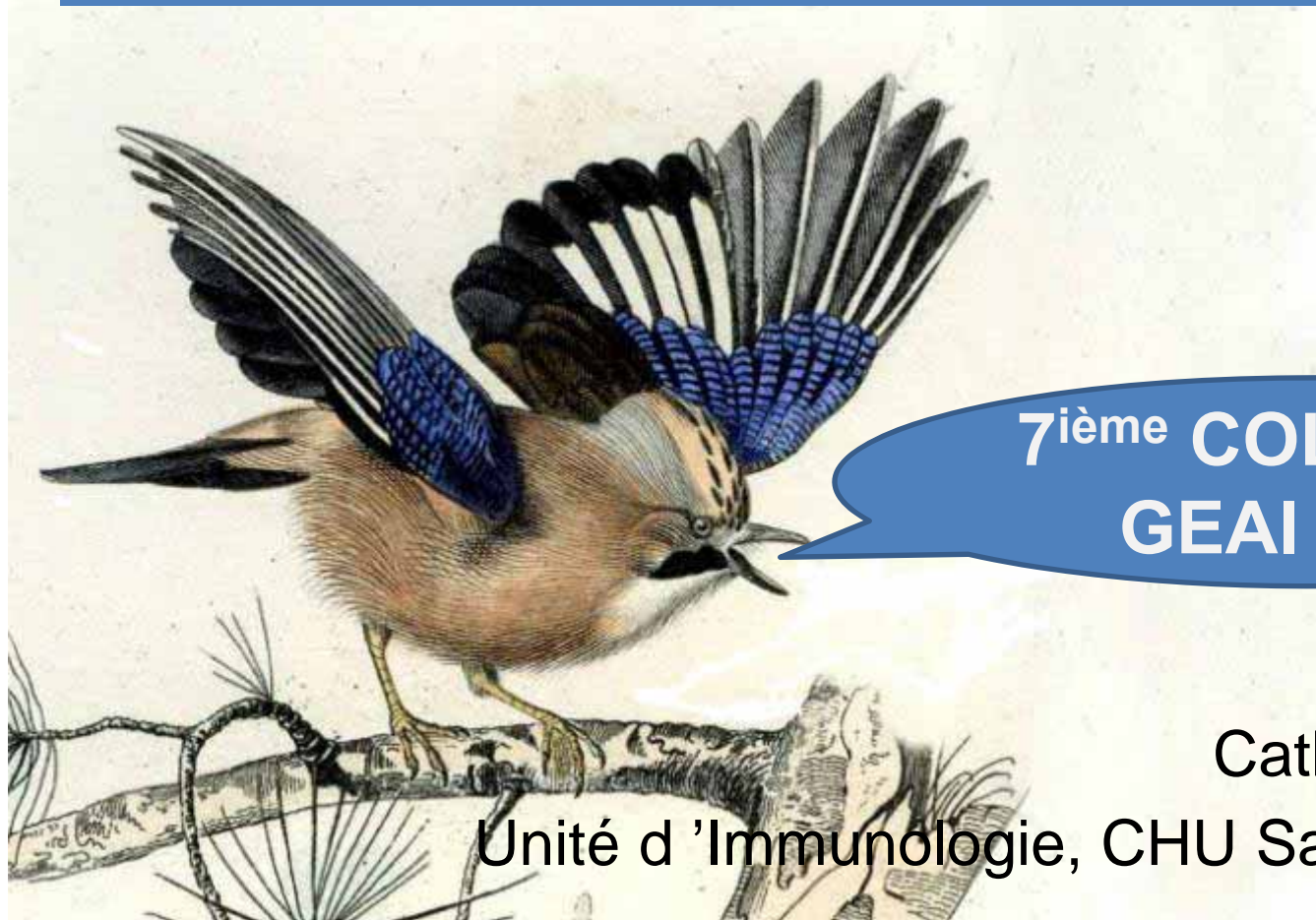


Anticorps anti-récepteur à la phospholipase A2:
marqueurs sérologiques de la glomérulonéphrite
extra-membraneuse.
Etude d'une cohorte de 233 patients.



7^{ème} COLLOQUE
GEAI 2012

Catherine JOHANET
Unité d'Immunologie, CHU Saint-Antoine, Paris

Introduction

2009

mise en évidence d'**Ac** dans le sérum de patients ayant une GEM idiopathique
(par *western blot* , Ag: *extrait de glomérules humains normaux*)

↓
Identification de l'Ag cible
(*spectrométrie de masse*)

