

Recherche des anticorps antineuronaux

René-Louis Humbel^a

Liste des abréviations	
AK5	adenylate kinase 5
AMPA R	alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor
ANNA 3	antineuronal nuclear antibody type 3
ATP1A3	α 3 subunit of Na ⁺ /K ⁺ -ATPase
BRSK2	Brain-selective Kinase 2
Ca/ARHGAP 26	Anti-Ca, Rho GTPase activating protein 26
CARP VIII	Carbonic Anhydrase-Related Protein VIII
CASPR2	Contactin-associated protein-like 2
CDR	Cerebellar degeneration-related protein
CV2 (CRMP5)	crossveinless 2 (Collapsin Response Mediator Protein 5)
DNER	Delta notch-like epidermal growth factor-related receptor
DPPX	dipeptidyl-peptidase-like protein-6
GABA A R	γ -aminobutyric acid receptor-A
GABA B R	γ -aminobutyric acid receptor-B
GAD	glutamic acid decarboxylase
GLYCIN-R	glycin receptor
HOMER 3	homer protein 3
Hu (ANNA-1)	antineuronal nuclear antibody type 1
IgLON 5	protéine d'adhérence cellulaire neuronale de la superfamille des immunoglobulines
LGI 1	leucine-rich glioma inactivated protein 1
Ma1	Paraneoplastic Ma1 antigen (PNMA1)
Ma2/Ta	Paraneoplastic Ma2 antigen (PNMA2)
mGluR1	metabotropic glutamate receptor type 1
mGluR2 δ	metabotropic glutamate receptor type 2 δ
mGluR5	metabotropic glutamate receptor type 5
Nb (bêta-NAP)	Neuronal adaptin-like protein
Nb/AP3B2	adaptin-like protein 3B2
NMDA R	N-methyl-D-aspartate receptor
NOVA	nuclear n- RNA binding proteins
PCA-2	purkinje cell cytoplasmic antibody type 2
Ri (ANNA-2)	antineuronal nuclear antibody type 2
Sj/ITPR 1	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor 1
SOX	sex-determining region Y (SRY) - box2
Tr (PCA-3)	Purkinje cell cytoplasmic antibody type 3
VGKC	voltage gated potassium channel
Yo (PCA-1)	Purkinje cell cytoplasmic antibody type 1
Zic	zinc fingers of the cerebellum

^a Luxembourg

4, ancienne Côte d'Eich
L-1459 Luxembourg

* Correspondance

rthumbel@pt.lu

1. Introduction

Depuis la découverte par immunofluorescence sur coupe de cervelet des premiers anticorps anti-neurones en 1965, un grand nombre d'anticorps antineuronaux a été décrit. À l'heure actuelle près de 40 ont été identifiés. En fonction de leurs cibles antigéniques dans le système nerveux ils sont classés en trois groupes (*tableaux I et II*):

- le premier groupe, le plus important, concerne les anticorps dirigés contre des antigènes intracellulaires des neurones ou des cellules gliales. Les antigènes sont généralement fortement exprimés par les cellules tumorales d'où leur appellation d'antigènes onconeuronaux. Ces anticorps sont associés aux syndromes neurologiques paranéoplasiques.
- le second groupe est celui des anticorps reconnaissant des antigènes intracellulaires associés aux vésicules synaptiques.
- le troisième groupe, qui a connu une très grande importance à partir des années 2007, représente les anticorps réagissant avec des constituants membranaires des neurones impliqués dans la transmission synaptique. Ils sont devenus les marqueurs sérologiques des encéphalites limbiques autoimmunes (*tableau I*).

2. Recherche des anticorps antineuronaux par immunofluorescence

L'immunofluorescence sur coupe de cervelet permet la détection d'un grand nombre d'anticorps antineuronaux, en particulier les anticorps anti-onconeuronaux intracellulaires. Elle ne permet par contre pas de mettre en évidence les anticorps antimembranaires pour lesquels il faut faire appel aux cellules transfectées. Certains anticorps anti-onconeuronaux peuvent être identifiés par immunodot réalisé avec des antigènes recombinants.

2.1. Immunofluorescence sur coupes de cervelet

La reconnaissance des anticorps est basée sur la localisation et l'aspect de la fluorescence sur les différentes structures du cervelet (*tableau III et figure 1*).

