

Les anticorps dans les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI)

Catherine JOHANET

Département d'Immunologie Biologique,
Hôpitaux Universitaires Est Parisien, site Saint-Antoine



ANTICORPS DES MICI

Rectocolite Hémorragique

- **ANCA**

pANCA atypiques

x-ANCA

NANA (nuclear associated
neutrophil antibodies)

- **Ac anti-cellules
caliciformes de l'intestin**

Maladie de Crohn

- **ASCA IgA et/ou IgG**

- **Ac Anti-pancréas exocrine**

- **Ac anti-antigènes microbiens:**

Ac anti-*mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP)

Ac anti-porine OmpC de *Echerichia coli*

Ac anti-séquence I2 du *Pseudomonas fluorescens*

Ac anti-flagelline CBir1

Ac anti-flagelline A4-Fla2, Fla-X

- **Ac anti-glycans**

Ac antilaminaribioside carbohydrate IgG (ALCA)

Ac antichitobioside carbohydrate IgA (ACCA)

Ac anti-synthétique manoside (A Σ Ma ou AMCA)

Ac anti-chitine carbohydrate (anti-C)

Ac anti-laminarine carbohydrate (anti-L)



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

Le diagnostic des MICI repose principalement sur l'endoscopie

La classification des MICI de Montréal en 2006: basée sur des critères anatomiques

L'utilisation des Ac n'y est pas recommandée du fait de leur sensibilités modérées

classification de Paris en 2011 (enfant) → ASCA et anti-CBir1 évoqués mais non inclus dans les critères

Intérêt sur un plan pronostique:



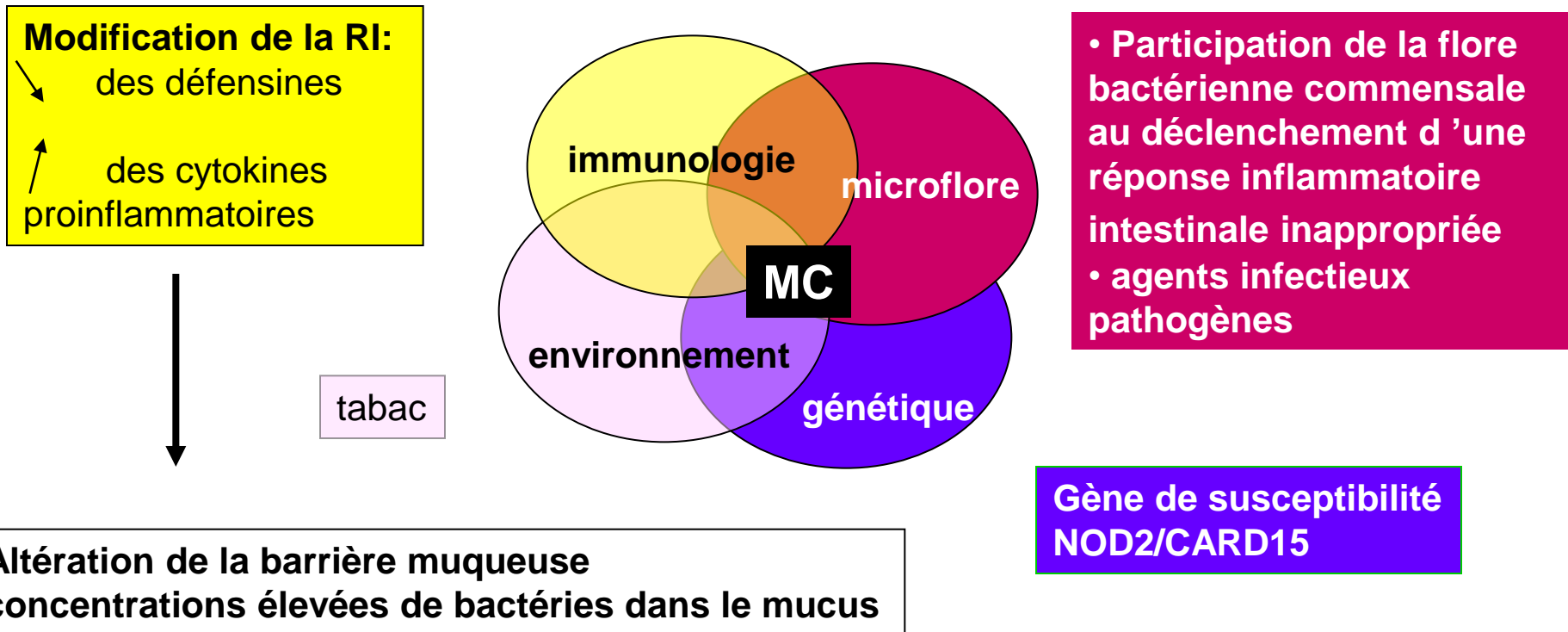
Individualisation de sous-types de MC avec des profils évolutifs différents



