

CAHIER DE

# Formation

Biologie médicale

N°37

2006

---

## Maladies auto-immunes du foie



**BIOFORMA**

FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES

---



*Chère Consœur, Cher Confrère,*

*Les hépatopathologies, pour diverses raisons, sont de plus en plus fréquentes. D'origine exogène, virale le plus souvent, ou endogène, c'est le propos de ce Cahier de formation, ces affections sont multifactorielles mettant en œuvre des processus biologiques et des mécanismes physio-pathologiques très complexes.*

*La distinction et la détermination typologique de ces maladies entraînent, après l'examen du patient par le clinicien, l'intervention du biopathologiste qui doit mener des investigations techniques très poussées. L'efficacité du traitement et la survie du patient sont à ce prix.*

*Le présent Cahier de formation de Biologie Médicale, rédigé par une équipe de qualité indiscutable, vous apportera une mise à jour des éléments de connaissance pratique et théorique nécessaire à votre activité dans ce domaine.*

*Bioforma vous permet ainsi d'assurer votre formation continue conventionnelle et vous souhaite bonne réception de ce document.*

*Nous vous prions d'agréer nos cordiales et confraternelles salutations.*

230, boulevard Raspail  
75014 Paris

Tél. 01.56.54.39.39  
Fax : 01.56.54.39.30

site internet : [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net)  
E-mail : [bioforma@wanadoo.fr](mailto:bioforma@wanadoo.fr)

Association régie par la loi de 1901  
siret : 391 155 744 00025  
code APE : 8040

**Adrien BEDOSSA**  
Président

# Liste des auteurs

---

- **Dominique-Charles Valla**  
*Professeur des Universités  
Praticien Hospitalier  
Service d'Hépatologie  
Fédération Médico-Chirurgicale des Maladies  
de l'Appareil Digestif  
Hôpital Beaujon  
100, Boulevard du Général Leclerc  
92110 Clichy*
- **Jean-François Mosnier**  
*Professeur des Universités  
Praticien Hospitalier  
Service d'Anatomie Pathologique  
Hôpital H&R Laennec  
Centre Hospitalier Universitaire de Nantes  
Saint-Herblain  
44093 Nantes cedex 01*
- **Catherine Johanet**  
*Maître de Conférences des Universités  
Praticien Hospitalier  
Service d'Immunologie et Hématologie  
Biologiques  
Hôpital Saint-Antoine  
184, rue du Faubourg Saint-Antoine  
75571 Paris cedex 12*
- **Eric Ballot**  
*Praticien Hospitalier  
Service d'Immunologie et Hématologie  
Biologiques  
Hôpital Saint-Antoine  
184, rue du Faubourg Saint-Antoine  
75571 Paris cedex 12*
- **Stéphanie Huguet-Jacquot**  
*Assistant Hospitalo-Universitaire-Associé  
Service d'Immunologie et Hématologie  
Biologiques  
Hôpital Saint-Antoine  
184, rue du Faubourg Saint-Antoine  
75571 Paris cedex 12*
- **Yvan Boniface Absalon**  
*Technicien de Laboratoire  
Service d'Immunologie et Hématologie  
Biologiques  
Hôpital Saint-Antoine  
184, rue du Faubourg Saint-Antoine  
75571 Paris cedex 12*
- **Bach-Nga Pham**  
*Praticien Hospitalier  
Département d'Immunologie et de  
Microbiologie des Pathologies Infectieuses  
Hôpital Beaujon  
100, Boulevard du Général Leclerc  
92110 Clichy*

# Maladies auto-immunes du foie

Ouvrage réalisé sous la direction du  
Docteur Bach-Nga PHAM

Ce cahier de formation est dédié à  
Annie, Catherine, Geneviève, Myrtha, Ouiza, Patricia et Régine

# SOMMAIRE

## CHAPITRE I

### Aspects cliniques des maladies auto-immunes du foie et des voies biliaires 9

---

<b>Introduction</b> .....	10
<b>Hépatite auto-immune</b> .....	11
Définition .....	11
Facteurs étiologiques et pathogéniques .....	12
Histopathologie .....	13
Manifestations cliniques et données des examens complémentaires .....	14
Diagnostic .....	16
Histoire naturelle et pronostic .....	18
Traitement .....	19
<b>Cirrhose biliaire primitive - cholangite auto-immune</b> .....	21
Définition .....	21
Facteurs étiologiques et pathogéniques .....	21
Histopathologie .....	22
Manifestations cliniques et données des examens complémentaires .....	23
Diagnostic .....	25
Histoire naturelle et pronostic .....	25
Traitement .....	26
<b>Cholangite sclérosante primitive</b> .....	27
Définition .....	27
Facteurs étiologiques et pathogéniques .....	27
Histopathologie .....	28
Manifestations cliniques et données des examens complémentaires .....	29
Diagnostic .....	30
Histoire naturelle et pronostic .....	31
Traitement .....	32
<b>Formes de chevauchement</b> .....	33
Atteintes vasculaires hépatiques au cours des affections auto-immunes systémiques .....	34
Syndrome des anti-phospholipides, primaire ou secondaire à une connectivite .....	34
Sclérodémie systémique .....	35

<b>Manifestations auto-immunes de l'hépatite C</b> .....	35
Auto-anticorps non spécifiques .....	35
Anticorps anti-LKM1 .....	35
Cryoglobulines .....	36
<b>Bibliographie</b> .....	37

## CHAPITRE II

### **Le diagnostic histopathologique des maladies auto-immunes du foie** 39

---

<b>Introduction</b> .....	40
<b>Définition et lésions élémentaires de la pathologie hépatique</b> .....	41
<b>Les pathologies auto-immunes du foie</b> .....	44
Les maladies auto-immunes à tropisme hépatocytaire : les hépatites auto-immunes.....	44
Formes habituelles .....	44
Les formes "aiguës" et les poussées sévères des formes chroniques .....	46
La fibrose .....	46
Grade d'activité et score de fibrose .....	48
Formes particulières.....	48
Les problèmes diagnostiques .....	48
Les maladies auto-immunes à tropisme biliaire.....	49
La cirrhose biliaire primitive.....	49
La cholangite sclérosante primitive .....	53
"overlap syndrome" .....	56
<b>Bibliographie</b> .....	58

## CHAPITRE III

### **Historique des auto-anticorps. Indications à leur recherche** 59

---

<b>Historique</b> .....	60
Anticorps anti-nucléaires.....	60
Anticorps anti-mitochondries .....	61
Anticorps anti-muscle lisse .....	62

# SOMMAIRE

Anticorps anti-“liver/kidney microsome” .....	63
Auto-anticorps dirigés contre la fraction cytosolique du foie .....	64
Anticorps anti-LC1 .....	64
Anticorps anti-SLA .....	65
<b>Indications à leur recherche</b> .....	66
Dans un but diagnostique.....	66
Dans un but pronostique.....	67
Suivi de traitement, suivi post-transplantation .....	67
Recherche systématique des auto-anticorps avant tout traitement antiviral 10 chez un patient présentant une hépatite chronique C.....	68
<b>Bibliographie</b> .....	69

## CHAPITRE IV

### **Anticorps "anti-tissus" non spécifiques d'organe : Méthodes de détection et interprétation des résultats** 71

---

<b>Immunofluorescence indirecte sur triple substrat</b> .....	72
Principe.....	72
Aspect de la fluorescence .....	73
Anticorps fondamentaux pour le diagnostic des hépatopathies auto-immunes.....	73
Anticorps anti-nucléaires.....	80
Anticorps rares et aspects atypiques .....	84
Anticorps marqueurs de pathologies auto-immunes non hépatiques .....	84
Dilution initiale, seuil de positivité et titre des auto-anticorps .....	92
Facteurs influençant le résultat .....	93
Préparation du substrat .....	93
Autres paramètres .....	93
Avantages/inconvénients .....	94
<b>Techniques d'identification de seconde attention</b> .....	95
Typage de l'anticorps anti-muscle lisse : détection des anticorps anti-câble d'actine.....	95
Immunofluorescence indirecte sur cellules HEp-2.....	95
ELISA.....	96
Immunodot.....	96

Anticorps anti-LKM1 et anticorps anti-LC1 .....	96
Anticorps anti-mitochondries de type 2 .....	98
Immunotransfert .....	99
Immunodot .....	99
Anticorps anti-nucléaires .....	101
Anticorps anti-gp210 .....	101
Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles .....	101
<b>Cas particulier : détection des anticorps anti-SLA</b> .....	102
iELISA .....	102
Immunodot .....	104
<b>Interprétation des résultats</b> .....	104
Résultats usuels normaux .....	104
Résultats anormaux .....	104
<b>Stratégie diagnostique</b> .....	107
<b>Conclusion</b> .....	107
<b>Bibliographie</b> .....	109

## CHAPITRE V

### **Les cibles des marqueurs d'intérêt dans les hépatopathies auto-immunes** 111

<b>Bref aperçu des techniques d'identification des cibles des auto-anticorps</b> .....	112
Cibles des anticorps anti-mitochondries de type 2 .....	114
Cibles des anticorps anti-nucléaires .....	117
Cibles des anticorps anti-nucléaires dans les cirrhoses biliaires primitives .....	117
Cibles des anticorps anti-nucléaires dans les hépatites auto-immunes .....	118
Cibles des anticorps anti-muscles lisse .....	119
Les microfilaments d'actine, cibles des anticorps anti-muscle lisse .....	120
Les filaments intermédiaires, cibles des anticorps anti-muscle lisse .....	120
Les microtubules, cibles des anticorps anti-muscle lisse .....	122
<b>Cibles des anticorps anti-SLA</b> .....	123
<b>Cibles des anticorps anti-LKM1</b> .....	125
<b>Cibles des anticorps anti-LC1</b> .....	126
<b>Bibliographie</b> .....	128

# SOMMAIRE

## CHAPITRE VI

### **Mécanismes physiopathologiques des maladies auto-immunes du foie** 131

---

**Introduction**.....132

**L'hépatite auto-immune**.....132

Facteurs déclenchants .....133

Physiopathologie.....133

Les auto-antigènes .....133

La présentation de l'antigène.....134

Le complexe auto-antigène/HLA de classe II .....136

L'activation lymphocytaire T.....137

Les cytokines .....139

La lyse hépatocytaire .....139

**La cirrhose biliaire primitive** .....141

Facteurs génétiques .....141

Les auto-anticorps .....142

La réponse immunitaire cellulaire .....143

Mécanismes lésionnels .....144

**Conclusion**.....145

**Bibliographie** .....146

**Aspects cliniques  
des maladies  
auto-immunes du foie et  
des voies biliaires**

*D.C. Valla*

CHAPITRE I

# Introduction

---

On inclut habituellement parmi les maladies auto-immunes du foie et des voies biliaires l'hépatite auto-immune, la cirrhose biliaire primitive (et une entité qui lui est très proche, la cholangite auto-immune), et la cholangite sclérosante primitive. A cet ensemble, il faut ajouter diverses atteintes vasculaires du foie survenant dans le cadre d'affections systémiques auto-immunes. Enfin, on peut également y ajouter certaines atteintes non auto-immunes du foie (hépatite C en particulier), qui s'accompagnent de manifestations auto-immunes.

Les différentes affections auto-immunes du foie et des voies biliaires sont d'abord définies par leurs caractéristiques histologiques. L'examen histologique permet de mettre en évidence à la fois l'infiltrat inflammatoire et sa cible prépondérante. Cette cible est l'hépatocyte pour l'hépatite auto-immune, les petits canaux biliaires pour la cirrhose biliaire primitive ou la cholangite auto-immune, les canaux biliaires de gros ou moyen calibre pour la cholangite sclérosante primitive. Comme on le verra plus loin, dans les atteintes vasculaires auto-immunes, l'infiltrat inflammatoire est généralement discret ou absent, et les signes d'atteinte de la microcirculation sont habituellement indirects. Dans certains cas mis en exergue dans la littérature récente, on constate une atteinte à la fois hépatocytaire et biliaire, qualifiée de "forme de chevauchement" de maladies auto-immunes (*overlap syndrome*).

Pour qu'une atteinte inflammatoire hépatique, biliaire, ou vasculaire soit considérée comme auto-immune, deux conditions doivent être remplies. En premier lieu, les autres causes de l'atteinte hépatique, biliaire ou vasculaire doivent avoir été écartées. En second lieu, des manifestations d'auto-immunité doivent être associées. Celles-ci consistent avant tout en la présence d'auto-anticorps. Certains auto-anticorps peuvent être "spécifiques" cliniquement. Dans ce cas, un type d'auto-anticorps est étroitement associé à un type d'atteinte hépatique, biliaire ou vasculaire bien caractérisé. En fait, seul un petit nombre d'auto-anticorps rencontrés au cours des maladies auto-immunes hépatiques ou biliaires ont une réelle spécificité clinique. L'archétype en est représenté par les anticorps anti-mitochondries de type M2 au cours de la cirrhose biliaire primitive.

Dans bien des cas, une atteinte hépatique ou biliaire particulière est associée à des auto-anticorps sans spécificité pour cette atteinte (ex. : anticorps anti-nucléaires, anti-thyroïde, ou anti-érythrocytes). La valeur de ces auto-anticorps pour le diagnostic de maladie auto-immune n'en est pas moindre. De plus, dans ce dernier cadre, les auto-anticorps peuvent être, ou ne pas être, associés à l'atteinte décelable d'un tissu : par exemple, une dysthyroïdie, une myasthénie, une polyarthrite rhumatoïde, une sclérodermie, un lupus, une anémie hémolytique, etc.

Les deux critères diagnostiques principaux - absence d'autre cause et manifestations d'auto-immunité - sont indirects, ce qui souligne le fait que la cause et la pathogénie des affections auto-immunes du foie et des voies biliaires restent largement inconnues. Cependant, ces deux critères sont parfois la source de difficultés nosologiques. En effet, comment qualifier les affections hépatiques ou biliaires idiopathiques dont les caractéristiques sont identiques à celles d'une atteinte auto-immune, excepté l'absence de manifestation d'auto-immunité ? A l'inverse, chez un sujet ayant une cause reconnue d'atteinte hépatique (comme une infection par le virus de l'hépatite C), comment qualifier les atteintes ayant toutes les caractéristiques d'une maladie auto-immune du foie ou des voies biliaires : association fortuite ou lien de causalité ? Ces points seront abordés séparément pour chacune des entités décrites dans ce chapitre.

## Hépatite auto-immune

---

### Définition

L'hépatite auto-immune est une affection (a) de cause inconnue ; (b) caractérisée histologiquement par une infiltration des espaces portes par des cellules inflammatoires mononucléées, et par des lésions d'inflammation et de nécrose de la zone péri-portale (lame bordante) constituant "l'hépatite d'interface" ou piecemeal necrosis ; et (c) associée à des manifestations d'auto-immunité.

## Facteurs étiologiques et pathogéniques

Par définition, la cause n'est pas connue. Des observations cliniques, épidémiologiques, ou biologiques suggèrent que certains facteurs d'atteinte hépatocytaire déclenchent une inflammation hépatique persistante (ou auto-entretenu), sur un terrain prédisposé. Ce terrain prédisposé est une tendance aux affections auto-immunes dont témoignent (a) une prédominance chez les sujets jeunes de sexe féminin ou chez les sujets âgés des deux sexes, terrains habituels des maladies auto-immunes ; (b) la fréquence des cas de maladies auto-immunes chez les parents au premier degré des sujets atteints ; et (c) la fréquence des affections auto-immunes d'autres organes ou tissus chez les sujets atteints (Tableau I).

Tableau I

HÉPATITE AUTO-IMMUNE Autres atteintes auto-immunes	
Thyroïdite auto-immune Maladie de Basedow Myasthénie Diabète Diabète insipide	Maladie coeliaque Colite ulcéreuse
Syndrome de Sjögren Connectivite mixte	Anémie hémolytique Thrombopénie

Certains facteurs déclenchants ont été incriminés sur la base d'observations individuelles et rares : (a) hépatite virale A ou infection par le virus d'Epstein Barr inaugurant une hépatite auto-immune persistante malgré la guérison sérologique de l'infection ; (b) hépatite immuno-allergique due à un agent connu comme tel, mais persistante après l'éviction du médicament. Certains auto-anticorps spécifiques d'hépatite auto-immune sont dirigés contre des enzymes impliquées dans le métabolisme hépatique des médicaments ; ceci suggère qu'une modification antigénique de l'enzyme par un produit de son métabolisme ait suscité la réaction

d'auto-immunité. Pour plus de détails, le lecteur est renvoyé au chapitre sur les mécanismes physio-pathologiques de cette monographie. Dans l'immense majorité des cas, aucun facteur ne peut être clairement mis en évidence au moment où l'hépatite auto-immune est reconnue.

## **Histopathologie**

Les aspects en sont détaillés dans le chapitre spécifique de cette monographie. L'espace porte est infiltré par des cellules mononucléées comprenant toujours des lymphocytes et, souvent, des plasmocytes et des polynucléaires neutrophiles. L'infiltrat est toujours abondant au cours des poussées. Il persiste généralement entre les poussées quoique son abondance diminue. L'immunophénotypage lymphocytaire indique la prédominance des lymphocytes CD8+ dans l'infiltrat inflammatoire. Par définition, dans la forme pure, il n'y a pas d'atteinte des canaux biliaires. Plus la maladie est active et plus l'infiltrat déborde dans le lobule. On a décrit des formes de début où la zone centro-lobulaire est seule atteinte alors que l'inflammation portale caractéristique est minime ou absente. Dans les formes inactives, l'infiltrat reste cantonné à l'espace porte.

A ces lésions nécro-inflammatoires s'associe souvent un élargissement fibreux des espaces portes et des septa fibreux, séquelles des lésions antérieures de nécrose confluente ou en pont. Ces septa tendent donc à unir les espaces portes, ou les espaces portes et les régions centro-lobulaires. A un stade avancé, une cirrhose se trouve constituée. Souvent, les lésions de fibrose ou de cirrhose sont déjà constituées lorsque la maladie se présente cliniquement par une forme aiguë, apparemment récente. C'est que l'hépatite auto-immune a généralement évolué sous une forme infraclinique depuis quelque temps lorsqu'elle se manifeste.

## Manifestations cliniques et données des examens complémentaires

Dans sa forme la plus typique, l'hépatite auto-immune se manifeste par un ictère à bilirubine conjuguée, accompagné d'une forte augmentation des transaminases ( $> 10 N$ ). Il n'y a pas de prurit, ni de fièvre. Une asthénie prononcée est habituelle. Des troubles dyspeptiques sont banals mais peu marqués. Des arthralgies d'horaire inflammatoire affectant principalement les membres supérieurs sont fréquentes ; elles ne s'accompagnent pas de signes d'arthrite. Une efflorescence d'angiomes stellaires est possible. Le taux de Quick et le facteur V peuvent être diminués à moins de 50 %.

Lorsque ces manifestations s'accompagnent d'une ascite et de signes d'hypertension portale, il est probable que la maladie est déjà au stade de fibrose très extensive ou cirrhose. Lorsqu'il s'y associe une encéphalopathie et une diminution des facteurs de coagulation à moins de 30 %, il peut s'agir soit d'une ultime poussée sur une maladie ancienne mais infraclinique, soit d'une poussée apparemment inaugurale mais massive.

Parfois, la maladie ne se manifeste que par une asthénie et une augmentation modérée des transaminases. Elle peut alors être découverte fortuitement, ou dans le cadre de l'exploration systématique d'une maladie auto-immune autre.

Habituellement (mais non constamment), on met en évidence une hypergammaglobulinémie polyclonale parfois très marquée (supérieure à 20 g/L). Un aspect oligoclonal ou monoclonal est possible. L'augmentation prédomine largement sur les IgG. Paradoxalement, un déficit en immunoglobulines sériques est observé chez certains patients atteints d'un déficit commun variable ou d'un déficit sélectif en IgA. L'augmentation des immunoglobulines explique l'augmentation de la vitesse de sédimentation des hématies. L'hyper-gammaglobulinémie polyclonale marquée explique probablement que les tests d'infection récente par le virus de l'hépatite A ou le virus d'Epstein Barr soient parfois faussement positifs (dans cette situation, le diagnostic différentiel de l'origine de l'hépatite est rendu difficile).

Dans les formes habituelles, la recherche des anticorps anti-nucléaires et des anticorps anti-tissus est positive ([Tableau II](#)). Les plus fréquents sont les anticorps anti-nucléaires de type homogène ou moucheté (habituellement, sans spécificité anti-DNA natif ou

antigènes nucléaires solubles), et les anticorps anti-muscle lisse (de spécificité anti-actine), isolément ou en combinaison. Ces deux types d'anticorps définissent l'hépatite auto-immune de type 1, dont un autre marqueur est l'anticorps anti-SLA (pour Soluble Liver Antigen) qui nécessite une technique de recherche spécifique. Moins fréquemment, les anticorps sont de type de spécificité anti-LKM1 (pour Liver Kidney Microsome de type 1), définissant l'hépatite auto-immune de type 2, dont un autre marqueur est l'anticorps anti-cytosol hépatique (ou anti-LC1), qui nécessite, lui aussi, une technique de recherche spécifique. Les marqueurs d'hépatite auto-immune de type 1 et de type 2 ne sont pratiquement jamais présents simultanément chez le même patient. La classification en type 1 et type 2 n'a pas de réel intérêt clinique, pronostique ou thérapeutique.

S'ils sont cherchés spécifiquement, de nombreux autres auto-anticorps peuvent être occasionnellement détectés. Les plus fréquents sont mis en évidence simplement par le test de Coombs et par les recherches d'anticorps anti-thyroïde ou d'anticorps anti-cardiolipine.

Le titre des auto-anticorps varie très largement au cours de l'évolution, et ce d'une façon indépendante des éventuelles poussées ou rémissions de la maladie. De sorte que les tests peuvent donner un résultat négatif au moment du diagnostic pour ensuite devenir positifs et, ultérieurement, à nouveau négatifs. A vrai dire, ces auto-anticorps n'ont aucun rôle pathogène. Ils ne sont donc utilisés que comme des marqueurs diagnostiques commodes mais imparfaits.

**Tableau II**

<b>HÉPATITE AUTO-IMMUNE</b>	
<b>Type 1</b>	<b>Type 2</b>
Anticorps anti-nucléaires Anticorps anti-muscle lisse (spécificité anti-actine) Anticorps anti-récepteur ASG	Anticorps anti-LKM 1 Anticorps anti-LC1
Anticorps anti-mitochondries Anticorps anti-SLA Anticorps de type ANCA	Anticorps anti-nucléaires

## Diagnostic

Le diagnostic d'hépatite auto-immune repose sur 4 critères : (a) une hépatite d'interface (une biopsie hépatique est donc requise) ; (b) une augmentation des gammaglobulines sériques ; (c) la détection d'auto-anticorps à titre "significatif" (c'est-à-dire supérieur à un seuil fixé habituellement à 1/40 ou 1/80) ; et (d) l'absence d'autres causes d'hépatopathie.

L'étape la plus délicate consiste à écarter les autres causes ([Tableau III](#)). Les stéatopathies (alcoolique et dysmétabolique ou médicamenteuse) sont facilement écartées par la biopsie. Toutefois, une simple stéatose accompagnant une consommation chronique d'alcool ou syndrome dysmétabolique est fréquente dans la population générale, de sorte qu'une association fortuite est toujours possible. De même, dans certains groupes de population (africains ou asiatiques, toxicomanes), les infections par les virus de l'hépatite B ou C, sans hépatite active, sont également fréquentes, de sorte qu'une association fortuite est là aussi possible. La maladie de Wilson, et le déficit en alpha-1 antitrypsine ZZ ou SZ, sont assez facilement identifiés par les tests biochimiques sanguins ou les analyses spécifiques du spécimen de foie. Plus difficile est le diagnostic différentiel avec une hépatite médicamenteuse immuno-allergique, que seules l'anamnèse et l'évolution permettent de distinguer. Le diagnostic différentiel avec cirrhose biliaire primitive, cholangite auto-immune et cholangite sclérosante primitive repose sur les

**Tableau III**

<b>HÉPATITE AUTO-IMMUNE Diagnostic Différentiel (exclusion des autres causes)</b>
• Stéatopathies alcoolique et non alcoolique
• Hépatites virales B, C, D
• Maladie de Wilson
• Déficience en alpha-1 antitrypsine
• Hépatite médicamenteuse
• Cirrhose biliaire primitive
• Cholangite sclérosante primitive

données de la biopsie hépatique et de la cholangiographie par IRM. Les formes de chevauchement posent des problèmes particuliers qui seront envisagés plus loin.

Dans certains cas, plus nombreux en centres très spécialisés que dans la vraie vie, les quatre critères du diagnostic ne sont pas réunis. Généralement, c'est la présence des anticorps anti-nucléaires ou des anticorps anti-tissus qui manque, et l'augmentation peu marquée des gammaglobulines qui paraît sans spécificité, alors que toutes les autres causes d'hépatopathie ont été écartées et que l'aspect histopathologique est parfaitement compatible avec le diagnostic d'hépatite auto-immune. Dans ces cas, il faut accorder une grande importance (a) à l'association à d'autres affections auto-immunes (dont une liste non exhaustive est présentée dans le [Tableau II](#)) ; (b) aux antécédents familiaux de maladie auto-immune ; (c) à la recherche d'autres auto-anticorps par mise en œuvre de techniques plus spécifiques et plus sensibles (une liste non-exhaustive de ces derniers est présentée dans les [Tableaux II et IV](#)) ; (d) à un haplotype HLA connu pour être associé à un fort risque de maladie auto-immune ; en Europe, il s'agit de A1/B8/DR3 ou DR4.

Il reste encore des cas où ces critères additionnels ne peuvent être réunis. Lorsque la maladie est peu active, et ne nécessite donc pas de traitement, la répétition régulière des recherches d'auto-anticorps peut permettre le diagnostic. Mais lorsque la maladie est très active et qu'il paraît souhaitable de traiter rapidement, force est de poser un

**Tableau IV**

<b>HÉPATITE AUTO-IMMUNE</b> <b>Autres auto-anticorps fréquents</b>
• pANCA
• Anticorps anti-thyroïde
• Anticorps anti-érythrocytes
• Anticorps anti-phospholipides
• Anticorps anti-gliadine
• Anticorps anti-endomysium
• Anticorps anti-cellule pariétale

diagnostic de présomption et de débiter le traitement immunosuppresseur qui sert alors de test diagnostique. L'expérience a montré que les maladies très actives (transaminases supérieures à 10 N) dont l'aspect histologique est compatible avec une hépatite auto-immune, et qui sont restées idiopathiques après exclusion soigneuse des autres causes, sont des hépatites auto-immunes dans la majorité des cas. En effet, elles répondent le plus souvent, et rapidement, au traitement immunosuppresseur. Il convient toutefois de rappeler que les malades atteints d'hépatite chronique virale B ou C et traités par immunosuppresseurs voient également leurs transaminases diminuer rapidement. Un tel test thérapeutique à but diagnostique ne peut être envisagé sans réserve chez un patient ayant des contre-indications, soient-elles relatives, au traitement immunosuppresseur.

## **Histoire naturelle et pronostic**

Elle est imprévisible. Certains patients ont des formes peu actives (transaminases < 4 N), relativement stables, lentement fibrosantes. Chez ces patients, il peut être difficile de jauger le rapport bénéfice/risque d'un traitement immunosuppresseur prolongé. D'autres patients ont des formes actives (transaminases > 4 N) évoluant rapidement vers des lésions de fibrose extensive et une cirrhose. D'autres patients encore, ont des formes sévères évoluant de façon subaiguë vers une insuffisance hépatique grave. Dans tous les cas, une rémission spontanée est possible. Cependant, la rémission spontanée est imprévisible et souvent incomplète. La rechute est habituelle, bien qu'à un terme imprévisible, se comptant en mois, années, voire décades.

Globalement, l'évolution vers une cirrhose au cours de l'hépatite auto-immune paraît beaucoup plus fréquente et plus rapide qu'au cours des autres hépatopathies chroniques. Lorsque la cirrhose reste active, toutes les complications de celle-ci sont possibles. L'incidence du carcinome hépatocellulaire paraît plus faible qu'au cours des autres hépatopathies chroniques, mais les études tenant compte de l'âge plus jeune et du sexe féminin (deux facteurs de moindre incidence du carcinome hépatocellulaire) restent à faire.

Les indicateurs de mauvais pronostic qui ont pu être identifiés ont tous trait à l'activité de l'hépatite : nécrose en pont ; transaminases > 10 N ; ou transaminases > 5 N et gammaglobulines > 2 N. Des lésions de cirrhose sont bien évidemment un autre indicateur de mauvais pronostic.

## Traitement

Les moyens dont l'efficacité a été établie sont les corticoïdes et l'azathioprine. D'autres agents se sont avérés potentiellement utiles dans de petites études pilotes non contrôlées : ciclosporine, tacrolimus et mycophénolate mofétyl. On doit séparer le traitement en deux phases : traitement d'attaque qui vise à obtenir la rémission, et traitement d'entretien, qui vise à prévenir la rechute. On s'accorde à parler de rémission lorsque les transaminases sont inférieures à 2 N en permanence et que les gammaglobulines sont normales. En effet, lorsque ces critères sont remplis de façon durable (> 6 mois), la biopsie hépatique ne montre que des lésions d'inflammation limitées à l'espace porte, sans activité nécro-inflammatoire et sans risque de progression de la fibrose.

On s'accorde à ne pas traiter les patients dont les transaminases sont < 2 N, tant qu'elles restent à ce niveau. La raison en est une histoire naturelle assez favorable et la crainte des effets secondaires des traitements. L'indication du traitement lorsque les transaminases sont > 2 N et < 4 N n'est pas claire. Elle dépend de l'intensité de la fibrose, des co-morbidités, et de la tolérance prévisible du traitement.

Le traitement d'attaque a pour indication claire les formes actives (transaminases > 4 N, et gammaglobulines > 1,5 N). Il repose sur les corticoïdes (l'azathioprine seule est inefficace). La dose en équivalent de prednisone est de 20 à 30 mg/jour, selon le poids, en association avec d'azathioprine (1 mg/Kg/jour) qui permet un même résultat pour une dose moindre de corticoïdes, et donc de moindres effets secondaires. Selon le schéma classique, la dose de corticoïdes est diminuée par paliers de 5 mg/jour tous les 15 jours, jusqu'à une dose de 10 mg/jour en dessous de laquelle une dose d'entretien est ajustée individuellement au plus faible niveau qui permette de maintenir la rémission au moins six mois.

Une résistance au traitement immunosuppresseur s'observe dans environ 25 % des cas. Il convient alors de réévaluer le diagnostic. C'est dans ces cas que l'on a pu proposer l'utilisation de la ciclosporine ou du tacrolimus. Le bénéfice obtenu avec ces traitements n'est pas encore clairement évalué.

Les effets secondaires des traitements sont fréquents et potentiellement très graves. La surveillance doit donc être attentive. Pour l'azathioprine il s'agit d'agranulocytose due à un polymorphisme génétique des voies métaboliques, d'une leucopénie et d'une

thrombopénie, ainsi que de troubles digestifs. Un substitut très efficace semble être le mycophénolate mofétyl. Pour les corticoïdes, les effets cosmétiques dévastateurs, métaboliques, vasculaires, osseux et psychiques sont bien connus. Ils requièrent une prévention systématique par les mesures hygiéno-diététiques classiques et les biphosphonates. Le budésonide est un substitut utile des corticoïdes habituels pour minimiser les effets secondaires à condition qu'il n'y ait pas de cirrhose et donc de shunts portosytémiques. Ces shunts annihileraient l'avantage pharmacocinétique d'un fort effet de premier passage hépatique.

Le traitement d'entretien repose soit sur les corticoïdes à la plus faible dose possible, soit sur l'azathioprine (1,5 à 2 mg/Kg/jour). On recommande de ne pas donner de traitement d'entretien après rémission de la première poussée. En effet, 25 % des patients dans ce cas n'auront pas de rechute, au moins rapide, et seront donc épargnés par les effets secondaires d'une immunodépression prolongée. Dans tous les autres cas, le traitement d'entretien devra être administré, sans que des études aient permis d'en fixer la durée optimale. On a pu proposer de tenter une diminution progressive de l'immunosuppression tous les trois ans pour évaluer si un arrêt peut être tenté. La survenue d'effets secondaires des traitements conduit bien entendu à en tenter l'arrêt plus précocement. Le risque d'affection néoplasique sous traitement au long cours par la combinaison corticoïdes et azathioprine n'est sûrement pas nul, si l'on se réfère aux données recueillies pour ce type de traitement après greffe de rein. Cependant, les données relativement limitées dont on dispose pour l'hépatite auto-immune ne montrent pas une fréquence particulièrement élevée de lymphome ou de mélanome.

Globalement, 75 % des patients peuvent être maintenus en rémission avec les traitements actuels. Lorsque la rémission est maintenue, l'ictère disparaît ; le taux des facteurs de coagulation remonte ; les signes d'hypertension portale se stabilisent ou régressent ; et, à long terme, les lésions de fibrose peuvent régresser, au moins en grande partie. La probabilité de survie devient identique à celle de la population générale. Chez les autres patients, la vitesse d'aggravation est proportionnelle à l'activité. La transplantation hépatique doit donc s'envisager, parfois en super-urgence (rares formes fulminantes), en urgence (formes subaiguës), ou de façon élective. Les résultats sont bons mais le risque de récurrence s'élève à environ 15 %. Il est favorisé par un arrêt rapide des corticoïdes après la greffe.

# Cirrhose biliaire primitive - Cholangite auto-immune

---

## Définition

La cirrhose biliaire primitive est mal nommée. C'est une affection (a) de cause inconnue ; (b) caractérisée histologiquement par une infiltration des espaces portes par des cellules inflammatoires mononucléées, et par des lésions d'inflammation et de destruction des petits canaux biliaires ; et (c) associée à des auto-anticorps spécifiques : anticorps anti-mitochondries de type M2, et/ou anticorps anti-nucléaires ayant une fluorescence cerclée (anticorps dirigés contre la gp210, protéine du pore nucléaire), ou une fluorescence de type grains multiples (ou dots nucléaires) (anticorps dirigés contre la protéine Sp100). La cirrhose biliaire primitive a encore été dénommée cholangite destructrice non suppurée, ou plus récemment et mieux, cholangite auto-immune. L'acronyme cirrhose biliaire primitive reste très utilisé, sans référence particulière à l'existence de lésions de cirrhose. C'est cet acronyme que nous emploierons.

## Facteurs étiologiques et pathogéniques

Par définition, la cause n'est pas connue. Cependant, comme pour l'hépatite auto-immune, des observations cliniques, épidémiologiques, et biologiques suggèrent que certains facteurs lésant les cholangiocytes (les cellules biliaires) déclenchent une inflammation persistante ou auto-entretenu sur un terrain prédisposé. Ce terrain prédisposé est une tendance aux affections auto-immunes dont témoignent (a) une très forte prédominance chez les sujets de sexe féminin (90 % des cas), terrain habituel des maladies auto-immunes ; (b) la fréquence des cas de maladies auto-immunes (dont la cirrhose biliaire primitive elle-même) chez les parents au premier degré des sujets atteints; et (c) la fréquence des affections auto-immunes d'autres organes ou tissus chez les sujets atteints (en particulier lupus, sclérodermie et polyarthrite rhumatoïde ; voir [Tableau I](#)).

Les facteurs déclenchants ont été incriminés principalement sur la base d'observations épidémiologiques et expérimentales : (a) agents infectieux principalement, mais non exclusivement, bactériens ; et (b) xénobiotiques. Le déclenchement des mécanismes auto-immuns serait le fait d'un mimétisme moléculaire entre la cible des anticorps anti-mitochondries et certains antigènes bactériens dans le premier cas, et d'une altération de cette cible par les xénobiotiques ou leurs métabolites dans le second cas. La cible des anticorps anti-mitochondries de type M2 est la sous-unité E2 de la pyruvate déshydrogénase mitochondriale. Pour plus de détails, le lecteur est renvoyé au chapitre sur la cible des auto-anticorps de cette monographie.

Les anticorps anti-mitochondries semblent beaucoup plus étroitement associés à la pathogénie de la cirrhose biliaire primitive que les autres auto-anticorps ne le sont pour l'hépatite auto-immune. En premier lieu, le risque de développer une cirrhose biliaire primitive est considérable chez un sujet ayant des anticorps anti-mitochondries de type M2 sans anomalies des tests hépatiques. En second lieu, la prévalence des anticorps anti-mitochondries de type M2 est proche de 100 % au cours des cholangites destructrices non suppurées, lorsque ces auto-anticorps sont recherchés par des méthodes très sensibles comme l'immunotransfert. En troisième lieu, certaines fluctuations du titre des anticorps anti-mitochondries au cours de l'évolution sont possibles mais ces anticorps ne disparaissent pratiquement jamais. Cependant, le rôle que pourraient jouer ces auto-anticorps dans la pathogénie de la maladie reste largement inconnu.

## **Histopathologie**

Cet aspect est détaillé dans un chapitre spécifique de cette monographie. La lésion centrale est l'atteinte nécro-inflammatoire des petits canaux biliaires des espaces portes. Les lymphocytes prédominent mais, dans les granulomes, des cellules de Langhans et des histiocytes en palissade sont souvent présents. Au stade initial, dit de lésion floride des canaux, les lymphocytes infiltrent la paroi des canaux biliaires. Les cholangiocytes sont altérés ou nécrotiques. A un stade ultérieur, les canaux, totalement détruits, ne sont plus reconnaissables. On parle alors de ductopénie. Des lésions d'âge différent sont trouvées dans différents espaces portes d'un même spécimen de foie, même s'il est obtenu par ponction à l'aiguille.

Une fibrose, de type biliaire, se développe avec le temps. Elle élargit d'abord les espaces portes. Puis elle forme des septa qui tendent à unir les espaces portes entre eux jusqu'à aboutir à une cirrhose particulière par la persistance d'une veine au centre des lobules.

La périphérie des lobules est souvent le siège de travées régénératives. Dans certains cas, une véritable hyperplasie nodulaire régénérative est observée. Cette désorganisation de l'architecture explique l'hypertension portale sévère qui peut être observée en l'absence de cirrhose constituée au cours de la cirrhose biliaire primitive.

Aux stades initiaux, des granulomes peuvent être trouvés à distance des canaux biliaires, voire dans le lobule. L'infiltrat lymphocytaire déborde parfois la lame bordante (hépatite d'interface). Lorsque l'hépatite d'interface est sévère, on doit envisager un syndrome de chevauchement entre cirrhose biliaire primitive et hépatite auto-immune.

## **Manifestations cliniques et données des examens complémentaires**

Dans sa forme la plus typique, la cirrhose biliaire primitive se manifeste par une asthénie et un prurit, sans ictère. Il n'y a pas de lésions cutanées initialement, mais des lésions dues au grattage peuvent apparaître secondairement. Des xanthomes cutanés dus à l'hypercholestérolémie secondaire à la cholestase prolongée sont possibles. Un amaigrissement progressif est fréquent. Les phosphatases alcalines et la gamma-glutamyl-transférase ( $\gamma$ GT) sont nettement augmentées. Les transaminases sont normales ou peu élevées ( $< 5$  N). Lorsqu'elles sont franchement élevées ( $> 5$  N), un syndrome de chevauchement avec une hépatite auto-immune doit être envisagé. Les examens morphologiques ne montrent pas d'anomalies des voies biliaires.

Actuellement, la maladie est souvent reconnue en l'absence de signes cliniques soit parce que des tests hépatiques ont été effectués pour une raison indépendante, soit parce qu'une recherche systématique d'affection associée à une connectivite a été effectuée. L'augmentation des phosphatases alcalines, de la  $\gamma$ GT, ou des deux, en est alors le seul signe.

Il est devenu rare que la maladie soit découverte au stade d'ictère, qui témoigne toujours d'une maladie évoluée. Dans 20 % des cas cependant, la maladie se manifeste principalement par une hypertension portale (hémorragies digestives), en l'absence de syndrome de cholestase clinique et en l'absence de signes d'insuffisance hépatique. C'est dans ces cas que le bloc intra-hépatique est expliqué par l'hyperplasie nodulaire régénérative de pathogénie obscure.

On met habituellement, mais non constamment, en évidence une hypergammaglobulinémie polyclonale modérée. L'augmentation des gammaglobulines porte essentiellement sur les IgM.

Dans 95 % des cas, des anticorps anti-mitochondries sont mis en évidence par la recherche d'anticorps anti-tissus. Ils sont de type M2. Dans environ 70 % des cas, des anticorps anti-nucléaires sont également détectés. Certains d'entre eux sont très spécifiques de la cirrhose biliaire primitive : anticorps anti-gp210 (donnant une fluorescence cerclée, 25 % des cas), anticorps anti-Sp100 (fluorescence de type grains multiples, ou dots nucléaires, 10 % des cas). D'autres auto-anticorps, les anticorps anti-centromère (donnant une fluorescence mouchetée particulière, 10 % des cas) sont spécifiques du syndrome CREST (Calcinose cutanée - Raynaud - Oesophage sclérodermique - Sclérodactylie -Télangiectasies), parfois associé à la cirrhose biliaire primitive dans le cadre du syndrome de Reynolds. Bien d'autres auto-anticorps peuvent être occasionnellement observés en cas de cirrhose biliaire primitive, incluant ceux qui sont associés à l'hépatite auto-immune. Leur présence ne suffit pas à faire porter le diagnostic de forme de chevauchement avec une hépatite auto-immune.

Les autres anomalies mises en évidence par les examens de laboratoire ne font que refléter le syndrome de cholestase chronique (hypercholestérolémie, stéatorrhée, carence en vitamine A, D, E ou K) ; le syndrome d'hypertension portale (hypersplénisme) ; ou le syndrome d'insuffisance hépatique (en fait très tardif).

## **Diagnostic**

Le diagnostic de cirrhose biliaire primitive repose sur trois critères : (a) un syndrome de cholestase ; (b) la détection d'anticorps anti-mitochondries, anticorps anti-gp210, ou anticorps anti-Sp100 ; et (c) une cholangite destructrice non suppurée. En pratique, l'extrême spécificité des anticorps anti-mitochondries pour la cirrhose biliaire primitive permet de poser le diagnostic sur la seule association de ces anticorps à une cholestase sans obstruction des gros canaux. Le diagnostic peut également être posé sur la seule association d'une cholangite destructrice non suppurée et la détection d'anticorps anti-mitochondries, même en l'absence de signes de cholestase. En effet, dans ces cas rares, la cholestase finira toujours par se développer. Au total, le diagnostic est généralement aisé.

Les rares cas difficiles sont ceux où les anticorps anti-mitochondries ne peuvent être détectés par les techniques de routine d'immunofluorescence indirecte (< 10 % des cas). C'est alors que les anticorps anti-gp210 ou anti-Sp100 ont un intérêt. Dans des cas exceptionnels, il faut recourir à des techniques très sensibles d'immunotransfert pour mettre en évidence les anticorps anti-mitochondries.

## **Histoire naturelle et pronostic**

L'évolution spontanée est celle d'une aggravation progressive, inéluctable mais de vitesse variable d'un sujet à l'autre. On estime que la première anomalie détectable est la présence d'anticorps anti-mitochondries. Dans 80 % des cas, en quelques mois ou après de nombreuses années, des anomalies des tests hépatiques finiront par apparaître. Une fois ces anomalies apparues, des symptômes se développeront dans 75 % des cas dans les 10 ans. Une fois les symptômes présents, la maladie progresse vers des complications, le décès ou la nécessité d'une greffe dans 50 % des cas dans les 5 ans.

Histologiquement, aux lésions biliaires florides succède la disparition des canaux biliaires. Parallèlement, la fibrose biliaire secondaire s'étend. Cliniquement, le prurit précède généralement l'ictère qui est accompagné ou suivi des complications de la cholestase

chronique. L'atteinte osseuse est particulièrement préoccupante. L'amaigrissement est massif et l'altération de l'état général est profonde. Dans quelques cas, le prurit et l'asthénie, même quand ils sont isolés, sont si invalidants qu'ils poussent les patients au suicide. Les complications de l'hypertension portale peuvent précéder l'ictère.

La bilirubinémie est le principal marqueur pronostique. On estime généralement qu'une bilirubinémie supérieure à 150  $\mu\text{mol/L}$  augure du décès dans les 12 à 18 mois. Les autres marqueurs ayant une valeur pronostique indépendante sont l'hypoalbuminémie, et la diminution du taux de Quick. L'âge plus élevé est bien sûr un autre facteur pronostique indépendant. Ces facteurs pronostiques sont combinés dans un algorithme (score de la Mayo Clinic) très utilisé en recherche clinique.

## Traitement

On dispose actuellement d'un seul médicament dont l'efficacité ait été prouvée. Il s'agit de l'acide ursodéoxycholique. Il est donné à la dose de 15 mg/Kg/jour, de façon permanente. Il permet de diminuer ou de faire disparaître le prurit, l'ictère, et les anomalies des tests de cholestase dans la majorité des cas. Il permet de retarder de plusieurs années la progression vers la cirrhose, le décès ou la nécessité d'une greffe de foie. Son efficacité est particulièrement nette lorsqu'il est donné précocement, c'est-à-dire avant que n'apparaissent des lésions de paucité ductulaire ou de fibrose extensive. Un bénéfice annexe est la prévention du carcinome colique. Le traitement doit être débuté à doses progressivement croissantes sur 1 à 2 semaines pour prévenir une exacerbation ou un déclenchement du prurit. Les effets secondaires sont bénins et rares. Ils consistent essentiellement en une intolérance digestive. Le mécanisme d'action de l'acide ursodéoxycholique n'est pas clair. Plusieurs éléments pourraient jouer un rôle favorable : remplacement des acides biliaires endogènes toxiques par cet acide biliaire exogène atoxique, immunomodulation, prévention de l'apoptose des cellules biliaires.

Aucun des autres médicaments testés (colchicine, corticoïdes, méthotrexate, D-pénicillamine, cyclophosphamide) n'a permis d'obtenir un rapport bénéfice/effets secondaires aussi favorable que l'acide ursodéoxycholique.