Récepteur à la phospholipase A2

2010

Détection de l'Ac **simplifiée**

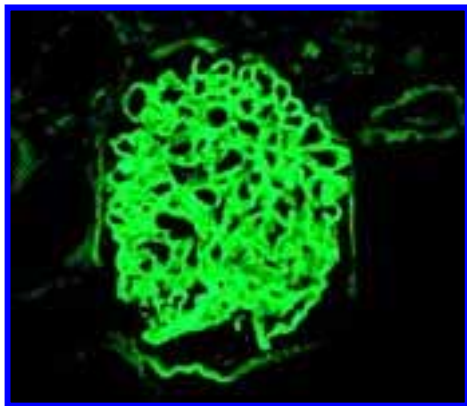
↓
Technique commerciale

IFI sur cellules rénales humaines transfectées

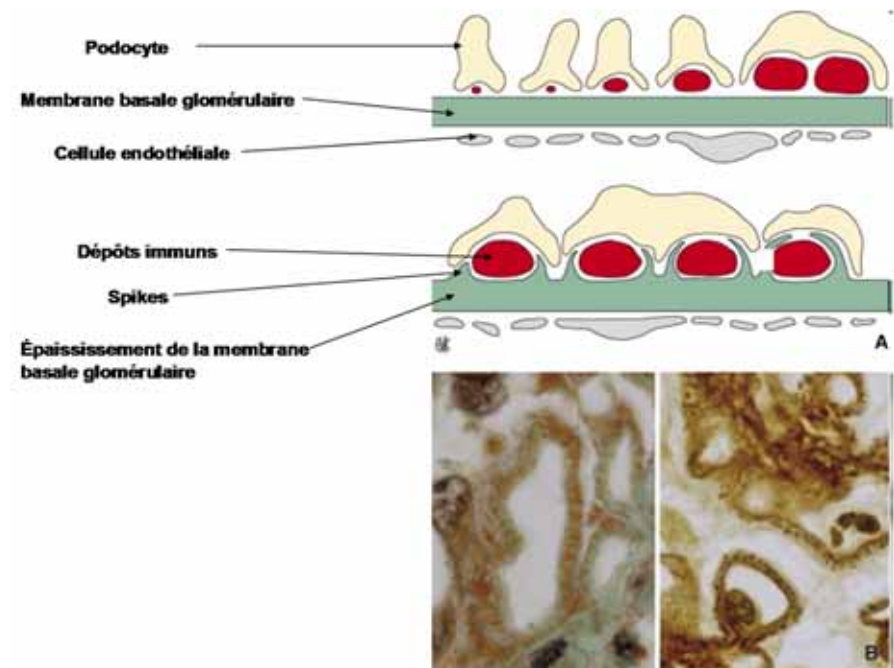
Détection des Ac anti-PLA2R par IIF à Saint-Antoine depuis janvier 2011

Glomérulonéphrite extra-membraneuse

- Cause la plus fréquente de **syndrome néphrotique** chez l'adulte
 - 80% GEM idiopathique
 - 20% GEM secondaire (MAI, infections, cancer, médicaments)
- **Diagnostic:** repose sur l'histologie rénale
 - 4 stades histologiques
 - Épaississement du versant externe de la MBG → dépôts granulaires d'IgG4 et de C



Immunofluorescence directe



Microscopie optique

Autoanticorps et GEM

Nombreux Ac dirigés contre un Ag podocytaire

- 1983 • **Ac anti-mégaline**
Néphrite expérimentale de Heymann (rat)
- 2002 • **Ac anti-NEP (endopeptidase neutre)**
Forme rare de GEM allo-immune (nouveau-né)
Mère déficiente en NEP immunisées pendant grossesse
Ac maternels fixés sur podocytes foetaux
- 2009 • **Ac anti-PLA2R**
GEM idiopathique
- 2010 • **Ac anti-aldose réductase**
GEM idiopathique
- 2010 • **Ac anti-superoxyde dismutase-2**
GEM idiopathique
- 2011 • **Ac anti- α -enolase**
GEM idiopathique

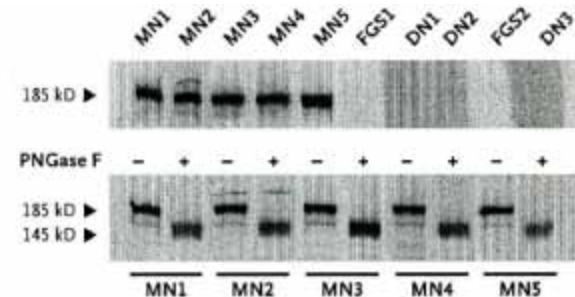
Les Ac anti-PLA2R (type M)

Beck L. et al, NJE 2009;361:11-21

- WB dans conditions non dénaturantes d'un extrait de glomérules humains normaux avec sérums de GEMi:

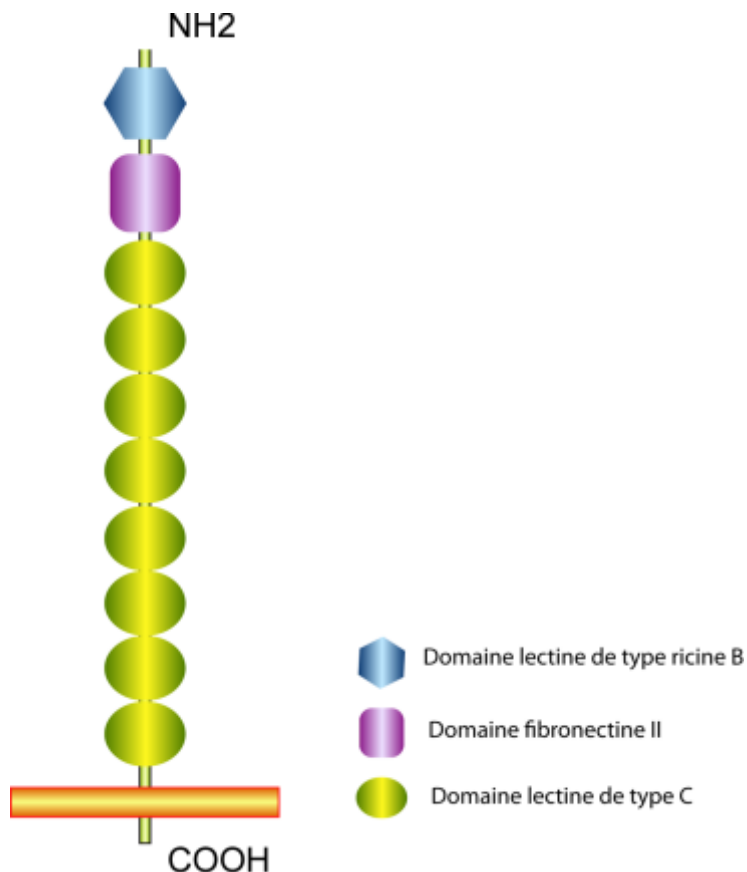
Bande marquée: à 185 kDa (Ag natif)