Ac anti-antigènes microbiens

Interactions multifactorielles de la MC: rôle de la microflore suspectée

Ac anti-antigènes microbiens = reflet de la réponse immune anormale entre l'hôte et la flore commensale



CIBLES ANTIGENIQUES

ET

METHODES DE DETECTION



ANCA: CIBLES ANTIGENIQUES

ANTIGENES CYTOPLASMIQUES

Lactoferrin , BPI , Cathepsin G, Elastase, α Enolase , Catalase , h-Lamp.2, PR3

TBB5 : Tubuline - β isoforme 5
(Terjung et al, Clin Rev Allergy Immunol, 2009)

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

ANTIGENES NUCLEAIRES (NANA)

Protéines HMG1 , 2 (high mobility group)
Histone H1
Lamin B1-like 50KD: composant interne de la membrane nucléaire des PN et cellules myéloïdes

Complexe Lactoferrine-DNA
(Teegen et al, Ann N Y Acad Sci, 2009)

Cibles récemment identifiées



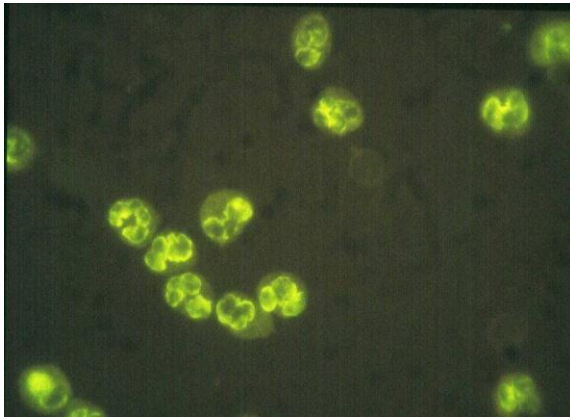
ANCA: DETECTION

test de référence: polynucléaires humains fixés à l'éthanol

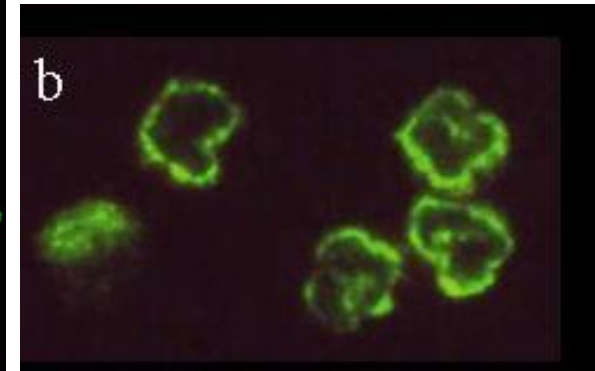
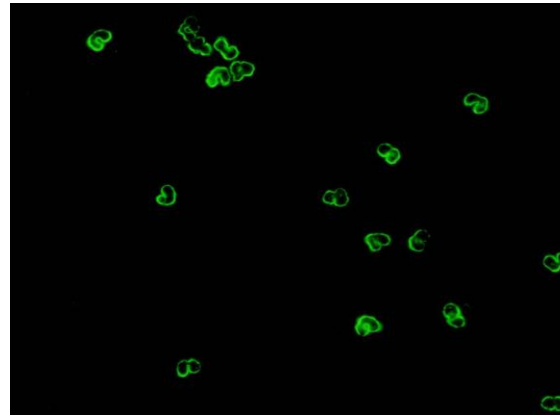
Isotype recherché: IgG