La cirrhose biliaire primitive est une bonne indication à la greffe de foie. On s'accorde pour une décision de transplantation lorsque la bilirubine dépasse 150  $\mu\text{mol/L}$ . L'évolution après greffe est une des plus favorables, comparée à celle des autres indications de transplantation (taux de survie à 10 ans de l'ordre de 85 %). Le risque de récurrence histologique serait de 20 % à 10 ans. Il ne semble pas que cette récurrence affecte l'évolution, au moins avec le recul actuellement disponible.

## **Cholangite sclérosante primitive**

---

### **Définition**

La cholangite sclérosante primitive est une affection (a) de cause inconnue ; (b) caractérisée par de multiples zones de fibrose localisée, inflammatoire, prédominant sur les voies biliaires ; et (c) prédominant sur les voies biliaires de gros ou de moyen calibre.

On a rattaché à la cholangite sclérosante primitive une entité dénommée cholangite sclérosante primitive des petits canaux (small duct primary sclerosing cholangitis) ; cette entité est caractérisée par (a) l'absence d'anomalie des gros et moyens canaux ; (b) des lésions histologiques de fibrose et d'inflammation péri-canaliaires ; et (c) l'association à une maladie inflammatoire cryptogénétique de l'intestin.

### **Facteurs étiologiques et pathogéniques**

Par définition, la cause n'est pas connue. Cependant, plusieurs arguments suggèrent la participation de mécanismes auto-immuns : (a) Il existe une très forte association avec les formes coliques des maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin (colite ulcéreuse ou rectocolite hémorragique, et maladie de Crohn colique). La prévalence de ces maladies intestinales atteint 70 % dans les séries scandinaves de cholangite sclérosante primitive, et plus de 50 % en France. La part des mécanismes auto-immuns dans la pathogénie des maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin reste

assez peu claire, mais elles sont associées à une forte prévalence d'auto-anticorps, p-ANCA en particulier ; (b) chez l'enfant, la moitié des hépatites auto-immunes sont associées à une cholangite sclérosante primitive ; (c) la prévalence des auto-anticorps au cours de la cholangite sclérosante primitive est élevée : 60 % pour les anticorps anti-nucléaires, les anticorps anti-muscle lisse, et les p-ANCA ; (d) l'association à d'autres affections auto-immunes est plus fréquente qu'attendue ; (e) l'haplotype HLA A1-B8-DR3, marqueur de risque de maladies auto-immunes est significativement associé à la cholangite sclérosante primitive ; (f) l'infiltration inflammatoire par des lymphocytes suggère une participation de l'immunité adaptative.

Ces associations à des anomalies de type auto-immunes mises à part, la pathogénie de la cholangite sclérosante primitive CSP reste inconnue.

## **Histopathologie**

La lésion centrale est l'atteinte fibro-inflammatoire des canaux biliaires. Celle-ci consiste en un épaississement fibreux concentrique de la paroi, qui est infiltrée par une quantité variable de lymphocytes et, souvent, de polynucléaires éosinophiles en petit nombre. Ces atteintes fibro-inflammatoires sont localisées. Elles déterminent des sténoses en amont desquelles on trouve des zones de dilatation (cholangiectasies) caractéristiques. Ces lésions caractéristiques sont rarement présentes au niveau d'un spécimen de biopsie hépatique à l'aiguille. Les atteintes visibles par biopsie hépatique à l'aiguille sont habituellement non spécifiques : infiltrat inflammatoire portal mononucléé, fibrose portale, cholestase. Il est rare d'observer au niveau des petits canaux biliaires la fibrose péri-canalair concentrique caractéristique, ou des signes de souffrance des cholangiocytes. La lésion probablement la plus évocatrice de cholangite sclérosante primitive est la ductopénie.

Les lésions sont irrégulièrement réparties dans l'arbre biliaire et dans le foie. L'atteinte de la voie biliaire principale est observée dans environ 60 % des cas ; celle des voies biliaires intra-hépatiques dans 90 % des cas. L'atteinte isolée de l'une ou l'autre de ces parties de l'arbre biliaire est donc très rare.

Il s'y ajoute souvent les lésions non spécifiques d'une angiocholite. Des signes de dysplasie de l'épithélium biliaire sont fréquents. Ils indiquent un très fort risque de développement d'adénocarcinome des voies biliaires (cholangiocarcinome) intra ou extra-hépatique. Celui-ci complique 10 à 15% des cholangites sclérosantes primitives.

Une fibrose portale se développe avec le temps. Elle s'accompagne parfois de thrombose des veines porte intra-hépatiques et d'une atrophie des territoires correspondants. A terme une cirrhose se constitue.

## **Manifestations cliniques et données des examens complémentaires**

Les manifestations de la cholangite sclérosante primitive sont très diverses. On peut les regrouper en trois tableaux cliniques qui peuvent s'associer simultanément ou successivement chez un même patient : (a) le syndrome de cholestase peut se limiter à une augmentation des phosphatases alcalines et de la  $\gamma$ GT, s'accompagner d'une augmentation de la bilirubine, ou donner lieu à des manifestations clinique. Il est habituellement variable dans le temps ; (b) l'angiocholite peut se manifester par la triade classique. Cependant, elle se borne souvent à une douleur ou à de la fièvre. L'augmentation de la CRP paraît constante. L'angiocholite est volontiers récidivante. Elle est favorisée par les manipulations endobiliaires (chirurgicales, endoscopiques ou radiologiques) ; (c) le syndrome de maladie chronique du foie avec complications de l'hypertension portale et de l'insuffisance hépatique.

Les résultats des examens de laboratoire ne fournissent aucun élément spécifique. Une hyper-gammaglobulinémie et des auto-anticorps sont fréquemment mis en évidence. Toutefois, les anticorps anti-mitochondries sont très rares au cours de la cholangite sclérosante primitive (< 5 % des cas).

Les examens complémentaires clés sont les examens morphologiques des voies biliaires et, au premier rang d'entre elles, la cholangiographie par IRM. L'échographie peut montrer les irrégularités des grosses voies biliaires, mais sa spécificité et sa sensibilité sont insuffisantes. Il en est de même de la tomodensitométrie.

L'échoendoscopie montre souvent l'épaississement de la voie biliaire principale ou les irrégularités des voies biliaires du lobe gauche, mais c'est un examen invasif, et il peut ne rien montrer de spécifique. L'examen de référence est la cholangiographie rétrograde endoscopique, mais il s'agit d'un examen invasif, et dangereux. Il a été largement supplanté, malgré une petite perte de sensibilité et de spécificité, par la cholangiographie par IRM qui montre les zones dilatées en amont des sténoses multiples, et leur répartition irrégulière. La cholangiographie par IRM ne fait courir aucun risque lorsque ses rares contre-indications classiques sont respectées.

Lorsqu'une sténose prédominante est mise en évidence, un cholangiocarcinome doit être suspecté. L'IRM peut apporter des arguments en montrant une masse tissulaire, ou une obstruction vasculaire au voisinage. Le brossage ou les biopsies effectués par cathétérisme rétrograde endoscopique donnent des informations très spécifiques lorsqu'une dysplasie sévère ou des cellules carcinomateuses sont mises en évidence.

Une augmentation de l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) ou du CA19-9 est fréquente. Mais elle s'explique habituellement de façon non spécifique par le syndrome de cholestase. Toutefois, une augmentation marquée et simultanée des deux marqueurs suggère très fortement le diagnostic de cholangiocarcinome compliquant la cholangite sclérosante primitive.

## **Diagnostic**

Le diagnostic de cholangite sclérosante primitive repose sur deux critères : (a) des lésions des voies biliaires de gros ou de moyen calibre caractéristiques ; (b) l'absence d'autres causes aux anomalies des voies biliaires. Les données de la cholangiographie IRM, suivie en cas de besoin de la cholangiographie rétrograde, fournissent habituellement les éléments du diagnostic. L'association à une maladie inflammatoire cryptogénétique de l'intestin l'assoit avec certitude.

En pratique, la difficulté principale est d'écartier les autres causes d'anomalies similaires des voies biliaires : cholangiocarcinome primitif, dans la rare forme diffuse ; angiocholite d'autre cause (qui donne des irrégularités temporaires des voies biliaires pouvant simuler

une cholangite sclérosante primitive) ; et d'autres cholangiopathies diffuses. Parmi celles-ci ont été individualisées l'atteinte biliaire de la mucoviscidose, la microlithiase intra-hépatique du syndrome de la bile pauvre en phospholipides (due à la mutation du gène MDR3 ou ABCB4), les cholangiopathies ischémiques (dont il existe de multiples causes), les atteintes biliaires observées au cours du SIDA ou après transplantation hépatique. Le contexte et l'évolution sont souvent les meilleurs arguments différentiels.

Il arrive que la cholangite sclérosante primitive survienne, ou se manifeste, avant l'atteinte digestive en cas de maladie inflammatoire cryptogénétique de l'intestin associée. Une coloscopie est indispensable chez tout patient atteint de cholangite sclérosante primitive apparemment isolée, car la colite peut être asymptomatique cliniquement, mais visible lors de l'endoscopie ou sur les prélèvements biopsiques.

## **Histoire naturelle et pronostic**

L'évolution est particulièrement capricieuse et imprévisible. La survenue d'un ictère n'a pas la même valeur pronostique que dans la cirrhose biliaire primitive car il peut régresser, tout particulièrement lorsqu'il est contemporain d'un épisode infectieux. Toutefois, lorsqu'il persiste, il indique un mauvais pronostic. La survenue de signes d'hypertension portale fait également craindre la survenue de complications graves.

La principale difficulté pronostique reste de prédire la survenue d'un cholangiocarcinome à un stade où celui-ci reste curable. L'augmentation conjointe et marquée de l'ACE et du CA19-9 d'une part, et les données cyto-histologiques biliaires d'autre part, sont des tests de très bonne spécificité. Cependant, lorsqu'elles sont présentes, le cholangiocarcinome est déjà au-delà d'un traitement efficace. L'intérêt suscité par le PET-scan n'a pas été confirmé en raison d'une absence de spécificité. Toutefois, lorsque l'ensemble de ces examens donne des résultats normaux, la présence d'un cholangiocarcinome peut être exclue.

En cas de maladie inflammatoire cryptogénétique de l'intestin, l'association à une cholangite sclérosante primitive est un marqueur d'un risque augmenté d'adénocarcinome colique.

## Traitement

Il n'y a pas de traitement dont l'efficacité sur la cholangite sclérosante primitive soit réellement prouvée. L'acide ursodéoxycholique, à la dose de 20 mg/Kg/jour permet souvent d'améliorer les tests de cholestase. Son excellente tolérance fait qu'il est habituellement prescrit. De plus, son action bénéfique sur le risque de dégénérescence des adénomes coliques au cours de la cirrhose biliaire primitive le rend attractif (mais non établi) dans la prévention des adénocarcinomes coliques en cas de maladie inflammatoire cryptogénétique de l'intestin. Les traitements immunosuppresseurs quand ils ont été évalués, n'ont pas fait la preuve de leur efficacité.

En cas de sténose prédominante localisée et symptomatique (angiocholite ou ictère) atteignant la voie biliaire principale ou les canaux hépatiques droit ou gauche, une dilatation et la mise en place de prothèses (endoscopiques ou percutanées) peut permettre de franches améliorations symptomatiques. Leur impact pronostique reste incertain. Ce type de sténose doit toujours faire suspecter un cholangiocarcinome. Ces gestes ne doivent être envisagés que si le reste des voies biliaires paraît peu atteint.

Les angiocholites doivent être traitées par antibiotiques administrés suffisamment longtemps (trois semaines). La voie intraveineuse ne paraît pas indispensable si la biodisponibilité du médicament est bonne par voie orale, et si l'observance est satisfaisante. Il ne paraît pas judicieux de prescrire une antibiothérapie prophylactique en raison du risque de sélectionner des bactéries multi-résistantes. Les complications de type maladie chronique du foie peuvent être traitées de la façon usuelle.

La cholangite sclérosante primitive est une bonne indication de transplantation hépatique si l'on a pu s'assurer de l'absence de cholangiocarcinome. L'évolution capricieuse et imprévisible rend difficile de déterminer le moment optimum de la greffe. Le risque de cholangiocarcinome étant égal à celui de décès post greffe (15 %), ce risque ne doit pas conduire, à lui seul, à une décision de greffe. En cas de cholangiocarcinome détectable avant la greffe, la mortalité après greffe est considérable. En revanche, en cas de cholangiocarcinome non détectable avant la greffe, mais mis en évidence sur l'explant, le pronostic est certes assombri mais non catastrophique. En pratique, les indications de

transplantation sont une augmentation persistante de la bilirubinémie à plus de 100  $\mu\text{mol/L}$ , ou la survenue de complications de la cirrhose, ou des épisodes subintrants d'angiocholite. Les résultats de la greffe sont presque aussi bons que pour la cirrhose biliaire primitive. Toutefois, le risque d'adénocarcinome colique paraît augmenté chez les patients atteints de maladie inflammatoire cryptogénétique de l'intestin.

## Formes de chevauchement

---

On décrit sous ce terme des entités associant les aspects histologiques caractéristiques de l'hépatite auto-immune d'une part et, d'autre part, soit les aspects histologiques de la cirrhose biliaire primitive, soit les aspects cholangiographiques de la cholangite sclérosante primitive. Les formes de chevauchement de cirrhose biliaire primitive et de cholangite sclérosante primitive paraissent rares, de diagnostic presque impossible (si ce n'est la présence d'anticorps anti-mitochondries chez un sujet atteint de cholangite sclérosante primitive caractéristique), et sans réel impact clinique. Chez un sujet atteint d'hépatite auto-immune, il convient de ne pas porter un diagnostic de forme de chevauchement seulement sur la présence d'anticorps anti-mitochondries, en l'absence de syndrome de cholestase nette (phosphatases alcalines  $> 2 \text{ N}$ ). De même, chez un sujet atteint de cirrhose biliaire primitive, il convient de ne pas porter le diagnostic de forme de chevauchement sur la présence d'anticorps anti-nucléaires ou d'anticorps anti-muscle lisse en l'absence d'augmentation nette des transaminases ( $> 5 \text{ N}$ ) et de lésions franches d'hépatite d'interface.

Les manifestations des formes de chevauchement associent généralement les manifestations décrites pour chaque entité. Elles peuvent survenir simultanément ou se succéder dans le temps. L'évolution spontanée des formes de chevauchement est plus sévère que celle des formes isolées. Le traitement combine celui de chacune des formes, c'est-à-dire acide ursodéoxycholique et traitement immunosuppresseur, le plus souvent.

# Atteintes vasculaires hépatiques au cours des affections auto-immunes systémiques

---

Une atteinte des vaisseaux hépatiques peut survenir comme conséquence de certaines affections auto-immunes systémiques.

## **Syndrome des anti-phospholipides, primaire ou secondaire à une connectivite**

Ce syndrome peut être responsable d'une thrombose des veines hépatiques ou de la veine cave inférieure, plus rarement d'une thrombose de la veine porte ou de la veine mésentérique supérieure. Dans tous les cas, il est rare qu'il n'y ait pas, associé fortuitement, un autre facteur de risque de thrombose (contraception orale ou grossesse, thrombophilie héréditaire, syndrome myéloprolifératif).

Le syndrome des anti-phospholipides peut aussi être responsable d'une dilatation sinusoidale. Cette entité mal comprise se traduit parfois seulement par des anomalies chroniques des tests hépatiques, parfois par une hépatomégalie douloureuse. Le diagnostic est fait par la biopsie hépatique.

Le syndrome des anti-phospholipides est une cause majeure d'une affection très rare, l'hyperplasie nodulaire régénérative. L'hyperplasie nodulaire régénérative se traduit par une hépatomégalie et une hypertension portale sans insuffisance hépatique. Elle est caractérisée par une perte de l'architecture lobulaire du foie qui devient siège de multiples nodules de régénération microscopiques sans fibrose. On l'attribue à une irrégularité de perfusion à l'échelle microscopique, conduisant à une atrophie des territoires mal perfusés et à une hypertrophie compensatrice des territoires restés perfusés. Le diagnostic est basé sur la biopsie du foie. Souvent, l'hyperplasie nodulaire régénérative se constitue suite à une dilatation sinusoidale.

Enfin, le syndrome des anti-phospholipides peut être responsable d'une atteinte de la microcirculation artérielle des voies biliaires. La conséquence est une cholangiopathie ischémique dont l'expression clinique est proche de celle de la cholangite sclérosante primitive.

## **Sclérodermie systémique**

La sclérodermie systémique est la deuxième cause la plus fréquemment rapportée d'hyperplasie nodulaire régénérative.

## **Manifestations auto-immunes de l'hépatite C**

---

L'hépatite C est caractérisée par des lésions histologiques d'hépatite chronique sans beaucoup de spécificité, et difficilement distinguables de celles de l'hépatite auto-immune. Toutefois, l'hépatite C est rarement très active alors que l'hépatite auto-immune l'est souvent.

### **Auto-anticorps non spécifiques**

Comme au cours de toute maladie chronique du foie, des auto-anticorps dirigés contre des cibles variées, et à titre modéré, sont fréquents. La signification des auto-anticorps n'est pas claire : conséquence non spécifique d'une maladie du foie (et ce d'autant plus que la maladie du foie est avancée) ; témoin d'un terrain auto-immun constituant un co-facteur d'aggravation de la maladie du foie ; ou auto-anticorps suscités par l'infection par le virus de l'hépatite C.

### **Anticorps anti-LKM1**

On doit cependant distinguer un cas très particulier : celui des anticorps anti-LKM1 (pour anti-Liver Kidney Microsomes, ou anti-réticulum endoplasmique, ou anti-microsomes). Chez les sujets atteints d'hépatite C, ces auto-anticorps sont dirigés contre la même cible que chez les patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2, à savoir le cytochrome P450IID6. Toutefois, les épitopes contre lesquels ils sont dirigés différent au cours de ces deux affections. On retient généralement l'hypothèse d'un mimétisme moléculaire entre ce cytochrome et des constituants viraux. Ces

auto-anticorps ne sont présents que chez moins de 5 % des sujets atteints d'hépatite C. Ils ne confèrent aucune particularité à l'hépatite C. Ils ne justifient aucune attitude thérapeutique spécifique.

## **Cryoglobulines**

La cryoglobulinémie mixte est fréquente chez les sujets infectés par le virus de l'hépatite C, encore que sa prévalence exacte soit débattue. Elle pourrait être de l'ordre de 40 %. Inversement, il semble que l'infection par le virus de l'hépatite C rende compte d'environ 30 % des cryoglobulinémies mixtes. Il s'agit de cryoglobulines de type II (composant polyclonal IgG et composant monoclonal IgM à activité facteur rhumatoïde), ou de type III (composant polyclonal IgG et polyclonal IgM à activité facteur rhumatoïde). La prévalence semble s'élever au fur et à mesure de l'évolution. Elle est particulièrement fréquente en cas de cirrhose. La cryoglobulinémie ne s'accompagne de manifestations extra-hépatiques (purpura palpable, arthralgies, neuropathie) que dans une minorité de cas. Une atteinte rénale de type glomérulopathie membranoproliférative est encore plus rare. La cryoglobulinémie disparaît lorsque la virémie disparaît généralement du fait d'un traitement antiviral. Le mécanisme par lequel l'infection virale détermine la cryoglobulinémie reste incertain.

## Bibliographie

---

1. ANGULO P., LINDOR K.D. Primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1999 ; 30 : 325-332.
2. BEUERS U., RUST C. Overlap syndromes. *Semin Liver Dis* 2005 ; 25 : 311-320.
3. CHAZOUILLERES O., WENDUM D., SERFATY L., MONTEBAULT S., ROSMORDUC O., POUPON R. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *Hepatology* 1998 ; 28 : 296-301.
4. CLIFFORD B.D., DONAHUE D., SMITH L., CABLE E., LUTTIG B., MANNS M., BONKOVSKY H.L. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995 ; 21 : 613-619.
5. CORPECHOT C. Primary biliary cirrhosis. *Gastroenterol Clin Biol* 2003 ; 27 : 320-324.
6. CZAJA A.J., FREESE D.K. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2002 ; 36 : 479-497.
7. CZAJA A.J., BIANCHI F.B., CARPENTER H.A., KRAWITT E.L., LOHSE A.W., MANNS M.P., McFARLANE I.G., MIELI-VERGANI G., TODA G., VERGANI D., VIERLING J., ZENIYA M. Treatment challenges and investigational opportunities in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2005 ; 41 : 207-215.
8. DENNINGER M.H., CHAIT Y., CASADEVALL N., HILLAIRE S., GUILLIN M.C., BEZEAUD A., ERLINGER S., BRIERE J., VALLA D. Cause of portal or hepatic venous thrombosis in adults: the role of multiple concurrent factors. *Hepatology* 2000 ; 31 : 587-591.
9. KAPLAN M.M., GERSHWIN M.E. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005 ; 353 : 1261-1273.
10. KRAWITT E.L. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 54-66.
11. LAMY P., VALLA D., BOURGEOIS P., RUEFF B., BENHAMOU J.P. Primary sclerosing cholangitis and systemic lupus erythematosus. *Gastroenterol Clin Biol* 1988 ; 12 : 962-964.
12. LEE Y.M., KAPLAN M.M. Primary sclerosing cholangitis. *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 924-933.
13. MANNS M.P., OBERMAYER-STRAUB P. Viral induction of autoimmunity: mechanisms and examples in hepatology. *J Viral Hepat* 1997 ; 4 Suppl 2 : 42-47.
14. MANNS M.P. Recent developments in autoimmune liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 1997 ; 12 : S256-S271.
15. MANNS M.P., STRASSBURG C.P. Autoimmune hepatitis: clinical challenges. *Gastroenterology* 2001 ; 120 : 1502-1517.
16. NGUYEN-KHAC E., KAIRIS L., GOURNAY N., BONNIERE M., THEVENOT T., MATHURIN P., HACHULLA E., PARIS J.C., DUPAS J.L. Overlap syndrome between primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Gastroenterol Clin Biol* 2004 ; 28 : 1107-1116.
17. PARIENTE A. Auto-immune hepatitis: therapeutic management. *Gastroenterol Clin Biol* 2003 ; 27 : B13-B19.
18. SAADOUN D., CAZALS-HATEM D., DENNINGER M.H., BOUDAUD L., PHAM B.N., MALLET V., CONDAT B., BRIERE J., VALLA D. Association of idiopathic hepatic sinusoidal dilatation with the immunological features of the antiphospholipid syndrome. *Gut* 2004 ; 53 : 1516-1519.
19. WOODWARD J., NEUBERGER J. Autoimmune overlap syndromes. *Hepatology* 2001 ; 33 : 994-1002.



**Le diagnostic  
histopathologique  
des maladies  
auto-immunes du foie**

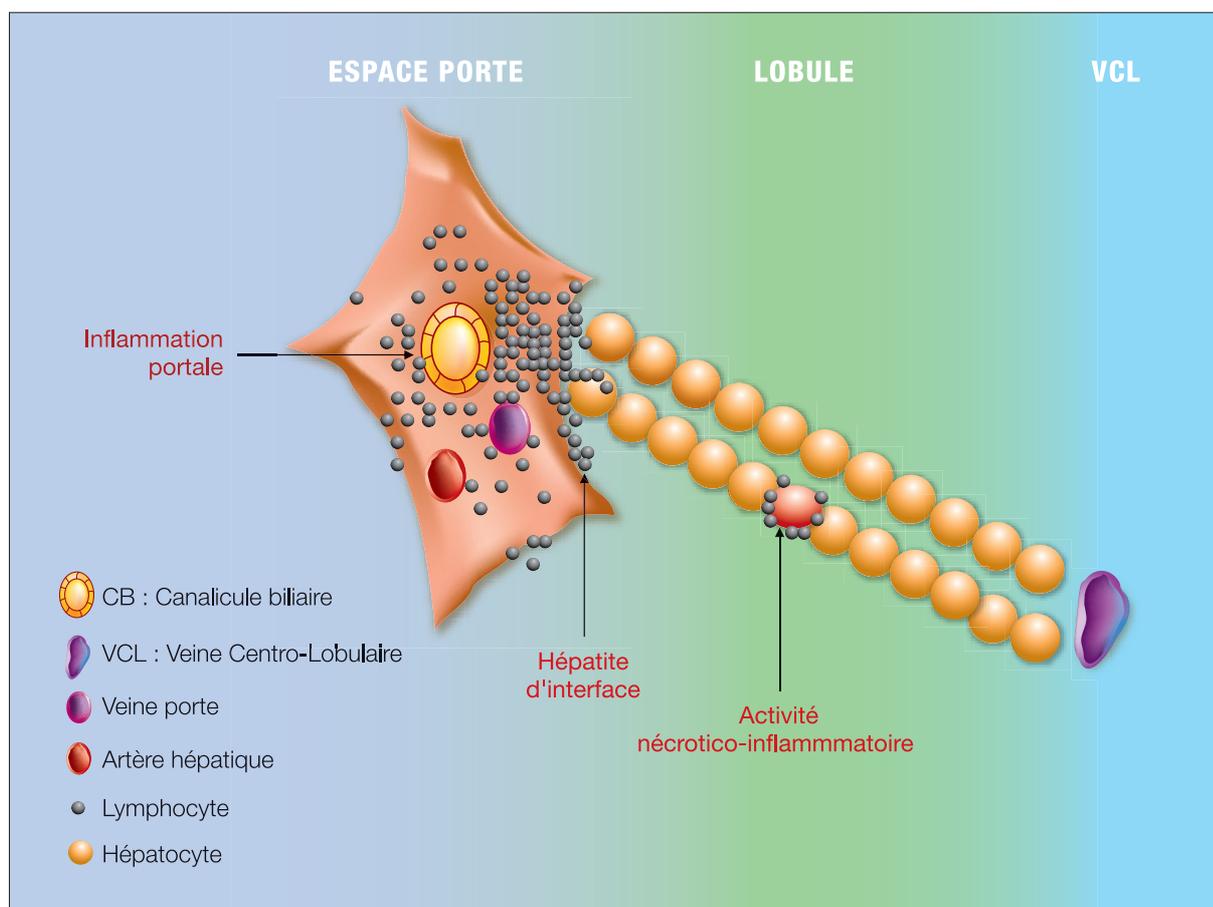
*J.F. Mosnier*

CHAPITRE II

# Introduction

L'examen histopathologique des ponctions biopsies hépatiques réalisées dans un contexte de maladie auto-immune primitive du foie a plusieurs buts :

1. Déterminer la (ou les) cible(s) cellulaire(s) (hépatocytes et/ou canaux biliaires) de "l'attaque" immunologique afin de classer la maladie.
2. Déterminer l'activité nécrotico-inflammatoire des lésions.
3. Apprécier l'étendue de la fibrose et/ou de la mutilation hépatique induite par ces pathologies chroniques évoluant par poussées.
4. Apprécier l'évolution des lésions et l'effet du traitement au cours des examens histopathologiques successifs.
5. Dépister les maladies hépatiques associées.



**Figure 1 : Représentation schématique du lobule hépatique et des lésions élémentaires des hépatites auto-immunes.**

Dans tous les cas, seule la confrontation des données cliniques, biologiques et morphologiques permet le diagnostic précis de la maladies auto-immunes du foie, tant sont fréquentes les formes de chevauchement. D'autre part, chaque pathologie auto-immune pose son lot propre de diagnostic différentiel, en particulier les pièges diagnostiques d'auto-immunité induite par les virus hépatotropes ou les drogues. Enfin, il est nécessaire de garder en mémoire que certaines pathologies auto-immunes hépato-biliaires restent en grande partie inaccessibles au diagnostic histopathologique, la cholangite sclérosante primitive en étant un exemple, offrant une place de choix à l'imagerie.

## **Définition et lésions élémentaires de la pathologie hépatique**

---

Le foie normal a une architecture organisée entre des vaisseaux afférents, artère hépatique et veine porte, et des vaisseaux efférents, les veines sus-hépatiques. Les veines efférentes initiales ou veines centro-lobulaires servent de repère pour l'interprétation histopathologique des lésions hépatiques élémentaires. Le foie peut être divisé en unités morphologiques élémentaires ou lobules. Il s'agit de structures de forme schématique hexagonale, comportant à chacun de leurs coins un espace porte et centré par une veine centro-lobulaire. Le lobule est constitué de travées hépatocytaires séparées par des sinusoides vasculaires permettant de drainer le sang apporté par les veines portes et les artères hépatiques vers la veine centro-lobulaire. Les espaces portes sont faits d'un tissu conjonctif supportant les veines et les artères portes, et les canaux biliaires. La lame d'hépatocytes bordant les espaces portes est appelée lame bordante péri-portale.

Cette représentation toute schématique du foie en unités structurales permet de définir des lésions élémentaires dont la présence, confrontée aux données cliniques, permet d'étayer les diagnostics. Les principales lésions élémentaires observées au cours des pathologies auto-immunes du foie sont les lésions définissant les hépatites chroniques quelle que soit leur cause, et des lésions biliaires.

Les lésions histologiques élémentaires des hépatites chroniques sont (a) l'infiltrat inflammatoire intra-portal ; (b) la nécrose hépatocytaire de la lame bordante péri-portale désignée sous le terme d'hépatite d'interface ou encore de l'anglicisme "piecemeal necrosis" ; et (c) l'activité nécrotico-inflammatoire. La conséquence de ces lésions est l'apparition de la fibrose extensive, disséquant et mutilant le parenchyme hépatique.

- L'infiltrat inflammatoire intra-portal est caractérisé par une accumulation de cellules inflammatoires dans le tissu conjonctif de soutien de l'espace porte.

- L'hépatite d'interface est caractérisée par la présence de cellules inflammatoires entre les hépatocytes de la lame bordante péri-portale. Ces cellules semblent déborder de l'espace porte. La présence d'hépatocytes nécrotiques, apparaissant sous forme de corps éosinophiles isolés, appelés corps de Councilman, accompagne cet infiltrat.

- L'activité nécrotico-inflammatoire est caractérisée par la présence d'hépatocytes nécrotiques entourés de cellules inflammatoires souvent mononucléées, lymphocytes ou macrophages. Parfois le terme de micro-granulome est utilisé pour désigner cette lésion. Des lésions de nécrose de collapsus peuvent traduire l'activité des hépatites. Cette lésion est due à la disparition au sein d'une travée lobulaire d'un grand nombre d'hépatocytes nécrotiques, favorisant le collapsus de la trame réticulinique de soutien.

Dans les hépatites chroniques, la fibrose s'étend généralement depuis les espaces portes pour former des "ponts inter-portaux". L'extension progressive de cette fibrose aboutit finalement à la constitution d'une cirrhose qui constitue un tournant dans la morbidité de toute pathologie hépatique. La cirrhose a une définition morphologique. Il s'agit d'une lésion diffuse à tout le foie, faite de nodules de régénération séparés par une fibrose annulaire. L'architecture lobulaire du foie disparaît alors totalement, rompant la continuité vasculaire autour de laquelle le foie est bâti.

L'activité de l'hépatite chronique et la fibrose qui en résulte sont appréciées par des scores, permettant de comparer les lésions et de suivre leur évolution à l'occasion de ponctions-biopsies successives.

Les voies biliaires sont aussi les cibles potentielles de pathologies auto-immunes. Des lésions élémentaires peuvent être aussi définies.

- La cholestase désigne l'accumulation de pigments biliaires dans le foie.
- La cholangite désigne des lésions de destruction des cellules épithéliales bordant les canaux biliaires présents dans les espaces portes, accompagnées d'un infiltrat inflammatoire. Lorsque l'infiltrat inflammatoire est fait surtout de polynucléaires, les lésions de cholangites sont dites aiguës. Lorsque l'infiltrat est fait plutôt de lymphocytes ou de plasmocytes, les lésions sont dites chroniques.
- La prolifération "néoductulaire" ou "cholangiolaire" est la conséquence d'un obstacle sur la voie biliaire quelle qu'en soit la nature, ou d'une fibrose extensive ou mutilante du foie. Il s'agit d'une augmentation du nombre des ductules biliaires permettant de drainer la bile depuis les canalicules biliaires vers les canaux biliaires inter-lobulaires. Les canalicules biliaires sont les canaux formés entre les hépatocytes, dans lesquels est sécrétée la bile. Les néoductules apparaissent alors à la périphérie des espaces portes et pénètrent dans le lobule hépatique.
- La cholangite sclérosante est une lésion élémentaire. Il s'agit de l'apparition d'un anneau fibreux tout autour d'un canal biliaire. Elle est souvent la conséquence d'une inflammation au long cours des canaux biliaires.
- La cirrhose biliaire désigne une fibrose extensive péri-portale, conséquence d'une atteinte inflammatoire chronique des voies biliaires. Ce terme est le plus souvent impropre dans la mesure où il désigne aussi bien une fibrose extensive qu'une véritable cirrhose, telle qu'elle a été définie plus haut.
- La ductopénie est définie par la diminution du nombre de canaux biliaires intra-hépatiques. Elle est appréciée en effectuant le rapport entre le nombre de sections de canaux biliaires et le nombre de sections de terminaisons de veines portes présents sur la totalité de la surface hépatique analysée.

# Les pathologies auto-immunes du foie

---

Ce chapitre sera divisé en maladies auto-immunes à tropisme hépatocytaire et maladies auto-immunes à tropisme biliaire.

## Les maladies auto-immunes à tropisme hépatocytaire : les hépatites auto-immunes

L'aspect histologique des hépatites auto-immunes varie selon la présentation clinique de la maladie. Cette dernière est souvent dépendante du type de l'hépatite auto-immune.

L'histopathologie des hépatites auto-immunes s'accorde avec le concept pathogénique selon lequel cette maladie est auto-immune, présentant des antigènes à la surface des hépatocytes, cibles d'une réponse immunitaire effectrice à médiation cellulaire prédominante. Différents groupes ont tenté d'isoler des signes histologiques de l'hépatite auto-immune mais aucun signe n'a de spécificité suffisante pour affirmer le diagnostic.

### Formes habituelles

Les hépatites auto-immunes sont caractérisées par des lésions nécrotico-inflammatoires intra-lobulaires plus ou moins marquées. Des hépatocytes en nécrose éosinophiles et des corps de Councilman sont présents (Figure 2). La ballonisation des hépatocytes précédant leur nécrose est un signe cardinal des hépatites auto-immunes (Figure 3). La nécrose hépatocytaire est accompagnée d'un infiltrat inflammatoire fait de lymphocytes et plus rarement de plasmocytes. Les lésions nécrotiques et inflammatoires prédominent dans la région péri-portale [1].

Les lésions d'hépatite d'interface ("piecemeal necrosis") des hépatites auto-immunes se caractérisent par un infiltrat inflammatoire semblant déborder des espaces portes, s'immiscant entre les hépatocytes de la lame bordante hépatocytaire péri-portale. Certains hépatocytes sont en nécrose éosinophile ou de clarification. L'infiltrat inflammatoire est fait essentiellement de lymphocytes. Selon les descriptions classiques, les plasmocytes sont nombreux (Figure 4). En fait, leur nombre est très variable et leur absence n'élimine pas pour autant le diagnostic [1]. Des éosinophiles peuvent être présents.

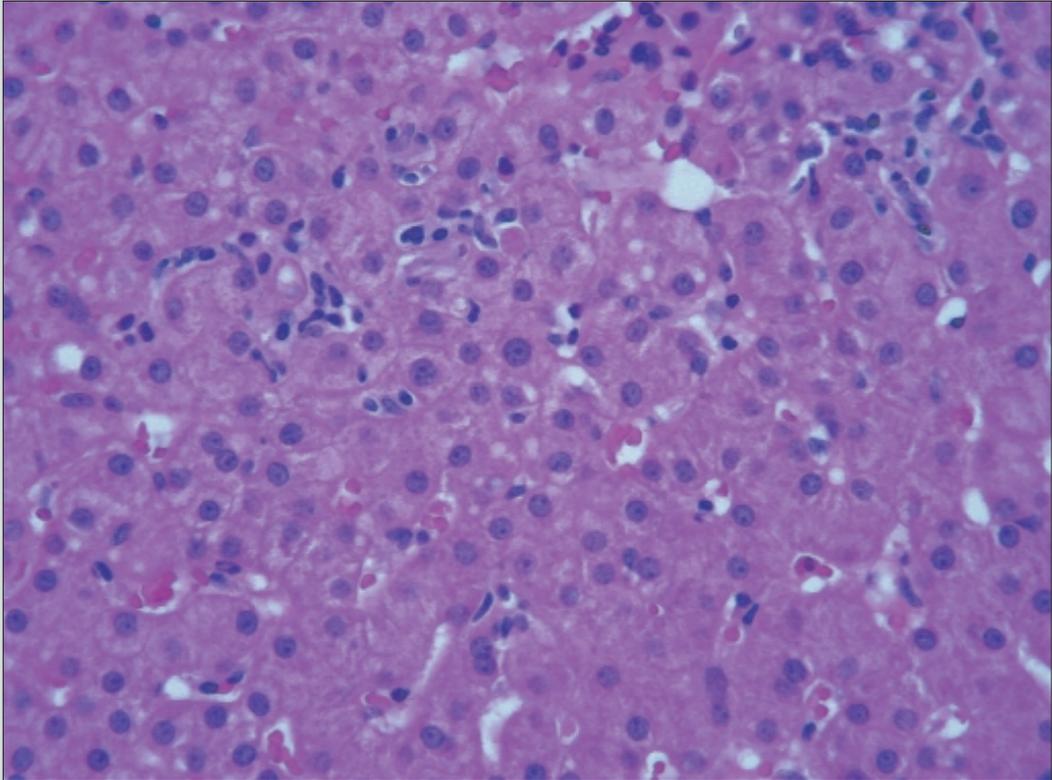


Figure 2 : Hépatite auto-immune avec activité nécrotico-inflammatoire légère. Présence dans le lobule hépatique d'éléments inflammatoires lymphocytaires et monocytaires, organisés parfois autour d'hépatocytes en nécrose éosinophile (corps de Councilman) (Hématéine éosine safran x 200).

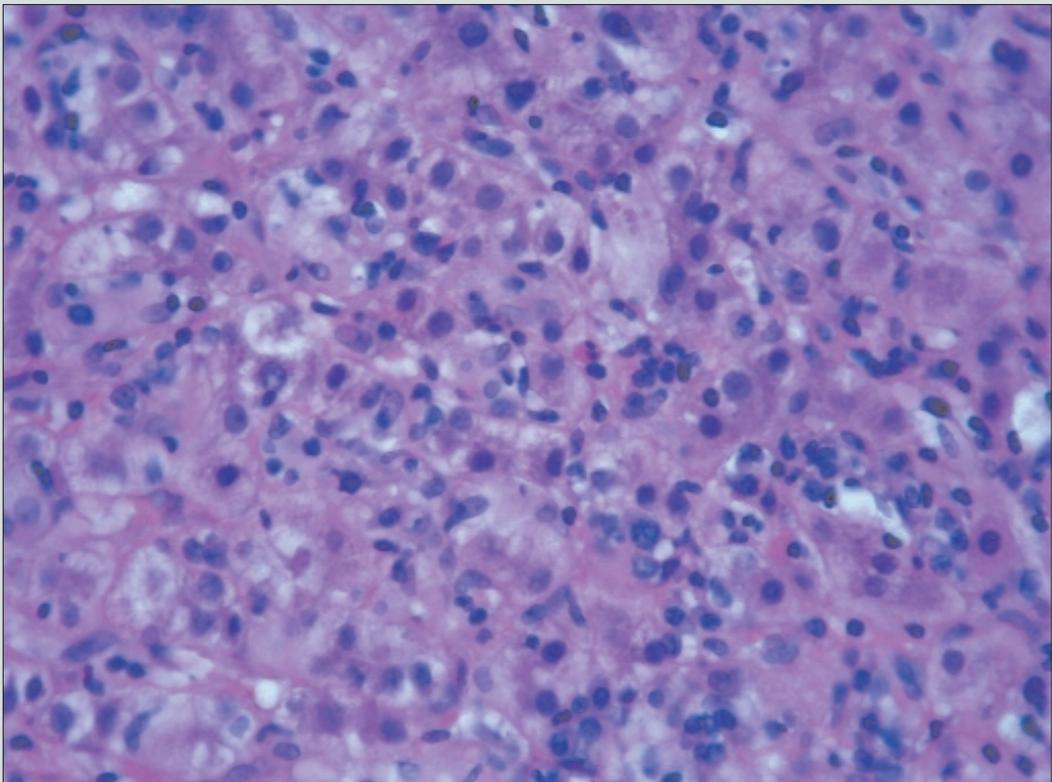


Figure 3 : Hépatite auto-immune avec activité nécrotico-inflammatoire modérée. De nombreux hépatocytes intra-lobulaires sont en nécrose de clarification, entourés d'éléments inflammatoires mononucléés. Des polynucléaires éosinophiles composent aussi l'infiltrat inflammatoire (Hématéine éosine safran x 200).

Les espaces portes sont élargis et sont le siège d'un infiltrat inflammatoire dense, fait essentiellement de lymphocytes. Des follicules lymphoïdes, parfois munis de centres clairs sont parfois présents, mais leur fréquence est moindre que dans les hépatites chroniques liées au virus de l'hépatite C. Les canaux biliaires inter-lobulaires peuvent présenter de discrètes altérations épithéliales au contact de cet infiltrat inflammatoire dans 30 à 40 % des cas [2].

### **Les formes "aiguës" et les poussées sévères des formes chroniques**

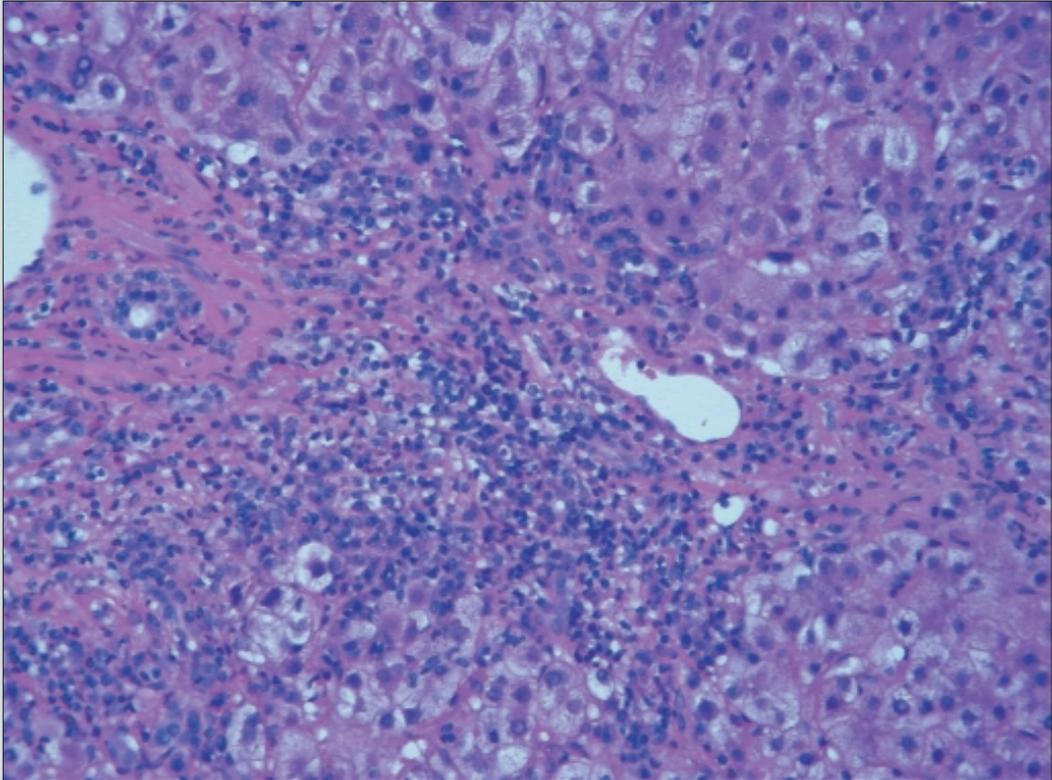
Ces formes cliniques se caractérisent par une nécrose confluyente intra-lobulaire associée à un collapsus des fibres de réticuline péri-trabéculaire ("nécrose de collapsus") (Figure 5). La nécrose confluyente atteint souvent la région centro-lobulaire. Dans certaines formes graves, elle peut être sub-massive, en pont entre les différents lobules. Cette nécrose confluyente s'accompagne de lésions nécrotico-inflammatoires marquées. Les patients présentant une nécrose confluyente lors de la découverte initiale de la maladie aurait un risque accru d'évoluer plus rapidement vers la cirrhose [3].

L'hépatite d'interface est sévère [2]. Elle se caractérise aussi par une nécrose hépatocytaire entraînant un collapsus du parenchyme hépatique péri-portal et la constitution de structures micro-acineuses par les hépatocytes résiduels ou régénératifs. Cette nécrose de collapsus peut confluer avec la nécrose intra-lobulaire pour former une nécrose en pont porto-centro-lobulaire.