Il faut garder à l'esprit que des anticorps non spécifiques du système nerveux central (SNC) peuvent également marquer le cervelet. Les anticorps antinucléaires « classiques » marquent les noyaux de toutes les cellules du cervelet (neurones, cellules de Purkinje, cellules gliales). Les anticorps anticytoplasmiques, anti-SRP (*signal recognition particle*), -ribosomes et -appareil de Golgi, décoorent le cytoplasme des cellules de Purkinje. Les anticorps

Tableau I – Liste des auto-anticorps antineuronaux actuellement identifiés.

Anticorps à cibles intracellulaires		Anticorps à cibles membranaires	
Anticorps anti-	1 ^{re} description	Anticorps anti-	1 ^{re} description
Yo (PCA-1)	J. Greenlee, 1983	mGluR1	P. Sillevis, 2000
Hu (ANNA-1)	F. Graus, 1985	mGluR2 δ	T. Shimakaze, 2007
GAD	M. Solimena, 1988	NMDA R	J. Dalmau, 2007
Nb/AP382	Rs. Darnell, 1989	GLYCIN-R	M. Hutchinson, 2008
Ri (ANNA-2)	F. Luque, 1991	CASPR2	A. Vincent, 2009
Nb (bêta-NAP)	Rs. Darnell, 1991	AMPA R	M. Lai, 2009
Amphiphysine	P. de Camilli, 1993	GABA B R	E. Lancaster, 2010
CV2 (CRMP5)	J. Honorat, 1996	LGI 1	M. Lai, 2010
Tr (PCA-3)	J. Trotter, 1997	mGluR5	E. Lancaster, 2011
Ma1	J. Dalmau, 1999	GABA A R	T. Ohkawa, 2014
Ma2/Ta	R. Voltz, 1999		
PCA-2	S. Vernino, 2000		
Géphyrine	M. Butler, 2000		
ANNA 3	K. Chan, 2001		
Zic	L. Bataller, 2002		
CARP VIII	L. Bataller, 2004		
SOX	F. Graus, 2005		
BRSK2	L. Sabater, 2005		
Protéine Kinase C γ	L. Sabater, 2006		
HOMER 3	L. Zuliani, 2007		
AK5	E. Tuzun, 2007		
Synaptophysine	M. Tschernatsch, 2008		
Ca/ARHGAP 26	S. Darius, 2010		
DPPX	A. Boronat, 2013		
Sj/ITPR 1	S. Jarius, 2014		
IgLON 5	L. Sabater, 2014		
Septines	R. Bahtz, 2014		
ATP1A3	M. Scharf, 2015		
Neurochondrine	R. Miske, 2015		

[Voir liste des abréviations](#)

Tableau III – Localisation tissulaire des auto-anticorps antineuronaux dans le cervelet.

Couche interne granulaire
Noyau des neurones : Hu, Ri, Ma, Ta, Zic
Membrane des neurones : GAD
Neuropile (substance amorphe entourant les neurones) : Amphiphysine, DPPX, IgLON 5, ATP A 1-3, Neurochondrine
Couche des cellules de Purkinje
Noyau des cellules de Purkinje : ANNA-3
Cytoplasme des cellules de Purkinje : Yo, PCA 2, Tr, Ca, Sj, PKC γ
Cellules gliales de Bergmann : SOX
Couche moléculaire
Dendrites : mGluR1, mGluR2 δ , mGluR5, HOMER 3, Géphyrine, Septines
Substance blanche
Oligodendrocytes : CV2

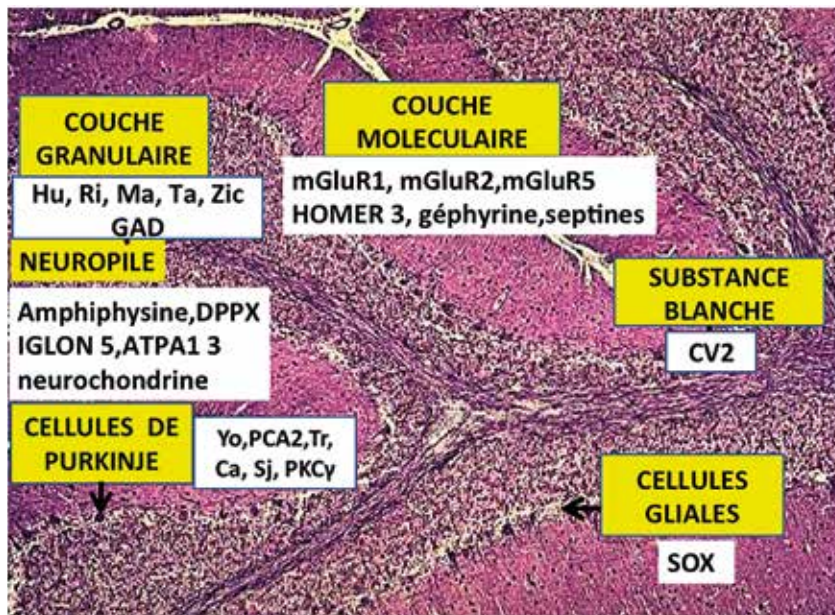
[Voir liste des abréviations](#)

Tableau II – Cibles des auto-anticorps anti-neurones actuellement connus.

