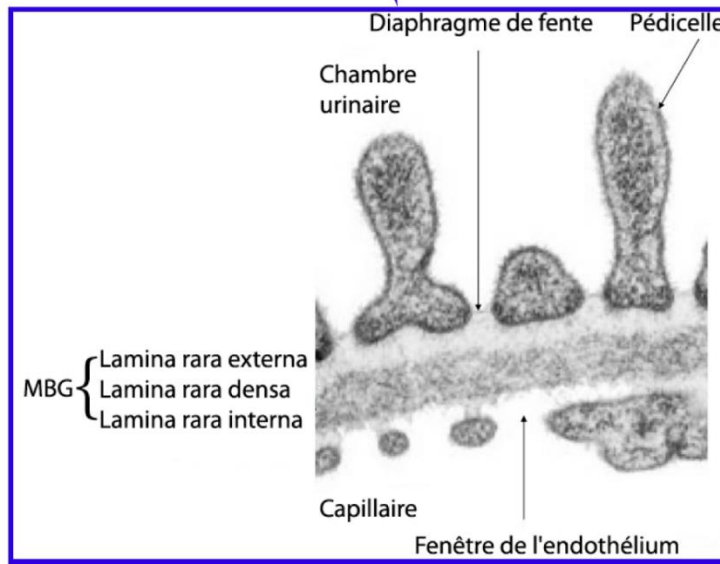
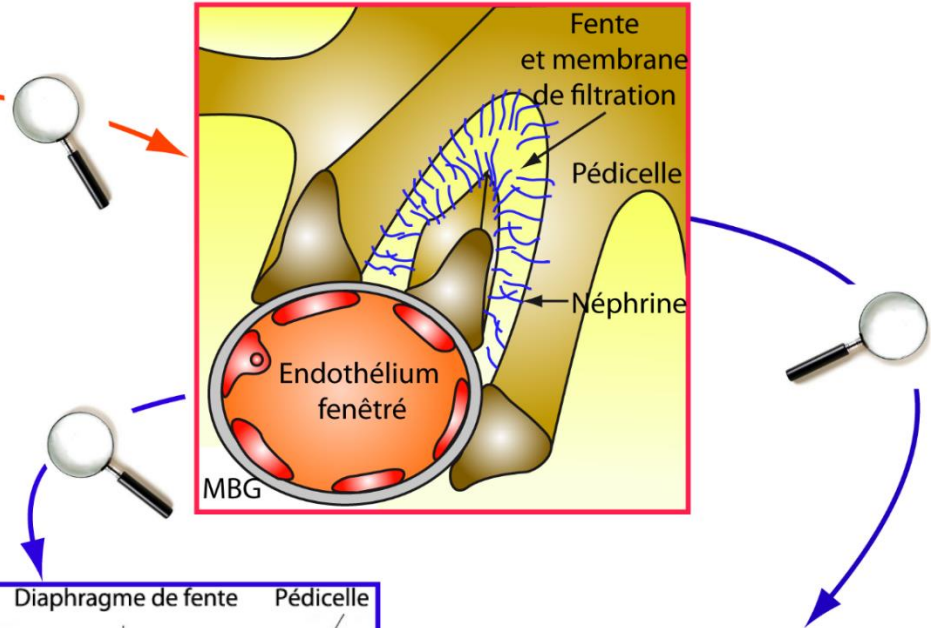
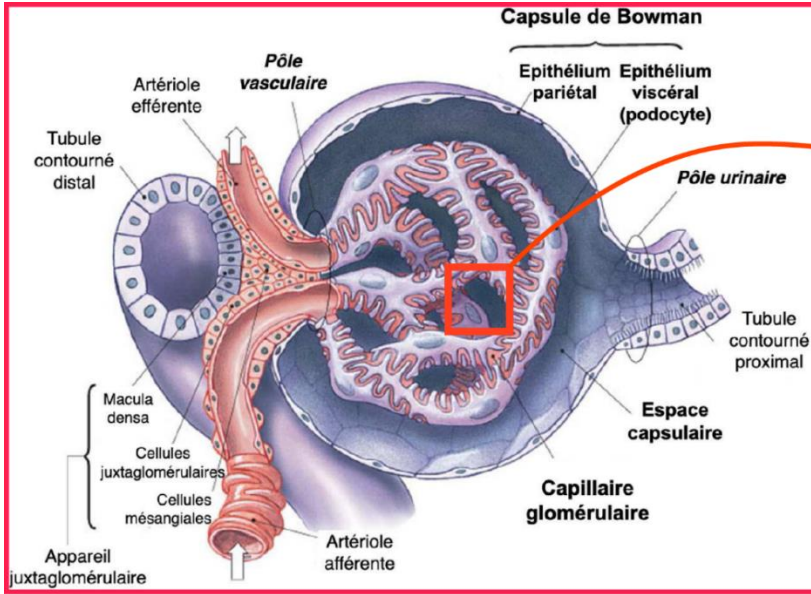


# ANTICORPS DANS LA GLOMERULONEPHRITE EXTRA-MEMBRANEUSE

Eric Ballot, Florent Schmitt, Dounia Khélifi-Touhami

Laboratoire d'auto-immunité, Hôpital Saint-Antoine, UG2005,  
département d'immunologie biologique, DMU BIOGEN –  
Hôpitaux universitaires de l'est parisien,  
APHP-Sorbonne Université