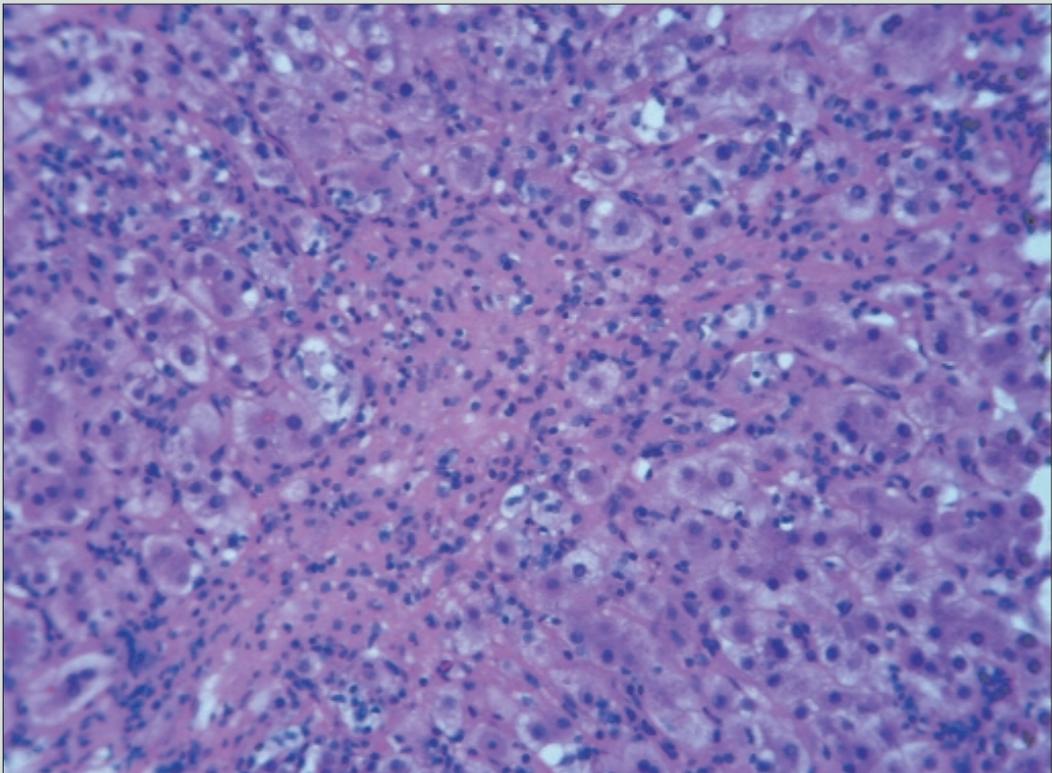
### **La fibrose**

La fibrose n'est pas différente de celle des hépatites chroniques d'origine virale. Elle s'étend depuis les espaces portes élargis, ainsi que dans les zones de nécrose de collapsus. Il en résulte la constitution de ponts fibreux entre les espaces portes. Il apparaît parfois une fibrose autour des veines centro-lobulaires, au décours de phases prolongées de nécrose dans ce territoire.

Une cirrhose se constitue progressivement. De nombreuses hépatites auto-immunes sont découvertes fortuitement à ce stade [4].



**Figure 4** : Hépatite auto-immune avec hépatite d'interface. La lame bordante hépatocytaire péri-portale est dissociée par un infiltrat inflammatoire fait de lymphocytes, de plasmocytes et de polynucléaires éosinophiles. Des hépatocytes de la lame bordante péri-portale sont en nécrose de clarification. (Hématéine éosine safran x 100).



**Figure 5** : Hépatite auto-immune avec activité nécrotico-inflammatoire sévère. Présence d'une nécrose de collapsus s'étendant à partir de la veine centro-lobulaire, caractérisée par une déshabitation des traçées hépatocytaires, un œdème et des éléments inflammatoires mononucléés. Autour du foyer de déshabitation, des hépatocytes résiduels sont en nécrose de clarification (Hématéine éosine safran x 100).

## **Grade d'activité et score de fibrose**

La sévérité des hépatites auto-immunes peut être appréciée grâce à des scores d'activité et de fibrose. Ces scores sont utiles pour apprécier l'évolutivité des lésions en cas de biopsies répétées. Dans le cadre des hépatites auto-immunes, le plus utilisé dans le monde est le score d'Ishak qui est souvent scindé en deux parties : le grade qui précise l'activité nécrotico-inflammatoire, et le stade qui apprécie la fibrose [5]. Quatre paramètres permettent de préciser le grade : l'activité nécrotico-inflammatoire intra-lobulaire cotée de 1 à 4, la nécrose en pont cotée de 1 à 6, l'hépatite d'interface cotée de 1 à 4, et l'inflammation portale cotée de 1 à 4. Le stade repose sur l'étendue de la fibrose : 0 : pas de fibrose ; 1 : extension fibreuse de rares espaces portes ; 2 : extension fibreuse de la plupart des espaces portes ; 3 : extension fibreuse de la plupart des espaces portes avec présence de rares ponts inter-portaux ; 4 : extension fibreuse de la plupart des espaces portes avec nombreux ponts entre espaces portes ou entre espaces portes et veines centro-lobulaires ; 5 : cirrhose incomplète ; 6 : cirrhose.

## **Formes particulières**

La transformation syncytiale des hépatocytes a été décrite dans certaines hépatites auto-immunes. La présence d'hépatocytes multinucléés s'accompagne des autres signes histologiques d'hépatite auto-immune [6]. Cette transformation cellulaire n'est pas spécifique car elle peut être observée dans des maladies hépatiques d'autres causes, notamment lors d'infection par le paramyxovirus [7].

## **Les problèmes diagnostiques**

Un problème diagnostique et thérapeutique est posé pour les hépatites chroniques présentant à la fois une sérologie virale C positive et une élévation significative du titre des anticorps anti-nucléaires ou des anticorps anti-LKM1. Seul un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et pathologiques peut permettre de rattacher la symptomatologie à une hépatite chronique liée au virus de l'hépatite C ou à une hépatite auto-immune dans la mesure où il n'existe pas de lésion histologique réellement discriminante en faveur de l'une ou l'autre de ces hépatites chroniques. Néanmoins, la présence de nodules lymphoïdes intra-portaux et d'une stéatose modérée sont des arguments orientant plutôt vers une

hépatite chronique liée au virus de l'hépatite C, tandis que la sévérité de l'hépatite d'interface et des lésions nécrotico-inflammatoires lobulaires, la présence de nombreux plasmocytes ou de polynucléaires éosinophiles dans l'infiltrat inflammatoire orientent plutôt vers une hépatite auto-immune [1, 4].

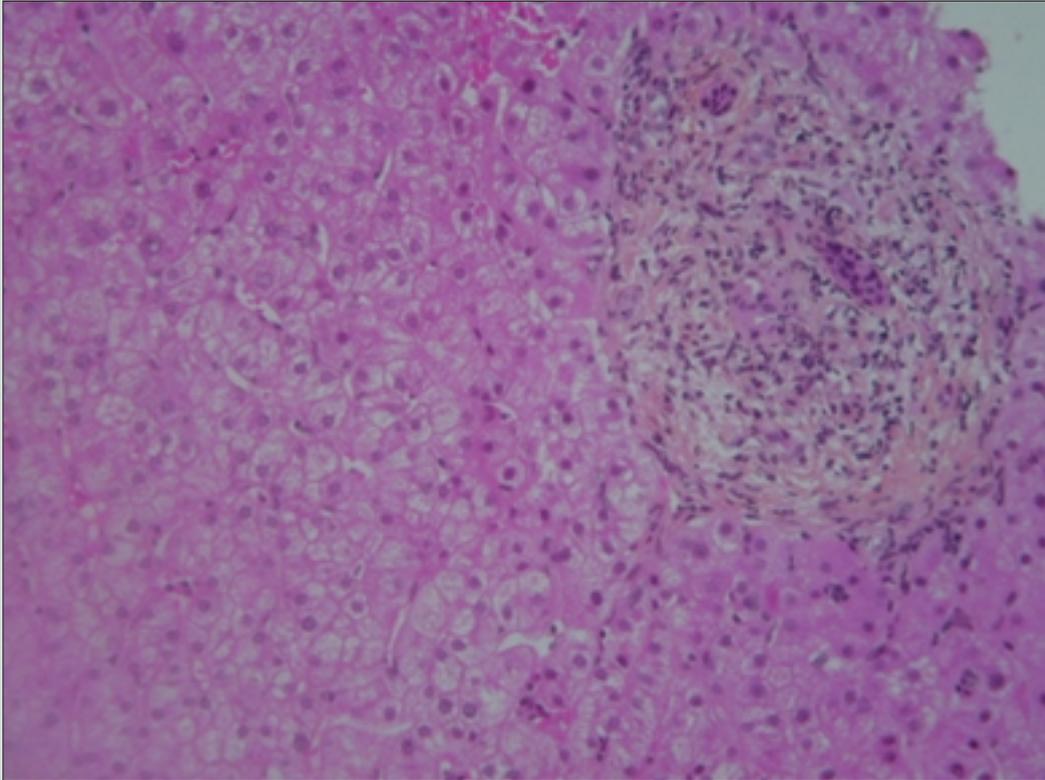
## **Les maladies auto-immunes à tropisme biliaire**

### **La cirrhose biliaire primitive**

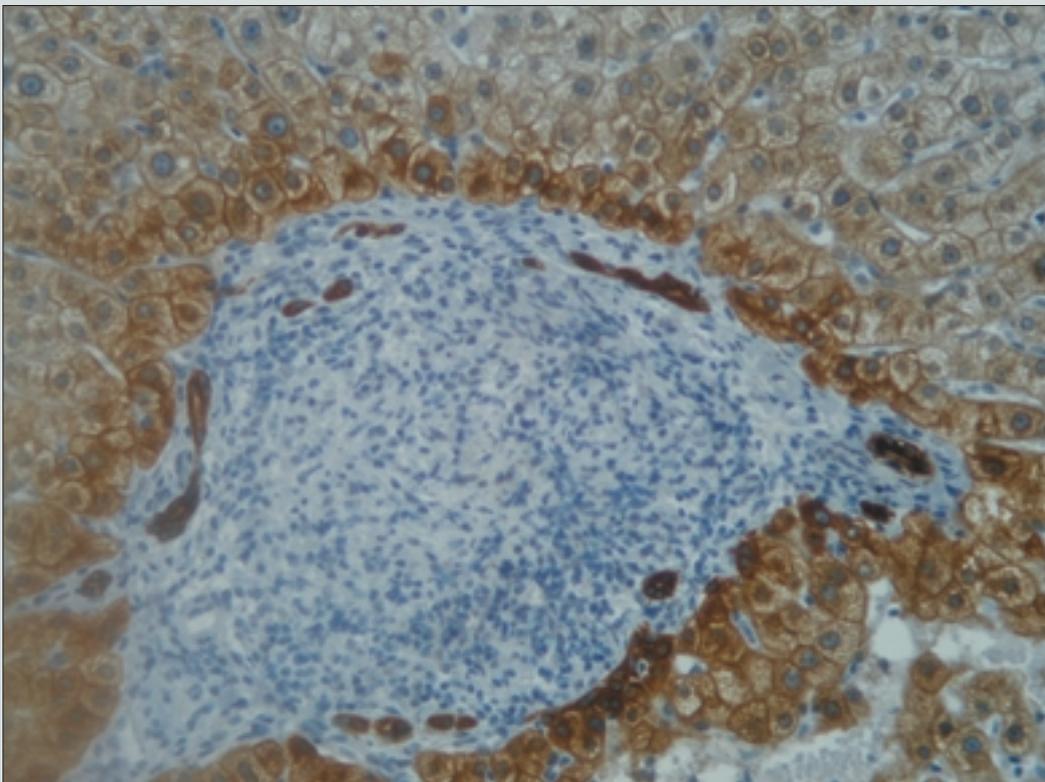
La cirrhose biliaire primitive est une cholangiopathie destructrice progressive au cours de laquelle les canaux biliaires de petits et de moyens calibres intra-hépatiques sont détruits par un processus inflammatoire non suppuratif. Les lésions sont discontinues et segmentaires le long de l'arbre biliaire. De ce fait, les lésions apparaissent focales sur des coupes histologiques bi-dimensionnelles. Les canaux biliaires intra-hépatiques les plus volumineux et les canaux biliaires extra-hépatiques sont épargnés. La plupart des cirrhoses biliaires primitives sont associées à des anticorps anti-mitochondries circulants. Dans 5 à 10 % des cas, ces anticorps ne sont pas détectés. Ces atteintes sont dénommés cholangite auto-immune par certains, cirrhose biliaire primitive séro-négative par d'autres.

#### **a) Les lésions portales des cirrhoses biliaires primitives**

Dans les lésions précoces de la cirrhose biliaire primitive, un infiltrat inflammatoire fait de lymphocytes et de plasmocytes est observé dans les espaces portes. Cet infiltrat inflammatoire est centré par des canaux biliaires de petits et de moyens calibres (< 100 µm de diamètre). Les lymphocytes s'immiscent entre les cellules épithéliales des canaux biliaires qui présentent des lésions plus ou moins marquées : modification de leurs contours, vacuolisation du cytoplasme des cholangiocytes, augmentation de la densité et stratification des noyaux des cholangiocytes, desquamation des cholangiocytes dans la lumière biliaire, altération localisée de la membrane basale des canaux biliaires (Figure 6). Dans certains espaces portes, les canaux biliaires peuvent être totalement détruits (Figure 7). Des granulomes épithélioïdes et giganto-cellulaires sans nécrose peuvent apparaître au contact ou à proximité des canaux biliaires (Figure 8). Ces lésions sont caractéristiques de la phase dite "floride" de la maladie. A ce stade, il n'apparaît ni hépatite d'interface, ni fibrose extensive.



**Figure 6** : Cirrhose biliaire primitive. Destruction des canaux biliaires et lésions d'hyperplasie du revêtement épithélial des canaux. Le tissu conjonctif portal ne contient que de rares éléments inflammatoires (Hématéine éosine safran x 100).



**Figure 7** : Cirrhose biliaire primitive. Destruction des canaux biliaires inter-lobulaires par la réaction inflammatoire granulomateuse. Il ne persiste que des néoductules biliaires en périphérie de l'espace porte. (Cytokératine KL1 x 100 [Les néoductules biliaires apparaissent en marron au sein de l'espace porte]).

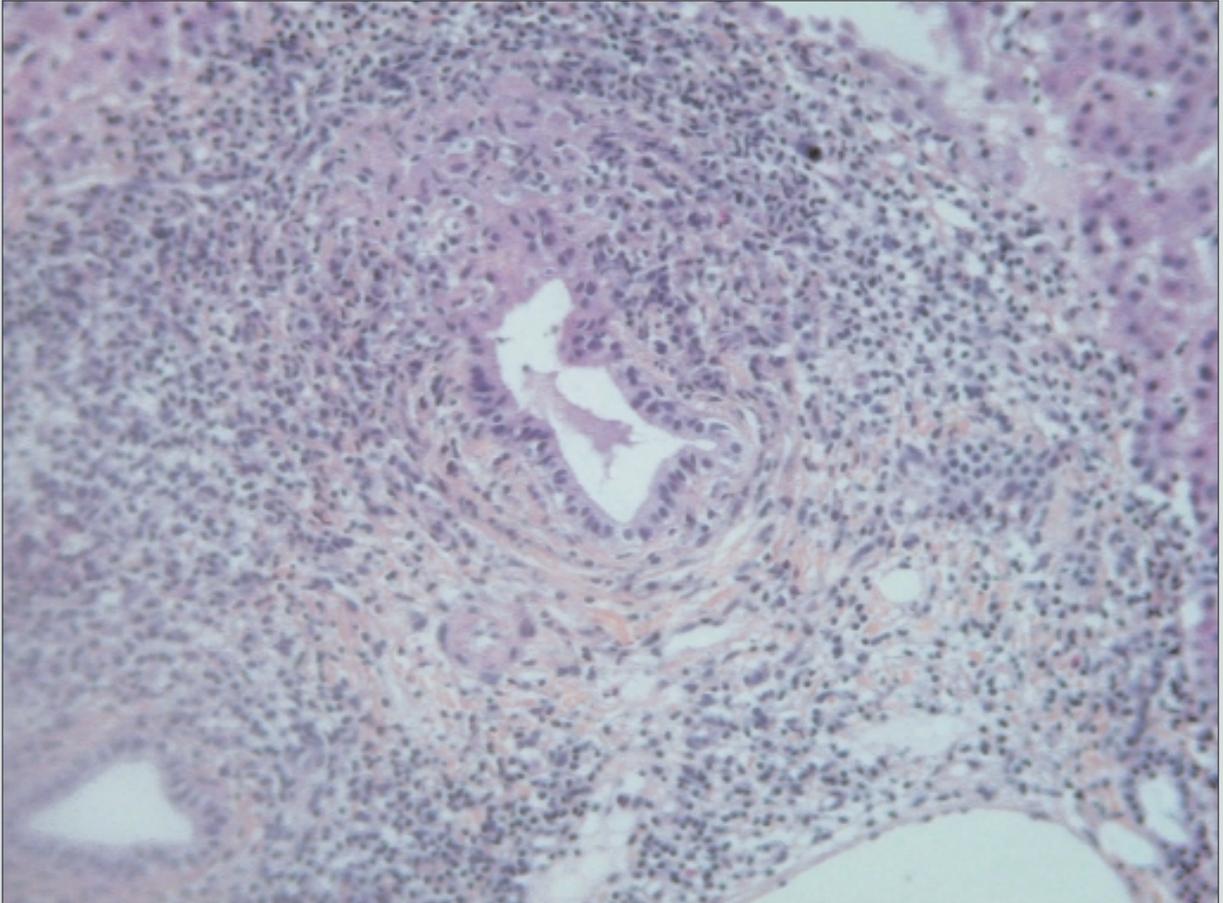


Figure 8 : Cirrhose biliaire primitive. Présence d'un granulome épithélioïde et giganato-cellulaire au contact d'un canal biliaire partiellement détruit (Hématéine éosine safran x 200).

La destruction des canaux biliaires entraîne une prolifération de néo-ductules biliaires en périphérie des espaces portes inflammatoires. Ces néo-ductules biliaires pénètrent parfois dans le parenchyme hépatique. Ces néo-ductules ont un petit calibre (< 50 µm), une lumière mal définie, et s'anastomosent les uns avec les autres. Autour d'eux apparaissent un œdème et un infiltrat inflammatoire fait de polynucléaires neutrophiles. L'extension dans le parenchyme hépatique de la prolifération néo-ductulaire est parfois appelée piecemeal necrosis ductulaire, caractérisant la phase dite de "prolifération néo-ductulaire" de la maladie.

La persistance et la progression de l'inflammation dans les espaces portes s'accompagnent de l'apparition de lésions d'hépatite d'interface et d'une fibrose extensive péri-portale, puis en pont.

Au stade tardif de la cirrhose biliaire primitive, les espaces portes sont fibreux, constituant progressivement une cirrhose. Les canaux biliaires disparaissent (ductopénie) et l'inflammation intra-septale régresse.

### **b) Les lésions parenchymateuses de la cirrhose biliaire primitive**

Au stade précoce, les lésions sont confinées aux espaces portes. Avec la progression de la maladie, le parenchyme présente des lésions en rapport avec la cholestase chronique et la progression des lésions inflammatoires de l'espace porte vers la lame bordante hépatocytaire péri-portale pour constituer l'hépatite d'interface. La cholestase chronique entraîne différentes lésions prédominantes dans la région péri-portale et péri-septale. Les néo-ductules proliférants s'étendent radialement vers les tissus péri-portaux. L'organisation des hépatocytes péri-portaux se modifie : ils forment des tubules connectant entre eux les néo-ductules biliaires et les canalicules. Ces tubules sont appelés, lorsqu'ils sont observés en coupe, "rosettes hépatocytaires cholestatiques". Les hépatocytes de la région péri-portale présentent souvent des corps de Mallory et une accumulation de cuivre intra-cytoplasmique. La bilirubinostase n'apparaît qu'aux phases évoluées de la maladie. La bilirubine s'accumule dans les canalicules, les hépatocytes et les cellules de Kupffer de la région centro-lobulaire.

### **c) Les stades histologiques de la cirrhose biliaire primitive**

La cirrhose biliaire primitive évolue selon un spectre de lésions histologiques de gravité croissante, pouvant être évaluées par l'examen de la ponction biopsie hépatique. Les

classifications utilisées sont anciennes [8]. Ces classifications distinguent un stade 1 : phase précoce "floride" caractérisée par l'atteinte des canaux biliaires et la présence d'un infiltrat inflammatoire plus ou moins granulomateux ; un stade 2 : phase de "prolifération néo-ductulaire" avec constitution de l'hépatite d'interface ; un stade 3 : phase de fibrose extensive avec constitution de ponts inter-portaux ; un stade 4 : phase de cirrhose. Le stade lésionnel est établi à partir du stade le plus sévère. En effet, même à un stade évolué, la répartition des lésions peut être inhomogène et des espaces portes ne présentant que des lésions précoces peuvent être observés.

#### **d) Buts de la ponction biopsie hépatique**

La ponction biopsie hépatique est réalisée pour confirmer le diagnostic de cirrhose biliaire primitive chez les sujets présentant des signes cliniques évocateurs et des anticorps anti-mitochondries circulants, ou pour établir le diagnostic chez des patients n'ayant pas d'anticorps anti-mitochondries circulants. Elle permet d'éliminer d'autres pathologies telle que la sarcoïdose, et de dépister des lésions associées, notamment un déficit en alpha1 anti-trypsine fréquent dans ce contexte. Le stade histologique de la maladie peut être enfin évalué afin de fournir une information d'ordre pronostique et d'évaluer l'évolution de la maladie sous l'effet du traitement.

#### **La cholangite sclérosante primitive**

La cholangite sclérosante primitive est un syndrome cholestatique chronique caractérisé par la destruction progressive de segments de l'arbre biliaire par une fibrose oblitérante. La cholangite sclérosante primitive atteint typiquement les canaux biliaires extra-hépatiques et les canaux biliaires intra-hépatiques de gros calibre. Les canaux biliaires de plus faible calibre peuvent être aussi impliqués dans une moindre mesure. Les formes atteignant exclusivement les petits canaux biliaires sont très rares (5 %) [9]. L'atteinte des gros canaux est rarement objectivée par l'étude d'une ponction-biopsie hépatique. Le plus souvent, seule la conséquence de leur obstruction est mise en évidence. La ponction biopsie hépatique est par contre nécessaire pour le diagnostic des cholangites sclérosantes primitives des petits canaux biliaires.

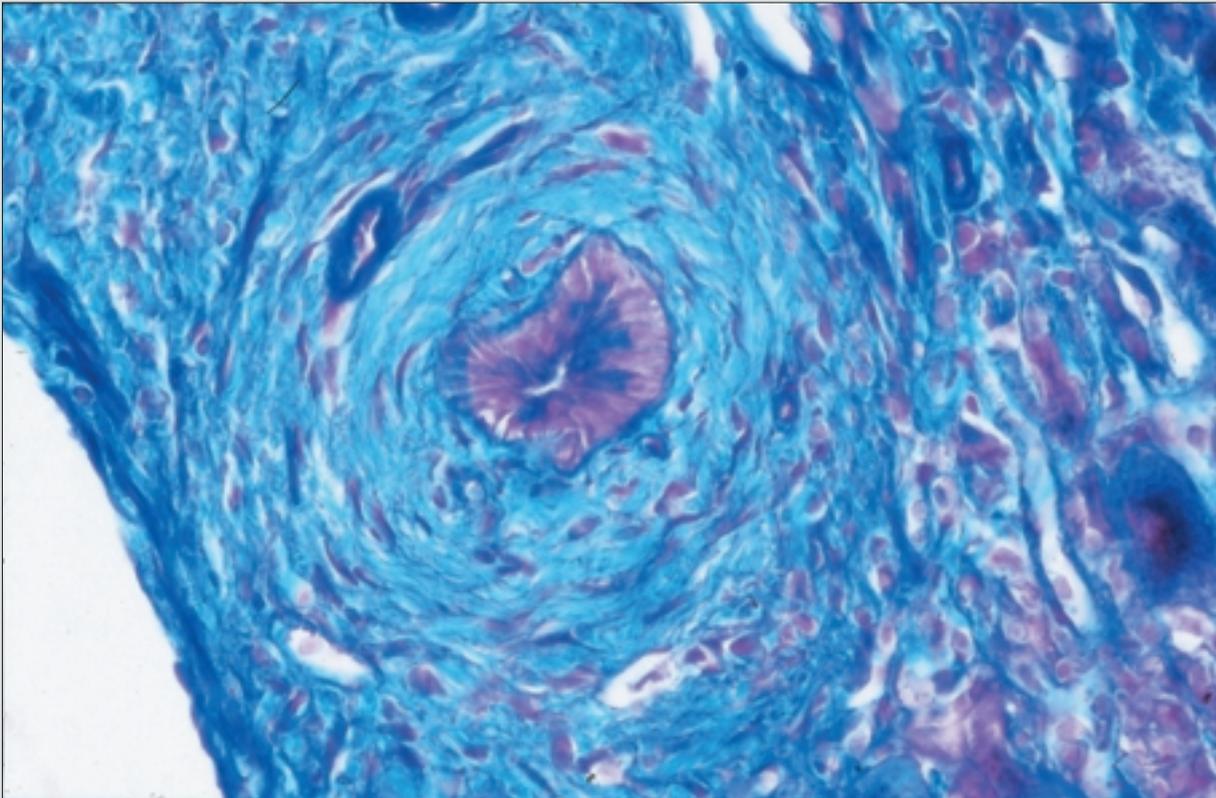


Figure 9 : Cholangite sclérosante primitive. Présence d’une fibrose annulaire apparaissant autour d’un canal biliaire, refoulant de rares éléments inflammatoires (Hématéine éosine safran x 100).

## a) Les lésions histologiques des canaux biliaires extra-hépatiques et des espaces portes

Les lésions précoces sont caractérisées par la présence d'un infiltrat épars de lymphocytes et de rares polynucléaires éosinophiles dans le tissu conjonctif entourant les canaux biliaires. Cet infiltrat est disposé concentriquement tout autour des canaux biliaires. Il est parfois associé à un œdème donnant un aspect en cible. Le nombre de lymphocytes intra-épithéliaux est augmenté entre les cholangiocytes. L'épithélium présente des lésions d'intensité variable : la surface du revêtement est discrètement irrégulière dans les formes mineures, une stratification des cholangiocytes apparaît dans les formes sévères. Le cytoplasme des cholangiocytes est vacuolisé et des lambeaux épithéliaux desquament dans la lumière. Lorsque la fibrose concentrique se développe autour des canaux biliaires, elle repousse l'infiltrat inflammatoire à distance de l'épithélium. Cet infiltrat inflammatoire est souvent de faible intensité. La fibrose empiète progressivement sur le canal biliaire et finit par l'oblitérer, aboutissant à la constitution d'un cordon fibreux, témoignant seul de la préexistence d'un canal biliaire (Figure 9).

Les canaux biliaires présents dans les espaces portes périphériques, concernés habituellement par les ponctions biopsies hépatiques peuvent présenter des lésions identiques. L'infiltrat inflammatoire est peu intense ou modéré, souvent refoulé à distance de l'épithélium biliaire par la fibrose. La cholestase chronique induit une prolifération néo-ductulaire, pouvant s'étendre au-delà de la lame bordante hépatocytaire péri-portale. L'obstruction complète des canaux biliaires par la fibrose s'accompagne d'un oedème et de la présence de polynucléaires.

Les lésions parenchymateuses associent des lésions d'hépatite d'interface généralement de faible intensité et de cholestase chronique.

Une fibrose péri-portale s'étend progressivement en association avec la "piecemeal necrosis néo-ductulaire". Elle constitue des ponts inter-portaux et finalement une cirrhose de type biliaire. C'est à ce stade que sont observés les lésions de cholestase chronique intra-lobulaire, la bilirubinostase et les corps de Mallory.

## b) Les complications hépatobiliaires de la cholangite sclérosante

L'obstruction des canaux biliaires extra-hépatiques ou intra-hépatiques de gros calibre, avant ou après mise en place d'un stent, est souvent compliquée de cholangite ascendante. Celle-ci est diagnostiquée cliniquement mais ses retentissements s'observent souvent à l'examen de la ponction-biopsie hépatique. Des polynucléaires sont alors présents dans la lumière et autour des canaux biliaires inter-lobulaires, formant quelquefois des micro-abcès.

Le cholangiocarcinome est une complication classique des cholangites sclérosantes primitives. Dans une série, un cholangiocarcinome a été observé dans 30 % des pièces d'hépatectomie examinées à l'occasion d'une transplantation hépatique pour cholangite sclérosante primitive [10].

## c) Buts de la ponction-biopsie hépatique

Les cholangites sclérosantes primitives des canaux biliaires extra-hépatiques et des voies biliaires intra-hépatiques de gros calibre représentent 95 % des cholangites sclérosantes primitives. Son diagnostic est un diagnostic d'imagerie. Des ponctions-biopsies hépatiques sont généralement effectuées pour diagnostiquer l'atteinte associée des petites voies biliaires. Les cholangites sclérosantes primitives atteignant exclusivement les voies biliaires de petit calibre sont très rares. Leur diagnostic repose sur l'histopathologie.

## "**Overlap syndrome**"

Ces syndromes sont le sujet de nombreux débats. Le terme d'*overlap syndrome* est utilisé avec excès pour désigner des entités différentes. Certains utilisent le terme d'*overlap syndrome* pour désigner des maladies auto-immunes du foie présentant tous les critères d'une hépatite auto-immune et tous les critères d'une cholangite sclérosante primitive en imagerie. Cette situation se présente surtout chez l'enfant. D'autres ont décrits sous le terme d'*overlap syndrome* des patients qui présentaient initialement une maladie avec tous les critères cliniques, sérologiques et histologiques d'une cirrhose biliaire primitive s'étant brutalement transformée vers des aspects cliniques, sérologiques et histologiques d'hépatite auto-immune. Ces cas rares ne font souvent l'objet que de descriptions sous formes de cas cliniques isolés dans la littérature. Enfin, la plupart des cas d'*overlap*

*syndrome* sont des maladies auto-immunes du foie présentant des critères cliniques, sérologiques ou histologiques d'une autre maladie auto-immune du foie. Cette situation pose un problème de prise en charge thérapeutique du patient. D'un point de vue histologique, deux questions se posent : (a) le diagnostic de cirrhose biliaire primitive peut-il être posé en présence d'une hépatite d'interface significative ? ; (b) est-ce que la présence de lésions destructrices des voies biliaires est compatible avec le diagnostic d'hépatite auto-immune ? Les études ayant tenté de répondre à ces questions montrent qu'il n'existe pas de frontière histologique claire entre les syndromes cholestatiques auto-immuns du foie et l'hépatite auto-immune [11]. Finalement, il n'y a pas de définition universellement acceptée des *overlap syndromes*. Les *overlap syndromes* ne représentent pas de véritables entités pathologiques et restent des diagnostics cliniques de variantes atypiques d'hépatite auto-immune, de cirrhose biliaire primitive ou de cholangite sclérosante primitive.

## Bibliographie

---

1. MEYER ZUM BÜSCHENFELDE K.H., DIENES HP. Autoimmune hepatitis. Definition – Classification – Immunopathogenesis. *Virchows Archives* 1996 ; 429 : 1-12.
2. BACH N., THUNG S.N., SCHAFFNER F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis : a comparative analysis. *Hepatology* 1992 ; 15 : 572-577.
3. ROBERTS S.K., THERNEAU T.M., CZAJA A.J. Prognosis of histological cirrhosis in type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1996 ; 110 : 848-857.
4. CZAJA A.J., CARPENTER H.A. Sensitivity, specificity and predictability of biopsy interpretations in chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1993 ; 105 : 1824-1832.
5. ISHAK K., BAPTISTA A., BIANCHI L., CALLEA F., DE GROOTE J., GUDAT F., DENK H., DESMET V., KORB G., MacSWEEN R.N. Histologic grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology* 1995 ; 22 : 696-699.
6. JOHNSON S.J., MATHEW J., MacSWEEN R.N.M., BENNETT M.K., BURT A.D. Post-infantile giant cell hepatitis : histological and immunohistochemical study. *Journal of Clinical Pathology* 1994 ; 47 : 1022-1027.
7. PHILLIPS M.J., BLENDIS L.M., POUCELL S., PATTERSON J., PETRIC M., ROBERTS E., LEVY G.A., SUPERINA R.A., GREIG P.D., CAMERON R., LANGER B., PURCELL R.H. Syncytial giant-cell hepatitis. Sporadic hepatitis with distinctive pathological features, a severe clinical course, and paramyxoviral features. *New England Journal of Medicine* 1991 ; 324 : 455-460.
8. LUDWIG J. New concepts in biliary cirrhosis. *Seminars in Liver Disease* 1987 ; 7 : 293-301.
9. LUDWIG J. Small duct primary sclerosing cholangitis. *Seminars in Liver Disease* 1991 ; 11 : 11-17.
10. BROOME U., OLSSON R., LOOF L., BODEMAR G., HULTCRANTZ R., DANIELSON A, et al. Natural history and prognostic factors in 305 swedish patients with primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1996 ; 38 : 610-615.
11. CZAJA A.J., CARPENTER H.A. Autoimmune hepatitis with incidental histologic features of bile duct injury. *Hepatology* 2001 ; 34 : 659-665.

# **Historique des auto-anticorps. Indications à leur recherche**

*C. Johanet, E. Ballot*

## **CHAPITRE III**

# Historique

---

La découverte des premiers auto-anticorps date de 1904, mais c'est à partir de 1957 avec l'utilisation de la technique d'immunofluorescence mise au point par Coons en 1950 que se développe leur recherche [1]. L'immunofluorescence indirecte a d'abord été appliquée à la détection des anticorps anti-nucléaires, puis à celle de nombreux auto-anticorps. A l'heure actuelle, on en dénombre plus d'une centaine.

Les principaux marqueurs d'intérêt dans le diagnostic des hépatopathies auto-immunes qui font l'objet de ce document sont les anticorps anti-mitochondries de type 2 (M2), les anticorps anti-muscle lisse de spécificité anti-actine, les anticorps anti-"liver kidney microsome" de type 1 (LKM1), et les anticorps anti-cytosol hépatique de type 1 (LC1). Du fait de leur détection en immunofluorescence indirecte sur coupe de tissus, ces auto-anticorps ont été improprement appelés anticorps anti-tissus. Les anticorps anti-"soluble liver antigen" (SLA) mis en évidence après les auto-anticorps précédemment cités sont les seuls à ne pas être détectables par immunofluorescence indirecte.

La mise en évidence de ces anticorps s'échelonne de 1965 à 1989. Les cibles antigéniques qu'ils reconnaissent ont été identifiées beaucoup plus tardivement, de 1973 à 2004 (voir le chapitre correspondant).

## Anticorps anti-nucléaires

En 1950, Waldenström décrit l'association, chez une jeune femme, d'une cirrhose, d'une infiltration lymphoplasmocytaire hépatique et d'une hyper-gammaglobulinémie, régressant sous traitement corticoïde. La présence de cellules LE chez de tels patients amena Mackay en 1956 à proposer le terme d'hépatite lupoïde, démontrant ainsi la possibilité d'une coexistence hépatopathie/anticorps anti-nucléaires [2]. Depuis, de nombreux anticorps anti-nucléaires ont été identifiés. Nous citerons comme exemple les anticorps anti-gp210 décrits entre 1985 et 1990, notamment par Lassoued et Courvalin [3].

## Anticorps anti-mitochondries

Leur première description par Gajdusek par réaction de fixation du complément date de 1957 [4], mais c'est en 1965 que Walker *et al.* ont décrit une fluorescence cytoplasmique particulière des tubules rénaux, non spécifique d'organe, donnée par les sérums de patients atteints de cirrhose biliaire primitive [5]. Deux ans plus tard, Berg *et al.* démontraient que ces auto-anticorps réagissaient avec le feuillet interne des mitochondries [6].

Neuf types d'anticorps anti-mitochondries ont ensuite été mis en évidence (M1 à M9) [7], principalement dans la cirrhose biliaire primitive, mais également dans de nombreuses pathologies très diverses comme la syphilis, certaines myocardites, le syndrome des anti-phospholipides. En 1989, Berg *et al.* [7] ont proposé trois critères pour définir les anticorps anti-mitochondries : (a) Le sérum du patient doit réagir avec des fractions submitochondriales ; (b) le sérum doit réagir avec des fractions purifiées de la membrane mitochondriale externe ou interne, la pureté des fractions étant définie par des marqueurs enzymatiques ; (c) l'activité anticorps de tous les sérums peut être absorbée avec des mitochondries purifiées.

A ce jour, il existe 10 types d'anticorps anti-mitochondries. Certains sont contestés et leur détection abandonnée. Les anticorps anti-cardiolipides décelés dès les années 1900 furent appelés anticorps anti-M1, ceux de la cirrhose biliaire primitive anticorps anti-M2.

Le [tableau I](#) indique l'ensemble des anticorps anti-mitochondries décrits et les pathologies auxquelles ils sont associés, le [tableau II](#) les anticorps anti-mitochondries décelables en immunofluorescence indirecte et leur aspect. En pratique, l'anticorps anti-M2 de la cirrhose biliaire primitive est de loin le plus fréquent, suivi par l'anticorps anti-M5 beaucoup plus rare. Les autres anticorps anti-mitochondries sont exceptionnels.

**Tableau I : Les différents types d'anticorps anti-mitochondries**

Auto-anticorps	1ère description	Auto-antigène	Maladies associées
Anti-M1	D.J.M. Wright, 1970 [8]	Cardiolipide	Syphilis
Anti-M2	J.G. Walker, 1965 [5]	Pyruvate déshydrogénase	Cirrhose biliaire primitive
Anti-M3*	P.J. Grob, [9]	?	Pseudo-lupus (venocuran®)
Anti-M4**	P.A. Berg, [10]	Sulfite –oxydase ?	Cirrhose biliaire primitive sévère ?
Anti-M5	M.T. Labro, 1978 [11]	?	Syndrome des anti-phospholipides
Anti-M6	J.C. Homberg, 1982 [12]	Monoaminoxidase B	Hépatite à l'iproniazide
Anti-M7	R. Klein, 1984 [13]	Flavoprotéines	Cardiomyopathies
Anti-M8**	P. Weber, 1986 [14]	?	Cirrhose biliaire primitive sévère ?
Anti-M9**	R. Klein, 1988 [15]	Glycogène phosphorylase ?	Cirrhose biliaire primitive précoce ?
Anti-M10	J.C. Homberg, 1999 [16]	?	Cirrhose biliaire primitive

\* : anti-M3 : cet auto-anticorps n'est plus recherché, le venocuran® ayant été retiré du marché.

\*\* : anti-M4, 8, 9 : auto-anticorps discutés dans leur existence et dans leur intérêt. Leur détection a été abandonnée.

## Anticorps anti-muscle lisse

Les anticorps anti-muscle lisse ont été décrits en 1965 par Johnson dans les sérums de patients atteints d'hépatite chronique active ou hépatite lupoïde, en utilisant l'immunofluorescence indirecte sur des coupes d'estomac de rat [17]. L'aspect de fluorescence polygonal du foie a ensuite été décrit par Farrow en 1971 [18]. En 1973, Gabbiani identifiait l'antigène cible comme étant l'actine [19].

En 1987, le terme d'hépatite lupoïde (consécutif à la présence d'anticorps anti-nucléaires) a été remplacé par celui d'hépatite auto-immune de type 1 [20].

Les anticorps anti-muscle lisse sont très hétérogènes et réagissent avec les différents constituants du muscle lisse. L'utilisation de cellules en culture a permis de montrer qu'ils appartenaient à la famille des anticorps anti-cytosquelette [21].

**Tableau II : Anticorps anti-mitochondries décelables en immunofluorescence indirecte et leur aspect (triple substrat foie/rein/estomac de rat)**

Auto-anticorps*	Foie Cytoplasme des hépatocytes	Rein P1, P2, P3, D	Estomac
Anti-M1	F diffuse, pâteuse, + F diffuse	D > P1P2 > P3	F diffuse des cellules pariétales et principales
Anti-M2	F granulaire, ++	D > P1P2 > P3	Cellules pariétales +++ Cellules principales + Fines stries au niveau du ML
Anti-M3	F granulaire, ++	D = P1P2 = P3	Cellules pariétales ++ Cellules principales ++
Anti-M5	F granulaire, ++	P1P2 > P3 > D	F prédomine sur les cellules du collet
Anti-M6	F granulaire, +++	P1 ++	F limitée aux cellules APUD
Anti-M10	Hépatocytes négatifs, F des canaux biliaires ++	D +++	Négatif

F : fluorescence ; P1P2P3 : 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> portion du tubule proximal ; D : tubules distaux ; APUD : cellules du système APUD.

\* : Les anticorps anti-M4, anti-M7, anti-M8 et anti-M9 ne sont pas décelables par immunofluorescence indirecte.

Actuellement, si la présence d'anticorps anti-muscle lisse fait partie de la grille de score diagnostique de l'hépatite auto-immune depuis 1993 [22], et bien que cette grille ait été révisée en 1999 [23], la recherche de la spécificité anti-actine n'y est toujours pas incluse alors qu'elle paraît indispensable.

## Anticorps anti- "liver/kidney microsome"

Les premiers anticorps anti-LKM (anticorps anti-LKM1) ont été décrits en 1973, indépendamment par Rizzetto [24] et par Homberg [25] dans les sérums de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2, grâce à un aspect de fluorescence différent de celui observé avec les anticorps anti-mitochondries précédemment décrits. Aussi, deux types de dénominations ont été utilisés conjointement pour ces auto-anticorps : en France, le terme d'anticorps anti-réticulum endoplasmique par homologie avec celui d'anticorps anti-mitochondries ; en Angleterre, le terme anticorps anti-liver/kidney microsome ou anti-microsome de foie et de rein, ces auto-anticorps étant absorbés par la fraction microsomale de foie et de rein [24]. Cette dernière dénomination montre bien la non spécificité d'organe de ces auto-anticorps, par opposition aux anticorps anti-microsomes de thyroïde ou d'estomac.

La découverte de l'hépatite C a amené une certaine confusion entre hépatite auto-immune de type 2 et hépatite virale C. En effet, dans la description princeps de l'hépatite auto-immune de type 2, 27 cas sur 67 étaient en fait des hépatites virales C [20]. Ce n'est qu'ultérieurement que la séparation complète entre hépatite auto-immune de type 2 et hépatite virale C associée à l'anticorps anti-LKM1 a été indiquée par de nombreux auteurs [26, 27].

Enfin, d'autres types d'anticorps anti-LKM ont été décrits, les anticorps anti-LKM2 en 1984 par Homberg [28], les anticorps anti-LKM3 en 1983 par Crivelli [29], ainsi qu'un anticorps anti-"Liver microsome" (LM), marquant uniquement les hépatocytes, en 1990 [30]. Avec l'identification des cibles antigéniques reconnues par ces anticorps, le groupe des anticorps anti-LKM1 a été subdivisé en anticorps anti-LKM1 dirigés contre le cytochrome P450IID6, marqueurs de l'hépatite auto-immune de type 2 et en anticorps "anti-LKM1 like", correspondant à l'anticorps anti-LKM des hépatites induites par l'halothane, ou encore à ceux observés dans le syndrome polyendocrinien auto-immun de type 1. Ces anticorps "anti-LKM1 like", très hétérogènes sur le plan des cibles reconnues et des maladies qui leur sont associées, ont par contre en commun un aspect de fluorescence identique aux anticorps anti-LKM1. Les [tableaux III et IV](#) indiquent l'ensemble des anticorps anti-LKM décrits, les maladies auxquelles ils sont associés, et l'aspect en immunofluorescence indirecte.

## **Auto-anticorps dirigés contre la fraction cytosolique du foie**

Trois anticorps ont été décrits comme reconnaissant un antigène soluble situé dans la fraction cytosolique du foie : les anticorps anti-LC1, anticorps anti-SLA et anticorps anti-liver-pancreas (anti-LP). Les deux derniers sont maintenant confondus.

### **Anticorps anti-LC1**

Les anticorps anti-LC1 ont été décrits pour la première fois en 1987 par Martini dans les sérums de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2 [33]. Les auteurs ont utilisés l'immunofluorescence indirecte et l'immunodiffusion double avec, comme antigène, une fraction cytosolique de foie de rat. La numérotation 1 vient du fait que

**Tableau III : Les différents types d'anticorps anti-LKM et anti-LM**

Anticorps	1ère description	Auto-antigène	Maladies associées
Anti-LKM1	M. Rizzetto, 1973 [23]	CYP2D6	Hépatite auto-immune de type 2 Hépatite virale C
Anti-LKM2*	J.C. Homborg, 1984 [27]	Cyp2C9	Hépatite à l'acide tiénilique
Anti-LKM3	O. Crivelli, 1983 [28] transferase	UDP-glucuronosyl	Hépatite virale D
Anti-"LKM1 like"	J.G. Kenna, 1987 [30] M.G. Clemente, 1998 [31]	CYP2E1 CYP2A6	Hépatite à l'halothane Syndrome polyglandulaire auto-immun de type 1
Anti-LM	M. Boudi, 1990 [29]	CYP1A2	Hépatite à la dihydralazine

\* : N'est plus recherché, médicament retiré du marché.

**Tableau IV : Auto-anticorps anti-LKM et anti-LM décelables en immunofluorescence indirecte (triple substrat)**

Auto-anticorps*	Foie Cytoplasme des hépatocytes	Rein P1, P2, P3, D	Estomac
Anti-LKM1 et "LKM1 like"	F Homogène ++	P3 > P2 > P1, D négatif ou très faible (10 % des cas)	Négatif
Anti-LKM2	F Homogène ++	P1P2 > P3	Négatif
Anti-LKM3	F homogène ++	P2 > P3P1, D ±	Négatif
Anti-LM	F limitée aux hépatocytes centro-lobulaires	Négatif	Négatif

F : fluorescence ; P1P2P3 : 1ère, 2ème et 3ème portion du tubule proximal ; D : tubules distaux.

d'autres anticorps anti-cytosol ont été décrits par ces mêmes auteurs, principalement par immunodiffusion (les anticorps anti-LC2 sont rarissimes et les anticorps anti-LKC, "liver/kidney cytosol", sans valeur diagnostique). L'existence des anticorps anti-LC1 a été confirmée en 1995 par deux autres équipes [34, 35]. L'antigène n'a été identifié qu'en 1999.

