

Université de Poitiers
Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNÉE 2020-2021

Thèse n°

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Arrêté du 17 juillet 1987)

et

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement
le 4 juin 2021 à Brest
par Mademoiselle BETTACCHIOLI Eléonore

**Maladies auto-immunes et marqueurs sérologiques : l'exemple
des anticorps anti-phospholipides et des chaînes légères libres**

Composition du jury :

Président : Professeur FAILI Ahmad

Membres : Docteur BARRA Anne

Professeur DUEYMES Maryvonne

Professeur COUTURAUD François

Directeur de thèse : Professeur RENAUDINEAU Yves

Université de Poitiers
Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNÉE 2020-2021

Thèse n°

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Arrêté du 17 juillet 1987)

et

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement
le 4 juin 2021 à Brest
par Mademoiselle BETTACCHIOLI Eléonore

**Maladies auto-immunes et marqueurs sérologiques : l'exemple
des anticorps anti-phospholipides et des chaînes légères libres**

Composition du jury :

Président : Professeur FAILI Ahmad

Membres : Docteur BARRA Anne

Professeur DUEYMES Maryvonne

Professeur COUTURAUD François

Directeur de thèse : Professeur RENAUDINEAU Yves



Le Doyen,

Année universitaire 2020 - 2021

LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- BOULETI Claire, cardiologie
- BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUCOA Christophe, bactériologie – virologie
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie – réanimation
- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie
- DROUOT Xavier, physiologie
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRASCA Denis, anesthésiologie-réanimation
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GILBERT Brigitte, génétique
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
- ISAMBERT Nicolas, oncologie
- JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique t cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, oncologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation (en disponibilité)
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
- LECLERE Franck, chirurgie plastique, reconstructrice
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- MACCHI Laurent, hématologie
- MCHEIK Jiad, chirurgie infantile
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MIGEOT Virginie, santé publique
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation
- NEAU Jean-Philippe, neurologie
- ORIOT Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie
- PERAULT-POCHAT Marie-Christine, pharmacologie clinique
- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
- PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOARD Philippe, neurochirurgie
- ROBERT René, réanimation

- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie (retraite 01/03/2021)
- SAULNIER Pierre-Jean, thérapeutique
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- SILVAIN Christine, hépato-gastro- entérologie
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie
- THILLE Arnaud, réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- WAGER Michel, neurochirurgie
- XAVIER Jean, pédopsychiatrie

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY-LLATY Marion, santé publique (en mission 2020/21)
- ALLAIN Geraldine, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie – virologie (en cours d'intégration PH)
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail (en détachement)
- BILAN Frédéric, génétique
- BOISSON Matthieu, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire (en mission 1 an à/c nov.2020)
- CASTEL Olivier, bactériologie - virologie – hygiène
- CAYSSIALS Emilie, hématologie
- COUDROY Rémy, réanimation
- CREMNITER Julie, bactériologie – virologie
- DIAZ Véronique, physiologie
- FROUIN Eric, anatomie et cytologie pathologiques
- GACHON Bertrand, gynécologie-obstétrique
- GARCIA Magali, bactériologie-virologie
- JAVAUGUE Vincent, néphrologie
- KERFORNE Thomas, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- LAFAY-CHEBASSIER Claire, pharmacologie clinique
- LIUU Evelyne, gériatrie
- MARTIN Mickaël, médecine interne
- PALAZZO Paola, neurologie (en dispo 1 an)
- PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie
- SAPANET Michel, médecine légale
- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

Professeur des universités

- PELLERIN Luc, biochimie et biologie moléculaire

Professeur des universités de médecine générale

- BINDER Philippe

Professeurs associés de médecine générale

- BIRAULT François
- FRECHE Bernard
- MIGNOT Stéphanie
- PARTHENAY Pascal
- VALETTE Thierry
- VICTOR-CHAPLET Valérie

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

- AUDIER Pascal
- ARCHAMBAULT Pierrick
- BRABANT Yann
- JEDAT Vincent

Enseignants d'Anglais

- DEBAIL Didier, professeur certifié

Professeurs émérites

- CARRETIER Michel, chirurgie générale (08/2021)
- GIL Roger, neurologie (08/2023)
- GOMES DA CUNHA José, médecine générale (08/2021)
- GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion (08/2023)
- HERPIN Daniel, cardiologie (08/2023)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire (16/02/2021)
- MARECHAUD Richard, médecine interne (24/11/2023)
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire (08/2021)
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire (08/2022)
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (08/2023)
- TOUCHARD Guy, néphrologie (08/2021)

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ALLAL Joseph, thérapeutique (ex-émérite)
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOT Catherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, oncologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- DORE Bertrand, urologie (ex-émérite)
- EUGENE Michel, physiologie (ex-émérite)
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- GUILLET Gérard, dermatologie
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (ex-émérite)
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (ex-émérite)
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- PAQUEREAU Joël, physiologie
- POINTREAU Philippe, biochimie
- POURRAT Olivier, médecine interne (ex-émérite)
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- TOURANI Jean-Marc, oncologie
- VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

PHARMACIE

Professeurs

- CARATO Pascal, PU, chimie thérapeutique
- COUET William, PU-PH, pharmacie clinique
- DUPUIS Antoine, PU-PH, pharmacie clinique
- FAUCONNEAU Bernard, PU, toxicologie
- GUILLARD Jérôme, PU, pharmacochimie
- IMBERT Christine, PU, parasitologie
- MARCHAND Sandrine, PU-PH, pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, PU, galénique
- PAGE Guylène, PU, biologie cellulaire
- RABOUAN Sylvie, PU, chimie physique, chimie analytique
- RAGOT Stéphanie, PU-PH, santé publique
- SARROUILHE Denis, PU, physiologie
- SEGUIN François, PU, biophysique, biomathématiques

Maîtres de Conférences

- BARRA Anne, MCU-PH, immunologie-hématologie
- BARRIER Laurence, MCU, biochimie
- BODET Charles, MCU, bactériologie (HDR)
- BON Delphine, MCU, biophysique
- BRILLAULT Julien, MCU, pharmacocinétique, biopharmacie
- BUYCK Julien, MCU, microbiologie,
- CHARVET Caroline, MCU, physiologie
- CHAUZY Alexia, MCU, pharmacologie fondamentale et thérapeutique
- DEBORDE-DELAGE Marie, MCU, sciences physico-chimiques
- DELAGE Jacques, MCU, biomathématiques, biophysique
- FAVOT-LAFORGE Laure, MCU, biologie cellulaire et moléculaire (HDR)

- GIRARDOT Marion, MCU, biologie végétale et pharmacognosie
- GREGOIRE Nicolas, MCU, pharmacologie (HDR)
- HUSSAIN Didja, MCU, pharmacie galénique (HDR)
- INGRAND Sabrina, MCU, toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile, MCU, pharmacochimie
- PAIN Stéphanie, MCU, toxicologie (HDR)
- RIOUX BILAN Agnès, MCU, biochimie
- THEVENOT Sarah, MCU-PH, hygiène et santé publique
- TEWES Frédéric, MCU, chimie et pharmacochimie
- THOREAU Vincent, MCU, biologie cellulaire
- WAHL Anne, MCU, chimie analytique

Maîtres de Conférences Associés - officine

- DELOFFRE Clément, pharmacien
- ELIOT Guillaume, pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, pharmacien

A.T.E.R. (attaché temporaire d'enseignement et de recherche)

- MIANTEZILA BASILUA Joe, épidémiologie et santé publique

Enseignants d'anglais

- DEBAIL Didier

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de thèse, **Monsieur le Professeur Renaudineau**, qui m'a aidée à construire ce travail sur l'ensemble de mes stages d'internat, dont trois dans son service d'immunologie au CHRU de Brest. En plus de ses conseils avisés et de sa disponibilité permanente, il a su attiser la passion pour l'immunologie que je nourrissais de longue date et m'encourager à suivre cette voie passionnante qu'est la recherche en milieu hospitalier. Je lui suis reconnaissante de m'avoir fait bénéficier de son dynamisme, de sa rigueur intellectuelle et de ses capacités pédagogiques et scientifiques, que je n'oublierai jamais. J'ai vécu mon internat sous son égide comme un réel privilège.

Je souhaite également remercier **Monsieur le Professeur Faili** de l'honneur qu'il me fait en présidant cette thèse. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance pour avoir accepté cette invitation si promptement. Je vous remercie de surcroît d'avoir prévu le déplacement depuis Rennes.

J'exprime aussi toute ma gratitude au **Docteur Barra**, qui a accepté de juger mon travail depuis la faculté de Poitiers. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à **Madame le Professeur Dueymes** pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse. Je lui suis également reconnaissante pour sa sympathie, sa bienveillance et son aide inestimable à bien des égards, qui sont des qualités rares et précieuses. Je suis très heureuse de pouvoir désormais travailler sous sa direction.