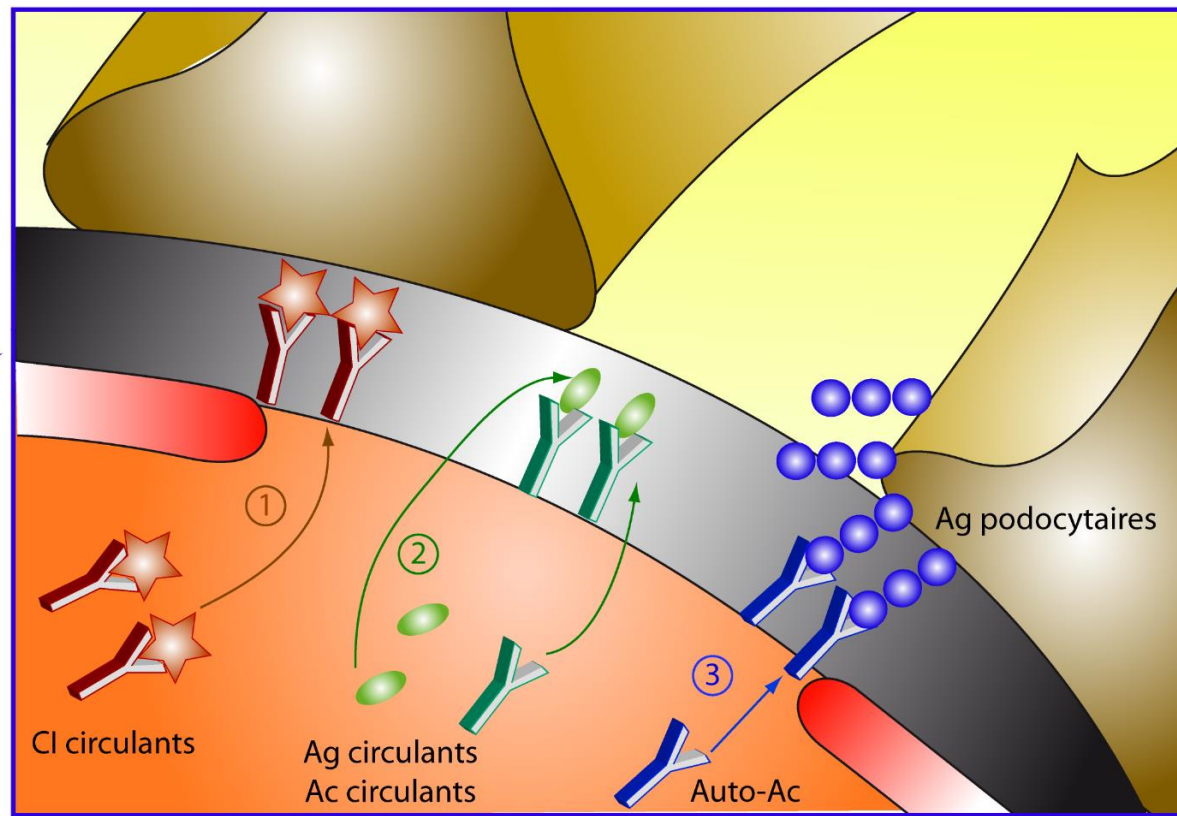
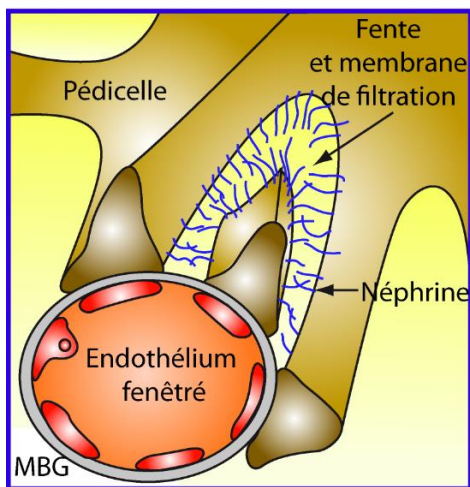
# Glomérule rénal et barrière de filtration



# Glomérulonéphrite extra-membraneuse (GEM)

Dépôts extra-membraneux de complexes immuns (CI) entre MBG et podocytes

- (1) CI circulants formés en amont, traversant la MBG (*lupus*)
- (2) Ag non podocytaires venant se « planter » sur la MBG, Ac circulants : CI *in situ*
- (3) Ag podocytaires, Ac circulants : CI *in situ* (*GEM primitive*)

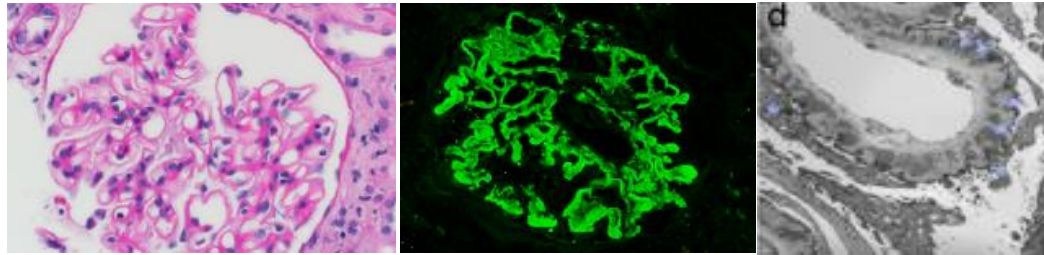


# Glomérulonéphrites extra-membraneuses (GEM)

Représentent la 1<sup>e</sup> cause de syndrome néphrotique chez l'adulte non-diabétique par altérations structurales et fonctionnelles de la barrière de filtration glomérulaire, par dépôts de CI

Diagnostic anatomopathologique sur PBR avec des dépôts extramembraneux de CI

le long de la MBG



**GEM secondaires (20%)** : dépôts immuns dans le mésangium possibles, maladies auto-immunes (lupus), infections (HBV), néoplasies, thyroïdites

**GEM primitives (80%)** : localisation exclusivement extra-membraneuse des dépôts immuns

# GEM primitive, une maladie auto-immune?

## La néphrite de Heymann chez le rat (1959)

- Introduction active ou passive d'Ac anti-mégaline → GEM clinique et biologique
- Dépôts immuns à la surface basale du podocyte et activation du complément
- Ag podocytaire (mégaline) impliqué dans la physiopathologie de la GEM

## La GEM associée à l'endopeptidase neutre (NEP) (2002)

- **Mère** : déficit génétique pour l'enzyme podocytaire NEP / **foetus** : NEP présente
- Allo-immunisation materno-foétale (grossesse antérieure)
- Passage transplacentaire d'Ac anti-NEP → GEM néonatale  
→ Un Ag podocytaire peut être à l'origine de CI *in situ* dans le glomérule

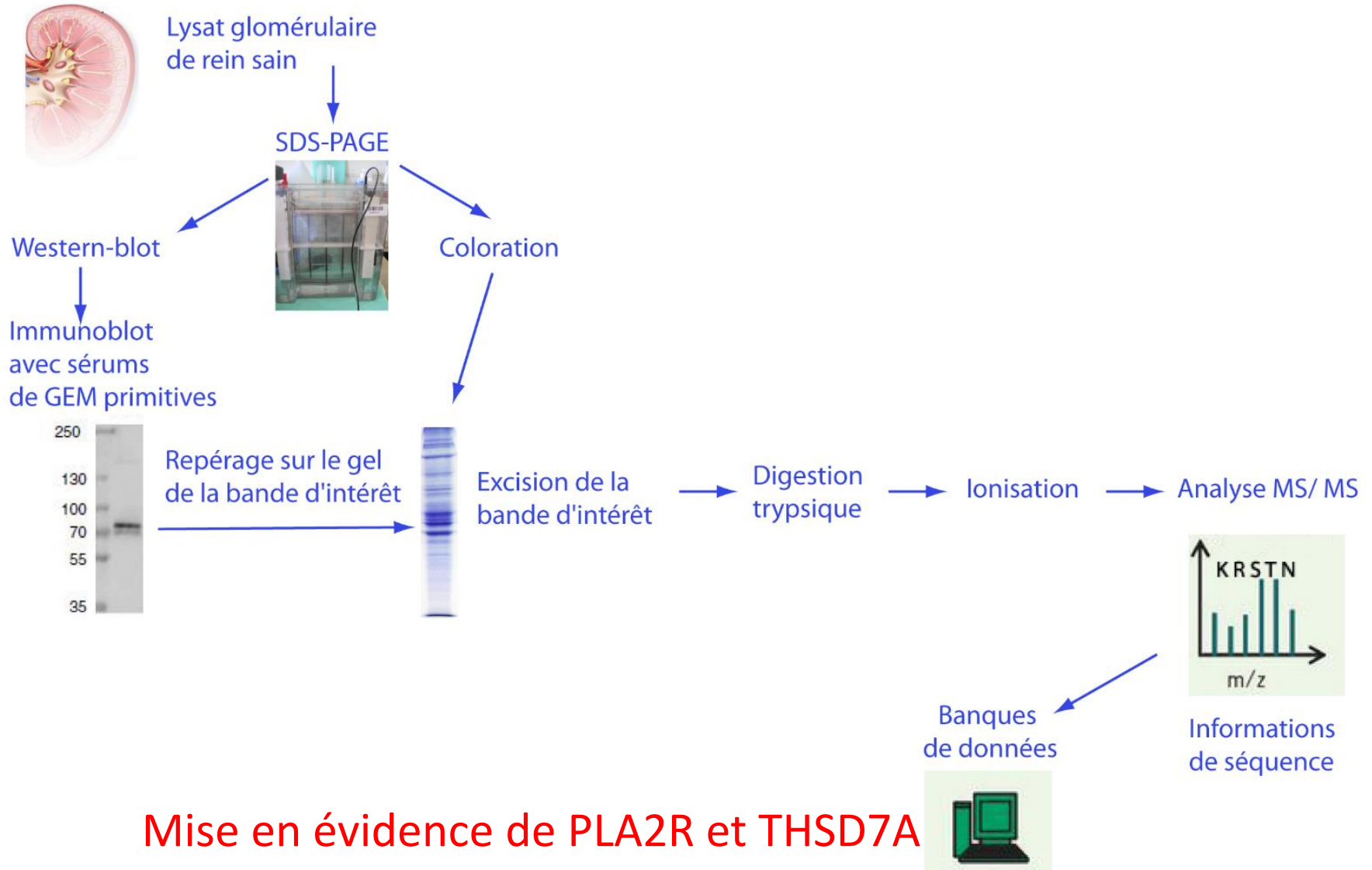
## Récidive après greffe rénale de certaines GEM

