

AUTOANTICORPS DANS LES MALADIES DE L'OREILLE INTERNE

René-Louis Humbel ^a

Introduction

Tout comme les autres organes, l'oreille interne peut être la cible d'une réaction auto-immune spécifique. Les manifestations cliniques sont représentées par une perte de l'audition pure [13]. Le prototype est la « surdité neurosensorielle auto-immune » (SNA) isolée par McCabe en 1979 [9]. La maladie apparaît chez des sujets âgés de 30 à 35 ans, avec une légère prédominance féminine, et se manifeste par une surdité rapidement progressive (en quelques jours ou quelques semaines), évoluant sur un mode fluctuant, bilatéral, souvent asymétrique. Lorsque des vertiges s'y associent, on observe des tableaux entrant dans le cadre de la maladie de Ménière [11, 16].

De nombreuses études ont été effectuées pour tenter de préciser la nature auto-immune des maladies de l'oreille interne. La recherche d'autoanticorps spécifiques des tissus de l'oreille interne a en particulier suscité de nombreux travaux. L'immunofluorescence indirecte a été initialement utilisée entre 1980 et 1990, sur des coupes d'os temporal humain ou de bœuf, de labyrinthe de rat ou de hamster, ou encore d'oreille interne de fœtus humain. Cette technique est de réalisation et d'interprétation très délicates, en particulier en raison d'une fluorescence non spécifique des tissus. C'est pourquoi la technique la plus employée est le Western blot ou immunoblot, utilisant comme source antigénique un extrait total d'oreille interne, généralement de bœuf, de cobaye ou de rat (*figure 1*), plus rarement d'origine humaine. Cette technique a conduit à la mise en évidence de nombreuses protéines réagissant avec les anticorps des malades [5, 12, 17]. Un petit nombre de ces protéines a pu être peu à peu caractérisé sur le plan moléculaire grâce à l'isolement de leur gène. Certaines de ces protéines sont spécifiques des tissus intra-auriculaires. D'autres antigènes potentiels, de nature non protidique, ont également été évoqués, en particulier des glycolipides dont la structure s'apparente à des glycoconjugués présents dans les tissus de l'oreille interne [6].

2. Les anticorps anti-collagène

Les anticorps les plus anciennement rapportés dans les surdités et la maladie de Ménière sont les anticorps anti-collagène II. Ceux-ci sont retrouvés dans 5 à 40 % des malades suivant les études. Ces dernières ont le plus souvent été menées en utilisant l'ELISA et différentes préparations de collagène II. Pour notre part, nous avons pu mettre en évidence des différences sensibles lors de la recherche des anti-

corps anti-collagène II en fonction de l'origine animale de l'antigène. Le collagène II est le collagène le plus abondamment exprimé dans la structure de l'oreille interne, et en particulier au niveau de la membrane tectoriale qui recouvre l'organe de Corti. Il est également présent, mais en quantité moindre, dans le ligament spiral et le limbus spiral. Le collagène II est le collagène spécifique du cartilage, de même d'ailleurs que les collagènes IX et XI contre lesquels on a également décrit la présence d'autoanticorps. C'est pourquoi on retrouve aussi les anticorps anti-collagène II dans d'autres pathologies du cartilage, en particulier la polychondrite atrophiante, la polyarthrite rhumatoïde, et également l'arthrose. La participation des anticorps anti-collagène II aux atteintes de l'oreille interne est évoquée par l'expérimentation animale. L'immunisation du cobaye par le collagène II induit des lésions de l'oreille interne, en particulier de l'organe de Corti, et les lésions histologiques ressemblent à celles que l'on observe dans la surdité auto-immune [18].