Enfin, **Monsieur le Professeur Couturaud**, veuillez trouver ici l'expression de ma très haute considération et de ma plus profonde reconnaissance, à la fois pour vos conseils et votre réponse si rapide à mon invitation.

Ces remerciements seraient bien incomplets sans adresser quelques mots à l'équipe de recherche, aux technicien(ne)s, aide de laboratoire et secrétaires du laboratoire d'immunologie. Merci pour votre accueil et votre enthousiasme qui ont achevé de me convaincre de continuer à vos côtés.

De même, j'adresse mes plus sincères remerciements à la grande majorité de mes co-internes biologistes ou cliniciens. Plus particulièrement, merci Matthieu (allez l'OM !), Maëva (les meilleurs AG en ta compagnie), Margaux (à ces éternels goûters pris ensemble), Christelle (une de mes plus belles rencontres), mais aussi Marion, Marion et Marion, Mathilde, Nicolas, Clélia, Aurélie, Vincent, et plus récemment Simon, Damien, et Luc. Vous avez su égayer chaque journée de stage par votre entrain et votre bonne humeur.

Merci aussi à JB, MS, bébé Yoda et Pookie. Puisse le sort nous réserver autant de repas et de soirées jeux de société que possible. Je vous adore.

Toutes ces années d'études n'auraient pas été possibles sans ton soutien inconditionnel, Erla. De ma première année des études de santé, je retiens nos fous-rires, nos soirées, les moments difficiles aussi. Je n'aurai pas passé le cap sans ton amitié à toutes épreuves. Nous nous retrouverons vite à Toulouse.

Une des plus belles périodes reste ma vie estudiantine sur Marseille. Merci énormément à Polo, Clacla, Lisa, Toinou et Romain pour les innombrables moments mémorables à vos côtés. Une pensée très spéciale est consacrée à Edouard, le python de Castellane (je te dois tellement).

Je pense fort aussi à Elise et Emilie, la dream team de mon externat. A nos soirées rooftop, sportbeach, et autres jeudis du port.

Merci également à Aude, Sam, Thibault, et Roll20, de faire vivre mon alter ego de petite taille, Ewilan, dans nos aventures en Edhassian.

J'adresse par ailleurs d'énormes remerciements à l'équipe de recherche du Professeur Toby Lawrence au CIML, qui m'a accueillie pour mon stage de M2R sur une thématique passionnante. Merci tout particulièrement à Elodie, Clara, Pauline, Christophe et Nathalie.

Un remerciement tout particulier à Mo' pour nos discussions intarissables, et avec qui je partage cette passion pour l'immunologie (je te pardonne pour l'allergologie).

Alexandrine, Tristan, Émeline : j'ai toujours pu compter sur vous et je vous en remercie. Loin des yeux mais près du cœur.

Un énorme merci du fond du cœur à Rémi, Laurie, Ben, Chouchou, Tata, Papa Dragon, Mamé, pour leur chaleur et leur amour. Je me sens à ma place à vos côtés.

Je remercie très fort mes frères, Alban et Manu. Je suis fière de vous.

Papa, maman : je suis si fière et honorée d'être votre fille. Vous m'avez portée, aimée, soutenue, à travers toutes les épreuves et dans tous mes choix, y compris les plus difficiles. Vous m'avez aussi aidée, consolée, conseillée, et les mots seuls ne peuvent retranscrire mon infinie reconnaissance. Merci pour votre amour inconditionnel. Ce travail vous est dédié.

Enfin, je souhaite terminer par quelques mots pour la personne qui partage ma vie depuis maintenant plus de 7 ans. Merci infiniment pour ton soutien et ton amour sans commune mesure. Je n'ai pas de secret pour toi, aussi tu sais déjà les milliers de lignes que j'aurais pu consacrer à te rendre hommage. Cette thèse est une étape dans le merveilleux voyage que nous accomplissons ensemble, et j'ai hâte de découvrir ce que nous réserve la suite. La promesse est si belle.

Table des matières

I.	DIAGNOSTIC DES MALADIES AUTO-IMMUNES NON SYSTEMIQUES D'ORGANES : REVUE DE LA LITTERATURE	2
1.	<i>Généralités concernant les maladies auto-immunes (MAI) :</i>	2
2.	<i>Le lupus érythémateux systémique (LES)</i>	5
	a. Présentation de la maladie.....	5
	b. Physiopathologie	5
	c. Clinique	6
	d. Biologie	8
	e. Diagnostic	12
3.	<i>Syndrome de Gougerot-Sjögren (SJS)</i>	15
	a. Présentation de la maladie.....	15
	b. Physiopathologie	15
	c. Clinique	16
	d. Biologie	17
	e. Diagnostic	19
4.	<i>Polyarthrite rhumatoïde (PR)</i>	21
	a. Présentation de la maladie.....	21
	b. Physiopathologie	21
	c. Clinique	23
	d. Biologie	24
	e. Diagnostic	26
5.	<i>Sclérodémie systémique (SSc)</i>	27
	a. Présentation de la maladie.....	27
	b. Physiopathologie	27
	c. Clinique	28
	d. Biologie	30
	e. Diagnostic	32
6.	<i>Syndrome des anti-phospholipides (SAPL)</i>	34
	a. Présentation de la maladie.....	34
	b. Physiopathologie	34
	c. Clinique.....	35
	d. Biologie	37
	e. Diagnostic	40
7.	<i>Connectivites mixtes ou d'origine indéterminée (MCTD et UCTD) :</i>	42
	a. Présentation de la maladie.....	42
	b. Physiopathologie	42
	c. Clinique.....	42
	d. Biologie	43
	e. Diagnostic	44
II.	APPORT DE LA BIOLOGIE POUR LE DIAGNOSTIC DES MALADIES AUTO-IMMUNES : PUBLICATIONS	47
1.	<i>Publication n°1: News and meta-analysis regarding anti-β 2 glycoprotein I antibodies and their determination</i>	47
2.	<i>Publication n°2: Antiphospholipid autoantibody detection is important in all patients with systemic autoimmune diseases</i>	51
3.	<i>Publication n°3: An elevated polyclonal free light chain level reflects a strong interferon signature in patients with systemic autoimmune diseases.....</i>	53
III.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	58
IV.	BIBLIOGRAPHIE	59
V.	ANNEXES.....	80
1.	<i>Publication n°1: News and meta-analysis regarding anti-β 2 glycoprotein I antibodies and their determination</i>	80
2.	<i>Publication n°2: Antiphospholipid autoantibody detection is important in all patients with systemic autoimmune diseases</i>	81
3.	<i>Publication n°3: An elevated polyclonal free light chain level reflects a strong interferon signature in patients with systemic autoimmune diseases.....</i>	82
4.	<i>Serment de Galien :</i>	92

Sommaire des figures

Fig 1. Mécanismes participant au développement des maladies auto-immunes systémiques.....	3
Fig 2. Physiopathologie du lupus érythémateux systémique, d'après Vincent et al. (36).....	6
Fig 3. Aspect de fluorescence homogène (AC-1) sur cellules HEp-2, photographie Anapattern.org.....	8
Fig 4. Aspect de fluorescence négatif (A) ou positif (B) de crithidia luciliae, photographie par Gerlach S et al. (56).....	9
Fig 5. Aspect de fluorescence moucheté cytoplasmique (AC-19) fréquemment associé à la présence d'anticorps anti-ribosomes P réalisée sur cellules HEp-2, photographie prise au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest.....	10
Fig 6. Schéma récapitulant les conditions diagnostiques requises par les deux classifications actuellement en vigueur pour le diagnostic de lupus érythémateux systémique.....	14
Fig 7. Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren, d'après Nocturne G et al. (105).....	16
Fig 8. Aspect de fluorescence nucléaire moucheté finement (AC-4) sur cellules HEp-2, photographie réalisée au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest.....	17
Fig 9. Aspect de fluorescence négatif (A), négatif malgré la présence d'anticorps anti-noyaux (B), et positif (C) d'anticorps anti-kératine sur coupe d'œsophages de rat, photographies réalisées au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest.....	22
Fig 10. Réaction de citrullination (144).....	22
Fig 11. Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde, d'après McInnes IB et al. (9).....	23
Fig 12. Réaction de carbamylation (156).....	25
Fig 13. Physiopathologie de la sclérodermie systémique, d'après Katsumoto T et al. (188).....	28
Fig 14. Aspect de fluorescence nucléaire moucheté en grains avec un renforcement des nucléoles (AC-29) sur cellules HEp-2, photographie anapattern.org.....	30
Fig 15. Aspect de fluorescence anti-centromères (AC-3) sur cellules HEp-2, photographie prise au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest.....	31
Fig 16. Aspect de fluorescence nucléolaire avec marquage périchromosomique (AC-9) sur cellules HEp-2, photographie anapattern.org.....	31
Fig 17. Aspect de fluorescence nucléolaire homogène (AC-8) sur cellules HEp-2, photographie anapattern.org.....	31
Fig 18. Mécanisme physiopathologique d'action des anticorps anti-β2GPI (231).....	35
Fig 19. Algorithme décisionnel pour le diagnostic de syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS), adapté de Asherson et al. (239).....	37
Fig 20. Stratégie mise en place au laboratoire d'hématologie du CHRU de Brest pour le diagnostic d'un anticoagulant circulant, avec l'aimable autorisation de S. Jaouen.....	39
Fig 21. Représentation schématique du complexe U1-RNP, d'après Greidinger et al. (259).....	42
Fig 22. Aspect de fluorescence nucléaire de mouchetage grossier (AC-5) sur cellules HEp-2, photographie anapattern.org.....	44
Fig 23. Diagramme de Venn évaluant l'agrément des différentes classifications existantes pour le diagnostic de MCTD, d'après Gunnarsson et al. (287).....	46
Fig 24. Comparaison des Odds-ratios obtenus pour les anticorps anti-β2GPI d'isotype IgG ou IgM en fonction de la technique mise en place (ELISA ou CLIA) sur la base de 10 études comparatives (231).....	50
Fig 25. Odds ratio calculés pour la survenue d'une thrombose (A et B) ou d'une fausse couche (C et D) chez des patients SLE (A et C) ou non-SLE (B et D), selon la positivité des anticorps anti-phospholipides et/ou du drVVT.....	52

