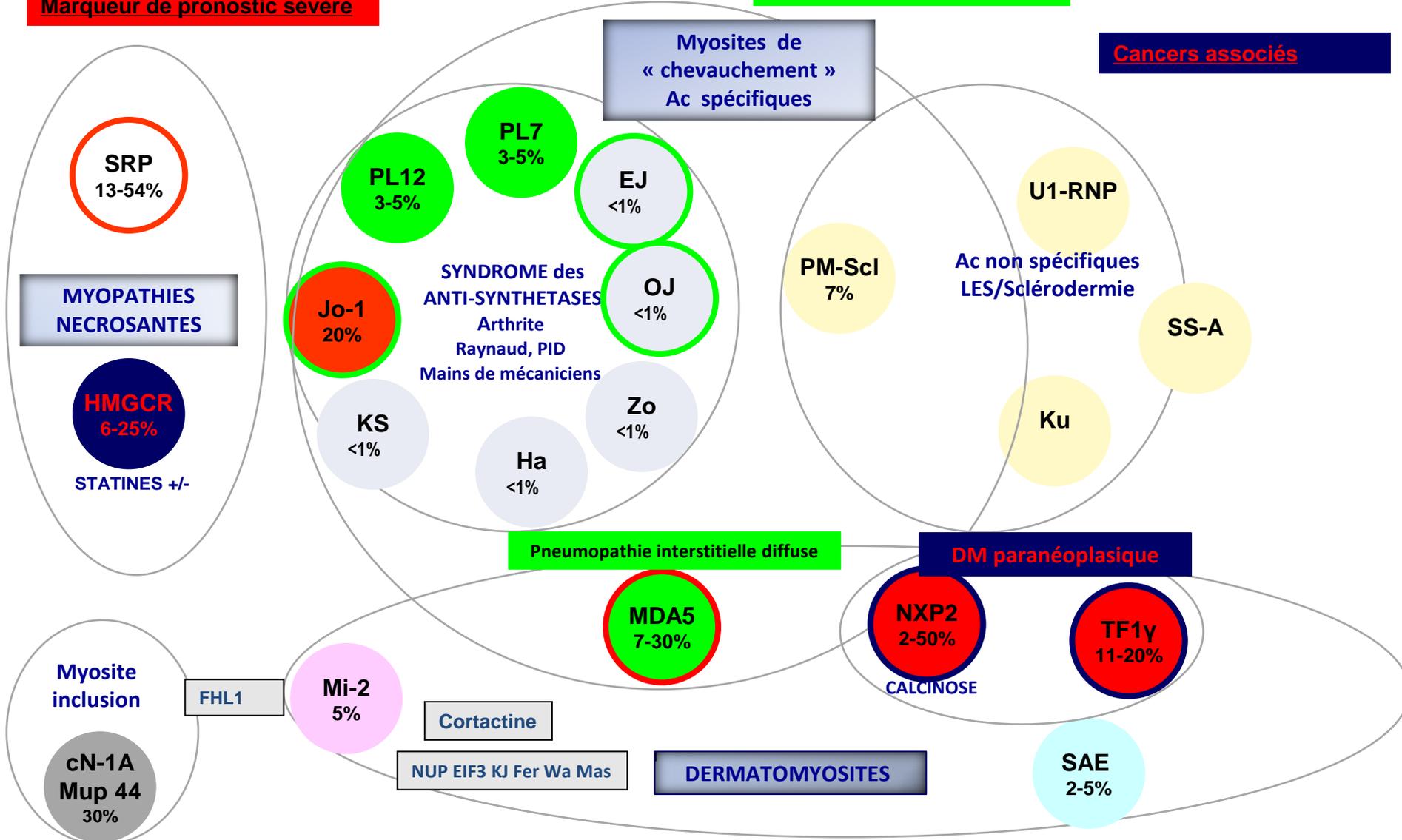


Autoanticorps spécifiques: Diagnostic et Pronostic

Marqueur de pronostic sévère

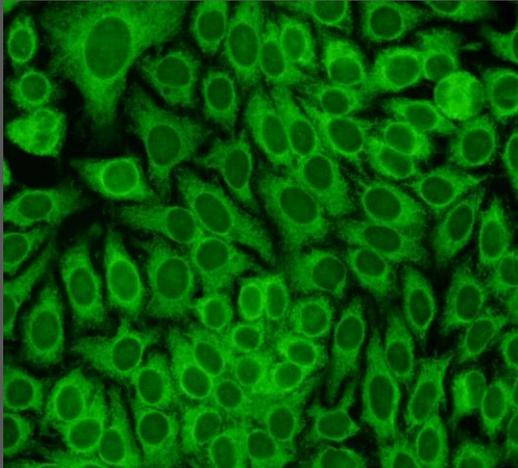
Atteinte pulmonaire

Cancers associés

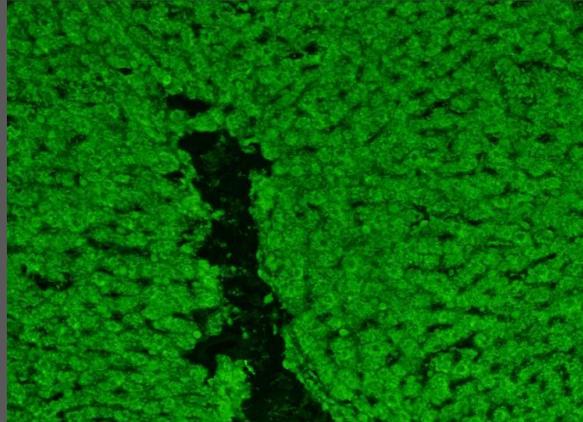


Anticorps anti-Signal Recognition Particle (SRP)

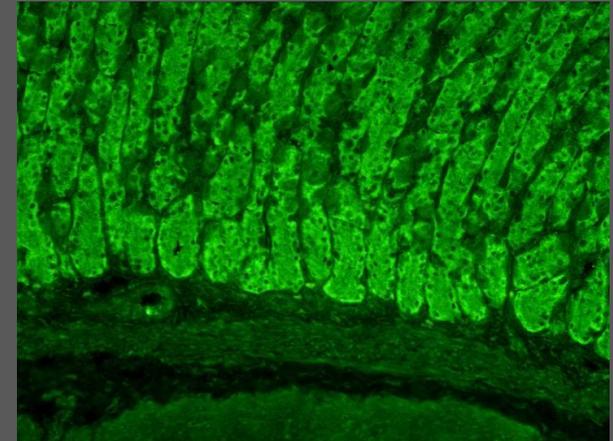
ARN7S+ 6 protéines (SRP9,14,19,54,68,72) : **localisation cytoplasmique**
passage des protéines synthétisées par les ribosomes à travers la membrane du RE
épitopes localisés au niveau de l'extrémité N-terminale et du domaine central G de la sous-unité **SRP54**



HEp2
Cytoplasmique
finement granulaire



Foie
Cytoplasme des hépatocytes
grosses inclusions irrégulières



Estomac
Cytoplasme cellules principales
fluorescence homogène

Technique de dot