30 à 40% de récurrence de la GEM après greffe.

→ Pathogénicité d'auto-Ac qui persistent chez le patient receveur

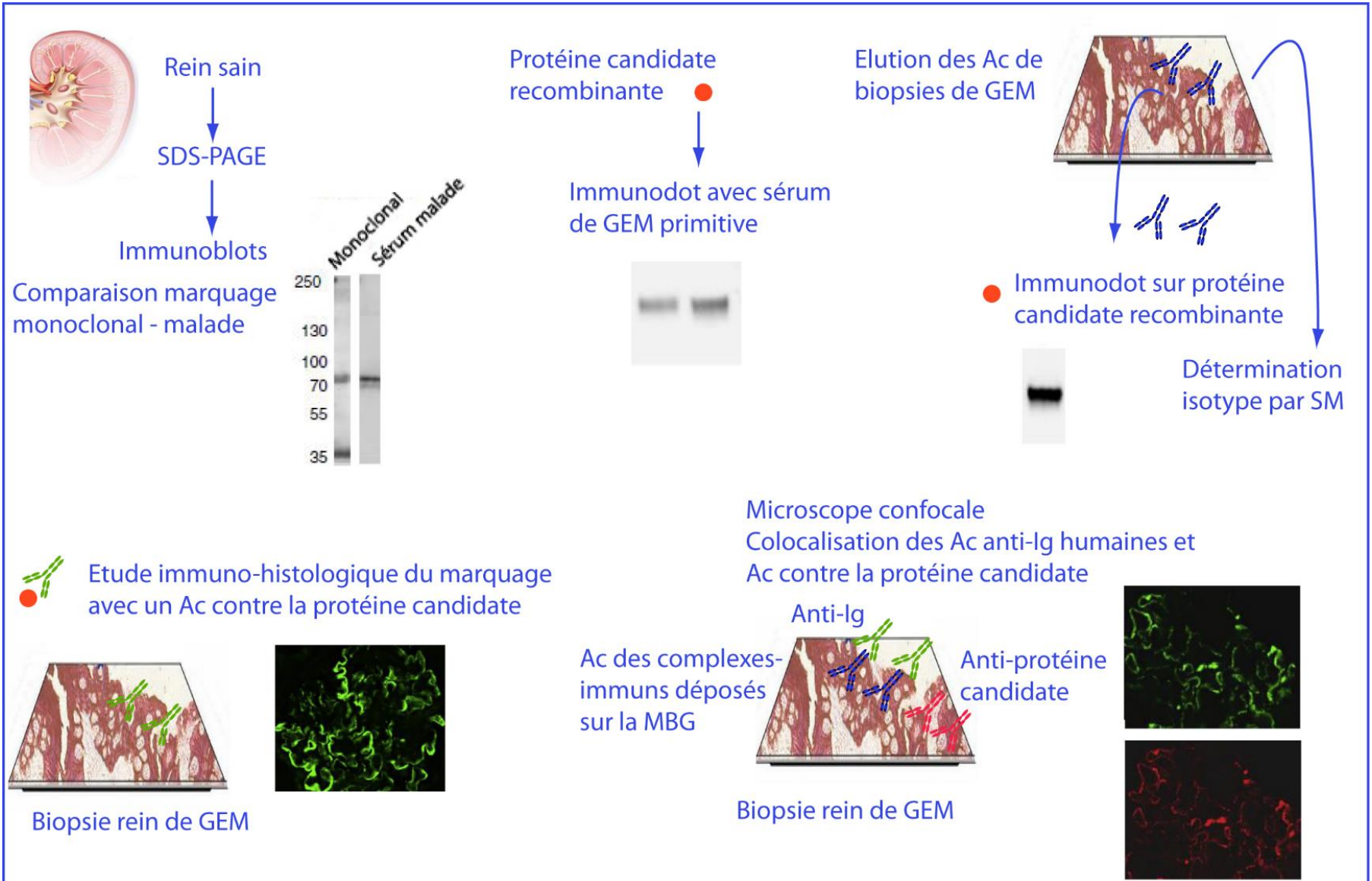


# Auto-Ag dans les GEM primitives, techniques d'identification



**Mise en évidence de PLA2R et THSD7A**

# Auto-Ag dans les GEM primitives, techniques de confirmation



# Récepteur à la phospholipase A2 (PLA2R)

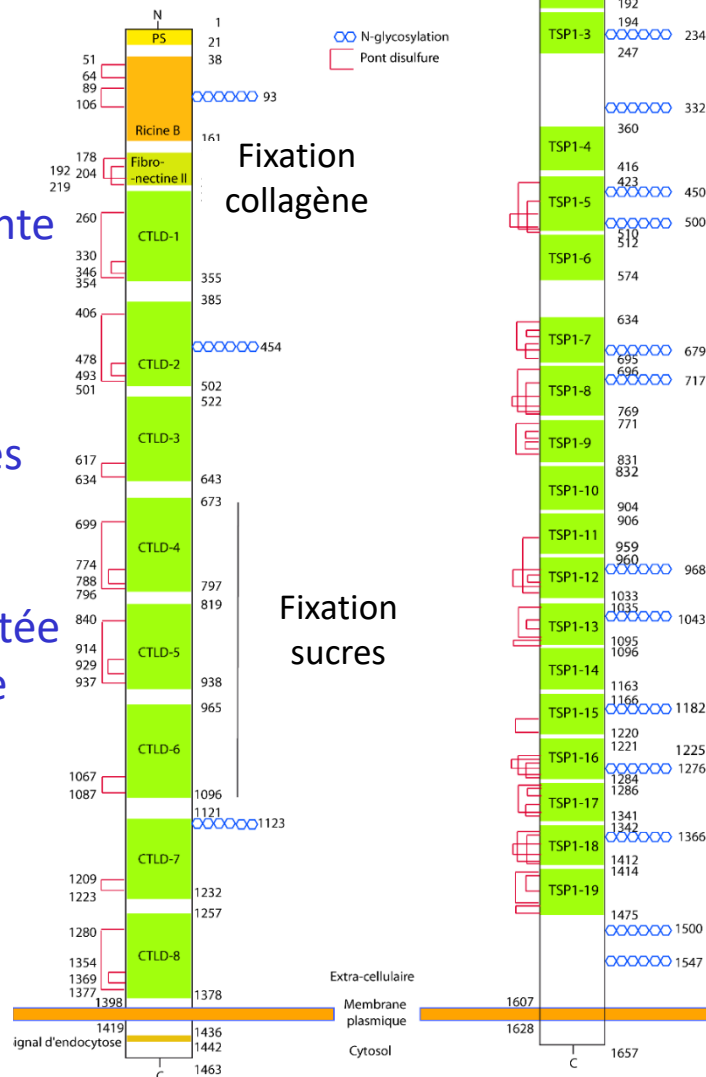
## Thrombospondin type-1 domain-containing 7A (THSD7A)

**PLA2R**

Récepteur transmembranaire  
 Sécrété  
 Localisation prédominante sur podocyte

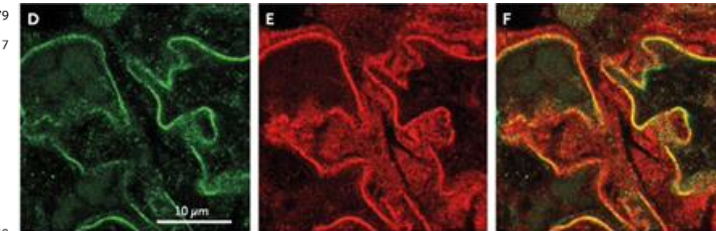
Superfamille des lectines

Affinité pour phospholipase A2 sécrétée  
 Récepteur d'endocytose (toxine)  
 Régulation apoptose  
 Liaison collagène de la MBG?



**THSD7A**

Récepteur transmembranaire  
 Sécrété  
 Expression sur pédicelles entre néphrine et MBG



Rôle angiogénèse  
 Rôle de stabilisation de la fente de filtration, interactions cytosquelette du pédicelle-MBG



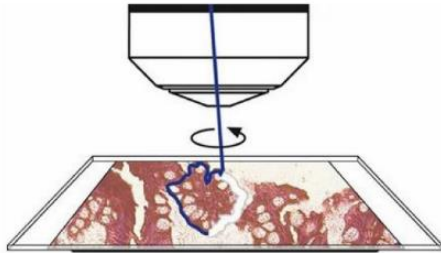
# Récepteur à la phospholipase A2 (PLA2R) Thrombospondin type-1 domain-containing 7A (THSD7A)

Ac anti-PLA2R :           70% des GEM primitives  
Mise en évidence en 2009

Ac anti-THSD7A :       3-5% des GEM primitives  
Mise en évidence en 2014

Restaient 25% de GEM primitives « sans Ac » :  