Anticorps anti-	
Yo	Protéines CDR 34, CDR 62 des cellules de Purkinje
Hu	Protéines Hu A, Hu B, Hu C, Hu D des neurones du SNC et SNP
GAD	Glutamate-décarboxylase I (GAD65) et II (GAD67) du SNC
Nb/AP 382	Protéine adaptative des cellules de Purkinje
Ri	Protéines NOVA 1, NOVA 2 des neurones du SNC
Nb-bêta-NAP	Protéine vésiculaire neuronale
Amphiphysine	Protéine intracellulaire synaptique
CV2	Protéine CRMP5 (Collapsin Response Mediator Protein 5) des oligodendrocytes
Tr (PCA 3)	Protéine DNER des cellules de Purkinje et des boutons synaptiques
Ma1	Phosphoprotéine PNMA1 du SNC
Ma2/Ta	Phosphoprotéine PNMA2 du SNC et des cellules germinales du testicule
mGluR1	Récepteur du glutamate métabotrope synaptique
PCA-2	Antigène cytoplasmique des cellules de Purkinje non encore identifié
Géphyrine	Protéine d'ancrage du récepteur de la glycine
ANNA-3	Protéine nucléaire des cellules de Purkinje de nature indéterminée
Zic	Protéines nucléaires Zic 1 à 5 du noyau des neurones du SNC
CARP VIII	Protéine de structure voisine de l'anhydrase carbonique VIII, spécifique du SNC
SOX (AGNA)	Protéines SOX 1 à 4 du noyau des cellules gliales de Bergmann (antigliol nuclear antibodies)
BRSK2	Sérine/Thréonine-kinase spécifique du SNC et des testicules
GluR2 δ	Récepteur du glutamate 2 delta du SNC
PKC γ	Protéine-kinase gamma du cervelet
HOMER 3	Protéine HOMER 3 d'ancrage des récepteurs mGluR1 à la membrane synaptique
AK5	Adénylate kinase type 5 cytoplasmique du SNC
NMDAR	Récepteur du glutamate activé par l'agoniste N-méthyl-D-aspartate du SNC (domaine NR 1 A)
GlyR	Récepteur de la glycine (domaine α)
Synaptophysine	Protéine transmembranaire des vésicules synaptiques
CASPR 2	« Contact associated protein 2 » associée aux canaux potassiques VGKC
AMPA R	Récepteur du glutamate activé par l'acide amino-3-hydroxyl-5-méthyl-4-isoxazole propionique du SNC
GABA B R	Récepteur B du GABA (acide gamma aminobutyrique), domaines B1/B2
Ca-ARHGAP 26	Protéine activatrice de la RhoGTPase des cellules de Purkinje
LGI 1	« Leucin rich glioma inactivating protein » associée aux canaux potassiques VGKC
mGluR5	Récepteur glutamate métabotrope 5 du SNC
DPPX	Dipeptylpeptidase du SNC
GABA A R	Récepteur A du GABA du SNC
Sj/ITPR 1	Récepteur inositol 1,4,5-triphosphate des cellules de Purkinje
IgLON 5	Protéine 5 de la superfamille des immunoglobulines d'adhérence IgLON des neurones
Septines	Protéines synaptiques d'ancrage du récepteur A du GABA

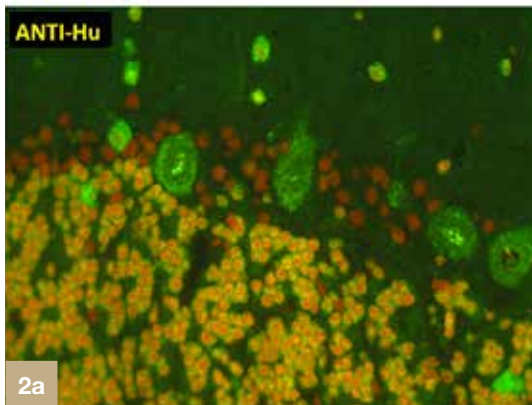
SNP : système nerveux périphérique ; SNC : système nerveux central, et voir liste des abréviations.