3. Anticorps anti-laminine

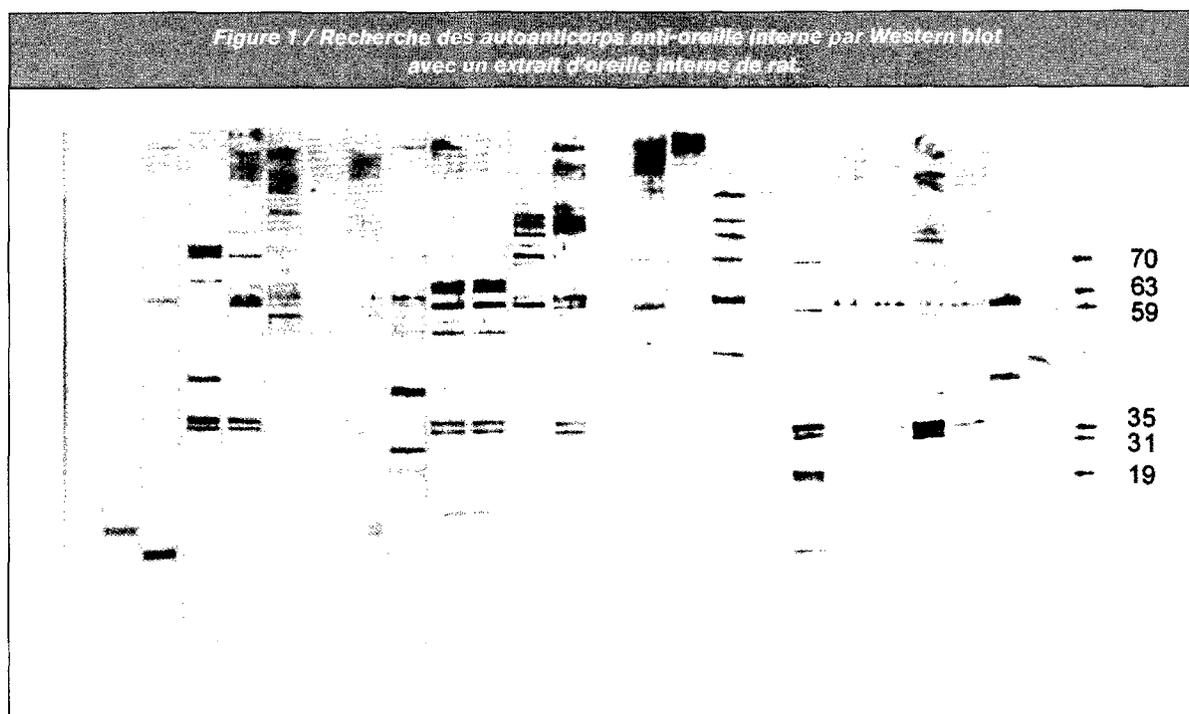
Ils ont été découverts en 1989 avec une fréquence très élevée dans des surdités très diverses et la maladie de Ménière. La technique utilisée était un ELISA et l'antigène de la laminine de souris. Ces anticorps reconnaissent l'épitope Gal-1,3-Gal qui n'est présent que sur la laminine de souris, mais non sur la laminine humaine. D'autre part, cette séquence Gal est aussi présente sur de nombreuses glycoprotéines parasitaires et virales, ce qui peut expliquer la présence d'anticorps au cours de nombreuses maladies infectieuses. Ils ne présentent donc, vraisemblablement, aucun intérêt dans le diagnostic des atteintes auto-immunes de l'oreille interne [7].

4. Anticorps anti-protéine de stress HSP-70

Le premier antigène détecté par Western blot présente un PM de 68 kDa. De très nombreux travaux ont cherché à déterminer la nature de cet antigène. La première protéine incriminée est la protéine du choc thermique HSP-70, une protéine induite en réponse à une modification de l'environnement appelé stress, comme le choc thermique. C'est une protéine abondante dans toutes les cellules et hautement conservée dans l'évolution. Elle possède, d'autre part, une forte immunogénicité et elle est considérée comme une cible antigénique possible dans plusieurs maladies, auto-immunes ou non. On a pu la localiser dans l'oreille interne au niveau des cellules de soutien de l'organe de Corti. La recherche, en routine, des anticorps anti-HSP-70 est réalisée à l'aide d'un Western blot avec des extraits de cellules soumises à un choc thermique. Avec cette méthode, les auteurs du test ont mis en évidence des anticorps chez 30 % des malades présentant une surdité neurosensorielle rapidement évolutive ou une maladie de Ménière. Toutefois, ces mêmes anticorps ont été retrouvés dans des

^a Laboratoire luxembourgeois d'immunopathologie (LLIP)
L-4149 Esch-sur-Alzette
Luxembourg

Correspondance
rlhumbel@llip.lu



affections thyroïdiennes, hépatiques, dans la polyarthrite rhumatoïde, le lupus et d'autres encore. En fait, des études plus récentes ont montré qu'il n'y a aucune correspondance entre la protéine de 68 kDa de l'oreille interne et la HSP-70 [15].