Sommaire des tableaux

Tableau 1. Critères proposés par le SLICC (2012) pour le diagnostic de lupus érythémateux systémique (52)	12
Tableau 2. Critères proposés par l'ACR/EULAR (2019) pour le diagnostic de lupus érythémateux systémique (94)	13
Tableau 3. Critères de l'ACR/EULAR (2016) pour le diagnostic de syndrome de Gougerot-Sjögren (135)	20
Tableau 4. Critères de l'ACR/EULAR (2010) pour le diagnostic d'une polyarthrite rhumatoïde (151)	26
Tableau 5. Critères de l'ACR/EULAR (2013) pour le diagnostic de sclérodémie systémique (212)	33
Tableau 6. Critères de Sidney (2006) pour le diagnostic de syndrome des antiphospholipides (255)	41
Tableau 7. Classification de Sharp (1987) pour le diagnostic de MCTD (285)	45
Tableau 8. Classification de Kasukawa (1987) pour le diagnostic de MCTD (285)	45
Tableau 9. Classification d'Alarcon-Segovia (1987) pour le diagnostic de MCTD (285)	45
Tableau 10. Classification de Kasukawa révisée (2019) pour le diagnostic de MCTD (288)	46

Liste des Abréviations

- aβ2GPI: anticorps anti-B2GPI
- ACC : Anticoagulant circulant lupique
- aCL : anticorps anti-cardiolipines
- ACR : American College of Rheumatology
- ADN : acide désoxyribonucléique
- ADNdb : ADN double brin
- AIRE : Auto-Immune Regulator
- AIT : Accident Ischémique Transitoire
- ANCA : anticorps anti-cytoplasme des neutrophiles
- APECED (syndrome) : polyendocrinopathie auto-immune de type 1
- aPL : anticorps anti-phospholipides
- ARN : acide ribonucléique
- AVC : Accident Vasculaire Cérébral
- β2GPI : β2 glycoprotéine I
- BAFF : B-cell Activating Factor
- CarPa : protéines carbamylées
- CBP : Cirrhose Biliaire Primitive
- CCP : peptides cycliques citrullinés
- CLIA : chemiluminescence immuno-assay
- CLL : Chaînes Légères Libres
- CPK : Créatine PhosphoKinase
- CREST (syndrome) : Calcifications ; Raynaud, Œsophage – RGO, Sclérodactylie, Télangiectasies
- CRP : Protéine C réactive
- CXCL- : C-X-C motif chemokine ligand
- CXCR- : C-X-C motif chemokine receptor
- dRVVT : temps de venin de Vipère Russell dilué
- EBV : Epstein-Barr Virus
- ECG : électrocardiogramme
- ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay
- ENA : Extractable Nuclear Antigen
- ESSDAI : Eular Sjögren Syndrome Disease Activity index
- EULAR : European League Against Rheumatism
- EVA : Echelle Visuelle Analogique
- FR/RF : facteurs rhumatoïdes
- GVH : Graft Versus Host
- HAS : Haute Autorité de Santé
- HDL : High-Density Lipoprotein
- HHV6 : Human Herpesvirus 6
- HLA : Human Leucocytes Antigen
- HTA : Hypertension artérielle
- HTAP : hypertension artérielle pulmonaire
- ICAM : Intercellular Adhesion Molecule
- IFI : immunofluorescence indirecte
- IFN : interféron
- IFNAR : récepteur de l'interféron
- Ig : Immunoglobulines
- IL- : interleukine
- IMC : Indice de Masse Corporelle
- IPEX (syndrome) : syndrome d'immunodérégulation, de polyendocrinopathie et d'entéropathie lié au chromosome X
- IRA : Insuffisance Rénale Aiguë
- IRF- : Interferon Regulatory Factor
- ISTH : International Society of Thrombosis and Haemostasis
- LA : Lupus Anticoagulant
- LB : lymphocytes B
- LDL : Low-Density Lipoprotein
- LES : lupus érythémateux systémiques
- LT : lymphocytes T
- MAI : maladie auto-immune
- MALT (lymphome) : Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
- MCTD : connectivites mixtes
- MDA : malondialdéhyde
- MEC : Matrice Extracellulaire
- MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
- MPO : myéloperoxydase
- MTEV : Maladie Thrombo-Embolique Veineuse
- OSS : Ocular Staining Score
- PADI : peptidylarginine désaminase
- PC, phosphorylcholine
- pDC : cellules dendritiques plasmacytoïdes
- PL : phospholipides
- PR : polyarthrite rhumatoïde
- PTI : Purpura Thrombopénique Immunologique

- PTPN22 : Protein Tyrosine Phosphatase, Non receptor type 22
- RANK : Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B
- RANK-L : Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand
- SAPL : syndrome des antiphospholipides
- SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë
- SEP : Sclérose En Plaques
- SI : système immunitaire
- SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise
- SIO : Sphincter Inférieur de l'œsophage
- SjS : syndrome de Gougerot-Sjögren
- SLEDAI : Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index
- SLICC : Systemic Lupus International Collaborating Clinics
- SNC : système nerveux central
- SNP : système nerveux périphérique
- SSc : sclérodémie systémique
- STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription
- TCA : Temps de Céphaline Activée
- TFPI : Tissue Factor Pathway Inhibitor
- TGF- β : Tumor Growth Factor β
- TLR- : Toll Like Receptor
- TNF : Tumor Necrosis Factor
- TRAK : anticorps anti-récepteurs de la TSH
- TSH : Thyroid Stimulating Hormone
- UCTD : connectivites indifférenciées
- VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule
- VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
- VS : Vitesse de Sédimentation

I. Diagnostic des maladies auto-immunes non systémiques d'organes : Revue de la littérature

1. Généralités concernant les maladies auto-immunes (MAI) :

Les maladies auto-immunes correspondent à un ensemble de pathologies caractérisées par une réaction du système immunitaire contre des auto-antigènes. Ces maladies sont d'étiologies complexes, présentant des manifestations cliniques et biologiques hétérogènes, et dont l'évolution se fait sur un mode chronique (1).

Sur le plan épidémiologique, on retrouve une nette prédominance féminine pour la grande majorité des MAI, avec une survenue des affections à un âge moyen compris entre 20 et 50 ans. Ces maladies affectent environ 8% de la population mondiale, mais la prévalence de chacune de ces MAI reste variable, avec par exemple la polyarthrite rhumatoïde (PR) touchant presque 1% de la population, tandis que d'autres ont une fréquence d'apparition bien plus rare (2,3). On note également une répartition géographique très disparate des cas, suivant fréquemment un gradient nord-sud, et avec une prédominance des cas dans les pays développés (2,4).

L'auto-immunité est une caractéristique présente chez tous les individus : il s'agit d'une auto-immunité physiologique, provenant de la génération aléatoire de lymphocytes T et B dont le récepteur à l'antigène est potentiellement auto-réactif. Ces lymphocytes possèdent un potentiel délétère, mais ils restent contrôlés par différents mécanismes de tolérance. Il existe tout d'abord des mécanismes de tolérance centrale, survenant lors de l'ontogénie des lymphocytes au sein de la moelle osseuse pour les lymphocytes B et dans le thymus pour les lymphocytes T ; puis des mécanismes de tolérance périphérique. Cette tolérance est médiée par différents effecteurs comme des cellules régulatrices (lymphocytes T régulateurs) ou des cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF- β), permettant le contrôle ou l'élimination des cellules autoréactives. A la faveur d'une rupture de la tolérance vis-à-vis du soi, les lymphocytes autoréactifs peuvent persister et devenir pathogènes en induisant une réponse inappropriée envers les antigènes du soi, conduisant alors à des dommages cellulaires puis tissulaires (5-7).