seuil de positivité: dilution 1/40

P-ANCA typique:
fluorescence périnucléaire
épaisse



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



Formol: cytoplasmique
Méthanol: négatif

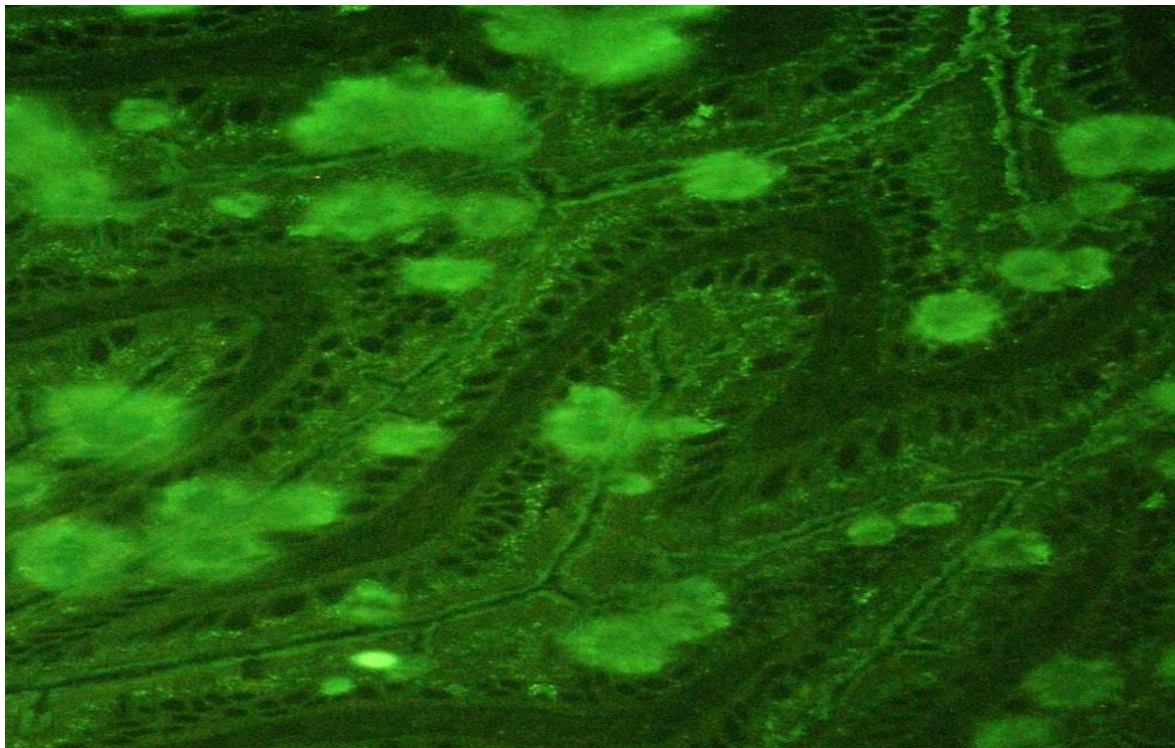
Formol: négatif
Méthanol: périnucléaire



Ac anti-cellules caliciformes de l'intestin

IFI sur coupe de jejunum

Isotype IgG



N Fabien
CHU Lyon



ASCA: cible antigénique, détection

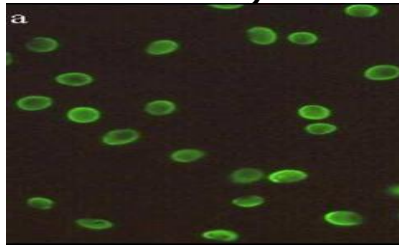
Antigène

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

détection

IFI

- Frottis fixés de *Saccharomyces cerevisiae*



Fluorescence de la paroi des levures

ELISA

Immuno dot

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

Concordance entre les différentes techniques: étude multicentrique GEAI 2003

Sensibilité et spécificité pour les MC comparable (245 patients)