## Anticorps anti-SLA

Les anticorps anti-SLA reconnaissent, comme les anticorps anti-LC1, un antigène soluble provenant de la fraction cytosolique du foie. Cependant, il n'existe aucune

relation entre les deux marqueurs. Les anticorps anti-SLA ont été décrits pour la première fois en 1987 par Manns qui les a proposés comme marqueurs d'un type 3 d'hépatite auto-immune touchant la femme jeune [36]. Cette notion d'hépatite auto-immune de type 3, en fait très peu documentée, est aujourd'hui abandonnée au profit de l'hépatite auto-immune de type 1. Ces auto-anticorps ne sont pas détectables par immunofluorescence indirecte mais nécessitent l'utilisation d'une méthode originale de blocage des sites antigéniques par le sérum à tester avant l'emploi d'un sérum de référence marqué par un radioélément ou une enzyme [36]. Les anticorps anti-LP décrits en 1993 par Stechemesser [37] et qui réagissent avec le cytosol de différents organes, sont maintenant assimilés aux anticorps anti-SLA [38], expliquant ainsi la nomenclature SLA/LP parfois utilisée. L'identification des cibles moléculaires est très récente.

## Indications à leur recherche

---

### Dans un but diagnostique

L'indication majeure de la recherche de ces auto-anticorps est le diagnostic des principales maladies auto-immunes hépatiques que sont les hépatites auto-immunes, la cirrhose biliaire primitive et les formes mixtes ou "*overlap syndrome*" (cirrhose biliaire primitive/hépatite auto-immune, hépatite auto-immune/cholangite sclérosante primitive ...). Ces formes mixtes doivent être distinguées des cholangites auto-immunes qui sont des cirrhoses biliaires primitives "séronégatives" (sans anticorps anti-mitochondries). Les anticorps anti-nucléaires, anti-muscle lisse, anti-LKM1, anti-LC1 et anti-SLA font partie de la grille de score diagnostique des hépatites auto-immunes [22, 23] et permettent la définition des deux principaux types d'hépatite auto-immune. L'hépatite auto-immune de type 1 est caractérisée par la présence d'anticorps anti-muscle lisse de spécificité actine (80 %), d'anticorps anti-nucléaires (70 %) et d'anticorps anti-SLA (10 à 30 %). L'hépatite auto-immune de type 2, beaucoup plus rare, est définie par la présence d'anticorps anti-LKM1 dans 85 % des cas, associés aux anticorps anti-LC1 dans 30 % des cas.

Les anticorps anti-mitochondries de type 2 permettent le diagnostic différentiel entre la cirrhose biliaire primitive et les autres cholestases intra-hépatiques.

Les anticorps peuvent également être recherchés pour exclure une origine auto-immune. Dans ce cas, un résultat négatif est attendu.

## **Dans un but pronostique**

Les anticorps anti-SLA ont été décrits comme marqueur de mauvais pronostic (rémission plus difficile, plus de transplantation hépatique et de décès). Ces auto-anticorps sont également décrits dans les récurrences d'hépatite auto-immune après transplantation hépatique et dans les hépatites auto-immunes *de novo* [39].

Les anticorps anti-gp210 et les anticorps anti-nucléaires à grains multiples (dots nucléaires) sont associés à une progression histologique plus rapide de la cirrhose biliaire primitive [40].

## **Suivi de traitement, suivi post-transplantation**

Il est bien établi que le titre des anticorps anti-LKM1, anticorps anti-LC1 et à un moindre degré des anticorps anti-actine varie selon le stade de l'hépatite auto-immune et le traitement utilisé.

En post-transplantation, la recherche d'auto-anticorps chez des patients transplantés pour des pathologies non auto-immunes peut aider au diagnostic de rejet chronique ou d'hépatite auto-immune *de novo* [41].

## **Recherche systématique des auto-anticorps avant tout traitement antiviral chez un patient présentant une hépatite chronique C**

L'infection par le virus de l'hépatite C est souvent associée à des phénomènes auto-immuns. La présence d'auto-anticorps, souvent à titre faible, est fréquente. Le traitement par interféron-alpha (INF $\alpha$ ) est également responsable de manifestations auto-immunes. Dans l'étude récente de Wasmuth [42], seulement 46 % des patients ayant une hépatite virale C n'avaient pas d'auto-anticorps avant traitement. La plupart des auto-anticorps rencontrés dans les maladies auto-immunes peuvent être observés au cours de l'hépatite C, les plus fréquents étant les anticorps anti-nucléaires et les anticorps anti-muscle lisse de spécificité non actine. La présence de ces auto-anticorps peut rendre difficile le diagnostic différentiel entre hépatite C avec auto-anticorps isolés (situation fréquente) et de véritables "overlaps" hépatite auto-immune/hépatite C (situations peu fréquentes).

## Bibliographie

---

1. HUMBEL R.L. Historique des auto-anticorps. Colloque GEAI 2000. Spectra Biologie, Juin 2000 : 3-6.
2. MACKAY I.R., TAFT LI, COWLING D.C. Lupoid hepatitis. *Lancet* 1956 ; ii : 1323-1326.
3. COURVALIN J.C., LASSOUED K., BARTNIK E., BLOBEL G., WOZNIAK R.W. The 210 kilodalton nuclear envelope polypeptide recognized by human autoantibodies in primary biliary cirrhosis is the major glycoprotein of the nuclear pore. *J Clin Invest* 1990 ; 86 : 279-285.
4. GAJDUSEK D.C. An autoimmune reaction against human tissue in certain acute and chronic diseases. *Nature* 1957 ; 179 : 666-668.
5. WALKER J.G., DONIACH D., ROITT I.M., SHERLOCK S. Serological tests on diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1965 ; 1 : 827-831.
6. BERG P.A., DONIACH D., ROITT I.M. Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. A localization of the antigen to mitochondrial membranes. *J Exp Med* 1967 ; 126 : 277-290.
7. BERG P.A., KLEIN R. Heterogeneity of antimitochondrial antibodies. *Sem Liver Dis* 1989 ; 9 : 103-116.
8. WRIGHT D.J.M., DONIACH D., LESSOF M.H., TURK J.L., GRIMBLE A.S., CATERALL R.D. New antibody in early syphilis. *Lancet* 1970 ; 1 : 740-744.
9. GROB P.J., MÜLLER-SCHOOP J.W., HÄCKL M.A., JOLLER-JEMELKA H.J. Drug-induced pseudolupus. *Lancet* 1975 ; 2 : 144-148.
10. BERG P.A., WIEDMANN K.H., SAYERS T.J., KLÖPPEL G., LINDNER H. Serological classification of chronic cholestatic liver disease by the use of two different types of antimitochondrial antibodies. *Lancet* 1980 ; 2 : 1329-1332.
11. LABRO M.T., ANDRIEU M.C., WEBER M., HOMBERG J.C. A new pattern of non-organ-and non-species specific anti-organelle antibody detected by immunofluorescence : the mitochondrial antibody number 5. *Clin Exp Immunol* 1978 ; 31 : 357-366.
12. HOMBERG J.C., STELLY N., ANDREIS I., ABUAF N., SAADOUN F., ANDRE J. A new antimitochondria antibody (anti-M6) in iproniazid-induced hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1982 ; 47 : 93-102.
13. KLEIN R., MAISCH B., KOCHSIEK K., BERG P.A. Demonstration of organ specific antibodies against heart mitochondria (anti-M7) in sera from patients with some forms of heart diseases. *Clin Exp Immunol* 1984 ; 58 : 283-292.
14. WEBER P., BRENNER J., STECHEMESSER E., KLEIN R., WECKENMANN U., KLOPPEL G., KIRCHHOF M., FINTELMANN V., BERG P.A. Characterization and clinical relevance of a new complement fixing antibody - anti-M8 – in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1986 ; 6 : 553-559.
15. KLEIN R., BERG P.A. Characterization of a new mitochondrial antigen-antibody system (M9/anti-M9) in patients with anti-M2 positive and anti-M2 negative primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol* 1988 ; 74 : 68-74.
16. HOMBERG J.C. Les anticorps anti-mitochondries. Dans : *Autoanticorps, marqueurs des maladies auto-immunes*. BMD éditions 1999 ; 237-247.
17. JOHNSON G.D., HOLBOROW E.J., GLYNN L.E. Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. *Lancet* 1965 ; 2 : 878-879.
18. FARROW L.J., HOLBOROW E.J., BRIGHTON W.D. Reaction of human smooth muscle antibody with liver cells. *Nature New Biol* 1971 ; 232 : 186-187.
19. GABBIANI G., RYAN G.B., LAMELIN J.P., VASSALLI P., MAJNO G., BOUVIER C.A., CRUCHAUD A., LUSCHER E.F. Human smooth muscle autoantibody. Its identification as antiactin antibody and a study of its binding to nonmuscular cells. *Am J Pathol* 1973 ; 72 : 473-478.
20. HOMBERG J.C., ABUAF N., BERNARD O., ISLAM S., ALVAREZ F., KHALIL S.H., POUPON R., DARNIS F., LEVY V.G., GRIPPON P. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1 : a second type of 'autoimmune' hepatitis. *Hepatology* 1987 ; 7 : 1333-1339.

21. KURKI P., VIRTANEN I. The detection of human antibodies against cytoskeletal components. *J Immunol Methods* 1984 ; 21 : 878-884.
22. JOHNSON P.J., McFARLANE I.G. Meeting report. International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993 ; 18 : 998-1005.
23. ALVAREZ F., BERG P.A., BIANCHI F.B., CHAPMAN R.W., COOKSLEY W.G., CZAJ A.J., DESMET V.J., DONALDSON P.T., EDDLESTON A.L., FAINBOIM L., HEATHCOTE J., HOMBERG J.C., HOOFNAGLE J.H., KAKUMU S., KRAWITT E.L., MACKAY I.R., MACSWEEN R.N., MADDREY W.C., MANN M.P., McFARLANE I.G., MEYER zum BUSCHENFELDE K.H., ZENIYA M.. International Autoimmune Hepatitis Group Report : a review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999 ; 31 : 929-938.
24. RIZZETTO M., SWANA G., DONIACH D. Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. *Clin Exp Immunol* 1973 ; 15 : 331-334.
25. HOMBERG JC, MICOUIN C, PELTIER A, SALMON C, CAROLI J. Un nouvel anticorps non spécifique d'organe au cours d'hépatite chronique. *Med Chir Dig* 1974 ; 3 : 85-92.
26. BIANCHI F. Autoimmune hepatitis : the lesson of the discovery of hepatitis C virus. *J Hepatol* 1993 ; 18 : 273-275.
27. BELLARY S., SHIANO T., HARTMAN C., BLACK M. Autoimmune hepatitis and/or hepatitis C : how to decide. *Hepatology* 1996 ; 23 : 647-649.
28. HOMBERG J.C., ANDRE C., ABUAF N. A new anti-liver kidney microsome antibody (anti-LKM2) in tienilic acid-induced hepatitis. *Hepatology* 1987 ; 7 : 1333-1339.
29. CRIVELLI O., LAVARINI C., CHIABERGE E., AMOROSO A., FARCI P., NEGRO F., RIZZETTO M. Microsomal autoantibodies in chronic infection with HbsAg associated delta (d) agent. *Clin Exp Immunol* 1983 ; 54 : 232-238.
30. BOURDI M., LARREY D., NATAF J., BERNUAU J., PESSAYRE D., ZWASAKI M., GUENGERICH F.P., BEAUME P.H. Anti-liver endoplasmic reticulum autoantibodies are directed against human cytochrome P-450 IA2. A specific marker of dihydralazine-induced hepatitis. *J Clin Invest* 1990 ; 85 :1967-1973.
31. KENNA J.G., NEUBERGER J., WILLIAMS R. Specific antibodies to halothane-induced liver antigens in halothane-associated hepatitis. *Br J Anaesth* 1987 ; 59 : 1286-1290.
32. CLEMENTE M.G., MELONI A., OBERMAYER-STRAUB P., FRAU F., MANN S.M.P., De VIRGILIIS S. Two cytochrome P450 are major hepatocellular autoantigens in autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Gastroenterology* 1998, 114 : 324-328.
33. MARTINI E., ABUAF N., CAVALLI F., DURAND V., JOHANET C., HOMBERG J.C. Antibody to liver cytosol (anti-LC1) in patients with autoimmune chronic active hepatitis type 2. *Hepatology* 1988 ; 8 : 1662-1666.
34. HAN S., TREDGER M., GREGORIO G.V., MELI-VERGANI G., VERGANI D. Anti-liver cytosolic antigen type 1 (LC1) antibodies in childhood autoimmune liver disease. *Hepatology* 1995 ; 21 : 58-62.
35. LENZI M., MANOTTI P., MURATORI L., CATALETA M., BELLARDINI G., CASSANI F., BIANCHI F.B. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. *Gut* 1995 ; 36 : 749-754.
36. MANN S.M., GERKEN G., KYRIATSOULIS A., STARITZ M., MEYER zum BÜSCHENFELDE K.H.. Characterization of a new subgroup of autoimmune chronic active hepatitis by autoantibodies against a soluble liver antigen. *Lancet* 1987 ; 1 : 292-294.
37. STECHEMESSER E., KLEIN R., BERG P.A. Characterization and clinical relevance of liver pancreas antibodies in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1993 ; 18 : 1-9.
38. WIES I., BRUNNER S., HENNINGER J., HERKEL J., KANZLER S., MEYZE Zum BUSCHENFELDE K.H., LOHSE A.W. Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Lancet* 2000 ; 355 : 1510-1515.
- 39- JOHANET C., BALLOT E. Hépatites auto-immunes : pertinence des anticorps anti-SLA et des anticorps anti-LC1. *spectra bio* 2005 ; 145 : 30-34.
40. CORPECHOT C., CHRETIEN Y., CHAZOULLERES O., JOHANET C., POUPON R. Les anticorps anti-nucléaires ont-ils une valeur pronostique au cours de la cirrhose biliaire primitive ? *Gastroenterol Clin Biol* 2005 ; 29 : 888.
- DUBEL L., FARGES O., JOHANET C., SEBAGH M., BISMUTH H. High incidence of antitissue antibodies in patients experiencing chronic liver allograft rejection. *Transplantation* 1998 ; 65 : 1072-1075.

**Anticorps "anti-tissus"  
non spécifiques d'organe :  
Méthodes de détection et  
interprétation des résultats**

*C. Johanet, Y.B. Absalon, E. Ballot*

La plupart des auto-anticorps importants pour le diagnostic des maladies hépatiques auto-immunes, mis à part les anticorps anti-Soluble Liver Antigen (SLA), peuvent être mis en évidence par immunofluorescence indirecte sur triple substrat (foie/rein/estomac de rat). Cette technique de première intention a pour avantage la détection simultanée des principaux marqueurs, mais nécessite cependant l'utilisation d'une technique de confirmation [1, 2].

L'identification des cibles moléculaires des auto-anticorps a considérablement progressé grâce à l'immunocriblage de banque d'ADNc, et très récemment grâce à l'analyse protéomique (voir chapitre correspondant). Ceci a permis le développement de techniques de seconde intention, monospécifiques, nécessitant l'emploi d'antigènes hautement purifiés (techniques ELISA ou d'immunodot).

## **Immunofluorescence indirecte sur triple substrat**

---

L'immunofluorescence indirecte sur coupes congelées de foie/rein/estomac de rat reste la technique de choix pour la détection des auto-anticorps importants en pathologie hépatique auto-immune, à savoir les anticorps anti-muscle lisse, les anticorps anti-liver/kidney/microsome 1 (anticorps anti-LKM1), les anticorps anti-cytosol hépatique 1 (anticorps anti-LC1) et les anticorps anti-mitochondrie de type 2 (anticorps anti-M2). Ces auto-anticorps sont improprement encore appelés anticorps "anti-tissus" non spécifiques d'organe. Beaucoup d'autres anticorps peuvent être détectés sur ces coupes multiples.

### **Principe**

Il consiste à déposer le sérum à étudier sur une coupe d'organes (triple substrat), et à rechercher la fixation des auto-anticorps sur les structures antigéniques correspondantes par application d'une antiglobuline humaine fluorescente [3].

Les différents auto-anticorps sont identifiés d'après l'aspect et la localisation de la fluorescence au niveau des trois organes. L'association de plusieurs tissus est indispensable pour pouvoir identifier correctement les anticorps.

## Aspect de la fluorescence

### Anticorps fondamentaux pour le diagnostic des hépatopathies auto-immunes

#### a) Anticorps anti-muscle lisse

Ils sont dénommés ainsi en raison de leur marquage des fibres musculaires lisses [4]. Ces anticorps sont très hétérogènes et réagissent avec différents composants du muscle lisse (actine, vimentine, desmine, tubuline ...). Cependant, seuls les anticorps reconnaissant l'actine sont spécifiques de l'hépatite auto-immune de type 1.

- Sur l'estomac de rat (**Figure 1a**) : marquage homogène des fibres musculaires de la musculature muqueuse et de la musculature, ainsi que des relèvements mineurs et majeurs au niveau de l'épithélium cylindrique de l'estomac.

Marquage de la couche moyenne des artères au niveau des trois organes, estomac, foie et rein.

La fluorescence du muscle lisse donne de nombreuses réactions croisées évoquant l'actine au niveau du foie et du rein.

- Sur le foie (**Figure 1b**) : marquage de la membrane des hépatocytes (actine sous-membranaire des hépatocytes), responsable de l'aspect polygonal ou en grillage ou en nid d'abeille du foie.

- Sur le rein (**Figures 1c et 1d**) : fluorescence au niveau des glomérules, ainsi que dans l'espace péri-tubulaire avec un aspect caractéristique de spicules ou d'épines.

Ces zones riches en actine ne sont pas marquées par les anticorps anti-muscle lisse non actine.

La confirmation de la spécificité actine sera obligatoirement obtenue par immunofluorescence indirecte sur cellules HEP-2 traitées à la colchicine, immunodot ou ELISA.

#### b) Anticorps anti-LKM1

Ils sont ainsi appelés car ils réagissent avec le cytoplasme des hépatocytes et de quelques tubules rénaux [5].

- Sur le foie (**Figure 2a**) : fluorescence de type homogène intense, répartie régulièrement dans le cytoplasme des hépatocytes.

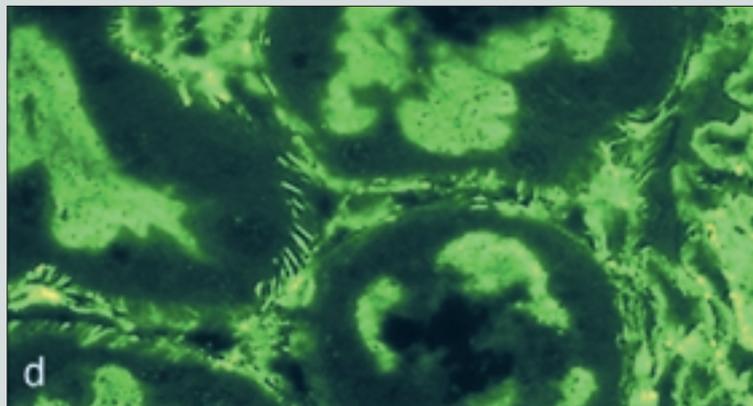
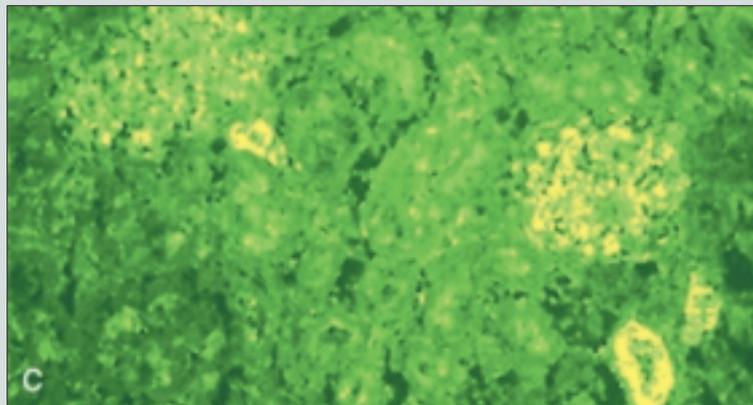
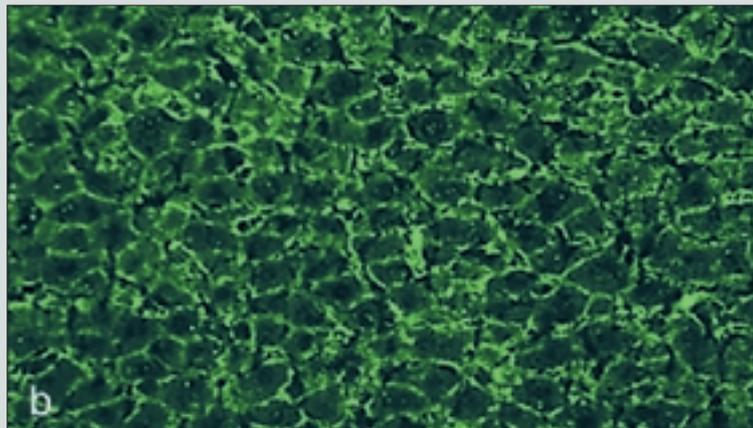
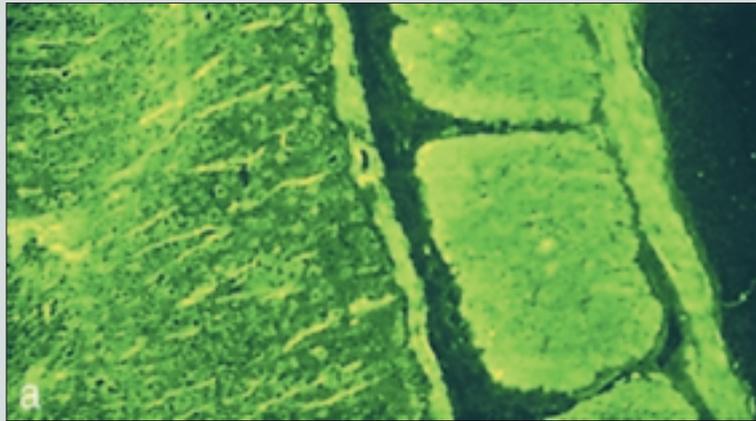
**Figure 1** : Anticorps anti-muscle lisse, aspects en immunofluorescence indirecte sur triple substrat.

**1a** : Estomac de rat, marquage de la musculature et de la musculature muqueuse, X 100.

**1b** : Aspect polygonal du foie de rat, X 200.

**1c** : Rein de rat, marquage des glomérules, X 200.

**1d** : Rein de rat, marquage des spicules péri-tubulaires, X 400.



- Sur le rein (**Figure 2b**) : la fluorescence prédomine au niveau de la troisième portion des tubules proximaux (P3) tels que  $P3 > P1$  et  $P2$  (première et deuxième portions des tubules proximaux).
- Il n'y a pas de marquage au niveau de l'estomac.

### **c) Anticorps anti-LC1**

La fluorescence cytoplasmique du foie épargne les hépatocytes autour des veines centro-lobulaires, donnant un aspect de fluorescence très particulier avec des ombres le long de ces veines (**Figure 3**). Il n'y a pas de marquage au niveau du rein et de l'estomac [6]. Les anticorps anti-LC1 peuvent être difficiles à identifier lorsqu'ils sont associés aux anticorps anti-LKM1.

### **d) Anticorps anti-mitochondrie de type 2**

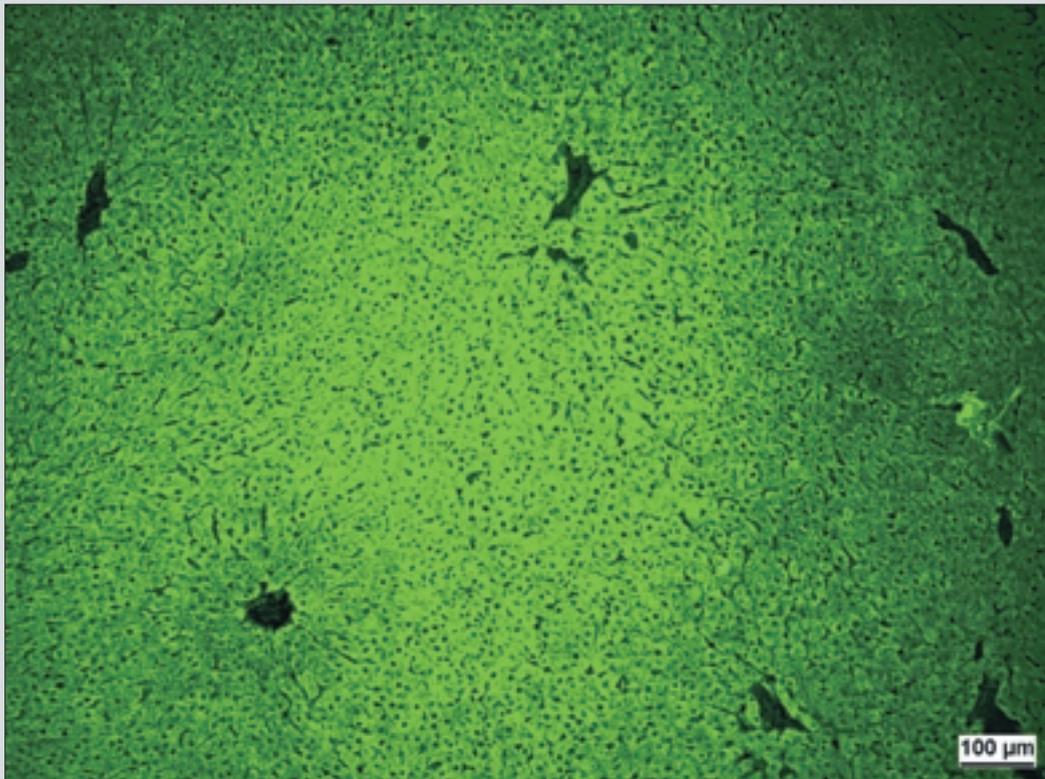
- Sur le foie : fluorescence peu intense, granitée, cytoplasmique des hépatocytes. Les canaux biliaires sont faiblement marqués.
- Sur le rein (**Figure 4a**) : fluorescence granitée prédominant au niveau du cytoplasme des tubules distaux (D) du rein. La fluorescence des tubules proximaux (P) est légèrement inférieure, telles que :  $D > P1$  et  $P2 > P3$ . [2]
- Sur l'estomac (**Figure 4b**) : la fluorescence prédomine de façon très nette sur les cellules pariétales ; les cellules principales sont très faiblement marquées. L'existence de fines stries dans le tissu musculaire lisse est un signe très évocateur.

Remarque : Un aspect particulier de fluorescence est décelé dans 2 % des cirrhoses biliaires primitives. Sur triple substrat, cet anticorps marque exclusivement les tubules distaux et les tubes collecteurs du rein, et à un moindre degré les canaux biliaires intra-hépatiques. Cet anticorps anti-mitochondries atypique a été appelé Ac anti-M10 (**Figures 5a et 5b**) [7].

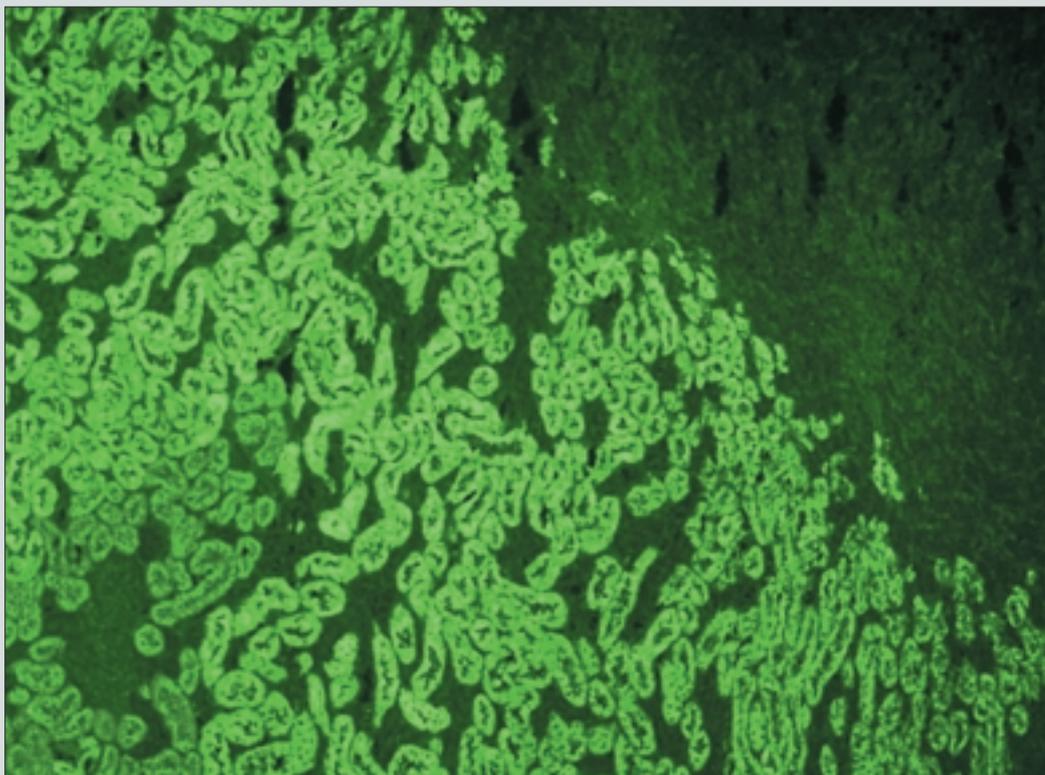
### **e) Auto-anticorps multiples**

Il est fréquent d'observer dans un même sérum plusieurs anticorps de spécificités différentes. Ceci est un des avantages importants de l'immunofluorescence indirecte. A titre d'exemple (**Figures 6a et 6b**) : association d'anticorps anti-nucléaires et d'anticorps anti-actine dans les hépatites auto-immunes de type 1 ; association des

Figure 2 : Anticorps anti-LKM1, aspects en immunofluorescence indirecte sur triple substrat.



2a : Foie de rat, marquage du cytoplasme des hépatocytes, X 100.



2b : Rein de rat, marquage intense des tubules proximaux P3, X 100.

Figure 3 : Anticorps anti-LC1, aspect en immunofluorescence indirecte sur foie de rat, X 100.  
Les hépatocytes autour des veines centro-lobulaires sont négatifs.

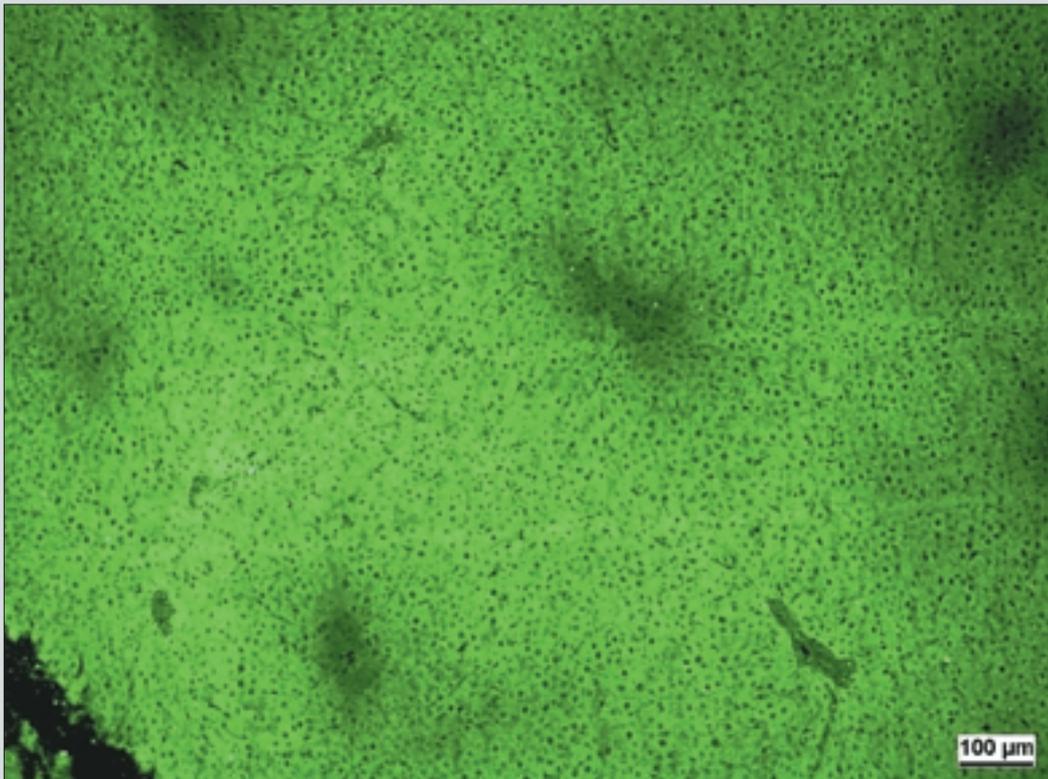
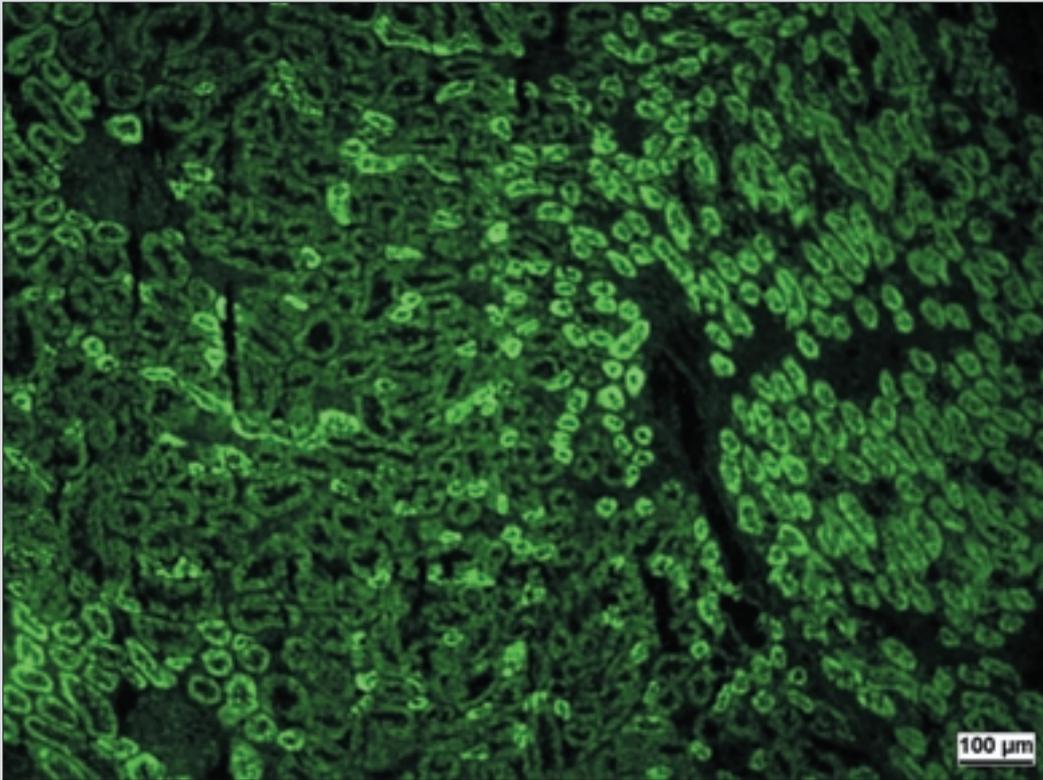
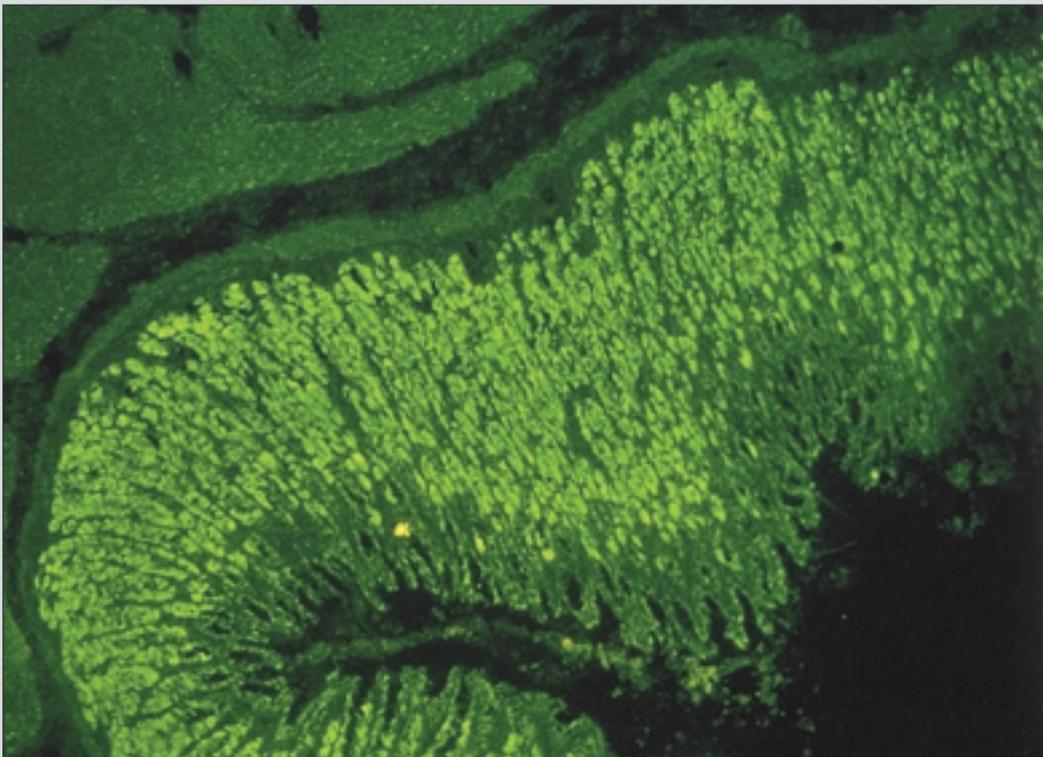


Figure 4 : Anticorps anti-mitochondries de type 2, aspects en immunofluorescence indirecte sur triple substrat.

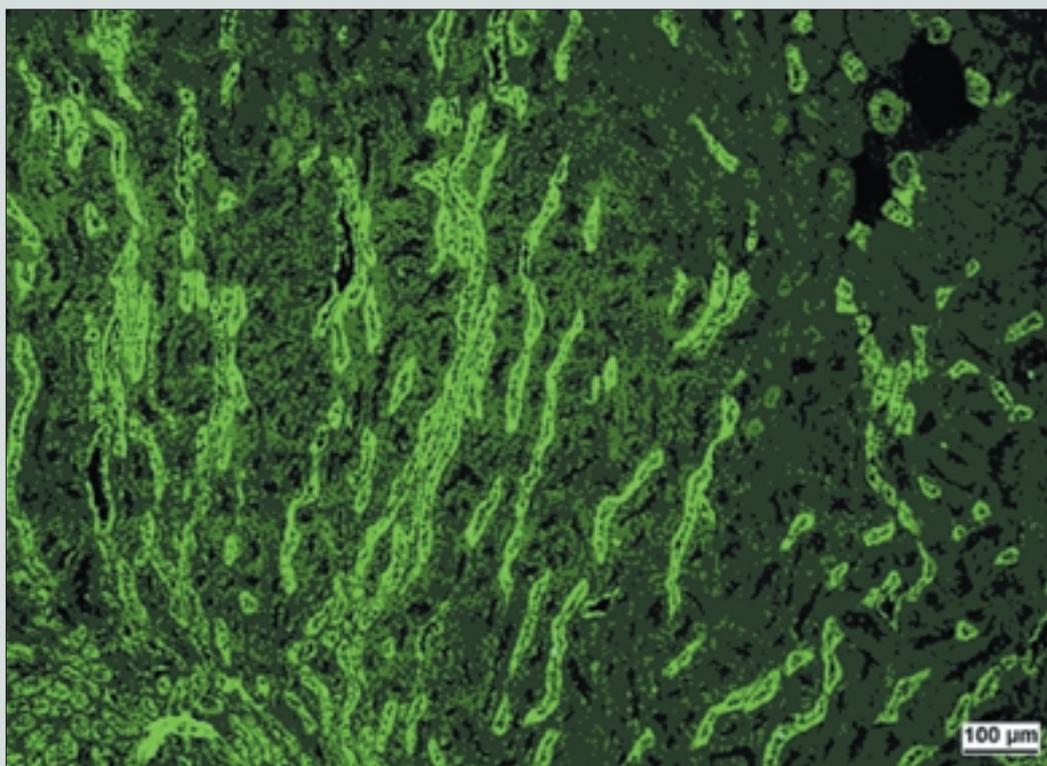


4a : Rein de rat, tubules distaux plus fortement marqués que les tubules proximaux, X 200.

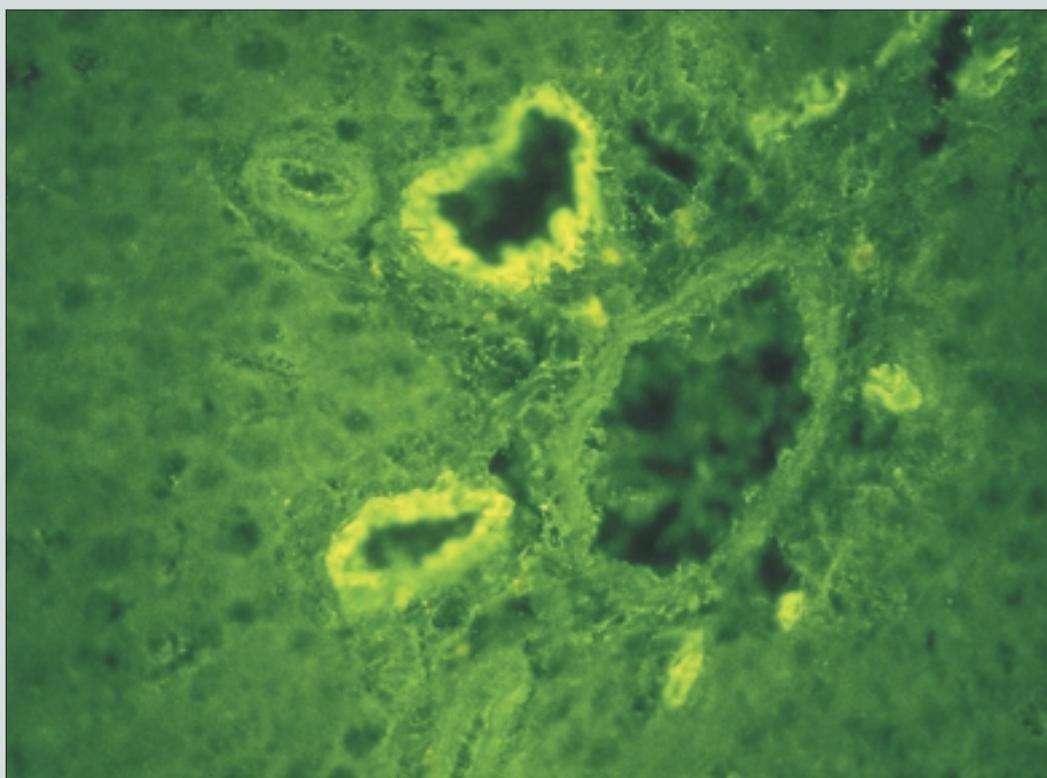


4b : Estomac de rat, marquage des cellules pariétales, X 100.

Figure 5 : Anticorps anti-mitochondries de type 10, aspects en immunofluorescence indirecte sur triple substrat.



5a : Rein de rat, marquage des tubules distaux, X 200.



5b : Foie de rat, marquage des canaux biliaires, X 400.

anticorps anti-LKM1 et des anticorps anti-LC1 dans les hépatites auto-immunes de type 2 ; association des anticorps anti-nucléaires et anticorps anti-M2 dans les cirrhoses biliaires primitives ; association des anticorps anti-M2 et anticorps anti-muscle lisse dans les formes mixtes cirrhose biliaire primitive/hépatite auto-immune ; association des anticorps anti-M2 et anticorps anti-LKM1 dans les cirrhoses biliaires primitives après transplantation hépatique en cas d'infection par le virus de l'hépatite C. La lecture peut alors être plus délicate (ex : la présence d'anticorps anti-LC1 peut être masquée par la présence d'anticorps anti-LKM1).

## **Anticorps anti-nucléaires**

Sous le terme global d'anticorps anti-nucléaires ont été regroupés les anticorps anti-nucléaires et les anticorps anti-membrane nucléaire pour simplifier les choses. Ces anticorps importants dans le diagnostic des maladies auto-immunes hépatiques sont systématiquement détectés sur le foie de rat, en même temps que les anticorps "anti-tissus" et font partie intégrante du "bilan hépatique auto-immun". Ils doivent être également recherchés sur cellules HEP-2. L'utilisation des deux substrats est en effet importante car il existe des discordances, certains aspects étant mieux détectés sur le foie (ex : aspect cerclé correspondant aux anticorps anti-gp210), d'autres nécessitant l'utilisation des cellules HEP-2 (anticorps anti-centromère, anticorps anti-nucléaires à grains multiples).