Technique ALBIA (F. Jouen, CHU Rouen)

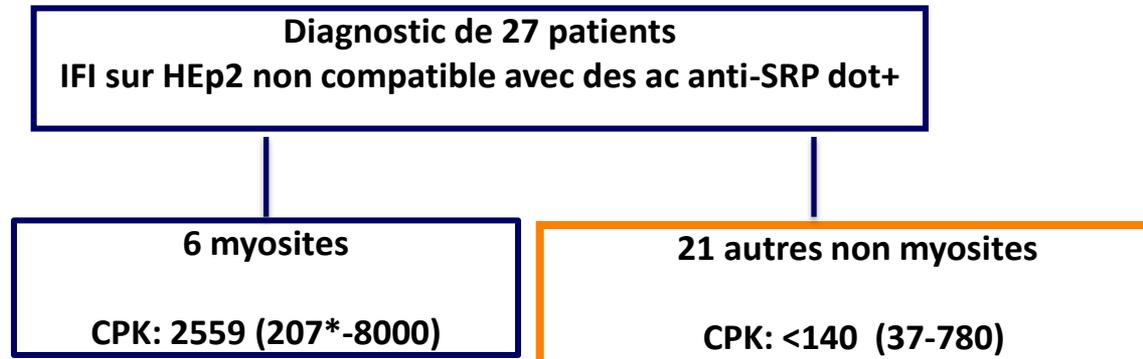
Technique ELISA (non commercialisée)

Anti-signal recognition particle autoantibody ELISA validation and clinical associations. ggarwal R, et al. Rheumatology 2015;54:1194-9

Myopathie nécrosante à médiation immunitaire: 5-17%

Myopathie nécrosante à anticorps anti-SRP

Rares cas de DM / DJM



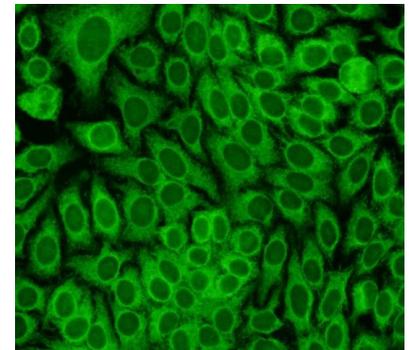
- MAI**
LES et lupus-Sharp
Sclérodermie
Wegener
Sd de Gougerot-Sjögren
- Non MAI**
Élévation isolée des CPK
Myalgies diffuses
2 sarcoidoses
IDM et péricardite récidivante
2 PID isolées
Tétraparésie carentielle
dysplasie fibromusculaire
MDH
Papulose lymphomatoïde
embolie pulmonaire
éruption érythémato-maculeuse
dysphagie « obsessionnelle »
maladie de Horton
SEP

