

Histoire des facteurs rhumatoïdes

Il y a plus de 60 ans que fut découverte l'existence, dans le sérum des sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde, d'un facteur provoquant l'agglutination des globules rouges sensibilisés par un immun sérum, et auquel plus de 9000 publications ont été consacrées à ce jour. D'abord appelé "facteur activateur agglutinant" il fut dénommé "facteur rhumatoïde" dès qu'il fut démontré qu'il représentait un marqueur sensible et assez spécifique de la polyarthrite rhumatoïde. L'histoire commence réellement en 1937 dans le laboratoire d'Eric Waaler à Oslo lorsque celui-ci observe que certains sérums agglutinent les globules rouges dans la réaction de fixation du

complément de Bordet-Wassermann utilisée pour le sérodiagnostic de la syphilis. Il montre que ce pouvoir agglutinant est adsorbé par les globules rouges de mouton sensibilisés par l'antiglobuline de lapin anti-mouton, mais pas avec les globules rouges non sensibilisés. Il est thermostable à 56°C et se retrouve dans la fraction globulinique du sérum des malades atteints de PR. Waaler présente ses découvertes au Congrès de Microbiologie de New York le 2 septembre 1939, la veille même du déclenchement de la seconde guerre mondiale qui va l'obliger à suspendre ses recherches. Celles-ci reprendront en 1947 aux Etats-Unis dans le laboratoire de Melvin Rose. La technicienne de Rose, Elisabeth Pearce, est chargée d'effectuer la réaction de fixation du complément pour le sérodiagnostic de la rickettsiose. En réalisant le test sur son propre sérum, Elisabeth Pearce constate que celui-ci agglutine les globules rouges sensibilisés, exactement comme l'avait décrit Waaler. Or Elisabeth Pearce était atteinte d'une forme active de PR l'obligeant à s'absenter fréquemment du laboratoire. Melvin Rose et le rhumatologue d'Elisabeth Pearce, le docteur Charles Ragan, font rapidement le rapprochement entre le pouvoir agglutinant du sérum et la PR. Ragan fit parvenir à Elisabeth Pearce des échantillons des sérums de ses patients atteints de maladies rhumatismales, et la réaction d'agglutination s'avéra positive avec les sérums provenant uniquement de ceux atteints de PR. Le sérodiagnostic de la PR entra définitivement dans la pratique médicale sous le nom de réaction de Waaler-Rose dès 1948. Le terme de "Facteur Rhumatoïde" a été introduit par Pike en 1949. Entre 1950 et 1956 plus de 30 publications seront consacrées au facteur rhumatoïde. Elles confirmeront toutes la très bonne spécificité et sensibilité pour la polyarthrite rhumatoïde. Pike, Sulkin et Cogeschall montrent entre autre que la réaction était plus fortement positive chez les malades atteints de formes actives de la polyarthrite rhumatoïde.

Dans les années qui suivirent, la réaction de Waaler-Rose subit de nombreuses modifications. George Heller introduit une étape importante consistant à adsorber préalablement les hétéroagglutinines non spécifiques du sérum. Divers autres auteurs montrent que les globules rouges d'autres espèces animales sensibilisées avec un immun sérum homologue peuvent être utilisés. En France, d'intéressants travaux sont entrepris à l'Institut Pasteur de Paris par Eyqueux, Jochem, Jacquelin et Madame Podliachouk. Ceux-ci développent une méthode utilisant des globules rouges humains sensibilisés par un immun sérum de lapin au Rh. Une étape importante est franchie en 1954 par Heller qui montre que l'immun sérum de lapin anti-globules rouges de mouton utilisé pour la sensibilisation des hématies peut être remplacé avantageusement par des gammaglobulines du sérum présentes dans la fraction II de Cohn. Dix ans après, Felix Milgrom et Olav Tonder, élèves de Eric Waaler, utilisent la technique de sensibilisation directe de globules rouges, formolés et stabilisés et ayant perdu toute spécificité d'espèce. En France, Benoît, Leduc et Guffroy

SOMMAIRE

- **Éditorial**
Histoire des facteurs rhumatoïdes
page 1
- **Point de vue du clinicien :**
Les auto-anticorps dans la PR : que faut-il en attendre ?
page 4
- **Mise au point :**
Les auto-anticorps anti-filagrine
pages 7 à 18
- **Étude multicentrique :**
Association anticorps anti-centromère et anti-SI 70
page 19
- **Actualités**
À propos de la recherche et de "l'élimination" des complexes immuns
page 23

de Lille, développent le premier réactif stabilisé et de longue conservation utilisable pour les réactions d'agglutination sur lame ou en microplaques. La première trousse commerciale le "Polyartest" sera produite en France par les laboratoires Fumouze en 1966.

En 1956, Singer et Plotz eurent l'idée de fixer directement les gammaglobulines sur des particules inertes de latex. La première réaction est réalisée en tubes, puis apparaît le test au latex sur lame. Le réactif au latex sera commercialisé dès 1959 par la firme Hyland (le RA-Test) et à la fin de 1960 une trentaine d'autres firmes auront commercialisé une trousse de réactif au latex. Ce sera le test le plus utilisé dans les laboratoires pour le sérodiagnostic de la PR. De par sa facilité d'emploi, le test au latex s'est rapidement imposé comme l'épreuve sérologique de choix pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde. Entre 1956 et 1959, 25 études seront rapportées, portant sur un total de 3028 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et 5704 souffrant d'autres affections. La positivité du test au latex chez les patients avec polyarthrite rhumatoïde a oscillé entre 53 et 94% et chez les autres patients entre 0 et 15,6% (revue faite par Singer en 1961). En dehors de la polyarthrite rhumatoïde, le test au latex a été trouvé positif dans les maladies infectieuses comme la tuberculose, la syphilis et les affections hépatiques, les parasitoses, la silicose (Kunkel 1958, Dresdner 1959, Bartfeld 1960) et chez les sujets âgés (Heimer 1973). Dans une étude plus récente datant de 1993, Wolfe montre que le test au latex permet de différencier la polyarthrite rhumatoïde des autres affections rhumatismales. Le test a été trouvé positif dans 81,3% des 506 cas de polyarthrite rhumatoïde et seulement chez 11,5% de 638 autres arthropathies. A l'inverse, la réaction de Waaler-Rose apparaît plus spécifique. Waller en 1964 a confirmé ce fait en montrant que 0,25% seulement de 5461 sujets non atteints de polyarthrite rhumatoïde avaient une réaction de Waaler-Rose positive, alors que le test au latex était positif chez 4,1% de ces sujets. Les premiers essais de quantification de la réaction au latex par une mesure photométrique ont été entrepris en 1960, mais il faudra attendre 1970 pour voir apparaître une technique de mesure néphélométrique avec un réactif spécialement adapté et comprenant des microparticules de latex recouvertes d'IgG humaines (LN-Latex test, Boehringer Mannheim).

Des tentatives pour utiliser d'autres supports solides ont encore été entreprises. Bozicevitch (1958) propose l'utilisation de particules de bentonite, possédant des charges négatives abondantes et pouvant être facilement recouvertes de gammaglobulines. Le test se pratique sur lame. Des particules de collodion en suspension colloïdale ont été utilisées par Zavazal (1958). On ne peut s'empêcher de rappeler ici la constatation faite par Wallis en 1947 de l'agglutination "spontanée" des particules de collodion mélangées avec le sérum des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Il ne fait pratiquement pas de doute que cette réaction correspondait à une fixation des gammaglobulines du sérum sur les particules, suivie de l'agglutination de celles-ci par le facteur rhumatoïde.

Les mécanismes de la réaction d'agglutination avec le facteur rhumatoïde ont été abondamment étudiés dans le laboratoire d'Henry Kunkel au Rockefeller Institute de New York à partir de 1950. C'est ainsi que sera précisé que

la substance agglutinée est représentée par des gammaglobulines IgG et que le facteur agglutinant est présent dans la fraction des IgM. La réaction fait intervenir le fragment Fc des IgG et les fragments Fab du facteur rhumatoïde IgM. Natwig et Kunkel (1968) ont localisé les déterminants antigéniques présents sur le fragment Fc des IgG sur les chaînes lourdes des domaines C γ 2 et C γ 3. Le groupe suédois de Gruss a montré dès 1958 que le facteur rhumatoïde réagissait avec des déterminants génétiques sériques appelés Gm (Genetic marker), qui sont exprimés sur les fragments Fc de la plupart des IgG de classes 1, 2, 3 et 4. Un déterminant non génétique, spécifique pour le facteur rhumatoïde, a été identifié dès 1966 par Allen et Kunkel et a été dénommé "Ga". Il est uniquement présent sur les IgG des sous-classes 1, 2 et 4. La carte épitopique déterminée par Jefferies en 1984 a révélé que l'antigène Ga est strictement dépendant de la nature de l'acide aminé présent en position 435 sur le fragment Fc. Ce résidu est très polymorphe dans les IgG humaines, étant représenté par l'histidine dans les IgG 1, 2 et 4 et par l'arginine dans les IgG3. Cette substitution est responsable de la non réactivité de cette dernière classe d'IgG avec le facteur rhumatoïde. Artandi (1992) a montré que His-435 se trouve dans une boucle se projetant dans l'interface C γ 2 - C γ 3 et est responsable d'une configuration particulière assurant sa réactivité avec le facteur rhumatoïde. La topographie du complexe facteur rhumatoïde-IgG a pu être récemment précisée grâce aux études cristallographiques réalisées au King's College de Londres par Sohr (1996) et par Adam L. Cooper (1997).

La réaction de Waaler-Rose et le test au latex diffèrent très nettement par la nature des IgG utilisées comme réactif pour les facteurs rhumatoïdes. Alors que la réaction de Waaler-Rose utilise des IgG de lapin, le test au latex fait usage des IgG humaines. En général les facteurs rhumatoïdes réagissent aussi bien avec les IgG humaines que les IgG de lapin et de diverses autres espèces animales. Cette double réactivité est particulièrement caractéristique de la PR.

Pare, à Oxford, met en évidence en 1985 l'existence d'une anomalie de la glycosylation des IgG présentes dans le sérum des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Chaque molécule d'IgG comporte 2 chaînes oligosaccharidiques attachées par un résidu d'asparagine au niveau du domaine C γ 2 de chaque chaîne lourde (Asn 295). Ces chaînes sucrées jouent un rôle crucial dans le maintien de la structure tridimensionnelle des fragments Fc. Elles sont composées de N-acétylglucosamine et se terminent normalement par 1 ou 2 résidus de galactose. Les IgG des patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde renferment peu (G1) ou pas de galactose (Go) et les deux (ou au moins une) chaînes oligosaccharidiques se terminent par un résidu de N-acétylglucosamine. Cette anomalie peut avoir plusieurs conséquences : une agrégation anormale des IgG déglycosylées (Nardella, 1981) ou une modification conformationnelle de la molécule d'IgG avec la mise à nue d'épitopes cachés (cryptotopes), qui sont alors reconnus par le facteur rhumatoïde.

On savait donc depuis les travaux de Heller de 1954, que la substance qui est agglutinée est constituée de gammaglobulines. Wallace Epstein, également à New York, confirme cette spécificité en 1956 en montrant que le

sérum des patients avec polyarthrite rhumatoïde précipite aussi les gammaglobulines humaines en solution. La réaction est plus intense avec les gammaglobulines emprisonnées dans des complexes immuns (Vaughan, 1956) et avec les gammaglobulines préalablement agrégées par le chauffage à 60°C pendant 30 minutes (Edelman, 1958) ou dénaturées (Oreskes, 1962). L'agglutination directe des gammaglobulines agrégées a été mise à profit dans un test d'agglutination sur lame, la réaction étant visualisée par l'addition de particules de charbon qui se fixent sur les agrégats. La firme Hynson, Westcott and Dunning commercialise un test basé sur ce principe (HWD-macrovue RF-card) et une adaptation automatisée sur l'analyseur TECHNICON a même été développée (Stevens et al, 1970). Les mécanismes de la réaction de précipitation des gammaglobulines avec le facteur rhumatoïde sont étudiés en détail par Epstein (1957), Christian (1958) et Charles Vaughan (1958-1959). Ces études ont permis le développement des tests néphélométriques et turbidimétriques pour la mesure des facteurs rhumatoïdes par précipitation des gammaglobulines. On choisit pour cela une solution claire de gammaglobulines agrégées par la chaleur qui n'a pas, ou peu, d'effet sur la dispersion de la lumière. La réaction avec le facteur rhumatoïde forme des complexes macromoléculaires qui vont entraîner une dispersion de la lumière et celle-ci est mesurée sur un néphélomètre après un temps fixe (Schmolke, 1977), ou en cinétique (Finley, 1979). Actuellement des mesures par turbidimétrie sont plus largement utilisées (Melanias, Borque, 1986).

Jusqu'ici, l'intérêt s'était surtout porté sur le facteur rhumatoïde agglutinant ou précipitant qui est de nature IgM. Heimer et Levine (1966) puis Torrigiani et Roit (1967) parviennent à séparer les facteurs rhumatoïdes par adsorption sur une colonne d'immunoaffinité préparée par des IgG de lapin insolubilisées par polymérisation. Les facteurs rhumatoïdes sont récoltés par élution en tampon acide et leur contenu en immunoglobulines est analysé par immunodiffusion. Ces expériences révèlent l'existence de classes d'IgG et d'IgA en plus des facteurs rhumatoïdes IgM. La technique radioimmunologique est utilisée pour la première fois pour la recherche du facteur rhumatoïde par Paul Franchimont à l'Université de Liège en 1969. Avec un résident roumain, il développe une technique utilisant des gammaglobulines humaines marquées par l'iode¹²⁵ suivie d'une précipitation du complexe avec une globuline de lapin anti-IgM. Par la suite les techniques en phase solide, plus simples, utilisant les gammaglobulines immobilisées sur des tubes de polystyrène ont été utilisées tant pour le facteur rhumatoïde de classe IgM que pour celui des facteurs rhumatoïdes des classes IgA, IgG et même IgE et IgD. A la fin des années 70, le français Maiolini de Nice décrit la première application de la technique ELISA pour la mesure du facteur rhumatoïde IgM. Celle-ci fut utilisée par la suite pour les facteurs rhumatoïdes IgA, IgG et IgE. Comparativement aux méthodes d'agglutination, l'ELISA offre plusieurs avantages : la méthode est plus sensible et elle permet la détection des facteurs rhumatoïdes dits "cachés", limitant ainsi la proportion des polyarthrites séro-négatives. C'est une technique quantitative précise et reproductible permettant un suivi fiable de l'activité de la maladie et de l'action des traitements. L'ELISA permet la double détec-

mination de l'activité des facteurs rhumatoïdes vis-à-vis des IgG humaines et des IgG de lapin, ce qui augmente la sensibilité et la spécificité pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde. Elle permet aussi de mesurer les facteurs rhumatoïdes des autres isotypes que l'IgM et, en particulier, les facteurs rhumatoïdes IgA considérés comme marqueurs utiles pour le pronostic de la maladie.

