

MARQUEURS SEROLOGIQUES AU COURS DES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN (MICI)

Catherine JOHANET

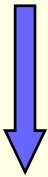
Unité d'Immunologie, CHU Saint-Antoine, Paris



6^{ème} colloque, GEAI, Paris 2010

AUTO- ANTICORPS DES MICI

Rectocolite Hémorragique



ANCA

pANCA atypiques

x-ANCA

NANA

(nuclear associated neutrophil antibodies)

Ac en cours de
développement
dans MC

Ac couramment
utilisés

Maladie de Crohn



ASCA IgA et/ou IgG

Ac Anti-pancréas exocrine

- **Ac anti-antigènes microbiens:**

- Ac anti-*mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP)

- Ac anti-porine OmpC de *Echerichia coli*

- Ac anti-séquence I2 du *Pseudomonas fluorescens*

- Ac anti-flagelline CBir1

- **Ac anti-glycanes**

POURQUOI L'APPARITION DE CES NOUVEAUX TESTS DANS LA MALADIE DE CROHN?

→ Le diagnostic des MICI repose principalement sur l'endoscopie

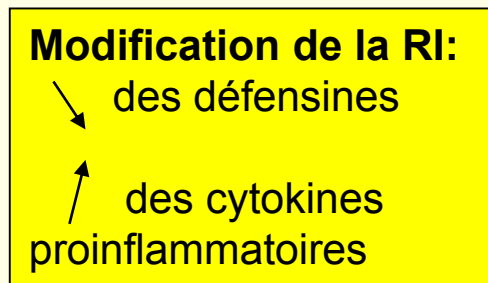
→ La classification des MICI de Montréal en 2006: basée sur des critères anatomiques
L'utilisation des Ac n'y est pas recommandée du fait de leur sensibilités modérées

→ Intérêt sur un plan pronostique:
Individualisation de sous-types de MC avec des profils évolutifs différents

POURQUOI L'APPARITION DE CES NOUVEAUX TESTS DANS LA MALADIE DE CROHN?

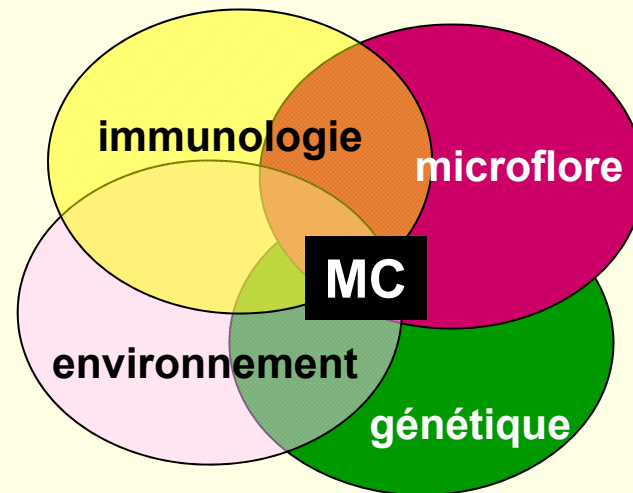
Ac anti-antigènes microbiens

Interactions multifactorielles de la MC: rôle de la microflore suspectée



Altération de la barrière muqueuse
concentrations élevées de bactéries dans le mucus

tabac



- Participation de la flore bactérienne commensale au déclenchement d'une réponse inflammatoire intestinale inappropriée
- agents infectieux pathogènes

Gène de susceptibilité
NOD2/CARD15

ANCA: CIBLES ANTIGENIQUES

ANTIGENES CYTOPLASMIQUES

Lactoferrin , BPI , Cathepsin G, Elastase,
 α Enolase , Catalase , h-Lamp.2

TBB5 : Tubuline - β isoforme 5

(Terjung et al, Clin Rev Allergy Immunol, 2009)

Homologie de structure
entre TBB5 et la protéine
bactérienne FtsZ
abondante dans la
microflore intestinale

ANTIGENES NUCLEAIRES (NANA)

Protéines HMG1 , 2 (high mobility group)
Histone H1

Lamin B1-like 50KD: composant interne de la
membrane nucléaire des PN et cellules myéloïdes

Complexe Lactoferrine-DNA

(Teegen et al, Ann N Y Acad Sci, 2009)

