

## Anti-« LKM », LM, LC et clinique: cohorte de 36 patients

- Louis Waeckel, David Goncalves, Nicole Fabien
- photos IFI et livret « Des aspects les plus courants sur coupes de tissus aux plus rares »: René-Louis Humbel
  - cahier de formation N°37 2006  
maladies autoimmunes du foie (C. Johanet, E. Ballot)
- Séminaire GEAI 14 juin 2021

## Quelques définitions

Ac anti	Foie		Cellules épithéliales du rein					Estomac	
	Rat	Homme	Rat ou souris					Rat	
	Hépatocytes		P1	P3	D	H	C	P	B
M1	++		++	+	+++	0		+	++
M2	+ ou ±		++ ou ±	+ ou ±	+++	+ ou ±	++ ou +++	+	+++ ou ±
M3			++	++	++		0	++	++
M5	++		+++	++	+ ou +++	0	0	0 ou ± <sup>(1)</sup>	0 ou ±
M6	+++		+++	0	0	+++	0	0 *	0
LKM1	+++	++	+	++ ou +++	0	0	0	0	0
LKM2	<sup>(2)</sup> +++	++	+++	+	0	0	0	0	0
LKM3	+	++	0 ou +	0 ou +	0	0	0	0	0
LKM-AC	<sup>(3)</sup> ++		±	±	0	0	0	0	0
LKM-H	<sup>(4)</sup> ++		±	±	0	0	0	0	0
LM	<sup>(5)</sup> +++		0	0	0	0	0	0	0
LC1	<sup>(6)</sup> +++		0	0	0	0	0	0	0
LC2	<sup>(7)</sup> +++		0	0	0	0	0	0	0

LKM2 CYP2C8,9,10

LKM3 uridyl-glucuronyl-transferase

LKM-AC CYP3A1, 2C11

LKM-H CYP2B1, 2E1, 2C11

disulfite isomérase  
et carboxyl-estérase

LM CYP1A1 et CYP1A2

LKM-X CYP2A6

LKM- X = CYP3A4 et 2E1

foie (centrolobulaire/LM) + rein

Les Ac anti-M10 marquent le rein mais pas les hépatocytes.

(1) ce sont les cellules du collet qui sont fortement marquées, (2) fluorescence des cellules centrolobulaires (surtout souris mâle), (3) fluorescence des 2 couches de cellules centrolobulaires, (4) fluorescence des 2 à 3 couches de cellules centrolobulaires, (5) fluorescence des cellules centrolobulaires surtout, (6) pas de marquage des cellules juxtaveineuses, (7) pas de marquage des cellules centrolobulaires, \*ce sont les cellules APUD de l'estomac qui sont marquées.

P1, P2 : 1ère et 2ème portions des tubes proximaux, D : tubes distaux, H: anse de Henlé (branche grêle), C : tube collecteur, B : cellule bordante, P : cellule principale  
M : mitochondrie, LKM : liver/kidney microsomes (réticulum endoplasmique du foie et du rein), LKM-AC : LKM des hépatites aux anticonvulsivants, LKM-H : LKM des hépatites à l'halothane, LM : liver microsomes, LC : liver cytosol.

**Tableau III : Les différents types d'anticorps anti-LKM et anti-LM**

Anticorps	1ère description	Auto-antigène	Maladies associées
Anti-LKM1	M. Rizzetto, 1973 [23]	CYP2D6	Hépatite auto-immune de type 2 Hépatite virale C
Anti-LKM2*	J.C. Homberg, 1984 [27]	Cyp2C9	Hépatite à l'acide tiénilique
Anti-LKM3	O. Crivelli, 1983 [28] transferase	UDP-glucuronosyl	Hépatite virale D
Anti-"LKM1 like"	J.G. Kenna, 1987 [30] M.G. Clemente, 1998 [31]	CYP2E1 CYP2A6	Hépatite à l'halothane Syndrome polyglandulaire auto-immun de type 1
Anti-LM	M. Boudi, 1990 [29]	CYP1A2	Hépatite à la dihydralazine

\* : N'est plus recherché, médicament retiré du marché.

Page 65:cahier de formation N°37 2006

**Tableau IV : Auto-anticorps anti-LKM et anti-LM décelables en immunofluorescence indirecte (triple substrat)**

Auto-anticorps*	Foie Cytoplasme des hépatocytes	Rein P1, P2, P3, D	Estomac
Anti-LKM1 et "LKM1 like"	F Homogène ++	P3 > P2 > P1, D négatif ou très faible (10 % des cas)	Négatif
Anti-LKM2	F Homogène ++	P1P2 > P3	Négatif
Anti-LKM3	F homogène ++	P2 > P3P1, D ±	Négatif
Anti-LM	F limitée aux hépatocytes centro-lobulaires	Négatif	Négatif

F : fluorescence ; P1P2P3 : 1ère, 2ème et 3ème portion du tubule proximal ; D : tubules distaux.

Les cibles = cytochromes P450 = enzymes qui participent au métabolisme oxydatif des médicaments responsables des [hépatites iatrogènes](#)

**CYP450 2D6 LKM1 AUTOIMMUNE HEPATITIS TYPE 2**

**CYP450 2C9 LKM2 TIENILIC ACID INDUCED**

**CYP450 1A1 POLYENDOCRINE SYNDROME 1**

CYP450 1A2 DIHYDRALAZINE INDUCED

CYP450 3A CONVULSIVANT INDUCED

CYP450 3A4 IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS

CYP450 2E1 HALOTHANE INDUCED  
ALCOOL ABUSE

P450 2E1:uniquement exprimé dans le foie dans le rein chez le rat et la souris et uniquement chez les mâles par induction par la testostérone .

René-Louis Humbel

+ Antigènes modifiés par le médicament, comme la carboxyl-estérase trifluoacétylée de 59kDa (le trifluoacétyl est un métabolite de l'halothane): [hépatites médicamenteuses à l'halothane](#)

Une modification médicamenteuse de certains auto-Ag = Ac contre l'Ag modifié ou contre l'Ag natif

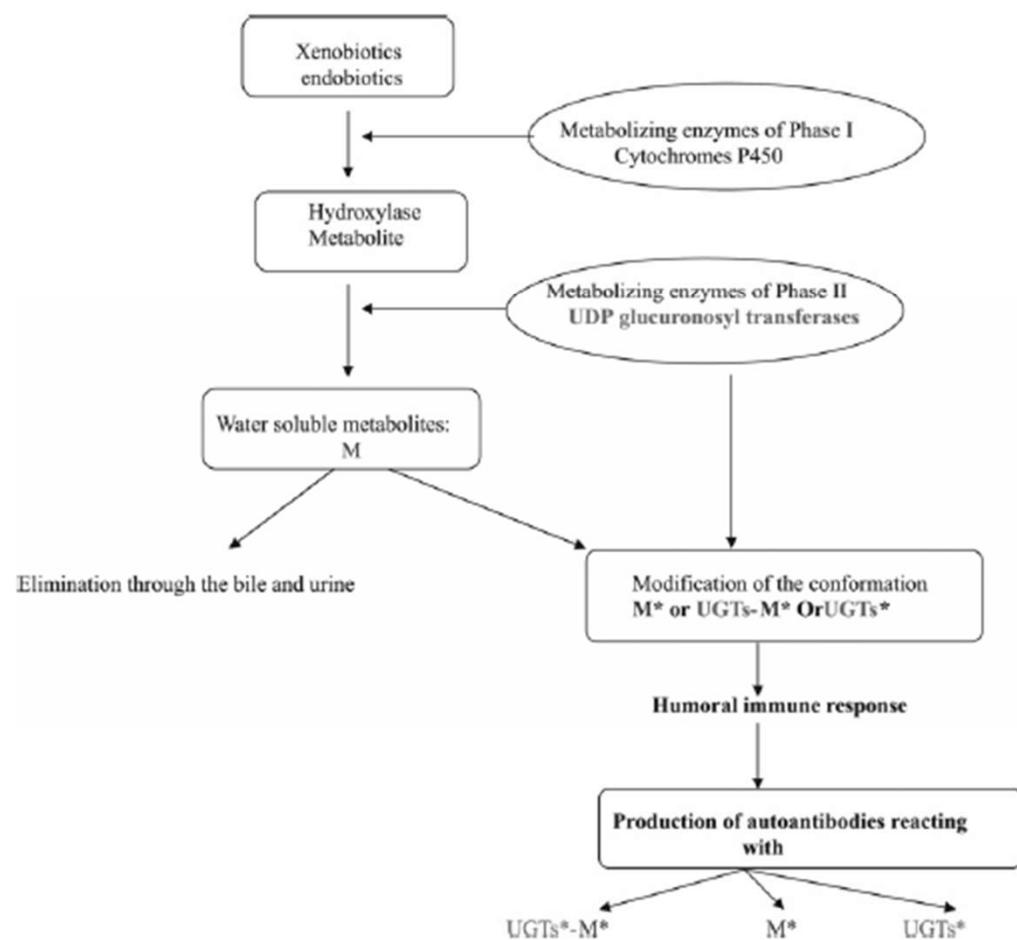


Fig. 3. Hypothesis concerning the production of autoantibodies against the UGT enzymes. Adapted from Obermayer-Straub et al. 2000 [39]. The important role of UGTs in xenobiotic and endobiotic metabolism emphasizes their possible modification by reactive substrates or metabolites, as known for cytochromes P450. These interactions could generate modified UGT epitopes that can be thereafter recognized as self autoantigens by the immune system. The reaction leads to the development of an humoral response with the production of aAbs directed against the UGTs, the metabolite (M\*) or the complex enzyme-metabolite (UGTs\*-M\*).

### **1. Aspect LKMx/LM**

Fluorescence des tubes rénaux  
proximaux : P1/P2/P3 cortex  
distaux: TD Médullaire  
+  
LM au niveau du foie

### **2. Aspect LKMx/LC**

Fluorescence des tubes rénaux  
proximaux : P1/P2/P3 cortex  
distaux: TD Médullaire  
+  
LC: liver cytosol ou liver cytosol 1 ou liver cytosol 2  
au niveau du foie