5. Anticorps anti-protéine transporteuse de la choline

L'histoire commence par la préparation, à l'Institut de recherche sur les maladies de l'oreille interne dans le Michigan, d'un anticorps monoclonal dénommé KHRI-3 (*kresge hearing research institute 3*) qui se lie sélectivement à un antigène exprimé par les cellules de soutien de l'oreille interne de cobaye. Injecté dans la cochlée de cet animal, il induit une surdité. Le monoclonal reconnaît en Western blot la protéine de 68 kDa, ainsi qu'une isoforme de 70 kDa. Grâce à cet anticorps monoclonal, on a pu isoler le gène codant pour une protéine qui s'est avérée identique à la protéine CTL2 (*choline transporter-like protein 2*) qui assure le transport de la choline. La choline est un métabolite essentiel au maintien de l'intégrité des membranes cellulaires par son intégration dans la phosphatidylcholine, et à la synthèse de l'acétylcholine, un important neurotransmetteur dans l'oreille interne. Il existe deux formes moléculaires distinctes de la protéine CTL2, de 68 et 72 kDa, qui ne se distinguent que par leur degré de glycosylation. Les anticorps anti-CTL2 se lient à la séquence N-terminale de la protéine, c'est-à-dire à la portion glycosylée. Il n'y a pas encore de résultats disponibles dans la littérature sur la recherche des anticorps anti-CTL2 avec l'antigène spécifique [10].

6. Anticorps anti-cochlène

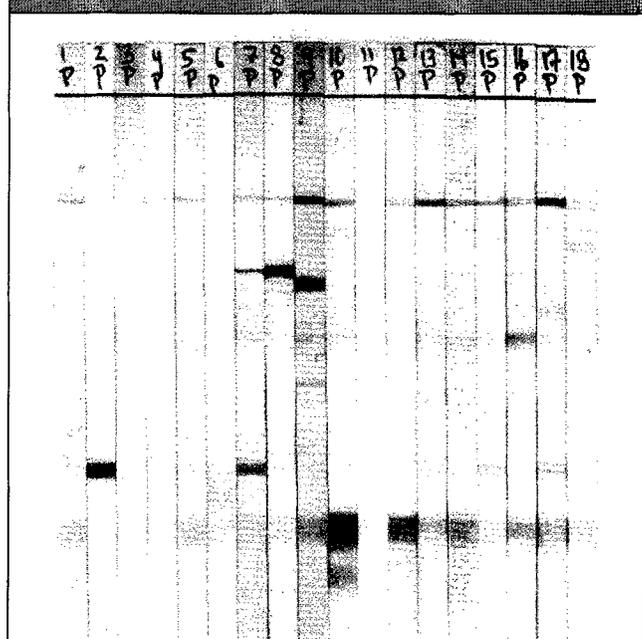
Une protéine de 58 kDa de l'extrait d'oreille interne du cobaye a été identifiée grâce au criblage d'une banque de cDNA. Cette protéine est encodée par le gène COCH (anciennement appelé COCH5B2), un gène bien connu des spécialistes des surdités puisque sa muta-

tion est responsable d'une forme de déficit auditif isolé neurosensoriel de transmission dominante avec dysfonctionnement vestibulaire (l'affection est appelée DFNA9). La protéine correspondante est le précurseur de la cochline, une protéine de la matrice extracellulaire, fortement exprimée dans la cochlée et le vestibule. Elle est formée de 550 acides aminés et comporte deux domaines particuliers qui coordonnent son interaction avec d'autres protéines de la matrice extracellulaire. Les anticorps anti-cochlène ont été retrouvés dans environ 50 % des cas de surdité, mais il s'agit là de résultats obtenus par une seule équipe de chercheurs [2].