Présence d'Ac anti-SRP et intérêt diagnostique

Dot positif

ET

Fluorescence cytoplasmique sur HEp2 compatible

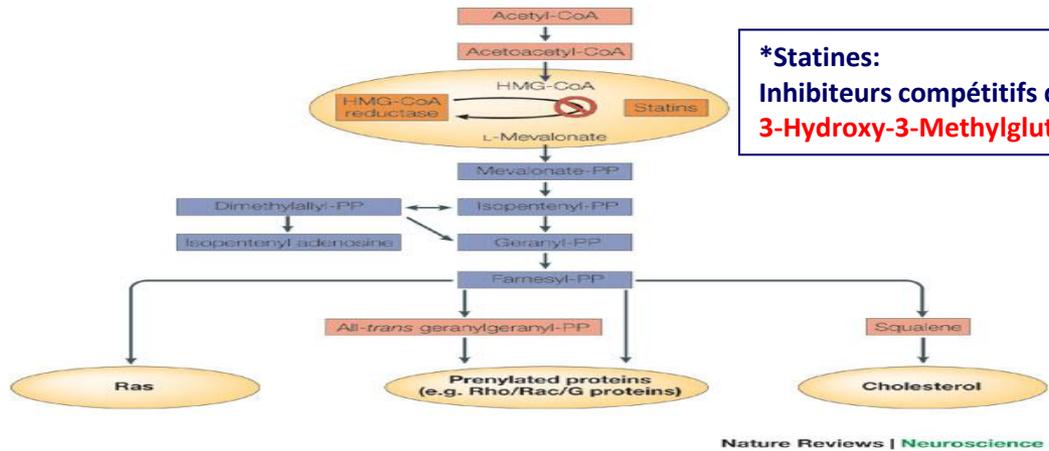


Signes cliniques: données de la littérature et cohorte étude du GEAI

- **Myopathie** : Forme subaiguë mais aussi chronique
- **Déficit musculaire sévère**
- **CPK ++++**: > autres myosites, > 5 000 UI/L voire > 25 000 UI/L
- **Atteinte extra-musculaire controversée** : Fréquence différente en fonction des cohortes
 - Atteinte cardiaque
 - Manifestations pulmonaires (PID)
- **Résistance aux corticoïdes ?**
- **Corticodépendance fréquente** + association d'immunosuppresseur souvent nécessaire
- **Pronostic sévère ?**: variable selon les cohortes
 - Mortalité
 - Rechute
 - Perte de la marche
 - Pas de lien avec cancers
- **Histologie typique**

Anticorps anti-HMG-CoAR

Découverte: myopathies persistantes après arrêt des statines



*Statines:

Inhibiteurs compétitifs de l'enzyme clef synthèse cholestérol:

3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A réductase (HMG-CoA Réductase)

*Prévalence dans les myopathies nécrosantes

6-25%

40-60% statine / 60-40% sans statine

*Spécificité

> 99%

Mammen A.L et col. *Arthritis Rheum* 2011 ; Drouot L et al. *Arthritis Res Ther* 2014; Musset L, et al. *J Immunol Res* 2014

*Corrélation taux d'anti-HMGCR / CPK +++ (7000 voire > 15000)

Werner J.L et al. *Arthritis Rheum* 2012; Allenbach Y et al. *Medecine* 2014

* Lien cancers ++ : tout type

Allenbach Y et al. *Brain* 2016;

Techniques d'identification

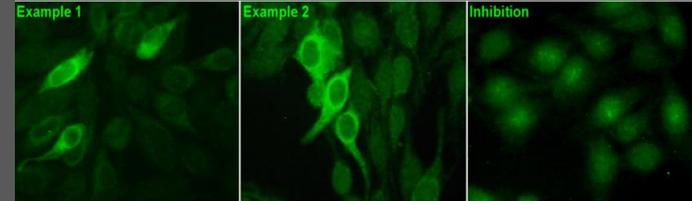
*Technique de dot

*Technique ELISA

*Technique ALBIA et ALBIA-NAM (HMGCR + SRP) (Fabienne Jouen, Olivier Boyer, CHU ROUEN)