mise en évidence de 5 nouveaux Ag en 2019-2020

# Auto-Ag dans les GEM primitives, techniques d'identification des nouveaux Ag

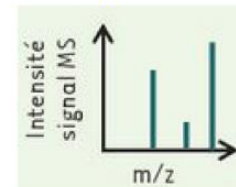


Microdissection laser  
sur biopsie de GEM

→ Lyse → Digestion trypsique

↓  
Ionisation

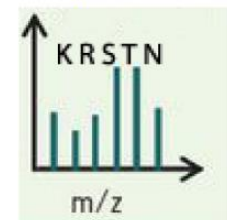
↙  
Analyse MS



Détermination  
de l'abondance relative

↘  
Analyse MS/ MS

Spectrométrie  
quantitative



Informations  
de séquence

↓  
Banques  
de données



**Identification d'une protéine candidate**

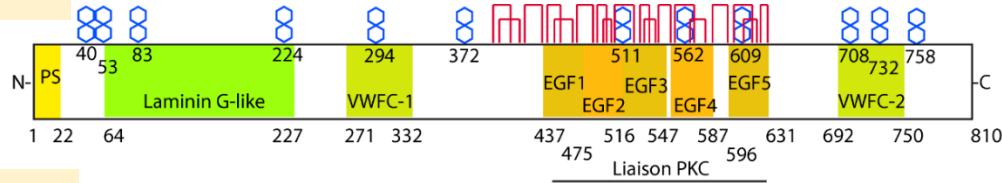
*Hypothèses :*

*La protéine candidate est surexprimée  
et est celle d'abondance relative  
la plus importante,*

*Un seul Ag glomérulaire est la cible d'Ac  
dans chaque nouvel ensemble de GEM primitive*

**Techniques de confirmation identiques à PLA2R et THSD7A**

## NELL-1

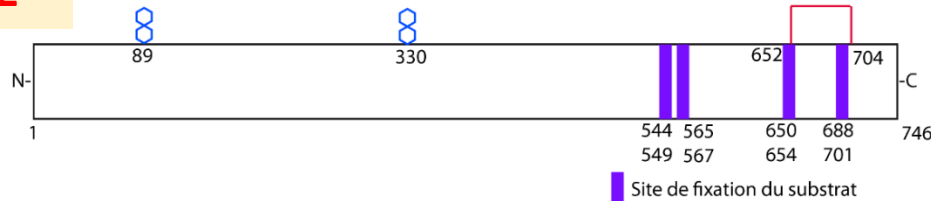


CYTOPLASME  
ENVELOPPE  
NUCLEAIRE

CONTRÔLE DIFFERENCIATION  
CELLULAIRE

EXPRESSION TUBULAIRE +

## EXT1/2

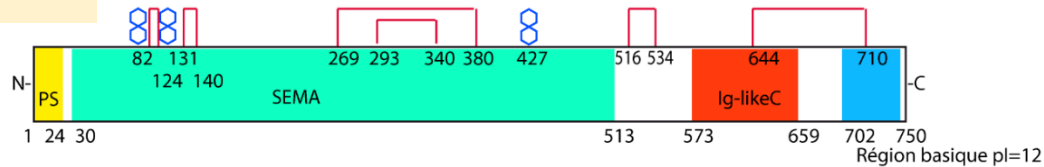


MEMBRANE RE  
GOLGI

ORGANISATION MB  
ACTIVITE HEPARANE SULFATE  
N-ACETYLGLUCOSAMINE TRANSFERASE

EXPRESSION PODOCYTAIRE +/-

## Sema3B

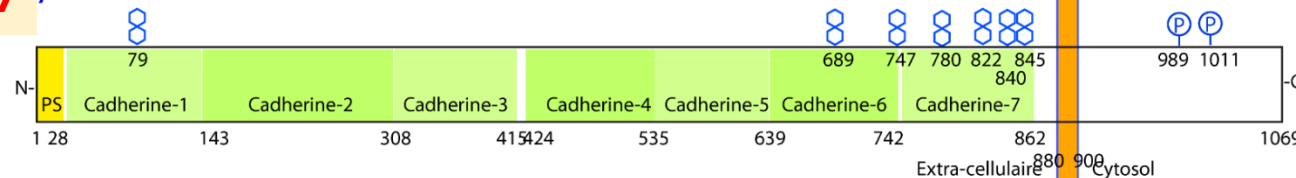


RE

SIGNALISATION CELLULAIRE  
REGULATION MIGRATION CELLULAIRE  
APOPTOSE PODOCYTES?