La présence de facteurs rhumatoïdes dans le sérum fait partie des critères de diagnostic anciens (1956) et révisés (1989) de la polyarthrite rhumatoïde définis par l'Association Américaine du Rhumatisme (ARA). Elle est aussi un facteur prédictif pour le développement d'une polyarthrite rhumatoïde. AHO et col (1985) de l'Institut de Santé Publique de Helsinki utilisent le registre de l'Assurance Maladie Finnoise pour identifier les cas de polyarthrite rhumatoïde diagnostiqués parmi la population qui participe à une étude de surveillance des maladies cardio-vasculaires. Rétrospectivement, ils examinent des sérums qui ont été prélevés dès le début de l'étude. Sur les 30 nouveaux cas de polyarthrite rhumatoïde diagnostiqués durant l'étude, 12 avaient un test de Waaler-Rose positif ayant précédé de 4 mois à 5 ans le développement des signes cliniques de la maladie. Au sud de l'Arizona vit une communauté d'indiens Pima, une population avec une incidence élevée de polyarthrite rhumatoïde. Antonio del Puente et ses collaborateurs (1988) ont étudié 2712 membres de cette communauté pendant une période de 19 années avec un examen clinique, radiologique et biologique bi-annuel. Au cours de cette période 70 nouveaux cas de polyarthrite rhumatoïde sont apparus et l'incidence corrèle strictement avec le titre des facteurs rhumatoïdes mis en évidence précédemment dans les prélèvements sanguins.

Il est apparu peu à peu que certains sujets, bien que présentant les signes cliniques d'une polyarthrite rhumatoïde, n'associaient pas la présence de facteurs rhumatoïdes. Allen et Kunkel ont pu mettre en évidence, dès 1966, chez deux patients, dont le sérum était négatif dans les tests d'agglutination classiques, l'existence d'un facteur rhumatoïde dit "caché". En effet, lorsque le sérum est soumis à une filtration sur gel, dans des conditions de dissociation (pH 4.0), la fraction IgM isolée présente une nette activité agglutinante. Apparemment le facteur rhumatoïde dans ces sérums était déjà complexé aux IgG du sérum et ne pouvait donc plus réagir avec les IgG des réactifs d'agglutination. Terry Moore (1972) a surtout noté la présence de ces facteurs rhumatoïdes cachés chez les enfants atteints d'arthrite chronique juvénile. Leur mise en évidence a longtemps nécessité une chromatographie préalable du sérum sur échangeurs d'ions dans des conditions de dissociation. Actuellement, la plupart de ces facteurs rhumatoïdes "cachés" sont également mis en évidence par les techniques ELISA, qui utilisent des dilutions élevées du sérum assurant leur dissociation. Leur réactivité est dirigée de façon préférentielle contre les IgG humaines.

*René Louis HUMBEL
Laboratoire d'Immunopathologie
Centre Hospitalier Luxembourg*

Les auto-anticorps dans la polyarthrite rhumatoïde.

Que faut-il en attendre ?

Jean SIBILIA, Rhumatologie CHU Strasbourg.
Avenue Molière 67098 STRASBOURG Cedex

La prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde (PR) est en train de se modifier profondément. Cette métamorphose a surtout été induite par le développement de stratégies thérapeutiques innovantes. De nouveaux immuno-modulateurs, en particulier ceux qui bloquent le "tumor necrosis factor alpha" (TNF) semblent apporter un bénéfice thérapeutique spectaculaire. Même si "la sagesse clinique" incite encore à une certaine prudence, l'efficacité de ces nouveaux traitements est en train de modifier le comportement des rhumatologues. Aujourd'hui, ils souhaitent avoir des éléments facilitant le diagnostic et le pronostic, cela avec un double objectif :

- débiter le plus rapidement possible un traitement afin d'éviter l'apparition de lésions ostéo-articulaires ;

- choisir dans l'arsenal thérapeutique l'arme la plus adaptée à la sévérité de la maladie.

Les auto-anticorps font indiscutablement partie des "outils biologiques", mais en pratique qu'attend-on précisément ?

Mots-clés : Facteurs rhumatoïdes - anti-filagrine- polyarthrite rhumatoïde- auto-anticorps

1/ Des marqueurs diagnostiques spécifiques

A ce jour, seuls les facteurs rhumatoïdes (FR) et les anti-filagrines (AFA) ont une réelle utilité pratique, mais leur intérêt respectif mérite d'être discuté.

- Historiquement, les facteurs rhumatoïdes ont été les premiers marqueurs, mais leur valeur diagnostique est critiquable. Leur principal point faible est certainement leur manque de spécificité, car il est possible d'en détecter dans de nombreuses affections auto-immunes, dans certaines hémopathies lymphoïdes, dans des infections chroniques et chez le sujet sain âgé (dans 15% des cas après 70 ans) (2, 5). Shmerling et al. (11) ont illustré cette modeste valeur diagnostique en analysant systématiquement les dossiers de 563 patients hospitalisés consécutivement. Parmi 86 résultats positifs (par méthode d'agglutination), seuls 21 patients étaient des PR, alors que parmi 86 patients témoins sans FR, 10 souffraient également de PR. Dans cette étude, la valeur diagnostique variait selon le motif de la demande avec une spécificité de l'ordre de 80% si la symptomatologie justifiait la demande a été une véritable polyarthrite, et seulement de 40% si le dosage a été demandé pour l'exploration de signes moins spécifiques (fièvre, altération de l'état général, douleurs diffuses, ...).

L'autre faiblesse est certainement l'absence de FR dans près de la moitié des cas dans les premiers mois de la maladie, ce qui est un handicap dans le bilan d'une débutante. Malgré tout, les FR restent un marqueur utile faisant partie des critères diagnostiques de la PR (American College of Rheumatology, 1987) (5). En pratique, la recherche de FR IgM (anti-IgG humaine et/ou de lapin) est suffisante, quelle que soit la méthode utilisée pour peu qu'elle soit fiable et quantifiable. En effet, moins de 1% des PR ont des taux significatifs de FR IgA et/ou IgG sans FR IgM.

- Les anti-filagrines (AFA) qui regroupent schématiquement les anti-kératine (ou anti-stratum corneum) et les anticorps anti-périnucléaires ont l'avantage d'avoir une très bonne spécificité allant de 72 à 100% selon les études. Outre la spécificité, leur intérêt est d'être détectables chez 30% des polyarthrites sans FR (séronégatives) (1, 5). Cependant, leur principale faiblesse est leur assez faible prévalence (35 à 55% des PR). Ainsi, la question principale est de savoir si leur bonne spécificité est un apport diagnostique suffisant, car l'expérience démontre que, dans la majorité des cas, le diagnostic précoce d'une PR va être initialement clinique ou clinico-radiographique. En effet, une synovite chronique (> 3 mois) des petites articulations peut être suffisamment caractéristique quelles que soient les données biologiques. Néanmoins, dans certaines conditions plus inhabituelles (PR à début mono ou extra-articulaire), les AFA sont des marqueurs diagnostiques intéressants, mais ces situations sont assez rares. On peut espérer que ce défaut de sensibilité pourra être amélioré par le développement de tests plus sensibles, en particulier des ELISA utilisant des molécules citrullinées (10).

- Parmi les nombreux autres auto-anticorps qui ont été étudiés dans la PR, seuls les anti-Sa semblent avoir peut-être un réel intérêt diagnostique (tableau I) (6). Il a été démontré récemment que ces auto-anticorps très spécifiques (78 à 97% selon les études) pourraient être dirigés contre un antigène endothélial citrulliné (12). Néanmoins, il reste à démontrer en pratique l'intérêt réel de ce marqueur.

- Dans le bilan d'une polyarthrite débutante, il est utile de rappeler la nécessité d'effectuer la recherche d'anticorps antinucléaires (immunofluorescence, Hep-2) pour éliminer différents diagnostics différentiels, en particulier une polyarthrite lupique, un syndrome de Gougerot-Sjögren

ou une sclérodémie. Il s'agit d'une étape importante avec de nombreuses implications pronostiques et thérapeutiques.

2/ Des marqueurs pronostiques pertinents

- L'idéal serait d'avoir un ou des marqueurs pronostiques permettant d'identifier les formes sévères dès le diagnostic initial. Il est actuellement admis que des titres élevés de FR IgM et/ou IgA et des AFA sont des facteurs de mauvais pronostic, prédisposant à l'apparition d'une PR destructrice parfois compliquée de signes extra-articulaires (nodules, vascularite). Il s'agit en fait d'une réalité statistique, car individuellement l'analyse est plus difficile. Il existe effectivement des PR "séronégatives" (sans auto-anticorps) très destructrices et inversement des PR séropositives peu sévères. Dans une étude récente, nous avons analysé les facteurs pronostiques dans une cohorte de 191 PR évoluant depuis moins d'un an (5). Les meilleurs facteurs prédictifs de l'apparition de lésions radiographiques ont été les FR IgM et à un degré moindre, les anti-stratum corneum et anti-périnucléaires. Malgré cela, aucun marqueur ne peut fixer individuellement le pronostic d'une PR. L'avenir est donc probablement à des scores composites intégrant des indices cliniques classiques (articulations douloureuses et gonflées, indices fonctionnels) des marqueurs biologiques (CRP), des marqueurs génétiques (HLA DR B1) et les auto-anticorps les plus pertinents (9).

- Certains auto-anticorps, qui peuvent interférer directement avec la réaction inflammatoire intra-articulaire, peuvent également avoir un intérêt pronostique. Il existe dans la synoviale rhumatoïde une hyper-expression des calpaines (enzymes protéolytiques) et de leur inhibiteur physiologique, la calpastatine (CAST) (8). Chez les sujets atteints de PR, il a été démontré que des anticorps anti-CAST étaient capables de neutraliser la CAST, réduisant ainsi le contrôle physiologique des réactions enzymatiques synoviales. Ces auto-anticorps pourraient être des cofacteurs participant à la dérégulation du contrôle de l'inflammation. En conséquence, leur présence pourrait être considérée comme facteur de mauvais pronostic. Cependant, en pratique, cette hypothèse n'a pas été formellement démontrée.

- D'autres auto-anticorps non spécifiques de la PR pourraient aussi avoir une valeur pronostique, comme l'illustrent les deux exemples suivants :

- Des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires (ANCA) sont décrits dans 10 à 30% des PR. Il s'agit habituellement de p-ANCA ou d'ANCA atypiques (4). La spécificité est habituellement de type anti-lactoferrine, anti-élastase ou anti-lysozyme, mais rarement de type anti-myéloperoxydase (MPO). La présence de ces ANCA (surtout les anti-MPO) peut être associée à une atteinte rénale ou plus rarement à une autre complication vasculaire (atteinte pulmonaire). Néanmoins, ces complications restent exceptionnelles en pratique courante, car dans la plupart des cas, la présence d'ANCA n'est associée à aucun signe

de vascularite systémique. Ainsi, la recherche d'ANCA ne doit pas être systématique dans la PR, mais réservée aux explorations de complications rénales ou vasculaires.

- Les anticorps anti-Ro/SS-A semblent caractériser une forme particulière de PR souvent associée à des signes de lupus ou de syndrome de Gougerot-Sjögren (3). Cette observation peut avoir des conséquences pratiques pour la surveillance de ces patients qui représentent à peu près 1 à 5% des PR.

En-dehors de l'utilité pratique des auto-anticorps que nous venons de détailler, il faut être également conscient de l'intérêt de ces marqueurs dans la compréhension de la PR. Depuis de nombreuses années, l'espoir était de découvrir un auto-antigène intra-articulaire spécifique de la PR. Force est de constater que les deux principaux auto-anticorps (FR et AFA) ne sont pas spécifiquement dirigés contre un antigène de la cavité articulaire. En effet, à ce jour, aucune étude n'a permis d'identifier de la flagrine dans la cavité articulaire. D'autres auto-anticorps dirigés contre des antigènes intra-articulaires ont été étudiés (collagène 2, agrécanes, glycoprotéine gp39). L'intérêt réel de ces auto-anticorps qui sont rarement identifiables par des tests de routine, semble assez limité, en particulier car ils ne sont détectables que chez une minorité de PR. Cette faible prévalence pourrait s'expliquer soit par leur dépôt rapide dans la synoviale sous la forme d'immuns complexes, soit en raison de modifications structurales (post-translationnelles) qui rendent leur détection difficile. Quoiqu'il en soit, cette hypothèse est peut-être une impasse car la polyarthrite rhumatoïde pourrait être dirigée contre des auto-antigènes "extra-articulaires", comme l'a démontré l'étude récente d'un modèle animal de PR (souris KRn) dont l'auto-antigène est une enzyme glycolytique ubiquitaire (7).

CONCLUSION

L'auto-anticorps idéal n'existe pas dans la PR, mais à ce jour, les FR IgM et les AFA sont les seuls auto-anticorps véritablement utiles dans le bilan d'une polyarthrite débutante. Cependant, l'avenir semble s'orienter de deux façons :

- La première voie est la recherche de marqueurs très spécifiques permettant d'identifier le plus précocement possible des sous-groupes de PR définis par des caractéristiques clinico-biologiques ou évolutives particulières. Cette approche s'oppose à celle de la recherche de marqueurs immunologiques généraux de forte prévalence mais peu spécifiques dont l'intérêt est faible dans les formes débutantes.

- L'autre voie est l'étude de scores composites, intégrant les auto-anticorps à forte valeur pronostique afin de définir précocement la sévérité d'une PR. Cette approche devrait permettre de définir très tôt une stratégie thérapeutique adaptée.

Tableau I : Intérêts diagnostique et pronostique des principaux auto-anticorps de la polyarthrite rhumatoïde*

Certains auto-anticorps qui n'ont qu'un intérêt anecdotique ou pathogénique (anti-cytokératine, anti-hsp, anti-FcIII, anti-Golgi, anti-plasminogène, anti Facteur VIII) et les auto-anticorps observés plus spécifiquement dans d'autres affections (anti Ro-La, auto-anticorps spécifique d'organe, anti-cytoplasme des polynucléaires) ne sont pas répertoriés dans ce tableau.

	Prévalence dans la population générale	Valeur diagnostique		Valeur pronostique
		Sensibilité	Spécificité	
FR IgM	5 - 10%	70 - 85%	65 - 85%	oui
FR IgA	5 - 10%	60 - 80%	60 - 80%	oui
APF	3%	40 - 90%	73 - 90%	oui
AKA	1%	36 - 55%	90 - 99%	oui
anti-Sa	0%	43 - 68,5%	78 - 97%	oui (?)
anti-calpastatine	3,5%	7 - 57%	62 - 95%	oui (?)
anti-RA 33	0 - 7%	6 - 40%	30 - 85%	non
anti-68 kDa	0%	64%	99%	?
anti-"FRP"	?	30%	?	?
anti "MTOC"	0,1%	68%	?	?
anti-aldolase A	0%	10%	100%	oui (?)
anti-Ta	0%	30%	?	oui (?)
anti-Hat-1	0%	20%	100%	?
anti-annexines	?	10 - 30%	30 - 50%	oui (?)
anti-collagène II	5 - 15%	20 - 80%	20 - 50%	?