Figure 1 – Immunolocalisation des différents antigènes antineuronaux reconnus par les autoanticorps.

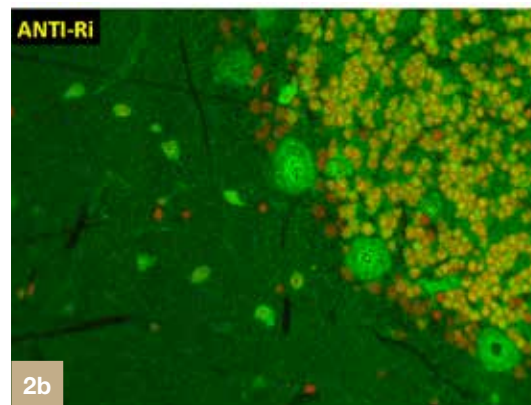


Voir liste des abréviations

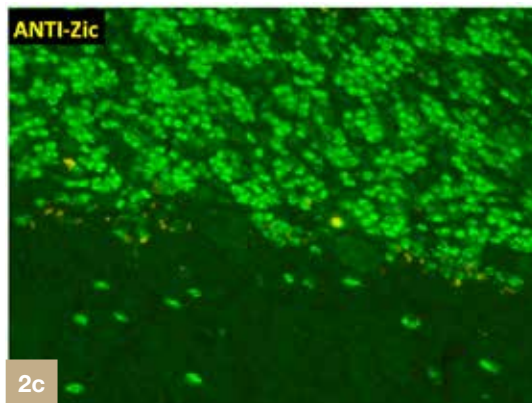
Figure 2 – Anticorps anti-noyau des neurones.



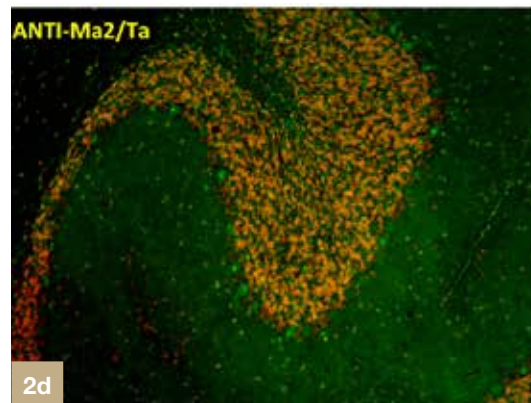
2a: ANTICORPS ANTI-Hu
Marquage granulaire du noyau des neurones de la couche des grains.
Marquage du noyau et du cytoplasme des cellules de Purkinje.
Identification: Immunodot, antigène Hu D recombinant.



2b: ANTICORPS ANTI-Ri
Marquage granulaire du noyau des neurones de la couche des grains.
Marquage du noyau et du cytoplasme des cellules de Purkinje.
Identification: Immunodot, antigène Ri/Nova 1 recombinant.

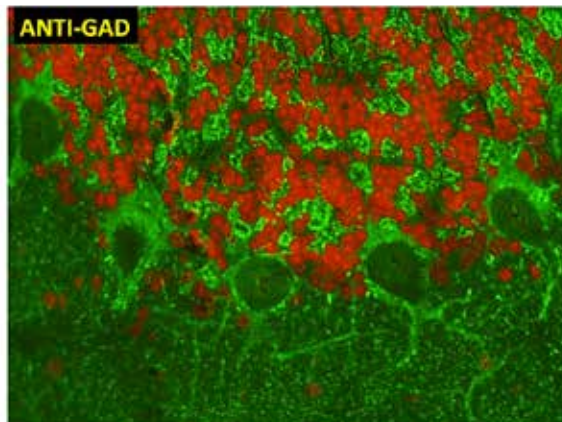


2c: ANTIGENE ANTI-Zic
Marquage du noyau des neurones de la couche des grains.
Identification: Immunodot, antigène Zic recombinant.



2d: ANTICORPS ANTI-Ma2/Ta
Marquage du nucléole des neurones et des cellules de Purkinje.
Identification: Immunodot, antigène Ma2 recombinant.

Figure 3 – Anticorps anti-membrane des neurones.



ANTICORPS ANTI-GAD

Marquage granulaire en cercle entourant les neurones de la couche des grains.
Marquage fin autour des cellules de Purkinje.
Marquage de petits grains isolés dans la couche moléculaire.