Cibles récemment
identifiées

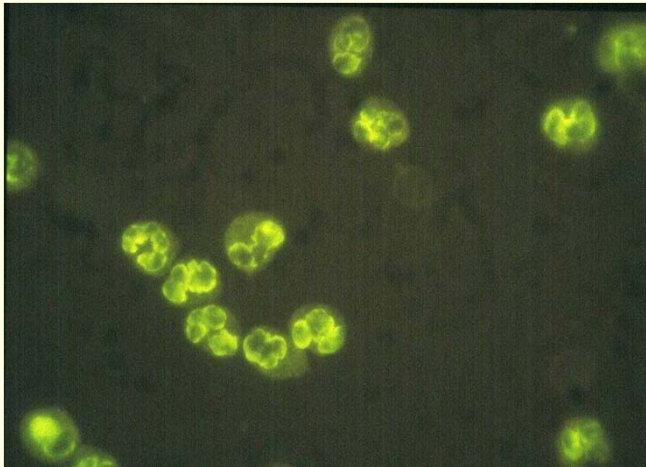
ANCA: DETECTION

- **test de référence: polynucléaires humains fixés à l'éthanol**

Isotype recherché: IgG

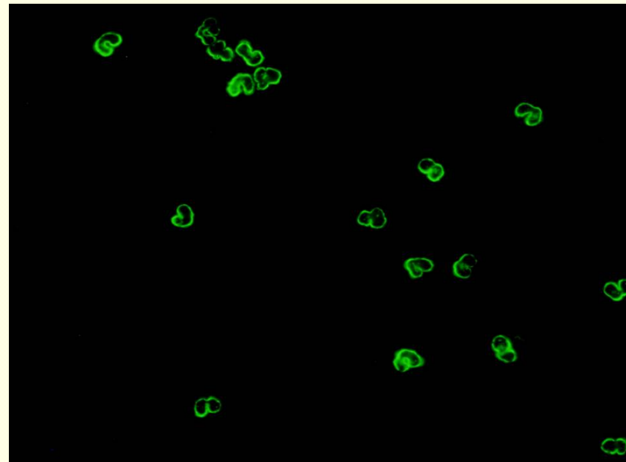
seuil de positivité: dilution 1/40

P-ANCA typique: fluorescence
périnucléaire épaisse

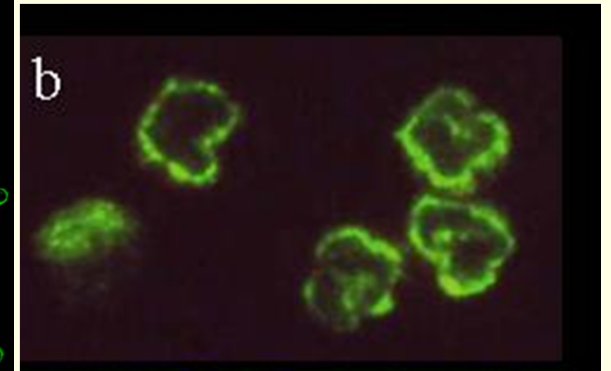


Formol: cytoplasmique
Méthanol: négatif

P-ANCA atypique fluorescence de la membrane
nucléaire, plus fine que celle des p-ANCA classiques,
parfois granuleuse

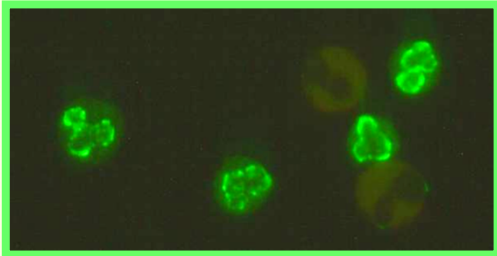


Formol: négatif
Méthanol: périnucléaire

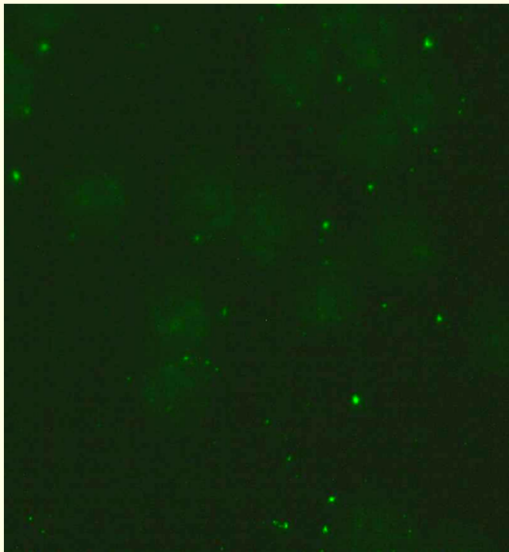


ANCA: DETECTION

• Ac anti-complexe lactoferrine-DNA

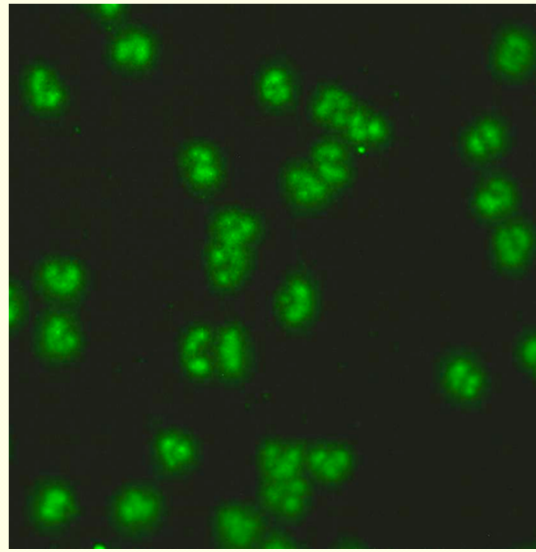


ETHANOL



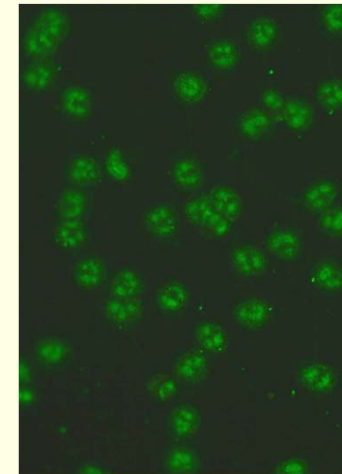
GRANULOCYTES TRAITES

(traitement: MgSO4 1M,
extraction des protéines
sauf ADN)