à 145 kDa (forme déglycosilé)



- Identification de la bande par spectrométrie de masse : PLA₂-R
- Spécificité confirmée par PLA₂-R recombinant et IP
- PLA₂-R présent dans les podocytes des glomérules humains et dans les dépôts au niveau de la MBG observés dans les GEMi où il colocalise avec les IgG4
- IgG éluées des biopsies de GEMi reconnaissent le PLA₂-R

Le récepteur de la phospholipase A2



- Récepteur transmembranaire de type I, membre de la famille des récepteurs du mannose
- Glycoprotéine de 185 kDa
- Présent au niveau des
 - poumons, PNN (faiblement)
 - reins (podocytes) +++
- Se lie à différentes phospholipases A2 sécrétées
- Rôle biologique au niveau des podocytes inconnu
- Polymorphisme du gène du PLA2R. (plus grande susceptibilité génétique pour la GEM idiopathique, taux de rémission plus faible)

Ac anti-PLA2R: marqueur diagnostique des GEMi

→ **Se: 52% (étude allemande) à 82% (étude chinoise)**

Auteur	Patients (n)	Anti-PLA2R + (n, %)	Méthode
Beck (2009)	37	26 (70)	WB
Hofstra (2011)	18	14 (78)	WB
Beck (2011)	35	25 (71)	WB
Debiec (2011)	42	24 (57)	IFI
Hoxha (2011)	100	52 (52)	IFI
Qin (2011)	60	49 (82)	WB
Bruschi (2011)	24	14 (58)	WB
Hoxha (2011)	81	53 (65)	IFI
Schönermarck (2011)	16	11 (69)	IFI

≠ Se:

- race
- Méthode
- caractéristiques cliniques (phase active, rémission..)

Limites:

- Cohortes modérées
- 1 seule étude prospective (*Hoxha 2011*)

→ **Sp: 89% à 100%**

- **Ac anti-PLA2R absent dans les GEM secondaire**
Sauf Qin (2011): 10 cancers, 3 anti-PLA2 +
- Ac anti-PLA2R absent chez témoins sains et patients présentant une protéinurie sans GEM

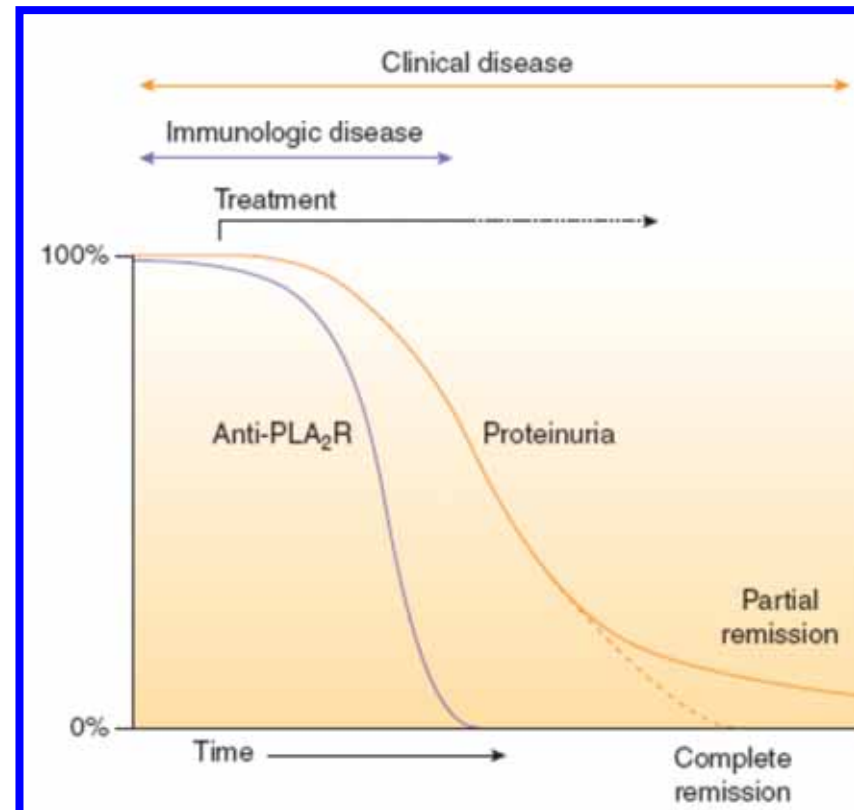
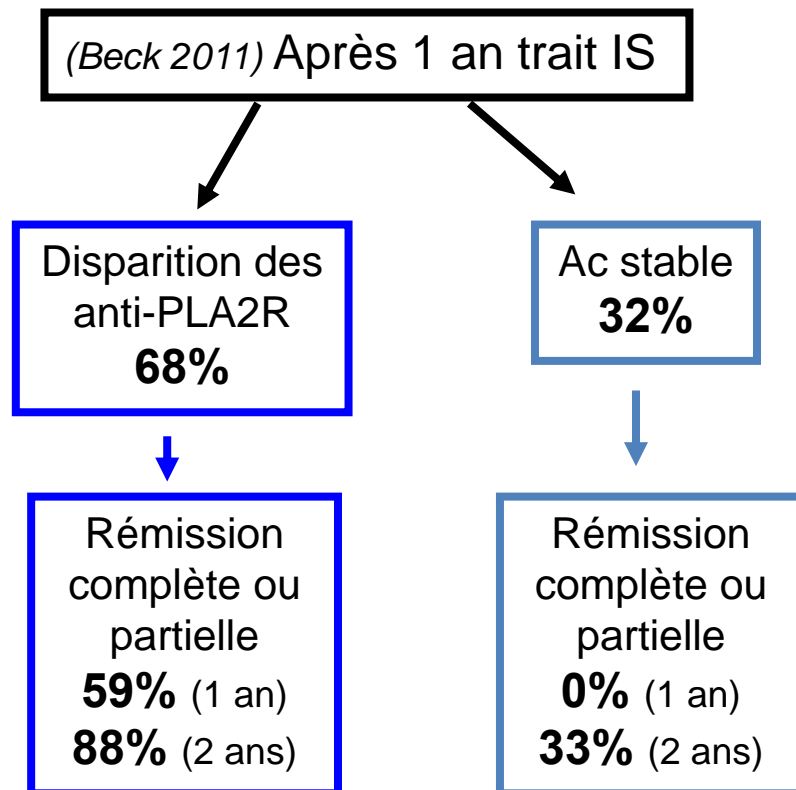
} **Limites:** nombre de patients inclus très faible

