

DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-RÉCEPTEURS DE LA PHOSPHOLIPASE A2 DE TYPE M (RPLA2) PAR TECHNIQUE ELISA

01/12/2018

Benjamin LOPEZ¹, Nicolas BERTIER¹, François GLOWACKI², Sylvain DUBUCQUOI¹

¹*UF Maladies auto-immunes, allergie et syndromes hyperéosinophiliques
Institut d'Immunologie, Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHU de Lille*

²*Service de Néphrologie, Hôpital Huriez, CHU de Lille*

Les Glomérulonéphrites Extra-Membraneuses (GEM)

Les GEM font partie des maladies glomérulaires les plus fréquentes, avec une incidence estimée en Europe de 4,2 cas par million d'habitants par an, chez l'adulte. Elles touchent toutes les tranches d'âge et toutes les ethnies. Les hommes sont plus fréquemment atteints (*sex ratio* 2:1), avec un pic de fréquence entre 30 et 50 ans. Les GEM sont la principale cause de syndrome néphrotique de l'adulte (1).

Les étiologies des GEM opposent (i) les **formes primitives/idiopathiques** (75 % des cas), considérées comme des pathologies d'origine primitivement auto-immune et ciblant un antigène d'expression podocytaire, et (ii) les **formes secondaires** à des infections systémiques (hépatite B, syphilis, etc.), des maladies de système (lupus érythémateux, connectivite, etc.), des néoplasies, ou encore d'origine iatrogène (sels de métaux lourds, d-pénicillamine, etc.), dans lesquelles l'accumulation d'exo-antigènes ou d'immuns complexes au niveau glomérulaire seraient responsable de la physiopathologie (2).

La démarche de diagnostic étiologique d'une GEM associe classiquement la recherche d'arguments cliniques et paracliniques en faveur d'une cause secondaire, et la réalisation d'une ponction-biopsie rénale. L'étude anatomopathologique permet de révéler notamment l'isotype et de la sous-classe des anticorps impliqués, et conduisent au diagnostic définitif (1,3).

L'évolution naturelle de la GEM peut se faire selon trois devenirs, de proportions équivalentes : rémission spontanée, persistance et stabilité de l'atteinte rénale, progression vers l'insuffisance rénale terminale (4).

Diagnostic immunologique des GEM primitives

L'identification en 2009 du récepteur de la phospholipase A2 de type M (RPLA2), première cible antigénique podocytaire responsable du développement d'auto-anticorps, a permis de démontrer l'origine auto-immune des GEM dites « idiopathiques » (5). On estime que **70 à 80 % des patients souffrant de GEM primitive présentent des anticorps anti-RPLA2**. Ils peuvent être révélés par immunofluorescence indirecte sur cellules transfectées (trousse commerciale commercialisée dès 2010), mais aussi par ELISA.

Une seconde cible antigénique podocytaire a été identifiée en 2014 : la *Thrombospondin type 1 domain-containing 7A* (THSD7A) (6). La prévalence des anticorps anti-THSD7A a initialement été estimée à 15 % des GEM primitives. Celle-ci a été revue à la baisse dans des études plus récentes (7). **On estime aujourd'hui que 10 à 20 % des patients présentant une GEM primitive/idiopathique ne présentent pas d'anticorps anti-PLA2R ou anti-THSD7A**. Très récemment, les exostosines 1 et 2, enzymes à activité glycosyl-transférase impliquées dans la synthèse des héparanes sulfates, ont été identifiées comme une cibles d'auto-anticorps dans le sous-groupe des GEM anti-RPLA2 et anti-THSD7A négatives (8).

Évolution des pratiques de prise en charge

La disponibilité de tests commerciaux pour la recherche et le dosage des anticorps anti-RPLA2 a été à la base de nombreuses publications au cours des dernières années. L'*American Society of Nephrology* a publié en 2016 de nouveaux algorithmes diagnostiques et pronostiques pour la prise en charge des GEM (9), repris en (3).

D'un point de vue diagnostique, la présence d'anticorps anti-RPLA2, en l'absence de cause secondaire identifiée lors du bilan étiologique, permettrait de s'affranchir de la ponction-biopsie rénale. Cette stratégie demande encore à être validée par des études prospectives de haut de niveau preuve. Il faut signaler que des cas de positivité d'anticorps anti-RPLA2, à taux parfois élevés, ont été rapportés en cas de GEM

secondaires à une hépatite virale B ou à des cancers solides. Le bilan étiologique reste donc indispensable à la démarche diagnostique (9,10), même en présence de ces anticorps.

La présence de taux élevés d'anticorps anti-RPLA2 au diagnostic, mesurés par technique ELISA, est associée à un risque accru d'évolution vers une insuffisance rénale terminale, au même titre que la persistance d'une protéinurie de rang néphrotique pendant plus de six mois, l'altération rapide de la fonction rénale en six mois ou une créatininémie élevée au diagnostic.

La notion d'association entre le taux d'anticorps anti-RPLA2 et l'activité de la GEM, bien que globalement admise, peut être limitée par le décalage de plusieurs mois parfois, entre réponse immunitaire et réponse clinique (évaluée par la protéinurie) (9).

La mise en évidence d'un phénomène « d'*epitope spreading* », serait prédictive d'un mauvais pronostic mais est réservée à l'heure actuelle, au domaine de la recherche (11).