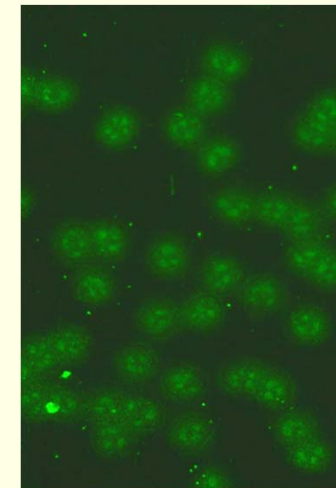


GRANULOCYTES TRAITES
PUIS LACTOFERRINE

• anti-DNA



GRANULOCYTES
TRAITES PUIS
LACTOFERRINE



GRANULOCYTES
TRAITES

ASCA: DETECTION

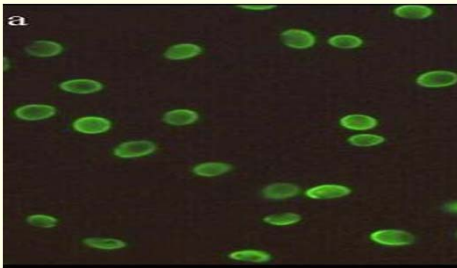
Antigène

Glycoprotéine (extrait soluble de la paroi de la levure): **phosphopeptidomannane**
déterminant antigénique: **mannotétraose**, mannose reliés par des liaisons α (1 $\rightarrow$ 2) et α (1 $\rightarrow$ 3)

détection Recherche conjointe isotypes IgG et IgA : meilleure sensibilité, spécificité, VPP

IFI

- Frottis fixés de *Saccharomyces cerevisiae*



Fluorescence de la paroi des levures

ELISA

- Extraits de levure bouillies ou disloquées
- phosphopeptidomannanes purifiés/ paroi levures

Immuno dot

Concordance entre les différentes techniques: étude multicentrique GEAI 2003

Sensibilité et spécificité pour les MC comparable (245 patients)

IFI:	42%	97%
ELISA:	47%	95%

Nouvelle technique: A Σ MA: ELISA utilisant un panel d'oligomannoses synthétiques

Ac anti-pancréas exocrine: DETECTION

Antigènes

complexe protéique sensible à la trypsine localisé dans les sécrétions pancréatiques exocrines

Glycoprotéines GP2 et CUZD1 (CUB/zona pellucida like domain- containing protein)
(Roggenbuck D et al, Gut 2009)