Abréviations : AKA : anti-kératine, APN : facteurs anti-périnucléaires, FR : facteurs rhumatoïdes, FRP : "Follistatine related protein", MTOC : "major microtubule organizing center", Sa, Ta, Hat-1 : initiales des patients, ? : non précisé ou non démontré

Références

- [1] AHO K., PALOSUO T., LUKKA M. et al. Antiflaggrin antibodies in recent-onset arthritis. *Scand J Rheumatol* 1999, 28 : 113-116.
- [2] AHO K., PALOSUO T., KURKI P. Marker antibodies of rheumatoid arthritis : diagnostic and pathogenetic implications. *Semin Arthritis Rheum* 1994, 23 : 379-387.
- [3] BOIRE G., MENARD H.A., GENDRON M., LUSSIER A., MYHAL D. Rheumatoid arthritis: anti-Ro antibodies define a non-HLA DR4 associated clinicoserological cluster. *J Rheumatol* 1993, 20 : 1654-1660.
- [4] BRAUN M.G., CSERNOK E., SCHMITT W.H., GROSS W.L. Incidence, target antigens, and clinical implications of antineutrophil cytoplasmic antibodies in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1996, 23 : 826-830.
- [5] COMBE B., DOUGADOS M., GOUPILLE P. et al. Prognostic factors for radiographic damage in early rheumatoid arthritis (RA) : a multiparameter prospective study. *Arthritis Rheum* 1999, 42 : S346 (Abst 1649).
- [6] CORDONNIER C., MEYER O., PALAZZO E., DE BANDT M., ELIAS A., NICAISE P. et al. Diagnostic value of anti-RA 33 antibody, antikeratin antibody, antiperinuclear factor and antinuclear antibody in early rheumatoid arthritis : comparaison with rheumatoid factor . *Br J Rheumatol* 1996, 35 : 620-624.
- [7] DESPRES N., BOIRE G., LOPEZ LONGO E.J., MENARD H.A. The Sa system : a novel antigen antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994, 21 : 1027-1033.
- [8] MATSUMOTO I., STAUB A., BENOIST C., MATHIS D. Arthritis provoked by linked T and B cell recognition of a glycotic enzyme. *Science* 1999, 286 : 1732-1735.
- [9] MENARD H.A., EL-AMINE M. The calpain-calpastatin system in rheumatoid arthritis. *Immunol Today* 1996, 17 : 545-547.
- [10] SCHELLEKENS GA., DE JONG B.A.W., VAN DER HOOGEN F.H.J., VAN DE PUTTE L.B.A. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998, 101 : 273-281.
- [11] SHMERLING R.H., DELBANCO T.L. How useful is the rheumatoid factor ? An analysis of sensitivity, specificity and predictive value. *Arch Intern Med* 1992, 152 : 2417-2420.
- [12] ZHOU Z., LAPOINTE E., RICHARD C., MENARD H. Autoantibodies to a 53 kDa antigen of endothelial cells are highly specific for rheumatoid arthritis and related to anti-Sa. *Arthritis Rheum* 1999, 42 : S89 (Abst 113).

Les auto-anticorps anti-filagrine

N. FABIEN, J.-C. MONIER, *Centre Hospitalier Lyon-Sud, Unité fonctionnelle "Auto-immunité", laboratoire d'Immunologie, 69495 Pierre-Bénite Cedex*

Les auto-anticorps anti-filagrine découverts en 1979 par Young et coll. ont été nommés initialement auto-anticorps "antikératine" puis anti-stratum corneum avant que la filagrine épidermique humaine ne soit identifiée comme le principal antigène reconnu [59, 62]. Ces auto-anticorps ainsi que des auto-anticorps apparentés, les anti-périnucléaires décrits en 1964, ont une grande valeur pour le diagnostic des polyarthrites rhumatoïdes (PR) du fait de l'absence de marqueurs biologiques spécifiques de cette pathologie avant leur découverte. En effet les facteurs rhumatoïdes, anticorps anti-IgG humaines de classe IgM ou IgA qui constituent un des critères du diagnostic des PR ne sont pas spécifiques car retrouvés dans de nombreuses autres pathologies rhumatismales ou non rhumatismales [61]. De même, l'apparition tardive de ces auto-anticorps limite leur intérêt pour le diagnostic des formes débutantes de PR. D'autres auto-anticorps ont été décrits dans cette pathologie comme les auto-anticorps anti-Sa [11], anti-calpastatine [44], anti-RA33 [23] et anti-Ta [10] mais leur valeur diagnostique est limitée par comparaison aux auto-anticorps anti-filagrine, anti-stratum corneum et/ou anti-périnucléaires du fait notamment d'une moins bonne sensibilité.

1/ANTIGÈNE(S) CIBLE(S)

A. LES AUTO-ANTICORPS ANTI-STRATUM CORNEUM ET ANTI-FILAGRINE ET SES PRÉCURSEURS (Tableau I)

En 1979, Young et Coll décrivent des anticorps présents dans le sérum de patients atteints de PR par une technique d'immunofluorescence indirecte sur des coupes d'œsophage de rat [76]. Ces anticorps de classe IgG marquent le stratum corneum des épithéliums kératinisés et les follicules de cheveu humain [26] donnant une image fluorescente évoquant la reconnaissance de molécules de kératine, d'où leur premier nom d'"anti-kératine". En 1983 une expérience de pré-absorption de certains sérums positifs avec des cytokératines humaines purifiées ne modifie pas la réactivité des anticorps avec les cellules du stratum corneum, démontrant ainsi que l'antigène cible n'est pas une cytokératine [51].

Des études immunohistochimiques ont permis par la suite de confirmer et d'affiner la localisation du marquage à des constituants localisés au sein d'épithéliums kératinisés ou semi-kératinisés au niveau de leur couche kératinisée ou stratum corneum. L'antigène cible de ces auto-anticorps anti-stratum corneum a ensuite été identifié comme la filagrine.

Dans les épithéliums squameux, les kératinocytes sont en constant renouvellement de la couche basale germinative aux couches du stratum spinosum et du stratum

granulosum et se différencient en cornéocytes pour former une couche superficielle desquamant à partir de la surface externe de l'épithélium. Au cours de ces étapes de différenciation, les kératinocytes synthétisent des protéines variées telle que la profilagrine, précurseur de la filagrine qui participe à la formation de composants structuraux spécifiques tels que les granules de kératohyaline qui peuvent être différents en fonction de leur localisation anatomique.

En microscopie électronique deux variétés de granules de kératohyaline ont été décrites : les "F" et les "L". Les granules "F" sont volumineux (0.7 à 2.7 µm) et irréguliers, leur constituant majeur est la profilagrine. Les granules "L" de petite taille (0.3 à 0.8 µm) et arrondis contiennent de la lorïcine. Cette dernière protéine, comme la filagrine, est un constituant important de l'enveloppe des cellules cornées du stratum corneum.

La profilagrine dont le gène est situé sur le bras court du chromosome 21 (bande 1q21) est une O-phosphoprotéine riche en histidine, de poids moléculaire de 400kDa chez l'homme, de point isoélectrique neutre (pI=6,9) avec 22 sites de phosphorylation au niveau des sérines [53]. La profilagrine est constituée de 10 à 12 répétitions de molécules de filagrine non citrullinée, et de deux peptides différents de la filagrine aux deux extrémités de la molécule. La structure de base des unités filagrine est représentée par 3 coudes β associés à 4 peptides.

Tableau I / Méthodes de détection et antigènes reconnus par les Ac anti-périnucléaires et anti-filagrine

ANTICORPS	MÉTHODE	RÉSULTATS
Sérum de PR avec Ac anti-périnucléaires	Immunotransfert avec extrait de : Filagrine (Cellules épidermiques humaines)	Bandes de 37 à 40 kDa
Sérum de PR avec Ac anti-filagrine	Immunotransfert avec extrait de : Cellules épiderme humaines ou de Muqueuse buccale humaine	Bandes de 200 à 400 kDa
Ac monoclonaux de souris anti-filagrine	Immunotransfert avec extrait de : Cellules épiderme humaines ou de Muqueuse buccale humaine Filagrine (Cellules épidermiques humaines)	Bandes de 200 à 400 kDa Bandes de 37 à 40 kDa et > 40 kDa
Sérum de PR purifiés par immunoabsorption sur filagrine ou peptides de synthèse citrullinés	IFI sur frottis de cellules de muqueuse buccale Immunotransfert avec extrait de : Cellules épiderme humaines ou de Muqueuse buccale humaine	Marquage des grains de kératohyaline Bandes de 200 à 400 kDa

Cette structure de base est répétée plusieurs fois sous forme de tandem pour donner une unité filagrine. Les unités filagrine, non identiques entre elles, sont unies par des peptides hydrophobes. Enfin, la molécule de filagrine est composée de 4 unités filagrine chez l'homme (Figure 1) [37, 52].

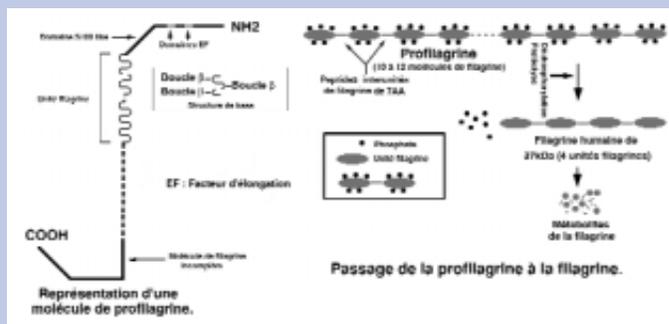


Figure 1 / Profilagrine et filagrine

Parallèlement à la différenciation des kératinocytes de la couche granuleuse à la couche cornée, la profilagrine est progressivement déphosphorylée par des phosphatases calcium dépendantes et partiellement protéolysée en molécules de filagrine de points isoélectriques variés, basiques à neutres/acides qui seront localisées dans les cellules du stratum corneum, alors que la profilagrine et les premiers produits de transformation en filagrine sont accumulés dans les granules de kératohyaline situés dans les cellules du stratum granulosum [38, 52]. La filagrine est donc une molécule de différenciation tardive dont l'expression est corrélée au degré de différenciation de l'épiderme [22, 43, 67] (Figure 2).

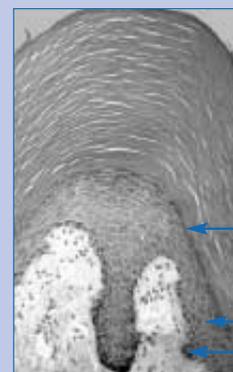


Figure 2 / Structure et constituants de l'épiderme

- ← Stratum corneum
Filagrine et précurseurs citrullinés
- ← Stratum granulosum
Grain de kératohyaline :
profilagrine et précurseurs citrullinés
- ← Stratum spinosum
- ← Couche basale

Les formes basiques (pI entre 7,2 et 9,4 chez l'homme) sont cationiques, riches en acides aminés polaires — histidine, arginine, sérine, glycine, ornithine — et leur poids moléculaire varie en fonction des espèces et selon les techniques d'extraction [18, 37]. En résumé, chez l'homme les poids moléculaires apparents sont de 400 kDa pour la profilagrine, de 37 à 40 kDa pour la forme basique de la filagrine et de 40 à 400 kDa pour les formes intermédiaires entre la profilagrine et la filagrine. La conversion progressive et variable des résidus arginines basiques (20% en moyenne) en citrullines neutres par une peptidylarginine déiminase (PAD) confère un caractère plus acide à la filagrine. Chez un même individu, la filagrine présente ainsi plusieurs variants isoélectriques (Harding et Scott, 1983) (Figure 3). De plus il existe une grande hétérogénéité (30 à 40%) dans les séquences en amino-acides de la filagrine et d'importantes variations entre les espèces. Ainsi, la

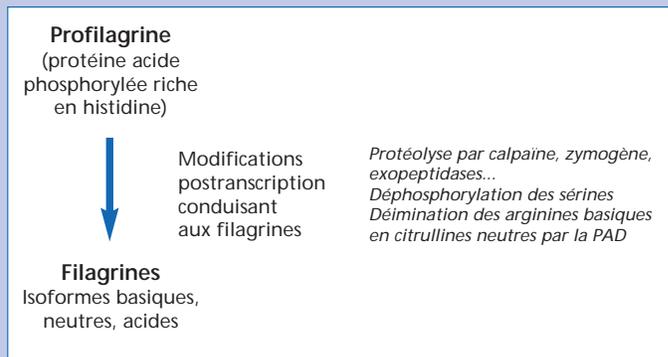


Figure 3 / Étapes de la transformation de la profilagrine en filagrine

filagrine humaine est caractérisée par un pourcentage plus élevé d'acides aminés non polaires que la filagrine des rongeurs et par la présence d'ornithine [37]. Il existe environ 60% de différence entre les filagrines du rat ou de la souris et celles de l'homme. Les homologues sont surtout retrouvés au niveau des extrémités C et N terminales. Cette diversité de poids moléculaires et de pHi dans les isoformes de filagrine est retrouvée par l'observation en électrophorèse bidimensionnelle d'une image en virgule qui caractérise les systèmes d'isoformes de poids moléculaires et pHi variés.

Par immunotransfert utilisant un extrait d'épiderme humain, les anticorps anti-filagrine se fixent au niveau d'une bande diffuse qui s'étend de 37 à 40 kDa. Lorsqu'un extrait d'épithélium de rat remplace l'extrait d'épiderme humain, trois protéines A, B et C sont reconnues par les anticorps anti-stratum corneum avec un pI qui varie de 4,5 à 8,5. Les PM sont de 210 kDa pour A (440kDa dans des conditions non dénaturantes), de 120-90 kDa pour B (232kDa), 130-60 kDa pour C (67-140 kDa). Les épitopes reconnus par les anticorps sont vraisemblablement partagés par les trois protéines [20]. La déglycosylation et la déphosphorylation sont sans effet sur la réactivité des anticorps [16].

D'un point de vue fonctionnel, la filagrine appartient à une famille de protéines qui entraînent l'agrégation des filaments de kératine en macrofibrilles dans les assises cornées profondes du stratum corneum de l'épiderme humain [66]. De plus, la filagrine est intégrée dans les enveloppes des cellules cornées. Enfin, les produits de dégradation de la filagrine jouent un rôle dans le maintien de l'hydratation cutanée par les produits de dégradation ultime de la filagrine [17, 24, 58, 75].

B. LES AUTO-ANTICORPS ANTI-PÉRINUCLÉAIRES ET ANICORPS ANTI-FILAGRINE (Figure 4) (Tableau I)

En 1964, des anticorps particuliers sont découverts par Nienhuis et Mandena dans le sérum de patients atteints de PR par une technique d'immunofluorescence indirecte sur des cellules de la muqueuse buccale humaine. La fluorescence se situe au niveau de granules cytoplas-

miques en périphérie du noyau de ces cellules épithéliales, d'où le nom d'anticorps anti-périnucléaires [46]. Les granules cytoplasmiques seront plus tard identifiés comme des granules de kératohyaline.

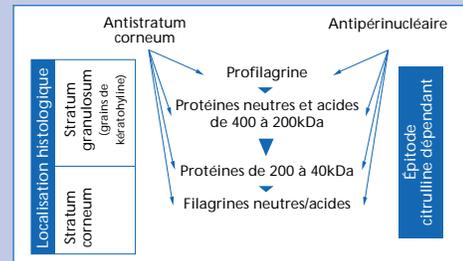


Figure 4 / Localisation histologique et poids moléculaires apparents des auto-antigènes reconnus par les Ac anti-périnucléaires, anti-stratum corneum et par les Ac anti-filagrine

Plusieurs arguments sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle les anticorps anti-périnucléaires (ou au moins la majorité d'entre eux) et les anticorps anti-filagrine sont dirigés contre des épitopes communs à la filagrine et à des protéines apparentées de l'épiderme humain ou de l'épithélium d'œsophage de rat [59, 62].