7. Anticorps anti-protéine P₀

Une protéine de 30 kDa présente dans l'extrait d'oreille interne de cobaye est reconnue par un nombre significatif de sérums de patients avec surdité. Cette protéine a d'abord été isolée, puis purifiée par chromatographie, puis identifiée en combinant le micro-séquençage et la spectrométrie de masse [3]. Sa structure s'est révélée partiellement identique à la protéine P₀ (ou protéine P zéro) de la myéline. La protéine P₀ est une protéine glycosylée trans-membranaire exprimée uniquement sur la myéline du système nerveux périphérique. Elle est responsable de l'adhérence et du compactage des couches de myéline. Son domaine extracellulaire ressemble au domaine variable d'une immunoglobuline, domaine hautement glycosylé et qui porte aussi le déterminant HNK-1 (glucuronylsulfate) commun à d'autres constituants de la myéline (MAG, SGPG). Dans l'oreille interne, la P₀ est associée au nerf acoustique. La recherche de ces anticorps s'est avérée positive chez 45 % des enfants avec surdité neurosensorielle. On retrouve également des anti-P₀ dans la polyneuropathie sensitive associée à une gammopathie monoclonale à IgM. La spécificité des anticorps est en revanche différente dans ce cas puisque c'est le déterminant HNK 1 qui est reconnu, ce qui n'est pas le cas pour les anticorps des SNA et de la maladie de Ménière, qui réagissent avec d'autres épitopes présents sur la protéine P₀, mais qui n'ont pas encore été identifiés. La recherche des anticorps anti-P₀ peut actuellement être réalisée par un test commercial (Immunoblot P₀, IMMCO, figure 2).

Figure 2 / Recherche des autoanticorps anti-P₀ par la technique Western blot de IMMCO.



8. Anticorps anti-protéine Raf-1

Le sérum de certains malades avec maladie de Ménière réagit avec une protéine de 28 kDa de l'oreille interne de cobaye. Par micro-séquençage, il a été démontré que cette protéine a une structure commune avec le produit du gène RAF1, un proto-oncogène [4]. Il s'agit d'une

sérine/thréonine protéine kinase qui possède une fonction kinase sur l'extrémité C-terminale et un domaine régulateur sur l'extrémité N-terminale. Une mutation ou une délétion de cette extrémité entraîne une stimulation de l'activité kinase et il devient un puissant oncogène. La protéine Raf-1 phosphoryle la protéine Ras et active les différents facteurs de transcription du DNA. Elle joue un rôle essentiel dans la transduction des signaux intracellulaires et règle la prolifération, la différenciation et la division cellulaire. La protéine Raf-1 est présente dans le labyrinthe membraneux. L'anticorps monoclonal de souris anti-Raf 1 reconnaît en Western blot la protéine de 28 kDa de l'oreille interne de cobaye. La protéine Raf-1 possède classiquement un PM de 74 kDa. On peut supposer que la protéine Raf-1 de l'oreille interne est différente, avec un PM de 28 kDa, ou qu'il s'agit d'un produit de dégradation de la protéine de 74 kDa. Les anticorps anti-Raf-1 ont été observés dans le sérum de 16/27 cas de maladie de Ménière.

9. Anticorps anti-β-actine

La protéine de l'oreille interne de cobaye de 42/43 kDa réagissant en Western blot avec le sérum de patients avec surdité auto-immune a été isolée et analysée par HPLC après digestion par la trypsine. Les fragments peptidiques obtenus possèdent des séquences d'acides aminés identiques à la β-actine. Un anticorps monoclonal anti-β-actine réagit avec la protéine de 42/43 kDa sur le Western blot. La β-actine est une isoforme d'actine faisant partie du cytosquelette de toutes les cellules non musculaires. Elle est présente dans les cellules ciliées de l'organe de Corti. Une expression anormale de la β-actine dans l'oreille interne a été observée en association avec des troubles vestibulaires et la surdité. Toutefois, l'immunisation du cobaye avec la protéine de 42/43 kDa n'induit aucune anomalie au niveau de l'oreille interne [2].

Tableau 1 / Autoanticorps rapportés dans les maladies de l'oreille interne.

