

Cas clinique anticorps anti-NXP2

Morgane Gossez , Nicole Fabien

Service d'immunologie

Marianne Levesque, Chahera Khouatra

Service de pneumologie, Hôpital cardiologique

Hospices Civils de Lyon

GEAI 21 03 2013

- Mme L., née le 28/05/1970
- **ATCD**
 - **DID** découvert à l'âge de 18 mois
 - Bien équilibré depuis des années: HbA1c \approx 6,5 %
 - Episodes réguliers d'hypoglycémies
 - **Complications microangiopathiques**
 - Glaucome aigu de l'œil D: néovascularisation et décollement de rétine
 - Enucléation et prothèse
 - Rétinopathie stade IV panphotocoagulée de l'œil G
 - DID chez sa sœur à 4 ans
 - **Lithiases rénales** bilatérales à plusieurs reprises entre 1998 et 2002
 - Traitement par lithotripsie extracorporelle
 - Thyroïdectomie partielle (nodule)

- **Février 2008**

- **Lésions cutanées :**

- *Petits nodules* sur les faces latérales des bras, cuisses, fesses.
 - Lésions périphériques de *couleur orangée*

- Muqueuses N, ganglions N

- Biologie

- ECA = 91,1 UI/L (N < 68 UI/L)
 - Lysozyme = 18,9 mg/L (N = 9,5-17,1 mg/L)
 - CK = 49 UI/L (N = 30-125 UI/L)



→ **Sarcoïdose cutanée?**

- **Février 2008**

- **Biopsie cutanée** en juin 2008:

- Inflammation épithélioïde géantocellulaire en plusieurs nodules**

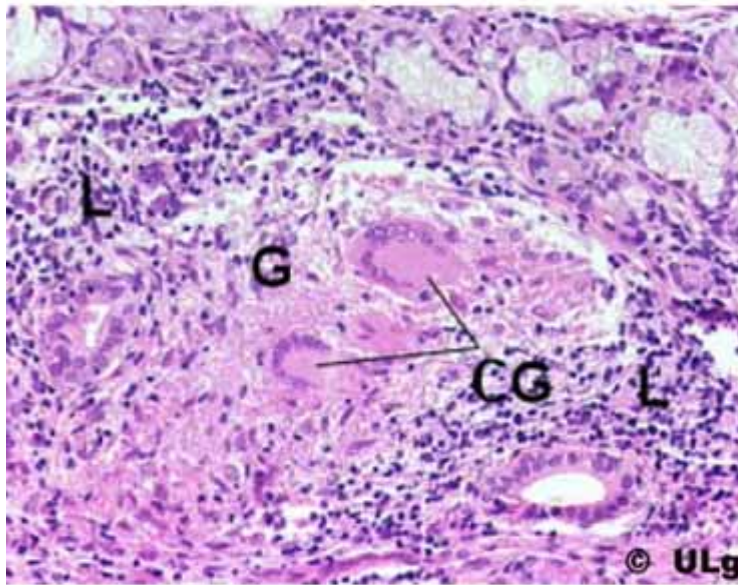
- **IDR négatif**

- Bilan d'extension: examen CV, pulm et abdo N

→ SARCOIDOSE CUTANEE sans argument pour atteinte systémique

SARCOÏDOSE

- Affection multisystémique d'étiologie inconnue caractérisée par la présence **de granulomes épithélioïdes non caséux** ⁽¹⁾
 - **BIOPSIE**: Couronne lymphocytaire entourant follicule central constitué essentiellement de cellules épithélioïdes associées à des cellules géantes et quelques lymphocytes.
 - Cellules épithélioïdes = macrophages activés
 - Cellules géantes multinucléées = fusion de cellules épithélioïdes



(1)

E : épithélium

C : chorion

L : cellules lymphoïdes

CG : cellules géantes pluri-nucléées

G : granulomes

(7)

SARCOÏDOSE

- Diagnostic
 - Clinique + histologie (1)
 - Exclusion d'autres «granulomatoses»
- Quelques examens complémentaires:
 - IDR
 - ECA
 - Existence et activité des granulomes
 - Réponse thérapeutique
 - Peu spécifique
 - Bilan d'extension

Tableau 3. Classification et causes des maladies granulomateuses
Adapté de Newman LS, Rose CS, Maier LA. N Engl J Med 1997;336:1224-34.

Cause	Exemples de maladie	Critères utilisés pour la différenciation avec la sarcoïdose
Maladies infectieuses	Mycobactéries : Tbc, mycobactéries atypiques	Coloration de Ziehl, culture, PCR
	Mycoses : – Histoplasmose – Coccidiomycose	Anamnèse d'exposition, culture, présence d'antigène urinaire positif pour histoplasmose Anamnèse d'exposition, culture, sérologie, test cutané
	Bactéries : – Brucellose – Chlamydia – Tularémie	Anamnèse d'exposition, culture, sérologie Sérologie, culture Anamnèse d'exposition, analyse sérologique
	Spirochètes : Syphilis	VDRL, TPHA
	Parasites : – Leishmaniose – Toxoplasmose	Frottis, culture Sérologie, démonstration histologique de l'organisme
Causes professionnelles, environnementales et médicamenteuses Agents organiques ou inorganiques	Pneumopathies d'hypersensibilité par inhalation d'allergènes organiques et inorganiques (bactéries, mycoses, protéines animales, isocyanates)	Anamnèse d'exposition professionnelle ou environnementale, précipitines
	Bérylliose	Anamnèse d'exposition professionnelle ou environnementale, test de prolifération lymphocytaire (sang et LBA)
	Affections granulomateuses liées à d'autres métaux : titanium, aluminium, zirconium	Anamnèse d'exposition professionnelle ou environnementale, recherche métaux dans les tissus
	Talc	Présence de particules biréfringentes et de granulomes hypocellulaires à corps étrangers
	Pneumopathies médicamenteuses : amiodarone, méthotrexate	Anamnèse d'utilisation de méthotrexate ou d'amiodarone
Néoplasies	Lymphome	Histologie
	Tumeurs solides avec granulomateuse loco-régionale	Histologie, association spatiale de granulomes avec la tumeur à la biopsie
Maladies autoimmunes	Granulomateuse de Wegener	Présence d'ANCA, mise en évidence de vasculite granulomateuse ou d'atteinte vasculaire à la biopsie
	Syndrome de Churg-Strauss	Eosinophilie sanguine, vasculite éosinophilique à la biopsie, présence d'ANCA (rare, mais possible)
	Cirrhose biliaire primitive	Anticorps anti-mitochondries, prédominance de l'atteinte biliaire
Autres	Sarcoïdose	
	Maladie de Crohn	Prédominance de l'atteinte digestive