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



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

Ac anti-pancréas exocrine: cible antigénique, détection

Antigènes

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

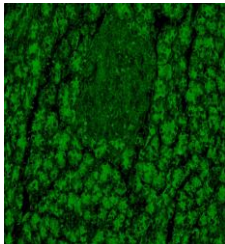
Glycoprotéines GP2 et CUZD1 (CUB/zona pellucida like domain- containing protein)

Glycoprotéine GP2 également exprimé au niveau de la membrane des entérocytes

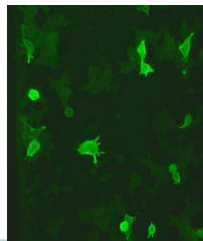
Détection:

IFI

- coupe de pancréas humain



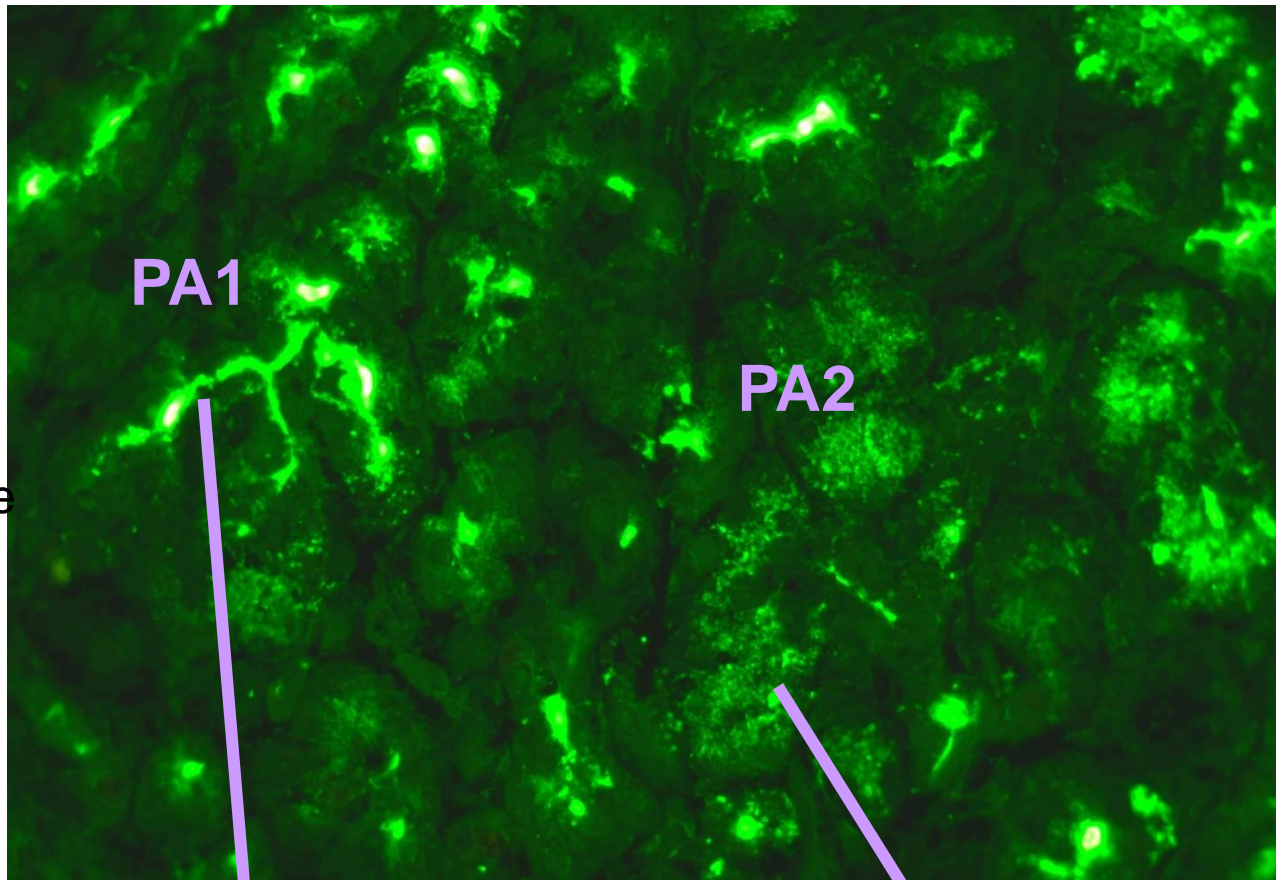
- cellules transfectées



ELISA

Antigène: GP2 recombinant





PA1

PA2

Grosses gouttelettes de sécrétion qui sortent des acinis

Petits grains cytoplasmiques dans les acinis

GP2

CUZD1

Zymogen Granule Membrane Glycoprotein

CUB/Zona Pellucida Like Domain Containing Protein



Ac anti-antigènes microbiens et anti-glycans: DETECTION

Anticorps	Cible antigénique	Détection
Anti-OmpC	Porine C de Escherichia coli	ELISA
Anti-I2	Sequence I2 de pseudomonas fluorescens	ELISA
Anti-CBir1	flagelline	ELISA
Anti-A4-Fla2	flagelline	ELISA
Anti-Fla-X	flagelline	ELISA
Anti-MAP	Proteines P35, P36, IS900GST	ELISA
ALCA	Laminarobioside: résidus de glucose	ELISA
ACCA	Chitobioside: résidus de N acétyl-glucosamide	ELISA
AMCA	Mannobioside: résidus de mannose et de glucose	ELISA
Anti-C	chitine	ELISA
Anti-L	laminarine	ELISA



Intérêt à rechercher ces marqueurs sérologiques?

- ➔ Dans le diagnostic des MICI