Ac anti-PLA2R: marqueur d'activité des GEMi

Association ++ à l'activité de la GEMi (protéinurie, hypoalbuminémie)

Rémission clinique:

↓ Ac avant ↓ protéinurie
Récidive: ré ascension des taux d'Ac



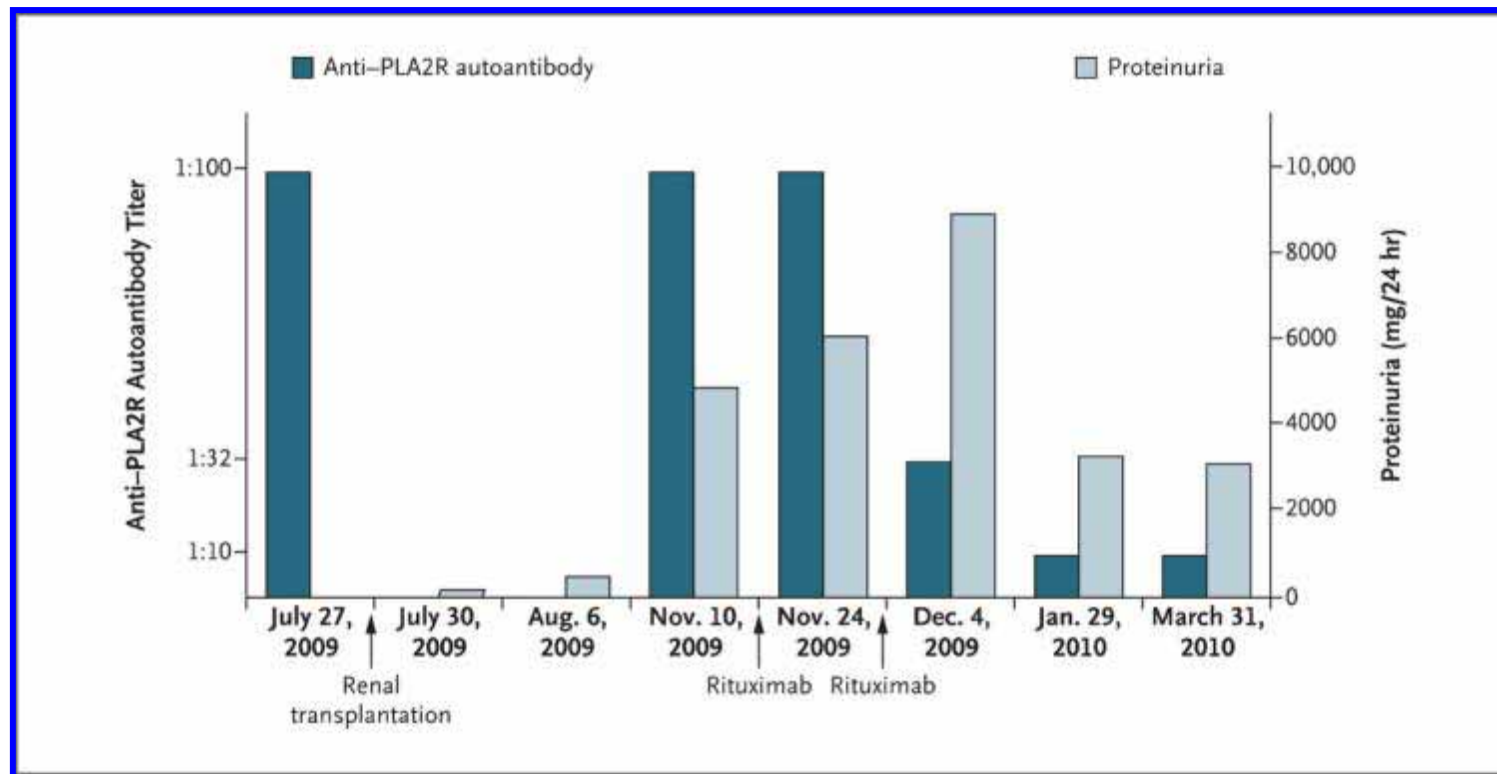
Beck L. et al, *Kidney Int* 2010

Ac anti-PLA2R et récurrence post greffe

Présence d'Ac anti-PLA2R avant transplantation rénale



risque de récurrence de la maladie après transplantation



Stahl R. et al, NEJM 2010

anti-PLA2R impliqués dans 50% des récurrences après transplantation → Autres Ac?