Glycoprotéine GP2 également exprimé au niveau de la membrane des entérocytes

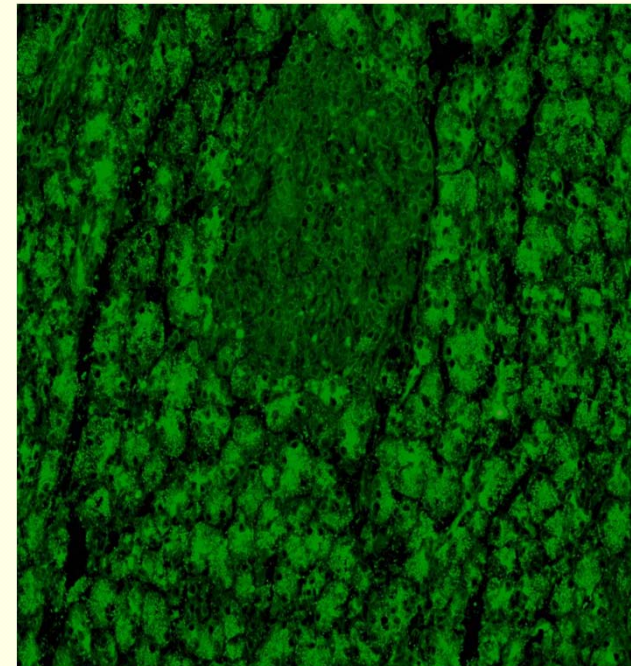
Détection

IFI

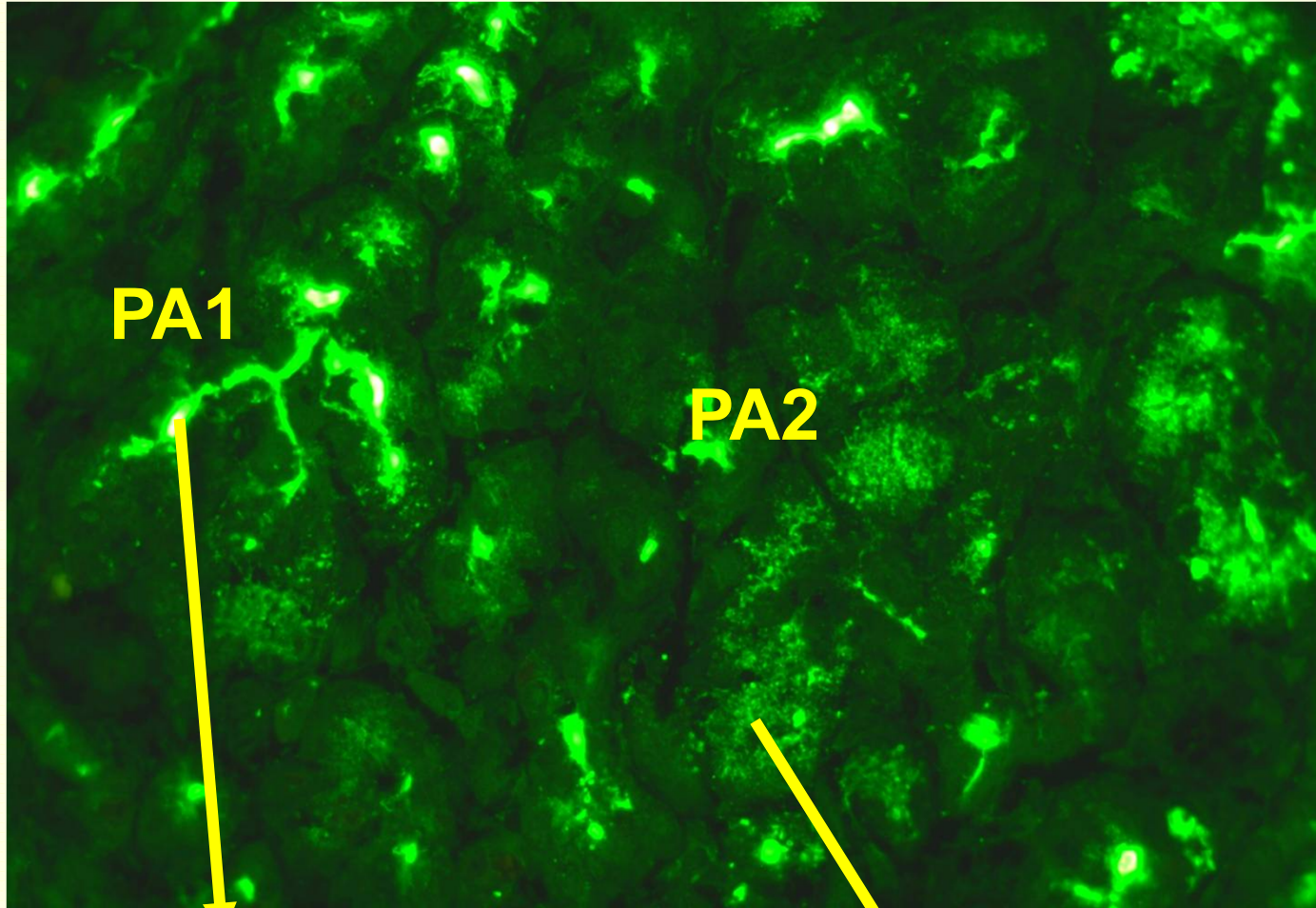
- coupe de pancréas humain
- cellules transfectées