- ➔ Dans le diagnostic différentiel entre RCH et MC



Ac: marqueurs diagnostiques des MICI

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

Anticorps	MC	RCH	Contrôles sains
ANCA	2 à 29%	31 à 80%	0 à 3%
ASCA	27 à 81%	5 à 27%	0 à 5%
Anti-cellules caliciformes	33% Enfant, 2%	29% Enfant, 12%	3% Enfant, 2%
Anti-PEX	15 à 37%	2 à 8%	0 à 2%
Anti-OmpC	22 à 56%	5 à 11%	5%
Anti-I2	26 à 59%	10%	4 à 10%
Anti-flagelline	53 à 56%	4 à 6%	8%
Anti-MAP	37 à 89%	10 à 34%	0 à 34%
ALCA	19 à 27%	4 à 7%	2%
ACCA /AMCA	10 à 31%	5 à 18%	12 à 15%
Anti-C / anti-L	10 à 26%	2 à 10%	2 à 10%



Ac: marqueurs diagnostiques des MICI

→ Ac présents dans d'autres pathologies

ANCA

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

ASCA

- maladie coeliaque en phase active
- maladie de Behcet
- cholangite sclérosante primitive
- cirrhose biliaire primitive
- HAI-1
- spondylarthrite ankylosante

Anti-antigènes microbiens

- Maladie coeliaque en phase active (anti-I2, anti-OmpC, anti-MAP)
- spondylarthrite ankylosante (anti-I2)
- intestin irritable post-infectieux (anti-flagelline A4-FLa2, FlaX: 27%)

Anti-glycans

- Maladie coeliaque en phase active

→ **Utilité des Ac reste modérée dans le dépistage des MICI**



diagnostic différentiel RCH / MC: utilité combinaison ANCA / ASCA

2 profils:

ASCA+ / ANCA-	→	MC (VPP 75 à 96%)
ASCA- / ANCA+	→	RCH (VPP 82 à 100%)

Utilité des Ac anti-antigènes microbiens (anti-OmpC, anti-I2, anti-flagellines)