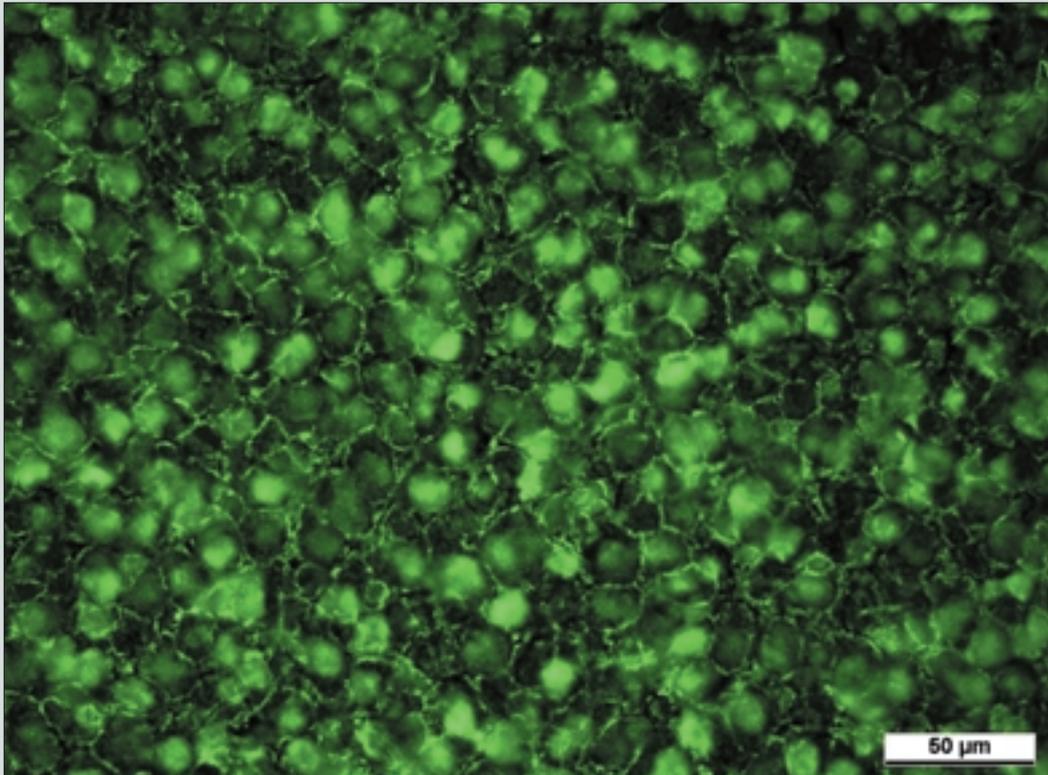
### **a) Aspects sur foie de rat**

Les aspects cerclé ([Figure 7a](#)), homogène ([Figure 7b](#)) et moucheté ([Figure 7c](#)) peuvent être observés sur foie de rat en utilisant le plus fort grossissement. L'aspect cerclé est principalement observé dans les cirrhoses biliaires primitives, l'aspect homogène principalement dans les hépatites auto-immunes, l'aspect moucheté dans les cirrhoses biliaires primitives et les hépatites auto-immunes. Devant une fluorescence d'aspect cerclé, une recherche d'anticorps anti-gp210 doit être effectuée.

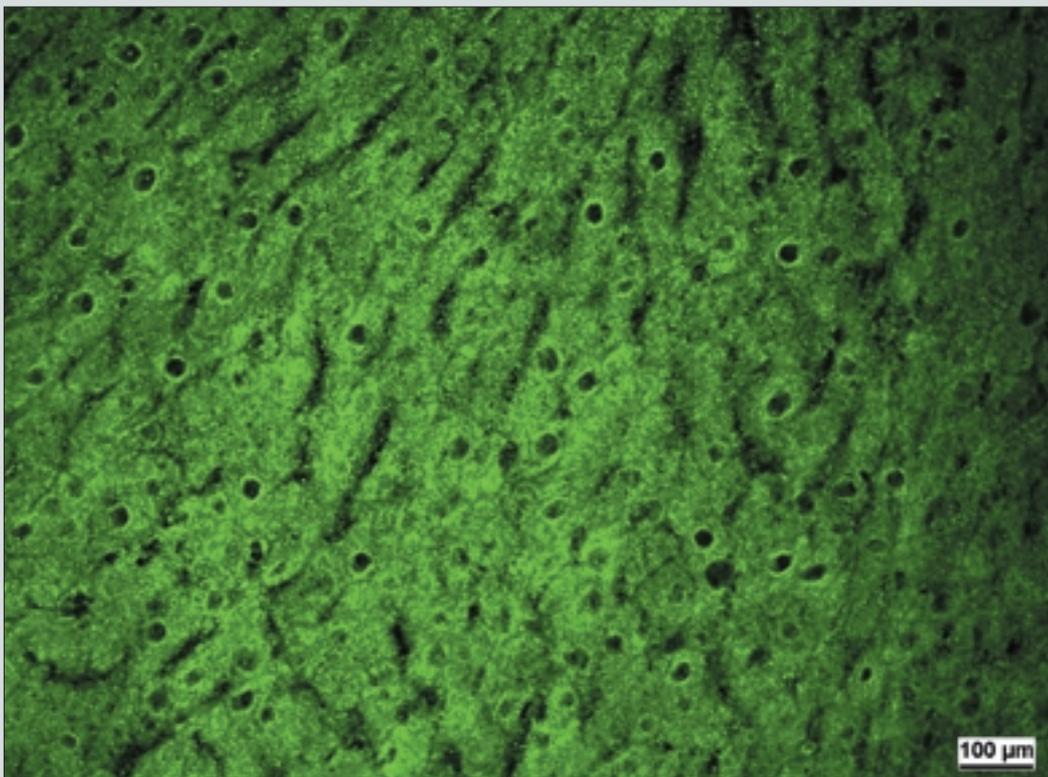
### **b) Aspects sur cellules HEP-2**

De nombreux aspects peuvent être observés sur cellules HEP-2 au cours des hépatopathies. Les plus fréquents sont les aspects homogène, moucheté, membrane

Figure 6 : Auto-anticorps multiples.

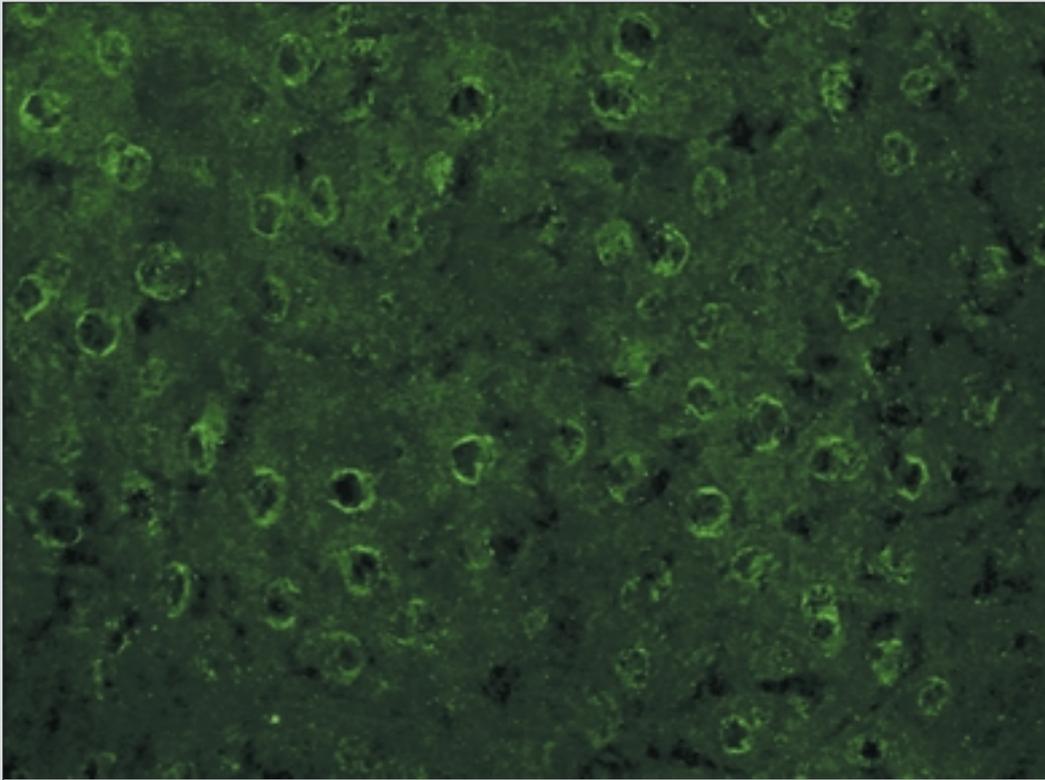


6a : Aspect en immunofluorescence indirecte sur foie de rat d'un anticorps anti-nucléaires (aspect homogène) associé à un anticorps anti-muscle lisse de spécificité anti-actine (aspect polygonal du foie), X 400.

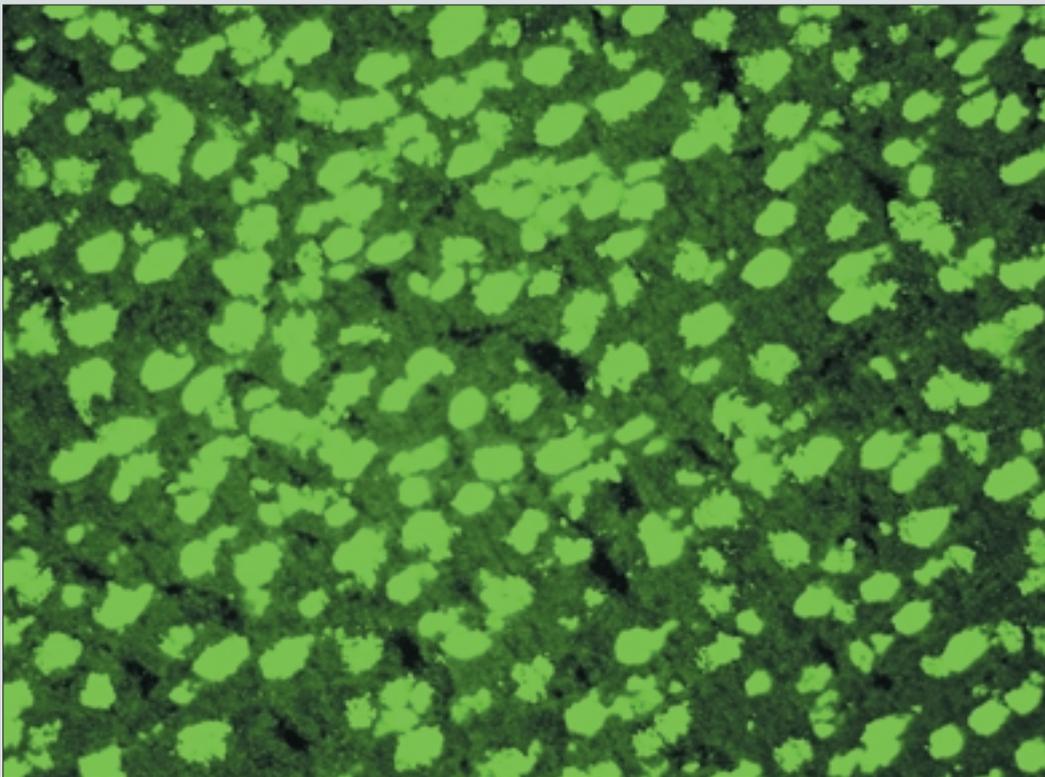


6b : Aspect en immunofluorescence indirecte sur foie de rat d'un anticorps anti-membrane nucléaire (aspect cerclé des noyaux) associé à un anticorps anti-mitochondries de type 2 (fluorescence granitée du cytoplasme des hépatocytes), X 400.

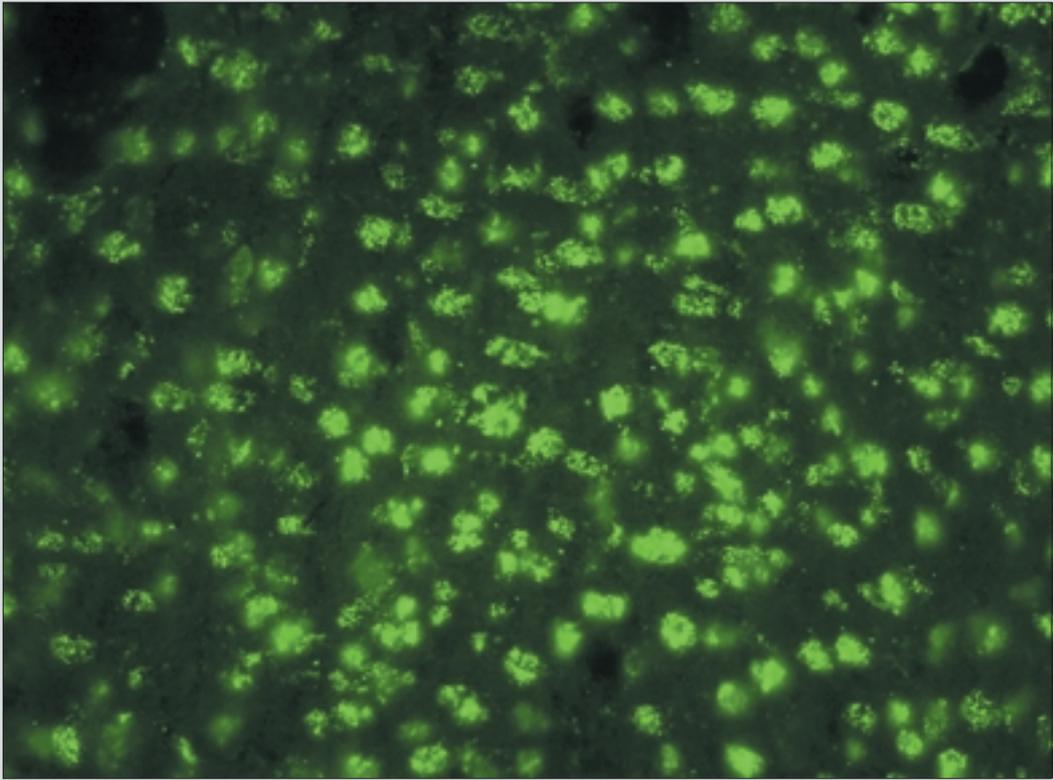
Figure 7 : Anticorps anti-nucléaires et anti-membrane nucléaire, aspect en immunofluorescence indirecte sur foie de rat.



7a : Aspect cerclé des noyaux, X 400.



7b : Aspect homogène des noyaux, X 400.



7c : Aspect moucheté des noyaux, X 400.

nucléaire, centromère et nucléaire à grains multiples aussi appelés dots nucléaires (voir le cahier Bioforma N°13 sur les anticorps anti-nucléaires [8] pour la description de ces différents aspects d'immunofluorescence indirecte sur HEP-2).

### **Anticorps rares et aspects atypiques**

Les anticorps anti-mitochondries de type 6 (hépatite à l'iproniazide) et les anticorps anti-LM (hépatite à la dihydralazine) sont très rares. Les anticorps anti-LKM3 (hépatite delta) sont exceptionnels.

- L'anticorps anti-M6 présente un aspect de fluorescence limité au cytoplasme des hépatocytes, aux tubules proximaux P1 (Figure 8a) et aux cellules APUD de l'estomac (Figure 8b).
- L'anticorps anti-LM montre une fluorescence limitée aux hépatocytes centro-lobulaires.
- La fluorescence de l'anticorps anti-LKM3 prédomine sur les tubules proximaux P2 tel que  $P2 > P1$  et  $P3$ .

Un certain nombre de sérums peut montrer des aspects de fluorescence atypiques (anticorps anti-mitochondries ou anticorps anti-LKM atypiques, nécessitant l'utilisation d'une technique de confirmation). La prise de médicament, l'existence d'immunoglobuline monoclonale (Figure 9a) peuvent aussi parfois donner des aspects de fluorescence atypiques. Nous citerons également les anticorps anti-LKM atypiques, marqueurs des hépatites auto-immunes *de novo* qui présentent un aspect de fluorescence "sale" au niveau du cytoplasme des hépatocytes et des tubules proximaux P3 (Figure 9b).

Enfin, il peut exister des anticorps hétérophiles qui n'ont aucune valeur diagnostique (Figure 10).

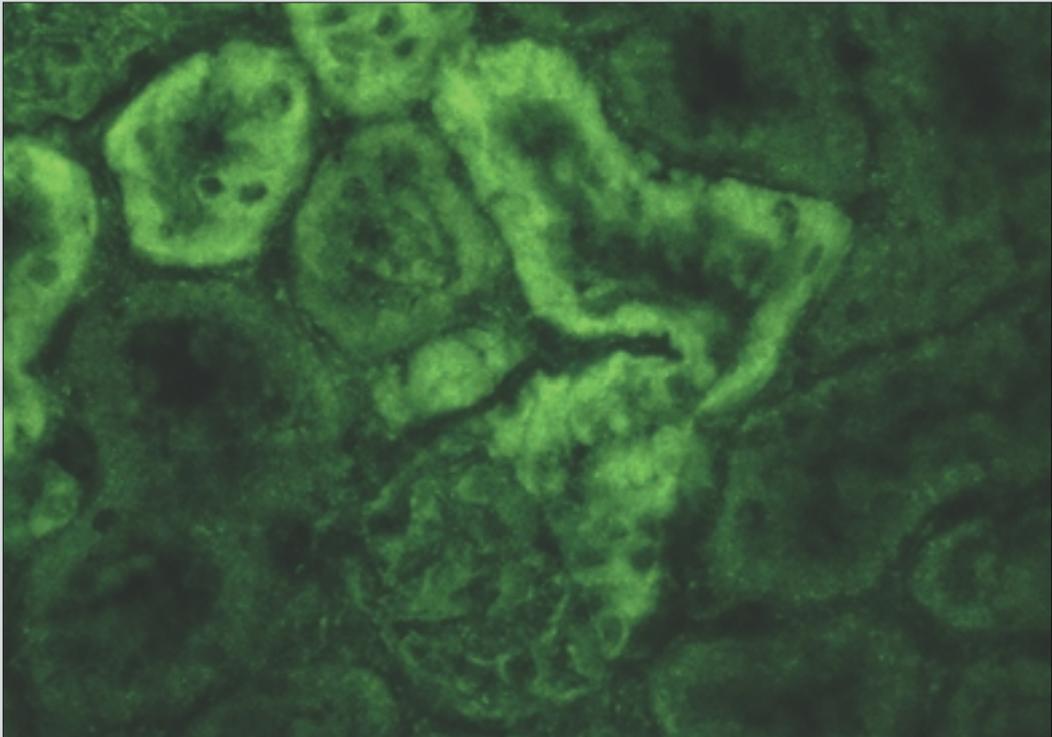
### **Anticorps marqueurs de pathologies auto-immunes non hépatiques**

#### **a) Anticorps anti-réticuline**

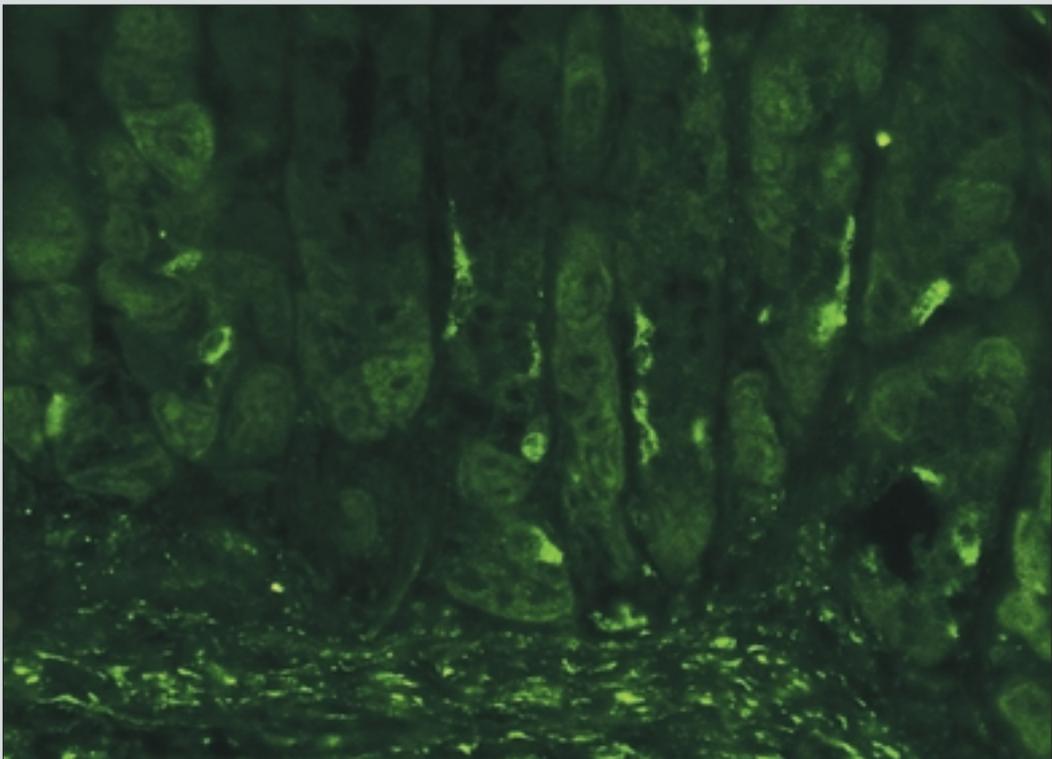
- Sur le foie (Figure 11a) : fluorescence fibrillaire autour de l'espace porte ("aspect d'arbre mort") et marquage linéaire autour des sinusoides (ressemblant à de "petits vers").
- Sur le rein : fluorescence péri-tubulaire et péri-glomérulaire.
- Sur l'estomac : aspect en résille du muscle lisse.

Ces anticorps, surtout de classe IgA, sont spécifiques de la maladie coeliaque.

Figure 8 : Anticorps anti-mitochondries de type 6, aspects en immunofluorescence indirecte sur triple substrat.

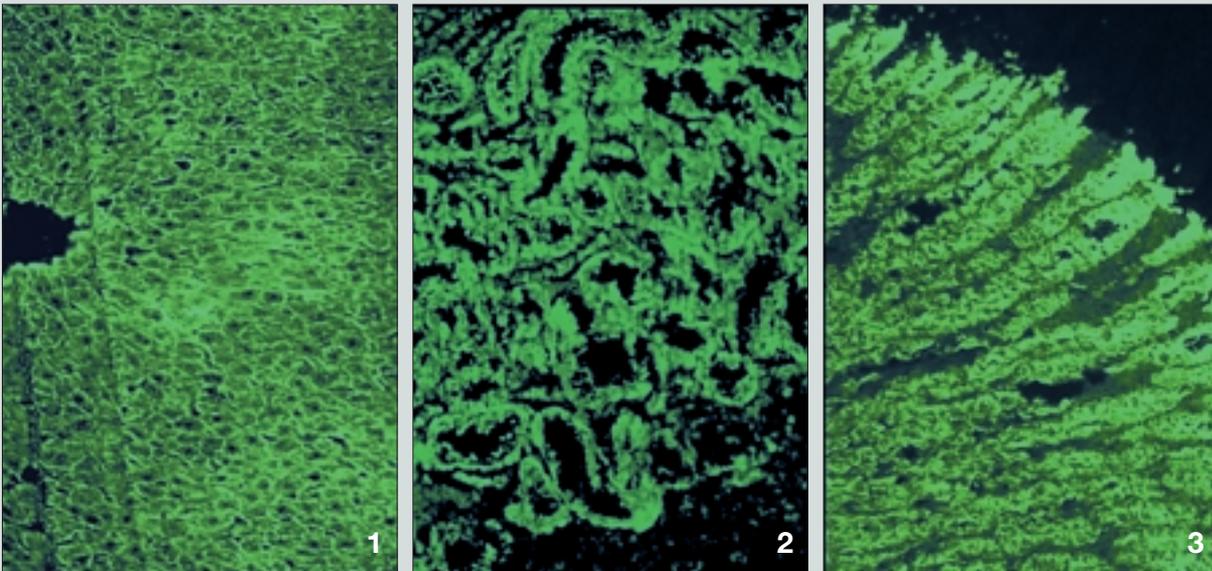


8a : Rein de rat, marquage de la première portion des tubules proximaux, X 400.

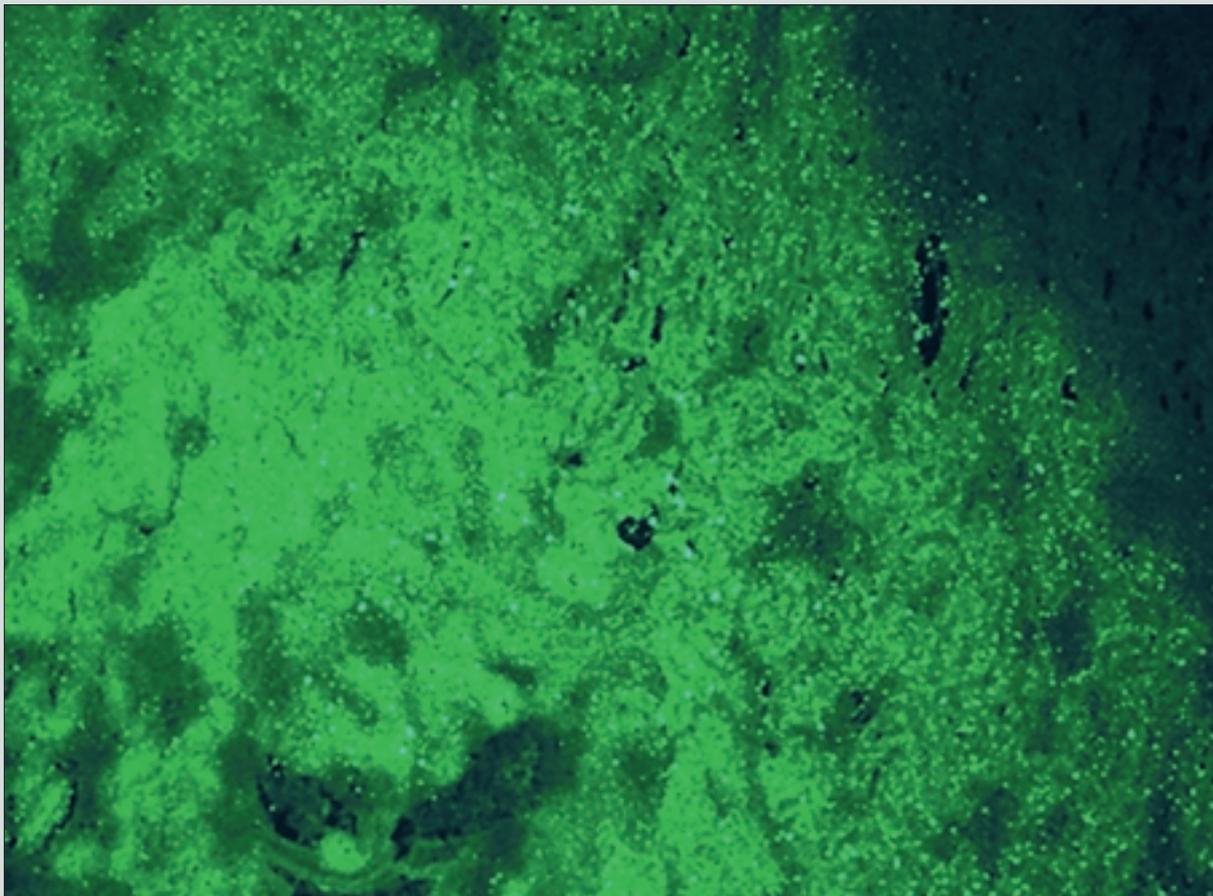


8b : Estomac de rat, positivité des cellules APUD, X 400.

Figure 9 : Aspects atypiques.

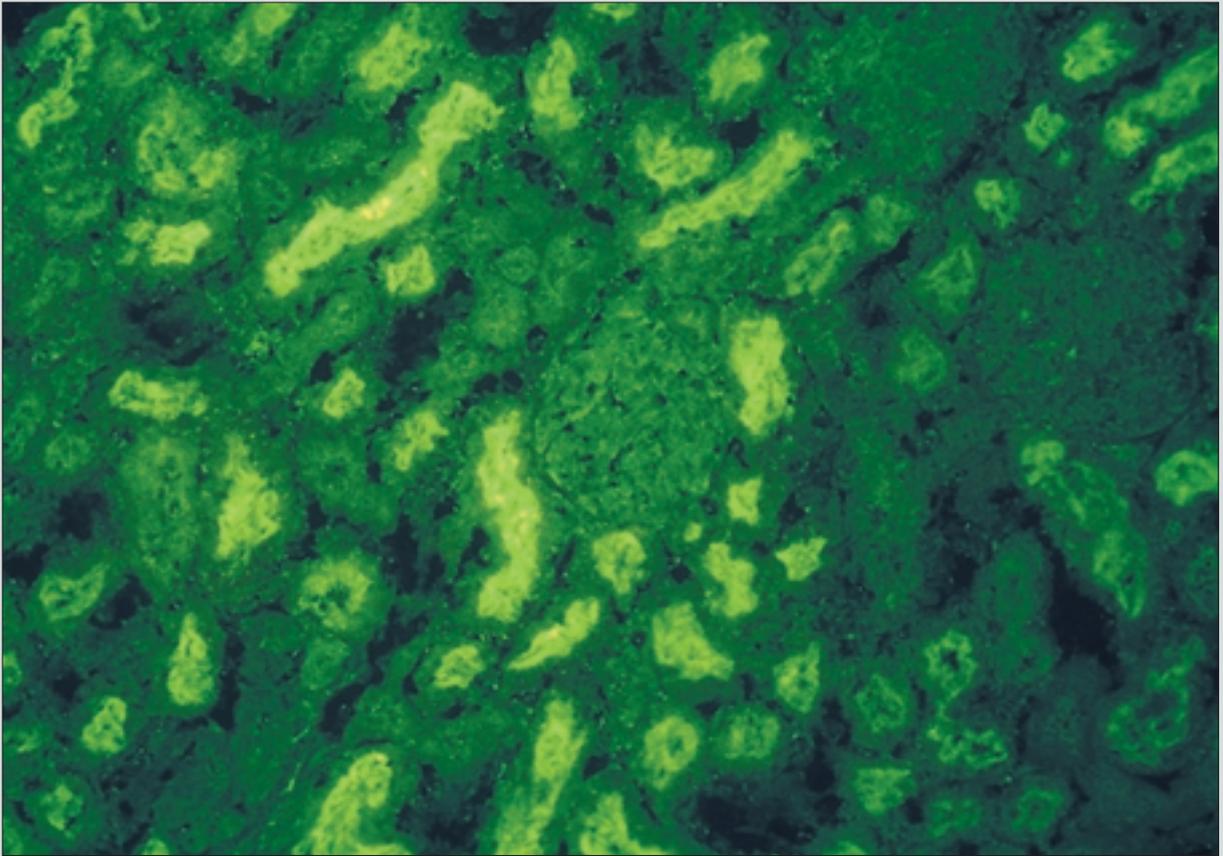


9a : Fluorescence atypique d'un sérum contenant une immunoglobuline monoclonale. 1 : Sur foie, fluorescence granitée autour des hépatocytes, X 200. 2 : Sur rein : marquage de la bordure en brosse, X 200. 3 : Sur estomac, fluorescence au niveau de l'épithélium, X 200.



9b : Aspect en immunofluorescence indirecte sur rein de rat d'un anticorps anti-LKM atypique (fluorescence sale au niveau des P3) provenant d'un sérum de patient ayant une hépatite auto-immune *de novo*, X 100.

Figure 10 : Anticorps hétérophiles, aspect en immunofluorescence indirecte sur rein de rat, X 200 ; marquage de la bordure en brosse des tubules proximaux.



## **b) Anticorps anti-endomysium**

Les anticorps anti-endomysium, spécifiques de la maladie coeliaque, ne se recherchent pas sur des coupes d'organes de rat mais sur des coupes d'œsophage de singe. Cependant, ils peuvent marquer fortement l'estomac de rat (Figure 11b) et gêner l'identification d'un anticorps anti-muscle lisse ou être confondu avec celui-ci.

## **c) Anticorps anti-ribosome**

- Sur le foie (Figure 11c) : fluorescence péri-nucléaire en motte du cytoplasme des hépatocytes.
- Sur l'estomac (Figure 11d) marquage cytoplasmique des cellules principales.

Ces anticorps qui marquent également le cytoplasme des cellules HEp-2 et le pancréas exocrine de rat sont spécifiques du lupus systémique.

## **d) Anticorps anti-mitochondrie de type 5**

- Sur le foie : fluorescence cytoplasmique granitée des hépatocytes.
- Sur le rein (Figure 11e) : intensité de la fluorescence en escalier, de la corticale superficielle à la médullaire, tel que : P1 et P2 > P3 > D.
- Sur l'estomac (Figure 11f) : les anticorps anti-M5 marquent fortement les cellules du collet.

Ces anticorps rares sont presque toujours associés aux anticorps anti-cardiolipides et sont spécifiques du syndrome des anti-phospholipides.

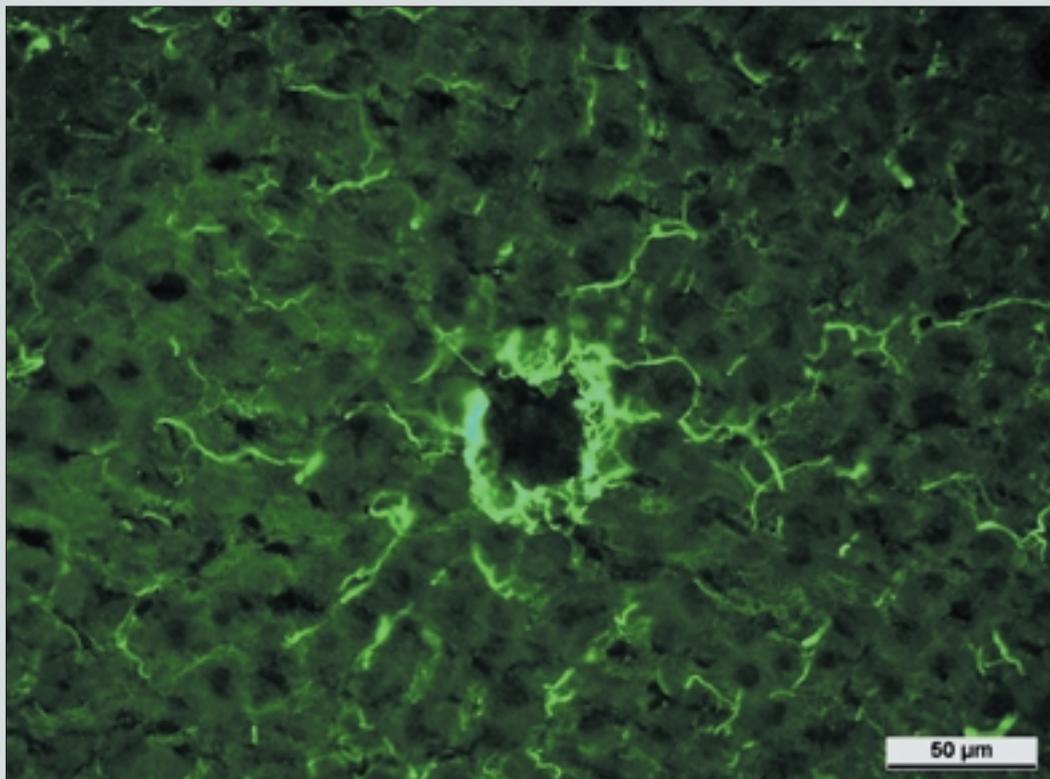
## **e) Anticorps anti-cellules pariétales**

Fluorescence cytoplasmique exclusive des cellules pariétales de l'estomac. Le foie et le rein sont négatifs. (Figure 11g).

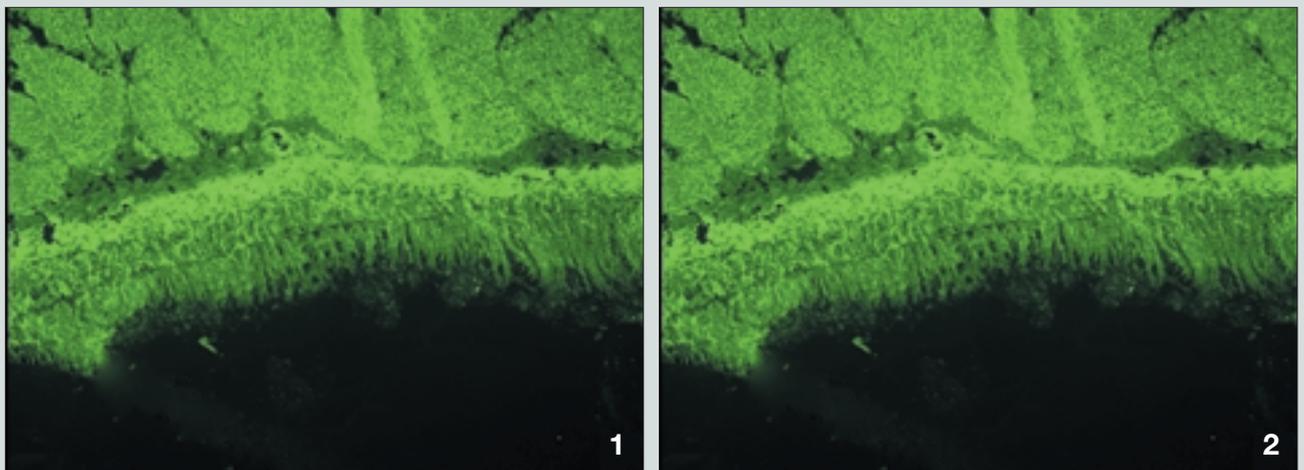
L'utilisation comme substrat de l'estomac de souris est préférable car les anticorps hétérophiles se fixent sur les cellules pariétales de rat et ne marquent pas les cellules pariétales de souris.

Ces anticorps font partie du bilan d'exploration des gastrites.

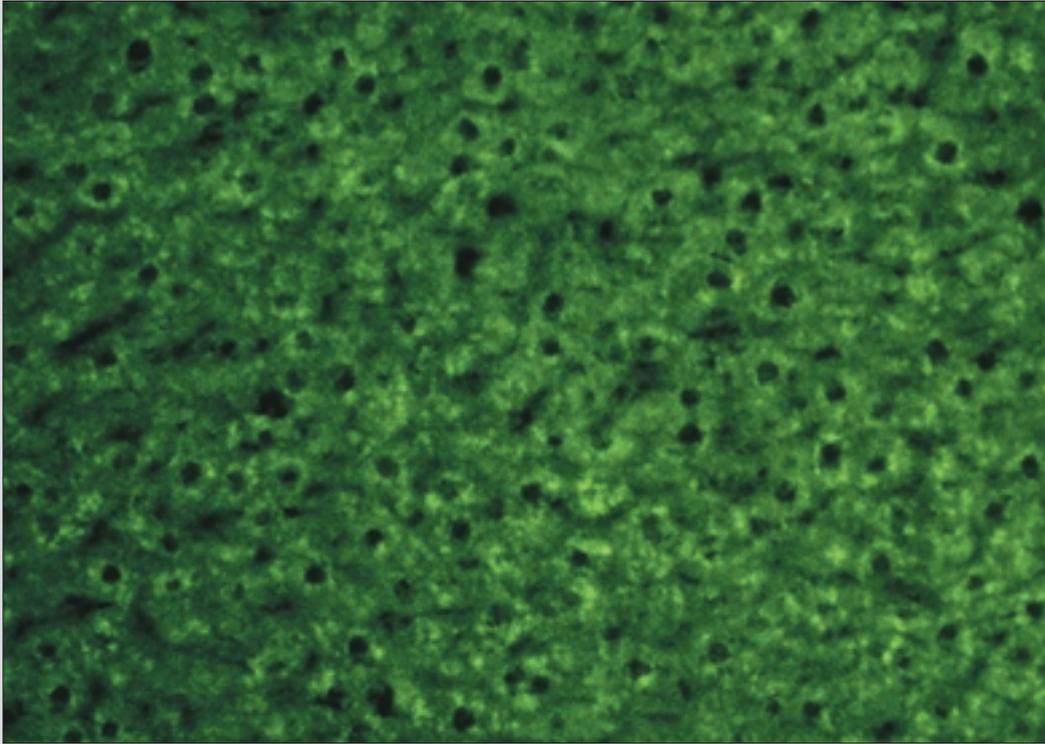
Figure 11 : Anticorps marqueurs de pathologies auto-immunes non hépatiques.



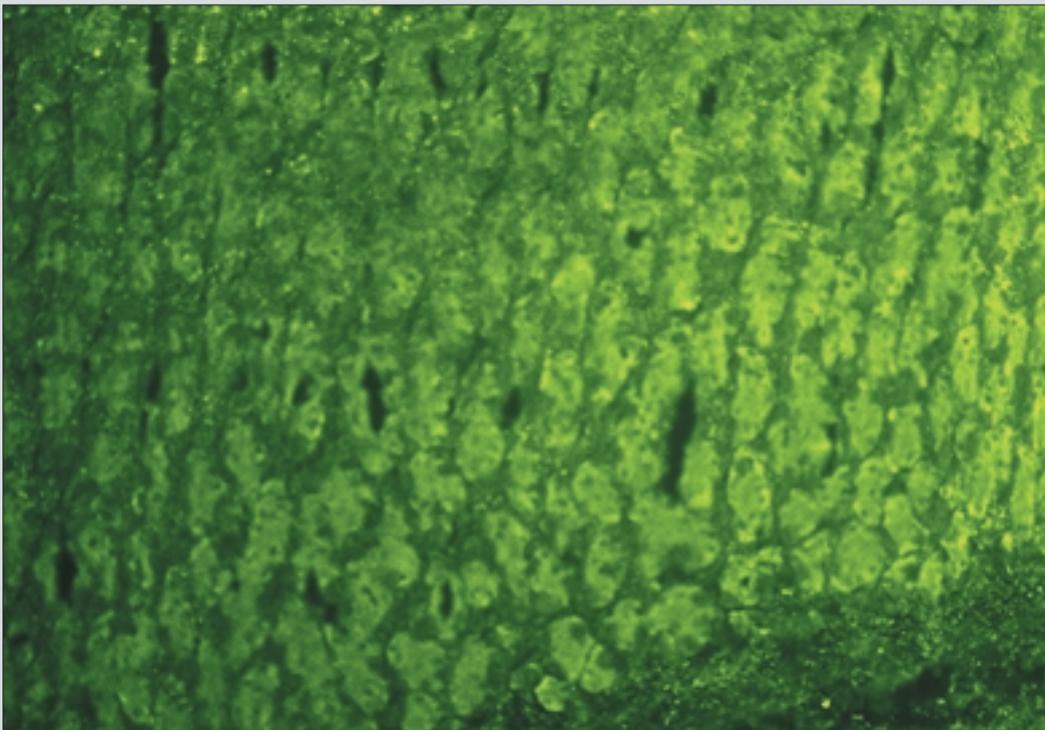
11a : Anticorps anti-réticuline, aspect en immunofluorescence indirecte sur foie de rat, X 400 ; marquage linéaire autour des sinusoides.



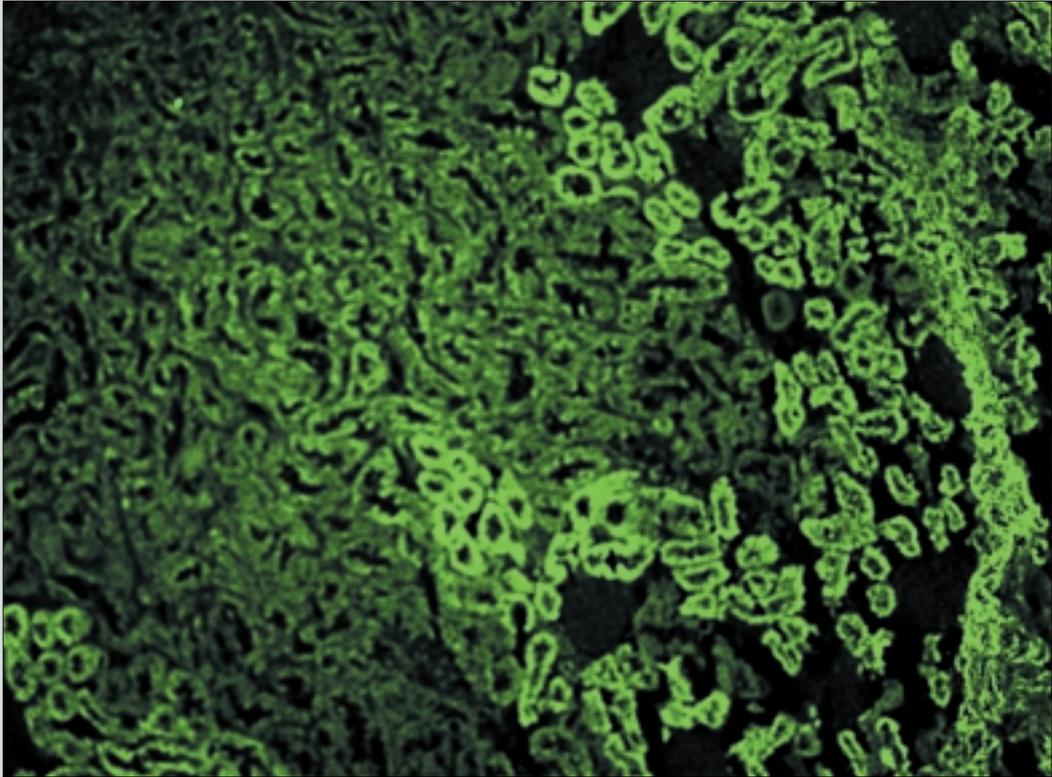
11b : Anticorps anti-endomysium, aspect en immunofluorescence indirecte. 1 : Sur estomac de rat, X 100 ; aspect en résille ou en rayon de miel du muscle. 2 : Sur œsophage de singe, X 400 ; substrat utilisé pour leur détection.