Plusieurs facteurs génétiques et environnementaux peuvent favoriser cette rupture de tolérance. Parmi les facteurs génétiques impliqués dans la survenue des MAI, les polymorphismes impactant les gènes HLA (Human Leukocyte Antigen) sont les plus fréquemment retrouvés. Les allèles HLA impactés favorisent notamment la présentation antigénique aux lymphocytes T (8). Plusieurs allèles HLA prédisposant à la survenue de MAI sont ainsi décrites, comme le HLA-DRB4*0401 dans la PR (9), ou encore les HLA-DQB1*0301, HLA-DRB1*11, HLA-DRB1*01 et HLA-DQB1*0501 dans la sclérodermie systémique (SSc) (10). D'autres gènes de susceptibilité non-HLA ont également été identifiés. Il est possible de citer en exemple le polymorphisme impactant le gène PTPN22 impliqué dans la survenue de la PR (9). Ces susceptibilités génétiques ont été mises en évidence notamment lors d'études de cas, d'études familiales ou encore d'études sur des jumeaux monozygotes. Ces facteurs génétiques sont prédisposants, mais ne suffisent pas à induire une MAI (11). Par ailleurs, il existe de très rares cas de MAI dues à des mutations uniques héréditaires, comme les mutations de AIRE (syndrome APECED) ou de foxp3 (IPEX syndrome) conduisant à des syndromes gravissimes (12,13).

Des facteurs environnementaux participent également au développement d'une MAI. Certains agents infectieux sont ainsi suspectés de provoquer certaines MAI, via plusieurs mécanismes comme le mimétisme antigénique ou encore suite à une immunogénicité accrue des auto-antigènes secondaire à une inflammation d'origine infectieuse (14). Par exemple, les infections

parodontales à *Porphyromonas gingivalis* favorisent la survenue d'une PR en augmentant la production de peptides citrullinés reconnus par le système immunitaire, et ce en raison de l'expression d'une enzyme bactérienne, la PADI (peptidylarginine désaminase), générant ces même peptides immunogènes (15). D'autres éléments comportementaux sont décrits, notamment le tabagisme qui est particulièrement impliqué dans le développement de la PR (9). L'exposition aux rayonnements ultra-violet (UV) peuvent aussi favoriser la survenue de MAI, comme dans le lupus érythémateux systémique (LES) (16). Les facteurs hormonaux semblent par ailleurs jouer un rôle, devant la prévalence plus élevée des MAI chez les femmes ainsi que devant le déclenchement de certaines maladies à des âges charnières (survenue de la PR aux alentours de la ménopause) (17). Finalement, le mode de vie occidental reste un facteur de risque prépondérant de survenue de MAI au vu des données épidémiologiques actuelles. Certaines études sur les mouvements de populations pointent également en ce sens (18,19).

L'ensemble des mécanismes développées contribuent au développement d'une auto-immunité pathologique, initialement sans retentissement clinique. Avec le temps, l'apparition de signes cliniques et d'une biologie évocatrice feront évoquer le diagnostic de maladie auto-immune (cf Fig1.)

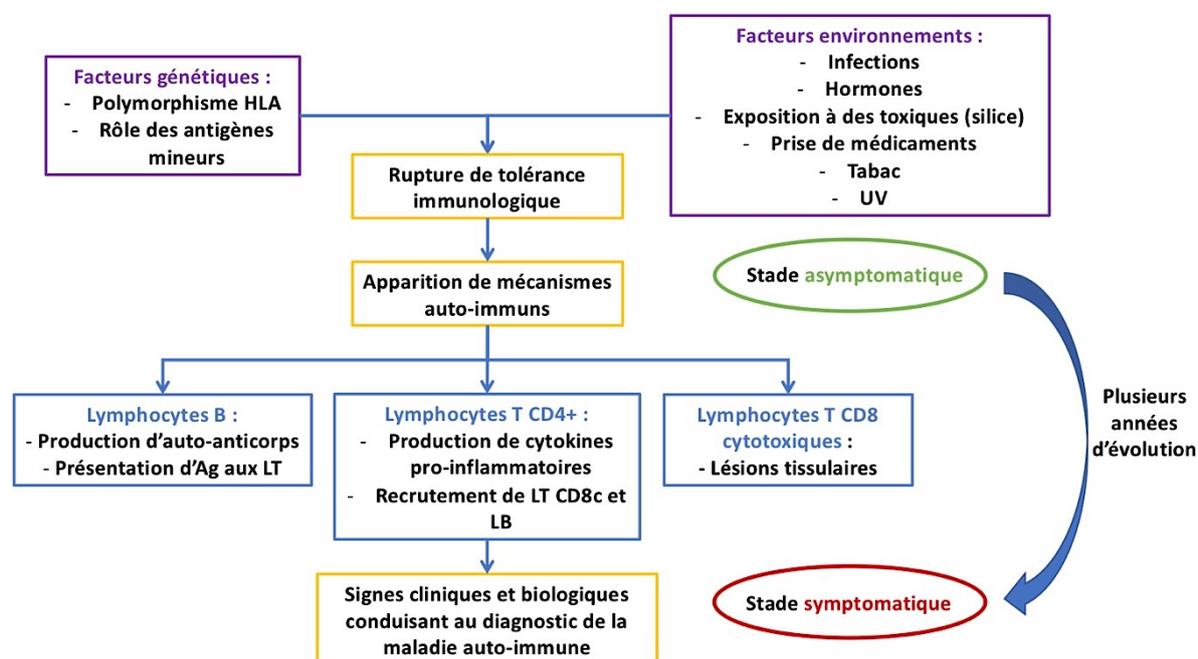


Fig 1. Mécanismes participant au développement des maladies auto-immunes systémiques

Le diagnostic d'une MAI s'envisage au travers d'un faisceau d'arguments principalement cliniques et biologiques. Les données histologiques peuvent également intervenir, comme dans les vascularites à ANCA ou les maladies bulleuses auto-immunes. Chaque MAI possède ainsi des critères diagnostiques proposés par les sociétés savantes (1). Plus particulièrement sur le plan biologique, les auto-anticorps ont un intérêt majeur pour la mise en évidence, la détermination du pronostic et parfois le suivi d'une MAI. Ils peuvent être directement pathogènes, à l'instar des anticorps anti-ADN double brin (ADNdb) dans le LES (20), ou seulement le témoin indirect d'une réaction auto-immune. Le bilan biologique non spécifique s'attache quant à lui à préciser plusieurs éléments comme l'état inflammatoire, la présence éventuelle de cytopénies, ou encore les éventuelles atteintes organiques retrouvables.

Les manifestations cliniques sont très hétérogènes et dépendent de la cible antigénique reconnue par le système immunitaire. Elles permettent également de séparer deux grandes catégories : les MAI spécifiques ou non spécifiques d'organes. Les maladies non spécifiques d'organes sont associées à des auto-antigènes présents de manière ubiquitaire au sein de l'organisme. A titre d'exemple, le LES est une MAI non spécifique d'organes car les cibles antigéniques identifiées sont principalement des antigènes nucléaires. Les symptômes cliniques retrouvés sont alors multiples et peuvent toucher l'organisme entier (21). Les maladies spécifiques d'organes sont caractérisées quant à elles par une réponse auto-immune contre des auto-antigènes exprimés par un seul type de tissu. Par exemple, dans la maladie de Basedow, les principaux auto-anticorps retrouvés (TRAK, anticorps anti-récepteur de la TSH ou thyroid-stimulating hormone) ciblent uniquement les récepteurs à la TSH, provoquant ainsi une hyperactivation des cellules thyroïdiennes (22).

Dans le cadre de ce travail, il sera abordé la question de l'apport de la biologie pour le diagnostic des maladies non spécifiques d'organes, plus particulièrement le LES, la PR, le syndrome de Gougerot-Sjögren (SjS), la sclérodémie systémique (SSc), le syndrome des antiphospholipides (SAPL) et les connectivites mixtes (MCTD et UCTD), au travers d'une revue de la littérature dans un premier temps, puis par une illustration du rôle de la biologie en trois exemples publiés.

2. Le lupus érythémateux systémique (LES)

a. Présentation de la maladie

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une MAI non spécifique d'organe évoluant par poussées puis rémissions et caractérisé par un panel large de manifestations cliniques en lien avec des auto-anticorps dirigés principalement contre des constituants cellulaires (23). La signature biologique du LES correspond à la positivité à un titre significatif des anticorps anti-ADNdb et/ou des anticorps anti-Sm.

Il s'agit d'une maladie rare impactant entre 20 et 150 individus pour 100000 habitants en France, avec une prédominance féminine (sex ratio de 9 femmes pour un homme). Classiquement, la maladie survient ainsi classiquement chez la femme jeune, entre 15 et 40 ans pour la plus grande partie des cas. L'incidence de la maladie est augmentée chez des patients d'origine afro-caribéennes, asiatiques et hispaniques. Plusieurs facteurs de risques ont pu être identifiés, comprenant des facteurs génétiques et épigénétiques (gènes de la réponse immune ou du complément), des facteurs intrinsèques (hormones sexuelles, origine ethnique), et des facteurs environnementaux (exposition aux UV) (21).