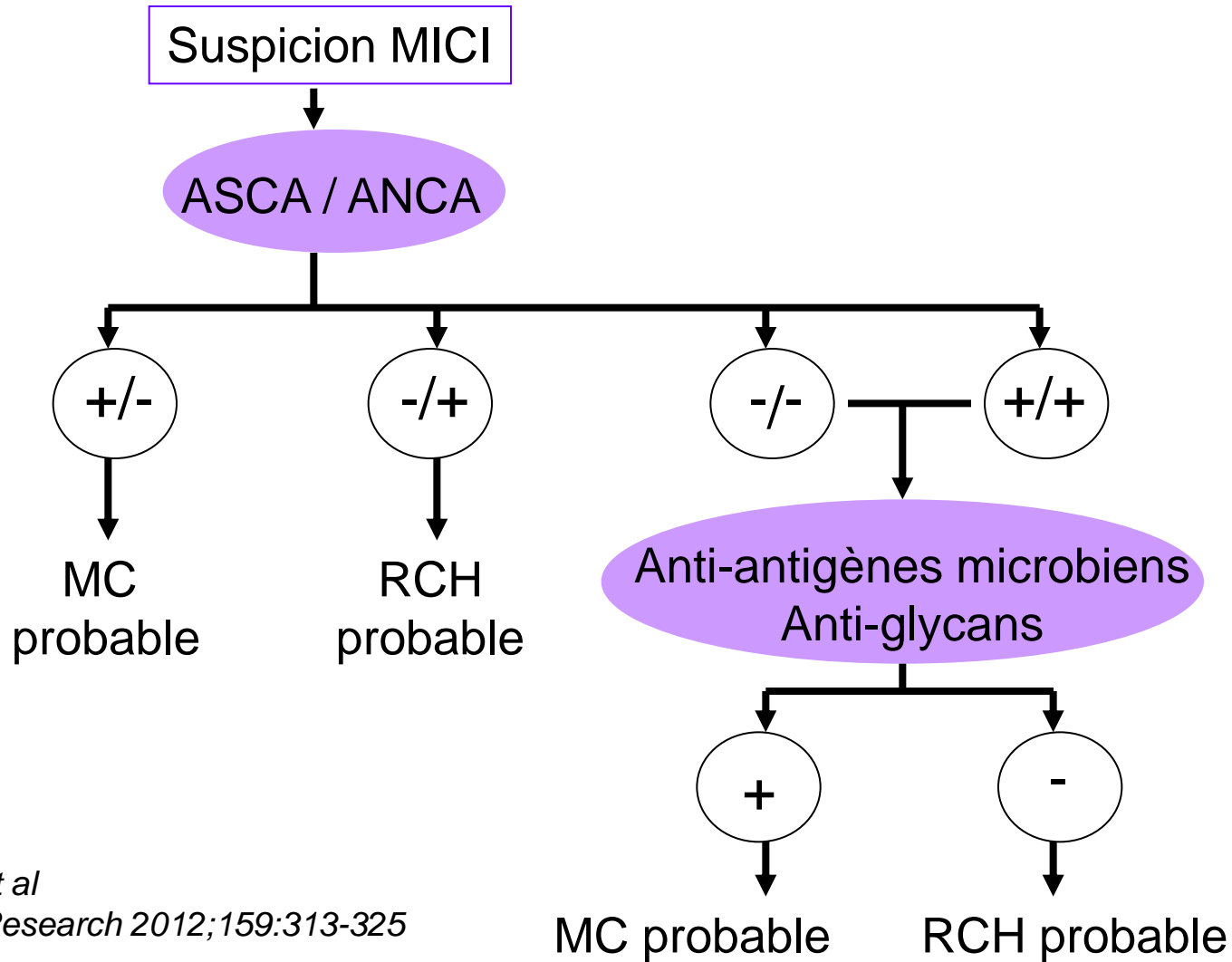
N'apporte qu'un léger bénéfice (se:80%, VPP: 90% pour MC)

Utilité des Ac anti-glycans

Combinaison la meilleure pour MC: ASCA / ANCA /anti-L et anti-C



diagnostic différentiel RCH / MC



Iskandar HN et al
Translational Research 2012;159:313-325



Colites indifférenciées: utilité combinaison ANCA/ASCA

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



Intérêt à rechercher ces marqueurs sérologiques?