### **3. Aspect LM ou LC (LC, LC1,LC2)**

sans marquage des tubes rénaux

**Ac ANTI – LKM**

P1

P2

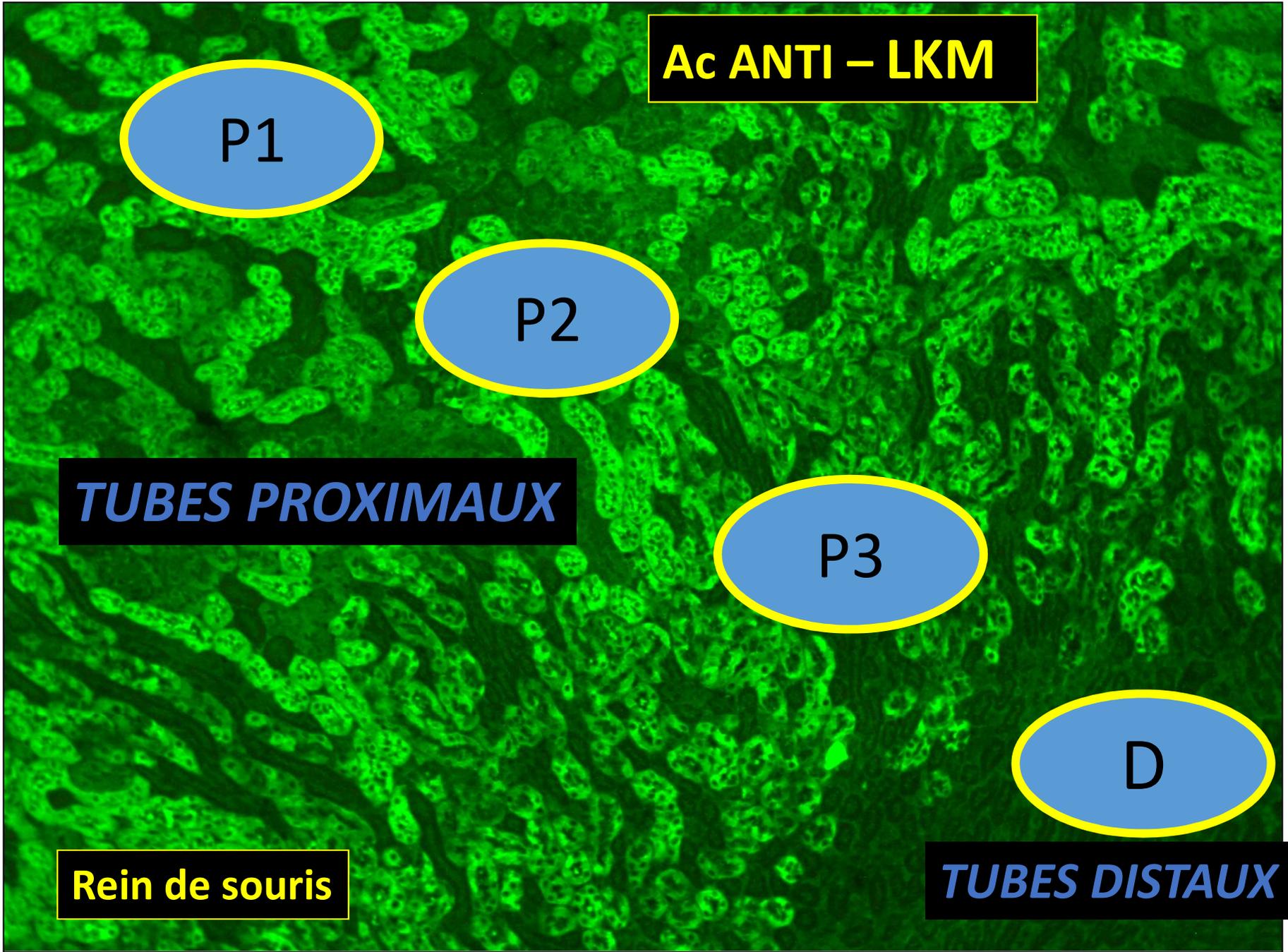
**TUBES PROXIMAUX**

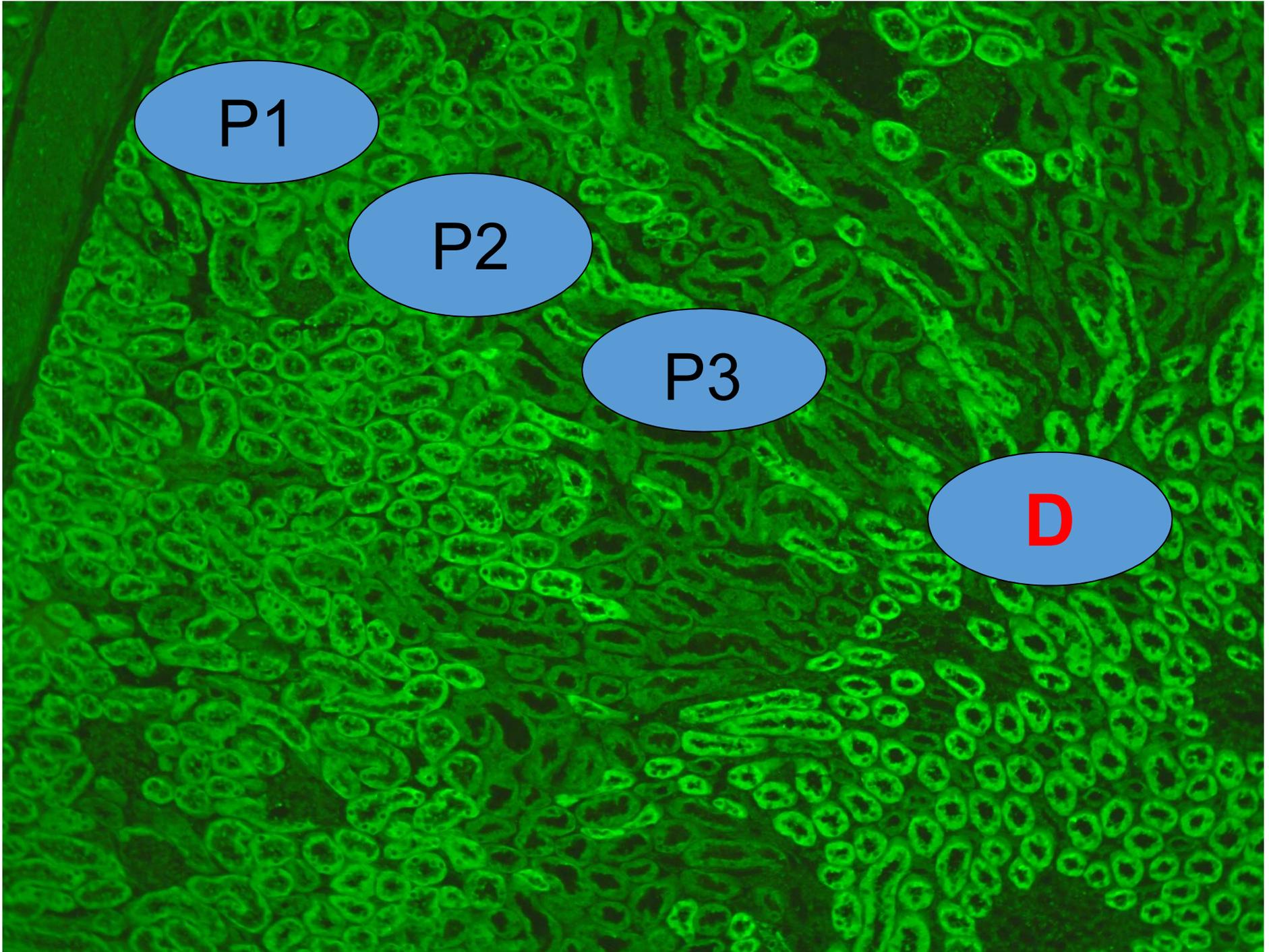
P3

D

**Rein de souris**

**TUBES DISTAUX**



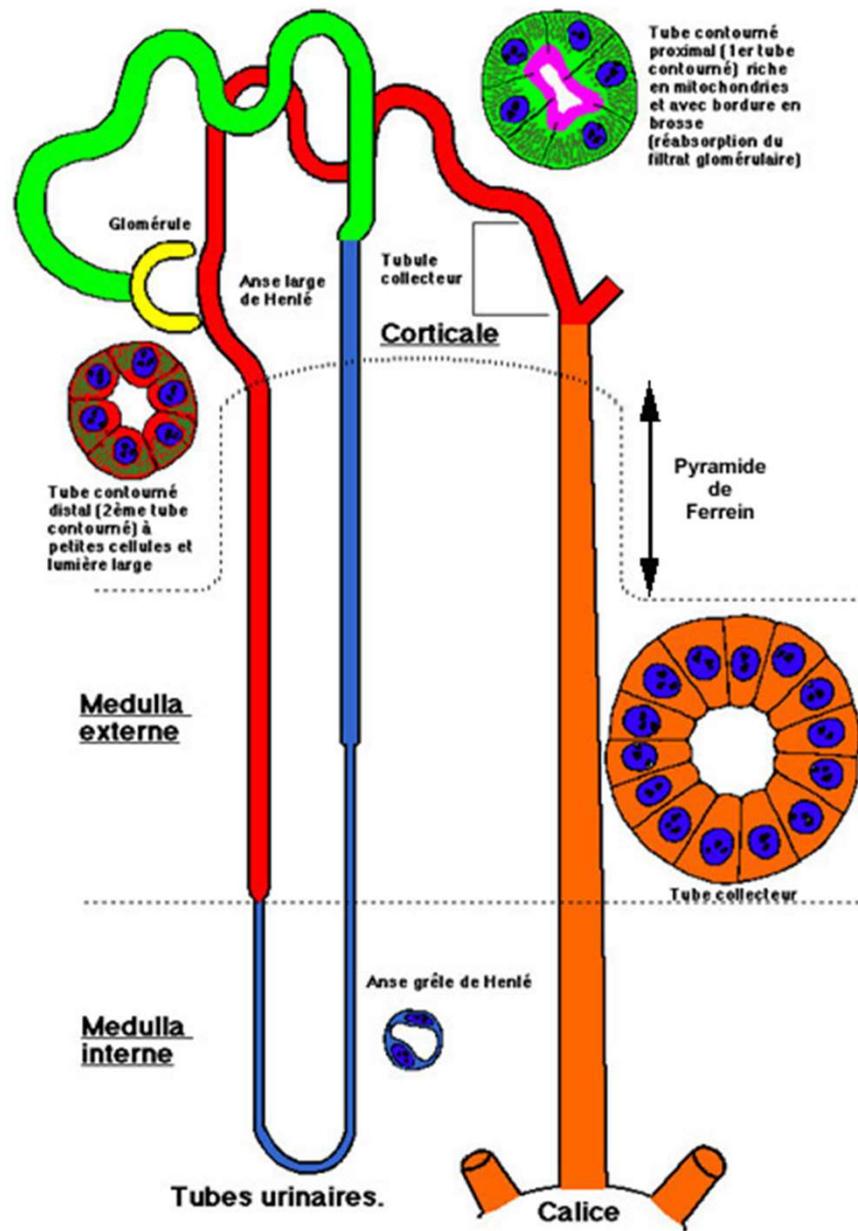


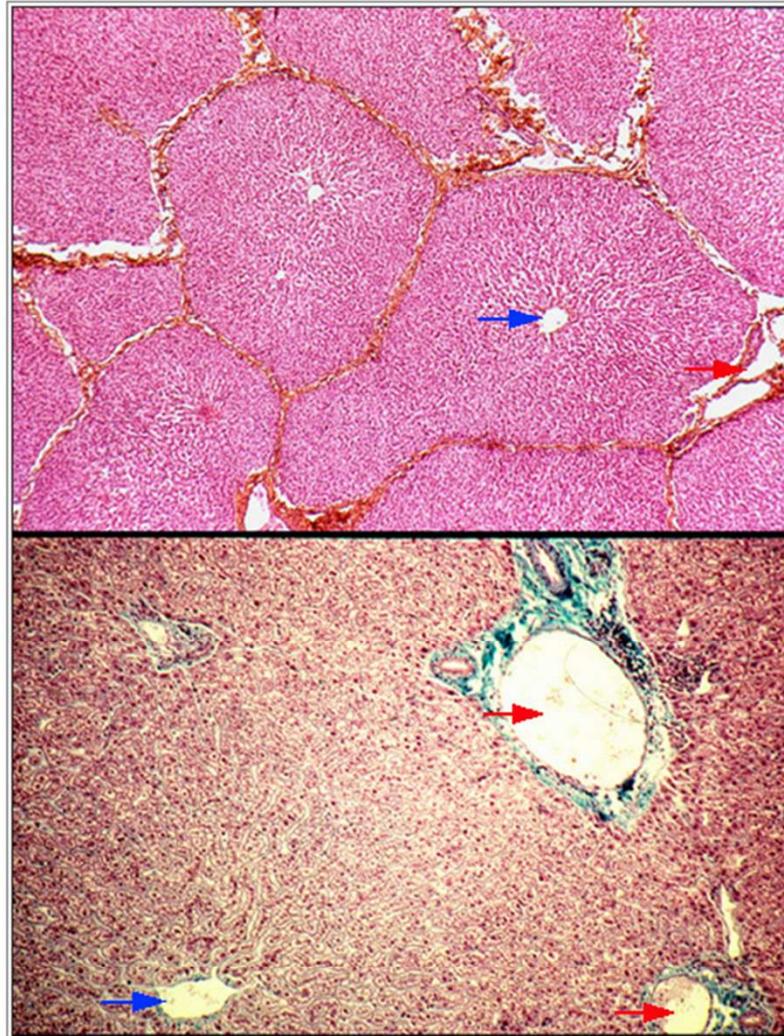
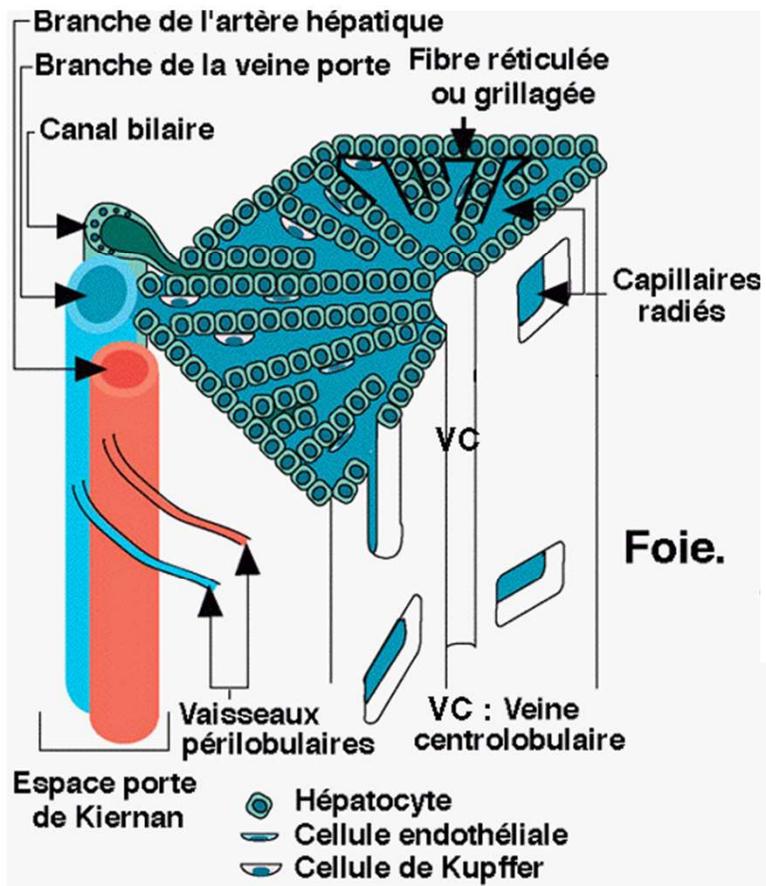
P1

P2

P3

D





**Foie.**

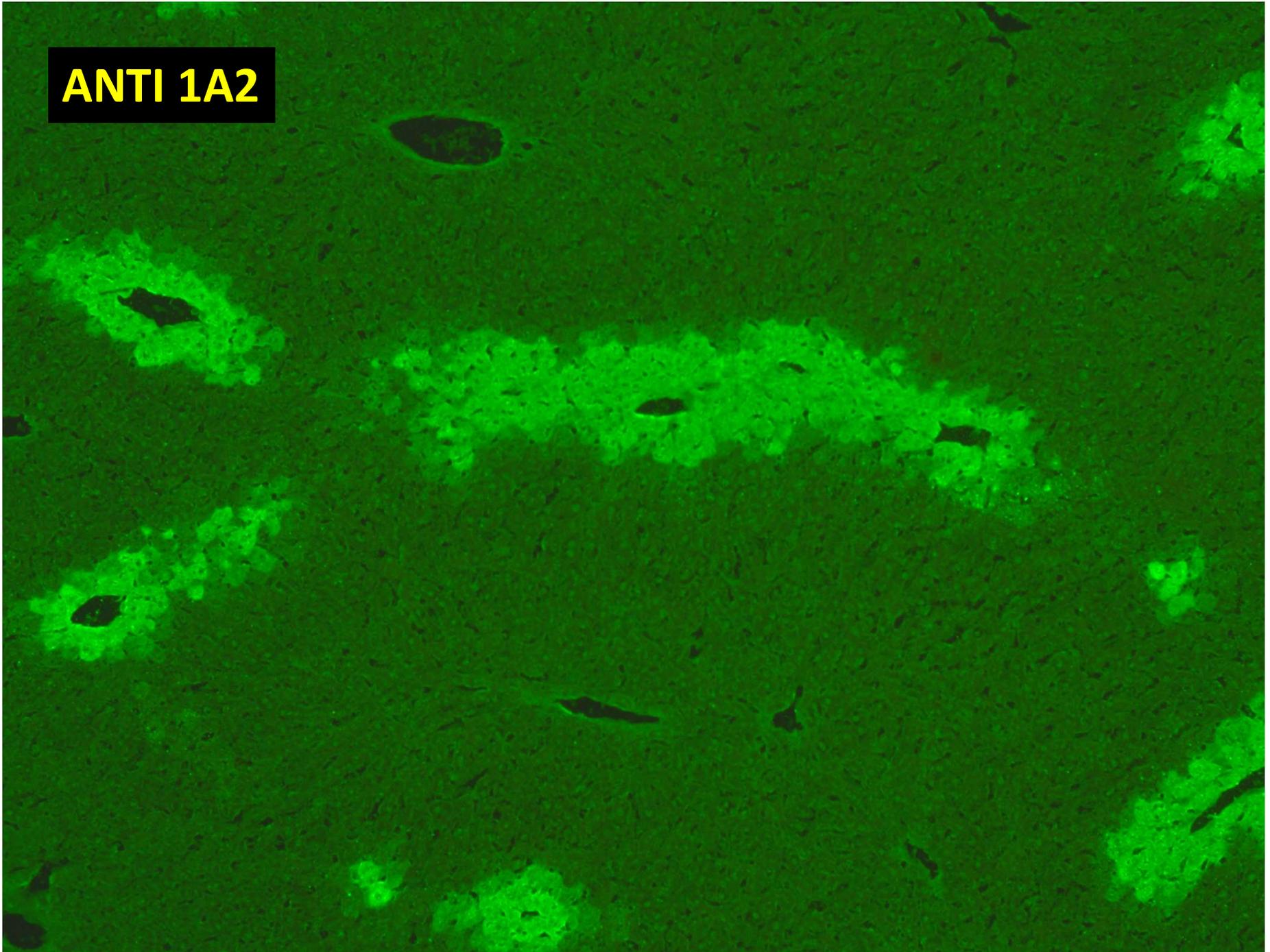
En haut : foie de porc,  
En bas foie de rat.