ELISA

Ag: GP2 recombinant



Ac anti-pancréas exocrine: DETECTION



Grosses
gouttelettes
de sécrétion
qui sortent
des acinis

Petis grains
cytoplasmiques
dans les acinis

PA1

PA2

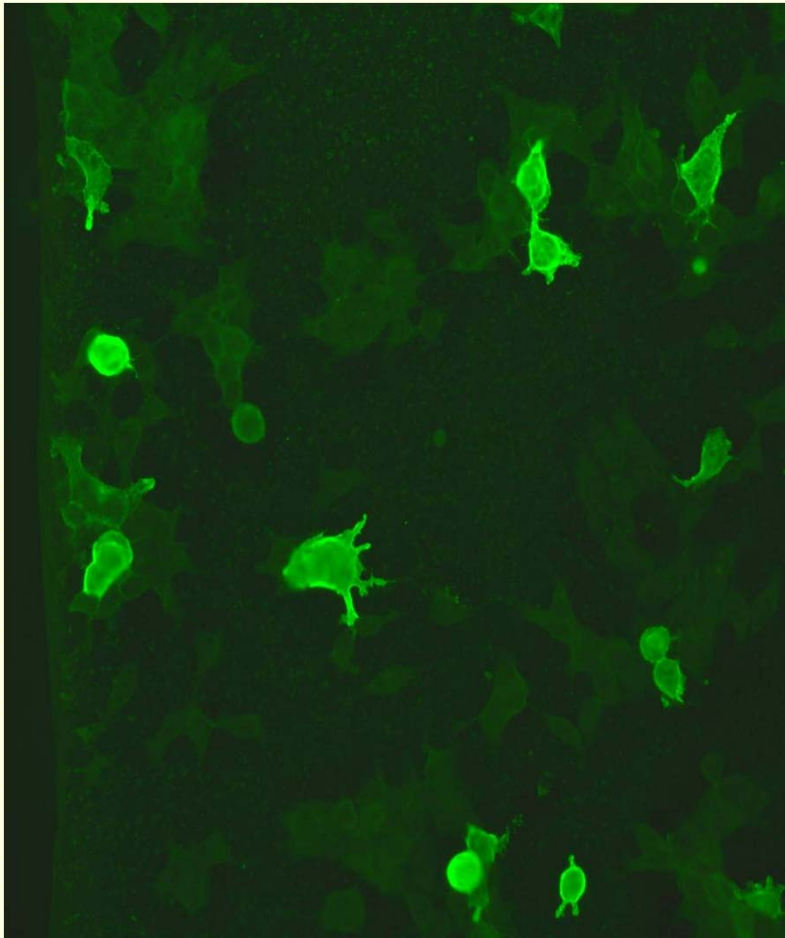
GP2

Zymogen Granule Membrane
Glycoprotein

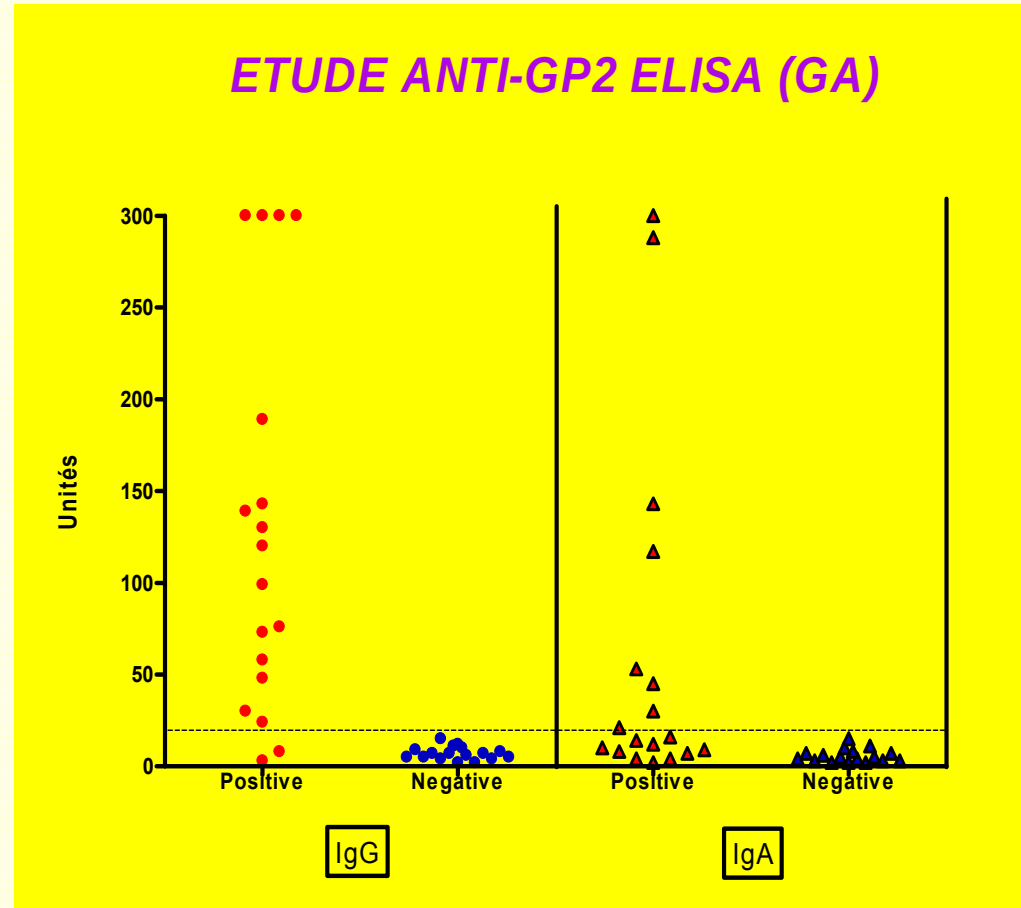
CUZD1

CUB/Zona Pellucida Like
Domain Containing Protein

Ac anti-pancréas exocrine: DETECTION



Cellules transfectées
(cellules endothéliales HEK293)



Positif, négatif= résultat d'IFI sur pancréas

Ac anti-antigènes microbiens et anti-glycanes: DETECTION

Anticorps	Cible antigénique	Détection
Anti-OmpC	Porine C de Escherichia coli	ELISA
Anti-I2	Sequence I2 de pseudomonas fluorescens	ELISA
Anti-flagelline	CBir1, flagelline	ELISA
Anti-MAP	Proteines P35, P36, IS900GST	ELISA
ALCA	Laminarobioside: résidus de glucose	ELISA
ACCA	Chitobioside: résidus de N acétyl-glucosamide	ELISA
AMCA	Mannobioside: résidus de mannose et de glucose	ELISA
Anti-UBE4A	Ubiquitine facteur E4A	ELISA

anti-OmpC : anti-outer membrane porin C ; anti-MAP : anti-*Mycobacterium avium paratuberculosis* ; ALCA : anti-laminaribioside carbohydrate ; ACCA : anti-chitobioside carbohydrate ; AMCA : anti-mannobioside carbohydrate ; anti-UBE4A : anti-ubiquitine facteur E4A ; IS900GST : Insertion Element 900 de la glutathion S-transférase.