Ainsi, l'antigène cible des anticorps anti-périnucléaires et la profilagrine sont co-localisés dans les mêmes inclusions périnucléaires et dans les granules de kératohyaline des cellules épidermiques [59].

Les sérums avec anticorps anti-périnucléaires positifs reconnaissent par immunotransfert la filagrine de 37 à 40 kDa de manière identique aux anticorps anti-filagrine. Les anticorps anti-filagrine réagissent sur immunotransfert utilisant un extrait de cellules épithéliales de la muqueuse buccale humaine, avec les antigènes de 200 à 400 kDa qui correspondraient à la profilagrine en voie de transformation [59]. Des anticorps anti-filagrine isolés par immunoadsorption se fixent sur les grains de kératohyaline. Les protéines des cellules épithéliales buccales et épidermiques sont reconnues par différents anticorps monoclonaux (AcM) anti-filagrine : AKH1, AHF1, AHF2 et AHF7, qui se localisent également sur une bande protéique diffuse de 200 à 400 kDa [63]. Enfin les titres des anticorps anti-périnucléaires et ceux des anticorps anti-filagrine des sérums de PR sont le plus souvent corrélés.

Au vu de ces différentes données, les anticorps anti-périnucléaires et les anticorps anti-filagrine peuvent être considérés comme des auto-anticorps reconnaissant la filagrine épidermique humaine et des protéines qui proviennent de la transformation de la profilagrine en filagrine, notamment au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse buccale. Cette donnée n'exclut pas la reconnaissance par les anticorps anti-périnucléaires en plus de cibles antigéniques différentes de réactivité croisée ou non.

C. ÉPITOPES RECONNUS PAR LES ANTICORPS ANTI-FILAGRINE (Tableau I)

Les épitopes reconnus par les anticorps anti-filagrine sont générés lors de l'étape de déimination par la PAD donnant naissance aux résidus "citrulline" qui remplacent les résidus "arginine". Cette hypothèse a été confirmée par le fait que les anticorps anti-filagrine ne reconnaissent pas la filagrine recombinante non "citrullinée" si la molécule n'a pas subi l'action de la PAD. De plus, aucune réactivité n'a été détectée avec des peptides où la citrulline était omise, ou substituée par alanine, acide glutamique, glutamine ou ornithine, produit d'hydrolyse de la citrulline. La spécificité pour des épitopes dépendants non seulement de la citrulline, mais également d'autres AA de la filagrine, a été démontrée par la non-reconnaissance par les anticorps anti-filagrine d'une protéine différente de la filagrine, telle que l'albumine bovine sérique, ayant subi l'action de la PAD. Cette spécificité mérite d'être confirmée par utilisation de protéines sans rapport avec la filagrine

NOM DU PEPTIDE	SÉQUENCE	CORRESPONDANCE /RÉGION DE FILAGRINE ARGININE SUBSTITUÉE	ÆCit
cfc1	SHQESTXGRSRGRSGRSGS	306-324 Arg312	ÆCit
cfc 2	SHQESTRGXSRGRSGRSGS	306-324 Arg314	ÆCit
cfc 3	SHQESTRGRSXGRSGRSGS	306-324 Arg316	ÆCit
cfc 4	SHQESTRGRSRGXGRSGS	306-324 Arg318	ÆCit
cfc 5	SHQESTRGRSRGRSGXSGS	306-324 Arg321	ÆCit
cfc 6	SHQESTXGXRGRSGRSGS	306-324 Arg312+314	ÆCit
cfc 7	SHQESTXGRSXGRSGRSGS	306-324 Arg312 +316	ÆCit
cfc 8	SHQESTXGRSRGXGRSGS	306-324 Arg312 +318	ÆCit
cfc 9	SHQESTXGRSRGRSGXSGS	306-324 Arg312 +3121	ÆCit
cfc 1-319	SGQESTXGRSRGRS	306-319Arg312	ÆCit
cfc 1-318	SHQESTXGRSRGR	306-318Arg312	ÆCit
cfc 1-317	SHQESTXGRSRG	306-317Arg312	ÆCit
cfc 1-316	SHQESTXGRSR	306-316Arg312	ÆCit
cfc 1-315	SHQESTXGRS	306-315Arg312	ÆCit
cfc 1-314	SHQESTXGR	306-314Arg312	ÆCit

5a : résidus arginines substitués en citrulline (X= citrulline) [55]

Figure 5 : Séquences peptidiques de filagrine reconnues par les anticorps anti-filagrine [19, 55]

PEPTIDE	SÉQUENCE
E12D/E12Dcit	ESSRDGSR/citHPRSHD
E12H/E12Hcit	EQSADSSR/CitHSGSGH

5b : (Cit= citrulline) [19]

autres que l'albumine bovine. Les résidus citrullines sont donc importants dans la constitution des épitopes reconnus par les Ac anti-filagrine mais seulement dans le contexte particulier des amino-acides spécifiques de la filagrine (Figure 5a). Les IgG de sérums de PR purifiés sur des peptides apparentés à la filagrine contenant de la citrulline sont positifs en tests d'immunofluorescence pour les grains de kératohyaline et par immunotransfert avec la filagrine extraite d'épiderme humain. Cette réactivité démontre que les anticorps anti-périnucléaires, les anticorps anti-filagrine et les anticorps anti-épitopes

citrullinés sont des anticorps dirigés au moins contre des épitopes communs [17, 55]. Deux peptides citrullinés particuliers inhibent la réactivité des anticorps anti-filagrine. La proportion élevée de sérums réactifs suggère que ces deux peptides portent les épitopes majeurs reconnus par les anticorps anti-filagrine (Figure 5b) [12, 19].

L'auto-antigène primaire responsable de la rupture de tolérance donc de l'autoimmunisation n'a pas encore été identifié. Il est vraisemblable qu'il est présent dans le tissu synovial et qu'il présente une réactivité croisée avec les épitopes citrullinés de la filagrine. En effet les auto-antigènes à l'origine de l'immunisation ne sont pas la filagrine ou des molécules apparentées car ces protéines ne sont pas exprimées dans les tissus articulaires. Or le fait que des Ac anti-filagrine sont produits in vitro par des plasmocytes provenant du pannus rhumatoïde a cependant été démontré et les IgG anti-filagrine sont beaucoup plus élevés dans le liquide synovial que dans le sérum [32].

2/ TECHNIQUES DE DÉTECTION

Les techniques d'immunofluorescence indirecte servent à détecter les auto-anticorps anti-périnucléaires et les auto-anticorps anti-stratum corneum. Les techniques immunoenzymatiques de type ELISA mettent en évidence les auto-anticorps anti-filagrine.

A. IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI)

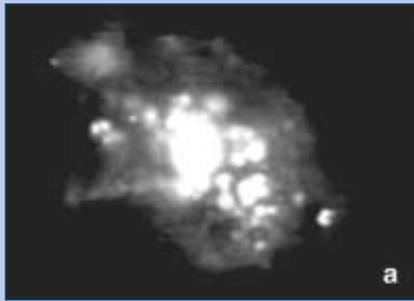
Les auto-anticorps anti-périnucléaires

Les auto-anticorps anti-périnucléaires sont détectés sur des frottis de cellules de la muqueuse buccale humaine prélevées par grattage au niveau de la joue à une dilution de dépistage du sérum du 1/5, 1/10 ou 1/100 selon les auteurs. Le conjugué de révélation est anti-chaîne γ . La dilution est considérée comme positive si au moins 10% d'environ 300 cellules analysées présentent des granules fluorescents [4, 5] (Figure 6a).

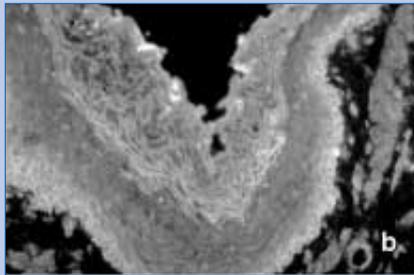
Les auto-anticorps anti-stratum corneum

L'homologie entre la filagrine de rat, de souris, de lapin ou de singe avec la filagrine humaine permet de faire appel en théorie à différentes espèces comme substrat de recherche en IFI. En fait, l'œsophage de rat représente le substrat le plus utilisé [57, 58]. Les anticorps anti-filagrine sont recherchés dans le sérum mais peuvent être également mis en évidence dans le liquide synovial [32]. En pratique les auto-anticorps anti-stratum corneum sont détectés sur des coupes d'épithélium d'œsophage de rat prélevées au niveau du tiers moyen de l'œsophage à une dilution de dépistage du sérum du 1/5 ou 1/10. Un titrage semi-quantitatif par dilution est parfois réalisé. Le conjugué de révélation est de phénotype anti-IgG, car seuls les anticorps de classe IgG sont spécifiques de la PR avec en majorité des IgG1 (87%) et plus faiblement des IgG4 (35%) [69]. Cette technique est la seule codifiée à la nomenclature pour la recherche des ces auto-anticorps, assimilée aux anticorps anti-kératine (code 1464 B40).

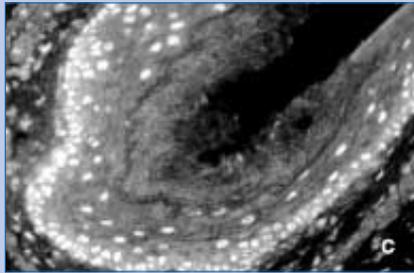
Figures 6 / Détection par Immunofluorescence indirecte des anticorps anti-périnucléaires et des anticorps anti-stratum corneum



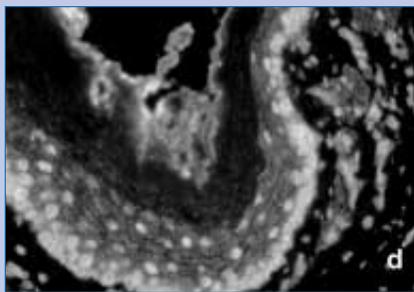
a : Aspect d'un sérum positif en anticorps anti-périnucléaires sur frottis de cellules de la muqueuse buccale humaine



b : Aspect d'un sérum positif en anticorps anti-stratum corneum sur coupes au cryostat d'œsophage de rat : la réactivité des auto-anticorps est caractérisée par un marquage lamellaire du stratum corneum



c : Aspect d'un sérum douteux en anticorps anti-stratum corneum sur coupes au cryostat d'œsophage de rat : une faible fluorescence est observée au niveau du stratum corneum



d : Aspect d'un sérum négatif en anticorps anti-stratum corneum sur coupes au cryostat d'œsophage de rat : absence de réactivité sur le stratum corneum

Le marquage typique, seul spécifique des anticorps anti-filagrine, est une image lamellaire ou feuilletée, linéaire et restreinte au stratum corneum [68] (Figures 6b et c).

L'inconvénient de cette technique d'IFI est dû à la présence d'autres auto-anticorps, comme les auto-anticorps anti-cytokératines épidermiques humaines, qui marquent parfois les couches suprabasales incluant le stratum spinosum et les couches supérieures des kératinocytes situés dans les stratum granulosum et corneum gênant ainsi la lecture de la réactivité des auto-anticorps anti-stratum corneum (Figure 6c).

B. IMMUNOTRANSFERT

Cette méthode permet de confirmer la spécificité anti-filagrine des auto-anticorps anti-stratum corneum ou anti-périnucléaire détectés en IFI. Les auto-anticorps détectés sont dirigés contre des épitopes séquentiels alors que la technique d'IFI permet en plus de révéler des anticorps dirigés contre les épitopes conformationnels. La filagrine est extraite surtout à partir d'épiderme humain ou parfois d'œsophage de rat, puis différentes techniques de purification peuvent être utilisées.

Obtention de la filagrine "enrichie ou purifiée"

L'épiderme humain est séparé du derme par un traitement par la chaleur. La phase d'extraction utilise du Nonidet P40 pour obtenir les isoformes neutres ou acides de la filagrine [59, 62, 65, 70]. Certaines études utilisent de l'urée à la place du Nonidet P40, mais les résultats sont parfois difficiles à interpréter notamment en fonction du tissu utilisé pour obtenir l'antigène : épithélium buccal, épiderme humain ou œsophage de rat [43, 65].

Les différentes étapes de purification décrites sont les suivantes : un enrichissement par l'éthanol absolu [70] et/ou une purification plus complète utilisant une technique de chromatographie sur colonne échangeuse d'ions [43, 65] et/ou une purification par immunocapture sur colonne couplée à des auto-anticorps antifilagrine [43, 62, 59].

Immunotransfert

La préparation de filagrine est soumise à une électrophorèse en gel de polyacrylamide à 15% en présence de 0,1% de SDS ; les protéines ainsi séparées sont transférées sur membrane de nitrocellulose. Après saturation de la nitrocellulose par du lait délipidé, des bandelettes découpées dans la nitrocellulose sont incubées en présence des sérums à la dilution de 1/100. Après lavage, les bandelettes sont placées au contact d'un conjugué anti-IgG humaines couplé à la peroxydase dilué au 1/200. Enfin, les complexes antigènes-anticorps sont révélés par incubation avec les substrats de la peroxydase (peroxyde d'hydrogène et alpha-chloronaphtol).

Les anticorps anti-filagrine réagissent avec les variants acide/neutre de la filagrine de 37 à 40 kDa [65] (Figure 7) et parfois avec les intermédiaires de 40 à 400 kDa (formes de transition de la profilagrine à la filagrine). Les anticorps anti-filagrine ne réagissent ni avec les formes basiques, ni avec les formes les plus acides de la filagrine.

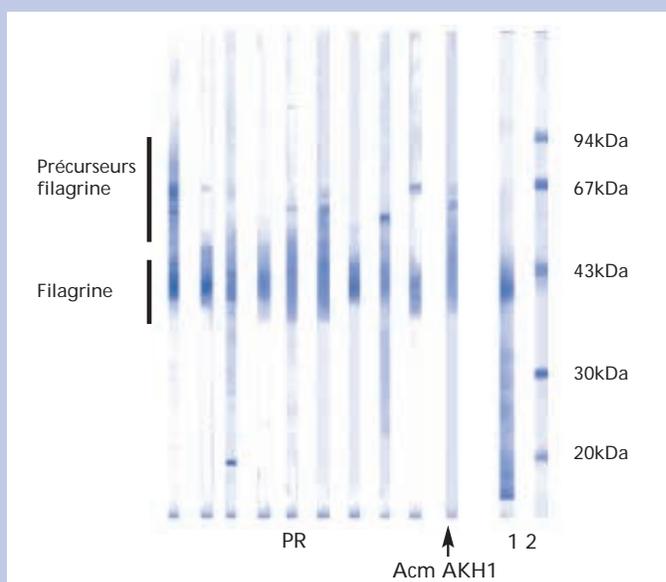


Figure 7 / Détection des auto-anticorps anti-filaggrine grâce à la technique d'immunotransfert utilisant de la filaggrine extraite d'épiderme humain

Puits 1 : contrôle positif, Puits 2 : standard de poids moléculaire, Acm "AKH1" : Ac monoclonal anti-filaggrine, NCS : contrôle négatif, 9 : sérums de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde ; antigènes reconnus au niveau d'une zone diffuse de poids moléculaire apparent de 37 à 40 kDa. Les bandes étroites situées dans les zones autour de 67kDa correspondent à des kératines comme le montrent les Ac monoclonaux antikératines.