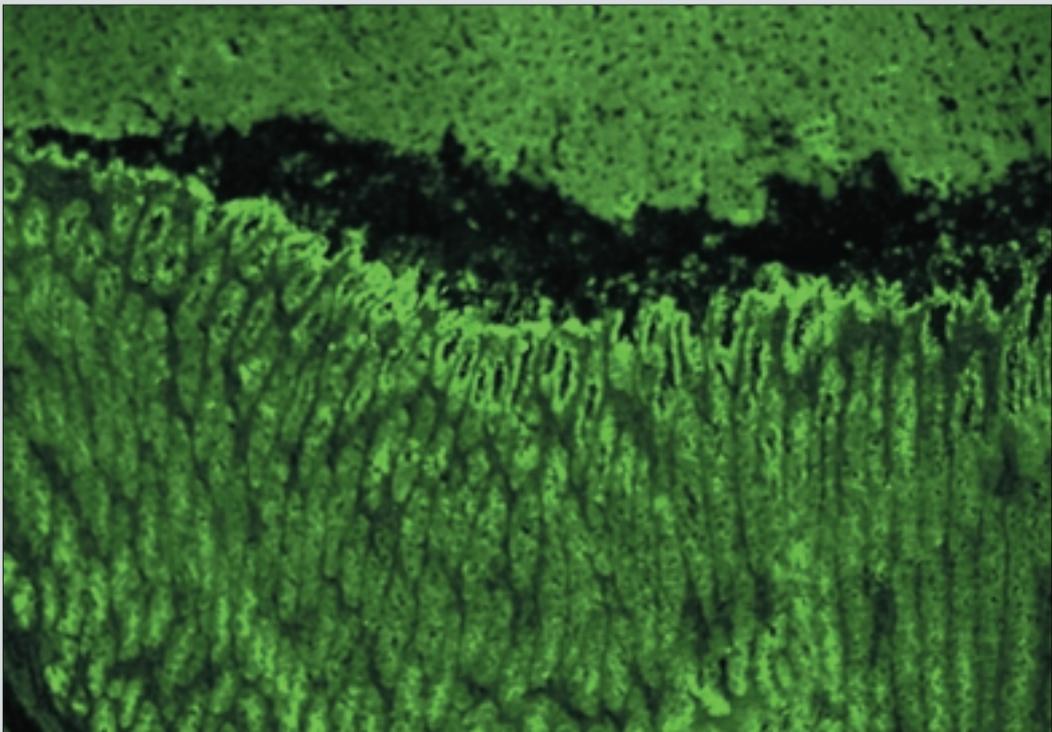
11c : Anticorps anti-ribosome, aspect en immunofluorescence indirecte sur foie de rat, X 200 ; marquage péri-nucléaire en motte.



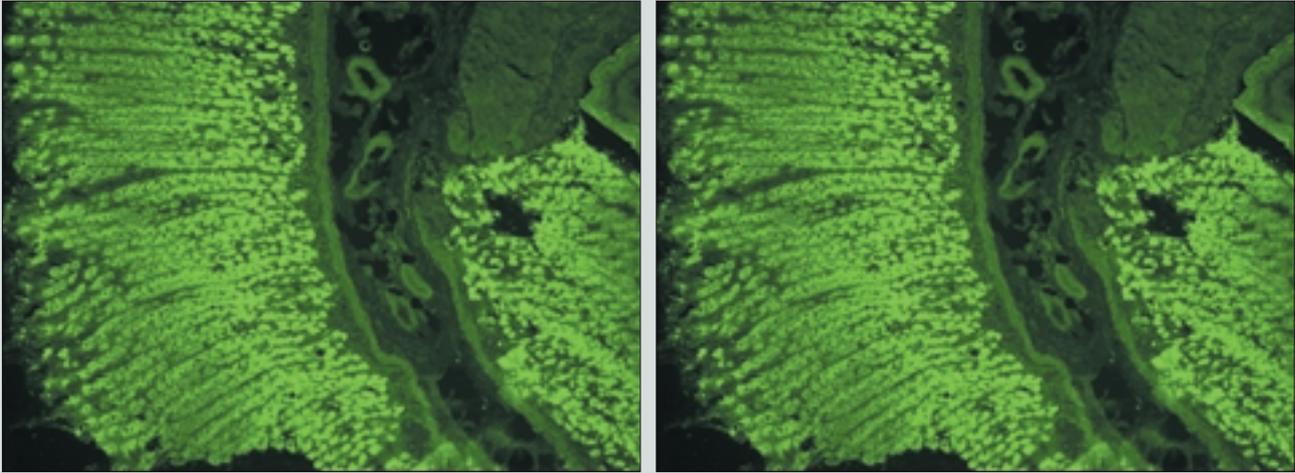
11d : Anticorps anti-ribosome, aspect en immunofluorescence indirecte sur estomac de rat, X 200 ; marquage des cellules principales.



11e : Anticorps anti-mitochondries de type 5, aspect en immunofluorescence indirecte sur rein de rat, X 100 ; marquage des tubules proximaux et distaux d'intensité inégale tel que P1P2>P3>D.



11f : Anticorps anti-mitochondries de type 5, aspect en immunofluorescence indirecte sur estomac de rat, X 100 ; marquage des cellules du collet.



11g : Anticorps anti-cellules pariétales, aspect en immunofluorescence. 1 : Sur estomac de rat, X 100 ; marquage des cellules pariétales. 2 : Sur estomac de souris, X 100 ; substrat utilisé pour leur détection.

## Dilution initiale, seuil de positivité et titre des auto-anticorps

Le choix de la dilution initiale dépend des seuils de positivité qui diffèrent en fonction des auto-anticorps. En pratique courante, la dilution au 1/40 est recommandée [9, 10, 11]. Celle-ci permet un seuil de positivité de 1/40 pour les anticorps anti-M2, anti-LKM1 et anti-LC1, et de 1/80 pour les anticorps anti-nucléaires et les anticorps anti-muscle lisse. Tout anticorps anti-muscle lisse dont le titre est supérieur ou égal au 1/80 sera typé pour chercher la spécificité anti-actine.

Dans un contexte clinique très évocateur ou chez l'enfant, une dilution plus faible au 1/20, voire même de 1/10, peut être préconisée [11]. En effet, un anticorps anti-M2 présent à un titre de 1/10 conserve une bonne valeur diagnostique. Des anticorps anti-LKM1 ou anti-LC1 au 1/10 peuvent être présents au cours des hépatites auto-immunes débutantes ou chez les patients traités.

Après dépistage, les sérums donnant un résultat positif seront titrés en réalisant des dilutions croissantes. Le titre d'auto-anticorps correspond à l'inverse de la dernière dilution du sérum donnant encore une fluorescence positive. Une dilution de l'ordre du 1/1000 est en général suffisante.

## **Facteurs influençant le résultat**

L'immunofluorescence indirecte reste une technique mal standardisée. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la qualité des résultats [11].

### **Préparation du substrat**

Le substrat classique correspond à des coupes de foie/rein/estomac de rat. Ces coupes d'organes peuvent être commerciales ou être réalisées au laboratoire.

Les rats sont des mâles de souche Wistar, âgés de 2 à 3 mois, pesant entre 240 et 280 g et à jeun. La façon de prélever les organes, ainsi que l'orientation de ceux-ci lors du montage des blocs est importante. C'est la découpe et l'orientation du rein qui permet l'obtention de l'ensemble des zones corticales et médullaires. Des coupes présentant une zone trop faible de tubules distaux peuvent rendre plus difficile la différenciation entre anticorps anti-mitochondries et anticorps anti-LKM. La congélation des blocs d'organes, d'abord dans l'azote liquide, puis à  $-80^{\circ}\text{C}$  ainsi que les conditions de conservation à  $-80^{\circ}\text{C}$ , sont déterminantes pour le maintien d'une bonne antigénicité. La coupe des blocs, puis le séchage des lames et enfin les conditions et la durée de conservation de celles-ci peuvent influencer sur la qualité du résultat. Les coupes d'organes doivent être de 4 à 6  $\mu\text{m}$ , réalisées à congélation à partir de blocs homogènes, puis séchées à l'air avant conservation à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Les lames fabriquées au laboratoire sont simplement fixées à l'air, sans fixateur, ce qui rend leur manipulation délicate. Les lames commerciales sont fixées par différents fixateurs (acétone, éthanol, méthanol) [11], ce qui rend leur manipulation plus aisée mais peut diminuer leur antigénicité.

### **Autres paramètres**

Les autres paramètres sont communs à l'ensemble des techniques d'immunofluorescence indirecte et ont été détaillés dans le cahier Bioforma N°13 consacré à la détection des anticorps anti-nucléaires [8]. On peut citer, les étapes de lavages, particulièrement importantes pour éviter les risques de contamination, le choix de l'antiglobuline, l'utilisation d'un microscope adéquat dont la maintenance est un facteur clef de la qualité de lecture.

La lecture d'une lame triple substrat doit être faite d'abord à un faible grossissement (X 100 puis X 200) qui permet de mieux appréhender l'aspect de la fluorescence par rapport à la structure de l'ensemble de l'organe, puis à un fort grossissement (X 400) pour la recherche d'anticorps anti-nucléaires sur le foie ou de fibrilles péri-tubulaires (spicules) sur le rein par exemple.

L'utilisation de sérums de contrôle interne ainsi que la participation à un contrôle de qualité externe est indispensable.

## **Avantages/inconvénients**

Les inconvénients de la technique d'immunofluorescence indirecte sur triple substrat viennent du manque de standardisation et de la difficulté de lecture opérateur dépendant (voir paragraphe I.4).

Les avantages sont multiples :

- En diagnostic : possibilité de détection simultanée de nombreux anticorps, mise en évidence de nouveaux aspects d'auto-anticorps, rendus des résultats en titre.
- En suivi de traitement : suivi des titres d'anticorps (la disparition des anticorps fait partie des critères de guérison des hépatites auto-immunes), apparition de nouveaux marqueurs (par exemple, l'apparition d'anticorps anti-actine dans une cirrhose biliaire primitive connue avec anticorps anti-M2 fera évoquer l'évolution de la cirrhose biliaire primitive vers une forme mixte cirrhose biliaire primitive/hépatite auto-immune pouvant entraîner des modifications thérapeutiques).

# Techniques d'identification de seconde intention

---

Tout aspect de fluorescence positive doit être confirmé ou caractérisé. Par exemple, un anticorps anti-muscle lisse de titre supérieur ou égal au 1/80 sera typé pour rechercher la spécificité anti-actine ; la présence d'un aspect cerclé sur foie de rat déclenchera une recherche d'anticorps anti-gp210. Les techniques utilisées sont très variées et se sont considérablement développées. Nous présenterons les principales techniques pouvant être utilisées pour chacun des auto-anticorps.

## Typage de l'anticorps anti-muscle lisse : détection des anticorps anti-câble d'actine

Le typage du muscle lisse n'est pas toujours réalisé bien qu'il soit indispensable [12]. En effet, un anticorps anti-muscle lisse non actine n'a aucune spécificité vis-à-vis de l'hépatite auto-immune. Trois techniques existent actuellement (immunofluorescence indirecte sur cellules HEP-2, ELISA, immunodot), mais leur concordance est loin d'être parfaite (résultats personnels). Il n'existe pas d'étude comparative publiée entre ces différentes techniques.

### Immunofluorescence indirecte sur cellules HEP-2

Le principe général est celui de la détection des anticorps anti-nucléaires par immunofluorescence indirecte sur cellules HEP-2 [8].

Les lames utilisées peuvent être commerciales ou réalisées avec des cellules cultivées au laboratoire. L'utilisation de lames commerciales nécessite de travailler avec des lots réservés de cellules permettant une bonne visualisation des câbles d'actine. En effet, la présence de filament d'actine doit être vérifiée au préalable car elle dépend des procédés de culture, de fixation et de l'âge de la culture [13]. De nombreuses préparations commerciales de cellules HEP-2 ne conviennent pas. Dans le cas de cultures effectuées au laboratoire, les cellules sont directement cultivées sur lame. Des

cellules non traitées sont repiquées dans un milieu contenant 14 mg/L de colchicine, puis incubées pendant 20 heures à 37° C. Après lavage et fixation à l'acétone à – 20° C, les lames sont séchées rapidement et conservées à – 80° C [14].

Aspect de fluorescence : l'ensemble de la cellule est traversé et déformé par de longs câbles droits d'actine (aspect en tête d'oursin) (Figure 12a).

D'autres anticorps donnant une réactivité avec le muscle lisse peuvent être identifiés sur cellules en culture. Par exemple, les anticorps anti-vimentine montrent une positivité de la vimentine rétractée par la colchicine autour du noyau (Figure 12b). Ces auto-anticorps qui ne sont pas spécifiques, sont décrits dans de nombreuses pathologies (virales, notamment hépatites A et B, parasitaires, maladies de système).

## **ELISA**

Il existe un coffret commercial basé sur une technique ELISA indirecte avec comme antigène de l'actine native ou F-actine de lapin.

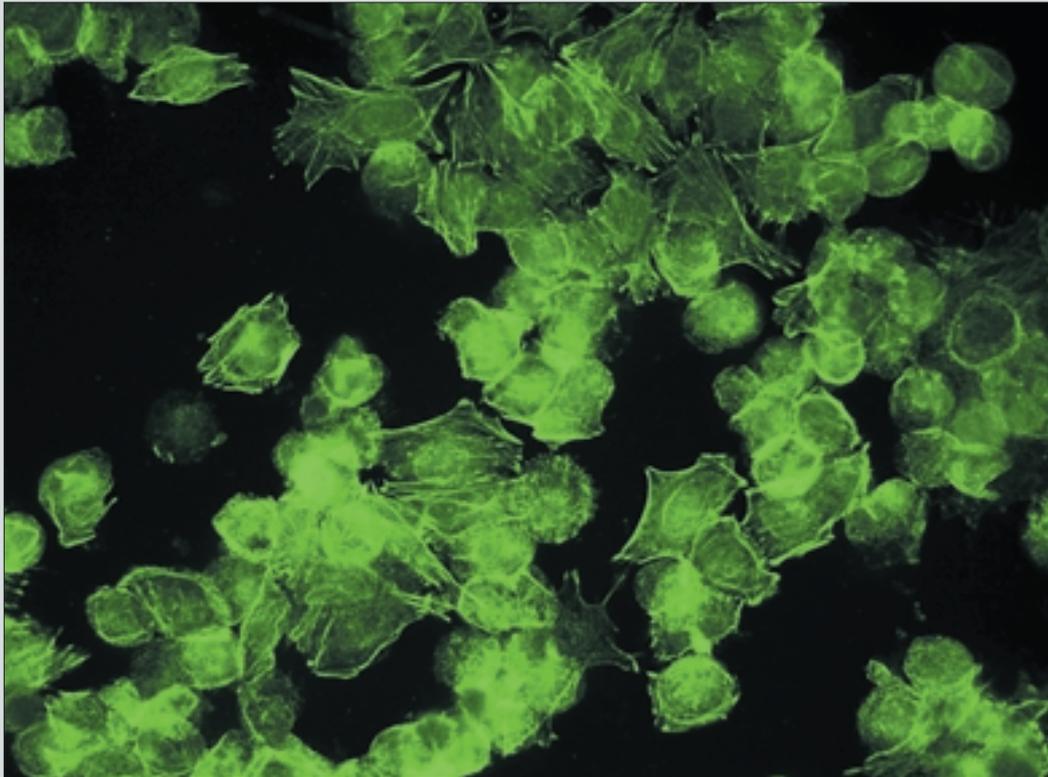
## **Immunodot**

Des dots associant la recherche d'anticorps anti-actine à celle des anticorps anti-LKM1/anti-LC1/anti-M2/anti-SLA, se développent du fait de leur praticabilité en seconde intention. L'antigène utilisé est de la F-actine et l'antiglobuline est, selon les dots, une anti-IgG ou une anti-IgG + IgM (Figure 13). La plupart des immunodots comporte un spot "cut-off", ou valeur seuil, dont la coloration varie parallèlement à celle des spots réactionnels obtenus avec les sérums. Ce spot contrôle est nécessaire à l'interprétation des résultats. La lecture de la coloration est effectuée à l'œil ou à l'aide d'un scanner.

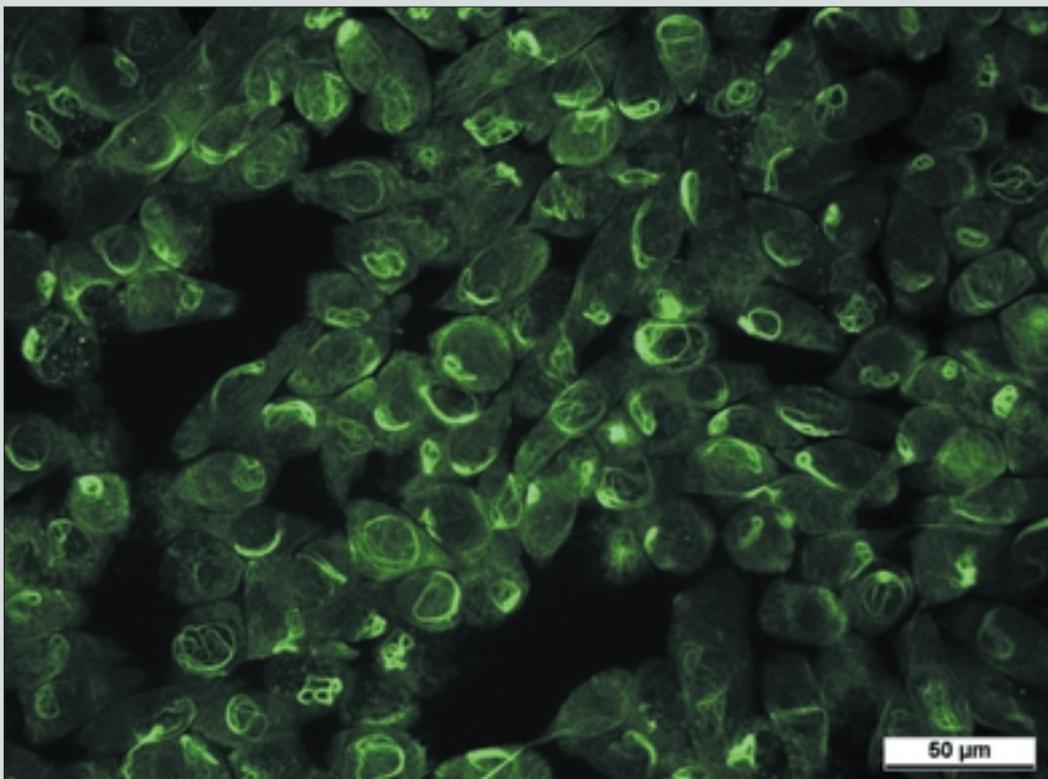
## **Anticorps anti-LKM1 et anticorps anti-LC1**

Ces deux auto-anticorps sont fréquemment associés dans les sérums de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2. Cependant, les anticorps anti-LC1 peuvent être difficiles à mettre en évidence par immunofluorescence indirecte lorsqu'ils sont

Figure 12 : Typage de l'anticorps anti-muscle lisse par immunofluorescence indirecte sur cellules HEP-2 traitées à la colchicine, X 400.



12a : Anticorps anti-actine : marquage des câbles d'actine.



12b : Anticorps anti-vimentine, marquage autour du noyau.

associés aux anticorps anti-LKM1. Ils devront donc être obligatoirement recherchés par une technique de confirmation, même en l'absence d'aspect de fluorescence caractéristique, lorsqu'un anticorps anti-LKM1 est présent.

Les techniques les plus utilisées sont l'immunodiffusion double d'Ouchterlony, l'ELISA et surtout l'immunodot, plus adapté aux petites séries [15]. La radio-immunologie [16] et l'immunotransfert sont très peu employés pour le diagnostic médical. L'immunodiffusion double, considérée comme une technique peu sensible, garde encore tout son intérêt dans la détection de ces auto-anticorps, où elle s'avère plus sensible que l'immunofluorescence indirecte (notamment à la phase aiguë de l'hépatite auto-immune). Elle semble également plus spécifique que l'immunofluorescence indirecte (certains anticorps anti-LKM atypiques provenant de sérums de patients ayant une hépatite virale C ne sont pas précipitants). En fonction des techniques, les antigènes peuvent être soit des extraits solubles de microsome ou de cytosol hépatique préparés par centrifugation différentielle [17], soit des protéines recombinantes exprimées dans des cellules eucaryotes ou dans *Escherichia coli* (cytochrome P450II2D6 (CYP2D6) ou formiminotransférase cyclodésaminase), soit des peptides synthétiques couvrant les épitopes d'intérêts (ex : peptide synthétique 251-283 de la séquence du CYP2D6, correspondant à une des régions reconnues par les anticorps au cours des hépatites auto-immunes de type 2). Les anticorps anti-CYP2D6 présents dans les hépatites auto-immunes de type 2 et dans les hépatites virales C ne reconnaissent pas les mêmes épitopes du CYP2D6. Cependant, il n'existe pas, à l'heure actuelle, de technique de détection permettant de bien les différencier. Il est important de connaître de façon précise l'antigène utilisé. Malheureusement, ce n'est pas toujours le cas dans les coffrets commerciaux.

## **Anticorps anti-mitochondries de type 2**

De nombreuses techniques existent. L'immunotransfert et l'immunodot qui ont progressivement remplacé l'ELISA, sont les techniques les plus utilisées. L'inhibition de l'activité enzymatique de la pyruvate déshydrogénase qui peut être déterminée par simple mesure de la variation d'absorbance à 340 nm est très peu employée [18].

## Immunotransfert

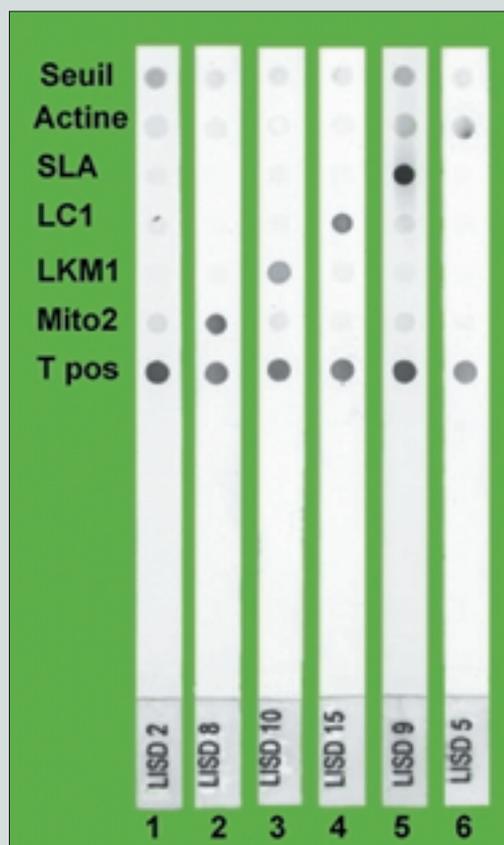
L'immunotransfert est une technique lourde nécessitant la purification de fractions cellulaires et la séparation des protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS. Elle implique que les auto-anticorps reconnaissent des épitopes non conformationnels. Les antigènes utilisés sont des extraits mitochondriaux de cœur de bœuf ou de foie de rat. Des antigènes d'autres origines, notamment humaine, peuvent également être utilisés. Cette technique est la seule qui permette l'identification précise de l'ensemble des protéines mitochondriales reconnues par les anticorps anti-M2. En effet, 1 à 5 bandes peuvent être reconnues par les sérums (Figure 14), correspondant aux différents antigènes reconnus par les anticorps anti-M2 selon leur masse moléculaire (sous-unités E2, E1a, E1b de la pyruvate déshydrogénase (PDH), oxoglutarate déshydrogénase (OGDC), déshydrogénase à chaîne branchée (Branched Chain Oxo Acid Dehydrogenase Complex, BCOADC) (voir le chapitre traitant des cibles antigéniques). L'interprétation peut être difficile. Plusieurs contrôles positifs doivent être inclus à chaque série. En effet, la masse moléculaire observée, dite apparente, peut varier de 5 à 8 % par rapport à la masse moléculaire théorique [19].

Il existe une bonne concordance entre l'immunofluorescence indirecte et l'immunotransfert. Cependant, ce dernier est plus sensible. Il permet de déceler 2 % de cirrhoses biliaires primitives supplémentaires et reste positif après transplantation hépatique, contrairement à l'immunofluorescence indirecte où 50 % des sérums deviennent négatifs [20]. Inversement, les cas d'immunofluorescence indirecte positive avec immunotransfert négatif correspondent majoritairement à des patients ayant une hépatite virale C [21]. Cependant, des anticorps anti-BCOADC et des anticorps anti-E3 ont également été décrits dans les hépatites virales C et peuvent être alors responsables d'immunofluorescence indirecte négative avec immunotransfert positif [19].

## Immunodot

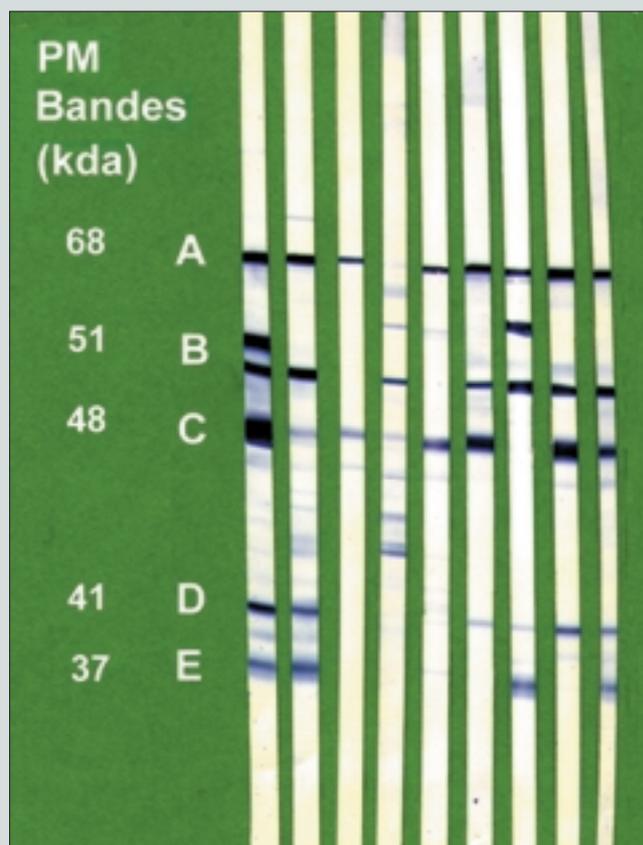
L'immunodot présente sensiblement les mêmes performances que l'immunotransfert pour la détection des anticorps anti-M2. Les antigènes utilisés sont essentiellement des antigènes purifiés contenant la PDH-E2 ou l'association PDH-E2 + OGDC + BCOAD.

Figure 13 : Détection des anticorps par immunodot.



- Bande 1 : sérum négatif ;
- Bande 2 : présence d'anticorps anti-mitochondries de type 2 ;
- Bande 3 : présence d'anticorps anti-LKM1 ;
- Bande 4 : présence d'anticorps anti-LC1 ;
- Bande 5 : présence d'anticorps anti-SLA et d'anticorps anti-actine ;
- Bande 6 : présence d'anticorps anti-actine.

Figure 14 : Détection des anticorps anti-mitochondries de type 2 par immunotransfert.



Les sérums reconnaissent 1 à 5 bandes correspondant aux différents antigènes des complexes PDH, OGDC et BCOADC. Les 9 bandelettes présentées sont incubées avec des sérums contenant des anticorps anti-mitochondries de type 2.

Les anticorps anti-PDH-E1a ou E1b isolés ne pourront donc pas être détectés par cette technique, d'où le profil " immunofluorescence indirecte positive, immunodot négatif ". Seul l'immunotransfert permettra une caractérisation exacte de ces auto-anticorps.

Ces techniques d'immunodot se sont beaucoup développées (Figure 13) et ont supplanté les techniques ELISA qui utilisent des antigènes similaires.

## **Anticorps anti-nucléaires**

En pratique courante, il est indispensable de rechercher les anticorps anti-gp210 en cas de fluorescence d'aspect cerclé ou membrane nucléaire, ainsi que les anticorps anti-antigènes nucléaires solubles en cas d'aspect moucheté du noyau. Il existe maintenant sur le marché des coffrets ELISA pour la recherche d'anticorps anti-chromatine qui pourraient être utilisés devant un aspect de fluorescence homogène. Ces anticorps anti-chromatine, bien que non spécifiques, ont été décrits comme des marqueurs de mauvais pronostic dans les hépatites auto-immunes [22, 23]. Cependant, d'autres études sont nécessaires avant leur éventuelle utilisation en routine.

## **Anticorps anti-gp210**

La détection des anticorps anti-gp210 par immunotransfert est une technique lourde nécessitant un extrait de membrane nucléaire préparé à partir du foie de rat. La technique usuelle est un ELISA maison utilisant comme antigène un peptide synthétique contenant l'épitope dominant [24]. Des techniques commerciales viennent d'apparaître mais n'ont pas encore été validées.

## **Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles**

Leur recherche, qui doit être effectuée en présence d'un aspect moucheté du noyau, a été décrite dans le cahier Bioforma N°13 consacré aux anticorps anti-nucléaires [12] et ne sera pas reprise ici. Les anticorps les plus fréquents sont les anticorps anti-SS-A (association syndrome de Gougerot-Sjögren/cirrhose biliaire primitive).

## Cas particulier : détection des anticorps anti-SLA

---

Ces auto-anticorps non détectables par immunofluorescence indirecte sur le triple substrat, doivent être recherchés en cas de suspicion d'hépatite auto-immune en raison de leur grande spécificité. La méthode de référence est un test ELISA d'inhibition complexe, avec comme antigène la fraction cytosolique de foie de rat [25, 26]. De récents progrès permettent l'utilisation de l'ELISA et surtout de l'immunodot avec, comme antigène, une protéine recombinante de 50 kDa [26] ou du cytosol purifié.

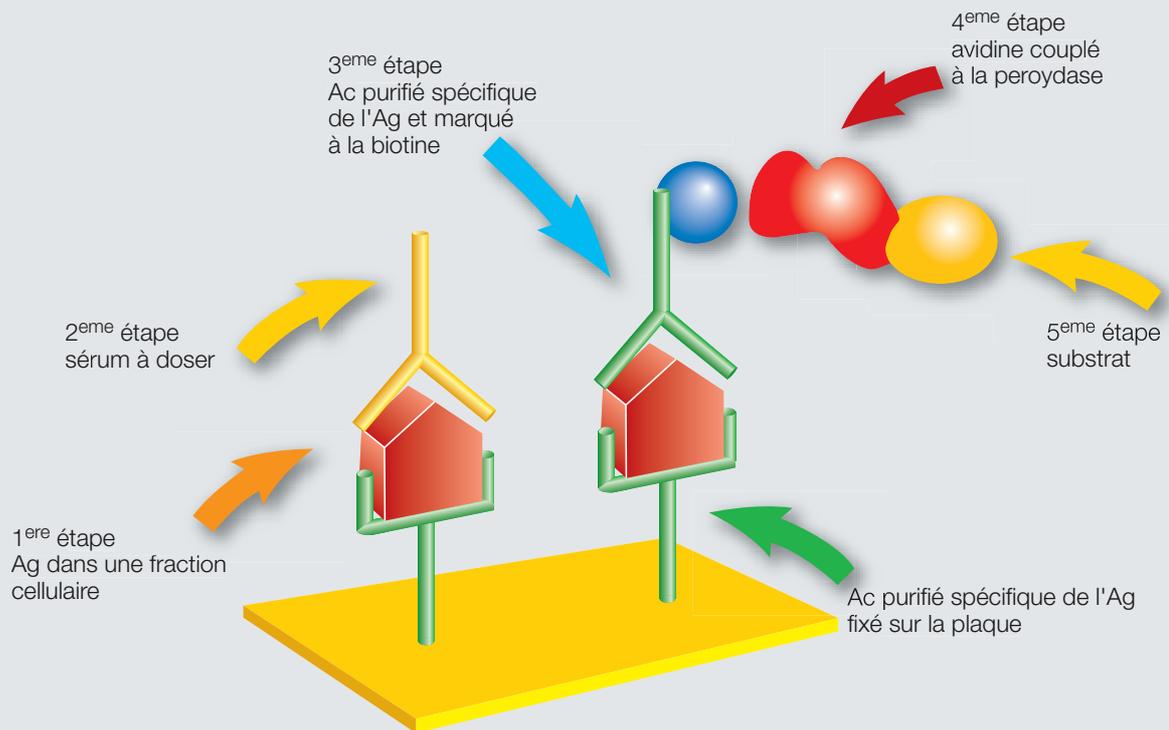
De nombreuses techniques ont par ailleurs été décrites, immunotransfert, ELISA utilisant des protéines de fusion exprimées dans des cellules procaryotes (E. Coli) ou eucaryotes (cellules Jurkat), immunoprécipitation des sRNP d'extraits de cellules HeLa radiomarquées. Ces techniques sont majoritairement "maison" ou non commercialisées en France. Les résultats obtenus en terme de sensibilité et spécificité sont fonction des techniques et des antigènes [26-30]. Nous ne décrivons que la technique de référence d'iELISA effectuée dans notre laboratoire et le dot-blot, technique commerciale la plus utilisée en France.

### **iELISA**

Des anticorps anti-SLA sont fixés sur une microplaque puis incubés avec la fraction cytosolique de foie de rat. Les anticorps sur la phase solide fixent l'antigène. Après lavages, les auto-anticorps du sérum à tester sont épuisés sur l'antigène. Puis, après un nouveau lavage, on ajoute un large excès d'anticorps anti-SLA, marqués à la biotine, dont la fixation dépend alors de la saturation des épitopes de l'antigène par les auto-anticorps du sérum à tester (Figure 15). L'intensité du signal fourni est donc inversement proportionnelle à la quantité d'auto-anticorps du sérum à tester.

Plusieurs étapes sont nécessaires avant l'ELISA :

- La préparation de la fraction cytosolique de foie de rat par centrifugation différentielle [16].



Chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées

Figure 15 : Principe de la détection des anticorps anti-SLA par iELISA

- La purification des immunoglobulines d'un sérum contenant des anticorps anti-SLA. On précipite la fraction IgG d'un sérum de référence anti-SLA avec du sulfate d'ammonium saturé. Le précipité repris dans de l'eau distillée puis dialysé contre une solution de NaCl à 0,9 %, puis contre du tampon phosphate, servira en partie pour le "coating" des plaques ELISA et en partie pour un marquage à la biotine.

- Le couplage des immunoglobulines par la biotine.

Les conditions techniques de l'ELISA sont les suivantes : le "coating" s'effectue avec 50 µl de fraction purifiée d'IgG à 20 mg/mL, l'antigène cytosolique est à 100 µg/mL, le sérum à tester est dilué au 1/10, la solution d'immunoglobuline couplée à la biotine est diluée à raison de 70 µl dans 6 mL, et le conjugué avidine couplé à la peroxydase est au 1/500.

Les résultats sont exprimés par le pourcentage d'inhibition de la fixation des anticorps anti-SLA marqués sur l'antigène spécifique selon le rapport :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{DO moyenne des témoins négatifs}) - (\text{DO du sérum à tester})}{(\text{DO moyenne des témoins négatifs}) - (\text{DO du blanc})}$$

Le sérum de contrôle positif doit donner un pourcentage d'inhibition d'au moins 80 %, ce qui valide la technique. Un sérum est considéré comme positif si son pourcentage d'inhibition est supérieur à 40 %.

## Immunodot

Plusieurs dots existent utilisant soit l'antigène purifié à partir de la fraction cytosolique, soit la protéine cible recombinante de 50 kDa. Les dots utilisant un antigène purifié ([Figure 13](#)) sont parfaitement concordant à l'ELISA (résultats personnels).

# Interprétation des résultats

---

## Résultats usuels normaux

La présence de ces anticorps est exceptionnelle chez les sujets sains (prévalence de 0,3 % pour les anticorps anti-M2, et probablement inférieure pour les anticorps anti-LKM1, anti-LC1 et anti-SLA). Un résultat normal sera donc inférieur au seuil de positivité de la technique. Seuls les anticorps anti-muscle lisse (non actine) sont mis en évidence à titre bas, chez plus de 10 % des sujets adultes sains. Cependant, certains sérums peuvent montrer des aspects atypiques ou la présence d'anticorps hétérophiles sans valeur diagnostique.

## Résultats anormaux

[Les tableaux I, II et III](#) représentent les différentes orientations diagnostiques dans l'interprétation des auto-anticorps. Ceux-ci sont majoritairement des marqueurs diagnostiques précieux des principales hépatopathies auto-immunes que sont la cirrhose biliaire primitive et les hépatites auto-immunes. Ils peuvent également être

**Tableau I : Principaux anticorps détectés par immunofluorescence indirecte sur triple substrat (foie/rein/estomac) de rat et pathologies associées**

Auto-anticorps	Pathologies associées
Anti-actine	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hépatite auto-immune de type 1 : 85 % des cas (leur disparition sous traitement fait partie des critères diagnostiques de guérison).</li> <li>- Formes mixtes (hépatite auto-immune/cirrhose biliaire primitive, hépatite auto-immune/cholangite sclérosante primitive).</li> <li>- Hépatites virales, médicamenteuses.</li> <li>- <b>Anti-muscle lisse non actine</b> : infections, cancers, maladies systémiques auto-immunes, rejet de greffe hépatique ...).</li> </ul>
Anti-LKM1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hépatite auto-immune de type 2 : 85 % (titres variant selon le stade de la maladie et le traitement).</li> <li>- Hépatite virale C : 3 à 5 %.</li> <li>- Hépatite auto-immune <i>de novo</i>.</li> <li>- Réaction du greffon contre l'hôte en cas d'atteinte hépatique.</li> <li>- Hépatite à l'halothane.</li> </ul>
Anti-LC1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hépatite auto-immune de type 2 : 30 % à 50 % (titres variant selon le stade de la maladie et le traitement).</li> <li>- Hépatite virale C : 0,5 %.</li> </ul>
Anti-M2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cirrhose biliaire primitive : 95 % (titres stables sous traitement, après transplantation hépatique ; l'immunofluorescence indirecte se négative dans 50 % des cas).</li> <li>- Formes mixtes (cirrhose biliaire primitive/hépatite auto-immune) et affections associées à la cirrhose biliaire primitive (syndrome CREST, syndrome de Gougerot-Sjögren, thyroïdite de Hashimoto ...).</li> <li>- Hépatites virales C : 1 %.</li> <li>- Quelques cas de Lymphomes.</li> <li>- Marqueur d'hépatite auto-immune chez l'enfant.</li> </ul>
Anti-réticuline (R1)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Maladie coeliaque : 60 %.</li> </ul>
Anti-ribosome	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lupus systémique : 10 à 20 % (manifestations neuropsychiatriques).</li> </ul>
Anti-mitochondrie 5	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Syndrome des anti-phospholipides : rares.</li> </ul>
Anti-cellules pariétales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Maladie de Biermer : 90 %.</li> <li>- Thyroïdite de Hashimoto, Basedow : 20 à 30 %.</li> </ul>
Anticorps hétérophiles	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sans valeur diagnostique.</li> </ul>

**Tableau II : Principaux anticorps anti-nucléaires détectés dans les hépatopathies**

Anticorps anti-nucléaires (aspects en immunofluorescence indirecte)	Pathologies associées
Anticorps anti-nucléaires d'aspect homogène	Hépatite auto-immune de type 1* : 35 %. Hépatites virales C, hépatites médicamenteuses.
Anticorps anti-nucléaires d'aspect moucheté	Hépatite auto-immune de type 1* : 35 %. Cirrhose biliaire primitive : 15 % (syndrome de Gougerot-Sjögren associé à la cirrhose biliaire primitive). Hépatites virales C, hépatites médicamenteuses.
Anticorps anti-membrane nucléaire (anti-gp210)	Cirrhose biliaire primitive : 25 % ; marqueur de mauvais pronostic.
Anticorps anti-nucléaires à grains multiples (dots nucléaires)	Cirrhose biliaire primitive : 10 à 20 % ; marqueur de mauvais pronostic
Anticorps anti-centromère	Cirrhose biliaire primitive : 15 % (CREST associé à la cirrhose biliaire primitive).

\* : Les anticorps anti-nucléaires font partie de la grille de score diagnostic des hépatites auto-immunes de type 1.

**Tableau III : Anticorps non détectables par immunofluorescence indirecte sur triple substrat et pathologie associées**

Auto-anticorps	Pathologies associées
Anti-SLA ou SLA/LP	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hépatite auto-immune de type 1 : 15 à 30 %.</li> <li>- Hépatites cryptogéniques : 15 à 20 %.</li> <li>- Formes mixtes (cirrhose biliaire primitive/hépatite auto-immune) : 15 %.</li> <li>- Récidive d'hépatite auto-immune après transplantation hépatique, hépatite auto-immune <i>de novo</i>.</li> <li>- Hépatite virale C (exceptionnel).</li> </ul>

utilisés comme marqueurs d'activité et critères de réponse au traitement pour les hépatites auto-immunes [31]. Cependant, leur présence ne signifie pas nécessairement l'existence d'une maladie auto-immune du foie. Ils peuvent apparaître dans des pathologies hépatiques non auto-immunes, telles que les hépatites médicamenteuses, ou lors d'un rejet d'allogreffe hépatique [32]. Mais ce sont les hépatites virales, et principalement l'hépatite virale C, qui représentent la première étiologie à l'origine d'auto-anticorps en pathologie hépatique. Leur fréquence varie de 10 % pour les anticorps anti-nucléaires et les anticorps anti-muscle lisse, à 3 % pour les anticorps

anti-LKM1, 1 % pour les anticorps anti-M2 et moins de 0,5 % pour les anticorps anti-LC1 et les anticorps anti-actine [7]. La présence d'anticorps anti-SLA dans l'hépatite C est exceptionnelle (0 % dans une population de 105 [26] à 565 [27] hépatites virales). Une seule équipe [29] a décrit une fréquence élevée du marqueur (5 sérums avec anticorps anti-SLA, dans une population de 48 patients ayant une hépatite C), mais en utilisant comme antigène la protéine recombinante de 50 kDa tRNP(Ser)Sec avec une technique radioimmunologique.

## Stratégie diagnostique

---

La recherche des principaux marqueurs d'intérêt dans les hépatopathies auto-immunes nécessite une démarche diagnostique dichotomique guidée par la symptomatologie clinique et les résultats de l'immunofluorescence indirecte sur triple substrat. Cette stratégie diagnostique est décrite [tableau IV](#).

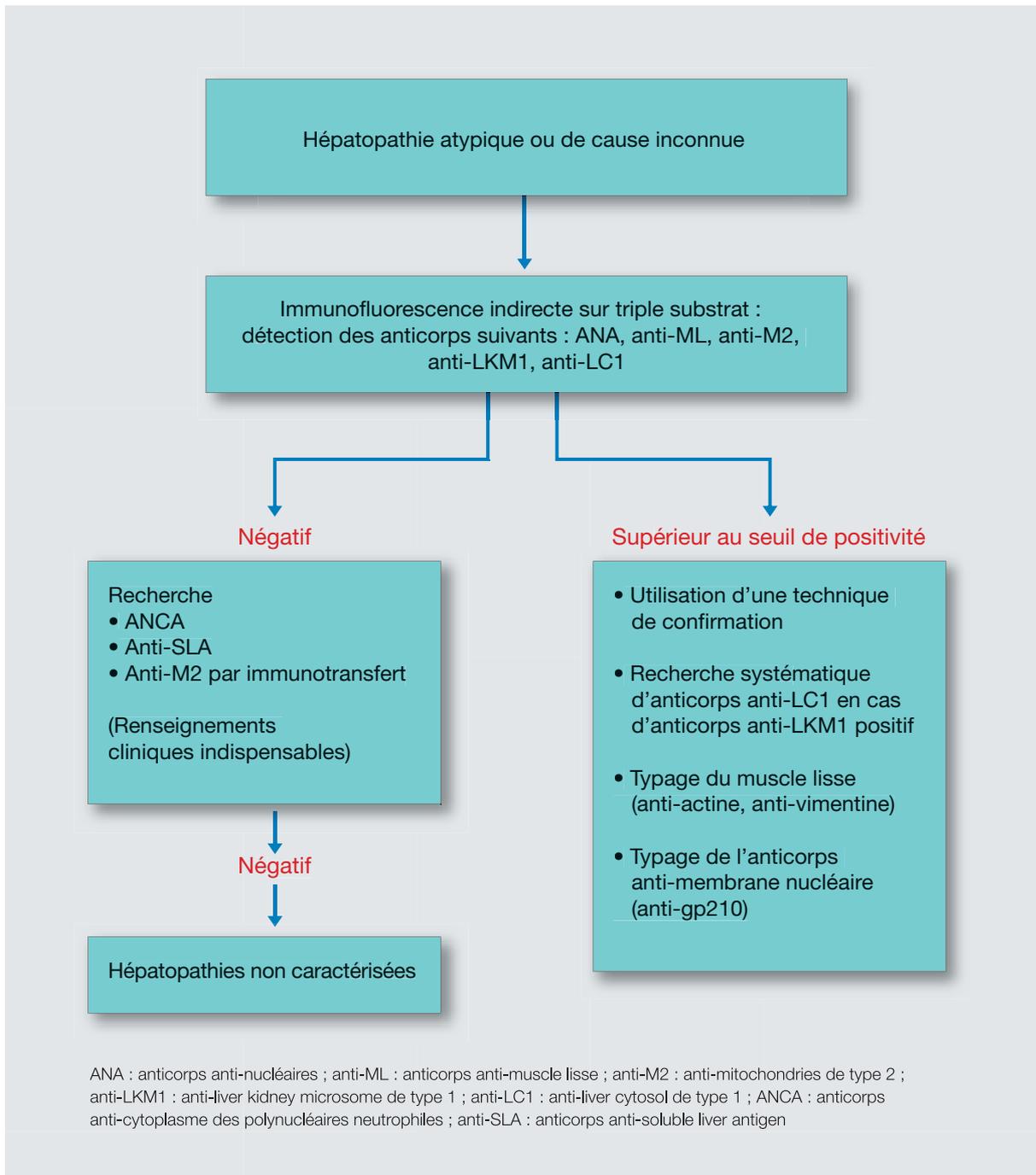
## Conclusion

---

L'immunofluorescence indirecte est la technique de première intention, encore irremplaçable pour la détection des anticorps anti-"tissus" non spécifiques d'organe. On devra y ajouter la détection des anticorps anti-SLA en cas de suspicion d'hépatite auto-immune. Les techniques de seconde intention se sont beaucoup développées, notamment avec l'extension de l'immunodot utilisé depuis plusieurs années pour la détection des anticorps anti-M2 et qui permet maintenant la détection de l'ensemble des marqueurs d'intérêt. Cependant, on ne connaît pas toujours, de façon précise, les antigènes déposés sur les dots qui peuvent être très différents et entraîner une grande disparité des résultats.