Le LES est responsable d'une plus grande morbi-mortalité chez les patients atteints, avec une plus grande sensibilité aux infections, et des atteintes d'organes, notamment la néphropathie lupique, responsable d'une plus grande mortalité. Cette mortalité est également due à un sur-risque cardiovasculaire, la maladie lupique augmentant l'athérosclérose. La survie des patients atteints de LES était toutefois estimée à 80% après 15-20 ans d'évolution dans une revue datant de 2010 (24).

b. Physiopathologie

Les atteintes observées dans le LES sont causées par l'action conjointe des lymphocytes T auto-réactifs et des auto-anticorps produits par les lymphocytes B, conduisant au dépôt d'auto-anticorps, de complément et de complexes immuns dans les tissus.

L'ensemble de ces mécanismes résultent d'un défaut d'élimination des corps apoptotiques, ce qui induit alors une inflammation et une réponse auto-immune (25). Cela provoque une exposition prolongée du matériel nucléaire, supposément invisible pour le système immunitaire, car non exprimé à la membrane plasmique. Les corps apoptotiques formés au cours de la mort cellulaire et contenant des antigènes nucléaires (nucléosomes, ADN, SSA, SSB, Sm, U1-RNP, ribosomes etc) représentent ainsi la source antigénique responsable de l'immunisation dans le cadre du LES. La cible antigénique principale dans le lupus correspond à l'ADN double brin. Les auto-anticorps anti-ADNdb possèdent une activité pathologique propre et l'injection de ces auto-anticorps dans une souris sauvage est responsable d'un phénotype lupique caractérisée par une auto-immunité biologique et le déclenchement d'une maladie rénale par dépôts de complexes immuns (21).

On distingue plusieurs mécanismes à l'origine de la persistance des corps apoptotiques dans le LES, avec tout d'abord, des anomalies de la cascade du complément. Cette cascade du complément est en effet impliquée dans l'élimination des corps apoptotiques, particulièrement grâce au C1q. Les déficits homozygotes touchant le C1q, le C2 et le C4 sont des déficits rares mais qui prédisposent fortement à la survenue d'un lupus (26). Sur un modèle murin de souris KO pour le C1q, on observe ainsi le développement d'une maladie rénale « lupus-like » avec la formation et la persistance de nombreux corps apoptotiques (27).

Ensuite, une défaillance des macrophages pour la phagocytose des corps apoptotiques est également mis en cause du fait d'anomalies observées sur les monocytes et/ou les macrophages isolés à partir des patients lupiques (28,29). De même, on observe dans les modèles expérimentaux de souris lupiques une augmentation de monocytes Ly6c^{hi} qui participent à l'induction d'une inflammation chronique pathologique au détriment d'un sous-type de macrophages CD138⁺ MARCO⁺ qui est chargé d'éliminer, par phagocytose, les corps apoptotiques et de résoudre une inflammation (30).

Enfin, l'augmentation des corps apoptotiques peut s'expliquer par un excès de production, mais également suite à un défaut de leur élimination (31).

Au final, la présence accrue des corps apoptotiques est capable de stimuler les cellules dendritiques par la voie des TLR ainsi que les LB autoréactifs par la voie du récepteur à l'antigène et des TLR. Ainsi, la voie endosomale des TLR est fortement impliquée avec TLR-9 capable de reconnaître l'ADN et TLR-7 l'ARN, et ces deux TLR sont souvent mis en opposition pour caractériser deux phénotypes distincts de LES. Le TLR-9 apparaît ainsi crucial pour la production d'anticorps anti-ADNdb chez la souris (32), tandis que le TLR-7 a été associé à la production des anticorps anti-Sm, qui sont dirigés contre une ribonucléoprotéine, plus rares mais très spécifiques de la pathologie lupique (33).

Dans les cellules dendritiques, l'activation de ces voies induit la production d'interféron de type I (IFN α), qui est une cytokine clé au centre du développement de la pathologie et faisant l'objet de nombreuses investigations pour déterminer sa place ainsi que celle des gènes induit en aval par ce dernier dans le diagnostic et le pronostic de la maladie (34,35).

L'hyperactivation des lymphocytes B retrouvée dans le LES est associée à une hyperlymphocytose B circulante, pour laquelle l'interféron et la cytokine BAFF ont été incriminées. Cette stimulation participe notamment à la survie et l'entretien à long terme des LB auto-réactifs de manière T indépendante au niveau extra-folliculaire. Ces LB sont capables de produire les auto-anticorps pathogènes induisant une néphropathie lupique tout en résistant à l'apoptose (36,37). Cette activation s'oppose à l'activation des LB par les LT préalablement activés par une cellule présentatrice d'antigène au niveau des centres germinatifs (38).

L'ensemble des éléments physiopathologiques sont repris ci-après (Fig 2).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 2. Physiopathologie du lupus érythémateux systémique, d'après Vincent et al. (36)

c. Clinique

Le LES est très souvent divisé en deux types distincts de tableau clinique :

- Une forme bénigne et plus fréquente, caractérisées par des atteintes cutané-articulaires
- Une forme plus sévère et plus rare, caractérisées par des atteintes viscérales, notamment rénales

Parmi les diverses manifestations cliniques générales, on retrouve une asthénie qui est prépondérante chez les malades, et parfois un amaigrissement et/ou de la fièvre.

Les manifestations cutané-muqueuses représentent l'atteinte la plus fréquente avec 90% de malades concernés. Les manifestations observées peuvent être spécifiques, comme la survenue d'un lupus cutané aigu, subaigu, ou encore la présence d'un lupus cutané chronique (lupus discoïde, lupus tumidus etc.), mais on retrouve également des manifestations non spécifiques

comme la photosensibilité, l'alopecie, le livédo réticularis, ou encore un phénomène de Raynaud. Sur le plan histologique, on retrouve majoritairement un aspect de dermatite d'interface avec une inflammation périvasculaire et des dépôts d'immunoglobulines et de fractions du complément sur une peau inflammée au niveau de la jonction dermo-épidermique qui définissent le « band test » (39,40).

On retrouve également des atteintes articulaires chez plus de 80% des patients, sous forme d'arthrites symétriques, le plus souvent non destructrices, touchant les petites articulations et les genoux. On peut décrire plus particulièrement l'arthropathie déformante de Jaccoud, due à une déviation des ligaments, ressemblant aux déformations de la polyarthrite mais sans érosion et la possibilité d'une réduction de l'atteinte (41).

L'atteinte rénale fait la gravité de la maladie avec 20 à 50% des patients concernés, avec une prédilection des patients afro-américains et asiatiques. La surveillance de la fonction rénale reste essentielle, notamment la protéinurie révélant l'atteinte glomérulaire car il s'agit d'une des principales causes de morbi-mortalité de la maladie lupique (42). L'atteinte rénale est fréquemment associée à des manifestations biologiques caractérisant une maladie active (hypocomplémentémie et élévation des anticorps anti-ADNdb) (20,43). L'anticorps anti-C1q a également été impliqué dans la survenue de néphrite lupique et sa négativité présente une valeur prédictive négative de presque 100% dans les glomérulonéphrites de type 3 et 4 (44).

Les glomérulopathies sont classées en 6 catégories(45,46) :

- *Type 1: glomérulaire minime*
- *Type 2: glomérulaire mésangiale*
- *Type 3: glomérulonéphrite segmentaire et focale*
- *Type 4: glomérulonéphrite proliférative diffuse*
- *Type 5: glomérulonéphrite extra membraneuse*
- *Type 6: glomérulonéphrite avec sclérose diffuse*

Des atteintes complémentaires comme des podocytopathies, des vascularites, des tubulopathies interstitielles ou des microangiopathies peuvent également être retrouvés et influencer le pronostic (47).

Des manifestations neuropsychiatriques variées sont aussi associés au LES. Certaines sont assez spécifiques, comme des crises d'épilepsie, des psychoses, des mononévrites, des myélites, des neuropathies périphériques ou crâniennes, ou encore un état de confusion aigu (48). Ces manifestations requièrent tout de même une exclusion des autres causes potentielles connues. L'identification sur le liquide cérébro-spinal des bandes oligoclonales d'isotype IgG pourrait également aider à l'identification d'un neurolupus (49). Toutefois, seulement une minorité de patient sera concerné par des manifestations neuropsychiatriques franches (48) et près de 80% des patients SLE présentent finalement un déficit cognitif dont la manifestation principale, souvent unique, est la dépression (50).