Identification:

Immunodot, antigène GAD65/67 recombinants.
Immunofluorescence sur cellules transfectées avec le gène GAD65,
ELISA,RIA, Immunodot GAD65 recombinant.

anti-mitochondries marquent le neuropile, les cellules de Purkinje et surtout la couche moléculaire. L'identification de certaines cibles peut être complétée par une étude sur d'autres tissus. Les noyaux des neurones myentériques de l'estomac sont marqués par les anti-Hu. Les anticorps anti-GAD marquent les îlots de Langerhans du pancréas.

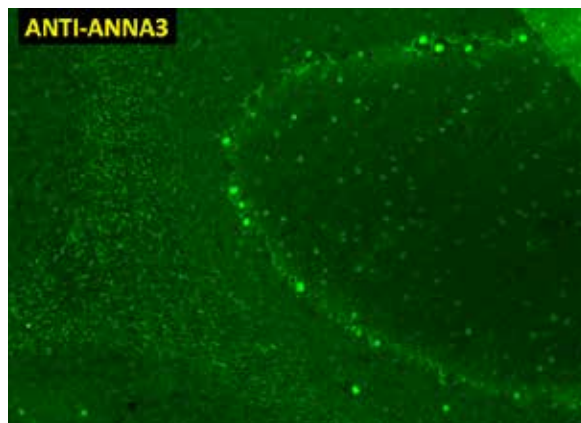
2.1.1. Anticorps antinucléaires des neurones

La fluorescence peut intéresser les noyaux des neurones (figure 2), la membrane des neurones (figure 3) ou le neuropile (figure 4).

2.1.2. Anticorps anti-cellules de Purkinje

La fluorescence peut intéresser le noyau (figure 5) ou le cytoplasme des cellules de Purkinje (figure 6)

Figure 5 – Anticorps anti-noyau des cellules de Purkinje.



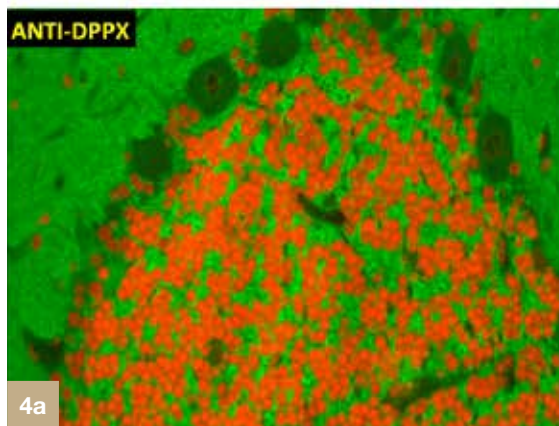
ANTICORPS ANTI-ANNA 3

Marquage exclusif des nucléoles des cellules de Purkinje.

Identification:

Aucun test spécifique actuellement disponible.
Anticorps très rare.

Figure 4 – Anticorps anti-neuropile.

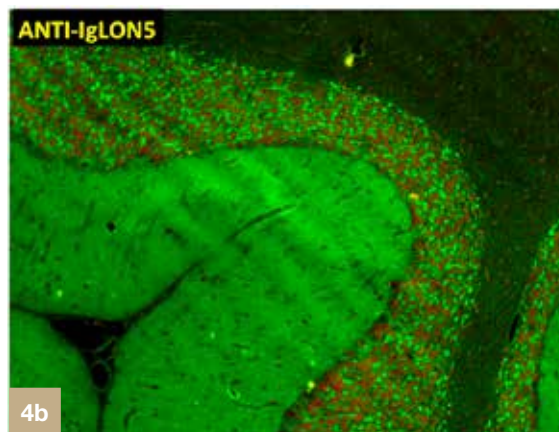


4a: ANTICORPS ANTI-DPPX

Marquage des zones entourant les neurones de la couche granulaire.
Marquage finement granulaire dense de la couche moléculaire.

Identification:

Immunofluorescence sur cellules transfectées avec le gène DPP6.

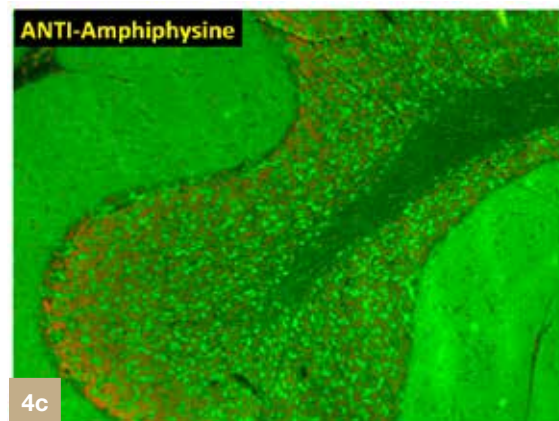


4b: ANTICORPS ANTI-IgLON 5

Marquage des zones entourant les neurones de la couche granulaire.
Marquage granulaire dense de la couche moléculaire.