EXPRESSION PODOCYTAIRE

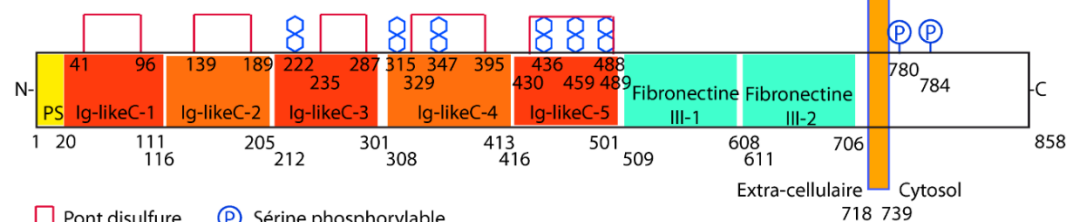
## PCDH7<sup>7</sup>



ADHERENCE ET  
RECONNAISSANCE CELLULAIRE

EXPRESSION GLOMERULAIRE?

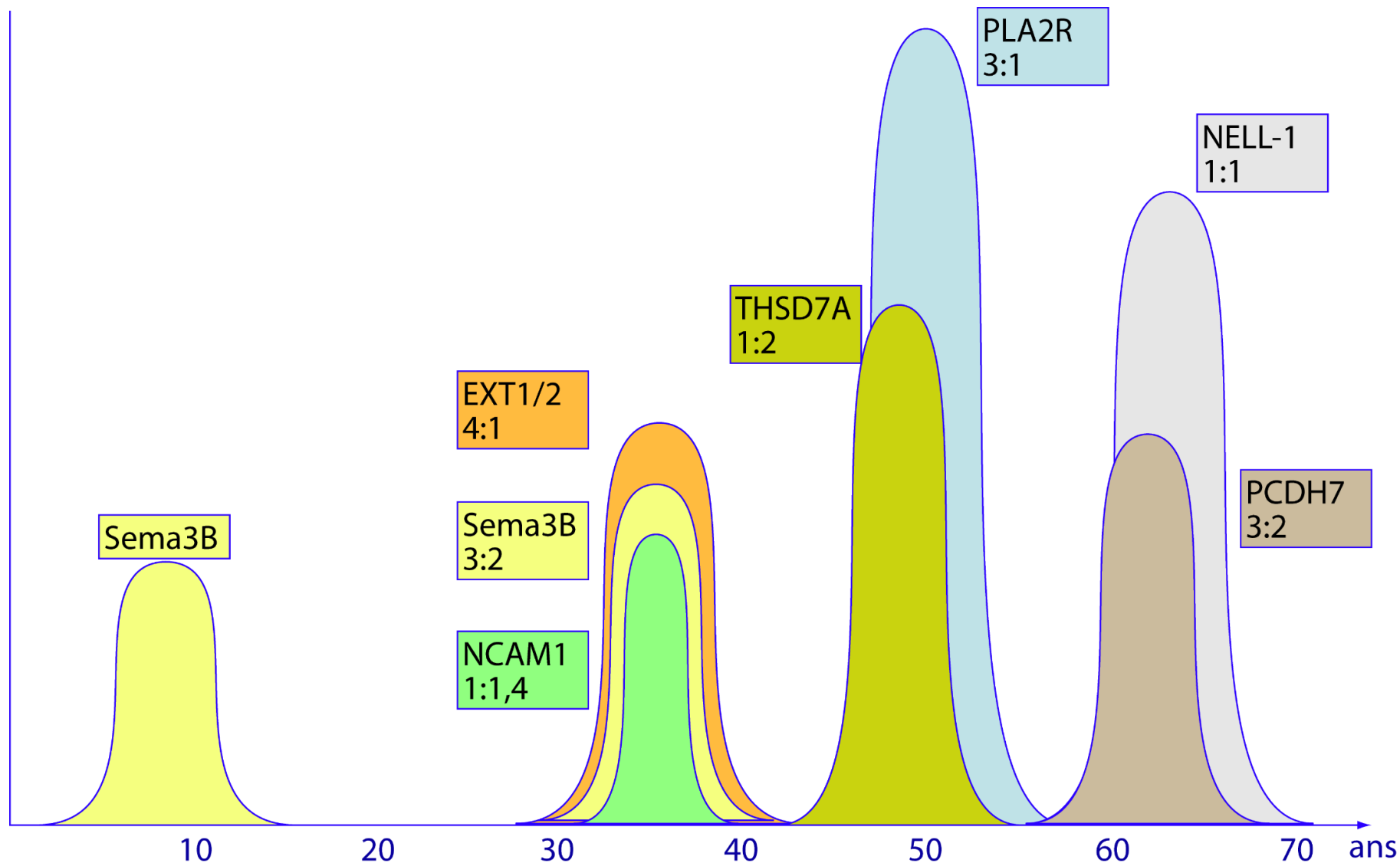
## NCAM1



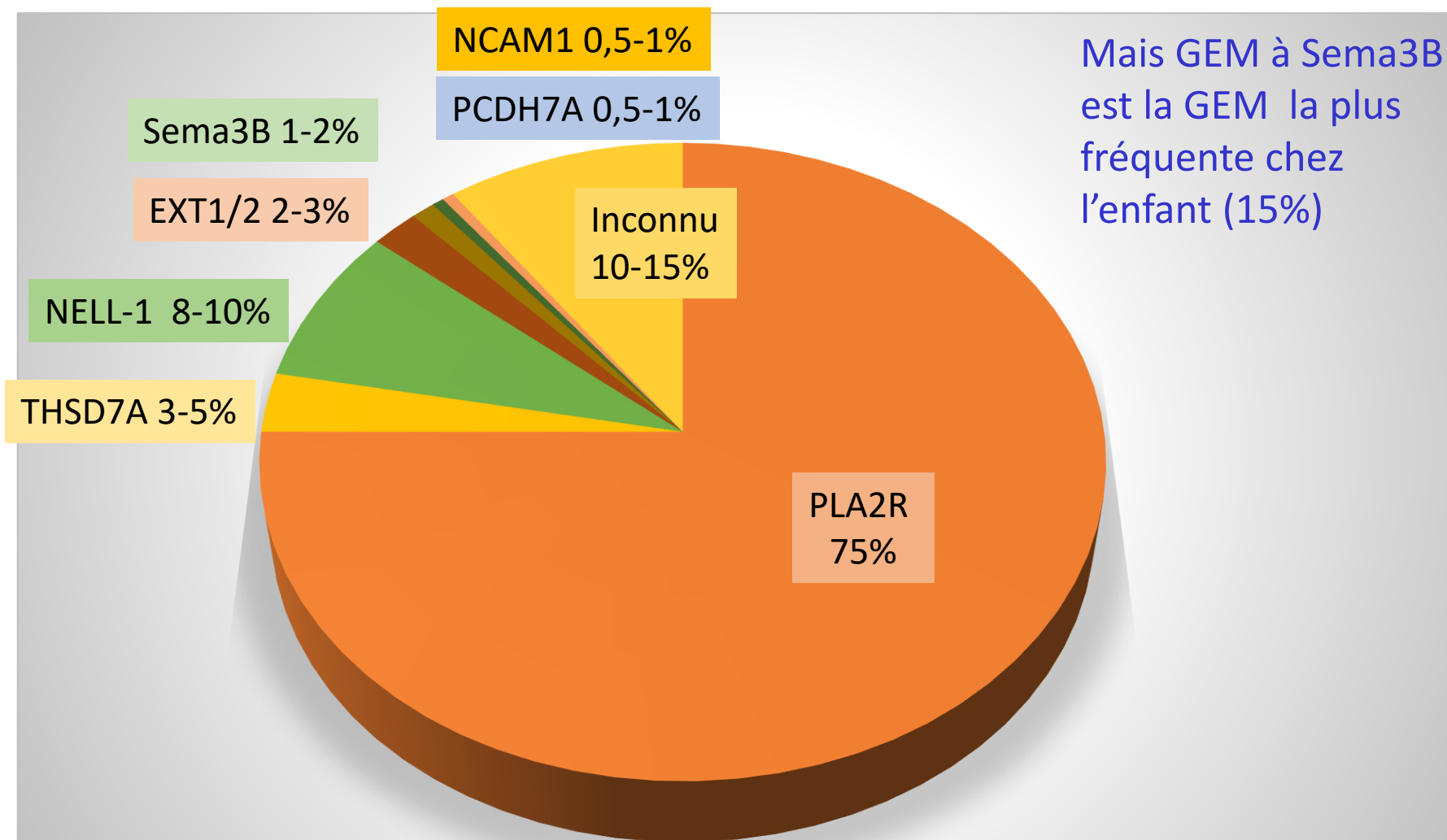
ADHERENCE  
VOIE SEMAPHORINE-PLEXINE