Flèche rouge : espace  
porte, Flèche bleue :  
veine centro lobulaire.

**Ac anti-LM: liver microsomes**

**hépatocytes les plus proches de la veine centrolobulaire (1 couche)**

**ANTI 1A2**



## Ac anti-LC: liver cytosol

**1. Variétés d'Ac anti-LC : caractérisés par une fluorescence homogène du cytoplasme des hépatocytes. spécifiques du foie**

**\*Ac anti-LC: tous les hépatocytes (non visualisés si LKM1 + )**

**\*Ac anti-LC1 : hépatocytes sauf ceux les plus proches de la veine centrolobulaire (1 couche) souvent en association avec les Ac anti-LKM1 mais non visualisés dans ce cas**

**\*Ac anti-LC2 : hépatocytes sauf ceux proches de la veine centrolobulaire (2/3 couches)**

Reconnaissent des molécules non associées à des organites cellulaires ou de passage dans le cytosol

**Une des cibles des anti-LC1 est une formiminotransférase cyclodéaminase hépatique de 62kDa de l'homme ou de 58kDa du rat présente dans la cellule sous forme d'un tétramère de 250kDa.**

**Autres cibles des Ac anti-LC1: peptides cytosoliques de 35, 39, 47, 50 et 55kDa ( immunoblot)**

**2. Autres auto-Ac : anti-p95c (c pour cytosol) : spécifiques de la p97/valosin-containing protein (VCP)**

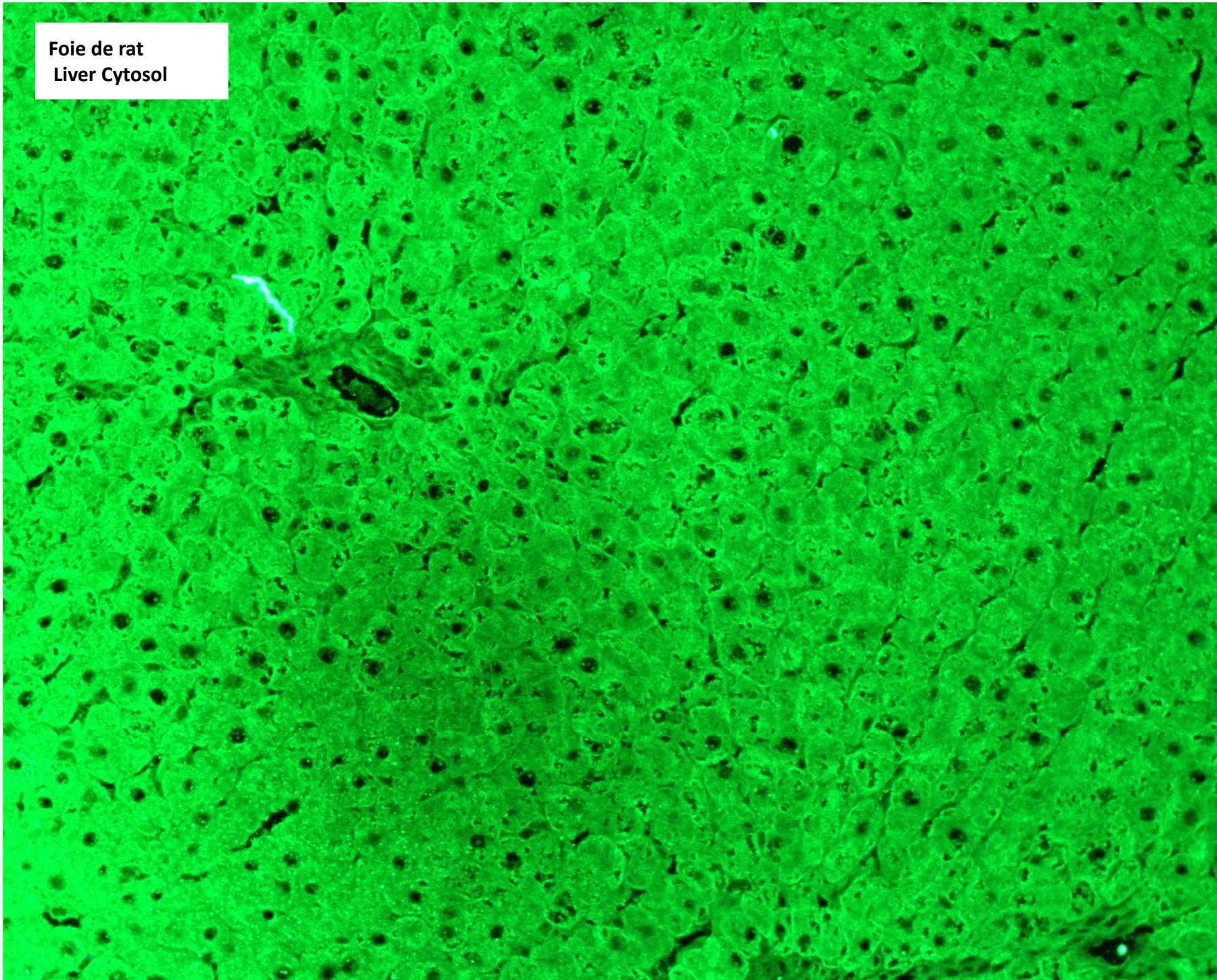
La VCP est une "ATPase associée à des activités cellulaires variées qui agit comme une molécule chaperone notamment dans la dégradation dépendant de l'ubiquitine protéasome. Ces auto-Ac inhiberaient *in vitro* l'assemblage de l'enveloppe nucléaire

Sur immunoblot de cytosol de foie: protéine de 95kDa

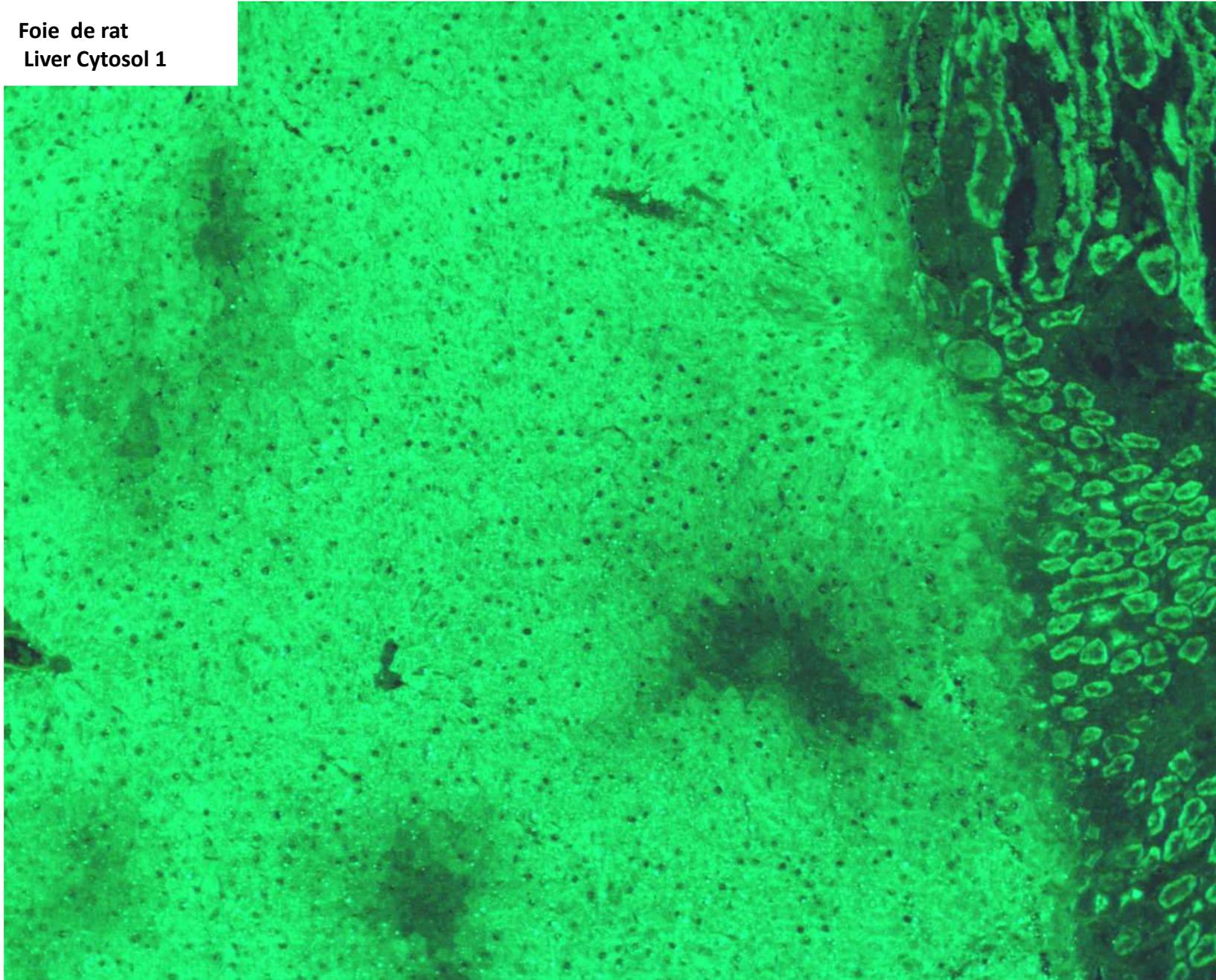
DéTECTABLES chez 57% des sujets avec [porphyries cutanées tardives](#) sporadiques surtout si HVC +