Ces auto-anticorps sont des éléments essentiels du diagnostic de cirrhose biliaire primitive et d'hépatite auto-immune, mais leur présence doit être interprétée en fonction du contexte clinique, des données biologiques ou histologiques, de la connaissance des sérologies virales et des prises médicamenteuses.

**Tableau IV : Arbre diagnostique de l'utilisation des auto-anticorps**



## Bibliographie

---

- 1- JOHANET C., BALLOT E. Auto-anticorps et maladies auto-immunes du foie. *Traité d'Encyclopédie Médico-Biologique*. Chapitre Immunologie, Elsevier, VI 013, 2003.
- 2- JOHANET C., BALLOT E. Hépatopathies auto-immunes. *Biotribune* 2004 ; 9 : 44-47.
- 3- WALKER J.G., DONIACH D., ROITT I.M., SHERLOCK S. Serological tests on diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1965 ; 1 : 827-831.
- 4- BOTTAZZO G.F., FLORIN-CHRISTENSEN A., FAIRFAX A. et al. Classification of smooth muscle autoantibodies detected by immunofluorescence. *J Clin Pathol* 1976 ; 29 : 403-410.
- 5- HOMBERG J.C., ABUAF N., BERNARD O., ISLAM S., ALVAREZ F., KHALIL S.H., POUPON R., DARNIS F., LEVY V.G., GRIPPON P. Chronic active hepatitis associated with anti-liver/kidney microsomes antibody type 1 : a second type of auto-immune hepatitis. *Hepatology* 1987 ; 7 : 1333-1339.
- 6- MARTINI E., ABUAF N., CAVALLI F., DURAND V., JOHANET C., HOMBERG J.C. Antibody to liver cytosol (anti-LC1) in patients with auto-immune chronic active hepatitis type 2. *Hepatology* 1988 ; 8 : 1662-1666.
- 7- JOHANET C., DUBEL L., CHAZOULLERES O. Auto-anticorps en hépatologie. *Path Biol* 1999 ; 47 : 997-1005.
- 8- MUSSET L. Les anticorps anti-nucléaires : méthodes de détection et interprétation. *Cahier de formation N°13, Autoimmunité et auto-anticorps, Bioformat* 1999 ; 39-72.
- 9- JOHNSON P.J., McFARLANE I.G. Meeting Report : International Autoimmune hepatitis Group. *Hepatology* 1993 ; 18 : 998-1005.
- 10- ALVAREZ F., BERG P.A., BIANCHI F.B., BIANCHI L., BURROUGHS A.K., CANCELO E.L., CHAPMAN R.W., COOKSLEY W.G., CZAJ A.J., DESMET V.J., DONALDSON P.T., EDDLESTON A.L., FAINBOIM L., HEATHCOTE J., HOMBERG J.C., HOOFNAGLE J.H., KAKUMU S., KRAWITT E.L., MACKAY I.R., MACSWEEN R.N., MADREY W.C., MANN M.P., McFARLANE I.G., MEYER Zum BUSCHENFELDE K.H., ZENIYA M.. International Autoimmune Hepatitis Group Report : review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999 ; 31 : 929-938.
- 11- VERGANI D., ALVAREZ F., BIANCHI F.B., CANCELO E.L., MACKAY I.R., MANN M.P., NISHIOKA M., PENNER E. International autoimmune hepatitis group. Liver autoimmune serology : a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the international Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol* 2004 ; 41 : 677-683.
- 12- CHRETIEN-LEPRINCE P., BALLOT E., ANDRE C., OLSSON N.O., FABIEN N., ESCANDE A., OKSMAN F., DUBUQUOI S., JEGO S., GOETZ J., CHEVAILLER A., SANMARCO M., HUMBEL R.L., JOHANET C. Diagnostic value of anti-f-actin antibodies in a French multicenter study. *Ann N Y Acad Sci* 2005 ; 1050 : 266-273.
- 13- HUMBEL R.L. Auto-anticorps et maladies auto-immunes. *Collection Option Bio, Elsevier* 1994 : 151-169.
- 14- LIDMAN K., BIBERFELD G., FAGRAEUS A., NORBERG R., TORSTENSSON R., UTTER G., CASSON L., LUCA J., LINBERG U. Antiactin specificity of human smooth muscle antibodies in chronic active hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1976 ; 24 : 266-272.
- 15- HUGUET S., SGHIRI R., BALLOT E., JOHANET C. Etude analytique d'un dot blot pour la détection des auto-anticorps anti-Jo-1, anti-M2, anti-ribosomes et anti-LKM. *Ann Biol Clin* 2004 ; 62 : 423-429.
- 16- YAMAMOTO A.M., JOHANET C., DUCLOS-VALLEE J.C., BUSTARRET F.A., ALVAREZ F., HOMBERG J.C., BACH J.F. A new approach to cytochrome CYP2D6 antibody detection in autoimmune hepatitis type-2 (AIH-2) and chronic hepatitis C virus (HCV) infection : a sensitive and quantitative radioligand assay. *Clin Exp Immunol* 1997 ; 108 : 396-400.

- 17- DE DUVE C., PRESSMAN B.C., GIANETTO R., WATTIAUX R., APPELMANS F. Tissus fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in ra-liver tissue. *Biochem J* 1955 ; 60 : 604-617.
- 18- SCHMIT P., GILSON G., HUMBEL R.L. Evaluation of an automated enzyme inhibition assay for the detection of antimitochondrial M2 autoantibodies. *Clin Chem* 1999 ; 45 : 2287-2289.
- 19- FABIEN N., MONIER J.C. Principes, avantages et inconvénients de la technique d'immunotransfert dans le cadre de la détection des auto-anticorps. *GEAI l'info, techniques utilisées en auto-immunité*. 2005 ; 15-20.
- 20- DUBEL L., FARGE O., BISMUTH H., SEBAGH M., HOMBERG J.C., JOHANET C. Kinetics of anti-M2 antibodies after liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1995 ; 23 : 674-680.
- 21- GRIMBERT S., JOHANET C., BENDJABALLAH F., HOMBERG J.C., POUPON R., BEAUGRAND M. Antimitochondrial antibodies in patients with chronic hepatitis C. *Liver* 1996 ; 16 : 161-165.
- 22- CZAJA A.J., SHUMS Z., BINDER W.L., LEWIS S.J., NELSON V.J., NORMAN G.L. Frequency and significance of antibodies to chromatin in autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2003 ; 48 : 1658-1664.
- 23- CZAJA A.J., SHUMS Z., NORMAN G.L. Nonstandard antibodies as prognostic markers in autoimmune hepatitis. *Autoimmunity* 2004 ; 37 : 195-201.
- 24- BANDIN O., COURVALIN J.C., POUPON R., DUBEL L., HOMBERG J.C., JOHANET C. Specificity and sensitivity of gp210 autoantibodies detected using an enzyme-linked immunosorbent assay and a synthetic polypeptide in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1996 ; 23 : 1020-1024.
- 25- GRÜBER R., FELDER E., PAPE G.R., HOCHTLEN-VOLLMAR W., RIETHMULLER G. Detection of autoantibodies against M2, LKM-1, and SLA in liver diseases by standardized uniform ELISA-technique. *J Clin Lab Anal* 1994 ; 8 : 284-292.
- 26- BALLOT E., HOMBERG J.C., JOHANET C. Antibodies to soluble liver antigen : an additional marker in type 1 autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2000 ; 33 : 208-215.
- 27- WIES I., BRUNNER S., HENNINGER J., HERKEL J., KANZLER S., MEYER zum BUSCHENFELDE K.H., LOHSE A.W. Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Lancet* 2000 ; 355 : 1510-1515.
- 28- MIYAKAWA H., KAWASHIMA Y., KITAZAWA E., KAWAGUCHI N., KATO T., KIKUCHI K., IMAI E., FUJIKAWA H., HASHIMOTO E., SCHLUMBERGER W. Low frequency of anti-SLA/LP autoantibody in Japanese adult patients with autoimmune liver diseases : analysis with recombinant antigen assay. *J Autoimmunity* 2003 ; 21 : 77-82.
- 29- VITTOZZI S., LAPIERRE P., DJILALI-SAIAH I., MARCEAU G., BELAND K., ALVAREZ F. Anti-soluble liver antigen (SLA) antibodies in chronic HCV infection. *Autoimmunity* 2004 ; 37 : 217-222.
- 30- TORRES-COLLADO A.X., CZAJA A.J., GELPI C. Anti-tRNP(ser)<sup>sec</sup>/SLA/LP autoantibodies. Comparative study using in-house ELISA with a recombinant 48.8kDa protein, immunoblot, and analysis of immunoprecipitated RNAs. *Liver International* 2005 ; 25 : 410-419.
- 31- GREGORIO G.V., McFARLANE B., BRACKEN P., VERGANI D., MIELI-VERGANI G. Organ and non-organ specific autoantibody titres and IgG levels as markers of disease activity : a longitudinal study in childhood autoimmune liver disease. *Autoimmunity* 2002 ; 35 : 515-519.
- 32- DUBEL L., FARGES O., JOHANET C., SEBAGH M., BISMUTH H. High incidence of antitissue antibodies in patients experiencing chronic liver allograft rejection. *Transplantation* 1998 ; 65 : 1072-1075.

# **Les cibles des marqueurs d'intérêt dans les hépatopathies auto-immunes**

*E. Ballot, S. Huguet, C. Johanet*

CHAPITRE V

# Bref aperçu des techniques d'identification des cibles des auto-anticorps

---

Un peu empirique initialement, la recherche des cibles des auto-anticorps a fait appel à l'analyse des données de l'immunofluorescence indirecte, donnant une indication sur l'appartenance de la cible à un organite donné. L'identification pouvait se faire en constatant la disparition, ou du moins l'atténuation, de la réaction d'immunofluorescence indirecte après absorption des sérums avec des molécules connues et purifiées d'organites cellulaires, molécules dont on pensait qu'elles pouvaient être l'antigène cible. L'immunotransfert après séparation par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE) des protéines des divers organites cellulaires obtenus par centrifugation ou ultracentrifugation pouvait aider à identifier des protéines candidates, en indiquant d'une part l'organite cellulaire en cause, et d'autre part la masse moléculaire de la protéine cible.

Une autre technique également empirique consistait à comparer les masses moléculaires et point isoélectrique (pI) de la protéine cible, tels que déterminés par immunotransfert avec ceux de protéines connues, ou avec la carte peptidique annotée de la cellule ou de l'organite.

Des techniques de microséquençage identifiant les acides aminés N-terminal et C-terminal ont également été entreprises, après immunoprécipitation et séparation par SDS-PAGE des complexes immuns formés sur support solide. Ce type d'identification a également été appliqué aux "spots" marqués par les sérums de malades sur membranes de séquençage préparées après électrophorèse bidimensionnelle.

De grandes avancées ont pu être réalisées grâce à l'apparition de la technologie de l'ADN recombinant et à une de ses applications, l'immunocriblage de banques d'expression d'ADN complémentaire (ADNc). Le clone immunoréactif est séquencé, donnant accès à la séquence protéique. Les mécanismes de régulation transcriptionnelle dans ces systèmes peuvent cependant différer des cellules *in vivo*. Les modifications post-traductionnelles peuvent aussi diverger, surtout si le vecteur d'expression est un procaryote.

Plus récemment, l'analyse sérologique du protéome a été appliquée à l'identification des auto-antigènes [1]. En résumé, des immunotransferts sont réalisés par électrophorèses bidimensionnelles à partir de protéines d'organites cellulaires. L'apparition de gradients immobilisés de pH a beaucoup contribué à rendre cette technique beaucoup plus fiable et reproductible. Les spots d'intérêts sont repérés sur le gel de polyacrylamide correspondant, en faisant correspondre les spots marqués par les sérums sur la membrane de nitrocellulose avec les spots colorés du gel. Ces spots sont alors prélevés du gel, et les protéines qu'ils renferment protéolysées. L'identification des protéines fait alors appel à deux approches :

- Comparaison de la carte des masses des fragments protéolytiques obtenus par spectrométrie de masse, à la carte peptidique massique de l'ensemble des protéines contenues dans une banque et digérées virtuellement par l'enzyme protéolytique utilisée.
- Recherche d'analogie de séquence. Dans ce cas, les peptides de la protéolyse sont fragmentés au niveau de leur liaison peptidique après collision avec des molécules gazeuses. La masse des peptides résultants est appréciée par spectrométrie, et la différence de masse entre deux peptides fragmentés consécutifs est alors la masse d'un acide aminé, donnant ainsi accès au nom de cet acide aminé. On obtient ainsi une courte séquence permettant l'identification dans les banques protéiques.

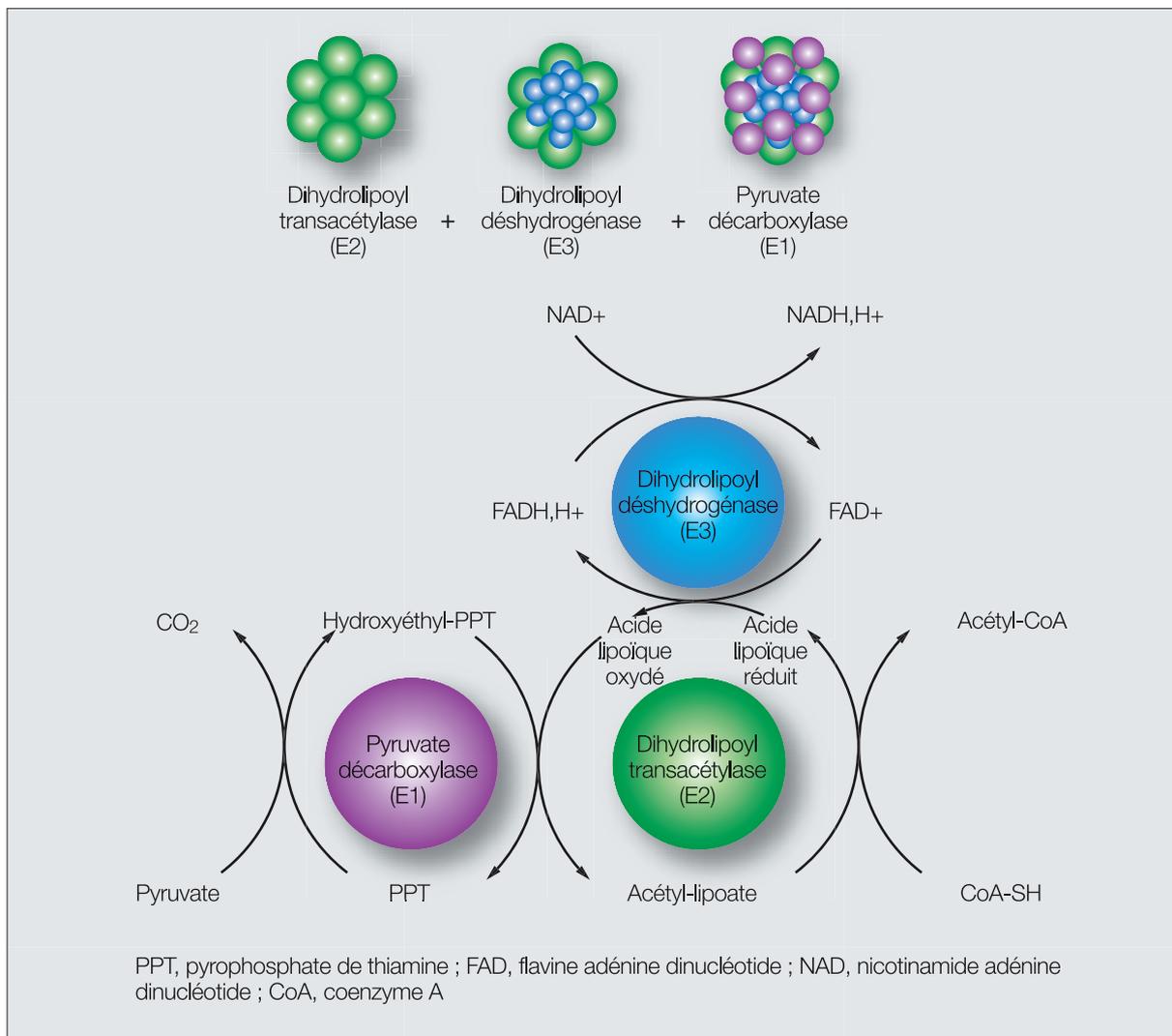
Ces procédés supposent néanmoins que les banques de données contiennent la protéine candidate et soient exactes.

## Cibles des anticorps anti-mitochondries de type 2

---

Les anticorps anti-mitochondries de type 2 (M2) sont spécifiques de la cirrhose biliaire primitive dont ils constituent le principal marqueur sérologique. Au cours de la dernière décennie, des expériences d'immunotransfert, de séquençage nucléotidique de clones immunoréactifs, d'expression de protéines mitochondriales recombinantes immunoréactives, d'immuno-absorption et d'immuno-inhibition des fonctions enzymatiques ont permis l'identification des auto-antigènes reconnus par les anticorps anti-M2. Les antigènes M2 regroupent un ensemble de molécules appartenant à la famille des 2-oxo-acide déshydrogénases localisées sur la membrane interne de la mitochondrie. Cette famille comprend la pyruvate déshydrogénase (PDH), la déshydrogénase des acides aminés à chaînes ramifiées (BCOADC pour branched chain 2-oxoacid dehydrogenase) et l'oxoglutarate déshydrogénase (OGDC). La PDH assure la décarboxylation oxydative du pyruvate en acétyl-CoA, régulant l'entrée dans le cycle de Krebs. La BCOADC intervient dans le catabolisme de la valine, de la leucine et de l'isoleucine, conduisant à la formation du succinyl-CoA. Enfin, l'OGDC catalyse la décarboxylation oxydative de l' $\alpha$ -cétoglutarate en succinyl-CoA. Il existe de nombreuses homologues structurales et fonctionnelles pour chaque type de sous-unités entre ces trois enzymes. Chaque complexe enzymatique est un multimère non covalent formé de nombreuses copies de sous-unités E1 à fonction décarboxylase, de sous-unités E3 à fonction lipoamide déshydrogénase, E1 et E3 s'assemblant autour d'un noyau central de sous-unités E2 à fonction dihydrolipoamide acétyltransférase (**Figure 1**). L'ensemble est associé à des kinases et phosphatases régulatrices. Les sous-unités E1 de la PDH et de la BCOADC comprennent chacune deux isoformes, E1 $\alpha$  et E1 $\beta$ . La sous-unité E2 comporte de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale un ou deux domaines lipoyl de liaison de l'acide lipoïque attaché à un résidu lysine, un domaine de liaison aux sous-unités E3 et/ou E1, puis un domaine catalytique assurant aussi la fixation aux autres sous-unités E2. Ces domaines sont reliés entre eux par des régions flexibles, riches en proline et alanine, qui confèrent une flexibilité conformationnelle au domaine de liaison de l'acide lipoïque. La sous-unité E2, par l'intermédiaire de ce bras flexible transfère le substrat attaché par une liaison thioester à l'acide lipoïque, entre les sous-unités E1 et E3 [2].

**Figure 1 : Structures-fonctions du complexe pyruvate déshydrogénase (PHD)**



Le complexe PDH comporte aussi des sous-unités E3BP, nécessaires pour accrocher la sous-unité E3 au cœur du complexe enzymatique, et qui comportent également un site de liaison à l'acide lipoïque.

Les anticorps anti-M2 reconnaissent les sous-unité E2 de la PDH, auto-antigène immunodominant reconnu par 95 % des sérums de cirrhose biliaire primitive, les sous-unités E2 de la BCOADC (50 %), de l'OGDC (50 à 70 %), ainsi que les sous-unités E1 $\alpha$  (40-60 %) et E1 $\beta$  (moins de 10 %) de la PDH et la sous-unité E3BP (90 %) [3] ([Tableau I](#)).

En utilisant des oligopeptides ou des protéines de fusion recombinantes, des épitopes ont été localisés au niveau des domaines lipoyls des sous-unités E2 des trois oxo-acides déshydrogénases. La réactivité majeure (sous-unité E2 de la PDH) est restreinte à la séquence 128-227 du domaine lipoyl contenant le site d'attachement de l'acide lipoïque à

**Tableau I : Composition biochimique et réactivité immunologique des complexes 2-oxo acide déshydrogénases**

Enzymes	Bandes reconnues sur immunotransfert	MM (kDa)	Fonctions	Cible antigénique des anticorps anti-M2 dans la CBP*
<b>PDH (complexe pyruvate déshydrogénase)</b>				
E1 $\alpha$ décarboxylase	D	41-45	Décarboxylation oxydative du pyruvate, cofacteur pyro-phosphate de thiamine (PPT)	41-66 %
E1 $\beta$ décarboxylase	E	36	Idem	1-7 %
E2 acétyl transférase	A	70-74	Transfert du groupe acétyl de la sous-unité E1 au coenzyme A	92-95 %
E3 dihydrolipoyl déshydrogénase		55	Régénère les ponts disulfures de la sous-unité E2 par oxydation de l'acide lipoïque, coenzyme NAD, FAD	Non
E3BP (E3 binding protein)	B	50-56	Lie E3 à la dihydrolipoamide acétyl transférase E2	92-95 %
<b>OGDC (complexe 2-oxoglutarate déshydrogénase)</b>				
E1 décarboxylase		110	Décarboxylation oxydative de l' $\alpha$ -cétoglutarate, cofacteur PPT	Non
E2 succinyl transférase	C	50-52	Transfert du groupe succinyl de la sous-unité E1 au coenzyme A	66 %
E3 dihydrolipoyl déshydrogénase		55	Régénère les ponts disulfures de la sous-unité E2 par oxydation de l'acide lipoïque, coenzyme NAD, FAD	Non
<b>BCOADC (complexe 2-oxoacide déshydrogénasique des acides aminés à chaînes ramifiées)</b>				
E1 $\alpha$ décarboxylase		46	Décarboxylation oxydative des acides $\alpha$ -cétoniques dérivés de la valine, leucine, isoleucine, cofacteur pyrophosphate de thiamine (PPT)	
E1 $\beta$ décarboxylase	A	38	idem	Non
E2 acétyl transférase		50-52	Transfert du groupe acyl de la sous-unité E1 au coenzyme A	54 %
E3 dihydrolipoyl déshydrogénase		55	Régénère les ponts disulfures de la sous-unité E2 par oxydation de l'acide lipoïque, coenzyme NAD, FAD	Non

\* CBP : Cirrhose biliaire primitive

un résidu lysine. Le domaine lipoyl interne de la PDH humaine est replié en barrique aplatie formée par deux feuillets  $\beta$  anti-parallèles, chacun contenant quatre brins. Il est suggéré que le brin  $\beta$ 41-48 et le coude  $\beta$  suivant, où le résidu lipoyl lysine est exposé à la surface de la protéine, forment l'épitope crucial [4]. L'acide lipoïque joue donc un rôle fondamental dans la structure épitopique des sous-unités E2. Il en est de même pour les sous-unités E3BP, où l'épitope immunodominant appartient seulement au domaine lipoyl [5].

Enfin, l'auto-épitope E1 $\alpha$  de la PDH est localisé au niveau d'une région contenant les sites de phosphorylation et de liaison du pyrophosphate de thiamine.

# Cibles des anticorps anti-nucléaires

---

## Cibles des anticorps anti-nucléaires dans les cirrhoses biliaires primitives

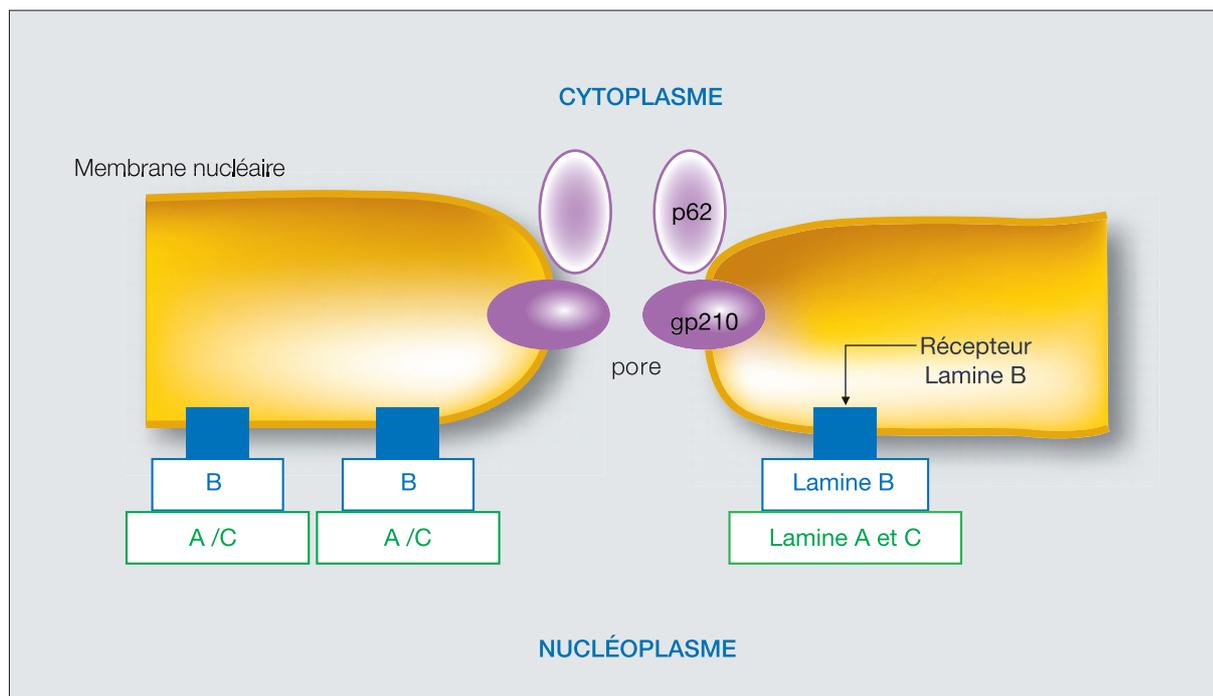
Deux anticorps anti-nucléaires sont spécifiques de la cirrhose biliaire primitive et donnent un aspect cerclé du noyau en immunofluorescence indirecte : les anticorps anti-gp210 et les anticorps anti-récepteur membranaire de la lamine B.

Les anticorps anti-gp210 reconnaissent une glycoprotéine de 210 kDa localisée à la jonction des membranes nucléaires internes et externes, en regard des pores nucléaires (Figure 2). Son extrémité N-terminale ainsi que 95 % de la molécule se situent dans la citerne délimitée par les membranes nucléaires internes et externes. Faisant suite à un seul domaine transmembranaire, une courte portion C-terminale localisée dans le cylindre du pore, porte l'épitope dans ses 15 derniers acides aminés [6, 7].

Les anticorps anti-récepteur membranaire de la lamine B reconnaissent une protéine intégrale de membrane nucléaire interne de 58 kDa qui lie la lamine B à la membrane nucléaire, permettant l'ancrage indirect de la chromatine à cette membrane nucléaire (Figure 2). Cette protéine présente une région N-terminale où se situe le site de liaison à la lamine B, ainsi que l'épitope dominant. Fait suite une région hydrophobe C-terminale avec huit domaines transmembranaires [8].

D'autres molécules nucléaires sont reconnues par les anticorps anti-nucléaires des malades avec une cirrhose biliaire primitive, en particulier la nucléoporine p62 (Figure 2), la protéine Sp100 de fonctions inconnues, ainsi que la protéine PML (promyelocytic leukemia) provenant du gène impliqué dans la translocation de la leucémie aiguë à promyélocytes. Les anticorps anti-nucléaires reconnaissant ces deux dernières protéines, responsables d'un aspect "dots nucléaires", ou grains multiples en immunofluorescence indirecte, ne sont pas spécifiques de la cirrhose biliaire primitive [9].

**Figure 2 : Structure de la membrane nucléaire et protéines-cibles d'auto-anticorps**  
(d'après Worman & Courvalin [6]).



## Cibles des anticorps anti-nucléaires dans les hépatites auto-immunes

Si la présence d'anticorps anti-nucléaires est rare dans les hépatites auto-immunes de type 2, leur positivité fait partie des critères diagnostiques des hépatites auto-immunes de type 1 où ils donnent des aspects de fluorescence variables du noyau (aspect surtout homogène et aspect moucheté). Contrairement aux connectivites, leurs cibles antigéniques précises dans cette maladie hépatique sont mal connues, hétérogènes et pour certaines controversées. L'ensemble des composants du noyau peut constituer une cible antigénique pour ces anticorps anti-nucléaires, mais aucune de ces cibles n'est spécifiquement reconnue par les sérums de malades ayant une hépatite auto-immune.

1. Les auto-anticorps dirigés contre des structures de la chromatine sont présents chez environ 50 % des patients ayant une hépatite auto-immune de type 1 avec anticorps anti-nucléaires, et sans connectivite patente associée [10, 11].
2. Les auto-anticorps dirigés contre des antigènes nucléaires solubles représentent 20 à 58 % des anticorps anti-nucléaires dans les hépatites auto-immunes de type 1 [11, 12]. La majorité de ces antigènes nucléaires solubles est liée à des ARN de petites masses

moléculaires, formant des ribonucléoprotéines. Récemment, ont été mis en évidence par analyse sérologique du protéome des auto-anticorps dirigés contre des membres de la famille des heterogeneous ribonucleoprotein (hnRNP), hnRNP A3 de 38 kDa, hnRNP B1 de 36 kDa, et hnRNP A2 de 34 kDa [13]. Ces protéines très basiques jouent un rôle important dans la biogénèse des ARN messagers (ARNm), notamment en participant à l'épissage des introns, ainsi que dans le transport de ces ARNm du noyau vers le cytoplasme.

3. Les anticorps dirigés contre les protéines de la membrane nucléaire sont présents dans 25 % des sérums de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 1 et possédant des anticorps anti-nucléaires. Ces auto-anticorps sont dirigés contre les lamines A, B et C, types de filament intermédiaire qui double la membrane nucléaire interne [6].

4. Les anticorps anti-cycline sont présents chez environ 10 à 20 % des patients ayant une hépatite auto-immune de type 1 avec anticorps anti-nucléaires [14].

5. Enfin, il existe des anticorps anti-nucléaires d'existence controversée, dirigés contre des protéines de la matrice nucléaire, réseau fibreux de protéines insolubles [15].

## **Cibles des anticorps anti-muscle lisse**

---

Les anticorps anti-muscle lisse sont détectables dans le sérum de patients atteints de diverses pathologies auto-immunes, néoplasiques ou infectieuses. Anticorps anti-muscle lisse est en fait un terme générique qui représente un ensemble d'auto-anticorps dont le point commun est de réagir avec diverses molécules du cytosquelette. Un bref rappel sur la structure du cytosquelette permettra de mieux appréhender l'éventail des principales cibles des anticorps anti-muscle lisse.

Le cytosquelette peut se définir comme un ensemble complexe de trois types principaux de filaments protéiques de taille différente, recouvrant l'ensemble du cytoplasme. Il s'agit des filaments d'actine, des filaments intermédiaires, et des microtubules. Le cytosquelette est une structure dynamique en continuelle réorganisation où chaque type de filament se constitue à partir de monomères protéiques différents.

## **Les microfilaments d'actine, cibles des anticorps anti-muscle lisse**

Les filaments d'actine, protéine la plus abondante de la cellule, se bâtissent à partir de monomères de 42 kDa, ou actine G, qui se polymérisent en filaments hélicoïdaux ou actine F. On les rencontre aussi bien dans les cellules musculaires que non musculaires, avec une organisation différente. De nombreuses protéines interviennent dans la polymérisation (actin related protein 2 et 3, profiline), la stabilisation des filaments (tropomoduline, capsZ), la dislocation des filaments entre eux (gelsoline). A côté de ces protéines assurant la construction et la cohésion du faisceau d'actine, d'autres protéines interviennent dans l'organisation des faisceaux d'actine entre eux, en faisceaux parallèles des microvillosités (liaison des polymères d'actine à la fimbrine), en réseau maillé sous-membranaire (filamine), en faisceaux contractiles (rôle entre autre de la myosine et de l' $\alpha$ -actinine).

La plupart de ces molécules sont décrites à des degrés divers comme cibles des anticorps anti-muscle lisse. Mais la place princeps revient à l'actine polymérisée F. En effet, une spécificité anti-actine F des anticorps anti-muscle lisse évoque fortement une hépatite auto-immune de type 1 [16]. Ces anticorps anti-actine reconnaissent des épitopes conformationnels. L'actine F est rarement rencontrée comme cible des anticorps anti-muscle lisse détectés dans les sérums de patients atteints de pathologies virales, médicamenteuses, ou de connectivites. Des anticorps dirigés contre d'autres protéines des microfilaments ont été décrits, mais ne sont en général pas spécifiques d'une maladie. Surtout, ils ne sont pas spécifiques de l'hépatite auto-immune. Ces principaux auto-anticorps sont décrits dans le [Tableau II](#). Seuls les anticorps anti-actine sont recherchés en pratique courante.

## **Les filaments intermédiaires, cibles des anticorps anti-muscle lisse**

Les filaments intermédiaires, de diamètre compris entre celui des filaments d'actine et des microtubules, forment un réseau dense qui s'étend du pourtour du noyau vers la membrane plasmique. Ils forment une classe d'une cinquantaine de molécules très hétérogènes, divisées en six familles, avec une expression tissulaire préférentielle pour

certaines. Seules sont intéressantes comme cible d'anticorps anti-muscle lisse les cytokératines, la desmine, les lamines qui soutiennent la membrane nucléaire et la vimentine (Tableau II) [10, 17, 18]. La spécificité anti-vimentine fait partie du typage des anticorps anti-muscle lisse sur cellules HEP-2. Les anticorps dirigés contre la vimentine ne sont cependant en rien spécifiques, puisque trouvés entre autres dans les infections virales, en particulier les hépatites A et B, les connectivites comme le lupus et la polyarthrite rhumatoïde, ainsi que dans la lymphadénopathie angioimmunoblastique. Les anticorps anti-lamines détectés dans les sérums de patients atteints de lupus, de sclérodémie, d'hépatite B ou  $\delta$  peuvent donner un aspect cerclé du noyau en immunofluorescence.

**Tableau II : Principales cibles des anticorps anti-muscle lisse (AML)**

Type de filament	Protéines cibles des AML	Pathologies
Filaments d'actine	Actine polymérisée F  Fimbrine Filamine Actinine Gelsoline Myosine Tropomyosine	Hépatite auto-immune de type 1 Cirrhose biliaire primitive : si taux élevé, soupçonner une forme mixte. Hépatites médicamenteuses, virales Lupus Connectivites variées Lupus, hépatite C, hépatite auto-immune Syndromes paranéoplasiques Lupus, myocardite auto-immune, cardiomyopathie Maladie de Behçet
Filaments intermédiaires	Vimentine Desmine Kératine  Lamine Neurofilament	Infections virales, parasitaires, connectivites Maladie coeliaque, myasthénie, polymyosite, Polyarthrite rhumatoïde, maladie de Crohn, psoriasis, fibrose pulmonaire idiopathique, hépatocarcinome, hépatite auto-immune de <i>novo</i> Hépatite virale, connectivite Lupus avec atteinte du système nerveux, diverses pathologies neurologiques.
Microtubules	Tubuline  MAP	Cirrhose alcoolique, thyroïdite auto-immune, diabète de type 1, diverses atteintes du système nerveux central et périphérique Hépatite auto-immune, cirrhose biliaire primitive, hépatite alcoolique, lupus à manifestation neurologique.

## **Les microtubules, cibles des anticorps anti-muscle lisse**

La troisième structure fibrillaire du muscle lisse, la plus grande quant à son diamètre, est particulièrement abondante dans les cellules nerveuses. Les microtubules sont des polymères cylindriques et creux, construits sur l'association d'hétérodimères de tubulines  $\alpha$ - $\beta$ , dont il existe pour chacune plusieurs isoformes. Les microtubules se polymérisent et se dépolymérisent en permanence. Une des extrémités croît rapidement tandis que l'autre est le plus souvent enchâssée dans un centrosome. Ces polymères sont stabilisés par leur association à des protéines MAP et des protéines tau.

Ces microtubules peuvent être la cible des anticorps anti-muscle lisse, en particulier dans les hépatites alcooliques. En dehors de la pathologie hépatique, des anticorps anti-tubulines sont détectés dans les sérums de malades présentant une mononucléose infectieuse, des maladies thyroïdiennes auto-immunes, un diabète de type 1, diverses atteintes du système nerveux central ou périphérique ([Tableau II](#)) [19]. Enfin, la présence d'anticorps anti-MAP a été observée chez des malades avec une hépatite auto-immune, une cirrhose biliaire primitive, une hépatite alcoolique, un lupus à manifestation neurologique [20]. Aucun de ces auto-anticorps n'est recherché en pratique courante.

## Cibles des anticorps anti-SLA

---

Plusieurs travaux s'accordent sur l'hétérogénéité des cibles des anticorps anti-SLA. Ces anticorps reconnaissent en effet plusieurs bandes entre 40 et 60 kDa sur immunotransfert avec, comme substrat antigénique, un surnageant d'ultracentrifugation à 100 000 g d'un homogénat de foie de rat ou la fraction soluble de la cellule. Un consensus existe cependant sur le fait que la majorité des sérums de malades avec une hépatite auto-immune de type 1 reconnaissent une cible de 50 kDa [21]. L'historique de l'identification de cette protéine de 50 kDa constitue un bon exemple de l'éventail des différentes techniques mises en œuvre pour identifier une cible d'auto-anticorps. Furent tout d'abord proposées les cytokératines 8 et 18, par analogie de masse moléculaire et de pH isoélectrique avec les protéines marquées sur immunotransfert. Cette réactivité disparaît lorsque les sérums de malades sont préalablement absorbés sur des cytokératines purifiées [21]. Il était néanmoins paradoxal que ces protéines du cytosquelette, exemple même de protéines insolubles, soient trouvées dans la fraction soluble de la cellule. Ces cibles ne furent pas confirmées. Par la suite, par immunocriblage d'une banque d'ADNc d'hépatocyte exprimée dans des cellules Jurkat, il fut identifié une protéine de 50 kDa appartenant à un complexe associé à un ARN de transfert (ARNt) codant pour la sélénocystéine, ou "UGA suppressor serin tRNA-protein complex, tRNA(Ser)Sec" [22]. En bref, dans un premier temps, une sérine est chargée sur un ARNt particulier, appelé tRNA (Sec). Cette sérine est ensuite transformée en sélénocystéine sous l'action de plusieurs enzymes, et de sélénium activé en phosphosélénate. La sélénocystéine est ensuite incorporée dans les sélénoprotéines en cours d'élongation sous l'action d'un facteur d'élongation particulier, et en réponse à un codon UGA dans une conformation particulière tige-boucle sur l'ARNm codant pour la sélénenzyme (le triplet UGA est normalement un codon stop). La fonction de la molécule SLA reste obscure, car elle ne partage aucune homologie de séquence avec des protéines de fonctions connues et déposées dans les banques de données. Une prédiction informatique lui attribue une activité sérine hydroxyméthyltransférase, suggérant que la molécule SLA serait impliquée dans la transformation de la sérine liée à l'ARNt en sélénoprotéine [23]. Une cartographie

épitopique a mis en évidence un épitope immunodominant entre les acides aminés 395-414, ainsi que deux autres épitopes sur des séquences adjacentes à l'épitope dominant, inconstamment reconnus par les sérums de malades [24].

Enfin, par approche protéomique, des isoformes de l' $\alpha$ -énolase sont rapportées comme étant le "SLA" de 50 kDa [25]. Ces identifications qui ne sont pas exclusives les unes des autres proviennent de résultats technologie-dépendants. La technique génomique se base sur l'expression de protéines à partir d'ADNc de foie exprimé dans des cellules tumorales non hépatocytaires, avec possiblement des régulations transcriptionnelles différentes des hépatocytes normaux. La technique protéomique permet quant à elle d'identifier des protéines à leur niveau d'expression cellulaire, avec une régulation transcriptionnelle et traductionnelle adéquate, et avec leurs modifications post-traductionnelles pouvant entrer dans la constitution des sites épitopiques. Mais, l'électrophorèse bidimensionnelle, préalable à l'analyse protéomique, ne permet pas la migration électrophorétique de toutes les protéines cellulaires.

Concernant d'autres molécules à activité "SLA", des sous-unités de la glutathion S-transférases de 25-27 kDa ont été proposées, par microséquençage après immunoprécipitation et immunotransfert bidimensionnel [26]. Ces résultats ne sont pas partagés par tous.

Par analyse sérologique du protéome, ont été rapportées des protéines "SLA" de 35 kDa et 58 kDa, respectivement la N hydroxyarylamine sulfotransférase et des isoformes de la catalase [25].

# Cibles des anticorps anti-LKM1

---

La localisation des anticorps anti-LKM1 a été précisée par immunomicroscopie électronique sur le versant cytosolique du réticulum endoplasmique lisse et rugueux des hépatocytes. Sur immunotransferts préparés avec des protéines solubilisées d'un culot d'ultracentrifugation à 100 000 g d'homogénat de foie ou de rein, ces auto-anticorps reconnaissent principalement une protéine de 50 kDa [27]. Une chromatographie d'affinité sur colonne d'immunoglobulines de malades, avec des microsomes solubilisés de foie humain a permis d'immunopurifier l'antigène "LKM1" et de révéler une identité de séquence N-terminale entre la protéine marquée sur immunotransfert à 50 kDa et le cytochrome P450II2D6 (CYP2D6) humain [28]. L'immunocriblage par des sérums avec anticorps anti-LKM1 d'une banque d'ADNc de foie de rat, contenue dans des phages  $\lambda$ GT11 et exprimés dans *Escherichia coli*, a permis de montrer que les cibles étaient, chez le rat, les CYP2D1 et CYP2D2 [29]. Enfin, des sérums de malades avec anticorps anti-LKM1 peuvent inhiber *in vitro* mais pas *in vivo* l'activité enzymatique du CYP2D6 [30].

Les cytochromes P450 jouent un rôle fondamental dans le métabolisme de nombreux composés endogènes (comme les acides gras, les prostaglandines, les hormones stéroïdiennes), ou exogènes, carcinogènes (hydrocarbures aromatiques ou polycycliques, nitrosamines, hydrazines, arylamines) ou des drogues (comme la débrisoquine, la nifédipine, la cyclosporine, les antidépresseurs tricycliques). Le cytochrome P450 transforme des radicaux RH en ROH. Des substances initialement insolubles en milieu aqueux et potentiellement dangereuses, comme les hydrocarbures, sont ainsi hydroxylées pour être éliminées.

Longs de 517 acides aminés, plusieurs épitopes linéaires sont décrits sur les CYP2D6, tous localisés en C-terminal au-delà du 193<sup>ème</sup> acide aminé. Plusieurs auteurs s'accordent sur deux épitopes majeurs, entre les acides aminés 193-212 et les acides aminés 257-269, régions variant de quelques acides aminés selon les auteurs. D'autres épitopes ont été décrits, couvrant les acides aminés 321-351, 373-389, 410-429, mais moins fréquemment reconnus par les sérums de malades [31, 32]. Les épitopes reconnus par les anticorps anti-LKM1 semblent différents entre hépatite

auto-immune de type 2 et hépatites virales C. Si la région 257-269 est reconnue par 62-85 % des hépatites auto-immunes de type 2, elle n'est cible que dans moins de 0-6 % des hépatites C. Par contre, la région 193-212 est reconnue par 70-93 % des hépatites auto-immunes de type 2 et 18-50 % des hépatites C [32, 33]. Des épitopes conformationnels existent également [34]. La séquence 316-337 serait d'une importance cruciale, car exposée à la surface de la molécule, et réagirait plus fréquemment et de façon significative avec les sérums de patients ayant une hépatite auto-immune de type 2 que chez les patients atteints d'hépatite C [35].

## Cibles des anticorps anti-LC1

---

Les anticorps anti-LC1 réagissent avec une protéine de 58-62 kDa sur immunotransfert avec comme substrat antigénique un surnageant à 100 000 g d'homogénat de foie de rat. Cette protéine est différente du SLA. Par immunocriblage d'une banque d'ADNc, un clone codant pour la formiminotransférase cyclodéaminase a été identifié [36]. Il s'agit d'une enzyme homo-octamérique, impliquée dans le catabolisme de l'histidine. Chaque monomère a la particularité d'être bifonctionnel, avec deux sites actifs distincts sur la même molécule. En N-terminal, se trouve le site dévolu à l'activité transférase d'un groupe formimino d'un acide formiminoglutamique vers une molécule de tétrahydrofolate. En C-terminal, se trouve le site transformant le formiminotétrahydrofolate, produit précédemment, en méthényle tétrahydrofolate et ammoniac.

Les épitopes reconnus par les sérums de malades sont multiples. Des épitopes linéaires sont localisés dans les 146 derniers acides aminés C-terminaux de la molécule humaine, en particulier les séquences 428-434 et 440-447, ce premier épitope étant exposé sur une boucle mobile de la molécule [37]. Certains auteurs insistent sur la prépondérance des épitopes conformationnels sur la molécule LC1, en particulier une séquence 395-528 reconnue par l'ensemble des sérums ayant des anticorps anti-LC1 [38]. Sur le LC1 de rat, les épitopes conformationnels seraient plutôt localisés du côté de la molécule à activité transférase [39].

Dans l'hépatocyte humain, cette enzyme existe sous forme libre dans le cytosol, et associée à la membrane de l'appareil de golgi par l'intermédiaire de filaments de vimentine [37]. Les deux formes sont reconnues par les anticorps anti-LC1 [40].

Enfin, un autre groupe a observé que l'arginosuccinate lyase, enzyme du métabolisme de l'urée, était l'antigène d'un arc de précipitation en double immunodiffusion d'Outchterlony avec les sérums de malades atteints d'hépatite auto-immune ou d'hépatite C [41].