3/ VALEURS DIAGNOSTIQUE ET PRONOSTIQUE

Tableau II / Sensibilité et spécificité des Ac anti-périnucléaires pour la PR

Année	Premier Auteur	AC ANTI-PÉRINUCLÉAIRES				
		PR (N*)	Contrôles		Sensibilité	Spécificité
			Sains (N*)	Autres (N*)		
1964	Nienhuis [46]	156	431	85	36,5	99
1981	Johnson [28]	102	60	57	81	89,7
1982	Miossec [45]	96	220		63	84,1
1985	Kataaha [30]	72	93	40	73,6	97
1986	Jouquan [29]	54			66,7	
1987	Wesrgeest [72]	132	50		52,3	98
1988	Janssens [27]	127		262	86,6	95,8
1990	Boerbooms [8]	132			52,3	
1990	Youinou [74]	100	108	398	76	93,9
		1495	1462	630	68,8	91,4
1991	Hoet [25]	63	51	176	81	80,7
1993	Aho [1]	30			26,7	
1993	von Essen [13]	92	34	216	47,8	92
1993	Meyer [41]	94	30	181	51,1	95,2
1994	Berthelot [3]	80:IgG		72	80	93,1
		80:IgA		72	38,8	86,1
1995	Sarau [54]	39		91	56	75
1996	Cordonnier [9]	49		20	28,6	95
1997	Kurki [34]	133			40,6	
1997	Meyer [42]	86			46	74
1998	Berthelot [6]	429		171	66	87
1998	Schellekens ⁵ [55]	134		154	74	82,5
1999	Vincent [71]	279		213	S1 : 67, S2 : 29	S1 : 93, S2 : 99

*Autres : pathologies rhumatismales non PR ou pathologies non rhumatismales
N* : Nombre de patients inclus dans l'étude
S1 : faible seuil de positivité, S2 : seuil de positivité élevé*

C. TECHNIQUE IMMUNOENZYMATIQUE

L'association des deux techniques IFI et Immunotransfert permet d'atteindre une meilleure sensibilité de détection qui reste néanmoins encore trop faible au vu de l'importance diagnostique de ces auto-anticorps. Pour améliorer cette sensibilité une technique immunoenzymatique de type ELISA a été mise au point en utilisant différentes sources antigéniques.

Filaggrine purifiée

Les principales techniques utilisées pour obtenir de la filaggrine purifiée ont été signalées ci-dessus avec l'immunotransfert. Une technique récemment décrite utilise trois étapes de purification de la filaggrine extraite par chromatographie (une étape en chromatographie liquide par gel filtration sur colonne et deux étapes en chromatographie liquide en phase inversée) [49].

Peptides synthétiques citrullinés correspondant aux séquences des filagrines humaines

Un test ELISA à partir de peptides synthétiques citrullinés apparentés à la filaggrine, notamment dans la région C-terminale où se trouve un plus grand nombre de résidus arginine avant transformation en citrulline, a permis de montrer la possibilité de détecter les anticorps anti-filaggrine. Une sensibilité élevée de 76% est obtenue avec cette technique ; cependant pour atteindre cette sensibilité, 10 peptides différents doivent être utilisés simultanément comme antigène. Le profil de réactivité avec ces différents peptides varie d'un sujet à l'autre [55]. Avec l'ELISA les sérums sont dilués au 1/100 ou 1/200.

Les anticorps anti-périnucléaires, anti-stratum corneum et anti-filagrine sont actuellement les meilleurs marqueurs biologiques des polyarthrites rhumatoïdes en association avec les facteurs rhumatoïdes.

En pratique courante les anticorps anti-stratum corneum sont recherchés préférentiellement aux anticorps anti-périnucléaires, pour lesquels la technique de détection reste difficile, même si une bonne reproductibilité des résultats a été obtenue dans une étude entre plusieurs laboratoires [14].

Les études portant sur la spécificité et la sensibilité de ces anticorps sont souvent discordantes. Cela est sans doute en rapport avec la dilution, la classe d'Ig et en plus pour l'IFI, les critères morphologiques choisis.

A. SPÉCIFICITÉ DES ANTICORPS ANTI-PÉRINUCLÉAIRES, ANTICORPS ANTI-STRATUM CORNEUM ET ANTICORPS ANTI-FILAGRINE POUR LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

Anticorps anti-périnucléaires

La spécificité des anticorps anti-périnucléaires pour les PR est élevée, atteignant de 74 à 99% selon les études (Tableau II). Cette spécificité pour la PR a été évaluée par rapport à des patients atteints d'autres pathologies (rhumatismales ou non rhumatismales) et par rapport à des sujets sains où ils sont retrouvés dans 11% et 4,6% des cas respectivement.

Anticorps anti-stratum corneum et anticorps anti-filagrine

La spécificité des anticorps anti-stratum corneum et des anticorps anti-filagrine pour les PR est de 72 à 100% est de 93,4 à 98,6% respectivement (Tableau III). L'intérêt de ces anticorps, outre leur spécificité, est leur présence dans 1/3 des PR qui sont FR négatifs [2, 9].

Les anticorps anti-stratum corneum sont également détectés dans 27% des arthrites chroniques juvéniles et plus particulièrement dans 42% des arthrites chroniques juvéniles à début polyarticulaire sans FR [15]. Ils sont mis en évidence chez 3,3% des patients atteints d'autres pathologies rhumatismales ou non rhumatismales et chez 1,6% des sujets sains possédant des anticorps anti-stratum corneum. Les pathologies positives les plus fréquentes en dehors des PR correspondent à des syndromes de Goujerot-Sjögren primitifs (10 à 20%), à des Lupus Erythémateux Disséminés (3,5% à 15%), à des sclérodermies systémiques (4,9%), à des spondylarthrites ankylosantes (1,4%) et à des rhumatismes psoriasiques (1,6%).

La présence de ces anticorps avec le syndrome de Goujerot-Sjögren s'explique par l'association fréquente PR/Syndrome de Sjögren.

La spécificité des anticorps anti-filagrine a été le plus souvent étudiée par rapport à des patients atteints d'autres pathologies rhumatismales ou non rhumatismales.

Aucune corrélation n'a été établie entre la présence d'anticorps anti-stratum corneum ou d'anticorps anti-filagrine et l'âge, le sexe, la durée de la maladie ou les allèles HLA DR1 ou 4 [73].

La valeur diagnostique dépend des titres en anticorps. Un titre élevé en anticorps de classe IgG serait pathogno-

mique de la PR. Les anticorps de type IgM n'ont pas de valeur diagnostique. Quelques résultats discordants ont été publiés concernant cette spécificité élevée pour les PR. Une analyse portant sur 670 sérums a montré que le choix d'une dilution initiale du sérum trop faible donnait une positivité dans 88,8% des cas de patients atteints d'autres pathologies que la PR [70]. Le choix d'une valeur seuil appropriée revêt donc toute son importance pour que la spécificité vis-à-vis des PR reste élevée.

B. SENSIBILITÉ DES ANTICORPS ANTI-PÉRINUCLÉAIRES, ANTI-STRATUM CORNEUM ET ANTI-FILAGRINE

En résumé, les anticorps anti-périnucléaires, anti-stratum corneum et anti-filagrine sont retrouvés dans 59,7%, 45% et 52% respectivement des sérums provenant de patients atteints de PR. Les trois types d'anticorps pouvant parfois reconnaître des cibles antigéniques différentes, la recherche associée de deux de ces marqueurs permet d'augmenter cette sensibilité [71]. Les résultats de chaque étude montrent en réalité que la sensibilité pour les PR varie de 10 à 80% en fonction des techniques utilisées et en fonction de la répartition géographique des populations étudiées (Tableaux II, III).

Immunofluorescence indirecte

Les variations observées, outre les différentes répartitions géographiques, sont dues au choix d'une dilution initiale de sérum comme seuil de positivité trop faible et/ou à une interprétation erronée du marquage fluorescent. Pour les anticorps anti-périnucléaires cette variation est aussi due à la difficulté d'obtention d'un substrat homogène d'un donneur à l'autre.

Une dilution initiale de 1/10 pour la détection des anticorps anti-stratum corneum permettrait de maintenir une spécificité élevée pour les PR. Seul le marquage typiquement lamellaire restreint au stratum corneum doit être pris en compte car il est le seul spécifique des PR. [68, 71]. Selon les pays la sensibilité varie, de 6% en Afrique, 16% en Grèce et 45% dans la plupart des autres pays (Tableau III).

Immunotransfert

La sensibilité de cette technique qui permet la détection des anticorps anti-filagrine varie également selon les études de 12% [65] à 67% [70]. Cette variation peut être due à des préparations différentes de filagrine à partir d'épiderme humain ou de rat. Elle peut être due également à la dilution initiale choisie. Vincent et coll. rapportent des taux variant de 37 à 57% selon le seuil de positivité utilisé [71].

La présence des anticorps anti-filagrine sur immunotransfert utilisant de la filagrine épidermique humaine est caractérisée par la reconnaissance de protéines de 37 à 40kDa avec une intensité variable. La réactivité peut également s'observer avec certaines protéines de plus haut poids moléculaire correspondant probablement aux formes de transition de la profilagrine à la filagrine [65]. L'immunotransfert utilisant des protéines purifiées à partir d'œsophage de rat assurerait une sensibilité de 81,8% (72/88 patients PR+) versus 5% des contrôles.

Tableau III / Sensibilité et spécificité des Ac anti-stratum corneum et Ac anti-filagrine pour la PR

Année	Premier Auteur et coll.	AC ANTI-STRATUM CORNEUM ET AC-ANTI-FILAGRINE				
		PR (N*)	Contrôles		Sensibilité	Spécificité
			Sains (N*)	Autres (N*)		
1979	Young [76]	129	105	52	58,1	99,4
1981	Johnson [28]	102	60	57	51	97,4
1981	Scott [56]	99	50	16	36,4	87,9
1982	Miossec [45]	96	62	158	39,6	97,7
1983	Mallya [39]	98			69	
1983	Quismorio [51]	80	47	84	57,5	92,4
1984	Ordeig [47]	131	100	335	54	97,7
1985	Hajroussou [21]	204		100	59	94
1985	Kataaha [30]	72	93	40	54,2	100
1985	Youinou [73]	421	247	404	37,1	96,3
1986	Jouquan [29]	54			33,3	
1986	Le Goff [36]	114			24,6	
1986	Meyer [40]	122	130	75	55	96,2
1986	Serre [60]	107		150	46,7	99
1987	Kirstein [31]	68	80	61	54,4	98,6
1989	Kirstein [32]	20		54	80	100
1989	Vincent [68]	178		350	43,3	99,1
1992	Kurki [33]	54		100	20,4	99
1992	Paimela [48]	71	38	20	38	96,6
1993	Aho [1]	30			26,7	
1993	von Essen [13]	92	34	216	31,5	96,8
1993	Meyer [41]	94	130	181	59,6	97,2
1995	Boki' [7]	122			16	
1995	Sarau [54]	39		93	10	96
1995	Zhou [77]	107	60	120	23	99
1996	Cordonnier [9]	49		20	36,7	100
1997	Kurki [34]	133			19,5	
1997	Meyer [42]	86			60	72
1998	Palosuo [49]	55 E : 55			E : 47 I : 51	
1998	Schellekens [55]	E : 134		354	76	96,3
1998	Slack [68]	40 B : 49	25		32,5 16,7	92
1998	Vincent [70]	190 B : 190		480 B : 480	44 66,8	99 95,4
1999	Vincent [71]	279 B : 279		213	S1 : 52, S2 : 40 S1 : 57, S2 : 37	S1 : 97, S2 : 99,5 S1 : 93, S2 : 98,6
1999	AHO [2]	E : 91		169	49	96,4

N* : Nombre de patients inclus dans l'étude ; Autres : pathologies rhumatismales non PR ou pathologies non rhumatismales.
S1 : faible seuil de positivité ; S2 : seuil de positivité élevé. Les études ont été réalisées par IFI sauf pour : E = ELISA, B = Immunotransfert

Cependant seule la reconnaissance des trois protéines est spécifique de la PR ; en effet 61% des contrôles pourraient reconnaître une des trois protéines (en majorité A et B). Certains anticorps anti-filagrine mis en évidence par IFI sur stratum corneum ne donnent aucune réactivité en immunotransfert - ceci a surtout été démontré pour les anticorps présents dans les PR précoces. Inversement certains anticorps anti-filagrine positifs en immunotransfert sont négatifs en IFI, démontrant la diversité des épitopes et sans doute des antigènes reconnus et l'intérêt de réaliser les deux techniques de détection simultanément [71].

Techniques immunoenzymatiques de type ELISA

La sensibilité de ces tests est de 47% à 49% en utilisant de la filagrine purifiée par HPLC [2, 49] et peut atteindre 76% avec les peptides apparentés à la filagrine citrullinée [55].

L'inconvénient de la filagrine d'extraction est représenté par la détection de faux-positifs dus à la présence de contaminants tels que des kératines dans la préparation.

C. VALEUR PRONOSTIQUE

Les anticorps anti-stratum corneum sont parfois présents au cours des 6 premiers mois d'évolution des PR. Ils sont retrouvés dans 23,5% à 35% des cas entre 6 et 12 mois d'évolution et dans 11% supplémentaires dans la deuxième année d'évolution soit 46% au total [36, 41, 54].

Cordonnier et coll. [9] ont réalisé une étude dans laquelle cinq auto-anticorps différents (les facteurs rhumatoïdes, les anticorps anti-stratum corneum, anti-périnucléaires, anti-RA33 et anti-nucléaires) ont été recherchés chez 69 patients avec un diagnostic de "pré-PR". Après 1 an de suivi, le diagnostic de PR a été confirmé chez 49 patients, le diagnostic de polyarthrites non classées chez 15 patients et le diagnostic d'autres maladies rhumatismales chez 5 malades. Au sein de la population avec une PR précoce vraie (n=49), la sensibilité des marqueurs a été la suivante : 40,8% pour les FR, 36,7% pour les anticorps anti-stratum corneum, 28,6% pour les anticorps anti-périnucléaires, 28,6% pour les Anti-RA33. Une autre étude sur 46 pré-PR a montré 45% de positivité pour les anticorps anti-filagrine [2]. Ces résultats soulignent l'intérêt des anticorps anti-filagrine ou anti-stratum corneum dans le diagnostic précoce des PR [2, 9, 33]. Intérêt d'autant plus important que 45 à 52% des pré-PR positives en anticorps anti-filagrine ou anti-stratum corneum sont séronégatives en facteurs rhumatoïdes [2,9]. Cet intérêt prédictif de la présence des anticorps anti-stratum corneum a été contesté par une seule étude portant sur 70 patients FR positifs considérés

en "pré-PR" montrant que 8,6% de ces patients présentaient des anticorps anti-stratum corneum sans développer ultérieurement de PR [1].

La diminution du titre en anticorps anti-stratum corneum pourrait être le reflet d'une réponse positive au traitement [34, 48] mais cette hypothèse concernant l'effet des traitements sur la présence ou l'évolution du taux d'anticorps anti-stratum corneum n'a pas été étayée par d'autres études. Après deux ans de suivi, les anticorps anti-stratum corneum peuvent rester positifs, tandis que les FR se négativent chez 58% des PR séropositives en FR qui sont traitées précocement [9]. La valeur prédictive positive de ces anticorps pour la PR est meilleure que celle des FR et des allèles HLA DR4 [35].