Les CBP (12,5%?) avec ces auto-Ac : pronostic moins sévère

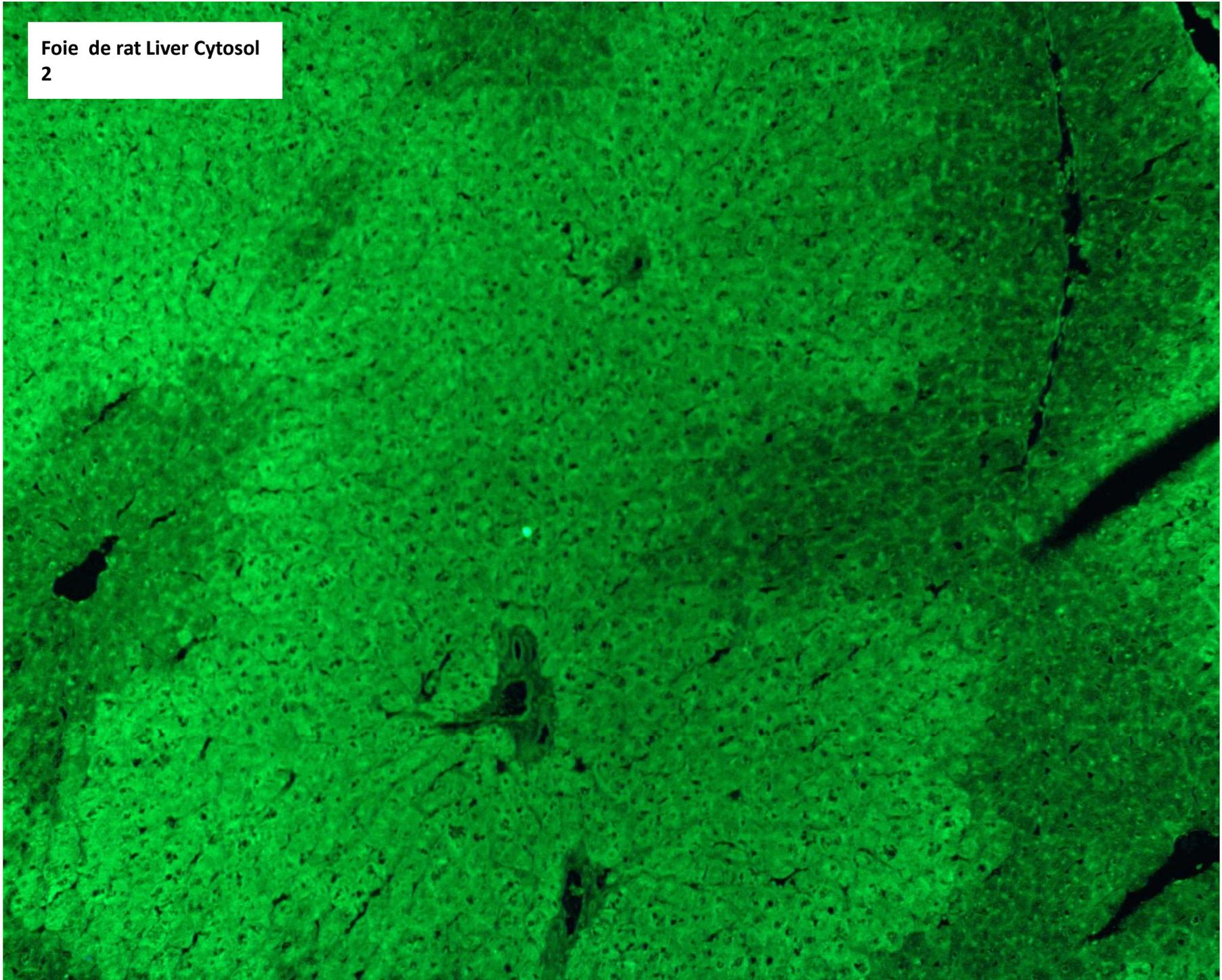
Foie de rat  
Liver Cytosol

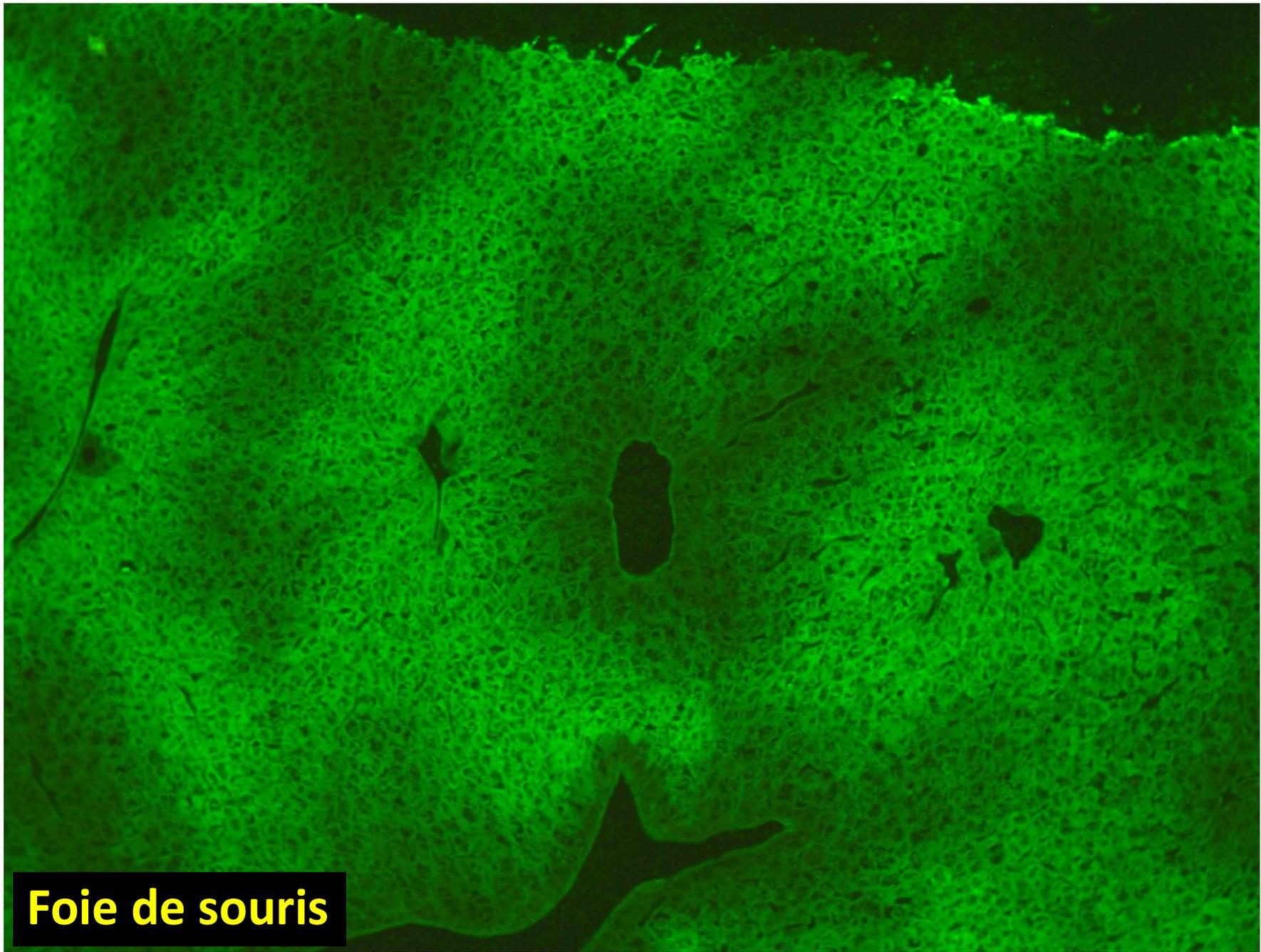


Foie de rat  
Liver Cytosol 1



Foie de rat Liver Cytosol  
2





**Foie de souris**

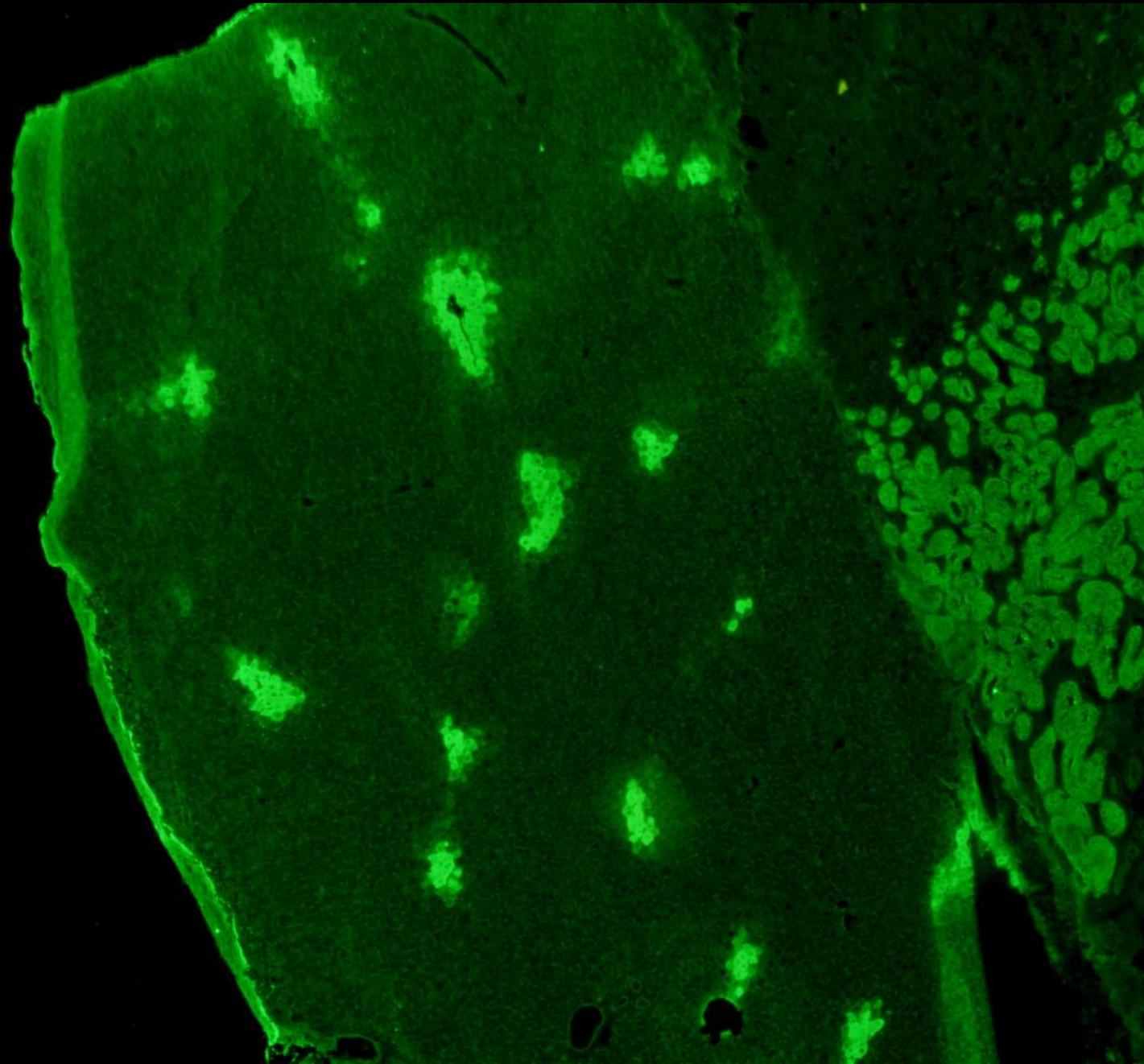
cohorte HCL: 36 patients

- 3 LC
- 5 LC1
- 3 LC2
- 5 LM
- 4 KMX/LC
- 1 KMX/LC1
- 15 KMX/LM