EXPRESSION PODOCYTAIRE

# Epidémiologie des GEM primitives, âges moyens et ratio H:F



## Distribution des Ag podocytaires dans les GEM « primitives »



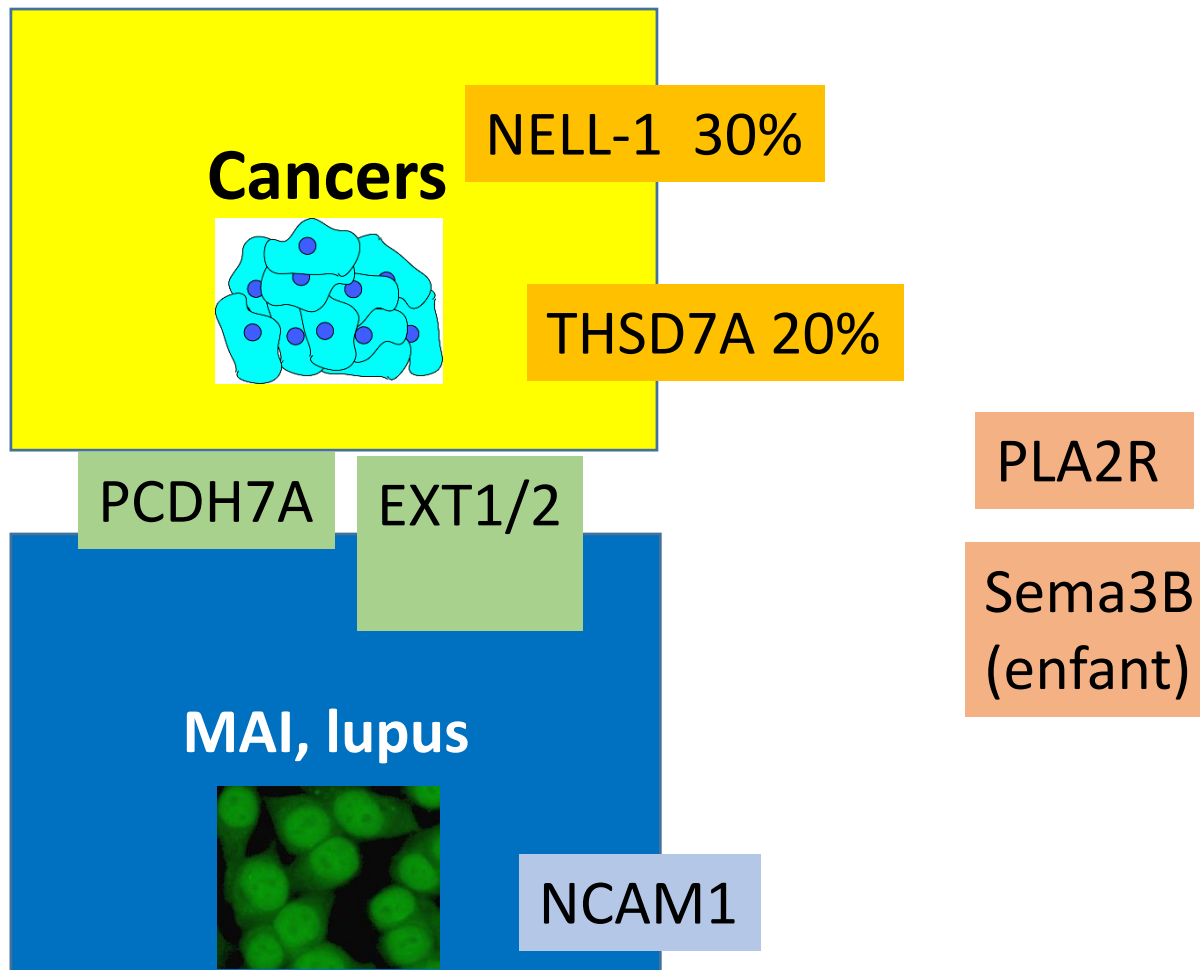
Mais GEM à Sema3B  
est la GEM la plus  
fréquente chez  
l'enfant (15%)