SARCOÏDOSE

- Formes cutanées
 - Dans 25% cas
 - Peuvent être inaugurales +++
 - Recherche d'atteinte systémique régulière si atteinte cutanée isolée



Petits nodules



Gros nodules



Forme en
plaque

- **Traitement de la patiente par dermocorticoïdes**
 - Diprosone inefficace
 - Aggravation des anciennes lésions cutanées: nodules confluents en petites plaques pigmentées et violacées
 - Apparition de nouveaux nodules sous-cutanés sur avant-bras et abdomen
 - ECA = 86,40 UI/L
 - **Apparition d'une dyspnée de stade I**
 - Aspect de **sarcoïdose pulmonaire** (scanner TAP)
 - Infiltration pulmonaire nodulaire et micronodulaire
 - Lésion nodulaire du Fowler gauche suspecte
 - Adénopathies médiastinales

Envisager traitement par **antipaludéen de synthèse? Corticoïdes vo?**

→ Non retenu du fait des El oculaires⁽¹⁾

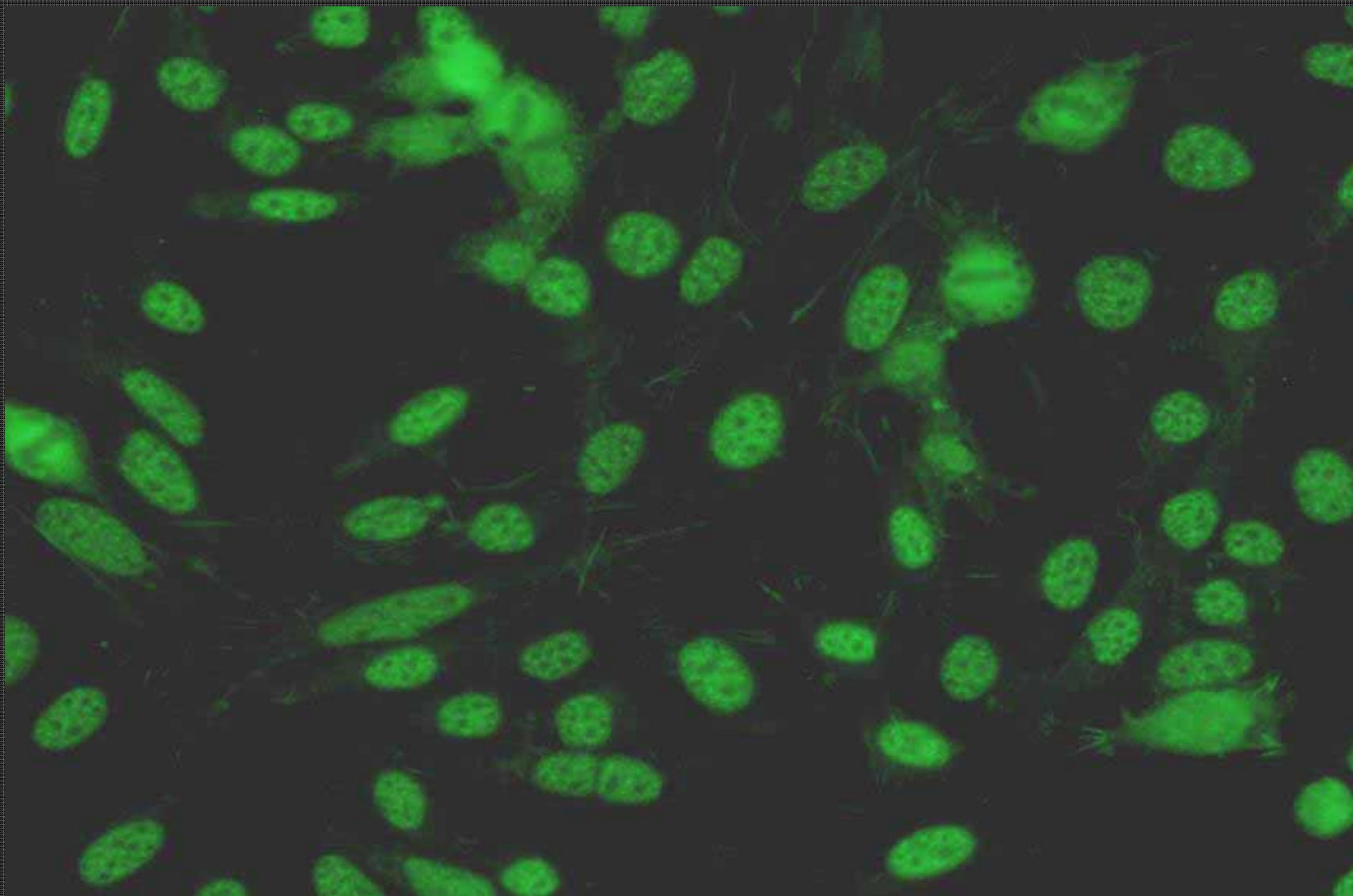
→ Stade I = abstention thérapeutique

Tableau 1. Classification de la sarcoïdose pulmonaire à la radiographie thoracique