Anticorps anti-	Spécificité	Affections
Collagène	Collagène II Collagène IX	Surdité neurosensorielle
Laminine	Déterminant Gal-1,3-Gal	Non spécifiques
Protéine de stress HSP-70	Protéine de 68 kDa induite par un choc thermique	Non spécifiques
Protéine transporteuse de la choline	Protéine de 68 kD/72 kD reconnue par l'Ac monoclonal KHRI-3	Surdité neurosensorielle
Cochline	Protéine de 58 kDa de la matrice extracellulaire de la cochlée	Surdité neurosensorielle
Protéine P ₀	Protéine de 30 kDa de la myéline du système nerveux périphérique	Surdité neurosensorielle
Protéine Raf-1	Protéine de 28 kDa proto-oncogène	Surdité neurosensorielle Maladie de Ménière
β-Actine	Protéine de 42/43 kDa du cytosquelette	Surdité neurosensorielle
β-Tubuline	Protéine de 55 kDa	Maladie de Ménière
Sialyl-i	Glycolipide sialylé	Maladie de Ménière
SGLPG	Sulfoglucuronyl-lactosaminyl paragloboside	Surdité neurosensorielle Maladie de Ménière

Une protéine de 55 kDa de l'oreille interne de cobaye est reconnue par le sérum de patients avec maladie de Ménière. Le sérum d'un patient a été utilisé pour isoler un gène codant pour cette protéine. Celle-ci s'est révélée correspondre à la β -tubuline. La β -tubuline est une protéine intracellulaire, le constituant majeur des microtubules. Elle est présente en abondance dans les cellules de support de l'organe de Corti et les cellules neurosensorielles, ainsi que dans les organes vestibulaires. Par ELISA, des anticorps anti- β -tubuline ont été retrouvés chez 59 % des cas de maladie de Ménière. Des anticorps anti- β -tubuline ont aussi été décrits dans quelques cas de polyneuropathie sensitive chronique associée à une gammopathie monoclonale à IgM mais à des titres plus élevés que dans la maladie de Ménière [19].

11. Anticorps anti-glycolipides

Divers glycoconjugués sont reconnus par les anticorps des malades avec surdité et maladie de Ménière. Les glycoconjugués apparentés aux antigènes des groupes sanguins Lewis sont largement présents dans l'oreille interne, en particulier à la surface de l'organe de Corti, la membrane tectoriale, l'épithélium sensoriel et les cellules ciliées. Ils sont constitués de chaînes glucidiques formées de galactose, de N-acétylglucosamine, de fucose et, pour certaines, d'acide sialique. Des anticorps contre le ganglioside sialyl-i (S-i), dont la structure est très voisine de celle de l'antigène sialyl-Le ont été mis en évidence dans le sérum de quelques patients atteints de maladie de Ménière [8].

Des anticorps contre le glycosphingolipide SGLPG (sulfoglucuronyl-lactosaminyl paragloboside) ont également été notés dans les surdi-

tés et la maladie de Ménière [14]. Ils réagissent avec l'épitope HNK 1 (ou Leu-7) représenté par un résidu glucuronyl-3-sulfate, également présent sur d'autres constituants de la myéline du nerf périphérique. La présence de SGLPG a pu être démontré au niveau du nerf acoustique. Les anticorps anti-SGLPG accompagnent généralement aussi les anticorps anti-myéline associés à certaines gammopathies monoclonales à IgM. La recherche des anticorps anti-glycolipides est réalisable par chromatographie en couche mince, un procédé laborieux.

12. Conclusion

Depuis plus de 20 ans, de très nombreux travaux ont cherché à identifier des autoanticorps spécifiques pour affirmer le mécanisme auto-immun de certaines atteintes de l'oreille interne. Le Western blot, à partir d'extraits d'oreille interne, a été très largement utilisé. Il a mis en évidence l'existence de réactions avec un très grand nombre de protéines de PM différent. Grâce aux progrès de la biologie moléculaire, un certain nombre de ces protéines ont pu être identifiées. La plupart montrent une forte expression dans les structures de l'oreille interne, mais peu en sont réellement spécifiques. Il en est de même des autoanticorps correspondants. Leur sensibilité et leur spécificité pour les maladies de l'oreille interne sont très variables en fonction du type d'anticorps et de la méthode utilisée. Les résultats des Western blots sont à interpréter avec précaution. Dans notre expérience, une réaction positive du sérum avec des protéines de 30/34 kD s'est révélée corrélée le mieux avec des atteintes de l'oreille interne répondant aux critères de McCabe, en particulier la sensibilité à la corticothérapie. Des résultats identiques ont été obtenus avec la recherche des anticorps anti-P₀ avec le test commercial Immunoblot P₀ (IMMCO).