ETUDE D'UNE COHORTE DE 233 PATIENTS

Critères de sélection

- Détection des Ac anti-PLA2R dans l'unité d'autoimmunité de l'hôpital Saint-Antoine entre janvier 2011 et janvier 2012
- obtention de renseignement clinico-biologiques (questionnaire adressé au prescripteur)

Feuille de demande de recherche d'anticorps anti-PLA₂R
GEM sur reins propres

Protéinurie : g/24h mg/mmol
Créatinine : $\mu\text{mol/l}$ MDRD : ml/min/1,73m²

Diagnostic histologique de GEM O/N
Date biopsie : / /

Cause :

Idiopathique
Lupus
Médicaments Lequel ? :
Infection Laquelle ? :
Cancer Lequel ? :
Date du diagnostic :

Traitement :

Antérieur	Au moment du prélèvement
Bloqueur SRA <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Corticoides <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Endoxan <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ciclosporine <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rituximab <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autre immuno-suppresseur <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lequel ?	

Feuille de demande de recherche d'anticorps anti-PLA₂R
GEM sur rein transplanté

Protéinurie : g/24h mg/mmol
Créatinine : $\mu\text{mol/l}$ MDRD : ml/min/1,73m²

Diagnostic histologique de GEM O/N
Récurrence
De novo

Date biopsie : / /
Date transplantation : / /
Donneur vivant décédé

Traitements immunosuppresseurs reçus

Corticoides
Anti cytokine urines
Aza/MMP
Rituximab
Autres immuno-suppresseur
Lequel ? :

Détection des Ac anti-PLA2R

- **IFI sur cellules rénales embryonnaires humaine** (HEK 293) (Euroimmun) exprimant la protéine recombinante PLA2R1 et sur cellules témoins non transfectées

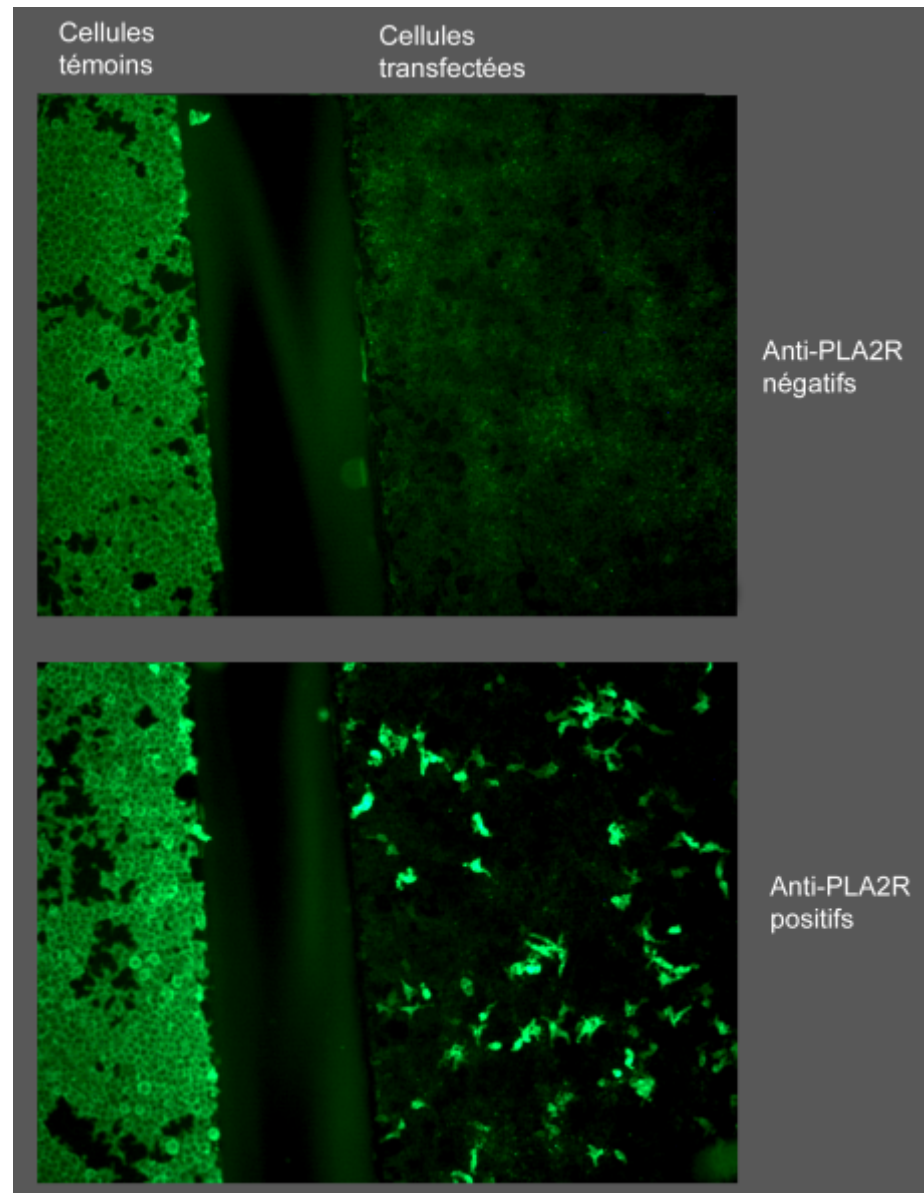
Seuil positivité: 1/10

Titrage:

1/10, 1/50, 1/100, 1/500, 1/1000

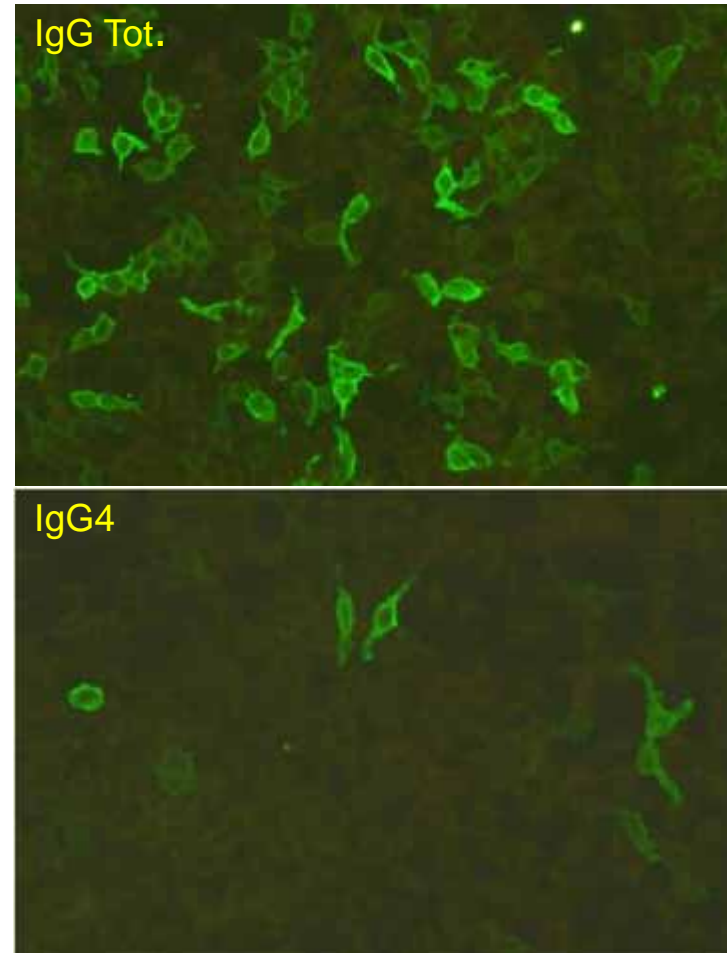
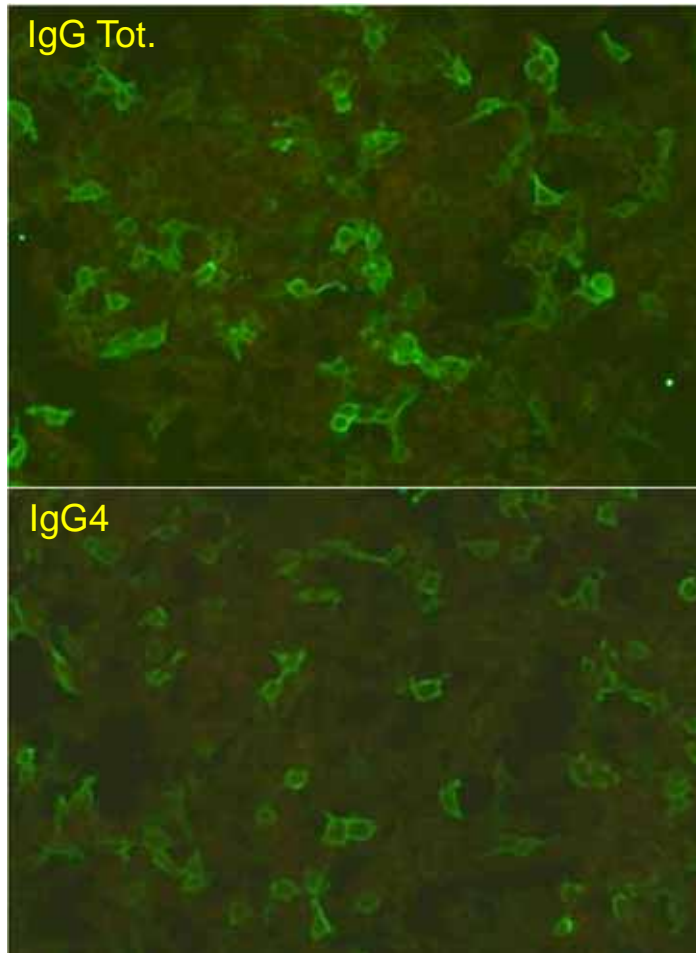
- **Comparaison IFI /WB** sur 10 sérums

Concordance: 100%



Détection des Ac anti-PLA2R

- Détermination de l'isotype IgG4 par IFI sur cellules rénales embryonnaires humaine (RL Humbel)



30 sérums positifs en IgG totales: 28 positifs en **IgG4 (93%)**

Description de la cohorte

310 sérums collectés

233 sérums inclus:
GEM histologiquement prouvée

166 GEM idiopathiques
Âge moyen: 52 ans
72% d'hommes
53% sous IS

Suivi

42 GEM idiopathiques
Plusieurs prélèvements
dans l'année

67 GEM secondaires

Âge moyen: 49 ans, 37% hommes

- 45 GEM lupiques
- 12 GEM secondaires à un cancer (cancer de la prostate, broncho-pulmonaire, thyroïdien, LLC)
- 4 GEM secondaires à une infection (hépatites C et E, filariose, bilharziose)
- 3 GEM liées à une réaction de greffon contre l'hôte
- 2 GEM d'origine médicamenteuse (Diclofénac)
- 1 GEM secondaire à un syndrome de Sharp

Description de la cohorte

GEM idiopathiques



35 patients

Echantillons reçus après transplantation rénale (en moyenne 6 ans après)