Stade	Aspect radiologique	Fréquence
0	Radiographie thoracique normale	5-10%
1	Adénopathies hilaires bilatérales	50%
II	Adénopathies hilaires bilatérales et infiltrat interstitiel	25%
III	Infiltrat interstitiel seul (sans fibrose pulmonaire)	15%
IV	Fibrose pulmonaire	5-10%

- Septembre 2011: service de rhumatologie
 - Douleurs du rachis cervical irradiant aux deux épaules d'horaire mécanique depuis **début juillet**
 - Apparition deux jours après avoir porté sa fille de 12 kg sur les épaules
 - Kiné peu efficace
 - Pas de raideur articulaire ni rupture tendineuse
 - **contracture des trapèzes**
 - Biologie:
 - Pas de sd inflammatoire
 - **Dosage des auto-anticorps**

Dépistage: ANA= 1600 moucheté



○ Identification:

Anti-ADN natif

anti-ADNdb	Résultat
FARR	<4.0
ADNL	1.0 Négatif
CHROML	<0.2

Anticorps associés aux myosites ou au syndrome de chevauchement sclérodermie/myosite

Analyse	Résultat (UA/mL)
SSA60	<0.2
SSBL	<0.2
SSML	<0.2
SSRNL	<0.2
RNP68L	<0.2
RPNAL	<0.2
SCLL	<0.2
<u>JO1L</u>	<0.2
CENB	<0.2
RIBL	<0.2
<u>PL7D</u>	Négatif
<u>PL12</u>	Négatif
Mi2	Négatif
<u>ANTIOJ</u>	Négatif
<u>ANTIEJ</u>	Négatif
Ku	Négatif
PMScl	Négatif
SRP	Négatif

Anti-antigènes nucléaires solubles = anti-ENA et autres cibles antigéniques

❖ Dépistage: Anticorps anti-cytoplasme des PNN (ANCA)

Analyse	Résultat
ANCA	Négatif

❖ Dépistage: Anticorps anti-peptides citrullinés

Analyse	Résultat
CCP	0.5 négatif

→ Pas d'arguments biologiques en faveur

→ d'une maladie lupique

→ d'une PR

→ d'une vascularite

→ d'une myosite

→ ANA / Diabète de Type 1

→ Cervicalgies d'origine disco-arthrosique

- Antalgiques

- **Novembre 2011**

- Aggravation de la symptomatologie

- Cervicalgies → deux bras
 - **Cruralgies avec faiblesse musculaire et paresthésie dans les 4 membres**
 - Impotence fonctionnelle
 - Périmètre de marche limité à 500m – 1km
 - Mouvements d'accroupissement très difficiles
 - Pas de déficit moteur
 - Douleurs 8/10 EVA, réveil nocturne et ↑ en fin de journée
 - IRM cervicale: lésions disarthrosiques modérées

– CS dermato

- **Eruption cutanée du visage** de type érythème violacé avec lésions prurigineuses
 - Apparition fin juillet/août
- Léger **en V du décolleté** et petit **signe de la manucure**



Erythème péri-unguéal et lésions d'allure vasculaire de la pulpe des doigts

→ Dermatomyosite?

DERMATOMYOSITE

- Maladie systémique caractérisée par
 - Inflammation chronique des muscles striés
 - Atrophie musculaire et lésions irréversibles des organes touchés
 - Biopsie musculaire +++
 - Exclusion des autres myopathies
 - Macrophages, LT CD4+, rares LB autour des vaisseaux et du périnysium
 - Dépôt du CAM sur vaisseaux sanguins
 - Eruption cutanée typique
- Incidence : $7 / 10^6$
- Ration homme/femme = 1/2,5
- Associée à certaines tumeurs

DERMATOMYOSITE

Affected organ	Clinical manifestation	Frequency
Skeletal muscles	Muscle weakness , particularly proximal extremities	100%
Oesophageal muscles	Dysphagia	30%
Pharyngeal muscles	Nasal voice	<30%
Breathing muscles	Respiratory difficulties	<30%
Lungs	Alveolitis, interstitial pulmonary fibrosis	30-80%
Heart	ECG abnormalities, myocarditis, rhythm disturbance	<30%
Joints	Arthralgia, arthritis	50%
Skin	<p>Cutaneous rash</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pathognomonic - Gottron's papules - Heliotrope rash - Other skin changes include « mechanics hands », « V sign » chest rash, « Shawl sign », erythroderma, naifold capillary changes and cuticular overgrowth, panniculitis and other. 	<p>100%</p> <p>60-80%</p> <p><50%</p>
Vascular	Raynaud's phenomenon	< 30%
Constitutional	Fatigue , fever, weight loss	<30 %

(3)



– Recherche de **signes associés**:

- Fatigue, perte de poids (36kg)
- Pas de syndrome de Raynaud
- Pas de papules de Gottron
- Pas de photosensibilité



- **Lésion croûteuse voire nécrotique** avec un halo érythémateux périphérique au niveau du pavillon de **l'oreille**
→ évocateur d'une vascularite

➔ **Lésions cutanées peu évocatrices d'une sarcoïdose cutanée**

- Régression rapide des lésions sous dermocorticoïdes: sarcoïdose???
- **Dermatomyosite ? Lupus ?**

– Biologie:

- ECA = 103 UI/L
 - **CPK = 1700 UI/L** (N = 26-192 UI/L)
 - **Aldolase = 27 UI/L** (N = 4-8,5 UI/L)
- } Souffrance musculaire

– Bilan étiologique

- Examen cardiaque, pulmonaire, abdo et neuro N: recherche de **néoplasie sous-jacente négative**
- **EMG des deltoïdes**: atteinte myositique prédominante sur la ceinture scapulaire associée à légère neuropathie sensitive sûrement due au DID
- **Biopsie musculaire du deltoïde**:
 - Contexte de sarcoïdose et ECA ↑: ! à myosite satellite de sarcoïdose
 - Pas de lésions granulomateuses intramusculaires

➔ Aspect caractéristique de **dermatomyosite**

Examen histopathologique :

Après fixation dans l'AFA et techniques de colorations usuelles par HPS :

1-Facia :

La structure étant discrètement hypertrophique et douloureuse lors du prélèvement biopsique, un fragment a été prélevé. Il existe une discrète infiltration inflammatoire mixte comportant des lymphocytes, plasmocytes et des macrophages. Des aspects de microvascularite sont notés sans nécrose des parois vasculaires. Il n'a pas été vu d'infiltrat à polynucléaires en particulier pas de polynucléaires éosinophiles. Ces lésions restent focales et relativement discrètes.

2-Biopsie musculaire :

Après fixation dans l'AFA, un fragment de muscle coupé transversalement a été examiné selon deux plans de coupe semi sériée. Il existe une inégalité de taille des fibres avec quelques fibres atrophiques et anguleuses dispersées au hasard dans la préparation, ou parfois disposés dans les régions périfasciculaires.

Quelques fibres en voie de nécrose sont objectivées parfois avec myophagie et régénération.

Les centralisations nucléaires sont nombreuses souvent multiples dans les fibres. Des infiltrats inflammatoires sont notés, le plus souvent dans le périmysium avec des aspects de vascularite non nécrosante. Ces infiltrats sont composés majoritairement de lymphocytes, associés à des plasmocytes et des macrophages. Il n'a pas été vu de polynucléaire.

Enfin il existe dans certaines zones les plus inflammatoires une ébauche de fibrose interstitielle endomysiale et périmysiale du tissu musculaire.

Après techniques immunohistochimiques sur coupes fixées de nombreux infiltrats inflammatoires lymphocytaires sont observés (CD45) surtout situé dans le périmysium et entourant les capillaires. Ils sont composés par une prédominance de lymphocytes B (CD20), associés à des lymphocytes T (CD3) dont de rares T8 (CD8). Les macrophages (CD68) sont éparpillés dans la préparation.

Conclusion :

Lésion de myosite de type dermatomyosite confirmée.

Il existe quelques aspects discrets de fascite associée.

Les coupes en congélation seront analysées secondairement.

– Traitement:

- **Corticothérapie** 1 mg/kg/j + **MTX** 15mg/sem

- Nette amélioration des douleurs musculaires et articulaires

- Normalisation des CPK

- Persistance des lésions du visage et érythème péri-unguéal

- ↓ de la corticothérapie

- **Janvier 2012**

- **Troubles de la déglutition** avec dysphagie

- Manométrie oesophagienne prescrite: DM?

- **Disparition des symptômes** avec arrêt de l'Actonel[®] vo remplacé par Aclasta[®] injectable