## Bibliographie

---

1. BALLOT E., JOHANET C. Apport de l'analyse sérologique du protéome dans l'identification des autoantigènes. *GEAI l'info* 2005 ; 7S : 28-31.
2. BASSENDINE M.F., JONES D.E.J., YEAMAN S.J. Biochemistry and autoimmune response to the 2-oxoacid dehydrogenase complexes in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 1997 ; 17 : 49-60.
3. STRASSBURG C.P., JAECKEL E., MANNS M.P. Anti-mitochondrial antibodies and other immunological tests in primary biliary cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999 ; 11 : 595-601.
4. HOWARD M.J., FULLER C., BROADHURST R.W., PERHAM R.N., TANG J.G., QUINN J., DIAMOND A.G., YEAMAN S.J. Three-dimensional structure of the major autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1998 ; 115 : 139-146.
5. DUBEL L., TANAKA A., LEUNG P.S.C., VAN DE WATER J., COPPEL R., ROCHE T., JOHANET C., MOTO-KAWA Y., ANSARI A., GERSHWIN M.E. Autoepitope mapping and reactivity of autoantibodies to the dihydrolipoamide dehydrogenase-binding protein (E3BP) and the glycin cleavage proteins in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1999 ; 29 : 1013-1018.
6. WORMAN H.J., COURVALIN J.C. Autoantibodies against nuclear envelope proteins in liver disease. *Hepatology* 1991 ; 14 : 1269-1279.
7. NICKOWITZ R.E., WORMAN H.J. Autoantibodies from patients with primary biliary cirrhosis recognize a restricted region within the cytoplasmic tail of nuclear pore membrane glycoprotein gp210. *J Exp Med* 1993 ; 178 : 2237-2242.
8. COURVALIN J.C., LASSOUED K., WORMAN H.J., BLOBEL G. Identification and characterization of autoantibodies against the nuclear envelope lamin receptor from patients with primary biliary cirrhosis. *J Exp Med* 1990 ; 172 : 961-967.
9. JOHANET C., DUBEL L., CHAZOUILLERES O. Auto-anticorps en hépatologie. *Path Biol* 1999 ; 47 : 997-1005.
10. LI L., CHEN M., HUANG D., NISHIOKA M. Frequency and significance of antibodies to chromatin in type 1 autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2000 ; 15 : 1176-1182.
11. CHEN M., SHIRAI M., CZAJA A., KUROKOHCHI K., ARICHI T., ARIMA K., KODAMA T., NISHIOKA M. Characterization of anti-histone antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998 ; 13 : 483-489.
12. GREGORIO G.V., DAVIES E.T., MIELI-VERGANI G., VERGANI D. Significance of extractable nuclear antigens in childhood autoimmune liver disease. *Clin Exp Immunol* 1995 ; 102 : 308-313.
13. HUGUET S., LABAS V., DUCLOS-VALLEE J.C., BRUNEEL A., VINH J., SAMUEL D., JOHANET C., BALLOT E. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 identified as an autoantigen in autoimmune hepatitis by proteome analysis. *Proteomics* 2004 ; 4 : 1341-1345.
14. STRASSBURG C., ALEX B., ZINDY F., GERKEN G., LUTTIG B., MEYER ZUM BUSCHENFLDE K.H., BRECHOT C. MANNS M., Identification of cyclin A as a molecular target of antinuclear antibodies in hepatic and non hepatic autoimmune diseases. *J Hepatol* 1996 ; 25 : 859-866.
15. PENNER E., KINDAS-MUGGE I., HITCHMAN E., SAUERMAN G. Nuclear antigens recognized by antibodies present in liver disease sera. *Clin Exp Immunol* 1986 ; 63 : 428-433.
16. CHRETIEN-LEPRINCE P., BALLOT E., ANDRE C., OLSSON N.O., FABIEN N., ESCANDE A., OKSMAN F., DUBUQUOI S., JEGO S., GOETZ J., CHEVAILLER A., SANMARCO M., HUMBEL R.L., JOHANET C.

Diagnostic value of anti-F-actin antibodies in a French multicenter study. *Ann N Y Acad Sci* 2005 ;1050 : 266-273.

17. DIGHIERO G., LYMBERI P., MONOT C., ABUAF N. Sera with high levels of anti-smooth muscle and anti-mitochondrial antibodies frequently bind to cytoskeleton proteins. *Clin Exp Immunol* 1990 ; 82 : 52-56.

18. GIRARD D., SENECALE J.L. Anti-microfilament IgG antibodies in normal adults and in patients with autoimmune diseases: immunofluorescence and immunoblotting analysis of 201 subjects reveals polyreactivity with microfilament-associated proteins. *Clin Immunol Immunopathol* 1995 ;74 : 193-201.

19. TOH B.H. Anti-cytoskeletal autoantibodies: diagnostic significance for liver diseases, infections and systemic autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991 ; 11 : 119-125.

20. KOMATSU M., GOTO M., YAMAMOTO A., TOYOSHIMA I., MASAMUNE O.A. New autoantibody, anti-210kDa microtubule associated protein antibody, detected in the serum of patients with various liver diseases and SLE. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1990 ; 87 : 2451-2456.

21. WACHTER B., KYRIATSOULIS A., LOHSE A.W., GERKEN G., MEYER ZUM BUSCHENFELDE K.H., MANNS M. Characterization of liver cytochrome P450 as a major target antigen of anti-SLA antibodies. *J Hepatol* 1990 ;11 : 232-239.

22. WIES I., BRUNNER S., HENNINGER J., HERKEL J., KANZLER S., MEYER ZUM BUSCHENFELDE K.H., LOHSE A.W. Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Lancet* 2000 ; 355 : 1510-1515.

23. KERNEBECK T., LOHSE A.W., GROTZINGER J. A bioinformatical approach suggests the function of the autoimmune hepatitis target antigen soluble liver antigen/liver pancreas. *Hepatology* 2001 ; 34 : 230-233.

24. HERKEL J., HEIDRICH B., NIERAAD N., WIES I., ROTHER M., LOHSE A.W. Fine specificity of autoantibodies to soluble liver antigen and liver/pancreas. *Hepatology* 2002 ; 35 : 403-408.

25. BALLOT E., BRUNEEL A., LABAS V., JOHANET C. Identification of rat targets of anti-soluble liver antigen autoantibodies by serologic proteome analysis. *Clin Chem* 2003 ; 49 : 634-643.

26. WESIERSKA-GADEK J., LINDNER H., HITCHMAN E., SARG B., PENNER E. Anti-SLA seropositive autoimmune hepatitis sera recognize distinct subunits of glutathione S-transferase: high prevalence of the Ya autoantigen. *Cell Mol Biol* 2002 ; 48 : 301-307.

27. ALVAREZ F., BERNARD O., HOMBERG J.C., KREIBICH G. Anti-liver-kidney microsome antibody recognizes a 50,000 molecular weight protein of the endoplasmic reticulum. *J Exp Med* 1985 ;161 : 1231-1236.

28. ZANGER U.M., HAURI H.P., LOEPER J., HOMBERG J.C., MEYER U.A., Antibodies against human cytochrome P-450db1 in autoimmune hepatitis type II. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988 ; 85 : 8256-8260.

29. GUEGUEN M., MEUNIER-ROTIVAL M., BERNARD O., ALVAREZ F. Anti-liver kidney microsome antibody recognizes a cytochrome P450 from the IID subfamily. *J Exp Med* 1988 ; 168 : 801-806.

30. MANNS M., ZANGER U., GERKEN G., SULLIVAN K.F., MEYER ZUM BUSCHENFELDE K.H., MEYER U.A., EICHELBAUM M. Patients with type II autoimmune hepatitis express functionally intact cytochrome P-450 db1 that is inhibited by LKM-1 autoantibodies in vitro but not in vivo. *Hepatology* 1990 ; 12 : 127-132.

31. YAMAMOTO A.M., CRESTEIL D., BONIFACE O., CLERC F.F., ALVAREZ F.N Identification and analysis of cytochrome P450IID6 antigenic sites recognized by anti-liver-kidney microsome type-1 antibodies (LKM1). *Eur J. Immunol* 1993 ; 23 : 1105-1111.

32. KERKAR N., CHOUDHURI K., MA Y., MAHMOUD A., BOGDANOS D.P., MURATORI L., BIANCHI F., WILLIAMS R., MIELI-VERGANI G., VERGANI D. Cytochrome P4502D6(193-212) : a new immunodominant epitope and target of virus/self cross-reactivity in liver kidney microsomal autoantibody type 1-positive liver disease. *J Immunol* 2003 ;170 : 1481-1489.

33. YAMAMOTO A.M., CRESTEIL D., HOMBERG J.C., ALVAREZ F. Characterization of anti-liver-kidney microsome antibody (anti-LKM1) from hepatitis C virus-positive and -negative sera. *Gastroenterology* 1993 ; 104 : 1762-1767.
34. DUCLOS-VALLEE J.C., HAJOUÏ O., YAMAMOTO A.M., JACZ-AIGRAIN E., ALVAREZ F. Conformational epitopes on CYP2D6 are recognized by liver/kidney microsomal antibodies. *Gastroenterology* 1995 ; 108 : 470-476.
35. MA Y., THOMAS M.G., OKAMOTO M., BOGDANOS D.P., NAGL S., KERKAR N., LOPES A.R., MURATORI L., LENZI M., BIANCHI F.B., MIELI-VERGANI G., VERGANI D. Key residues of a major cytochrome P4502D6 epitope are located on the surface of the molecule. *J Immunol* 2002 ;169 : 277-285.
36. LAPIERRE P., HAJOUÏ O., HOMBERG J.C., ALVAREZ F. Formiminotransferase cyclodeaminase is an organ-specific autoantigen recognized by sera of patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1999 ; 116 : 643-649.
37. MAO Y., VYAS N.K., VYAS M.N., CHEN D.H., LUDTKE S.J., CHIU W., QUIOCHO F.A. Structure of the bifunctional and Golgi-associated formiminotransferase cyclodeaminase octamer. *EMBO J* 2004 ; 23 : 2963-2971.
38. LAPIERRE P., JOHANET C., ALVAREZ F. Characterization of the B cell response of patients with anti-liver cytosol autoantibodies in type 2 autoimmune hepatitis. *Eur J Immunol* 2003 ; 33 : 1869-1878.
39. MURATORI L., SZTUL E., MURATORI P., GAO Y., RIPALTI A., PONTI C., LENZI M., LANDINI M.P., BIANCHI F.B. Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune liver cytosol antibody type 1. *Hepatology* 2001 ; 34 : 494-501.
40. RENOUS R., LAPIERRE P., DJILALI-SAIAH I., VITTOZZI S., ALVAREZ F. Characterization of the antigenicity of the formiminotransferase-cyclodeaminase in type 2 autoimmune hepatitis. *Exp Cell Res* 2004 ; 292 : 332-341.
41. PELLI N., FENSOM A.H., SLADE C., BOA F., MIELI-VERGANI G., VERGANI D. Argininosuccinate lyase: a new autoantigen in liver disease. *Clin Exp Immunol* 1998 ; 114 : 455-461.

**Mécanismes  
physiopathologiques  
des maladies  
auto-immunes du foie**

*B.N. Pham*

CHAPITRE VI

# Introduction

---

Sous le terme de maladies auto-immunes du foie sont regroupées des entités aussi différentes que l'hépatite auto-immune, la cirrhose biliaire primitive ou la cholangite sclérosante primitive. Ces maladies ont en commun d'être des maladies peu fréquentes, multifactorielles (facteurs génétiques, environnementaux, etc...), et d'étiologie inconnue. Les mécanismes physiopathologiques qui les sous-tendent commencent à être de mieux en mieux connus. Seules l'hépatite auto-immune et la cirrhose biliaire primitive seront abordées dans ce chapitre.

## L'hépatite auto-immune

---

L'hépatite auto-immune est une maladie inflammatoire chronique du foie, avec destruction des hépatocytes par un processus auto-immun. L'hépatite auto-immune est caractérisée sur le plan histologique par la présence d'infiltrats denses de cellules mononucléées au niveau péri-portal. Sur le plan biologique, il existe des auto-anticorps particuliers, une augmentation des transaminases, et une hyper-gammaglobulinémie liée à une augmentation polyclonale des IgG. Le diagnostic d'hépatite auto-immune est posé après exclusion préalable des autres causes virales ou génétiques d'hépatite chronique. La réponse au traitement immunosuppresseur est un argument supplémentaire en faveur du diagnostic [1].

Marqueurs biologiques de l'hépatite auto-immune, les auto-anticorps sont à la base d'une classification de la maladie en deux types. L'hépatite auto-immune de type 1 est associée à la présence d'anticorps anti-muscle lisse de spécificité anti-actine et/ou d'anticorps anti-nucléaires. L'hépatite auto-immune de type 2 est associée à la présence d'anticorps anti-Liver Kidney Microsome de type 1 (Ac anti-LKM1) et/ou d'anticorps anti-liver cytosol de type 1 (Ac anti-LC1). L'ancienne hépatite auto-immune de type 3 (anticorps anti-soluble liver antigen ou Ac anti-SLA) a été reclassée en hépatite auto-immune de type 1.

## **Facteurs déclenchants**

Plusieurs éléments ont été incriminés comme pouvant déclencher une hépatite auto-immune : virus, tels que le virus de l'hépatite A, le virus de l'hépatite B, le virus de l'hépatite C, ou encore le virus de la rougeole ; médicaments tels que la nitrofurantoïne ou la minocycline. Le mécanisme serait un phénomène de mimétisme moléculaire. Les agents incriminés auraient des déterminants antigéniques (épitopes) dont la "ressemblance" avec des antigènes du soi induirait une rupture de tolérance du soi, d'où déclenchement d'une réponse immunitaire auto-immune. Cependant, si le phénomène de mimétisme moléculaire est souvent proposé comme mécanisme initiateur de nombreuses maladies auto-immunes, il n'existe à ce jour aucune étude montrant un lien entre mimétisme moléculaire et hépatite auto-immune chez l'Homme. Des travaux s'appuyant sur des modèles animaux sous-tendant cette hypothèse restent à réaliser.

## **Physiopathologie**

Les maladies auto-immunes sont des affections où les lésions des organes cibles résultent du déclenchement d'une réponse immunitaire dirigée contre des auto-antigènes. Les lésions tissulaires sont en partie liées à des mécanismes lésionnels identiques à ceux mis en jeu dans les réactions immunitaires dirigées contre les antigènes étrangers, les auto-anticorps représentant une potentielle composante supplémentaire. Seront donc successivement discutés les différents protagonistes d'une réponse immunitaire.

## **Les auto-antigènes**

La recherche d'auto-antigènes présentés par des molécules HLA à la surface des hépatocytes, induisant une réaction immunitaire de type synthèse d'auto-anticorps et infiltrat lymphocytaire T, a fait l'objet de nombreux travaux. Deux types d'auto-antigènes ont été incriminés. Le récepteur de l'asialoglycoprotéine serait l'auto-antigène cible de l'hépatite auto-immune de type 1, alors que le cytochrome P450IID6 (CYP2D6) serait l'auto-antigène cible de l'hépatite auto-immune de type 2.

Le récepteur de l'asialoglycoprotéine est une protéine de membrane, présente uniquement à la surface des hépatocytes. Sachant que la piecemeal necrosis est un marqueur de sévérité de l'activité de l'hépatite auto-immune, l'expression particulièrement élevée de ce récepteur au niveau des hépatocytes péri-portaux est un argument pour faire du récepteur de l'asialoglycoprotéine un auto-antigène cible de choix. Ce d'autant que chez la plupart des patients atteints d'hépatite auto-immune, on détecte des anticorps anti-récepteur de l'asialoglycoprotéine dont le titre varierait avec l'activité de la maladie [2]. Cependant, ces auto-anticorps sont aussi présents chez certains malades ayant une hépatite virale ou d'autres maladies du foie, mais à titre faible.

De nombreuses études se sont intéressées au cytochrome P450IID6, cible des anticorps anti-LKM1 (voir chapitre correspondant). Plusieurs épitopes linéaires ou conformationnels reconnus par ces auto-anticorps ont été décrits. D'autres enzymes cytosoliques telles que la glutathion-S-transférase, la formimino-transférase cyclodéaminase, l'arginosuccinate lyase, ont été proposées comme auto-antigènes cibles. Cependant, le rôle exact de ces auto-antigènes dans la réaction immunitaire reste obscur.

## **La présentation de l'antigène**

La présentation de l'antigène aux lymphocytes T est conditionnée par la nature des molécules HLA de classe I ou de classe II. Les molécules HLA de classe I présentent aux lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques des peptides antigéniques dérivés de protéines endogènes synthétisées par la cellule (protéines du soi), ou des protéines provenant de virus ou de bactéries à développement intra-cellulaire. Les molécules HLA de classe II présentent aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup> des peptides antigéniques provenant soit de protéines exogènes, telles que les protéines de bactéries à développement extra-cellulaire, soit de protéines membranaires ou sécrétées. Dans la présentation de l'antigène par les molécules HLA de classe II, les peptides qui se logent dans le sillon de présentation de la molécule HLA sont d'environ 10 acides aminés. L'alignement du peptide dans le sillon dépend de la structure de la chaîne  $\beta$  de la molécule HLA de classe II. Cette chaîne  $\beta$  contient des résidus acides aminés polymorphiques qui se

situent au niveau de trois régions hypervariables bordant le sillon de présentation. La région hypervariable 3 (HVR3) est localisée sur l'hélice  $\beta$  de DR $\beta$ , et influe sur l'interaction peptidique et l'activation lymphocytaire. Les séquences en acides aminés qui agissent sur les interactions peptide, HVR3, et lymphocyte T sont génétiquement déterminées. On connaît depuis longtemps l'existence d'associations entre certains allèles HLA de classe II et certaines maladies auto-immunes. Actuellement, la démonstration d'une association HLA et maladie est un argument en faveur d'un mécanisme immunopathologique faisant intervenir la présentation de l'antigène aux lymphocytes T.

- **Les molécules HLA de classe I**

Les données concernant l'expression des molécules HLA de classe I au niveau du tissu hépatique sont parfois contradictoires (différence de spécificité des anticorps monoclonaux choisis et différence de sensibilité des techniques utilisées). Cependant, il semble admis que les hépatocytes d'un foie normal expriment bien les molécules HLA de classe I à leur membrane.

- **Les molécules HLA de classe II**

L'expression des molécules HLA de classe II est normalement restreinte aux cellules dites présentatrices d'antigène (cellules dendritiques, monocytes, macrophages, lymphocytes B et lymphocytes T activés). Plusieurs études ont montré qu'il existait une expression *de novo* des molécules HLA de classe II à la surface des hépatocytes chez les patients ayant une hépatite auto-immune [3]. Cette expression aberrante des molécules HLA de classe II à la surface des hépatocytes, qui normalement n'en expriment pas, pourrait contribuer à la pathogénie de la maladie. En effet, l'expression aberrante de molécules HLA de classe II pourrait conduire à la présentation d'un auto-antigène à la surface des hépatocytes et donc, l'activation de lymphocytes T CD4<sup>+</sup>.

- **Les prédispositions génétiques**

Depuis longtemps, on sait que l'hépatite auto-immune est associée à des facteurs génétiques. L'hépatite auto-immune de type 1 est associée à HLA-DR3 chez les patients caucasiens. En l'absence d'HLA-DR3, il existe une association avec HLA-DR4.

La maladie associée à HLA-DR3 serait de survenue précoce, de forme sévère telle qu'observée chez les enfants et les femmes jeunes. La maladie associée à HLA-DR4 se rencontre chez les adultes, serait de forme modérée avec une augmentation de l'incidence des manifestations extra-hépatiques et répondrait bien au traitement par corticoïdes. De façon plus précise, plusieurs allèles de susceptibilité ont été décrits [4]. Les phénotypes *DRB1\*0301* et *DRB1\*0401* ont été identifiés chez des patients d'Europe du Nord. Ces allèles codent pour un même motif de six acides aminés (LLEQKR), situé en position 67-72 de la chaîne DR $\beta$  du sillon de présentation de la molécule HLA de classe II. Le résidu lysine, présent en position 71 de l'hélice  $\alpha$  de la chaîne DR $\beta$ , serait le résidu critique de l'interaction peptide-molécule HLA (Figure 1). Chargé positivement et situé sur le bord du sillon, ce résidu lysine affecterait la configuration stérique du complexe HLA-peptide, et influencerait sur l'activation lymphocytaire. D'autres allèles de susceptibilité, *DRB1\*0405* et *DRB1\*0404*, ont été décrits chez des patients japonais, argentins, brésiliens et mexicains. Ces allèles codent pour un résidu arginine au lieu d'un résidu lysine en position 71, mais au sein de la même séquence LLEQ-R que celle codée par *DRB1\*0301* et *DRB1\*0401*.

Chez les patients d'Europe du Nord, il a été rapporté que l'allèle *DRB1\*1501* serait protecteur contre le risque d'hépatite auto-immune de type 1. Cet allèle code pour un résidu alanine qui substitue ainsi le résidu lysine. Le remplacement d'un résidu polaire très chargé par un résidu apolaire neutre pourrait changer la présentation de l'antigène aux lymphocytes T et serait une explication au fait que l'allèle *DRB1\*1501* soit protecteur contre le risque d'hépatite auto-immune de type 1.

Il existe peu d'études concernant l'hépatite auto-immune de type 2. HLA-DR3 ainsi que HLA-B14 et HLA-DQ2 ont été rapportés comme étant associés à l'hépatite auto-immune de type 2.

## **Le complexe auto-antigène/HLA de classe II**

L'interaction peptide-molécule HLA de classe II met en jeu des points d'ancrage en position P1, P4, P6 et P9 du peptide. Les allèles de susceptibilité pour l'hépatite auto-immune de type 1 qui codent pour un résidu lysine ou arginine en position DR $\beta$ 71

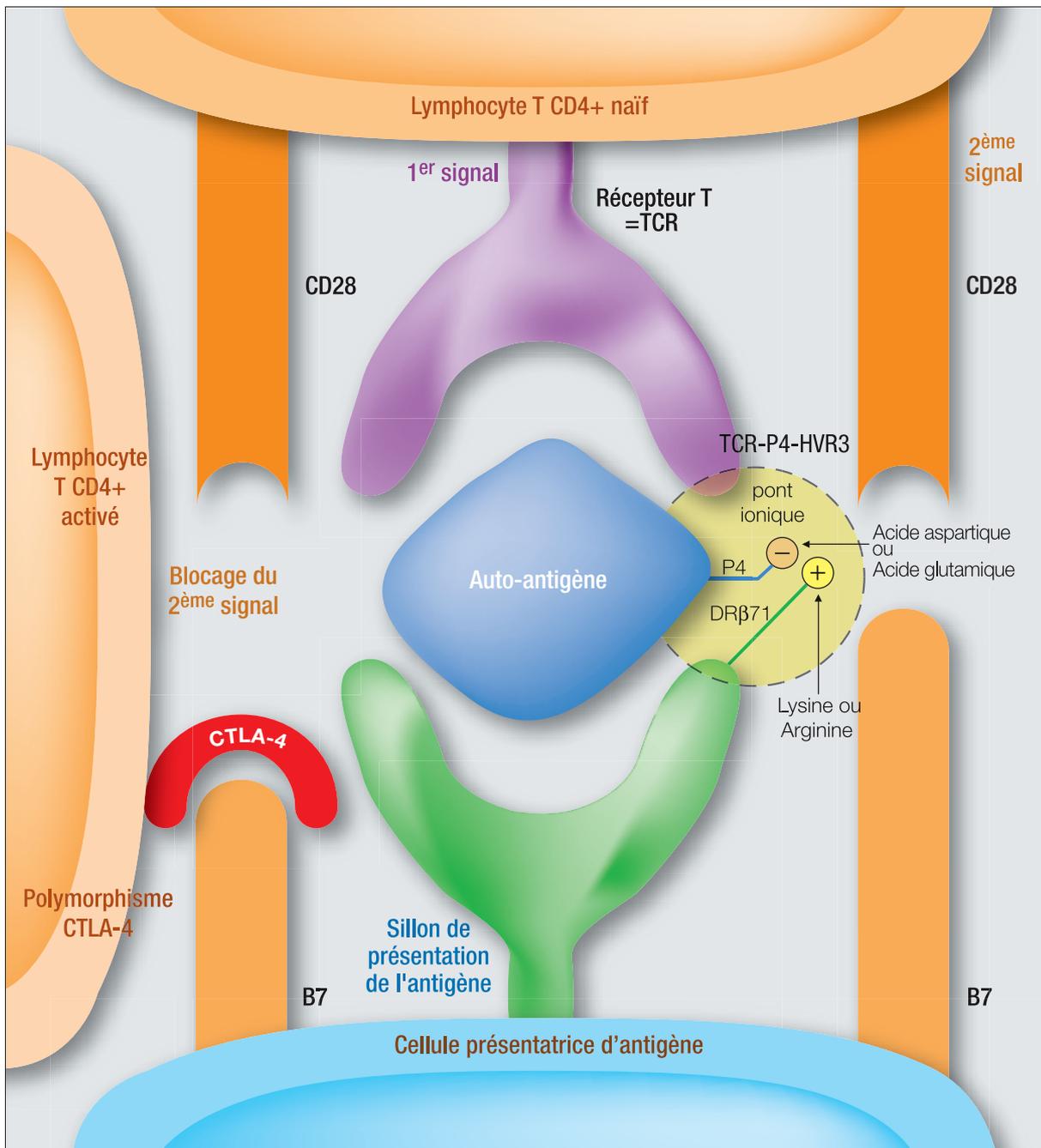
«imposent» au peptide susceptible de se loger dans le sillon de présentation d'avoir des résidus chargés négativement en position P4. La présence d'un acide aminé chargé positivement (lysine ou arginine) en position DRβ71 n'est compatible qu'avec un peptide ayant un acide aminé chargé négativement (acide aspartique ou acide glutamique) en position P4 (**Figure 1**). L'interaction est de type force ionique. Ainsi, la nature électrostatique de l'interaction peptide (position P4) – HLA (DRβ71 de la région HVR3) serait un élément déterminant de structure de l'auto-antigène cible de l'hépatite auto-immune de type 1.

La densité des complexes peptide-HLA présents à la surface des cellules présentatrices d'antigène, la capacité des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> à reconnaître plusieurs peptides présentés par un même allèle HLA, et la possibilité qu'un même peptide soit présenté par différentes molécules HLA-DR sont autant d'éléments pouvant jouer sur l'importance de la réponse immunitaire, qui expliqueraient que les allèles HLA-DR soient non seulement des gènes de susceptibilité, mais aussi des gènes de sévérité de l'hépatite auto-immune.

## **L'activation lymphocytaire T**

L'activation des lymphocytes T naïfs par l'antigène met en jeu deux signaux. Le premier signal est lié à la reconnaissance peptide-HLA par le complexe récepteur T-CD3. Le second signal, appelé signal de co-stimulation, met en jeu les molécules B7 à la surface des cellules présentatrices d'antigène, et leur ligand spécifique, la molécule CD28, à la surface des lymphocytes T. La molécule CTLA-4, de nature analogue à CD28, est un autre ligand des molécules B7 exprimé à la surface des lymphocytes T activés.

Dans l'hépatite auto-immune de type 1, il a été décrit un polymorphisme du gène CTLA-4 pouvant affecter la fonction immunomodulatrice de la molécule [4]. La substitution d'une adénine par une guanine en position 29 du gène CTLA-4 a pour conséquence la substitution d'un résidu alanine par un résidu thréonine qui pourrait avoir des conséquences fonctionnelles au niveau de la protéine.



**Figure 1 :** Mécanismes de présentation d'un auto-antigène et activation lymphocytaire T CD4<sup>+</sup> (d'après A.J. CZAJA [4]). L'auto-antigène est orienté de façon optimale dans le sillon de présentation de la molécule HLA DR par interaction de type force ionique entre l'acide aminé en position P4 du peptide antigénique chargé négativement (acide aspartique ou acide glutamique) et l'acide aminé en position DRβ71 de HVR3 chargé positivement (lysine ou arginine). La reconnaissance du complexe peptide/HLA DR par le récepteur T d'un lymphocyte T CD4<sup>+</sup> naïf induit un premier signal d'activation. Le second signal d'activation du lymphocyte T CD4<sup>+</sup> nécessite l'interaction entre CD28, exprimé par le lymphocyte T CD4<sup>+</sup>, et la molécule B7, exprimée par la cellule présentatrice d'antigène. Ce second signal peut être bloqué par CTLA-4 exprimé par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> activés, par compétition entre CTLA-4 et CD28 pour interagir avec B7. L'existence d'un polymorphisme du gène CTLA-4 codant pour une guanine au lieu d'une adénine en position 49 pourrait donner lieu à des interférences dans les fonctions de CTLA-4.

## Les cytokines

Schématiquement, il existe deux types de profil de sécrétion de cytokines par les lymphocytes T. Les cellules TH1 (TH1 pour T Helper de type 1) produisent de façon préférentielle de l'interleukine (IL)-2 et de l'interféron  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ), alors que les cellules TH2 synthétisent préférentiellement de l'IL-4, de l'IL-6, de l'IL-10 et de l'IL-13, privilégiant la prolifération et la différenciation des lymphocytes B.

Les cytokines seraient impliquées dans la survenue, l'expression clinique et l'évolution de l'hépatite auto-immune. Différents profils de sécrétion des cytokines ont été décrits. Les concentrations sériques d'IL-2 et d'IL-4 seraient inférieures à celles trouvées chez des sujets normaux. Chez les enfants atteints d'hépatite auto-immune de type 1, il y aurait une prédominance de cytokines TH1 au niveau du foie en cas d'activité de la maladie et une prédominance de cytokines TH2 dans le sang périphérique en cas de rémission. Enfin, d'autres auteurs ont rapporté une production élevée d'IL-4 par les lymphocytes T intra-hépatiques de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 1, ainsi qu'une concentration sérique d'IL-4 élevée chez ces patients. Ces résultats suggèrent que le profil de sécrétion des cytokines puisse varier au cours de la maladie, sans pouvoir déterminer si ce profil de sécrétion est la cause ou la conséquence de la réponse auto-immune.

Les gènes responsables de la production de cytokines ont été étudiés. Les résultats concernant le gène *TNF- $\alpha$*  (*TNFA\*2*) sont cependant contradictoires.

## La lyse hépatocytaire

Deux types de mécanisme peuvent être impliqués dans la lyse hépatocytaire : un mécanisme de cytotoxicité cellulaire et un mécanisme dépendant des anticorps.

Le mécanisme de cytotoxicité cellulaire met en jeu deux grandes catégories de lymphocytes cytotoxiques : les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules natural killer ou NK. Dans l'hépatite auto-immune, les études immunochimiques ont montré que l'infiltrat inflammatoire était principalement composé de lymphocytes T, suggérant que ces lymphocytes T jouent un rôle important dans la survenue des lésions hépatocytaires. Selon certaines études, les lymphocytes T intra-hépatiques seraient

principalement des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>. Ces lymphocytes T CD8<sup>+</sup> pourraient reconnaître un auto-antigène présenté par une molécule HLA de classe I à la surface des hépatocytes et détruire les hépatocytes cibles par un mécanisme de cytotoxicité dépendant de la libération des granules.

Dans le mécanisme de cytotoxicité dépendant des anticorps, une cellule cible recouverte d'anticorps spécifiques d'un antigène de surface est reconnue par des cellules phagocytaires (cellules NK notamment), par le biais de leurs récepteurs pour la région Fc de l'anticorps, et détruite. Dans l'hépatite auto-immune, une étude *in vitro* a montré que les hépatocytes de patients, couverts d'auto-anticorps, étaient détruits après incubation avec des lymphocytes autologues ou allogéniques [5].

On ne sait pas quels sont les principaux mécanismes responsables de la lyse hépatocytaire dans l'hépatite auto-immune. Sachant que la présence d'auto-anticorps est une caractéristique de l'hépatite auto-immune, il est licite de penser que les auto-anticorps puissent jouer un rôle dans cette affection. Cependant, ces auto-anticorps ne sont pas pathogéniques d'où l'hypothèse d'un rôle prépondérant des mécanismes à médiation cellulaire. Enfin, le rôle exact des cellules régulatrices T CD4<sup>+</sup>, dont il a été suggéré que la fonction immunorégulatrice serait altérée chez les patients ayant une hépatite auto-immune, reste à définir. D'autres études seront nécessaires pour comprendre les véritables mécanismes physiopathologiques de l'hépatite auto-immune.

# La cirrhose biliaire primitive

---

La cirrhose biliaire primitive est une maladie de cause inconnue, caractérisée par la destruction progressive des petits canaux biliaires intra-hépatiques. Sur le plan biologique, il existe des auto-anticorps particuliers, des signes biochimiques de cholestase, et une hyper-gammaglobulinémie liée à une augmentation polyclonale des IgM [6]. Les auto-anticorps marqueurs biologiques de la cirrhose biliaire primitive sont de deux types : les anticorps anti-mitochondries de type 2 qui appartiennent à la classe des anticorps anti-tissus non spécifiques d'organe, et les anticorps anti-nucléaires de spécificité anti-gp 210, anti-p62, anti-sp100 ou anti-PML.

La cirrhose biliaire primitive est classiquement considérée comme une maladie auto-immune, vu la présence d'auto-anticorps, de lymphocytes T auto-réactifs, de la prédominance féminine de la maladie, et de l'association de cette maladie à d'autres maladies auto-immunes dans environ un tiers des cas.

## Facteurs génétiques

Comme de nombreuses maladies auto-immunes, la cirrhose biliaire primitive est multifactorielle, impliquant notamment des facteurs génétiques. Actuellement, il apparaît que cette maladie peu fréquente ne serait pas liée à une mutation génétique unique. Par ailleurs, au vu des analyses faites chez les jumeaux, sa pénétrance ne serait pas complète.

Il existe une notion de cirrhose biliaire primitive familiale qui repose sur le fait que les membres des familles de patients atteints de cirrhose biliaire primitive ont un risque accru pour cette maladie, avec une prévalence familiale variable allant de 2,4 à 7,1 % [7].

Les études faites chez les jumeaux sont contradictoires. Cependant, une étude récente a montré que le taux de concordance serait de 63 % chez les jumeaux monozygotes, alors qu'il serait nul chez les jumeaux dizygotes.

Les études génétiques ont depuis longtemps montré qu'il n'existait pas d'association entre cirrhose biliaire primitive et gènes HLA de classe I. Les données concernant l'association aux allèles HLA de classe II sont quant à elles complexes. Les résultats d'une étude montrant une association entre *DQA1\*0401* et *DR8-DQB1\*0402* et la progression de la cirrhose biliaire primitive n'ont pas été retrouvés par d'autres équipes. Des équipes européennes ont suggéré qu'il existait une association entre cirrhose biliaire primitive et *DR3* et *DPB1\*0301*, alors qu'une association avec l'haplotype *DRB1\*08-DQA1\*0401-DQB1\*04* a été rapportée aux Etats-Unis. Par ailleurs, il existerait un effet protecteur de l'allèle *DRB1\*11* contre la cirrhose biliaire primitive chez les patients italiens. Enfin, une multitude d'autres gènes ont été étudiés. Actuellement, la cirrhose biliaire primitive apparaît comme une maladie ayant un fond génétique avec des gènes de prédisposition pour une maladie auto-immune, et des gènes déterminant l'évolution de la maladie. Des études avec de nouvelles technologies sur un grand nombre de patients établiront dans le futur la place des facteurs génétiques dans la cirrhose biliaire primitive.

## Les auto-anticorps

La cirrhose biliaire primitive est caractérisée par la présence d'auto-anticorps dirigés contre les mitochondries et/ou des composants nucléaires.

Les anticorps anti-mitochondries de type 2 sont présents chez environ 95 % des patients atteints de cirrhose biliaire primitive [8]. L'identification des cibles de ces auto-anticorps a fait l'objet de nombreux travaux. Ce sont des molécules appartenant à une famille d'enzymes, les complexes 2-oxo-acide déshydrogénases, localisées sur la membrane interne des mitochondries et qui catalysent la décarboxylation oxydative de divers substrats  $\alpha$ -keto-acides. Les cibles antigéniques des complexes 2-oxo-acide déshydrogénases comprennent les sous-unités E2 de la pyruvate déshydrogénase, les sous-unités E2 du complexe 2-oxoglutarate déshydrogénase, les sous-unités E2 du complexe de la 2-oxo-acide déshydrogénase (acides aminés à chaînes ramifiées), et la protéine liée à la dihydrolipoamide déshydrogénase (voir chapitre correspondant). Sur le plan de la reconnaissance antigénique, les épitopes présents sur ces différents complexes enzymatiques sont conformationnels et nécessitent la présence d'acide

lipoïque. L'exposition des domaines lipoyls à la surface des sous-unités E2 expliquerait en partie leur antigénicité. Chaque domaine lipoyl comporte un résidu lipoyl unique, attaché de façon covalente à un résidu lysine (K) au niveau d'une séquence DKA. Le rôle exact de l'acide lipoïque dans la reconnaissance antigénique par les anticorps anti-mitochondries n'est pas encore compris. Il existe de nombreux arguments contre un rôle pathogène direct de ces auto-anticorps dans la cirrhose biliaire primitive.

Les anticorps anti-nucléaires sont présents mais à une fréquence moindre que celle des anticorps anti-mitochondries, puisqu'ils sont observés chez environ un tiers des patients atteints de cirrhose biliaire primitive [9, 10]. Ils sont plus fréquents et à titre plus élevé dans le sous-groupe des patients n'ayant pas d'anticorps anti-mitochondries. Ces auto-anticorps reconnaissent des protéines des pores nucléaires (gp210, p62) ou des protéines des dots nucléaires (sp100, PML).

## **La réponse immunitaire cellulaire**

Dans la cirrhose biliaire primitive, les études immunochimiques ont montré que l'infiltrat inflammatoire était principalement composé de lymphocytes T, notamment de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> à proximité des lésions des cellules épithéliales biliaires au stade précoce de la maladie.

L'épitope dominant reconnu par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> au cours de la cirrhose biliaire primitive serait la séquence 163-167 en acides aminés de la sous-unité E2 de la pyruvate déshydrogénase, "traversé" par le domaine lipoyl de la sous-unité. Les clones de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> spécifiques de la sous-unité E2 de la pyruvate déshydrogénase reconnaîtraient aussi les autres antigènes cibles des anticorps anti-mitochondries (sous-unités E2 des complexes 2-oxoglutarate déshydrogénase, 2-oxo-acide déshydrogénase, et la protéine liée à la dihydrolipoamide déshydrogénase). Il est intéressant de noter que les épitopes de toutes ces molécules comportent un domaine lipoyl.

Les données concernant les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> sont limitées. A partir de cellules mononucléées du sang périphérique de patients atteints de cirrhose biliaire primitive, il a été possible d'isoler des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques reconnaissant un épitope

de la sous-unité E2 de la pyruvate déshydrogénase. De façon intéressante, l'épitope reconnu (séquence 159-167 en acides aminés) est très proche de l'épitope reconnu par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et par les anticorps anti-mitochondries. Par ailleurs, il existerait une compartimentation hépatique des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> auto-réactifs. L'ensemble de ces éléments suggère que les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques jouent un rôle dans la pathogénie de la maladie [11].

## Mécanismes lésionnels

La cirrhose biliaire primitive est un "modèle" particulier de maladie auto-immune, caractérisé par une atteinte localisée des cellules épithéliales biliaires, mais seulement au niveau des petits et moyens canaux biliaires intra-hépatiques, en dépit de l'expression ubiquitaire des auto-antigènes.

En tant que cellules cibles, les cellules épithéliales biliaires expriment à leur surface plusieurs molécules importantes impliquées dans l'interaction avec les lymphocytes T. Au repos, les cellules épithéliales biliaires expriment les molécules HLA de classe I et des molécules d'adhérence, telles que ICAM-1, VCAM-1 et LFA-3. Après stimulation par des cytokines pro-inflammatoires, ces cellules exprimeraient à leur surface des molécules HLA de classe II. Cependant, malgré l'expression de toutes ces molécules, et en l'absence d'expression de molécules de co-stimulation des lymphocytes T (CD80, CD86), il n'existe aucune donnée expérimentale permettant d'établir que les cellules épithéliales biliaires soient des cellules présentatrices d'antigène, capables d'activer directement les lymphocytes T. L'expression des molécules HLA de classe II et des molécules d'adhérence, conséquence probable d'un phénomène inflammatoire, et non la cause de la maladie, pourrait intervenir dans l'intensité de la réponse immunitaire locale et l'accélération de la destruction des canaux biliaires [12].

L'auto-antigène cible type de la cirrhose biliaire primitive, à savoir la pyruvate déshydrogénase, est localisé au niveau de la membrane interne des mitochondries, ainsi séparé du système immunitaire par trois membranes. Cependant, il a été rapporté que des épitopes "pyruvate déshydrogénase-like" seraient présents à la surface de cellules épithéliales biliaires provenant de biopsies de patients atteints de cirrhose

biliaire primitive. Néanmoins, la nature de cette protéine ayant des épitopes "pyruvate déshydrogénase-like" reste énigmatique. On ne sait pas si la protéine d'expression aberrante est un antigène mitochondrial ou une molécule ayant une réaction croisée avec des protéines mitochondriales.

## Conclusion

---

Si les mécanismes physio-pathologiques de l'hépatite auto-immune et de la cirrhose biliaire primitive commencent à être mieux connus, il reste encore de nombreuses zones d'ombre. La mise en place de modèles animaux aidera à mieux comprendre la pathogénie de ces maladies.

## Bibliographie

---

- 1 - KRAWITT E. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 54-66.
- 2 - DALEKOS G.N., ZACHOU K., LIASKOS C., GATSELIS N. Autoantibodies and defined target autoantigens in autoimmune hepatitis : an overview. *Eur J Intern Med* 2002 ; 13 : 293-303.
- 3 - MEDINA J., GARCIA-BUEY L., MORENO-OTERO R. Review article : immunopathogenetic and therapeutic aspects of autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003 ; 17 : 1-16.
- 4 - CZAJA A.J. Understanding the pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001 ; 96 : 1224-1231.
- 5 - VERGANI D., MIELI-VERGANI G. Mechanisms of autoimmune hepatitis. *Pediatr Transplantation* 2004 ; 8 : 589-593.
- 6 - ERLINGER S., BENHAMOU J.P. La cirrhose biliaire primitive. *Médecine/Sciences* 1994 : 10 : 528-535.
- 7 - SELMI C., INVERNIZZI P., ZUIN M., PODDA M., SELDIN M.F., GERSHWIN M.E. Genes and (auto)immunity in primary biliary cirrhosis. *Genes and Immunity* 2005 ; 6 : 543-556.
- 8 - LEUNG P.S.C., COPPEL R.L., ANSARI A., MUNOZ S., GERSHWIN M.E. Antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin Liv Dis* 1997 ; 17 : 61-69.
- 9 - COURVALIN J.C., WORMAN H.J. Nuclear envelope protein autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin Liv Dis* 1997 ; 17 : 79-90.
- 10 - SZOSTECKI C., GULDNER H.H., WILL H. Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. *Semin Liv Dis* 1997 ; 17 : 71-78.
- 11 - NISHIO A., KEEFFE E.B., GERSHWIN M.E. Immunopathogenesis of primary biliary cirrhosis. *Semin Liv Dis* 2002 ; 22 : 291-302.
- 12 - PALMER J.M., KIRBY J.A., JONES D.E.J. The immunology of primary biliary cirrhosis : the end of the beginning ? *Clin Exp Immunol* 2002 ; 129 : 191-197.



ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913633-48-X  
EGOPRIM  
45, rue de la Glacière 75013 Paris  
Dépôt légal : Octobre 2006



# CAHIER DE **Formation** Biologie médicale

## **Cahiers de formation déjà parus**

---

- |  |  |
|--|--|
| N° 1 : Hématologie                             | N° 21 : Virus des hépatites B (VHB), Delta (VDH), C (VHC), autres    |
| N° 2 : Immunoanalyse                           | N° 22 : Syndrome des anti-phospholipides                             |
| N° 3 : Parasitologie                           | N° 23 : Parasites sanguins   |
| N° 4 : Bactériologie                           | N° 24 : Biochimie pédiatrique  |
| N° 5 : Hormonologie - Gazométrie               | N° 25 : Les moisissures d'intérêt médical                            |
| N° 6 : G.B.E.A                                 | N° 26 : Immuno-hématologie et groupes sanguins                       |
| N° 7 : Immuno-allergie (1)                     | N° 27 : Les marqueurs cardiaques                                     |
| N° 8 : Hémoglobines glyquées - Lipides         | N° 28 : Immunoglobulines monoclonales                                |
| N° 9 : Dosage des médicaments Tome I           | N° 29 : Mycobactéries - Mycobactérioses                              |
| N° 10 : Hématologie Cas illustrés              | N° 30 : Exploration de la fonction de reproduction - versant féminin |
| N° 11 : Amibes et flagellés intestinaux        | N° 31 : Les dermatophytes  |
| N° 12 : Les maladies à Prions                  | N° 32 : Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides          |
| N° 13 : Autoimmunité et autoanticorps          | N° 33 : Sport et Biologie  |
| N° 14 : L'exploration de la thyroïde           | N° 34 : Borréliose de Lyme   |
| N° 15 : Dépistage de la trisomie 21            | N° 35 : L'Inflammation   |
| N° 16 : Immuno-allergie (2)                    | N° 36 : Le virus Epstein-Barr et les marqueurs de l'infection        |
| N° 17 : Virus des hépatites A (VHA) et E (VHE) |  |
| N° 18 : Dosage des médicaments Tome II         |  |
| N° 19 : Vaginites et vaginoses                 |  |
| N° 20 : Hémostase et thrombose                 |  |
- 

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A. et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes (S.d.B., S.N.M.B. et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privé ou hospitalier, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros sont disponibles à la consultation sur le site Internet [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net).

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6500 exemplaires.

ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913633-48-X  
Dépôt légal : OCTOBRE 2006