28 GEM idiopathiques sur greffon



7 patients

Absence de récurrence 6 ans après la transplantation

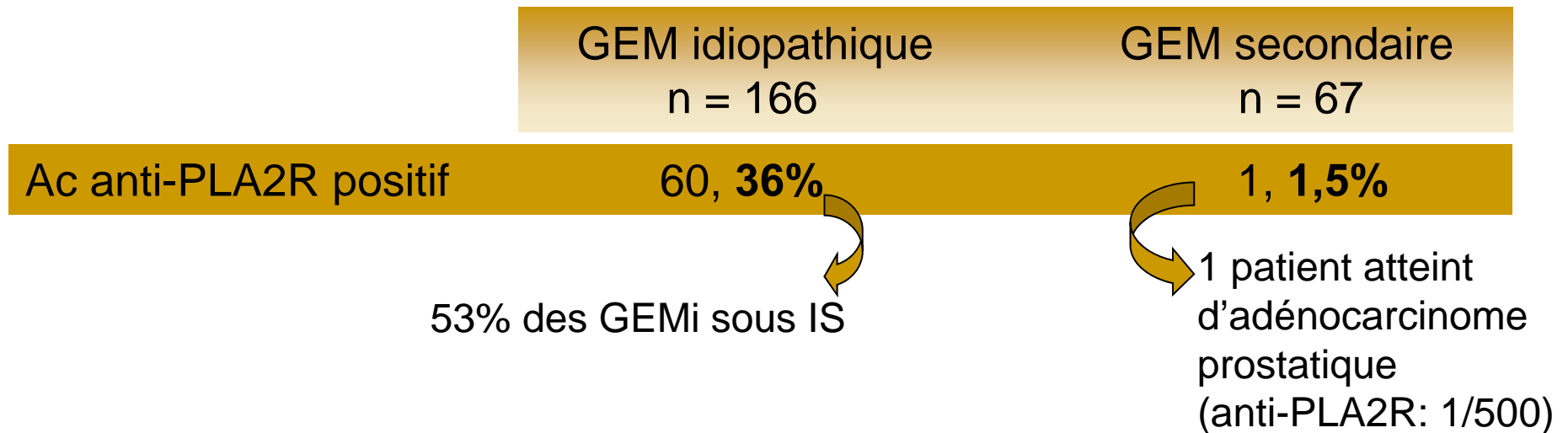


12 récurrences



9 GEM idiopathiques de novo

Résultats: prévalence des Ac anti-PLA2R dans la cohorte



Valeur prédictive positive du test
en faveur du diagnostic de GEM idiopathique: excellente

VPP = 98,4%

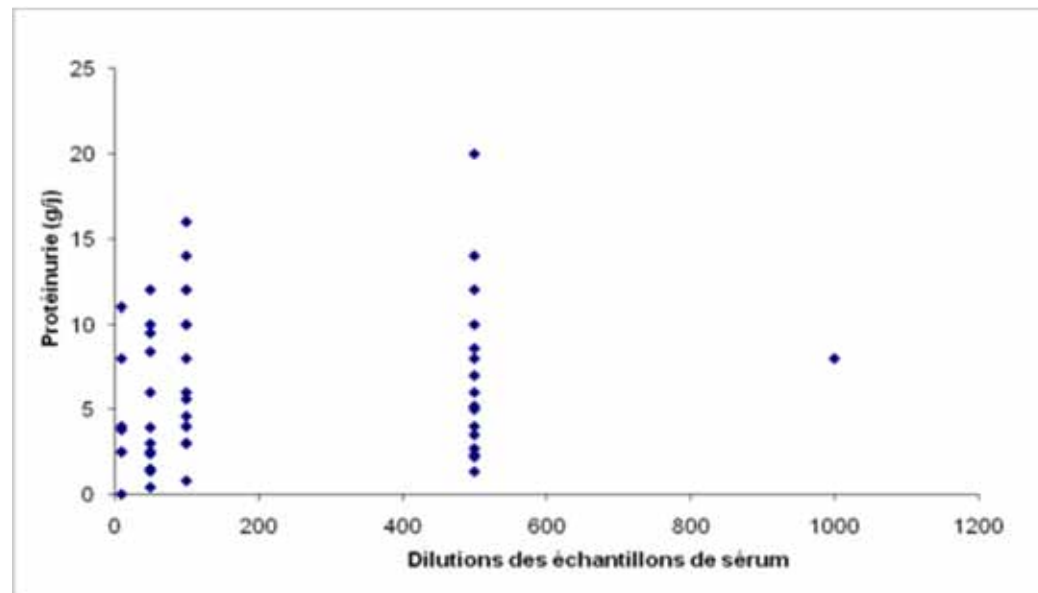
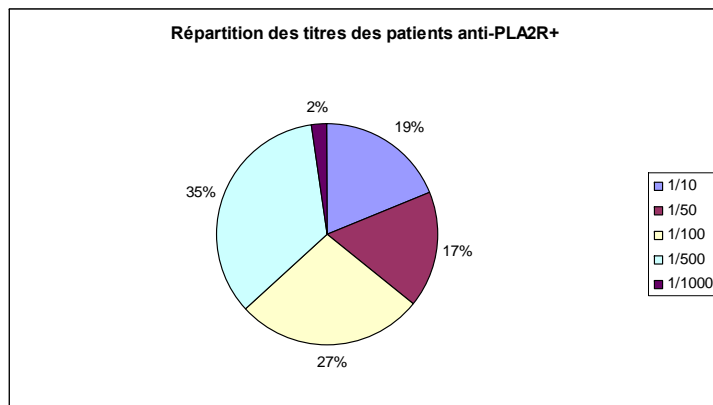
Résultats: Ac et activité de la maladie

- Corrélation entre la présence de l'Ac et l'activité de la maladie évaluée sur la **protéinurie**

	GEM idiopathique Protéinurie >3g/j	GEM idiopathique protéinurie <3g/j
Ac anti-PLA2R positif	45,5%	18%

P = 0,004


- Pas de corrélation entre le taux de la protéinurie et le titre des Ac anti-PLA2R ($R=0,02$)



Résultats: patients transplantés

35 sérums: 6 ans en moyenne après transplantation rénale

	Récurrence de GEM idiopathique N = 12	Absence de récurrence de GEM idiopathique N = 7	GEM idiopathique de novo N = 12
Ac anti-PLA2R positif	42%	0%	0%