Références

- [1] Boulassel M.R., Tomasi J.P., Deggouj N., Gersdorff M., COCH5B2 is a target antigen of anti-inner ear antibodies in autoimmune inner ear diseases, *Otol. Neurotol.* 22 (2001) 614-618.
- [2] Boulassel M.R., Tomasi J.P., Deggouj N., Gersdorff M., Identification of beta-actin as a candidate autoantigen in autoimmune inner ear disease, *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.* 25 (2000) 535-541.
- [3] Cao M.Y., Dupriez V.J., Rider M.H., Deggouj N., Gersdorff M.C.H., Rousseau G.G. et al., Myelin protein P₀ as a potential autoantigen in autoimmune inner ear disease, *FASEB J.* 10 (1996) 1635-1640.
- [4] Cheng K.C., Matsuoka H., Lee K.M., Kim N., Krug M.S., Kwon S.S. et al., Proto-oncogene Raf-1 as an autoantigen in Meniere's disease, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 109 (2000) 1093-1098.
- [5] Gong S.S., Yu D.Z., Wang J.B., Relationship between three inner ear antigens with different molecular weights and autoimmune inner ear disease, *Acta Otolaryngol.* 122 (2002) 5-9.
- [6] Humbel R.L., Oto-immunologie : le point sur les autoanticorps anti-oreille interne, *GEAI l'Info.* 7 (2005) 8-10.
- [7] Klein R., Timpl R., Zanetti FR., Plester D., Berg P.A., High antibody levels against mouse laminin with specificity for galactosyl-(alpha 1-3)galactose in patients with inner ear diseases, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 98 (1989) 537-542.
- [8] Lake G.M. 3rd, Sismanis A., Ariga T., Yamawaki M., Gao Y., Yu R.K., Antibodies to glycosphingolipid antigens in patients with immune-mediated cochleovestibular disorders, *Am J. Otol.* 18 (1997) 175-178.
- [9] McCabe B.F., Autoimmune sensorineural hearing loss, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 88 (1979) 585-589.
- [10] Nair T.S., Kozma K.E., Hoefling N.L., Kommareddi P.K., Ueda Y., Gong T.W. et al., Identification and characterization of choline transporter-like protein 2, an inner ear glycoprotein of 68 and 72 kDa that is the target of antibody-induced hearing loss, *J. Neurosci.* 24 (2004) 1772-1779.
- [11] Solares C.A., Hughes G.B., Tuohy V.K., Autoimmune sensorineural hearing loss: an immunologic perspective, *J. Neuroimmunol.* 138 (2003) 1-7.
- [12] Tomiyama S., Experimental autoimmune labyrinthitis: assessment of molecular size of autoantigens in fractions of inner ear proteins eluted on the Mini Whole Gel Eluter, *Acta Otolaryngol.* 122 (2002) 692-697.
- [13] Vinceneux P., Couloigner V., Pouchot J., Bouccara D., Sterkers O., Les surdités auto-immunes, *Presse Med.* 28 (1999) 1904-1910.
- [14] Yamawaki M., Ariga T., Gao Y., Tokuda A., Yu J.S., Sismanis A. et al., Sulfoglucuronosyl glycolipids as putative antigens for autoimmune inner ear disease, *J. Neuroimmunol.* 84 (1998) 111-116.
- [15] Yeom K., Gray J., Nair T.S., Arts H.A., Telian S.A., Disher M.J. et al., Antibodies to HSP-70 in normal donors and autoimmune hearing loss patients, *Laryngoscope* 113 (2003) 1770-1776.
- [16] Yoo T.J., Du X., Kwon S.S., Molecular mechanism of autoimmune hearing loss, *Acta Otolaryngol.* 48 (2002) Suppl. 3-9.
- [17] Yoo T.J., Shea J. Jr, Ge X., Kwon S.S., Yazawa Y., Sener O. et al., Presence of autoantibodies in the sera of Meniere's disease, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 110 (2001) 425-429.
- [18] Yoo T.J., Stuart J.M., Kang A.H., Townes A.S., Tomoda K., Dixit S., Type II collagen autoimmunity in otosclerosis and Meniere's disease, *Science* 217 (1982) 1153-1155.
- [19] Yoo T.J., Tanaka H., Kwon S.S. et al., Tubulin as an autoantigen for autoimmune inner ear disease, *Int. Congr. Ser.* 1240 (2003) 1207-1210.