Identification:

Immunofluorescence sur cellules transfectées avec le gène IgLON 5.



4c: ANTICORPS ANTI-AMPHIPHYSINE

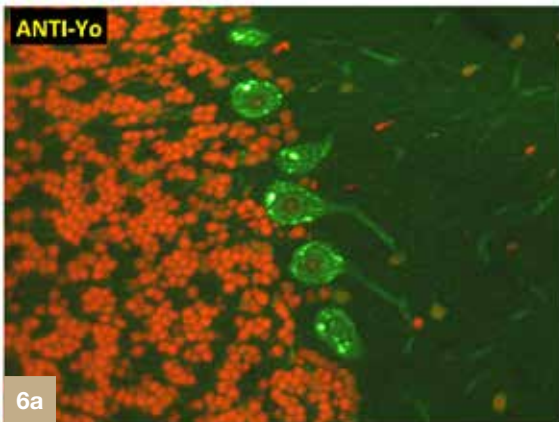
Marquage des zones entourant les neurones de la couche granulaire.
Marquage granulaire de la couche moléculaire.

Marquage granulaire autour des cellules de Purkinje.

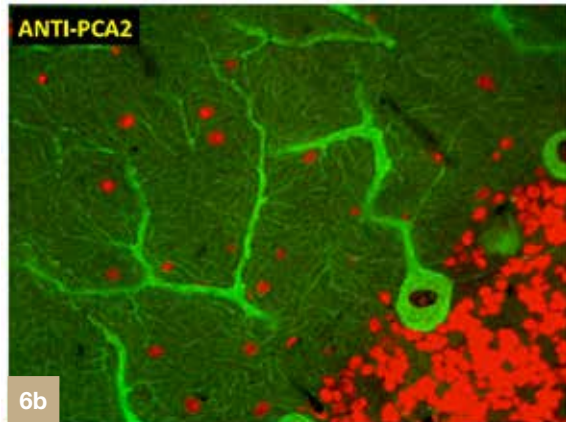
Identification:

Immunodot, antigène amphiphysine recombinant.

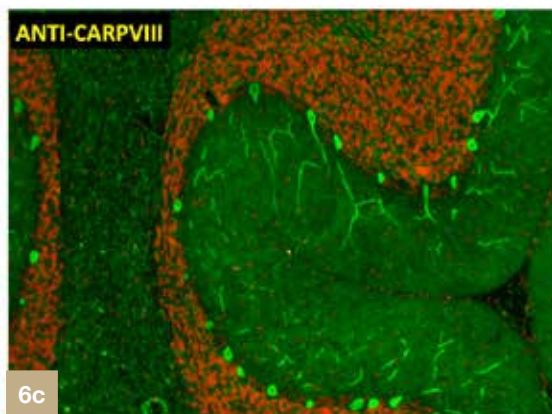
Figure 6 – Anticorps anti-cytoplasme des cellules de Purkinje.



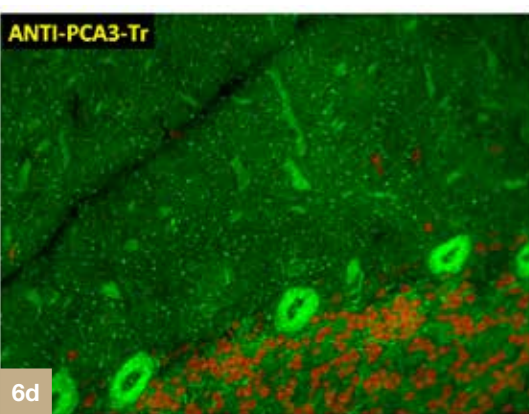
6a: ANTICORPS ANTI-Yo
 Marquage en mottes du cytoplasme des cellules de Purkinje.
Identification:
 Immunodot avec antigène recombinant CDR 2.