Intérêt à rechercher ces marqueurs sérologiques?

- Dans le diagnostic des MICI
- Dans le diagnostic différentiel entre RCH et MC
- Comme marqueur pronostiques des MICI: Ac et phénotypes cliniques
- Dans la prise en charge thérapeutique des MICI
- Comme marqueur de susceptibilité génétique

Intérêt des Ac comme marqueurs diagnostiques des MICI

→ Fréquence des différents Ac au cours des MICI: **modérée**

Anticorps	MC	RCH	Contrôles sains
pANCAa	10 à 29%	31 à 80%	0 à 3%
ASCA	27 à 81%	5 à 27%	0 à 5%
Anti-PEX	30 à 37%	2 à 8%	0 à 2%
Anti-OmpC	22 à 56%	5 à 11%	5%
Anti-I2	26 à 59%	10%	4 à 10%
Anti-flagelline	53 à 56%	4 à 6%	8%
Anti-MAP	37 à 89%	10 à 34%	0 à 34%
ALCA	17 à 27%	4 à 7%	2%
ACCA	20 à 27%	5 à 15%	12 à 15%
AMCA	28 à 31%	18%	8%
Anti-UBE4A	46%	7%	3%

Intérêt des Ac comme marqueurs diagnostiques des MICI

➔ Ac présents dans d'autres pathologies

ANCA

- cholangite sclérosante primitive:
 - 25%: CSP isolée
 - 80%: CSP associées aux MICI
- HAI-1: 40 à 50%

ASCA

- maladie coeliaque en phase active
- maladie de Behcet
- cholangite sclérosante primitive
- cirrhose biliaire primitive
- spondylarthrite ankylosante

Anti-OmpC, anti-I2, anti-MAP

- Maladie coeliaque en phase active

Anti-glycanes

- Maladie coeliaque en phase active

➔ **Utilité des Ac reste limitée dans le dépistage des MICI**

Intérêt des Ac dans le diagnostic différentiel RCH / MC

Dosages combinés ASCA / ANCA



2 profils:

ASCA+ / ANCA-
ASCA- / ANCA+



MC (VPP 75 à 96%)



RCH (VPP 82 à 100%)

Ajout des anti-OmpC, anti-I2, anti-glycanes



Peu d'aide diagnostique complémentaire

ASCA / ANCA dans les colites indifférenciées

- ➡ ANCA-/ASCA+ : évolution vers une MC à 1 an dans 80% des cas
- ➡ ASCA- : absence d'évolution vers une MC à 10 ans dans 85% des cas
- ➡ ANCA+/ASCA- : évolution vers une RCH à 1 an dans 65% des cas
- ➡ ANCA- : absence d'évolution vers une RCH à 10 ans dans 85% des cas

Interêt des Ac comme marqueurs pronostique des MICI

Présence d'Ac = risque accru de formes agressives

RCH

Présence d'**ANCA** associée à:

Risque accru de formes **agressives et chirurgicales**
Pouchite chronique post anastomose iléo-anale

Interêt des Ac comme marqueurs pronostique des MC

Associations entre le phénotype de la maladie et la réponse immunitaire

b

• ANCA +
ANCA + / ASCA -

• Phénotype RCH-like purement **colique**, sans atteinte iléale

• ASCA +

• Age précoce de survenue de la MC
• Formes agressives
Atteintes **grêliques perforantes ou sténosantes**

↓
chirurgie

• Anti-OmpC +

• Formes agressives
Atteintes **perforantes du grêle**
(Mow et al, *Gastroenterology*, 2004)

• Anti-I2 +

• Formes agressives
Atteintes **sténosantes du grêle**
(Mow et al, *Gastroenterology*, 2004)

Interêt des Ac comme marqueurs pronostique des MC

Associations entre le phénotype de la maladie et la réponse immunitaire

• Anti-CBir + (flagelline)

- **Age précoce** de survenue de la MC (*Markowitz J et al, inflamm Bowel Dis 2009*)

avant 7 ans: phénotype anti-CBir +/-ASCA +/-anti-OmpC -

8 -15 ans: anti-cBir + / ASCA + / anti-OmpC +

- Formes agressives

Forme **iléale**, pénétrante et fibrosante

- association négative avec le phénotype RCH-like (*Papadakis et al, inflamm Bowel Dis 2007*)

(anti-CBir +: 38,5% pour le phénotype RCH like vs 62% pour les formes iléales)

• Anti-MAP +

- anti-MAP et phénotype clinique peu étudié

- forme **iléale** (*Nakase et al, inflamm Bowel Dis, 2006*)

- augmentation des manifestations **extra-intestinales** (*St Antoine, non publié*)

(45% d'**arthrite** dans MC anti-MAP + vs 13% dans les MC anti-MAP -)