- **Février 2012**

- Hospitalisation pour **insuffisance respiratoire aigüe**

- Toux d'aggravation progressive et dyspnée depuis 3 semaines
- Fièvre = 38°C

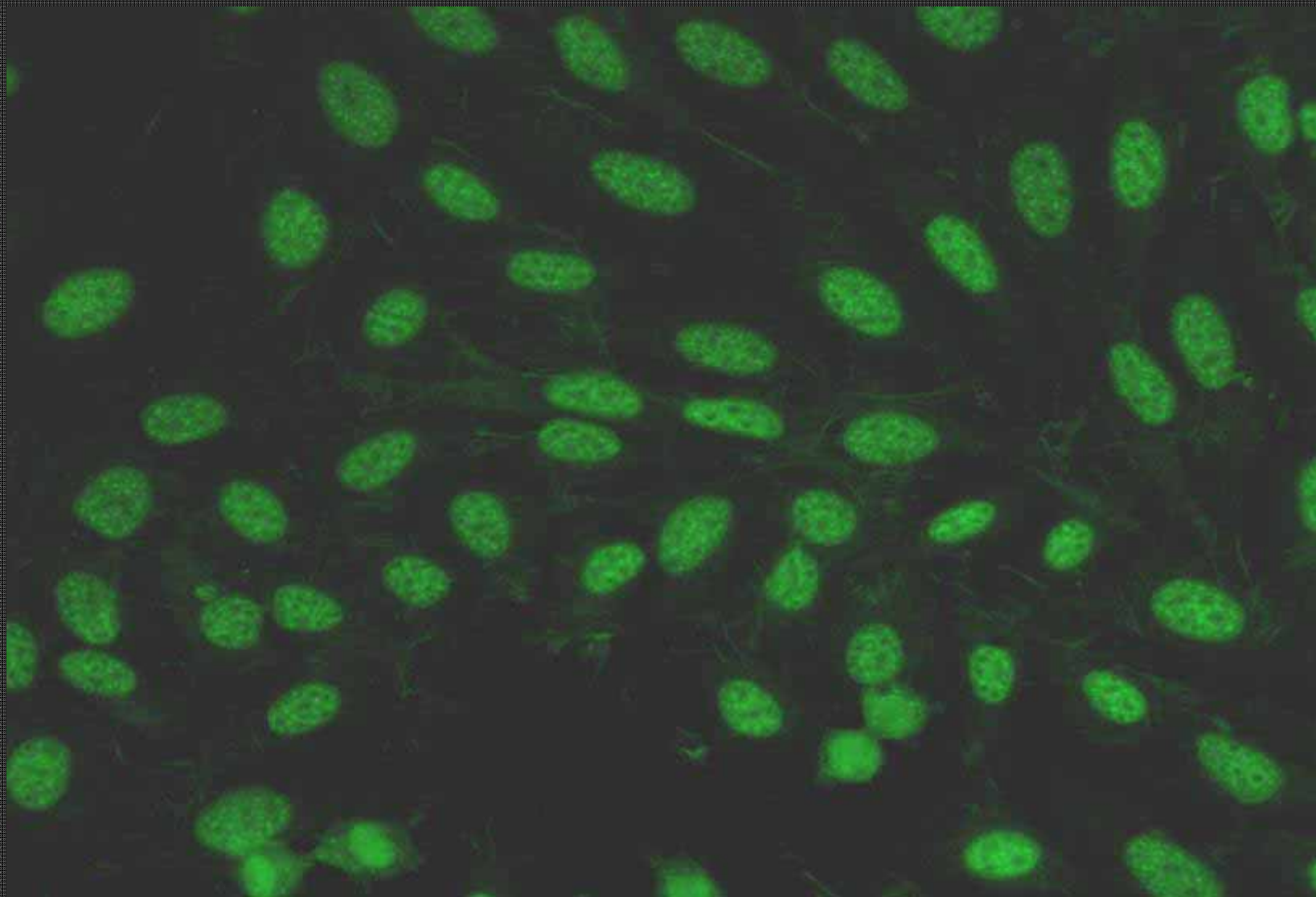
- 2 ttt ATB mis en échec

- Hypoxie = 31 mmHg et hypocapnie = 31 mmHg
- Râles crépitants des deux bases
- Scanner: bloc pneumonique des 2 lobes inférieurs avec épanchement pleural modéré

- **Pleuropneumopathie liée à la dermatomyosite**

- ↑ posologie de méthylprednisolone et introduction de Cellcept[®] en relais du MTX

ANA= 800 moucheté



anti-ADNdb	Résultat
FARR	<4.0
ADNL	1.0 Négatif
CHROML	<0.2

Anti-ADN natif

Analyse	Résultat (UA/mL)
SSA60	<0.2
SSBL	<0.2
SSML	<0.2
SSRNL	<0.2
RNP68L	<0.2
RPNAL	<0.2
SCLL	<0.2
JO1L	<0.2
CENB	<0.2
RIBL	<0.2
TRIM 21	<0.2
PL7D	Négatif
PL12	Négatif
Mi2	Négatif
ANTIOJ	Négatif
ANTIEJ	Négatif
Ku	Négatif
PMScI	Négatif
SRP	Négatif

Anti-antigènes nucléaires solubles = anti-ENA et autres cibles antigéniques

❖ Dépistage: Anticorps anti-cytoplasme des PNN (ANCA)

Analyse	Résultat
ANCA	Négatif

❖ Dépistage: Anticorps anti-peptides citrullinés

Analyse	Résultat
CCP	0.5

❖ Dépistage: Anticorps des hépatopathies auto-immunes

Analyse	Résultat
ACTINE	200 pos
MITOCHONDRIES	Négatif
LKM	Négatif

bilan hépatique Normal

Analyse	Résultat
MDA-5	Négatif
NXP2 = anti-p140/MJ	positif

Autres anticorps rares

Research Myositis
EUROLINE

is only for experimental re
s with the EUROlineScan

N°	Patient / Examen	Lot	Membranes
1	1200519375		MDA-5, NXP2, SAE1, SAE2, HMGCrs, HMGCR, MI2a
2	120043199		MDA-5, NXP2, SAE1, SAE2, HMGCrs, HMGCR, MI2a
3			
4			

NXP2

- **Evolution**

- Favorable

- Disparition des douleurs articulaires, musculaires, des gonflements des articulations
 - Disparition de la dyspnée et toux
 - Reprise de poids
 - DID stable

- Persistance

- Quelques douleurs musculaires des MI
 - Soulagées par paracétamol
 - CPK N
 - Discret érythème périunguéal indolore persistant
 - Discrète fatiguabilité musculaire
 - Mais 10km de vélo /j

- Douleurs abdominales et GGT ↑ isolément = 80UI/L

- Ttt par Cellcept: ↓ posologie
 - Cellcept 2/j alterné avec 1/j + 20mg cortancyl/j

Nuclear matrix Protein = NXP2

Gène KIAA0136 → protéine de **140 kDa**, 939 AA

MORC3: microrchidia family CW-type zinc-finger 3

Zinc finger CW-type coiled-coil domain protein 3

Localisation

nucléaire sauf dans les nucléoles **associée à la matrice nucléaire**
dans les promyelocytic leukemia nuclear bodies (**corps PML**) /sp100