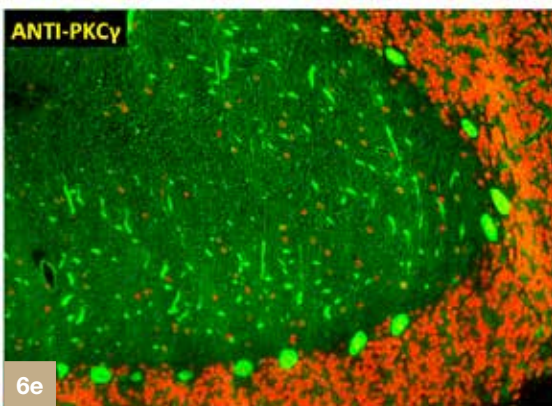
6b: ANTICORPS ANTI-PCA-2
 Marquage homogène du cytoplasme des cellules de Purkinje.
 Marquage de l'arbre synaptique dans la couche moléculaire.
Identification:
 Aucun test spécifique actuellement disponible.



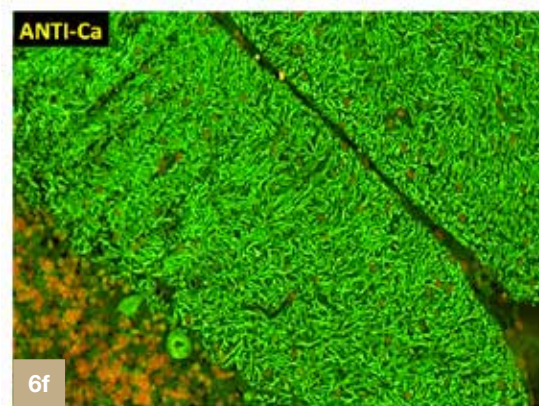
6c: ANTICORPS ANTI-CARP VIII
 Marquage homogène du cytoplasme des cellules de Purkinje.
 Marquage de l'arbre dendritique.
Identification:
 Aucun test commercial actuellement disponible.



6d: ANTICORPS ANTI-PCA 3-Tr
 Marquage homogène du cytoplasme des cellules de Purkinje.
 Marquage de gros grains isolés dans la couche moléculaire.
Identification:
 Immunodot avec l'antigène DNER recombinant.
 Immunofluorescence sur cellules transfectées avec le gène DNER.

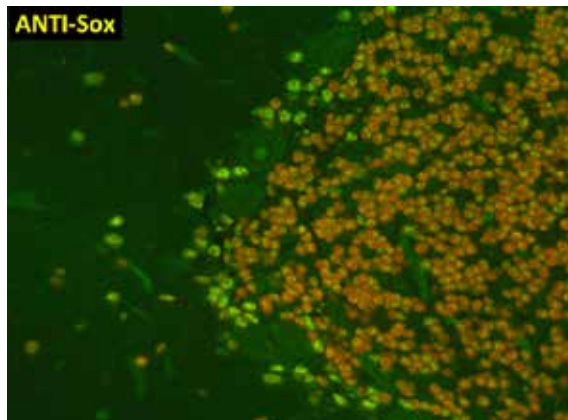


6e: ANTICORPS ANTI-PKC γ
 Marquage homogène du cytoplasme des cellules de Purkinje.
 Marquage de branches de l'arbre dendritique.
 Marquage des axones de la substance blanche.
Identification:
 Immunodot.



6f: ANTICORPS ANTI-Ca
 Marquage homogène du cytoplasme des cellules de Purkinje.
 Marquage granulaire intense avec aspect de vermicules (épines dendritiques) dans la couche moléculaire.
Identification:
 Immunofluorescence sur cellules transfectées avec le gène ARHGAP 26.
 N.B. L'aspect de la fluorescence sur le cervelet est identique avec les anticorps anti-Sj.

Figure 7 – Anticorps anti-cellules gliales de Bergmann.

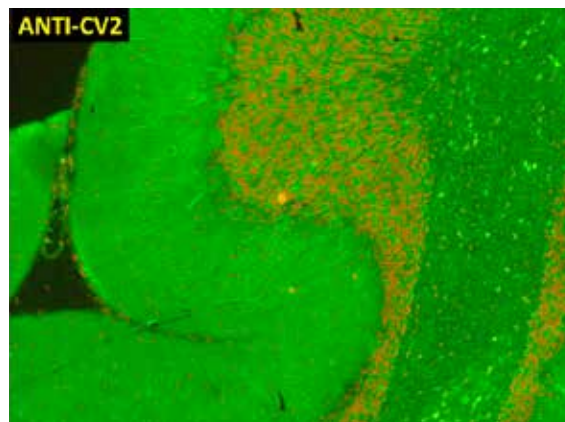


ANTICORPS ANTI-SOX

Marquage de la couche des cellules gliales en périphérie de la couche des grains, entre les cellules de Purkinje.