Interêt des Ac comme marqueurs pronostique des MC

Associations entre le phénotype de la maladie et la réponse immunitaire

b

- Anti-glycanes +

(ALCA, ACCA,
AMCA)

résultats **controversés**

- formes agressives

(Ferrante M et al, Gut 2007; Ly X et al, World J Gastroenterol 2008)

Atteinte **iléale pénétrante et sténosante**

âge précoce de survenue de la maladie pour les **ALCA**

- **aucune association**

(Malickova K et al, Eur J Gastroenterol Hepatol 2010)

Interêt des Ac comme marqueurs pronostique des MC

Rapidité des complications = fonction de l'ampleur de la réponse immunitaire (taux et nombre d'Ac)

(Dubinsky et al, Am J Gastroenterol, 2006)

Cohorte de 193 enfants MC (12 ans, 1 – 18ans), suivi moyen de 18 mois

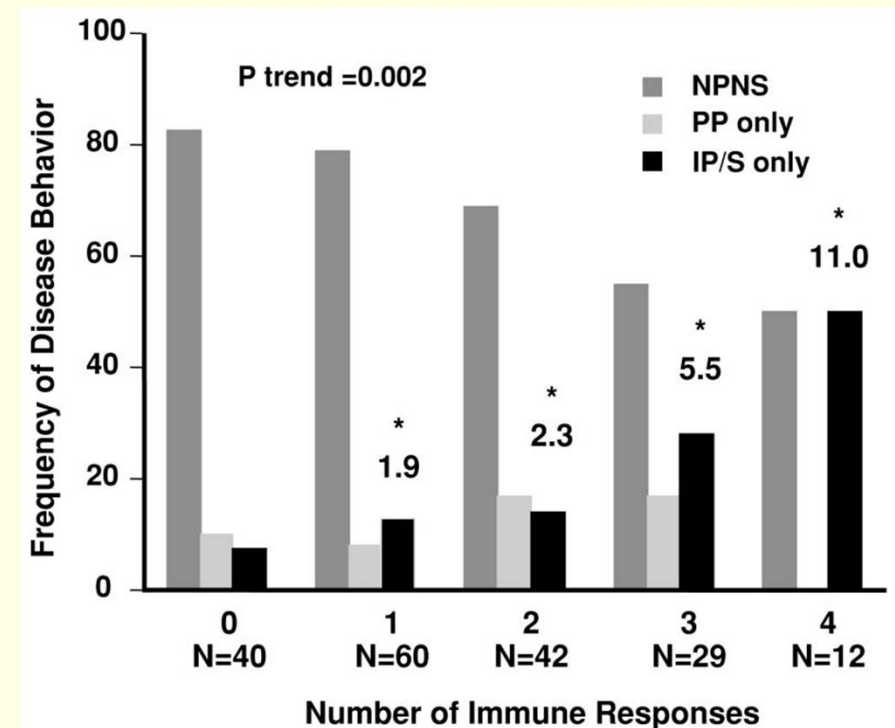
Détection des ASCA, anti-I2, anti-OmpC, anti-CBir