Aucune présence associée de ces marqueurs entre eux

Les cohortes (sauf PLA2R et TH7D7A) sont de petits effectifs

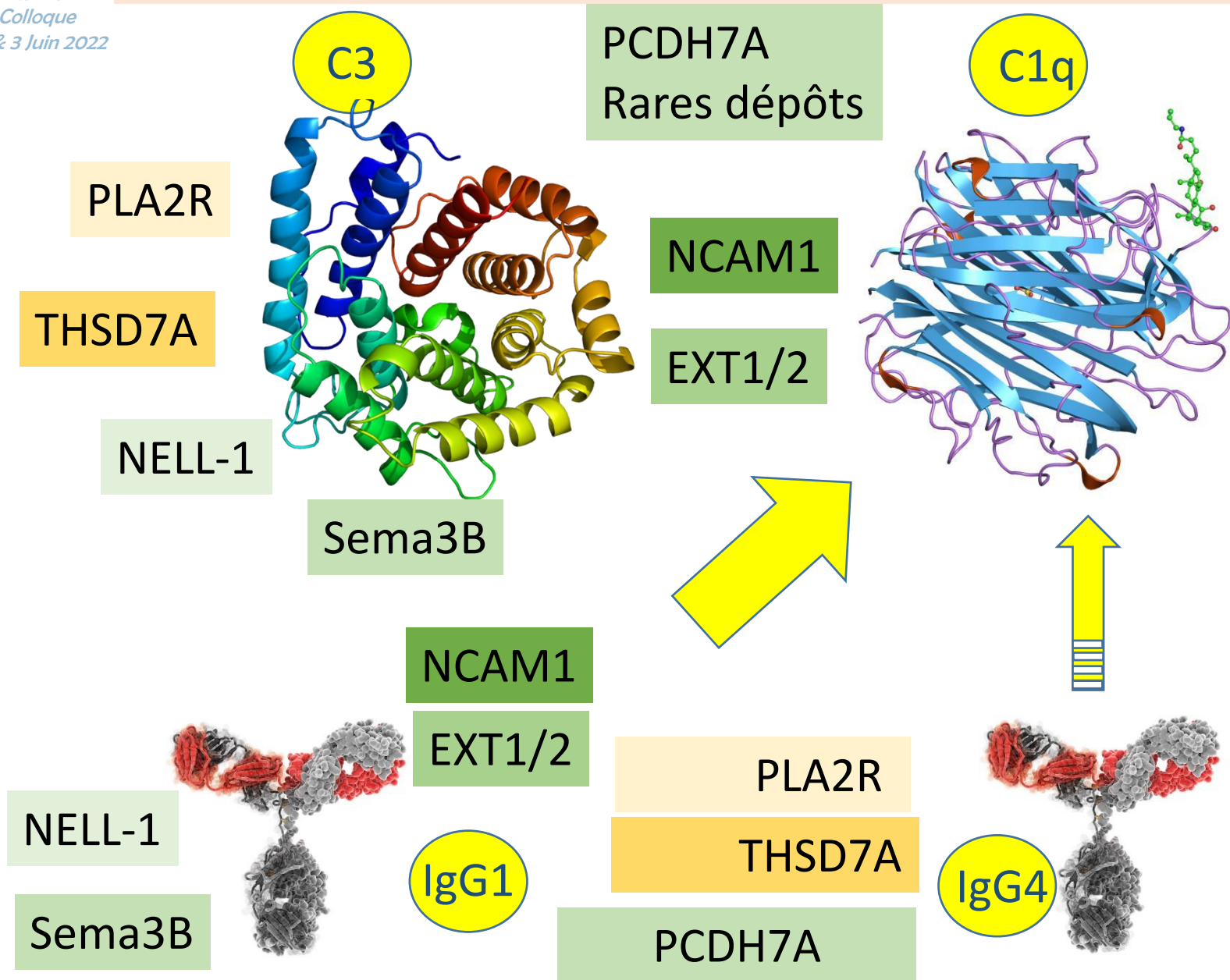


# Maladies associées

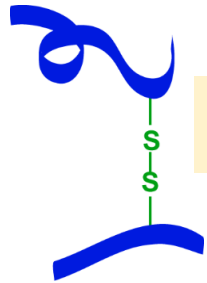


Les cohortes (sauf PLA2R et TH7D7A) sont de petits effectifs

# Composition des dépôts immuns le long de la MBG

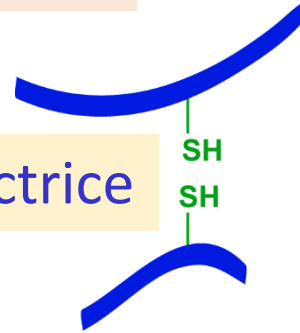


# Mise en évidence des Ac sériques Western-blot sur protéines recombinantes

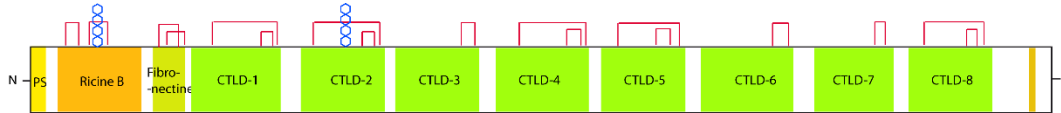


Condition non-réductrice

Condition réductrice

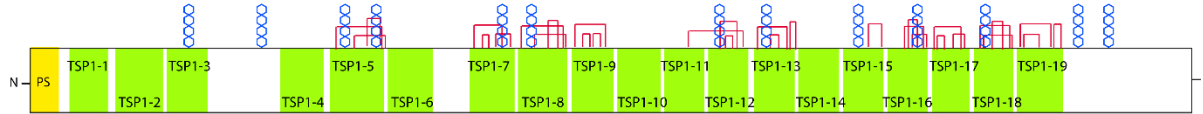


PLA2R



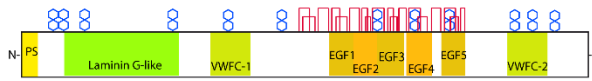
∅

THSD7A



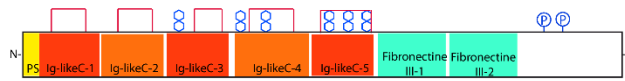
∅

Nell-1



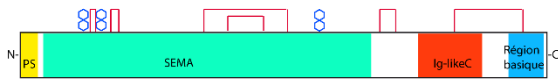
∅

NCAM1



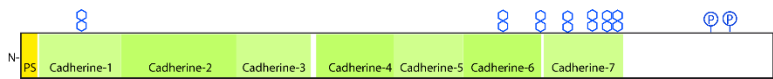
∅

∅



Sema3B

PCDH7



Rôle des ponts S-S dans les épitopes

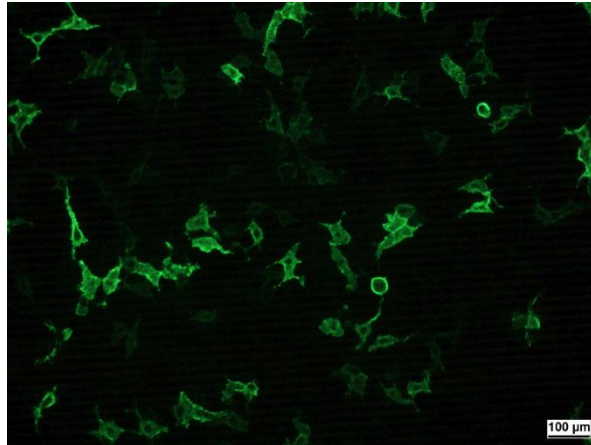
Ac anti-EXT1/2 non détectés, Ac sériques?