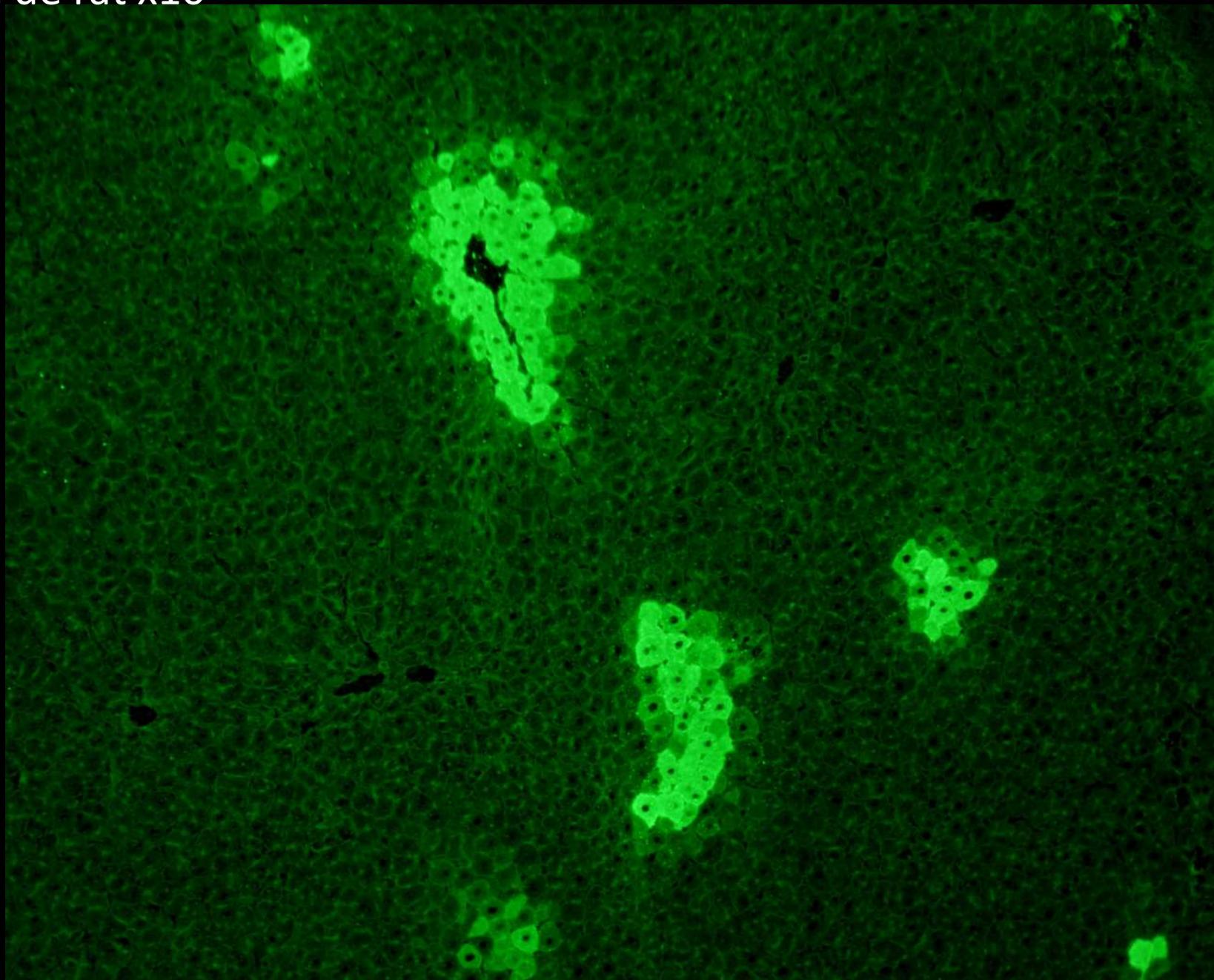
## 1. Aspect LKMx/LM

Fluorescence des tubes rénaux  
+  
LM au niveau du foie

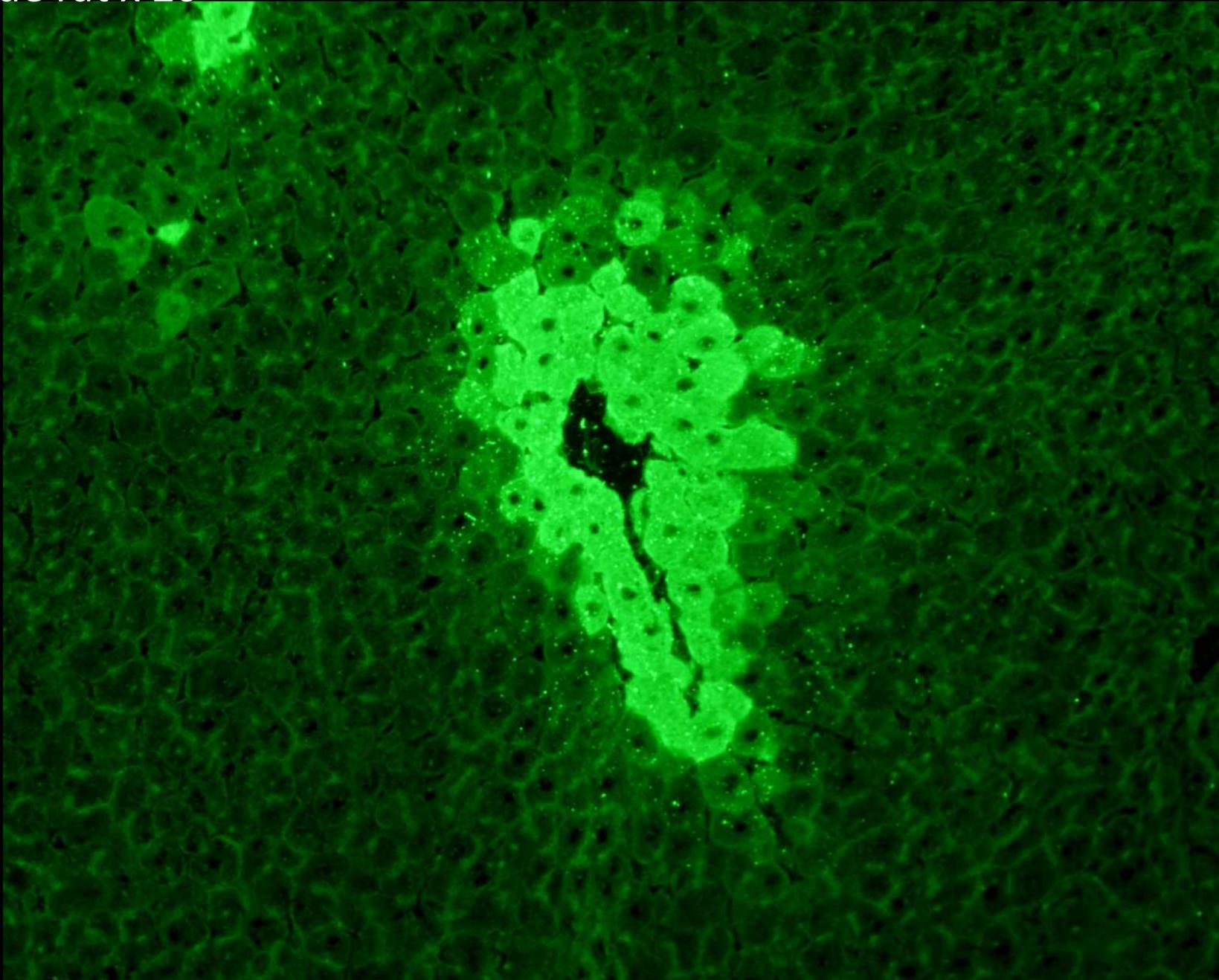
Foie de rat x5



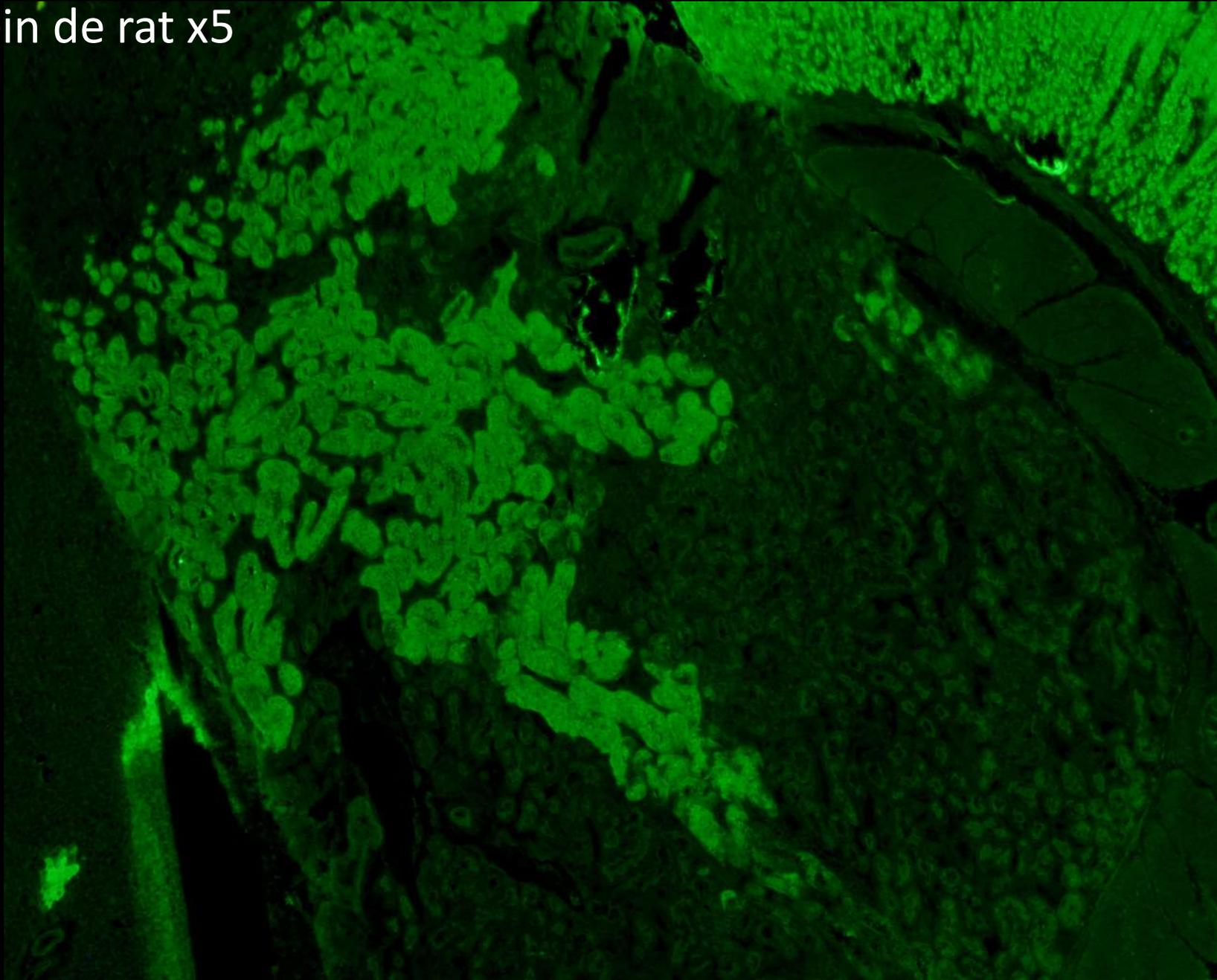
Foie de rat x10

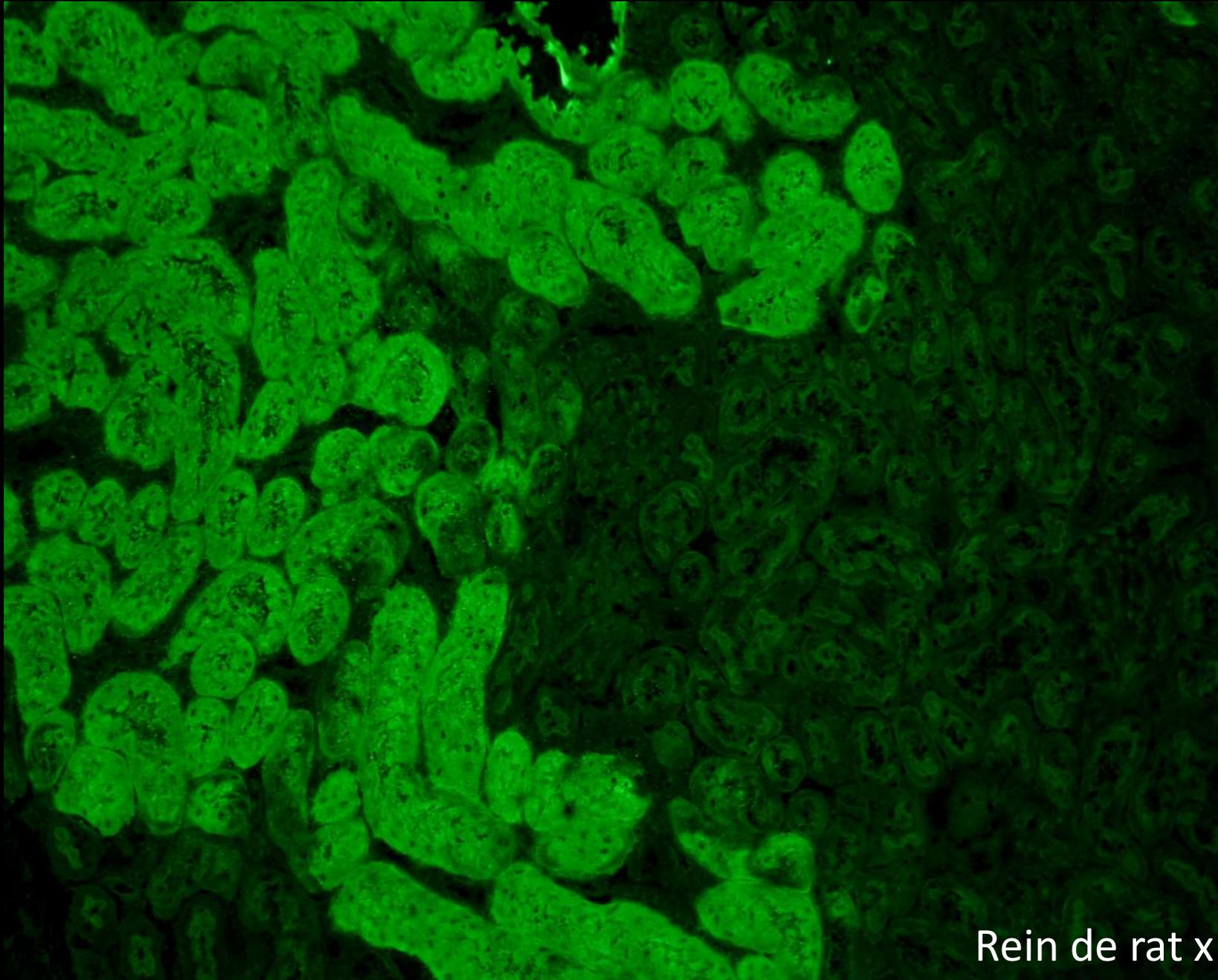


Foie de rat x 20



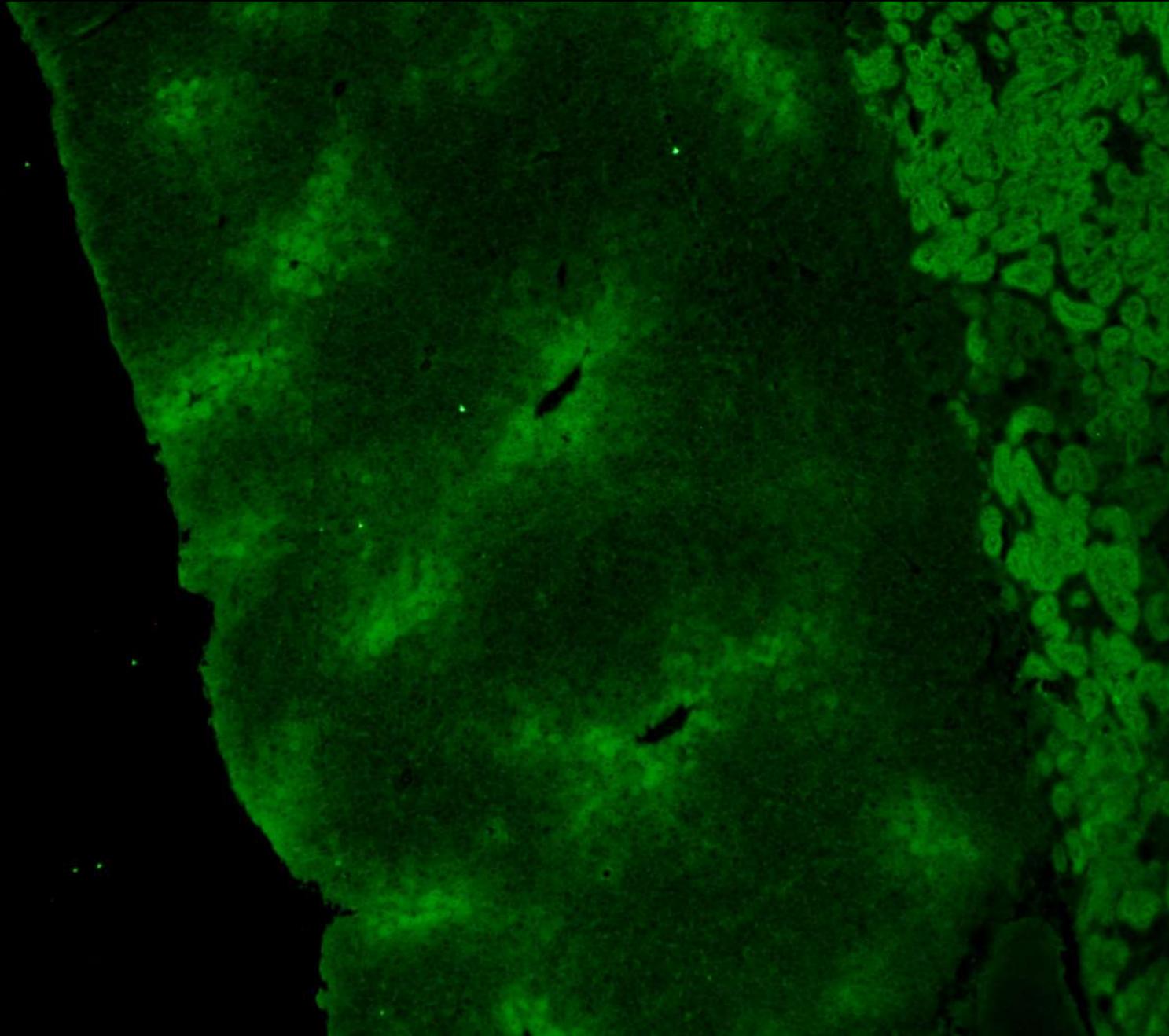
Rein de rat x5



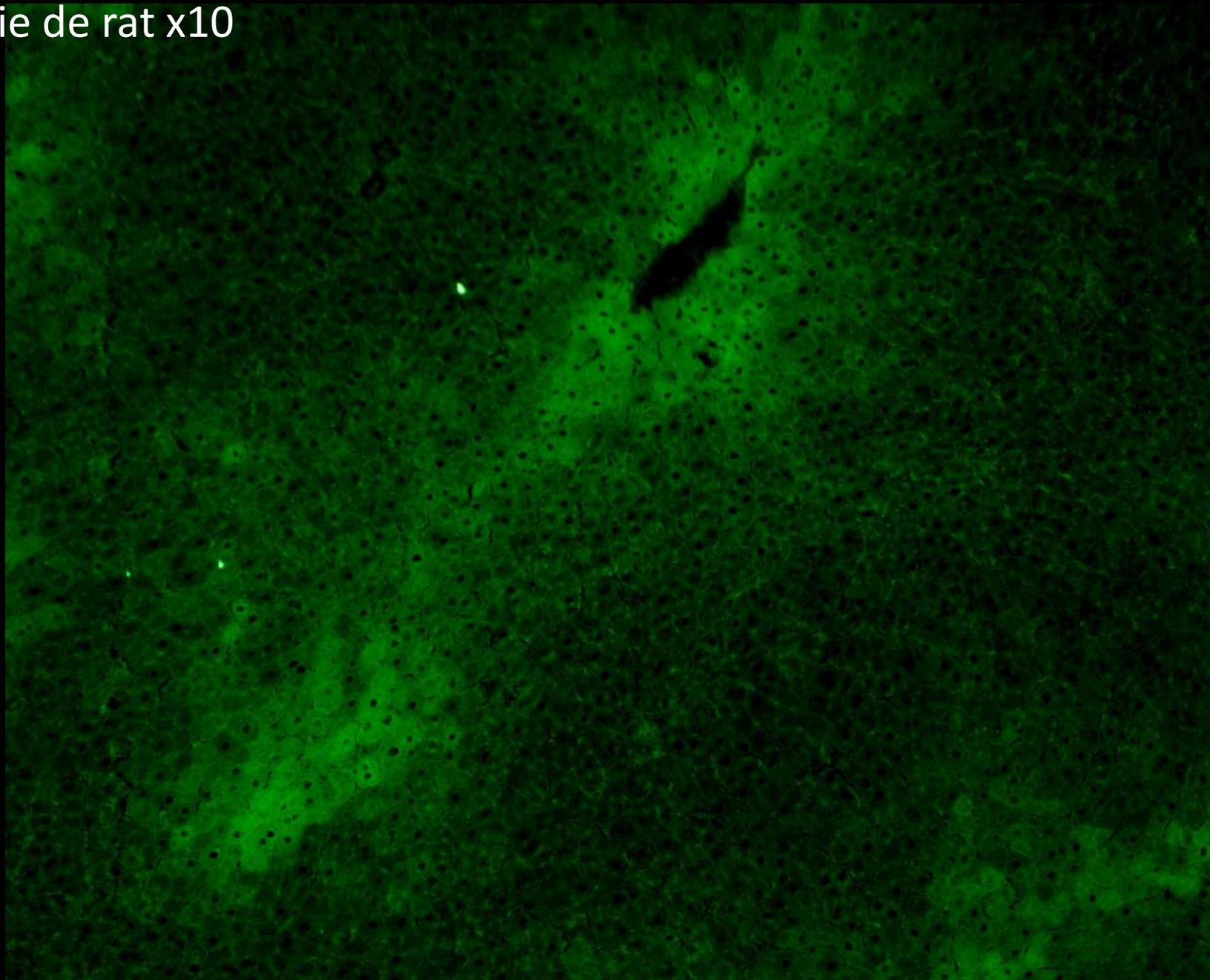