Selon certains auteurs les anticorps anti-stratum corneum seraient associés aux formes les plus actives ou les plus sévères des PR. En effet leur présence a été corrélée à certains paramètres de sévérité (force de prise, raideur matinale des articulations, index fonctionnel, érosions articulaires, déformations des mains, présence de nodules sous-cutanés) et aux paramètres de l'inflammation (VS, CRP, haptoglobine) [48]. Ces données sur la corrélation avec la sévérité de la maladie n'ont pas été confirmées par l'étude de Kurki et coll. [34].

Il n'existe pas de corrélation entre la présence des anticorps anti-stratum corneum et des anticorps anti-nucléaires, anti-muscles lisses, anti-thyroïdiens, anti-cellules gastriques, anti-mitochondries, anti-réticuline, et anti-vimentine.

CONCLUSION

La valeur diagnostique des anticorps anti-stratum corneum, des anticorps anti-filagrine et des anticorps anti-périnucléaires pour les PR est actuellement bien démontrée par la plupart des études, incitant à prescrire ces analyses devant toute suspicion de PR. En raison de la difficulté d'interprétation des anticorps anti-périnucléaires, la recherche des anticorps anti-stratum corneum et/ou des anticorps anti-filagrine semble mieux convenir en pratique courante.

Différentes données concernant les auto-anticorps et leur antigène cible méritent cependant d'être approfondies :

- 1) l'amélioration de la sensibilité et de la faisabilité des techniques de détection des auto-anticorps ;
- 2) l'intérêt pronostic de la fluctuation du titre en auto-anticorps en fonction des traitements et/ou en fonction de l'évolution de la maladie ;
- 3) l'identification de l'antigène cible primaire responsable de la rupture de tolérance.

Bibliographie

- [1] Aho K., von Essen R., Kurki P., Palosuo T., Heliövaara M. Antikeratin antibody and antiperinuclear factor as markers for subclinical rheumatoid disease process. *J Rheumatol.*, 1993, 20 : 1278-1281.
- [2] Aho K., Palosuo T., Lukka M., Kurki P., Isomaki H., Kautiainen H., von Essen R. Antifilaggrin antibodies in recent-onset arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1999, 28 : 113-116.
- [3] Berthelot J.M., Bendaoud B., Maugars Y., Audrain M., Prost A., Youinou P. Antiperinuclear factor of the IgA isotype in active rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheum*, 1994, 12 : 615-619.
- [4] Berthelot J.M., Maugars Y., Prost A., Youinou P. Polyarthrite rhumatoïde et filaggrine Revue générale. *Expansion scientifique française*, 1995.
- [5] Berthelot J.M., Maugars Y., Castagné A., Audrain M., Prost A. Antiperinuclear factors are present in polyarthritides before ACR criteria for rheumatoid arthritis are fulfilled. *Ann Rheum Dis*, 1997, 56 : 123-125.
- [6] Berthelot J.M., Garnier P., Glémarec J., Flipo R.M. Valeur des anticorps anti-périnucléaire au 1:100 pour le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum, Ed Fr*, 1998, 65 : 9-15.
- [7] Boki K.A., Kurki P., Holthofer H., Tzioufas A.G., Drosos A.A., Moutsopoulos H.M. Prevalence of antikeratin antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis. A clinical, serologic, and immunogenetic study. *J Rheumatol*, 1995, 22 : 2046-2048.
- [8] Boerbooms A.M.T., Westgeest A.A.A., Reekers P., van de Putte L.B.A. Immunogenetic heterogeneity of seronegative rheumatoid arthritis and the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis*, 1990, 43 : 15-17.
- [9] Cordonnier C., Meyer O., Palazzo E., De Bandt M., Elias A., Nicaise P. Diagnostic value of anti-RA33 antibody, antikeratin antibody, antiperinuclear factor and antinuclear antibody in early rheumatoid arthritis: comparaison with rheumatoid factor. *Br J Rheum*, 1996, 35 : 620-624.
- [10] Després N., Menard H.A., Boire G. Characterization of two new antigen-antibody systems (Sa/Ta) in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1990, 33 : S 96
- [11] Després N., Boire G., Lopez Longo F.J., Menard H.A. The Sa system: a novel antigen antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 1994, 21 : 1027-1033.
- [12] Durieux J.J., Vincent C., Sebbag M., Girbal-Neuhausser E., Serre G. Identification de deux épitopes majeurs reconnus par les auto-anticorps anti-filaggrine, spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum Ed Fr*, 1997, 64 : 686.
- [13] Essen R., Kurki P., Isomaki H., Okubo S., Kautiainen H., Aho K. Prospect for an additional laboratory criterion for rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1993, 22 : 267-272.
- [14] Feltkamp T.E.W., Berthelot J.M., Boerbooms A.M.T., H.G.M. Geertzen, Hoet R., De Keyser F., Van Venrooij W.J., Verbruggen G., Veys E.M., Youinou P. Interlaboratory variability of the antiperinuclear factor (APF) test for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 1993, 11 : 57-59.
- [15] Gabay C., Prieur A.M., Meyer O. Occurrence of antiperinuclear, antikeratin, and anti-RA 33 antibodies in juvenile chronic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1993, 52 : 785-789.
- [16] Girbal E., Sebbag M., Gomès-Daudrix V., Simon M., Vincent C., Serre G. Characterization of the rat oesophagus epithelium antigens defined by the so-called "antikeratin antibodies", specific for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1993, 52 : 749-757.
- [17] Girbal-Neuhausser E., Durieux J.J., Sailler L., Salama G., Masson-Bessières C., Simon M. et al. Les épitopes reconnus par les auto-anticorps anti-filaggrine, spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde, sont générés par des modifications post-traductionnelles. *Rev Rhum Ed Fr*, 1997, 64 : 80.
- [18] Girbal-Neuhausser E., Montézin M., Croute F., Sebbag M., Simon M., Durieux J.J. et al. Normal human epidermal keratinocytes express in vitro specific molecular forms of (pro)filaggrin recognized by rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies. *Mol Med*, 1997, 3 : 145-156.
- [19] Girbal-Neuhausser E., Durieux J.J., Arnaud M., Dalbon P., Sebbag M., Vincent C., Simon M., Senshu T., Masson-Bessière C., Jolivet-Reynaud C., Jolivet M., Serre G. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (Pro)Filaggrin by deimination of Arginine Residues¹². *The Journal of Immunology*, 1999, 162 : 585-594.
- [20] Gomès-Daudrix V., Sebbag M., Girbal E., Vincent C., Simon M., Rakotoarivony J. et al. Immunoblotting detection of so-called "antikeratin antibodies": a new assay for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1994, 53 : 735-742.
- [21] Hajroussou V.J., Skingle J., Gillet A.P., Webley M. Significance of antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 1985, 12 : 57-59.
- [22] Harding C.R., Scott I.R. Histidine-rich proteins (filaggrins): structural and functional heterogeneity during epidermal differentiation. *J Mol Biol*, 1983, 170 : 651-673.
- [23] Hassfeld W., Steiner G., Hartmuth K., Kolarz G., Scherak O., Graninger W. et al. Demonstration of a new antinuclear antibody (anti-RA33) that is highly specific for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1989, 32 : 1515-1520.
- [24] Haydock P.V., Dale B.A. Filaggrin, an intermediate filament-associated protein: structural and functional implications from the sequence of a cDNA from rat. *DNA Cell Biol*, 1990, 9 : 251-261.
- [25] Hoet R.M.A., Boerbooms A.M.T., Arends M., Ruiter D.J., van Venrooij W.J. Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis*, 1991, 50 : 611-618.
- [26] Imcke E., Golnick H., Orfanos C.E. Vorkommen und Verteilung von Zytokeratinen und Filaggrin in humanen Anagenfollikeln. *Hautarzt*, 1988, 39 : 680-683.
- [27] Janssens X., Veys E.M., Verbruggen G., Declercq L. The diagnosis significance of the antiperinuclear factor for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 1988, 15 : 1346-1350.
- [28] Johnson G.D., Carvalho A., Holborow E.J., Goddard D.H., Russel G. Antiperinuclear factor and keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1981, 40 : 263-266.

- [29] Jouquan J., Le Goff P., Fauquert P., Penneç Y., Youinou P. Étude comparative des polyarthroses rhumatoïdes avec et sans syndrome de Gougerot-Sjögren. *Rev Rhum*, 1986, 53 : 691-695.
- [30] Kataaha P.F., Mortazavi-Milani S.M., Russel G., Holborow E.J. Anti-intermediate filament antibodies, antikeratin antibody, and antiperinuclear factor in rheumatoid arthritis and infectious mononucleosis. *Ann Rheum Dis*, 1985, 44 : 446-449.
- [31] Kirstein H., Mathiesen E.K. Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1987, 16 : 331-337.
- [32] Kirstein H., Hjarvard K., Mork Hansen T. Antikeratin antibodies in synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Apms*, 1989, 97 : 185-189.
- [33] Kurki P., Aho K., Palosuo T., Heliövaara M. Immunopathology of rheumatoid arthritis : antikeratin antibodies precede the clinical disease. *Arthritis Rheum*, 1992, 35 : 914-917.
- [34] Kurki P., von Essen R., Kaarela K., Isomäki H., Palosuo T., Aho K. Antibody to Stratum Corneum (antikeratin antibody) and antiperinuclear factor : markers for progressive rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1997, 26 : 346-349.
- [35] Le Goff P., Saraux A., Youinou P. New autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Rev Rhum Engl Ed*, 1997, 64 : 638-644.
- [36] Le Goff P., Youinou P., Jouquan J. Etude de la précocité d'apparition des anticorps antikeratine. *Rev Rhum*, 1986, 53 : 699-700.
- [37] Linley A.M., Dale B.A. The characterization of human epidermal filaggrin : a histidine rich, keratin filament-aggregating protein. *Bioch Biophys Acta*, 1983, 744 : 28-35.
- [38] Lonsdale Eccles J.D., Resing K.A., Meek R.L., Dale B.A. High molecular-weight precursor of epidermal filaggrin and hypothesis for its tandem repeating structure. *Biochemistry*, 1984, 23 : 1239-1245.
- [39] Mallya R.K., Young B.J.J., Pepys M.B., Hamblin T.J., Mace B.E.W., Hamilton E.B.D. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis : frequency and correlation with other features of the disease. *Clin Exp Immunol*, 1983, 51 : 17-20.
- [40] Meyer O., Fabregas D., Cyna L., Ryckewaert A. Les anticorps anti-kératine : un marqueur des polyarthroses rhumatoïdes. *Rev Rhum*, 1986, 53 : 601-605.
- [41] Meyer O., Tauxe F., Fabregas D., Gabay C., Goycochea M., Haim T. et al. Anti-RA 33 antinuclear autoantibody in rheumatoid arthritis and mixed connective tissue disease : comparison with antikeratin and antiperinuclear antibodies. *Clin Exp Rheumatol*, 1993, 11 : 473-478.
- [42] Meyer O., Combe B., Elias A., Benali K., Clot J., Sany J. et al. Autoantibodies predicting the outcome of rheumatoid arthritis : evaluation in two subsets of patients according to severity of radiographic damage. *Ann Rheum Dis*, 1997, 56 : 682-685.
- [43] Mills V., Simon M., Vincent C., Michel S., Serre G. A new late differentiation antigen of human cornified epithelia, defined by the monoclonal antibody D40-10, characterizes a subpopulation of keratohyalin granules. *European Journal of Dermatology*, 1992, 2 : 100-108.
- [44] Minori T., Suganuma K., Tanami Y., Nojima T., Matsumura M., Fujii T. et al. Autoantibodies to calpastatin (an endogenous inhibitor for calcium-dependent neutral protease-calpain in systemic rheumatic diseases). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89 : 7267-7272.
- [45] Miossec P., Youinou P., Le Goff P., Moineau M.P. Clinical relevance of antikeratin anti bodies in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, 1982, 1 : 185-189.
- [46] Nienhuis R.L.F., Mandena E. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis : the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis*, 1964, 23 : 302-305.
- [47] Ordeig J., Guardia J. Diagnostic value of antikeratin antibodies in RA. *J Rheum*, 1984, 11 : 602-604.
- [48] Paimela L., Gripenberg M., Kurki P., Leirisalo-Repo M. Antikeratin antibodies : diagnostic and prognostic markers for early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1992, 51 : 743-746.
- [49] Palosuo T., Lukka M., Alenius H., Kalkinen N., Aho K., Kurki P. et al. Purification of filaggrin from human epidermis and measurement of antifilaggrin autoantibodies in sera from patients with rheumatoid arthritis by an Enzyme-linked immunosorbent assay. *Int Arch Allergy Immunol*, 1998, 115 : 294-302.
- [50] Presland R.B., Kimball J.R., Kautsky M.B., Lewis S.P., Lo C.Y., Dale B.A. Evidence for specific proteolytic cleavage of the N-terminal domain of human profilaggrin during epidermal differentiation. *J Invest Derm*, 1997, 108 : 170-178.
- [51] Quismorio F.P., Kaufman R.L.Jr., Beadmore T., Mongan E.S. Reactivity of serum antibodies to the keratin layer of rat esophagus in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1983, 26 : 494-499.
- [52] Resing K.A., al Alawi N., Blomquist C., Fleckman P., Dale B.A. Independent regulation of two cytoplasmic processing stages of the intermediate filament-associated protein filaggrin and role of Ca²⁺ in the second stage. *J Biol Chem*, 1993, 268 : 25139-25145.
- [53] Sarret Y., Reano A., Kanitakis J., Thivolet J. La filagrine. *Path Biol*, 1989, 37 : 297-303.
- [54] Saraux A., Valls I., Voisin V., Koreichi A., Baron D., Youinou P. et al. How useful are tests for rheumatoid factors, antiperinuclear factors, antikeratin antibody, and the HLA DR4 antigen for the diagnosis of rheumatoid arthritis ? *Rev Rhum Engl Ed*, 1995, 62 : 16-20.
- [55] Schellekens G., de Jong B., van den Hoogen F., van de Putte L., van Venrooij W. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*, 1998, 101 : 273-281.
- [56] Scott D.L., Delamere J.P., Jones L.J., Walton K.W. Significance of laminar antikeratin antibodies to rat oesophagus in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1981, 40 : 267-271.
- [57] Sebbag M. Identification des antigènes de différenciation malpighienne définis par les autoanticorps anti-stratum corneum spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde. Développement d'un test diagnostique par immunotransfert. *Th D Bioch Imm*, Toulouse, 1992, 199p.
- [58] Sebbag M., Simon M., Durieux J.J., Gorbail-Neuhauser E., Vincent C., Serre G. Des anticorps "antikeratines" et du facteur antiperinucéaire aux anticorps antifilagrine. *9^{ème} symposium international d'immuno-rhumatologie, nouveaux outils diagnostiques et thérapeutiques. Clot J. et Sany J., Ed de l'interline*, 1996.
- [59] Sebbag M., Simon M., Vincent C., Masson-Bessière C., Girbal E., Durieux et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*, 1995, 95 : 2672-2679.