➡ **4** Ac positifs

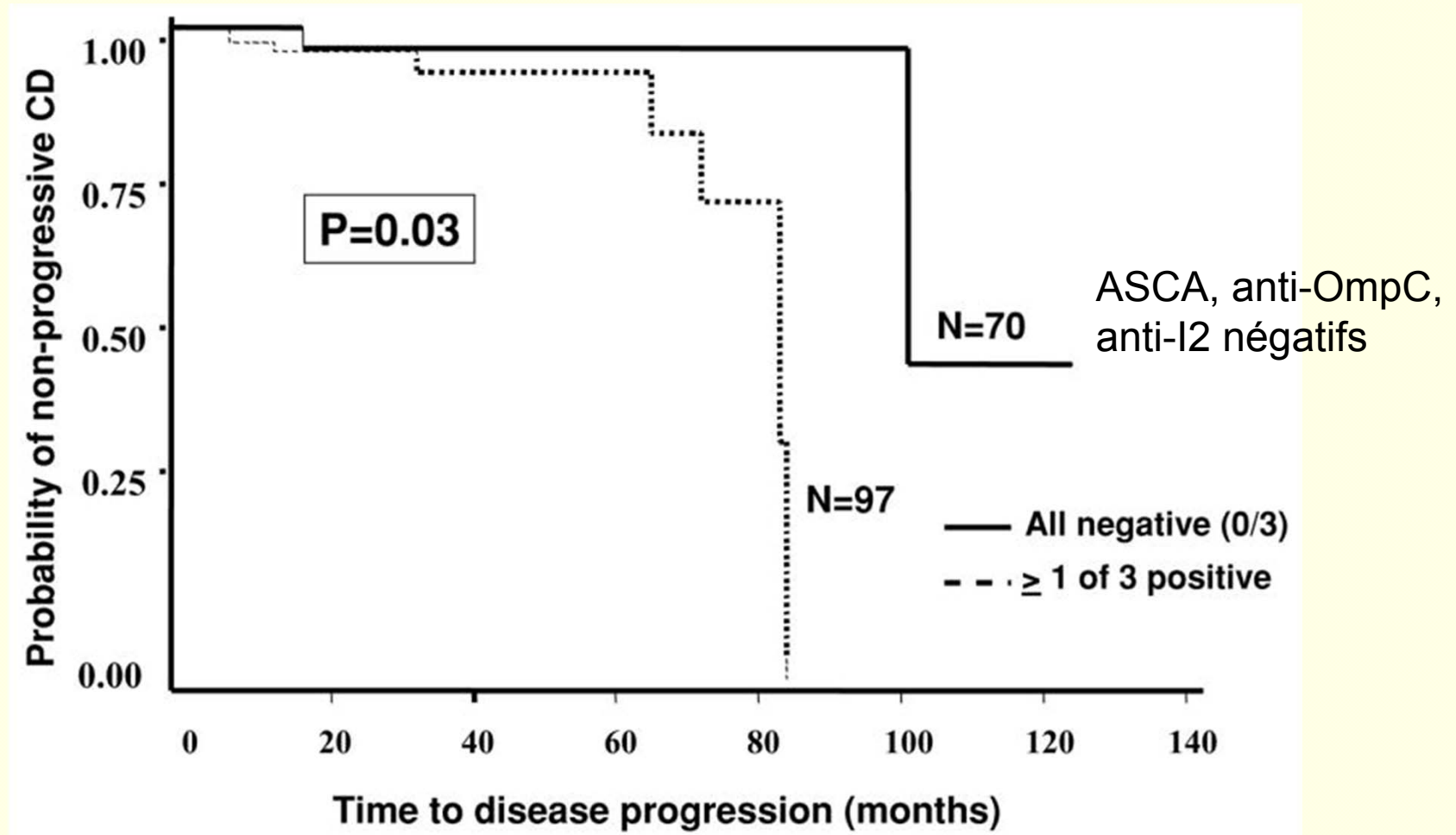
Fréquence des complications **X 11**

➡ **3** Ac positifs

Fréquence des complications **X 5,5**



Interêt des Ac comme marqueurs pronostique des MC



Positivité pour au moins 1 Ac



progression plus rapide vers une forme pénétrante et sténosante

Intérêt des Ac dans la prise en charge thérapeutique des MICI

ANCA / ASCA et réponse à l'infliximab: 4 études (aucune n'a étudiée le maintien de la réponse à long terme)

• ANCA + / ASCA -

RCH 1 étude



Ac Associé à une moindre
réponse au traitement

*Ferrante et al, inflamm Bowel
Dis, 2007*

MC

3 études: résultats contradictoires



2 études négatives

*Esters et al, Am J Gastroenterol,
2002*

*Arnott et al, Aliment Pharmacol
Ther, 2003*



1 étude positive

*Taylor et al, Gastroenterology,
2001*

• ANCA - / ASCA +

Études concordantes: **les ASCA ne sont pas un marqueur sérologique prédictif de la réponse au traitement par infliximab**

Étude Saint-Antoine (2010): 182 MICI: ANCA et /ou ASCA → pas de valeur prédictive de réponse au traitement

Intérêt des Ac dans la prise en charge thérapeutique des MICI

Anti-microbiens (anti-OmpC, anti-I2): peu d'études

- ➡ Pas prédictif de la réponse à l'infliximab ou aux corticoides (anti-OmpC)
- ➡ Aide au choix de l'antibiothérapie (*Mow et al, Dig Dis Sci, 2004*)
 - MC anti-OmpC + et ou anti-I2 + ➡ Budesonide + antibiothérapie
 - MC anti-OmpC -, anti-I2 - ➡ Budesonide seul
- ➡ Prédire la réponse clinique à une chirurgie de diversion au cours de la MC (*Spivak et al, Inflamm Bowel Dis, 2006*)
 - Réponse clinique favorable ➡ 14/16 patients anti-I2+
2/11 patients anti-I2-

Anti-MAP Non prédictif de la réponse au traitement

Intérêt des Ac comme marqueurs de susceptibilité génétique

Etudes familiales chez les parents du premier degré

b

ANCA

Ne sont pas un marqueur de susceptibilité génétique à la RCH

ASCA

↑ de ces Ac chez les parents du premier degré

Anti-OmpC



ALCA

compatible avec le rôle de ces Ac comme marqueurs de prédisposition génétique à la MC

CONCLUSION

ANCA / ASCA

b

- ➔ Utilité modérée en dépistage pour les MICI (adultes et enfants)
- ➔ Aide au diagnostic différentiel entre MC et RCH
- ➔ Aide à la caractérisation de certaines colites indifférenciées
- ➔ Associés à la sévérité de la maladie

CONCLUSION

Ac anti-antigènes microbiens

- ➔ Associés à la **sévérité de la MC** (proportionnelle au nombre et au taux d'Ac présents)
- ➔ Une stratification faite sur l'amplitude de ces Ac pourrait ainsi isoler des formes à **potentiel évolutif sévère** pour lesquelles des traitements de première ligne plus agressifs pourraient être proposés.
- ➔ Études complémentaires sur de larges cohortes sont nécessaires
Problème d'accessibilité des antigènes et des coffrets de détection de ces Ac

Remerciements: RL HUMBEL