Rein de rat x10

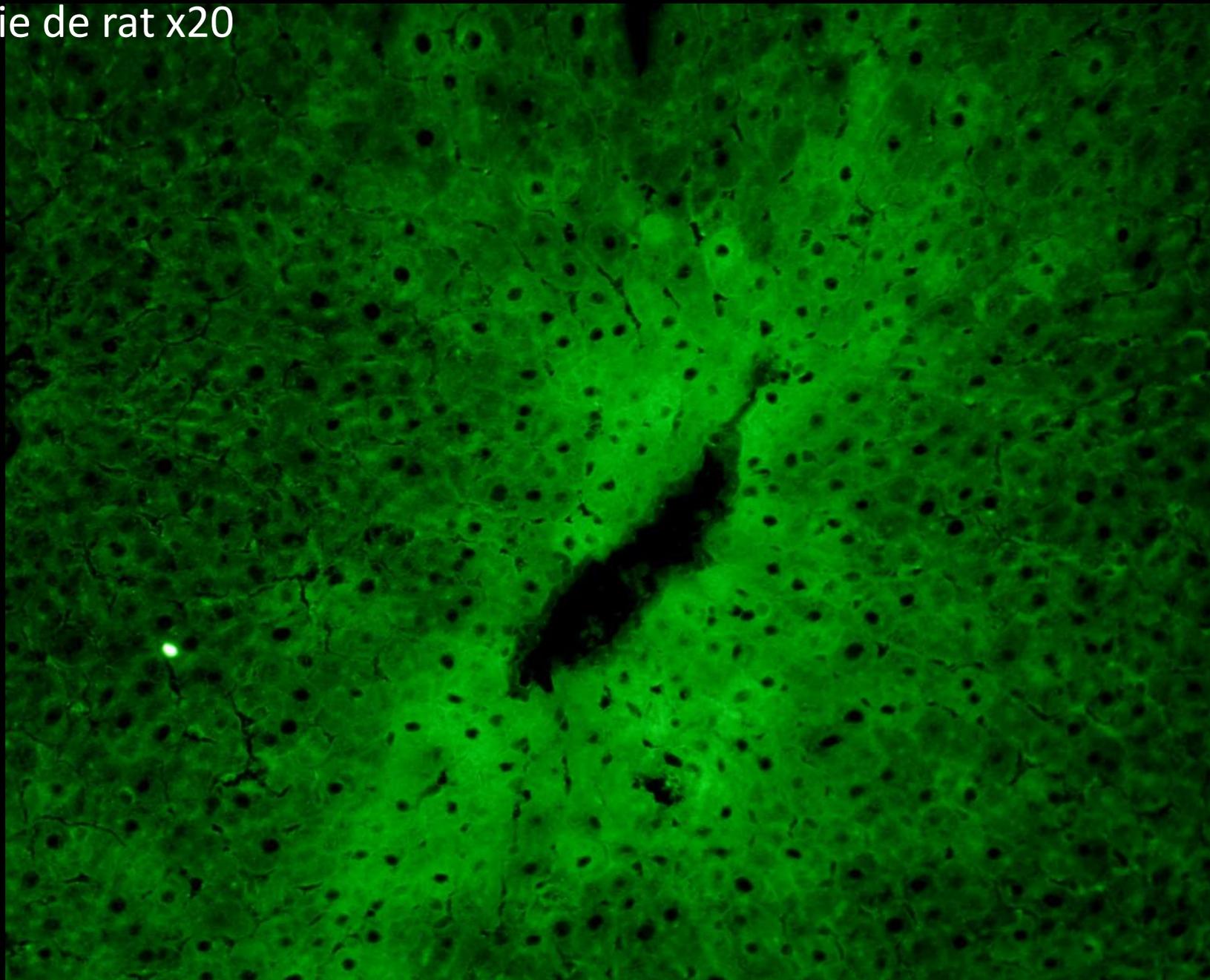
Foie de rat x5

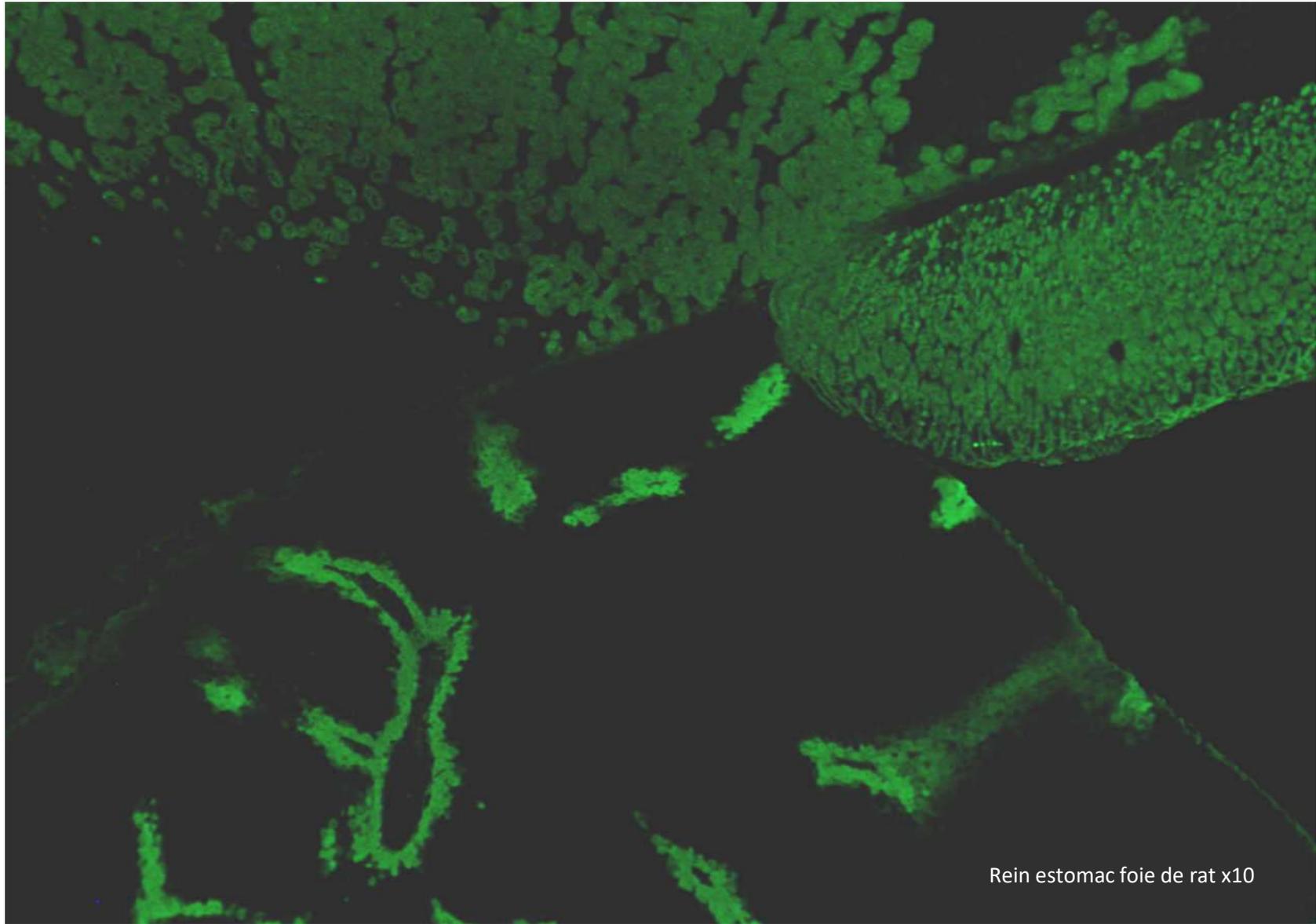


Foie de rat x10



Foie de rat x20





Rein estomac foie de rat x10

## 2. Aspect LKMx/LC

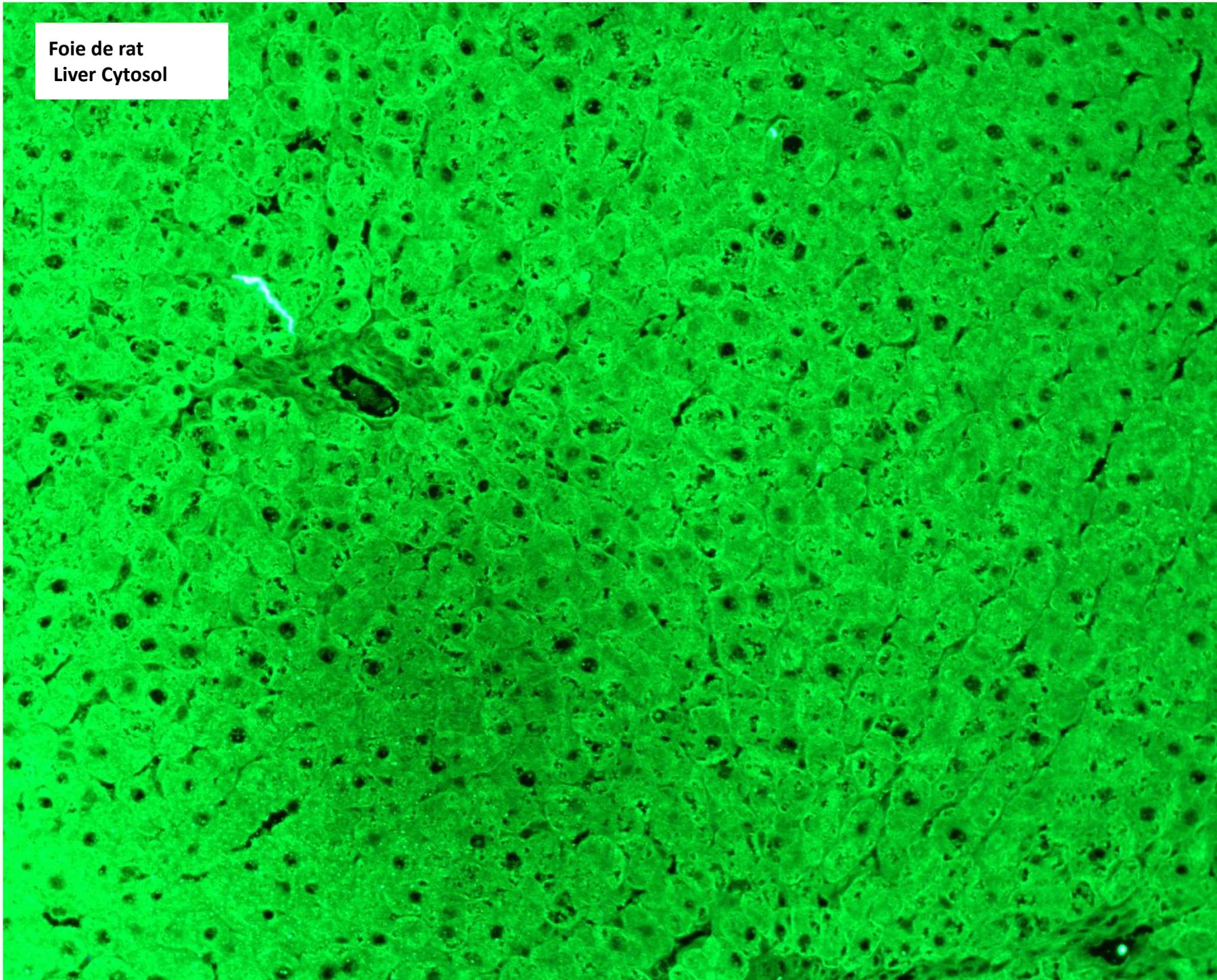
Fluorescence des tubes rénaux

+

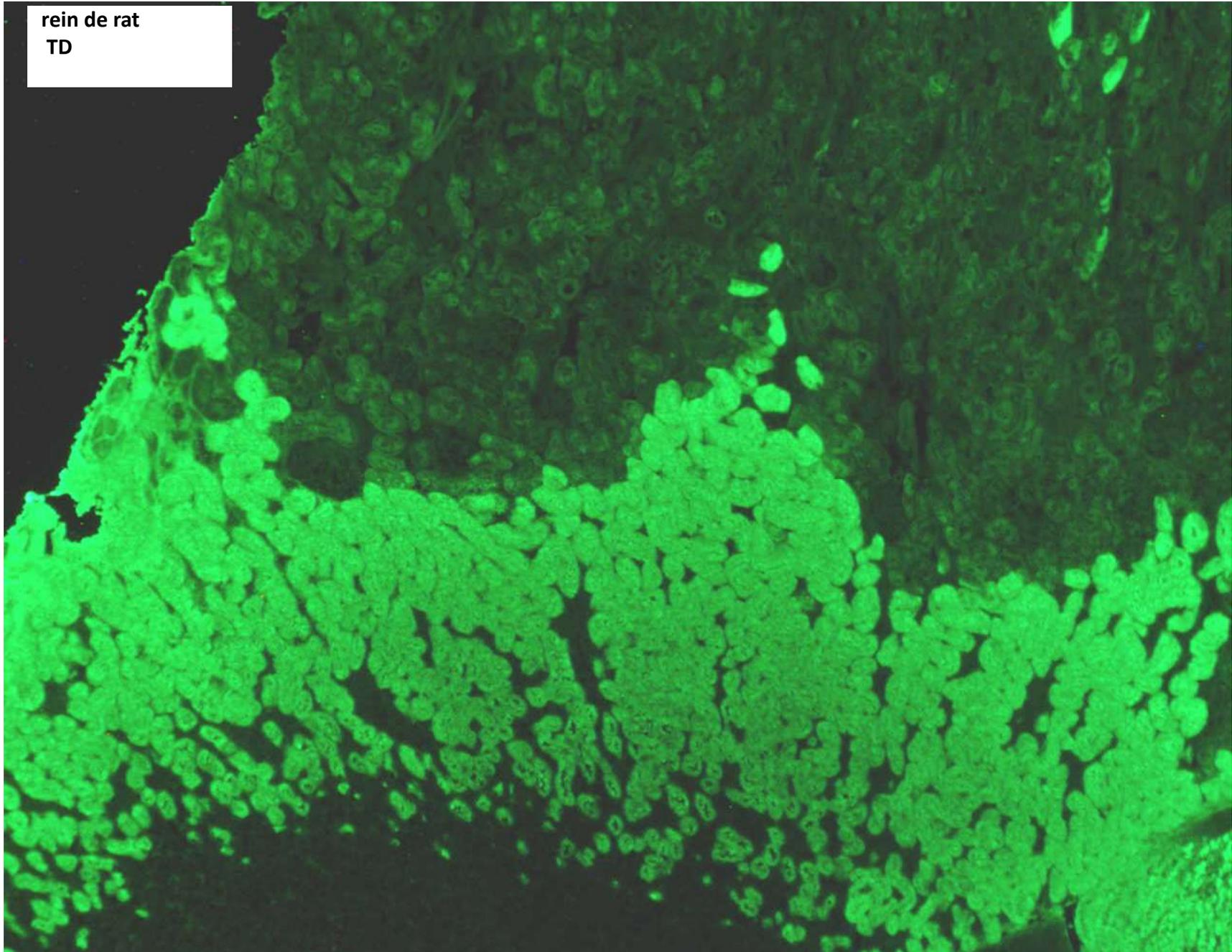
LC: liver cytosol ou liver cytosol 1 ou liver cytosol 2