- [60] Serre G., Vincent C., Fournié B., Lapeyre F., Soleilhavoup J.P., Fournié A. Anticorps anti-stratum corneum d'oesophage de rat, auto-anticorps anti-kératines épidermiques et anti-épiderme dans la polyarthrite rhumatoïde et différentes affections rhumatologiques ; intérêt diagnostique, aspects fondamentaux. *Rev Rhum*, 1986, 53 : 607-614.
- [61] Shmerling R.H., Delbanco T.L. The rheumatoid factor : an analysis of clinical utility. *Am J Med*, 1991, 91 : 528-534.
- [62] Simon M., Girbal E., Sebbag M., Gomès-Daudrix, Vincent C., Salama G. et al. The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called "antikeratin antibodies", autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*, 1993, 92 : 1387-1393.
- [63] Simon M., Sebbag M., Haktek M., Vincent C., Girbal-Neuhauser E., Rakotoarivony J. et al. Monoclonal antibodies to human epidermal filaggrin, some not recognizing profilaggrin. *J Invest Dermatol*, 1995, 105 : 432-437.
- [64] Simon M., Haftek M., Sebbag M., Montézin M., Girbal-Neuhauser E., Schmitt D. et al Evidence that filaggrin is a component of cornified cell envelopes in human plantar epidermis. *Biochem J*, 1996, 317 : 173-177.
- [65] Slack S., Mannik M., Dale B. Diagnostic value of antibodies to filaggrin in rheumatoid arthritis. *J Rheum*, 1998, 25 : 847-851.
- [66] Steinert P.M., Cantieri J.S., Teller D.C., Lonsdale-Eccles J.D., Dale B.A. - Characterization of a class of cationic proteins that specifically interact with intermediate filaments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78 : 4097-4101.
- [67] Steven A.C., Bisher M.E., Roop D.R., Steinert P.M. Synthetic pathways of filaggrin and loricrin - Two major proteins expressed by terminally differentiated epidermal keratinocytes. *J Struct Biol*, 1990, 104 : 150-162.
- [68] Vincent C., de Keyser F., Masson-Bessiere C., Sebbag M., Veys E.M., Serre G. Anti-perinuclear factor compared with the so-called "antikeratin" antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritides. *Ann Rheum Dis*, 1999, 58 : 42-48.
- [69] Vincent C., Serre G., Basile J.P., Lestra H.C., Girbal E., Sebbag M. et al. Subclass distribution of IgG antibodies to the rat oesophagus stratum corneum (so-called anti-keratin antibodies) in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*, 1990, 81 : 83-89.
- [70] Vincent C., Serre G., Lapeyre F., Fournié B., Ayrolles C., Fournié A et al. High diagnostic value in rheumatoid arthritis of antibodies to the stratum corneum of rat oesophagus epithelium, so-called "antikeratin antibodies". *Ann Rheum Dis*, 1989, 48 : 712-722.
- [71] Vincent C., Simon M., Sebbag M., Girbal-Neuhauser E., Durieux J.J., Cantagrel A. Immunoblotting detection of autoantibodies to human epidermis filaggrin : a new diagnostic test for rheumatoid arthritis. *J Rheum*, 1998, 25 : 838-846.
- [72] Westgeest A., Boerbooms A., Jongmans M., Vandenbroucke J., Vierwinden G. et van de Putte L. Antiperinuclear factor : indicator of more severe disease in seronegative rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 1987, 14 : 893-897.
- [73] Youinou P., Le Goff P., Colaco C.B. ; Thivolet J., Tater D., Viac J. et al. Antikeratin antibodies in serum and synovial fluid show specificity for rheumatoid arthritis in a study of connective tissue diseases. *Ann Rheum Dis*, 1985, 44 : 450-454.
- [74] Youinou P., Le Goff P., Dumay A., Lelong A., Fauquert P., Jouquan J. The antiperinuclear factor. I. Clinical and serologic associations. *Clin Exp Rheumatol*, 1990, 8 : 259-264.
- [75] Youinou P., Serre G. The antiperinuclear factor and antikeratin antibody systems. *Int Arch Allergy Immunol*, 1995, 107 : 508-518.
- [76] Young B., Mallya R., Leslie R., Clark C., Hamblin T. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J*, 1979, 2 : 97-99.
- [77] Zhou Z., Jiang M., Wang H. Antikeratin antibodies : another specific antibodies in rheumatoid arthritis patients. *Chung Hua Nei Ko Tsa Chih*, 1995, 34 : 330-332.

Association anticorps anti-centromère et anti-Scl 70

A propos de 7 cas et revue de la littérature

GOETZ J, CHEVAILLER A, BAQUEY A, ESCANDE A, JOHANNET C, OKSMANN F, ANDRE C, CHRETIEN P, COHEN J, HUMBEL RL, MONIER JC, SAN MARCO M, TAILLEFER MF, SIBILIA J

Ces deux types d'anticorps sont généralement considérés comme antinomiques (7, 21, 22, 23). Nous avons cependant observé l'association anticorps anti-Scl 70 et ACA chez 7 patients dont nous décrivons les caractéristiques.

Les anticorps anti-centromère (ACA), bien que non pathognomoniques de la sclérodermie (3, 24), et les anticorps anti-Scl 70 (anti-ADN topoisomérase I) sont utiles dans le diagnostic et le pronostic de la sclérodermie systémique. Dans cette affection, chaque type d'anticorps caractérise un sous-groupe de patients :

- ceux qui sont porteurs d'ACA ont une atteinte cutanée limitée et les éléments du syndrome CREST (C = calcinose cutanée, R = syndrome de Raynaud, E = atteinte oesophagienne, S = sclérodactylie, T = télangiectasies),
- ceux qui sont porteurs d'anticorps anti-Scl 70 ont une atteinte cutanée diffuse et très souvent une fibrose pulmonaire (4, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 21, 23, 26, 27, 28).

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nous avons effectué une étude rétrospective au sein des treize laboratoires membres du GEAI entre 1993 et 1999, à la recherche d'une association ACA et anticorps anti-Scl 70. Cette association a été observée chez sept patients et a donné lieu à une analyse du dossier clinique à l'aide d'un questionnaire préétabli.

Les ACA ont été détectés par immunofluorescence indirecte sur cellules HEP 2. Les anticorps anti-Scl 70 ont été recherchés et identifiés par immunodiffusion double selon Ouchterlony ou électrosynérèse dans tous les centres sauf un où ils ont été dépistés par technique immunoenzymatique utilisant de l'ADN topoisomérase I recombinante.

Tableau 1 /
Principales
données
clinico-biologiques
relevées chez
nos patients
ACA+ anti-Scl 70+

DONNÉES CLINIQUES	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Âge au début de l'affection (ans)	41	64	62	67	61	45	41
Sexe	F	F	F	F	F	F	F
Syndrome CREST :							
• Calcinose sous cutanée	-	+	+	-	+	-	+
• Raynaud : durée d'évolution (ans)	34	2	9	< 1	8	10	20
• Atteinte œsophagienne	-	+	-	+	+	-	+
• Sclérodactylie	+	+	+	-	+	+	+
• Télangiectasies	-	+	+	-	+	+	+
Atteinte cutanée :							
• limitée	+		+	-	+	+	
• diffuse		+		-			+
Ulcérations digitales	-	+	-	-	-	-	-
Arthralgies	NR	+	-	NR	+	+	+
Atteinte pulmonaire	-	+	+	-	+	-	+
Atteinte cardiaque	-	-	-	-	-	-	-
Atteinte rénale	-	-	-	-	-	-	-
Syndrome sec	+	+	+	-	+	+	+
Histologie glandes salivaires	NF	NF	Grade II	NF	Grade I	Grade IV	Grade IV
HTA	+	-	+	-	-	-	-
Cancer	utérus	sein	-	-	-	-	-
Affection peu évolutive	+	+	NR	+	+	+	+
DONNÉES BIOLOGIQUES	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Hypergammaglobulinémie	+	-	-	-	-	-	+
Cholestase	-	+	-	-	-	-	+
Cytopénie	-	-	-	-	+	-	-
Autres anticorps	APL	-	RNP	-	-	-	Mbn

LÉGENDE: F: féminin NF: non faite Mbn: anti-membrane nucléaire
NR: non relevé APL: anti phospholipides

RÉSULTATS

Globalement, les laboratoires membres du GEAI ont détecté en moyenne et par an 819 ACA et 211 anticorps anti-Scl 70. Sur une période de 7 ans, 7 patients ont été trouvés positifs pour les deux types d'anticorps.

Les signes cliniques et biologiques relevés chez ces malades figurent dans le tableau 1.

Cliniquement, les sept malades, toutes des femmes, d'âge moyen 54 ans (41-67) au début des premiers symptômes, ont des éléments du syndrome CREST. Le phénomène de Raynaud est constant, évoluant en moyenne depuis 13,5 ans avant le diagnostic. Le syndrome CREST est complet chez 3 malades, incomplet chez les autres. Une atteinte œsophagienne est notée chez 4 patientes. Parmi les autres atteintes viscérales, l'atteinte pulmonaire est fréquente : 3 patientes (P2, P3, P5) ont une fibrose pulmonaire, une quatrième a une pneumopathie interstitielle (P7).

Des arthralgies sont retrouvées dans 4 cas.

Six malades sur 7 ont un syndrome sec oculobuccal subjectif, chez 4 d'entre eux une biopsie des glandes salivaires accessoires a été réalisée : 2 ont un grade IV selon la classification de CHISHOLM et MASON.

Dans deux cas, on retrouve dans les antécédents de la patiente un cancer, survenu respectivement 24 et 15 ans avant le diagnostic de sclérodermie.

Chez la plupart des patientes, l'affection est généralement peu évolutive avec une durée moyenne d'évolution de 12 ans (1-34 ans).

Du point de vue biologique, trois malades ont d'autres auto-anticorps : anticorps anti-phospholipides de type anti-cardiolipide et anti-B2GPI (patiente P1) associés à des thromboses veineuses (syndrome des anti-phospholipides), anti-RNP uniquement détectés par technique immunoenzymatique (patiente P2), anticorps anti-membrane nucléaire sans anticorps anti-mitochondries

de type M₂ associés à une cirrhose biliaire primitive (CBP) confirmée histologiquement. En dehors de cette CBP, une cholestase biologique a été relevée chez une patiente mais celle-ci n'a pas été explorée.

DISCUSSION

L'association ACA-anticorps anti-Scl 70 est rare. Dans notre étude multicentrique, près de 0,12% des malades porteurs d'ACA ont des anticorps anti-Scl 70 et inversement près de 0,5% des malades porteurs d'anticorps anti-Scl 70 ont des ACA.

Dans la littérature, cette association a été décrite chez vingt-deux patients (1, 9, 11, 13, 19, 25, 27, 28). Sa fréquence, estimée par RUFFATI et JARZABECK 5 (11, 19), est de 1,5 et 5,5% respectivement chez des malades atteints de sclérodermie systémique.

Parmi les 22 cas publiés, 15 sont bien documentés cliniquement (tableau 2). Pour 3 patients l'association est mentionnée sans données clinico-biologiques, pour 4 cas seuls les diagnostics (une sclérodermie, une arthrose, un syndrome CREST associé à une polyarthrite rhumatoïde et une polymyosite, un syndrome CREST associé à un lupus systémique) sont signalés (25, 27, 28).

L'étude des données clinico-biologiques montre que l'on retrouve, dans notre série et celle de la littérature, à la fois des particularités cliniques associées aux ACA et d'autres liées aux anticorps anti-Scl 70 chez les patients ayant les deux types d'anticorps (tableau 3).

La nette prédominance féminine parmi les malades (7 femmes/7 et 14 femmes/15 respectivement), l'existence d'éléments du syndrome CREST avec une acrosclérose présente dans plus de 80% des cas et le peu d'évolutivité de l'affection sont des particularités liées aux ACA (3, 4, 12, 17, 20, 21, 26, 28).

Tableau 2 : Principales manifestations cliniques relevées chez les patients ayant des anticorps anti-centromères associés à des anticorps anti-Scl 70 [D'après 1, 9, 11, 13, 19]

Manifestations cliniques	Présence (n)	Absence (n)	Manque de renseignements (n)	Fréquence (%)
Raynaud	14	1	0	93
Télangiectasies	11	2	2	73
Calcinose sous cutanée	6	8	1	40
Sclérodactylie	14	1	0	93
Atteinte cutanée :	15	0	0	100
• limitée	4	0	0	27
• diffuse	10	0	0	67
• atypique	1	0	0	< 1
Ulcération digitale	9	3	3	60
Atteinte pulmonaire	8	7	0	53
Atteinte œsophagienne	11	4	0	73
Atteinte cardiaque	6	9	0	40
Atteinte rénale	3	12	0	20
Évolution de l'affection :				
• peu évolutive	10	2		67
• rapidement évolutive	3			20

Tableau 3 : Particularités cliniques associées aux ACA et/ou anticorps anti-Scl 70

	Patients ACA+ (d'après 2,3,5,6,15,17,28)	Patients Scl 70+ (d'après 8,10,20,21,27)	Patients ACA+ ⊕ Scl 70+ (GEAI : n = 7)	Patients ACA+ ⊕ Scl 70+ (Littérature : n = 15)
Sexe féminin (%)	78-98	60-81	100	93
Âge moyen (ans)	54-62	42-48	54	41
Sclérodémie systémique	12-100	> 90		-
• C (%)	21-100	8-24	57	40
• R (%)	5-100	97	100	93
• E (%)	46-70	45-70	57	73
• S (%)	53-100	7-39	86	93
• T (%)	52-100	39-75	71	73
Ulcérations digitales (%)	23-64	54	14	60
Atteinte rénale (%)	0-9	0-8	0	20
Atteinte cardiaque (%)	0-47	10-16	0	40
Atteinte pulmonaire (%)	20-53	57-63	57	53
Syndrome sec (%)	2-76	3-17	86	Non relevé
Cirrhose biliaire primitive (%)	8-29	0	14	Non relevée
Tumeurs (%)	11-15	28	28	Non relevées

La présence d'une atteinte sclérodermique cutanée diffuse et d'une fibrose pulmonaire chez 54,5% des patients sont des particularités liées aux anticorps anti-Scl 70 (4, 14, 16, 20, 26, 27).

Néanmoins, notre série de 7 patients se distingue de celle de la littérature par la fréquence non négligeable de syndromes secs (6 patientes sur 7) et d'antécédents de tumeurs malignes (2 patientes sur 7), particularités cliniques non relevées parmi les 15 patients ACA+ anti-Scl 70+ de la littérature mais décrites chez les patients ayant des ACA (2, 5, 6, 15, 17, 28) ou des anticorps anti-Scl 70 (10, 27). L'existence d'une cirrhose biliaire primitive n'a pas été signalée parmi les 22 cas de la littérature ; dans notre étude, celle-ci entre dans le cadre d'un syndrome de Reynolds et, de façon plus large, dans le cadre d'un PACK syndrome (associant une CBP, des ACA, un syndrome CREST et un syndrome sec avec kérato-conjonctivite) (16, 18).

Notre série diffère aussi de celle de la littérature par l'absence d'atteinte rénale et cardiaque chez ces patients et la faible incidence des ulcérations digitales.

CONCLUSION

L'association anticorps anti-centromère et anti-Scl 70 est exceptionnelle. Notre étude multicentrique montre que les manifestations cliniques relevées chez nos sept patientes sont dominées par :

- la constance du phénomène de Raynaud qui s'inscrit dans le cadre d'un syndrome CREST complet dans 3 cas, incomplet dans 4 cas, peu évolutif. Ces données sont conformes à celles publiées dans la littérature ;
- l'existence d'un syndrome sec chez 6 malades sur 7, particularité non relevée dans la littérature mais décrite chez des patients porteurs d'ACA ;
- l'existence d'une atteinte pulmonaire, essentiellement de type fibrose pulmonaire chez 4 patientes sur 7.