D'autres atteintes existent, très variées, et soulignent la grande hétérogénéité des formes de LES existantes. On retrouve en effet des atteintes viscérales avec des atteintes pleuro-pulmonaires (pleurésie, hypertension artérielle pulmonaire, fibrose interstitielle), cardiaques et vasculaires (péricardite, myocardite, endocardite de Libmann-Sachs, vascularite, syndrome des anti-phospholipides ou SAPL), des manifestations vasculaires (HTA, syndrome de Raynaud, vascularites, phlébites, thromboses, athérosclérose) et des atteintes hématologiques (51,52).

d. Biologie

Le diagnostic biologique repose sur l'identification des auto-anticorps anti-nucléaires et de leur spécificité à un titre significatif. Les cibles sont ainsi diverses et correspondent aux composants du noyau : acides nucléiques, histones, protéines nucléaires solubles, composants de la membrane cellulaire.

Une première étape de dépistage est effectuée par immunofluorescence indirecte (IFI) sur lame fixée avec des cellules HEp-2 qui sont des cellules épithéliales humaines de carcinome laryngé. Le sérum du malade est dilué puis appliqué sur ces lames à raison d'une dilution au 1/80^{ème} puis de 2 en 2 jusqu'au 1/1280^{ème}. On peut ainsi déterminer le titre en auto-anticorps qui correspond à la dernière dilution du sérum donnant une fluorescence positive sur plus de 10% des cellules. Ce dépistage est considéré comme positif si le titre est supérieur ou égal au 1/160^{ème} chez l'adulte. Toutefois, ce chiffre s'interprète en fonction des éléments caractéristiques du patient. En effet, on retrouve une augmentation physiologique des auto-anticorps anti-nucléaires avec l'âge, lors d'une grossesse, et il y a certains cas d'induction d'auto-anticorps de manière transitoire à la faveur d'épisodes infectieux ou d'une prise médicamenteuse. Chez l'enfant, il est possible de considérer une positivité au 1/80^{ème}.

Différents aspects de fluorescence sont retrouvés au cours du LES. L'aspect de fluorescence homogène à renforcement périphérique du noyau évoque la présence d'anticorps anti-ADNdb ou d'anti-nucléosomes (aspect AC-1 de la classification Anapattern, voir Fig 3) (53,54). On peut également retrouver des aspects mouchetés fins du noyau correspondant à des anti-SSA, anti-SSB ou anti-Sm, selon la grosseur du mouchetage (aspects AC-4 ou AC-5 de la classification anapattern). Les anti-SSA et SSB sont retrouvées dans le LES, mais aussi dans d'autres MAI, particulièrement le SjS. Ces anticorps seront développés plus en détails dans la partie dédiée à la biologie du SjS.

Devant un aspect positif de fluorescence, une identification de la cible est obligatoire et peut être orientée en fonction de l'aspect. L'identification des antigènes solubles anti-ENA et des IgG anti-ADN doit être mise en place. Des solutions de type ELISA, immunodot ou test par chimiluminescence sont des possibilités accessibles en laboratoire.

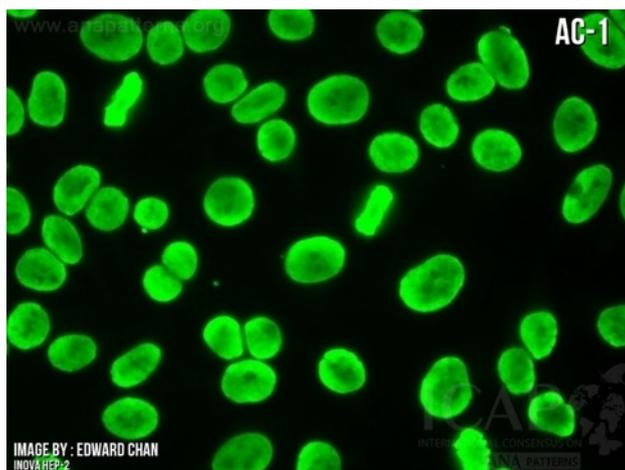


Fig 3. Aspect de fluorescence homogène (AC-1) sur cellules HEp-2, photographie Anapattern.org

Dans le cas particulier de la détection des anti-ADN natifs, le test historique de référence est le test radioactif de Farr, mais il n'est quasiment plus appliqué en laboratoire. Il est également possible de rechercher la fluorescence du kinétoplaste de *C. luciliae* après application du sérum, car ce dernier est particulièrement enrichi en ADN double brin. Cela en fait un test très spécifique (>95% de spécificité), mais peu sensible (environ 40%) (cf Fig 4) (55). Les tests

ELISA permettent de gagner en sensibilité en captant des anticorps de moindre affinité, mais d'importance moindre dans la pathogénicité. Les anticorps anti-ADNdb natif sont très fortement associés au LES et corrélient avec l'activité de la maladie (20). On peut également retrouver les anti-ADNdb dans des formes frontalières proches comme les hépatites auto-immunes ou en cas de lupus induits par des médicaments.

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 4. Aspect de fluorescence négatif (A) ou positif (B) de crithidia luciliae, photographie par Gerlach S et al. (56)

Les anticorps anti-nucléosomes, ciblant l'ensemble histones + ADN des corps apoptotiques sont retrouvés chez près de 85% des patients LES et participent très probablement à la physiopathologie de la maladie (57). Chez la souris, ces anticorps apparaissent de manière précoce, et permettent par la suite à l'élargissement de la réponse auto-immune par « epitope spreading », avec le développement des autres auto-anticorps connus dans le LES. Au cours de l'atteinte rénale, ils facilitent également la liaison des auto-anticorps à la membrane basale glomérulaire, induisant une perméabilité accrue et un environnement inflammatoire (58,59). D'après une méta-analyse réalisée par Bizzaro et al., les anticorps anti-nucléosomes revêtiraient une sensibilité accrue pour une spécificité équivalente aux anti-ADNdb et pourraient être utilisés pour le diagnostic des patients SLE en remplacement ou en complément des anticorps anti-ADNdb, en particulier si ces derniers sont négatifs (60). Une corrélation existe également entre titre d'anticorps et activité de la maladie, et les anticorps anti-nucléosomes présentent un intérêt pour la détection de poussées chez les patients ayant un lupus inactifs (61,62).

Les anticorps anti-histones, notamment les anti-H2a-H2b ont été proposés pour la détection des lupus induits par la consommation médicamenteuse, par exemple suite à une prise de pénicillamines, de méthyl-DOPA ou d'isoniazide, mais ne sont pas pathognomoniques. Les anti-histones sont en effet retrouvés chez des patients SLE avérés, et des patients ayant d'autres MAI (63).

Concernant les anticorps anti-antigènes solubles, le seul auto-anticorps spécifique est l'anti-Sm, mais il n'est que peu sensible (5-30%), et associé à certaines ethnies (positivité élevée dans les populations noires et asiatiques, allant jusqu'à 30-40% contre moins de 5% chez les caucasiens). Son lien avec l'activité de la maladie reste peu clair (64).

Les anticorps anti-ribosomes P sont retrouvés chez presque 20% de la population caucasienne, mais en proportions plus élevées dans d'autres groupes de populations (65). L'aspect de fluorescence cytoplasmique permet de suggérer leur présence dès le stade de dépistage sur cellules HEp-2, avec un mouchetage fin et dense sur l'ensemble du cytoplasme (aspect AC-19 de la classification anapattern, voir Fig 5). Certaines études suggèrent un rôle pathogénique potentiel de ces anticorps, en raison de leur liaison possible aux lymphocytes T, aux monocytes et aux cellules endothéliales. Cette liaison est notamment responsable d'un dysfonctionnement cellulaire et de dommages tissulaires par induction de l'apoptose ou de la production de cytokines pro-inflammatoires (66), qui sont des mécanismes clé de la physiopathologie du SLE.

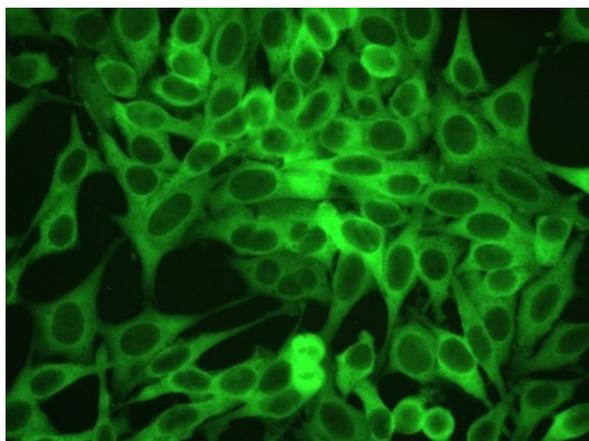


Fig 5. Aspect de fluorescence mouchetée cytoplasmique (AC-19) fréquemment associé à la présence d'anticorps anti-ribosomes P réalisée sur cellules HEp-2, photographie prise au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest

D'autres auto-anticorps peuvent également être retrouvés comme les anticorps anti-RNP (utiles au diagnostic du syndrome de Sharp), et les anticorps anti-PCNA.