Stratégie mise en place au CHU de Lille pour le dosage des anticorps anti-RPLA2

Le laboratoire d'Immunologie du CHU de Lille réalise la recherche d'anticorps anti-RPLA2 par immunofluorescence indirecte depuis 2016. Pour répondre aux recommandations les plus récentes des sociétés savantes, **cette recherche sera désormais réalisée par technique ELISA.**

Caractéristiques techniques kit anti-PLA2R ELISA (IgG) :

- Fournisseur : laboratoire EUROIMMUN, Lübeck, Allemagne.
- Rendu quantitatif (unités relatives (UR) par mL), gamme de mesure : 2 à 1500 UR/mL
- Seuil de positivité fournisseur : ≥ 20 UR/mL
- Zone équivoque : 14-19 UR/mL

Le principal intérêt de la technique ELISA, outre l'automatisation, reste la quantification des taux d'auto-anticorps pour le suivi de l'activité de la maladie.

Une méta-analyse récente concernant la recherche d'anticorps anti-RPLA2 pour distinguer GEM primitives et secondaires a rapporté des sensibilité et spécificité [IC95 %] estimées à 65% [63–67] et 97% [97–98], respectivement. Néanmoins, ces estimations ne distinguent pas les différentes méthodes de dosages (IF ou ELISA) des anticorps anti-RPLA2 (12).

Il apparaît qu'aux seuils de positivité recommandés par le fournisseur et validés dans la littérature, (respectivement $10^{\text{ème}}$ pour l'immunofluorescence indirecte et 20 UR/mL pour l'ELISA), les deux techniques présentent une **spécificité équivalente pour le diagnostic de GEM primitive**. La recherche par immunofluorescence indirecte offre quant à elle une meilleure sensibilité selon des études comparatives (3), et notre expérience (données non publiées).

En cas de taux compris entre 2 et 20 UR/mL par technique ELISA, **une confirmation par technique d'immunofluorescence indirecte** sur cellules transfectées (anti-PLA2R IIFT (IgG), EuroImmuno, Lübeck, Allemagne), **sans titration, sera réalisée afin d'améliorer la spécificité de la recherche**. Les résultats des 2 méthodes seront rendus, et une interprétation sera proposée pour aider à conclure quant à la présence, ou non, d'anticorps anti-RPLA2.

Nous attirons votre attention sur la nécessité de remplir la fiche de prescription associée. Cette démarche nous permettra d'améliorer les performances de notre approche ainsi que notre interprétation.

Références :

1. Dahan K. Physiopathologie, démarche diagnostique et avancées thérapeutiques dans les glomérulonéphrites extra-membraneuses. La Revue de Médecine Interne. 2016 Oct;37(10):674–9.
2. Ronco P, Debiec H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's care. The Lancet. 2015;385(9981):1983–1992.
3. Miot C, Poli C, Beauvillain C, Jeannin P, Renier G, Subra J-F, et al. Apport de l'immunologie à la prise en charge diagnostique et thérapeutique des glomérulonéphrites extramembraneuses. Revue Francophone des Laboratoires. 2017 Sep;2017(495):38–46.

4. Mastroianni-Kirsztajn G, Hornig N, Schlumberger W. Autoantibodies in Renal Diseases – Clinical Significance and Recent Developments in Serological Detection. *Frontiers in Immunology*. 2015 May 11;6.
5. Beck LH, Bonegio RGB, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-Type Phospholipase A₂ Receptor as Target Antigen in Idiopathic Membranous Nephropathy. *New England Journal of Medicine*. 2009 Jul 2;361(1):11–21.
6. Tomas NM, Beck LH, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, et al. Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A in Idiopathic Membranous Nephropathy. *New England Journal of Medicine*. 2014 Dec 11;371(24):2277–87.
7. Ren S, Wu C, Zhang Y, Wang AY, Li G, Wang L, et al. An update on clinical significance of use of THSD7A in diagnosing idiopathic membranous nephropathy: a systematic review and meta-analysis of THSD7A in IMN. *Renal Failure*. 2018 Oct 15;40(1):306–13.
8. Busse-Wicher M, Wicher KB, Kusche-Gullberg M. The extostosin family: Proteins with many functions. *Matrix Biology*. 2014 Apr;35:25–33.
9. De Vriese AS, Glasscock RJ, Nath KA, Sethi S, Fervenza FC. A Proposal for a Serology-Based Approach to Membranous Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2017 Feb;28(2):421–30.
10. Radice A, Pieruzzi F, Trezzi B, Ghiggeri G, Napodano P, D'Amico M, et al. Diagnostic specificity of autoantibodies to M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) in differentiating idiopathic membranous nephropathy (IMN) from secondary forms and other glomerular diseases. *Journal of Nephrology*. 2018 Apr;31(2):271–8.
11. Seitz-Polski B, Dolla G, Payre C, Girard CA, Polidori J, Zorzi K, et al. Epitope Spreading of Autoantibody Response to PLA2R Associates with Poor Prognosis in Membranous Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2016 May 1;27(5):1517–33.
12. Li W, Zhao Y, Fu P. Diagnostic Test Accuracy of Serum Anti-PLA2R Autoantibodies and Glomerular PLA2R Antigen for Diagnosing Idiopathic Membranous Nephropathy: An Updated Meta-Analysis. *Frontiers in Medicine*. 2018 Apr 26;5.

Pour tout renseignement :

UF Maladies auto-immunes, allergie et syndromes hyperéosinophiliques - Institut d'Immunologie

Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHU de Lille

Téléphone : 03 20 44 55 74 – Dr Benjamin LOPEZ

Anticorps anti-RPLA2 : 1 ml de sérum, fréquence de réalisation : 1 / semaine

BHN 100 LC (x 2 si IFI ajoutée). [Voir notre site internet pour plus d'information](#)