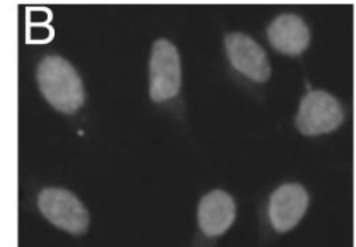
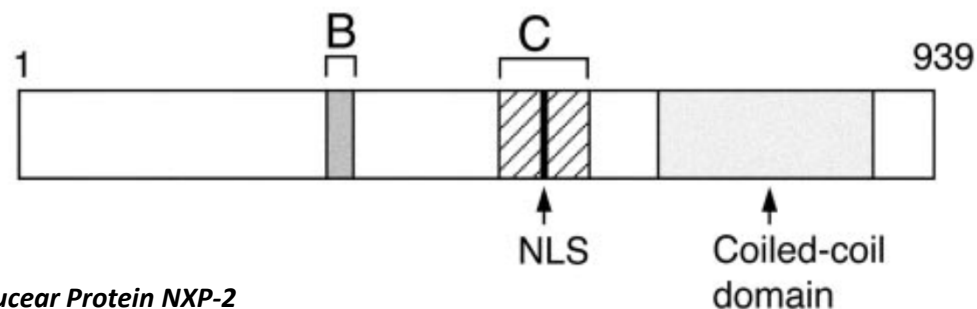
Expression cytoplasmique

Dans plusieurs tissus: muscle squelettique, pancréas, rein, neurones
estomac ,placenta, cœur

– 3 régions distinctes

- AA 326-353: liaison à la matrice nucléaire (B)
- AA 500-591: liaison à l'ARN (C)
- AA 682-876: domaine « coiled-coil »

→ Association à la r



Rnase A

NXP2

Métabolisme de l'ARN

Maintien de l'architecture nucléaire

Phosphorylation

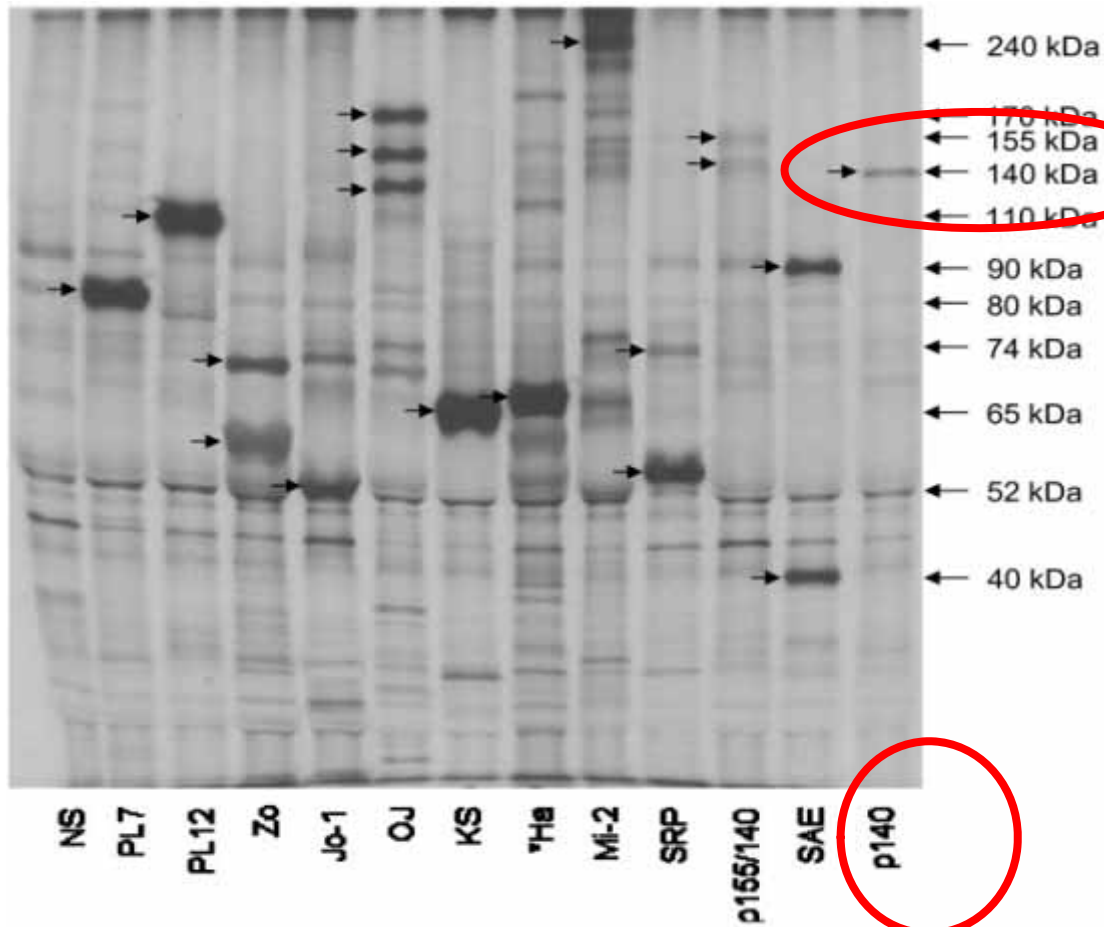
Régulation de la transcription (activité de répression) ...