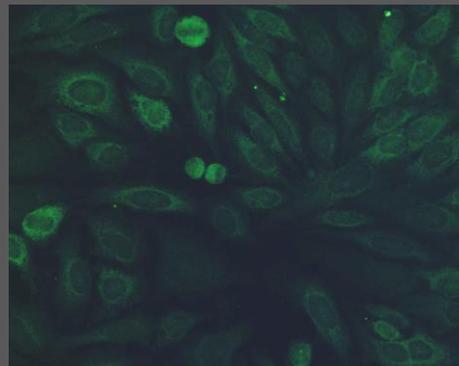
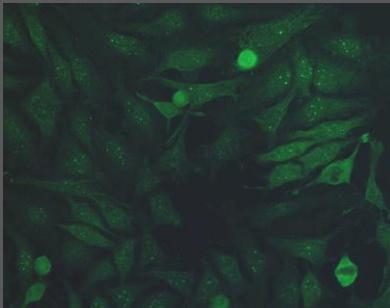
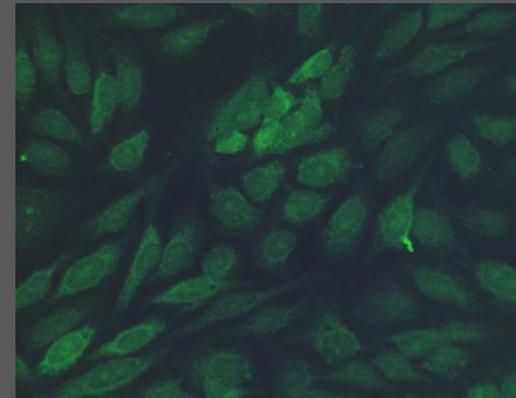
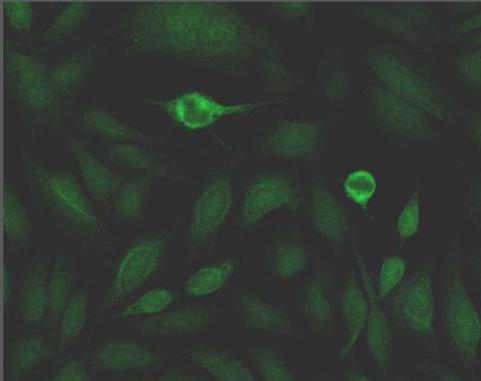
*Technique de chimioluminescence

Anticorps anti-HMGCoAR
IFI sur cellules HEp2 ? :
parfois cytoplasmique typique...



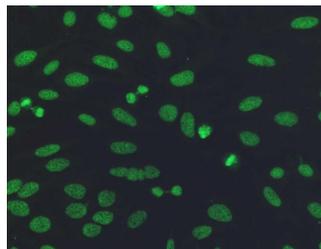
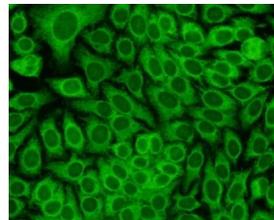
Drouot L et al. Arthritis Res Ther 2014

En routine dans la vraie vie....:



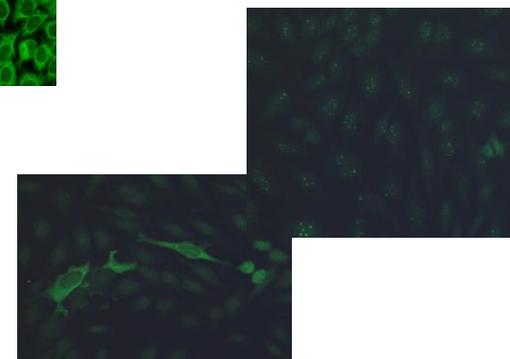
Dépistage en IFI

SRP: oui



TIF/SAE: oui en majorité

NXP2/MDA5/HMGCR: non



Identification par DOT, ELISA, ALBIA, chimioluminescence, IFI Cellules transfectées?

Cohortes multicentriques: Performances diagnostiques différents tests d'identification

Classification histologique

Intérêts diagnostique et pronostique

- Ac anti-MDA5 : **Manifestation pulmonaire**
- Ac anti-TIF1 γ / NXP2 : **Cancer associé / Atteintes musculaires DJM**
- Ac anti-HMGCR: **Cancer associé**
- Prochainement...autres anticorps: anti-FHL1 spécifique du muscle et Mup44/cN-1A

Médecins Hospices Civils de Lyon
Médecine interne
Pneumologie
Dermatologie
Rhumatologie



Dr. A.MARQUET
Dr. J.C LEGA
Dr C.PICARD
Pr. A.HOT
Dr. S.DEBARBIEUX
Dr. A.BELOTPr. V.COTTIN
Dr. N.STREICHENBERGER
Pr. J.NINET
Pr. D.JULLIEN
Pr. I.DURIEU



Lorna, Annick, Florence, Geneviève, Gilles, Marie-Agnès
Sophie, Sophie , Christine, Anne-Marie