 $P = 0,019$

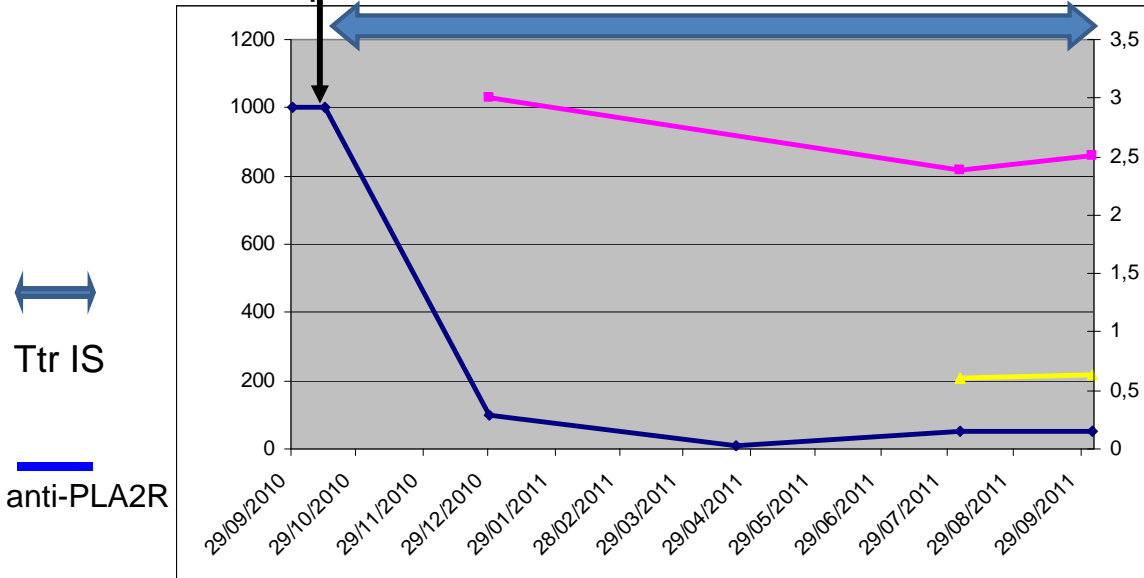
Suivi sur 1 an: 42 patients (GEM idiopathique)

Taux d'Ac anti-PLA2R:

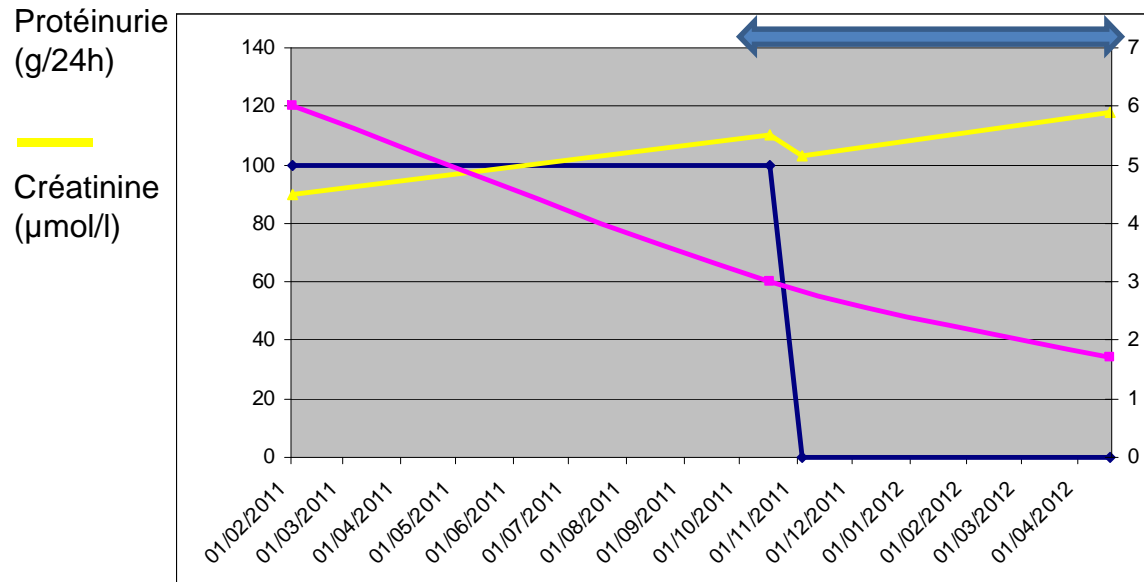
↓ 19/42 (45%)	→	Protéinurie ↓ 73%
↑ 23/42 (55%)	→	Protéinurie ↑ 91%

Suivi

transplantation



Chute des Ac anti-PLA2R sous rituximab (1/1000 à 1/50)
 Protéinurie stable (3 à 2,5)
 Récidive de GEMi
 Décès



Négativation des Ac anti-PLA2R sous rituximab
 Baisse de la protéinurie (6 à 2)

Conclusion

Excellents marqueurs diagnostiques de la GEM idiopathique.

Corrélés à l'activité de la maladie

Prédictifs de la récurrence

Suggère la pathogénie

La quantification du marqueur pourrait aider à monitorer le traitement

Peu d'études comparatives entre IFI et western blot

Manque d'études prospectives pour confirmer la place du marqueur dans le diagnostic et la stratégie thérapeutique

Remerciements: L'ensemble des néphrologues ayant fourni les renseignements clinico-biologiques et tout particulièrement P Ronco (Tenon).

J Goetz (Strasbourg) et H Debiec (Tenon) (sérums testés par western blot)

RL Humbel (sous-type IgG4)