Il est également important de rechercher la présence d'anticorps anti-phospholipides chez un patient lupique, afin d'identifier un SAPL secondaire qui sera à prendre en compte, notamment en termes de prévention primaire vis-à-vis du risque thrombotique. Cette association entre lupus et SAPL, bien que fréquente, reste difficile à correctement étiqueter en raison d'une positivité des anticorps anti-phospholipides chez 20-40% des patients SLE, avec un risque de thromboses associé non négligeable augmentant avec le temps (67). Ces éléments seront abordés plus précisément dans la partie évoquant le SAPL.

Des anomalies biologiques non spécifiques peuvent également être associées. Un syndrome inflammatoire peut être mis en évidence avec des hypergammaglobulinémies polyclonales, une protéine C réactive (CRP) ou une vitesse de sédimentation (VS) augmentées (avec parfois une dissociation entre les deux).

Une anémie est retrouvée dans une part non négligeable des cas, de plusieurs étiologies possibles : insuffisance rénale chronique, anémie hémolytique auto-immune, anémie ferriprive (saignements sous anticoagulant chez le patient LES + SAPL). La leucopénie est également fréquente avec des neutropénies et/ou des lymphopénies. Enfin, il existe des purpura thrombopéniques immunologiques (PTI) associés, parfois sévères, nécessitant la réalisation d'un bilan d'hémostase complet à la recherche d'un SAPL et/ou d'un PTI au diagnostic.

Par ailleurs, une hypocomplémentémie est fréquemment retrouvée chez les patients lupiques, qui se traduit par une baisse du CH50 et des fractions C3 et C4 dosées en routine. Les mécanismes mis en jeu sont variés, avec principalement un abaissement du complément par consommation suite à l'activation de la voie classique (dépôts d'immuns-complexes dans les tissus, notamment le rein), et dans certains cas en raison d'un déficit héréditaire partiel ou total sur l'une des fractions du complément (plus particulièrement le C1q, le C1r, C2, C3 et C4 qui sont les protéines précoces de la voie classique du complément) (26).

L'hypothèse avancée pour expliquer le lien entre les déficits congénitaux en protéines précoces de la voie classique du complément et la survenue directement associée d'un LES implique un défaut d'élimination par opsonisation des corps apoptotiques par les macrophages, notamment suite à des déficits en C1q, ce qui augmente l'exposition des corps apoptotiques auprès du système immunitaire (27,68,69). De manière acquise, la présence d'anticorps anti-C1q est d'ailleurs corrélée avec l'activité de la maladie et la survenue d'atteinte rénale (70).

Différents marqueurs sont également à l'étude, selon leur intérêt diagnostique, pronostique ou thérapeutique. Principalement, nous pouvons évoquer l'établissement de la signature interféron (IFN) chez les patients LES, qui est au cœur de la physiopathologie.

Une contribution des voies de l'IFN à la pathogenèse du LES a été suggérée pour la première fois par des études dans lesquelles l'induction de l'IFN de type I dans le modèle de souris NZB/NZWF1 provoque une accélération de la maladie (71). Chez les patients lupiques, la mise en évidence d'une signature IFN dans le sang se révèle être la voie moléculaire la plus couramment activée, permettant l'initiation et l'entretien des mécanismes d'auto-immunité (72,73). La signature IFN type I est la plus fréquemment activée (74), bien que l'IFN- γ puisse aussi contribuer : cette signature pan-IFN est notamment caractérisée chez des patients ayant des maladies plus actives, visibles grâce à l'expression de certains gènes, comme le gène codant pour la chimiokine CXCL10/IP-10 (75).

La principale source cellulaire de l'IFN de type I dans le LES correspond aux cellules dendritiques plasmacytoïdes ou pDC (76,77). La déplétion de ces cellules dans les modèles murins de lupus entraîne un ralentissement de la maladie, et l'administration d'anti-BDCA2, un inhibiteur spécifique de la fonction des pDC, induit une diminution significative mais partielle de la signature de l'IFN de type I dans le sang chez les personnes atteintes de LES (78).

L'étude des populations cellulaires tissulaires comme le tissu synovial prélevé chez des personnes SLE souffrant d'arthrite ou encore l'étude des biopsies rénales chez les patients atteints de néphrite lupique montre également une forte activation de l'IFN type I. Le « single-cell RNA-seq » de cellules isolées à partir de biopsies rénales a permis de détecter une signature d'IFN dans pratiquement toutes les sous-populations leucocytaires et les cellules tissulaires infiltrantes. Cette signature est particulièrement prépondérante dans les sous-ensembles de lymphocytes B et de lymphocytes T CD4+, mais reste également présente dans les lymphocytes NK ou les LT CD8+ retrouvés (79–81).

Les drivers identifiés pour la production d'IFN dans le SLE correspondent à la stimulation des TLR endosomaux (surtout le TLR7) et des sensors cytosoliques comme STING par les différents composés auto-immuns décrits dans le SLE (acides nucléiques, complexes immuns, corps apoptotiques, auto-antigènes nucléaires divers) (82–86)

Le ciblage thérapeutique de l'IFN- α , de l'IFNAR (récepteur de l'interféron α/β) ou des composants de signalisation en aval de l'IFNAR est en cours d'évaluation. Ainsi, l'une de ces approches implique le blocage de l'IFNAR par un anticorps monoclonal spécifique de l'IFNAR1, l'anifrolumab, qui diminue de manière significative l'expression des transcrits de type I induits par l'IFN, mais les études montrent des résultats discordants selon l'objectif principal choisi (87–89). L'inhibition de la transcription des gènes déclenchée par les cytokines et les IFN médiées par la voie Jak-STAT est actuellement à l'étude via l'utilisation des inhibiteurs Jak, et l'IFN- γ est également ciblé (90).

La sélection des gènes sensibles à l'IFN qui sont utilisés pour définir une signature IFN type I pour une utilisation dans le SLE, mais également dans les MAI au sens large est en cours d'affinement sur la base des différents gènes identifiés lors des analyses transcriptomiques (74,91,92). Ces signatures sont constituées sur la base de score modulaire permettant de grader l'impact de la signature IFN, selon l'intensité des gènes surexprimés et l'association éventuelle des voies de l'IFN type I et II. L'utilisation de la signature IFN pour prédire une efficacité à un traitement ciblant la voie de l'IFN semble également particulièrement prometteuse. Par ailleurs, l'identification des transcrits induits par l'IFN de type I qui fluctuent dans le temps, en amont ou coïncidant avec les poussées d'activité de la maladie, pourrait également apporter une aide précieuse sur le plan prédictif.

e. Diagnostic

Le LES est diagnostiqué sur la base d'un ensemble d'arguments clinico-biologiques répondant à des critères de classification. Les critères historiques ont été proposés par l'American College of Rheumatology (ACR) en 1982 puis révisés en 1997 (93).

De nouveaux critères ont été proposés en 2012 par le Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) (cf Tableau 1) (52). Ces critères SLICC regroupent des critères cliniques et immunologiques, et l'affirmation se fait avec au moins 4 critères dont au moins un biologique et un clinique. La présence d'une néphrite lupique associée à la présence d'anticorps anti-nucléaires ou d'anticorps anti-ADNdb permet également d'affirmer le diagnostic.

Critères cliniques	Critères biologiques
1. Lupus cutané aigu	9. Anémie hémolytique
2. Lupus cutané chronique	10. Leucopénie ou lymphopénie
3. Ulcère oral ou nasal	11. Thrombopénie
4. Alopécie non cicatricielle	12. Anticorps anti-ADNdb positifs
5. Synovite	13. Anticorps anti-Sm positifs
6. Atteinte des séreuses (pleurésie ou péricardite)	14. Anticorps anti-phospholipides positifs
7. Atteinte rénale (protéinurie, hématurie, ou histologie compatible avec une néphrite lupique)	15. Hypocomplémentémie
8. Atteinte neurologique (épilepsie, psychose, mononévrite multiple, myélite, neuropathie périphérique ou crânienne, confusion aigu)	16. Test de Coombs positif sans anémie hémolytique
	17. Anticorps anti-nucléaires positifs

Tableau 1. Critères proposés par le SLICC (2012) pour le diagnostic de lupus érythémateux systémique (52)

En 2019, une nouvelle classification est proposée par l'EULAR/ACR et utilise les anticorps anti-nucléaires comme critères d'entrée (cf Tableau 2). La fièvre non infectieuse est le seul nouveau critère. Tous les critères ont maintenant une valeur score individuelle allant de 2 à 10 et sont structurés en domaines, dans lesquels seul le critère ayant la valeur la plus élevée est compté. 10 points sont suffisants pour affirmer le diagnostic (94). Ces nouveaux critères atteignent une sensibilité de 96,1% et maintiennent une spécificité de 93,4%, contre 94% de sensibilité et 92% de spécificité pour les critères SLICC.