Inhibition prolifération des fibroblastes

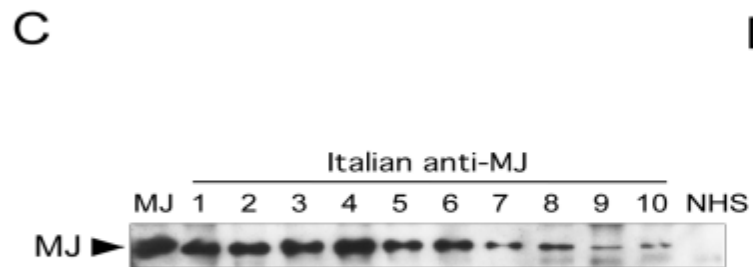
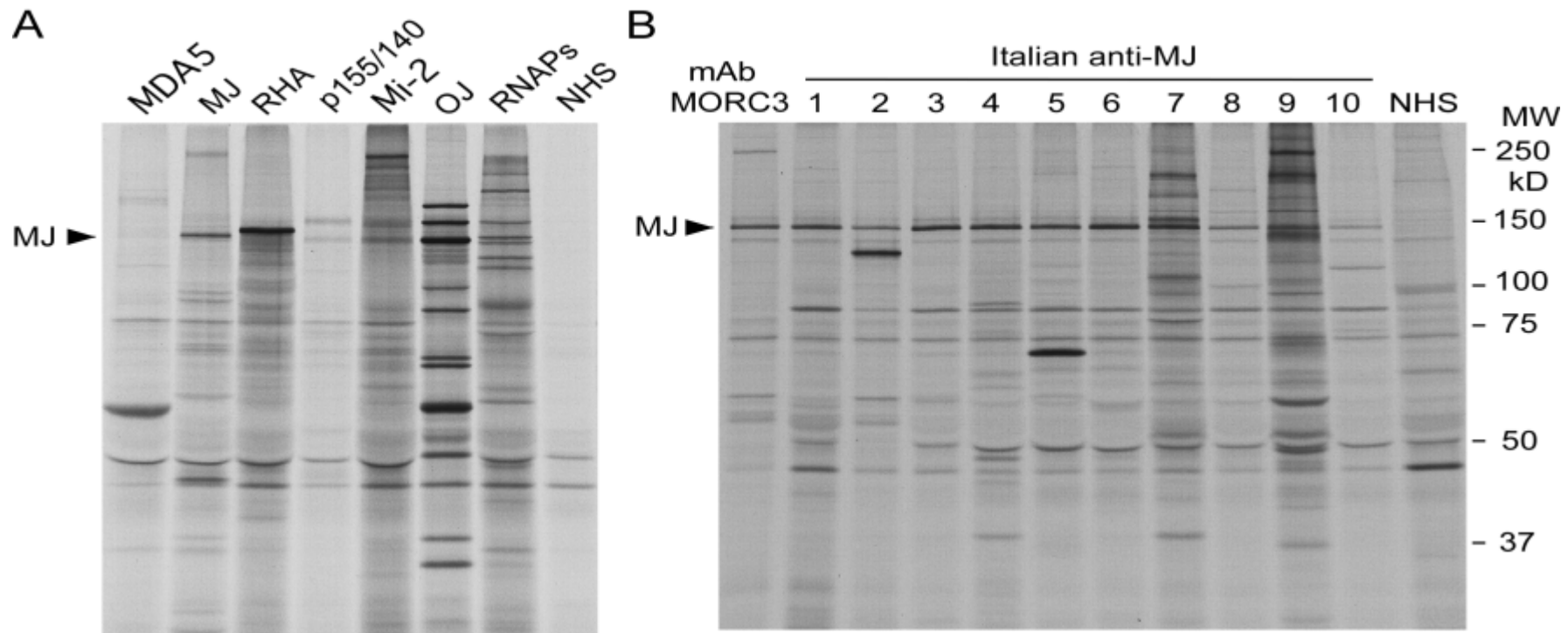
Active protéine p53

Substrat des enzymes de la famille des protéines SUMO (small ubiquitin-like modifier) responsables des « sumoylations » = liaison des protéines SUMO à une lysine présente dans diverses cibles qui ont un rôle dans la régulation de la transcription

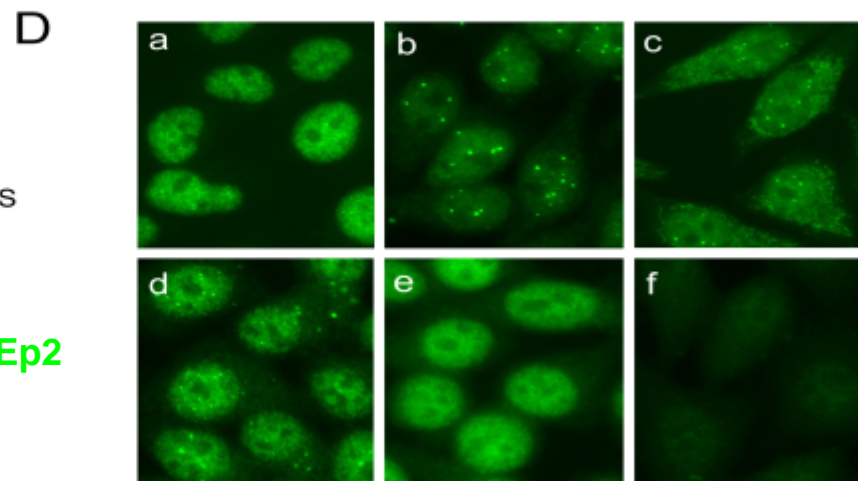
Autoanticorps anti-p140/MJ (myositis juvenile) (NXP2): technique de détection



Technique IP: extrait cellules K562
Technique ELISA capture (ac anti-MORC3 (MBL))
Technique de dot: NXP2 recombinant



Aspect en IFI sur cellules HEp2



D. Immunofluorescence staining of anti-MJ positive sera. HEp-2 slides were stained with mouse anti-MORC3 monoclonal antibody (a), human anti-MJ (+) sera (b) to (e), or normal human serum (f). Serum dilution, 1:80.