Identification: Immunodot avec l'antigène SOX 1 recombinant.

Figure 8 – Anticorps anti-substance blanche.

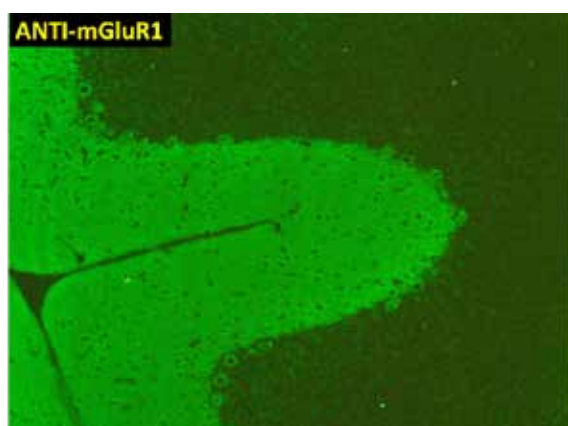


ANTICORPS ANTI-CV2 (CRMP5)

Marquage des oligodendrocytes dans la substance blanche. Marquage finement granulaire de la couche moléculaire.

Identification: Immunodot avec l'antigène CRMP5 recombinant.

Figure 9 – Anticorps anti-couche moléculaire.



ANTICORPS ANTI-mGluR1, mGluR5, mGluR2 , Homer3

Marquage granulaire finement dense et isolé de la couche moléculaire.

Identification: Immunofluorescence sur cellules transfectées avec le gène HOMER 3.

Pas de tests disponibles actuellement pour les anti-mGluR1, mGluR5 et mGluR2 δ.

Tableau IV– Cellules transfectées actuellement commercialisées pour la recherche des anticorps antineuronaux.

Auto-anticorps	cellules transfectées pour le gène
Récepteur du glutamate AMPA R	AMPA R-gluR1 et gluR2
Récepteur du glutamate NMDA R	NMDA R-NR1A
Récepteur B du GABA	GABA B B1/B2
Récepteur de la GLYCINE	GlyR α1
LGI 1	LGI 1 séquence R6225495
CASPR 2	CASPR 2 domaine extracellulaire
Yo	CDR 62
Tr-PCA-3	DNER
IgLON 5	IgLON isoforme 5
DPPX	DPP6
CARP VIII	CAB
PKC γ	PKC isoforme γ
ITPR 1	IP3B1

Voir liste des abréviations

Tableau V – Les immunodots disponibles.

ANTICORPS ANTI-	EUROLINE (EUROIMMUN)	RNS LINE DOT (RAVO)	DOT (D-TEK)
Hu D	+	+	-
Ri (NOVA1)	+	+	-
Yo (CDR62)	+	+	-
CV2 (CRMP5)	+	+	-
Ma1 (PNMA1)	-	+	-
Ma2 (PNMA2)	+	+	-
Tr (DNER)	+	+	-
Amphiphysine	+	+	-
SOX 1	+	+	-
Zic 4	+	+	-
GAD 65	+	+	+
GAD 67	-	-	+
PKC γ	-	+	-

Voir liste des abréviations

ou les cellules gliales de Bergman à proximité (*figure 7*).

2.1.3. Anticorps anti-substance blanche

L'aspect principal est donné sur la *figure 8*.

2.1.4. Anticorps anti-couche moléculaire

L'aspect principal est donné sur la *figure 9*.

3. Recherche des anticorps antineuronaux par immunofluorescence sur cellules transfectées

L'apparition de cellules transfectées a constitué une profonde révolution pour la détection des anticorps antineuronaux en particulier pour les anticorps à cible membranaire qui sont difficiles à révéler sur les coupes de cervelet.

Ces derniers sont, en effet, dirigés contre des protéines transmembranaires très complexes dont les épitopes sont conformationnels. À l'heure actuelle, plusieurs préparations commerciales de cellules HEK 293/EU 90 surexprimant des protéines neuronales (*tableau IV*) sont disponibles et permettent ainsi de rechercher de façon simple et ciblée les anticorps antineuronaux.

4. Recherche des anticorps antineuronaux par immunodot

Les gènes codant pour plusieurs antigènes neuronaux ont été identifiés puis utilisés pour l'obtention des protéines recombinantes correspondantes. Les immunodots actuellement disponibles figurent dans le *tableau V*.

Déclaration d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Bibliographie

GEAI L'info n°11. Maladies neurologiques autoimmunes, juin 2014 : <http://geai-lesautoanticorps.fr/34-Revue-GEAI-L-Info>