au niveau du foie

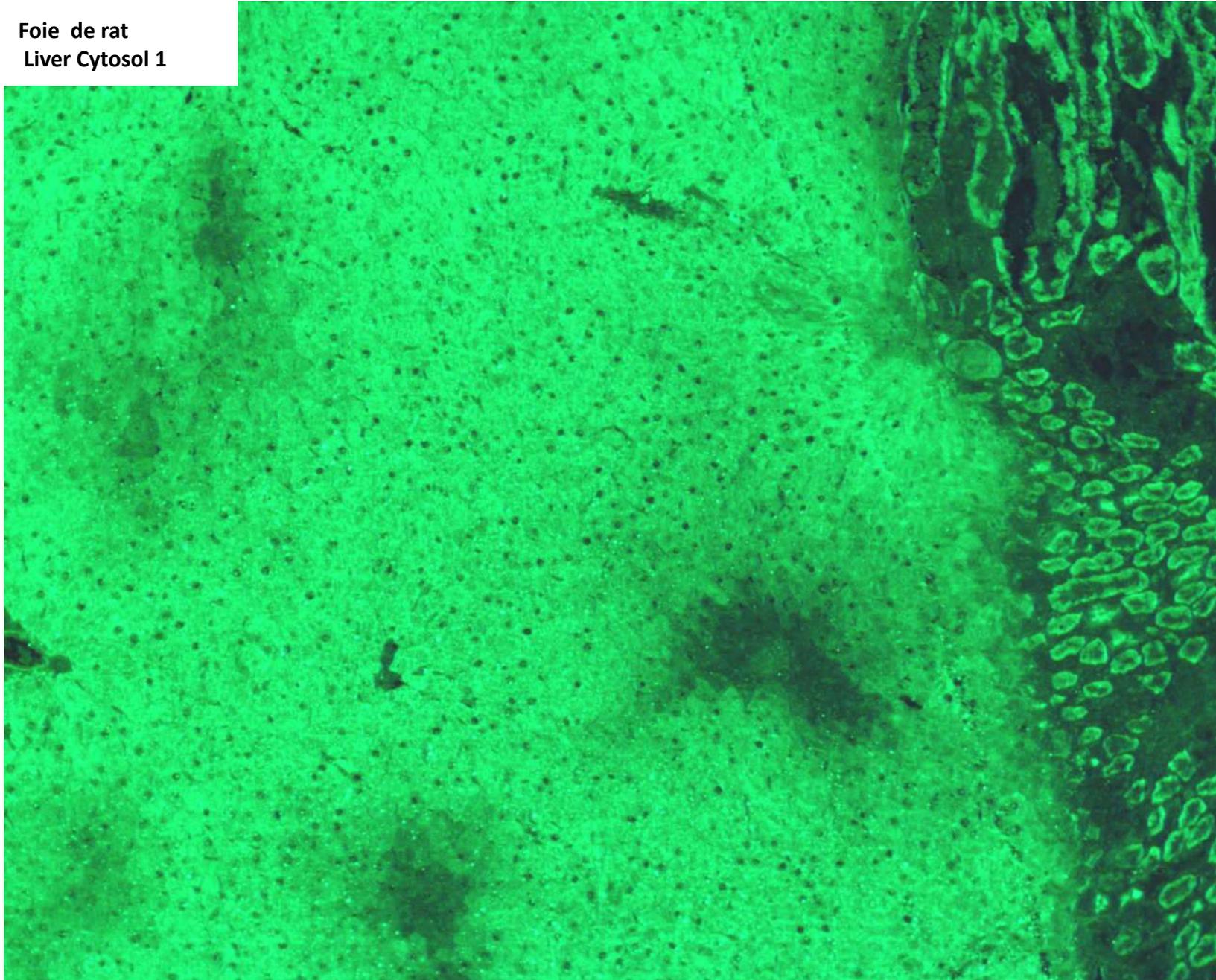
Foie de rat  
Liver Cytosol



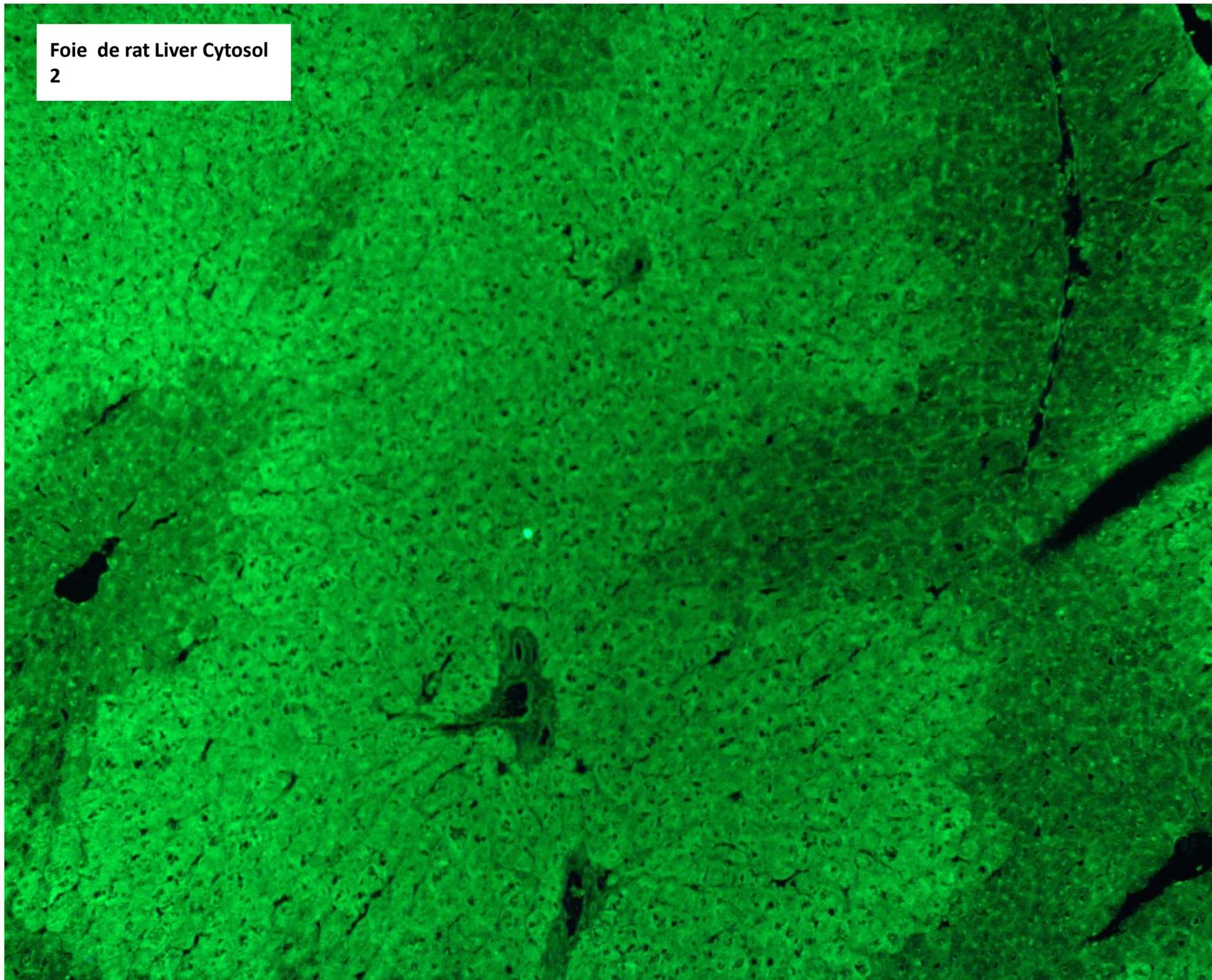
rein de rat  
TD



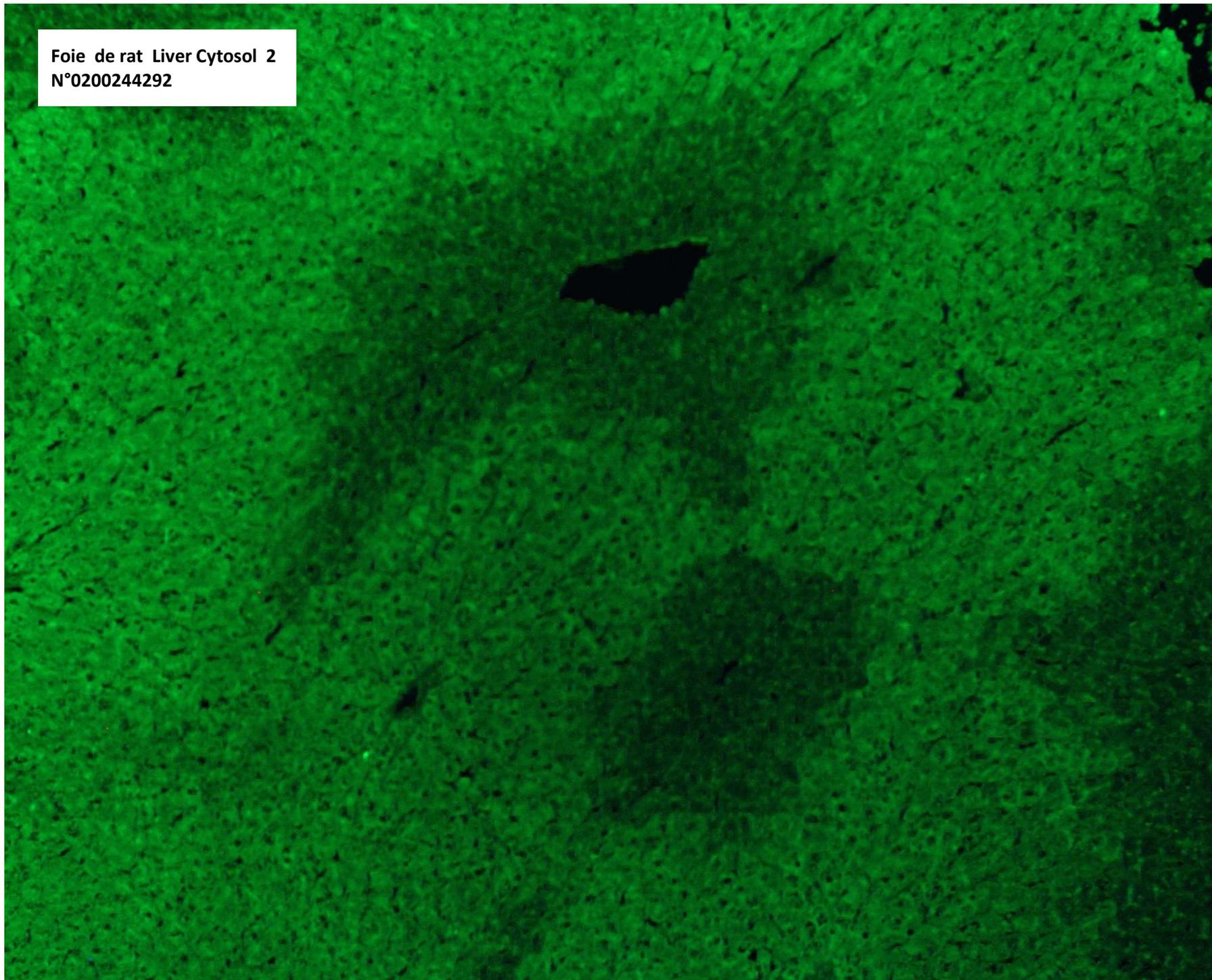
Foie de rat  
Liver Cytosol 1

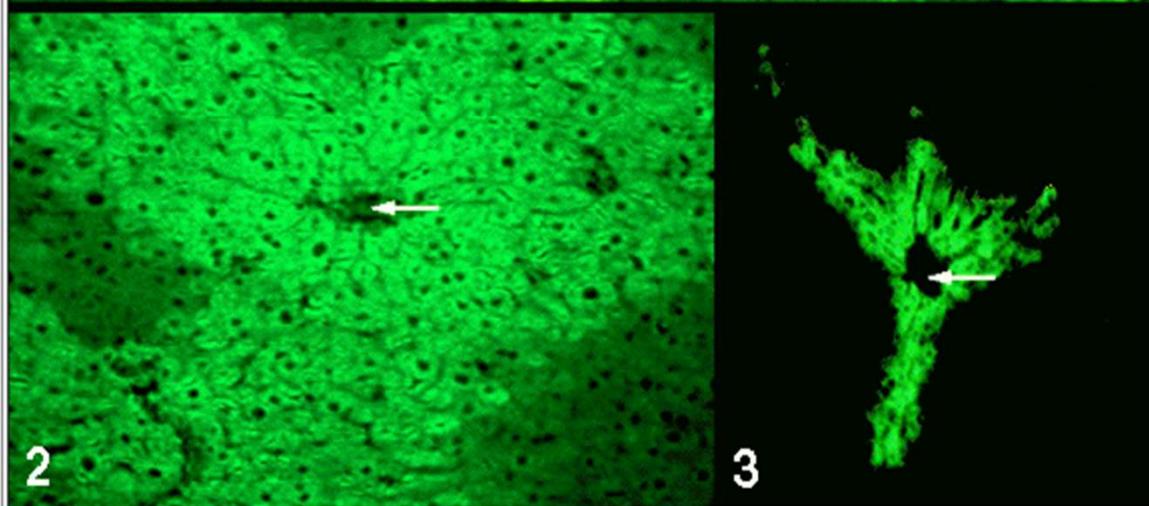
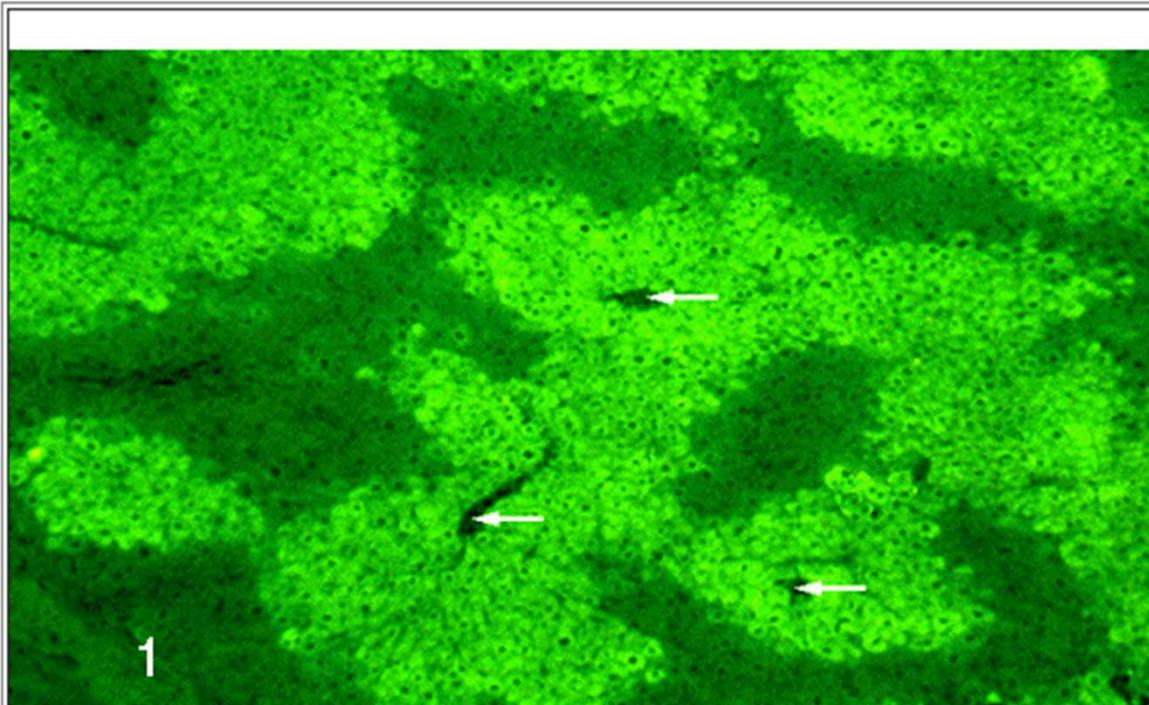


Foie de rat Liver Cytosol  
2



Foie de rat Liver Cytosol 2  
N°0200244292





**Ac anti-LKM2 sur foie  
de rat :  
faible grossissement (1),**

**fort grossissement (2).**

**Ac anti-LM (3).**

**Veine centrolobulaire  
(flèche).**

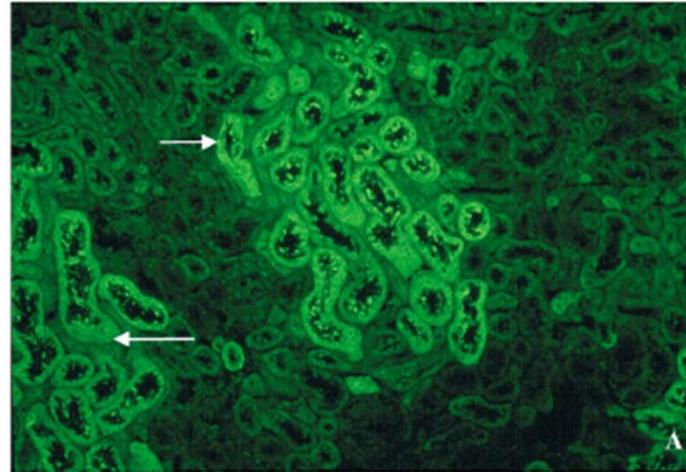
**Les anti-LKM2 sont présents dans  
les hépatites à l'acide tiénilique et les  
anti-LM dans les hépatites à la  
dihydralazine**

# Autoantibodies directed against the UDP-glucuronosyltransferases in human autoimmune hepatitis

4

*N. Fabien et al. / Autoimmunity Reviews 3 (2004) 1–9*

Fig. 1



Ac anti-LKM3 :  
-isoformes UGT  
Glucuronidation bilirubine

UGT 1A1 1A6 1A4  
UGT 2B  
AIH 2: UGT1A1

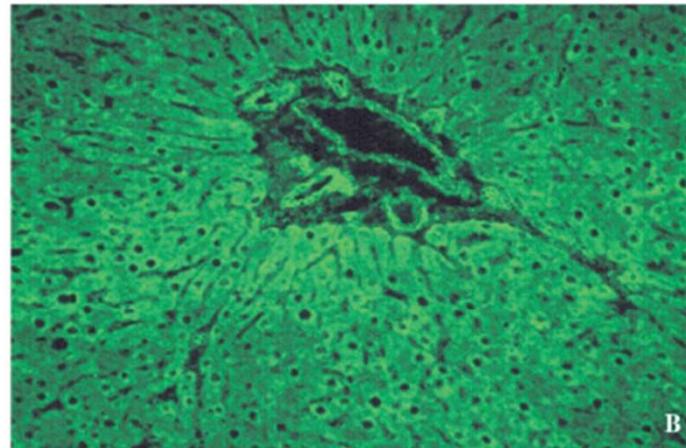
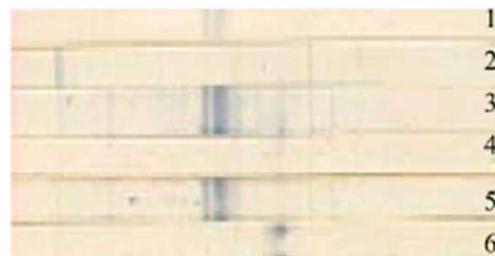


Fig. 2

54 – 55 kDa



# Dot : 24/36 sérums : kit euroimmun

DL 1300-1601-4 G

Dot Blot

Profile Autoimmune Liver Diseases AMA M2, M2-3E, Sp100, PML,  
gp210, LKM-1, LC-1, SLA/LP,

## 9 antigènes

AMA-M2 (complexe pyruvate déshydrogénase),

M2-3E (BPO, protéine de fusion des sous unités E2 de l'alpha-2-oxoacide déshydrogénases de la membrane interne mitochondriale),

Sp100 (protéine granulaire nucléaire, dots nucléaires),

PML (promyelocytic leukaemia protein, dots nucléaires),

gp210 (protéine intégrale de la membrane nucléaire, complexe du pore nucléaire),

LKM-1 (cytochrome P450 II D6)

**LC-1 (liver cytosolic antigen 1, formiminotransférase cyclodésaminase)** clonage ADNc humain/ cellules d'insecte /baculovirus

SLA/LP (soluble liver antigen/liver-pancreas antigen)

4 LC1 positifs sur 5 LC1 et 1 LC1/KM en IFI

**LC1 +++ : 213**

**LC1 +++: 203**

**LC1 +++: 122**

**LC1/KM +++:166**

## Littérature: Ac et clinique

Hépatite autoimmune II  
Hépatites médicamenteuses  
Infections virales

<b>Ac anti-LKM2 (Cytochrome CYP2C8, 9, 10)</b>	<b>Hépatites à l'acide tiénilique</b>
<b>Ac anti-LKM3 (uridyl-glucuronyl-transférase)</b>	<b>Hépatites delta</b>
<b>Ac anti-LKM-AC (CYP3A1, 2C11)</b>	<b>Hépatites aux anticonvulsivants</b>
<b>Ac anti-LKM-H (CYP2B1, 2E1, disulfite isomérase et carboxyl-estérase)</b>	<b>Hépatites à l'halothane</b>
<b>Ac anti-LM(CYP1A1, A2)</b>	<b>Hépatites à la dihydralazine</b>
<b>Ac anti-LC1 seul</b>	<b>HCA auto-immunes de type II</b>
<b>Ac anti-LKM1 + Ac anti-LC1</b>	<b>HCA auto-immunes de type II</b>
<b>Ac anti-LC2</b>	<b>Rares HCA</b>

### Intérêt des Ac anti-cytochrome P450 pour le diagnostic des hépatopathies chroniques

<i>Anti-CYP2D6</i>	<i>Anti-CYP2A6</i>	<i>Anti-CYP1A2</i>	<b>Hépatopathies chroniques</b>
+	-	-	AIH-2 (94-100%), HCV (0-10%)
-	+	-	HCV, APECED avec et sans hépatite
-	-	+	AIH dans les APECED, Hépatites iatrogènes
+	+	-	HCV (0-7%)
-	+	+	AIH dans les APECED

Ac anti-LKM-X CYP3A4 et 2E1 greffés traités par cyclosporine et Tacrolimus et décrits dans l'alcoolisme et après anesthésie à l'Halothane.

Table 1  
Prevalence of LKM3 or anti UGT aAbs in AIH and viral infections

	AIH			Viral infections			Controls	
	AIH Type 2	Probable AIH LKM1 aAbs–	AIH Type 1 CBP	VHD	VHC LKM1 aAbs+	VHC LKM1 aAbs–	VHB	
Crivelli et al. [2]				(10/81) 13%				
Philipp et al. [3]	(1/11) 9%							
Strassburg et al. [4]	(4/50) 8%			(3/50) 6%	0/25	0/14	0/26	0/50
Bachrich et al. [5]	(3/18) 17%		0/35		(1/16) 6%	0/11		0/12
Personal data	(4/21) 19%	(7/42) 17%		(4/37) 11%				0/20

## Littérature: Ac et clinique :Fréquence

### Ac anti-LM

\*APECED(Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy ) avec hépatopathie : 50%