- ➔ Comme marqueur pronostiques des MICI: Ac et phénotypes cliniques
- ➔ Dans la prise en charge thérapeutique des MICI



Marqueurs pronostiques dans la MC

Anticorps	âge précoce	localisation iléale	complications
ANCA		purement cholique « RCH like »	-
ASCA	++	++	formes perforantes ou sténosantes, chirurgie ++
Anti-OmpC	-	++	formes perforantes chirurgie ++
Anti-I2	-	++	formes sténosantes chirurgie ++
Anti-CBir	++	++	formes pénétrantes et fibrosantes
Anti-A4-Fla2, anti-FlaX		++	étranglement
ALCA	+	+	formes pénétrantes
Anti-C	-	-	formes pénétrantes chirurgie +
Anti-L	-	+	formes pénétrantes chirurgie +



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

(Dubinsky et al, Am J Gastroenterol, 2006)

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

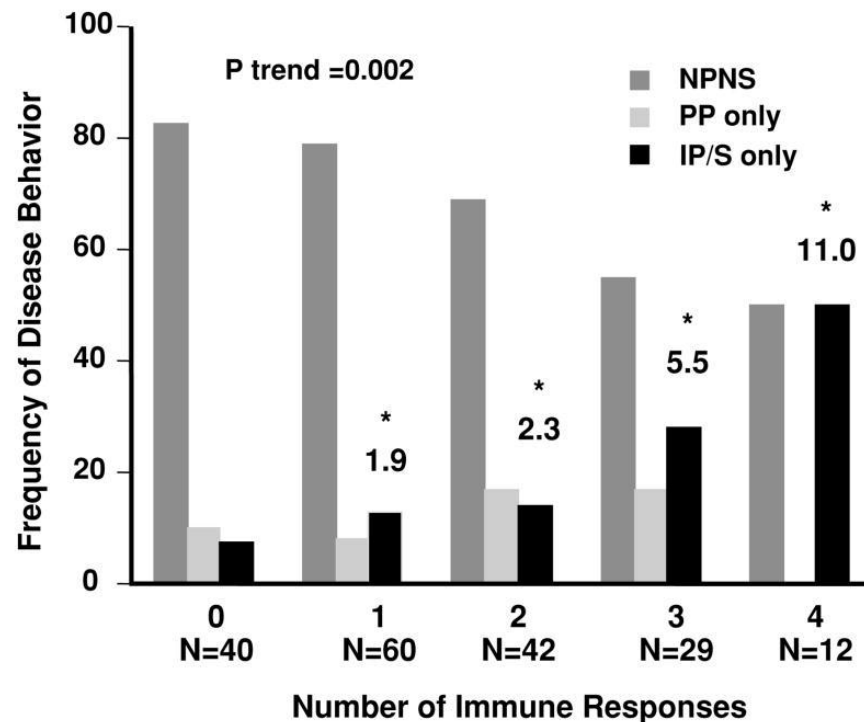
Détection des ASCA, anti-I2, anti-OmpC, anti-CBir