Ce sous-groupe de patients sclérodermiques porteurs d'anticorps anti-centromère et anti-Scl 70 semble conjuguer les caractéristiques cliniques habituellement associées à l'un et à l'autre de ces deux anticorps. Néanmoins, malgré la fréquence de l'atteinte pulmonaire interstitielle, l'évolution de l'affection est proche de celle que l'on observe dans le syndrome CREST.

Bibliographie

- [1] Blaszczyk M., Jablonska S., Szymanska-Jagiello W., Jarzabek-Chorzelska M., Chorzelski T. Immunologic markers of systemic scleroderma in children. *Pediatr Dermatol* 1991, 8 : 13-20.
- [2] Caramaschi P., Biasi D., Carletto A., Manzo T., Randon M., Zeminian S., Bambara LM. Sjögren's syndrome with anticentromere antibodies. *Rev Rhum* 1997, 64 (12) : 785-788.
- [3] Caramaschi P., Biasi D., Manzo T., Carletto A., Poli F., Bambara LM. Anticentromere antibody -clinical associations. A study of 44 patients. *Rheumatol Int* 1995, 14 : 253-255.
- [4] Catoggio LJ., Skinner RP., Maddison PJ. Frequency and clinical significance of anticentromere and anti-Scl 70 antibodies in an english connective tissue disease population. *Rheumatol Int* 1983, 3 : 19-21.
- [5] Coll J., Rives A., Grino MC., Setoain J., Vivancos J., Balcells A. Prevalence of Sjögren's syndrome in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* 1987, 46 : 286-289.
- [6] Drosos AA., Andonopoulos AP., Costopoulos JS., Stavropoulos ED., Papadimitriou CS., Moutsopoulos HM. Sjögren's syndrome in progressive systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1988, 15 : 965-968.

- [7] Frizler MJ., Kinstella TD., Garbutt E. The CREST syndrome : a distinct serologic entity with anticentromere antibodies.
Am J Med 1980, 69 : 520-526.
- [8] Genth E., Mierau R., Genetzky P., Von Mühlen CA., Kaufmann S., Von Wilmowsky H., Meurer M., Krieg T., Pollmann HJ., Hartl PW. Immunogenetic associations of scleroderma-related antinuclear antibodies.
Arthritis Rheum 1990, 33 (5) : 657-665.
- [9] Hietarinta M., Terti R., Lassila O. A patient with systemic sclerosis, severe cytopenias and the simultaneous presence of anti-centromere and anti-Scl70-antibodies.
Clin Exp Rheumatol 1993, 11 : 457-461.
- [10] Jacobsen S., Halberg P., Ullman S., Van Venrooij WJ., Holer-Madsen M., Wiik A., Petersen J. Clinical features and serum antinuclear antibodies in 230 danish patients with systemic sclerosis.
Br J Rheumatol, 1998, 37 : 39-45.
- [11] Jarzabek-Chorzelska M., Blaszyk M., Kolacinska-Strasz Z., Jablonska S., Chorzelski T., Maul G.G. Ara ACA and Scl 70 antibodies mutually exclusive ?
Br J Dermatol 1990, 122 : 201-208.
- [12] Johanet C., Agostini MM., Vayssairat M., Abuaf N. Autoanticorps anti-Scl 70 et anti-centromère. Marqueurs biologiques de 2 variétés différentes de sclérodémie systémique.
Presse Méd 1989, 18 : 207-211.
- [13] Kipnis RJ, Craft J, Hardin JA. The analysis of antinuclear and antinucleolar autoantibodies of scleroderma by radioimmunoprecipitation assays.
Arthritis Rheum 1990, 33 : 1431-1437.
- [14] Kuwana M., Kaburaki J., Okano Y., Tojo T., Homma M. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in japanese patients with systemic sclerosis.
Arthritis Rheum 1994, 37 : 75-83.
- [15] Offner C. Contribution à l'étude des anticorps anti-centromères. Etude clinico-biologique de 107 patients.
Thèse de Doctorat en médecine, ULP Strasbourg 1995, n° 88.
- [16] Powell FC., Schroeter AL., Rolland Dickson E. Primary Biliary Cirrhosis and the CREST Syndrome : A report of 22 cases.
Quarterly Journal of Medicine 1987, 237 : 75-82.
- [17] Renier G., Le Normand I., Chevailler A., Verret JL., Renier JC., Hurez D. Anticorps anti-centromères. Etude de 67 sérums positifs.
Rev Med Interne 1992, 13 : 413-418.
- [18] Reynolds TB., Denison EK., Frankl HD., Lieberman FL., Peters RL. Primary Biliary Cirrhosis with Scleroderma, Raynaud's Phenomenon and Telangiectasia.
Am J Med 1971, 50 : 302-312.
- [19] Ruffatti A., Calligaro A., Ferri C., Bombardieri S., Gambari PF and Todesco S. Association of anti-centromere and anti-Scl 70 antibodies in scleroderma. Report of two cases.
Clin Lab Immunol 1985, 16 : 227-229.
- [20] Steen VD., Medsger TA., Washington JR. Survival of patients with systemic and scleroderma specific autoantibodies.
Arthritis Rheum 1999, 9 (suppl. 1) : S 189 (Abst 714).
- [21] Steen VD., Powell DL., Medsger TA. Clinical and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis.
Arthritis Rheum 1988, 31 : 196-203.
- [22] Tan EM., Chan EKL, Sullivan KP., Rubin RL. Antinuclear antibodies (ANAs) : diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity.
Clin Immunol Immunopathol 1988, 41 : 121-141.
- [23] Tan EM., Rodnan GP., Garcia I., Moroi Y., Fritzler MJ., Peebles C. Diversity of antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis, anticentromere antibody and its relationship to CREST syndrome.
Arthritis Rheum 1980, 23 : 617-625.
- [24] Tubach F., Hayem G., Elias A., Nicaise P., Haim T., Kahn MF., Meyer O. Anticentromere antibodies in rheumatologic practice are not consistently associated with scleroderma.
Rev Rhum 1997, 64 (6) : 362-367.
- [25] Vlachoyiannopoulos PG., Drosos AA., Wiik A., Moutsopoulos HM. Patients with anticentromere antibodies, clinical features, diagnoses and evolution.
Br J Rheumatol 1993, 32 : 297-301.
- [26] WadeJP., Sack B., Schur PH. Anticentromere correlates.
J Rheumatol 1988, 15 : 1759-1763.
- [27] Weiner ES., Hildebrandt S., Senecal JL., Daniels L., Noell S., Joyal F., Roussin A., Earnshaw W., Rothfield NF. Prognostic significance of anticentromere antibodies and anti-topoisomerase I antibodies in Raynaud's disease. A prospective study.
Arthritis Rheum 1991, 34 : 68-77.
- [28] Zuber M., Gotzen R., Filler I. Clinical Correlation of Anticentromere Antibodies.
Clin Rheumatol 1994, 13 (3) : 427-432.

A propos de la recherche et de “l’élimination” des complexes immuns circulants.

A Strasbourg, la recherche des complexes immuns circulants n'est plus depuis février 1996. L'agonie fut longue, ponctuée d'espoirs, de diverses tentatives d'amélioration de la situation pour finir par une mort inéluctable. Pourquoi inéluctable ?

- ▶ Un seul test était réalisé.
Mais un seul test peut-il suffire sachant qu'aucun n'est suffisamment sensible et spécifique pour détecter tous les complexes immuns circulants qui peuvent exister dans des situations cliniques variées ?
- ▶ Deux ou plusieurs tests pourraient peut-être pallier ces inconvénients. Adaptés de surcroît à la pathologie, les résultats seraient plus fiables.
Mais n'est-ce pas une impasse pratique et financière ?
- ▶ Et en admettant que plusieurs tests soient faits, lorsqu'un résultat est négatif, comment être sûr d'avoir choisi les tests adéquats ?
- ▶ Lorsqu'un résultat est positif, comment savoir si ces complexes immuns qui circulent sont pathogènes et vont se déposer dans les tissus ?
- ▶ Bien que souvent corrélée avec l'activité du lupus systémique, de la polyarthrite rhumatoïde, des glomérulonéphrites prolifératives diffuses et des endocardites bactériennes, la présence de complexes immuns circulants n'est pas reconnue en tant que critère d'activité de ces maladies (critères SLEDAI, SLAM ou ECLAM pour le lupus, critères de la FDA pour la PR, ...). Alors, où est l'intérêt de la recherche des complexes immuns circulants ?

Les réflexions et démarches ont donc été nombreuses et variées. Ne pouvant accorder une valeur diagnostique et/ou pronostique à la recherche des complexes immuns circulants, nous les avons ainsi “éliminés”...

*Joëlle GOETZ
Décembre 1999*

René-Louis HUMBEL

Président du GEAI
CH Luxembourg
Laboratoire Biochimie & Immunopathologie
4, rue Barblé - L-1210 LUXEMBOURG
Luxembourg
Tel: 00 352 44 11 21 78 - Fax: 00 352 45 77 94
E.mail: humbel.ri@chl.lu

Isabelle BENOIT-GONIN

Secrétaire du GEAI
BIO-RAD
3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE
Tel: 01 47 95 62 56 - Fax: 01 47 95 62 20
E.mail: isabelle_benoit-gonin@bio-rad.com

Florence GARNAUD

Trésorier du GEAI
BIO-RAD
3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE
Tel: 01 47 95 62 59 - Fax: 01 47 95 62 20
E.mail: florence_garnaud@bio-rad.com

Chantal ANDRE

CHU Henri Mondor
Service d'Immunologie Biologique
51, av. du Mal de Lattre de Tassigny - 94010 CRETEIL
Tel: 01 49 81 28 86 ou: 01 49 81 22 98 (sec)
Fax: 01 49 81 28 97
E.mail: chantal.andre@hmn.ap-hop-paris.fr

Alain CHEVAILLER

CHU ANGERS
Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie
49033 ANGERS Cedex 01 - Tel: 02 41 35 47 89
ou: 02 41 35 35 77 - Fax: 02 41 35 47 83
E.mail: alchevailier@chu-angers.fr

Pascale CHRETIEN

CHI - Sce Hématologie et Immunologie
49, avenue de Verdun - 94000 CRETEIL Cedex
Tel: 01 45 17 53 88 ou 01 45 17 53 33 (sec)
Fax: 01 45 17 53 49

Jacques COHEN

CHU Robert Debré
Laboratoire d'Immunologie
Rue du Général Koenig - 51092 REIMS Cedex
Tel: 03 26 78 72 37 ou 03 26 78 72 58 (sec)
Fax: 03 26 86 51 97

Andrée ESCANDE

CHU Saint Eloi
Laboratoire d'Immunologie
Service du Pr. Clot, avenue Bertin Sens
34295 MONTPELLIER Cedex
Tel: 04 67 33 71 35 - Fax: 04 67 33 71 29

Joëlle GOETZ

CHU Haute-pierre
Laboratoire d'Immunologie
Avenue Molière - 67098 STRASBOURG Cedex
Tel: 03 88 12 75 26 - Fax: 03 88 12 81 34

Catherine JOHANET

CHU Saint Antoine
Laboratoire Central d'Immunologie
184, fbg St-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12
Tel: 01 49 28 20 11 - Fax: 01 49 28 21 43
E.mail: catherine.johanet@sat.ap-hop-paris.fr

Annie LAGAUCHE-BAQUEY

CHU Pellegrin
Laboratoire Immunologie - Hématologie
Place Amélie Raba Léon - 33076 BORDEAUX Cedex
Tel: 05 56 79 56 45 (sec)
ou 05 56 79 56 79 poste 143-43
Fax: 05 56 79 60 79

Jean-Claude MONIER

20, rue de l'Oratoire - 69300 CALUIRE
Tel: 04 78 29 66 86 (personnel) ou 04 78 86 66 81 (hôpital)
Fax: 04 78 87 26 17 (école vétérinaire)

Françoise OKSMAN

CHU Purpan
Laboratoire d'Immunologie
Place du Dr Baylac - 31059 TOULOUSE Cedex
Tel: 05 61 77 90 60 ou 05 61 77 90 61 (sec)
Fax: 05 61 77 90 76

Nils Olivier OLSSON

Hôpital du Bocage
Laboratoire d'Immunologie
2, bd du M. de Lattre de Tassigny - BP 1542 - 21034 DIJON Cedex
Tel: 03 80 29 33 72 ou 03 80 29 32 26 (labo)
Fax: 03 80 29 37 87
E.mail: nils.olsson@chu-dijon.fr

Marielle SAN MARCO

Hôpital de la Conception - Pavillon Cornil
Laboratoire d'Immunologie
147, boulevard Baille - 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel: 04 91 38 39 70 ou 04 91 38 39 08 ou 39 07 (sec)
Fax: 04 91 38 36 33
E.mail: msanmarc@ap-hm.fr

Jean SIBILIA

CHU Haute-pierre
Service Rhumatologie
67098 STRASBOURG
Tel: 03 88 12 79 53 ou 03 88 12 79 55
Fax: 03 88 12 81 50
E.mail: jean.sibilia@wanadoo.fr

Marie-France TAILLEFER

ETS
Laboratoire Immunologie Médicale
21, rue Camille Guérin
BP 2018 - 59012 LILLE Cedex
Tel: 03 28 54 20 80
Fax: 03 28 54 20 85

• **COLLOQUE GEAI 2000**
AUTO-ANTICORPS : ACTUALITES
23 juin 2000
Institut Pasteur
Paris

• **9th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON**
ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES
September 12-16 2000
Tours, France

• **5th DRESDEN SYMPOSIUM ON**
AUTOANTIBODIES
19th - 21th October 2000
Germany
E-mail : k-conrad@rcs.urz.tu-dresden.de

• **ACR**
October 28 - November 2000
Philadelphia, USA

Remise du prix national Dade-Behring 2000 de l'internat de biologie à Madame Valérie SERVAN - LE CAM, interne de biologie du CHU d'Angers, pour sa thèse soutenue le 12 mai 1999 sur les "Anticorps antiribosomes, marqueurs du neurolupus ? Analyse de onze observations et revues de la littérature". Le prix lui a été remis le jeudi 16 mars aux 10^{èmes} journées de l'Internat des hôpitaux de Paris - Île-de-France - Biologie Médicale et Pharmacie.



Parution biannuelle

RÉDACTEUR EN CHEF : Jean-Claude MONIER - ÉQUIPE DE RÉDACTION : Chantal ANDRÉ, Alain CHEVAILLER, Pascale CHRETIEN, Jacques COHEN, Andrée ESCANDE, Joëlle GOETZ, René-Louis HUMBEL, Catherine JOHANET, Annie LAGAUCHE-BAQUEY, Françoise OKSMAN, Nils Olivier OLSSON, Marielle SAN MARCO, Jean SIBILIA, Marie-France TAILLEFER

BIO-RAD, 3 bd R. Poincaré 92430 Marnes La Coquette
Secrétariat du GEAI : tel : 01 47 95 62 56 - fax : 01 47 95 62 20
Email : benedicte_guyot@bio-rad.com
Conception et réalisation GRAPHIC WAY : 01 58 04 90 90

BIO-RAD