\*APECED sans hépatite: 10%

### Ac anti-LC1

Hépatite Autoimmune type 2 : 2-11%.

Hépatite virale C : 12-33% avec ou sans anti-LKM1

Données Catherine Johanet:

HAI-2: 30% (Titres varient avec :stade de la maladie /traitement )

Hépatite virale C :0,5%

**Ac anti-p95c** : spécifiques de la p97/valosin-containing protein (VCP)

57% des sujets avec [porphyries cutanées tardives](#) sporadiques surtout lorsqu'ils sont infectés par le virus C.

Les CBP (12,5%?) avec ces auto-Ac : pronostic moins sévère

## Ac et clinique: cohorte HCL

	Triple IFI titre	aspect IFI	dot hépatique Euroimmun	autre Ac	diagnostic
171628863	*80	LC	négatif		discrète cytolyse
190331646	*320	LC	négatif		stéatose (obésité)
161294417	*40	LC	Non réalisé		hépatite aiguë fulminante: origine indéterminée/ syndrome de défaillance multiviscérale fatal + LLC.
181886459	*640	LC1	LC1 +++ : 213	640 actine	HAI 2 cytolyse transa 3 N
191868599	*640	LC1	LC1 +++: 203		HAI 2 et transplantation hépatique
160883220	*40	LC1	LC1 +++: 122		HAI 2 corticosensible
170706528	*160	LC1	négatif		KC foie ethylotabagique ATCD : carcinome basocellulaire, pancréatite chronique calcifiante
181436700	*160	LC1	négatif		VHB
170940196	*160	LC2	négatif		Bilan hépatique perturbé avec cytolyse hépatique et cholestase
191761482	*640	LC2	négatif		HAI 2 et LLC
200244292	*160	LC2	négatif		NASH probable
161878087	*80	LM	Non réalisé		lupus
181506774	*640	LM	Non réalisé		VHC
181775530	*320	LM	Non réalisé		KC foie
190108145	*80	LM	Non réalisé		lymphome
181507207	*160	LM	Non réalisé		Stéatose
171809412	*80	KMX /LC	négatif		Cytolyse ++
171404542	*80	KMX /LC	négatif		DT1
161213818	*640	KMX /LC	négatif		VHB+VHD
0191687794	*640	KMX /LC	négatif		HAI 2
180783925	*640	KMX /LC1	LC1 +++: 166		HAI 2
162251545	*640	KMX /LM	négatif		Greffe (tyrosinémie) greffe hep en 2014
162271126	*160	KMX /LM	Non réalisé		Greffe rein
162449003	*320	KMX /LM	négatif		Greffe foie (drépanocytose)
170159156	*640	KMX /LM	faible pos PML,SLA, Sp100, M2-3E: faux pos		rejet greffon foie drépanocytose
171026138	*640	KMX /LM	Non réalisé		Cirrhose OH
171179974	*640	KMX /LM	Non réalisé		drépanocytose compliquée, hépatopathie cholestatique. + neuropathie sensitive.
181636186	*640	KMX /LM	Non réalisé		syndrome de Gougerot-Sjögren
181661997	*640	KMX /LM	Non réalisé		syndrome Joubert cirrhose hépatique + KC foie
182034652	*160	KMX /LM	négatif		cholangite sclérosante
182112572	*320	KMX /LM	négatif		cholestase génétique
0191437172	*640	KMX /LM	négatif		APECED
192211587	*640	KMX /LM	Non réalisé		LMMC
200771477	*640	KMX /LM	négatif		cytolyse : cause inconnue
200772194	*640	KMX /LM	négatif		rejet greffe cirrhose OH
160912223	*320	KMX /LM	négatif		cirrhose OH+VHC

## Ac et clinique: cohorte HCL

- **Maladies autoimmunes: 10/36 (28%)**

### Hépatite autoimmune 2: 6 (17%)

(4 LC1 dot ++) / littérature HAI type 2 30-50%, HVC : 0.5%

### Autres : 4 (11%)

- G. Sjogren:1
- DID type 1 : 1
- APECED :1
- Lupus: 1

- **Autres maladies: 26/36 (72%)**

drépanocytose	3
cholangite sclérosante	1
Cirrhose OH	3
Cytolyse origine ?	5
stéatose	3
H fulminante	1
KC foie	3
Lymphomes	2
HVC/B	3
greffes	2

# Conclusion

- Anti-LC1 : HAI 2
- Anti-LC /LC2 /LM isolés ou associés KM: « LKMx » autres maladies non autoimmunes

## Commentaires proposés

- Ac anti-LKM autre que 1 et LC autre que 1:

Anticorps décrits dans quelques cas d'hépatite autoimmune mais le plus souvent dans des cas d'hépatites médicamenteuses, de cirrhose alcoolique ou au cours d'infections virales.

- Ac anti-LM :

Anticorps décrits dans quelques cas d'hépatite autoimmune, quelques cas de polyendocrinopathies avec ou sans hépatite mais le plus souvent dans des cas d'hépatites médicamenteuses, de cirrhose alcoolique ou au cours d'infections virales.