Anticorps anti-NXP2 = Anti-p140/MJ

Dermatomyosite juvénile: 18% à 28% cas

- Phénotype clinique distinct
 - Calcinose (54% vs 15% pour les patients sans NXP2)
 - Contractures et atrophie musculaire sévères
 - Vasculites intestinales
- = **marqueur de sévérité**

Polymyosites/Dermatomyosites de l'adulte : 2-**17%**

Polymyosites de l'adulte : **8%**

Dermatomyosites de l'adulte : 2-**30%**

= **marqueur de sévérité : atteinte pulmonaire, cancers associés**

Ceribelli et al. Arthritis Research & Therapy 2012, 14:R97

Bonne réponse thérapeutique

Oddis CV, Fertig N, Goel A, Espada G, Confalone Gregorian M, Maldonado Cocco JA, Londino AV: Clinical and serological characterization of the anti-MJ antibody in childhood myositis. *Arthritis Rheum* 1997, 40:S139.

Gunawardena H, Wedderburn LR, Chinoy H, Betteridge ZE, North J, Ollier WE, Cooper RG, Oddis CV, Ramanan AV, Davidson JE, McHugh NJ: Autoantibodies to a 140-kd protein in juvenile dermatomyositis are associated with calcinosis. *Arthritis Rheum* 2009, 60:1807-1814.

Espada G, Maldonado Cocco JA, Fertig N, Oddis CV: Clinical and serologic characterization of an Argentine pediatric myositis cohort: identification of a novel autoantibody (anti-MJ) to a 142-kDa protein. *J Rheumatol* 2009, 36:2547-2551.

Targoff IN, Trieu EP, Levy-Neto M, Fertig N, Oddis CV: Sera with autoantibodies to the MJ antigen react with NXP2. *Arthritis Rheum* 2007, 56:S787.

Mimura Y, Takahashi K, Kawata K, Akazawa T, Inoue N: Two-step colocalization of MORC3 with PML nuclear bodies. *J Cell Sci* 2010, 123:2014-2024.

Kimura Y, Sakai F, Nakano O, Kisaki O, Sugimoto H, Sawamura T, Sadano H, Osumi T: The newly identified human nuclear protein NXP-2 possesses three distinct domains, the nuclear matrix-binding, RNA-binding, and coiled-coil domains. *J Biol Chem* 2002, 277:20611-20617.

Takahashi K, Yoshida N, Murakami N, Kawata K, Ishizaki H, Tanaka-Okamoto M, Miyoshi J, Zinn AR, Shime H, Inoue N: Dynamic regulation of p53 subnuclear localization and senescence by MORC3. *Mol Biol Cell* 2007, 18:1701-1709.

Betteridge ZE, Gunawardena H, Chinoy H, Venkovsky J, Allard SA, Gordon PA, Cooper RG, McHugh NJ: Autoantibodies to the p140 autoantigen NXP-2 in adult dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2009, 60:S304.

Ichimura Y, Matsushita T, Hamaguchi Y, Kaji K, Hasegawa M, Tanino Y, Inokoshi Y, Kawai K, Kanekura T, Habuchi M, Igarashi A, Sogame R, Hashimoto T, Koga T, Nishino A, Ishiguro N, Sugimoto N, Aoki R, Ando N, Abe T, Kanda T, Kuwana M, Takehara K, Fujimoto M: Anti-NXP2 autoantibodies in adult patients with idiopathic inflammatory myopathies: possible association with malignancy. *Ann Rheum Dis* 2012, 71:710-13.

Yamasaki Y, Narain S, Yoshida H, Hernandez L, Barker T, Hahn PC, Sobel ES, Richards HB, Chan EKL, Reeves WH, Satoh M: Autoantibodies to RNA helicase A: A new serological marker of early lupus. *Arthritis Rheum* 2007, 56:596-604.

Ishov AM, Sotnikov AG, Negorev D, Vladimirova OV, Neff N, Kamitani T, Yeh ET, Strauss JF, Maul GG: PML is critical for ND10 formation and recruits the PML-interacting protein daxx to this nuclear structure when modified by SUMO-1. *J Cell Biol* 1999, 147:221-234.

Gunawardena H, Wedderburn LR, North J, Betteridge Z, Dunphy J, Chinoy H, Davidson JE, Cooper RG, McHugh NJ: Clinical associations of autoantibodies to a p155/140 kDa doublet protein in juvenile dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)* 2008, 47:324-328.

Ceribelli ALY, Cavazzana I, Franceschini F, Ross SJ, Chan JYF, Pauley BA, Sobel ES, Reeves WH, Chan EKL, et al: Distinctive pattern of myositis-specific autoantibody production between American Caucasian and Italian patients with polymyositis/dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2011, 63:S232.

Rosendorff A, Sakakibara S, Lu S, Kieff E, Xuan Y, DiBacco A, Shi Y, Gill G: NXP-2 association with SUMO-2 depends on lysines required for transcriptional repression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006, 103:5308-5313.