# Mise en évidence des Ac sériques en pratique courante

IFI sur cellules embryonnaires  
de rein humain transfectées

Gravité = f (nbre épitope)?

Ac anti-PLA2R



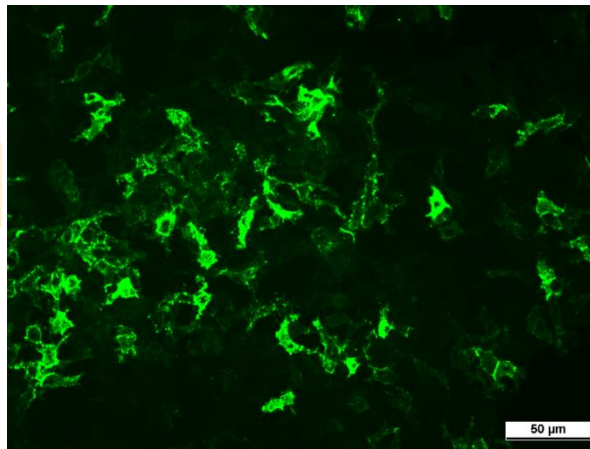
Sp 100%

Diagnostic non invasif

Taux liés à l'activité de la GEM

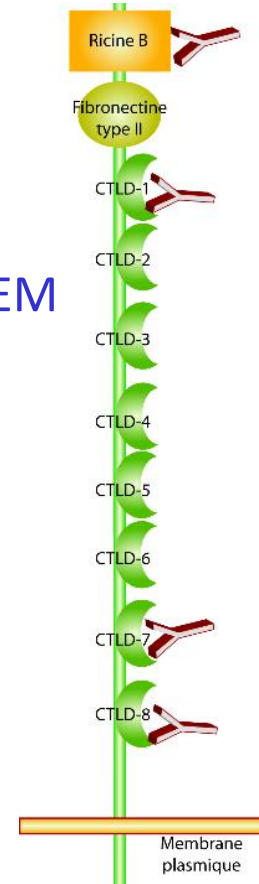
ELISA moins  
sensible surtout  
dans les titres bas

Ac anti-THSD7A



Diagnostic non invasif?

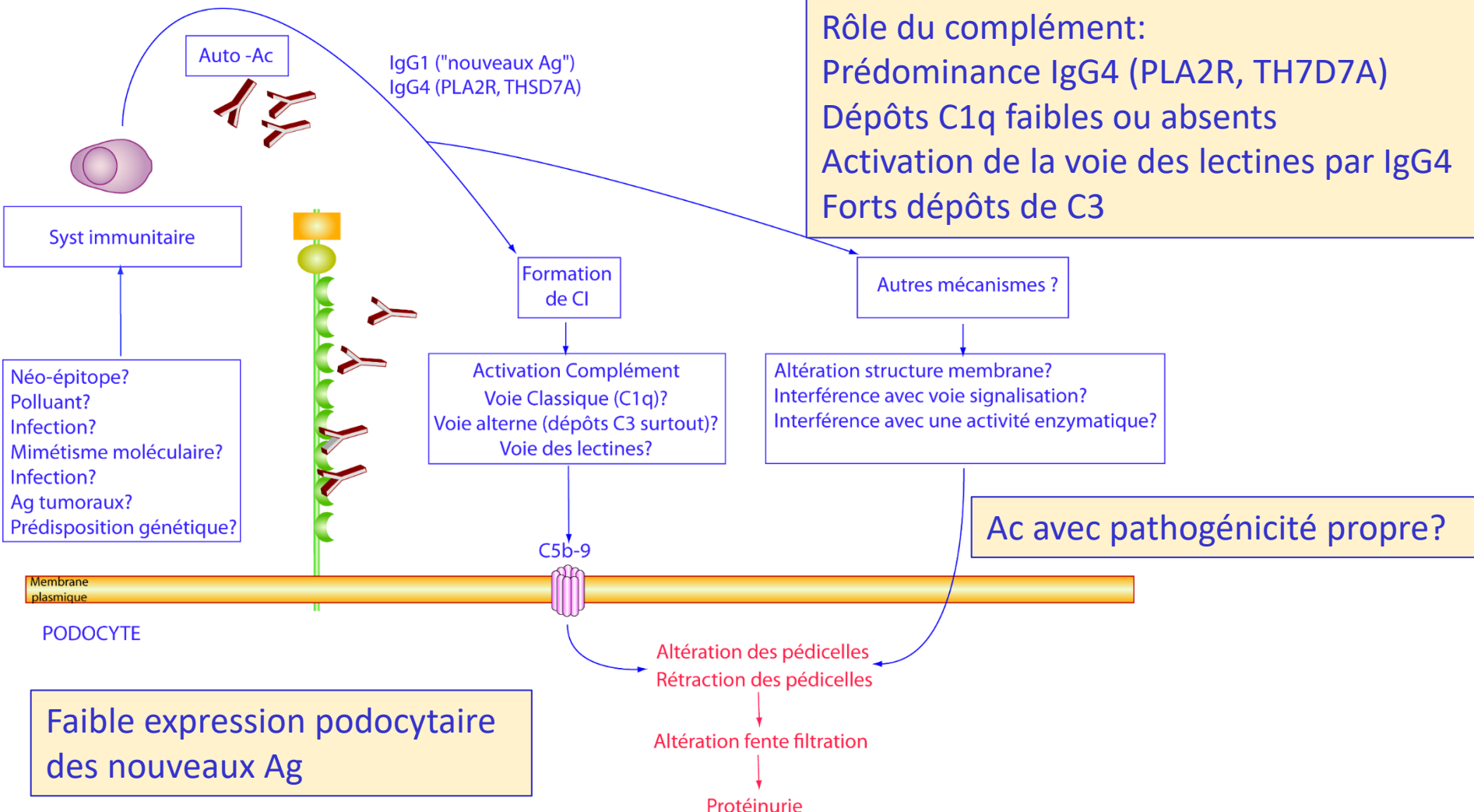
Taux liés à l'évolution?



# Questions soulevées, physiopathologie

Rupture de tolérance : Ag cibles à la surface du podocyte ne sont pas en contact direct avec le syst immunitaire, lésion préexistante de la MBG?

Rôle du complément:  
 Prédominance IgG4 (PLA2R, THSD7A)  
 Dépôts C1q faibles ou absents  
 Activation de la voie des lectines par IgG4  
 Forts dépôts de C3





## Aspects positifs et critiques

- Détection des Ac anti-PLA2R (et TH7D7A?) permet un diagnostic sérologique (évite PBR)
  - Marqueurs d'évolutivité
  - Nouveaux Ac ? Cohortes trop faibles pour l'instant
- 
- Dichotomie entre GEM primitives et secondaires à discuter.
  - Reclassification combinant Ag cibles, pathologies associées et phénotypes cliniques  
Association NELL-1, THSD7A et cancer ; EXT1/2, NCAM1 et MAI
- 
- Intérêt de la détection des anti-NELL-1 dans les nouveaux marqueurs GEM à NELL-1 est la seconde par fréquence après PLA2R  
Association à des cancers

MERCI DE VOTRE ATTENTION

DES QUESTIONS?  
(PAS TROP DIFFICILES SVP)