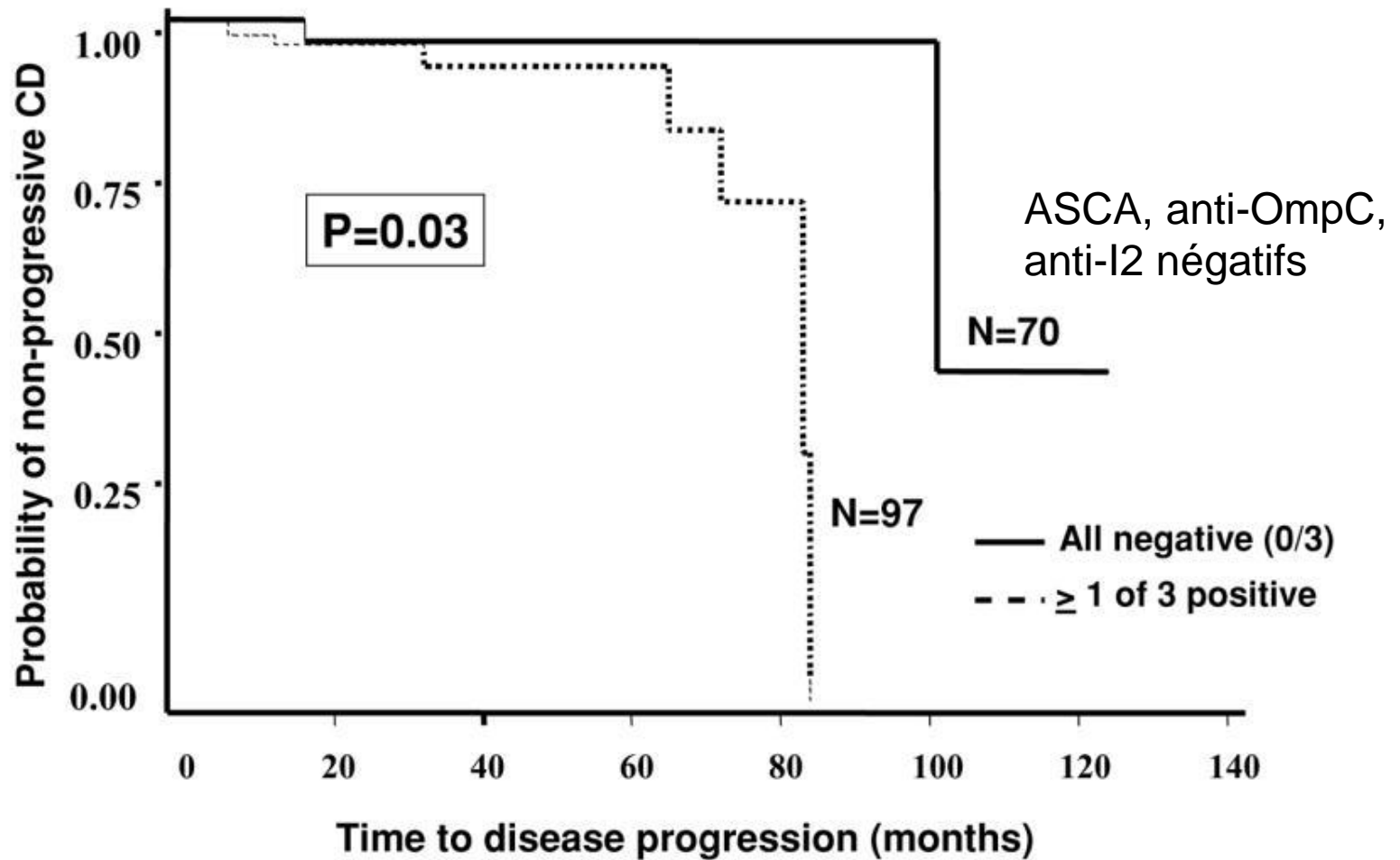
→ 4 Ac positifs

Fréquence des complications X 11

→ 3 Ac positifs

Fréquence des complications X 5,5





Positivité pour au moins 1 Ac



progression plus rapide vers une forme pénétrante et sténosante



Intérêt des Ac dans la prise en charge thérapeutique des MICI

- ➔ Pas prédictif de la réponse au traitement par infliximab (ANCA, ASCA, anti-OmpC, anti-MAP)
- ➔ Aide au choix de l'antibiothérapie
 - MC anti-OmpC + et ou anti-I2 + → Budesonide + antibiothérapie
 - MC anti-OmpC -, anti-I2 - → Budesonide seul
- ➔ Pas prédictif de la réponse au traitement par corticoïdes (ANCA, ASCA, anti-OmpC)

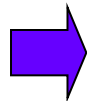
Corrélation entre corticodépendance et anti-glycan ACCA et anti-laminarine (anti-L)



Intérêt des Ac comme marqueurs de susceptibilité génétique

Etudes familiales chez les parents du premier degré

ANCA

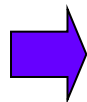


Ne sont pas un marqueur de susceptibilité génétique à la RCH

ASCA

Anti-OmpC

ALCA, ACCA



↑ de ces Ac chez les parents du premier degré (independant de la présence de mutations NOD2/CARD15)



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



CONCLUSION

ANCA / ASCA

- ➔ Utilité modérée en dépistage pour les MICI (adultes et enfants)
- ➔ Aide au diagnostic différentiel entre MC et RCH
- ➔ Aide à la caractérisation de certaines colites indifférenciées
- ➔ Associés à la sévérité de la maladie
- ⇒ **Aucune utilité**: comme marqueur d'activité suivi de traitement



CONCLUSION

Ac anti-antigènes microbiens et anti-glycans

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