Domaines cliniques et critères	Score	Domaines immunologiques et critères	Score
Constitutionnel Fièvre	2	Anticorps anti-phospholipides Anticorps anti-cardiolipines ou anticorps anti-β2GPI ou lupus anticoagulant	2
Atteinte hématologique Leucopénie Thrombopénie Anémie hémolytique auto-immune	3 4 4	Protéines du complément Baisse du C3 ou du C4 Baisse du C3 et du C4	3 4
Atteinte du SNC Delirium Psychose Épilepsie	 2 3 5	Anticorps spécifiques du SLE Anticorps anti-ADNdb ou anticorps anti-Sm	6
Atteintes de la peau et des muqueuses Alopécie non cicatricielle Ulcère oral Lupus cutané subaigu OU lupus discoïde Lupus cutané aigu	 2 2 4 6		
Atteinte des séreuses Épanchement pleural ou péricardique Péricardite aigu	 5 6		
Atteinte musculosquelettique Atteinte articulaire	 5		
Atteinte rénale Protéinurie > 0,5g/24h Néphrite lupique de classe II ou V Néphrite lupique de classe III ou IV	 4 8 10		

Tableau 2. Critères proposés par l'ACR/EULAR (2019) pour le diagnostic de lupus érythémateux systémique (94)

Un schéma résumant les logiques utilisées par les deux classifications est présenté ci-après (Fig 6).

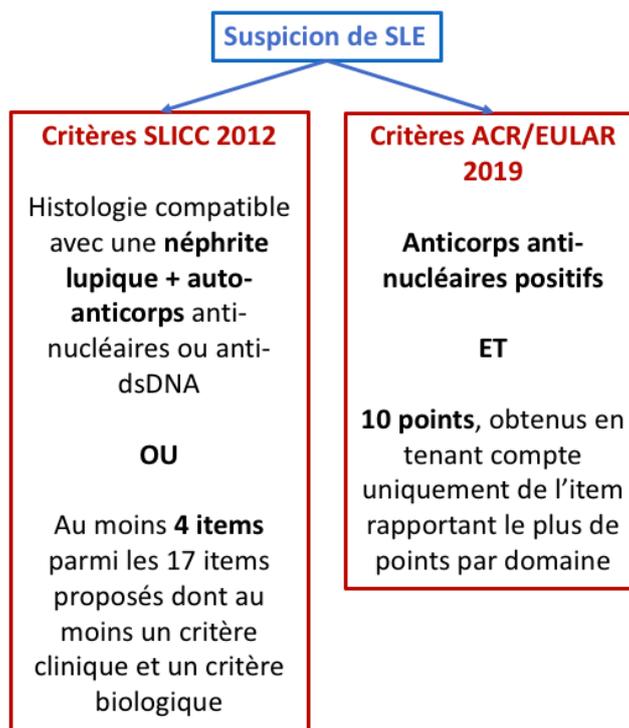


Fig 6. Schéma récapitulant les conditions diagnostiques requises par les deux classifications actuellement en vigueur pour le diagnostic de lupus érythémateux systémique

3. Syndrome de Gougerot-Sjögren (SjS)

a. Présentation de la maladie

Le syndrome de Gougerot-Sjögren est une MAI systémique responsable principalement d'atteintes des glandes exocrines. Les glandes salivaires et lacrymales sont les plus impactées, conduisant à une xérostomie et une xérophtalmie constituant le syndrome sec typique de la maladie (95).

Le SjS reste une maladie rare touchant 0,1% de la population et affectant principalement les femmes, avec un sex ratio estimé à 9 femmes pour 1 homme. On retrouve un pic de fréquence vers 50 ans, après la ménopause, mais aussi un petit pic secondaire entre 20 et 30 ans (96).

La composante étiologique se scinde en facteurs génétiques/épigénétiques et facteurs environnementaux. Le terrain génétique est mis en évidence par une agrégation des cas au sein des familles, avec 35% de patients ayant un parent atteint d'un SjS ou d'une autre maladie auto-immune, ainsi que grâce aux études statistiques de survenue de la maladie chez les jumeaux monozygotes (97,98). La probabilité de survenue d'un SjS augmente également lors de pathologies dysimmunitaires familiales ou lorsque le patient possède déjà une affection auto-immune pré-existante. On parle alors de SjS secondaire, à l'opposé du SjS primaire qui survient seul. Les études génétiques ont principalement mis en cause des allèles particulières au niveau de la région HLA de classe II comme le HLA-DRB1*03, le HLADQB1*02 ou encore le HLA DQA1*05, qui sont associés à la synthèse d'anticorps anti-SSA et SSB dans les populations caucasiennes. D'autres gènes mineurs ont été mis en cause mais leurs implications restent controversées (IRF5, STAT4) (99).

Parmi les facteurs environnementaux, les infections virales sont particulièrement étudiées, avec des réponses spécifiques détectés contre l'EBV et HHV6 plus largement chez les patients SjS que chez les témoins sains (100,101). L'études d'auto-anticorps anti-SSB chez des patients SjS et SLE a notamment pu montrer des similarités entre les épitopes reconnus sur la SSB et des séquences protéiques virales, notamment proche des herpesvirus (102). D'autres facteurs endogènes comme les hormones sexuelles semblent également impliqués au vu des données épidémiologiques : sex ratio très en faveur des femmes, une survenue à un âge moyen de 50 ans. Le tabac semble également favoriser la survenue de la maladie (95).

b. Physiopathologie

L'approche la plus courante pour expliquer la pathogénèse du SjS est la théorie de l'épithélite auto-immune. On caractérise ainsi une activation et une atteinte des glandes exocrines qui sont liées au développement d'un infiltrat lymphocytaire dans l'épithélium. Les cellules épithéliales représentent ici un facteur de régulation central de la maladie via une action en tant que cellules présentatrices d'antigènes auprès de ces lymphocytes, et via l'expression de molécules permettant le recrutement, l'activation, la différenciation et la prolifération des cellules immunitaires. L'expression du HLA-I ou encore du CD40 par les cellules épithéliales leur permet d'interagir directement avec les LT CD4 et les LB (95). On retrouve en parallèle dans ces cellules une signature IFN marquée (103). Par ailleurs, ces cellules épithéliales des glandes salivaires correspondent à une source antigénique permettant la stimulation de la réponse immune. Elles libèrent en effet des exosomes riches en SSA et SSB, qui sont les auto-antigènes reconnus par les anticorps anti-SSA et anti-SSB, clés pour le diagnostic de la maladie et retrouvés chez la très grande majorité des malades (104). De plus, elles sont sujettes à une apoptose accrue, permettant de libérer des corps apoptotiques exposant ces auto-antigènes aux cellules immunitaires(95). Enfin, l'activation immune est favorisée par des cellules

dendritiques retrouvées dans les tissus, permettant de déclencher la réponse immune spécifique responsables des dégradations tissulaires et des lésions fibrotiques.

Au niveau des acteurs du système immunitaire, on retrouve au sein des tissus cibles un excès de lymphocytes T Th1 dans les glandes salivaires avec une production de cytokines inflammatoires comme l'IFN- γ , mais aussi des LT Th17 et des cellules NK, qui interagissent avec les cellules dendritiques, les cellules épithéliales, les LT CD8 et les LB (105).

Les LB sont un élément clé de la pathogénèse du SjS en raison notamment de leur production d'auto-anticorps, qui sont des marqueurs importants dans la maladie. Leur activation est notamment drivée par les IFN de type I et de type II ou encore l'IL-21 (105,106). Ces LB sont principalement autoréactifs, ce qui est souligné par une répartition anormale des sous-populations B avec un excès de formes mémoires et des restrictions oligoclonales. Ces LB infiltrent aussi les glandes salivaires et s'organisent en centres germinatifs extra-folliculaires (107), d'où une restriction oligoclonale du spectre d'immunoglobulines et une hypergammaglobulinémie pouvant être repérée lors des investigations biologiques. Ces LB sont soutenus par des signaux de survie et de prolifération, provenant en partie de la cytokine BAFF (B cell activating factor). Cette molécule est fabriquée par les LT, certains LB, mais aussi par les cellules épithéliales salivaires qui la synthétisent en excès dans la maladie de Gougerot (108,109). Ainsi, sur cet aspect de la physiopathologie, on retrouve de fortes similitudes avec le LES, au travers du rôle clé des LB extra-folliculaires, leur soutien par des cytokines comme BAFF et l'IFN de type 1, ou encore la fabrication d'auto-anticorps dirigés contre des cibles nucléaires.

Les éléments principaux de la physiopathologie du SjS sont repris ci-dessous (Fig 7).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 7. Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren, d'après Nocturne G et al. (105)

L'activation continue des LB extra-folliculaire est responsable du sur-risque de lymphomagénèse le plus élevé retrouvé au décours d'une maladie auto-immune. Selon les études, on retrouve un risque multiplié par 5 à 15 comparativement aux autres MAI. Le sous-type le plus fréquemment retrouvé correspond au lymphome des zones marginales, plus particulièrement un lymphome des tissus associés aux muqueuses ou MALT (110). Le lymphome touche le plus fréquemment les glandes salivaires, mais peut aussi survenir sur d'autres sites comme l'estomac, le poumon ou les yeux. Les MALT peuvent suivre une évolution indolente, mais parfois se transformer en lymphomes B diffus à grandes cellules, bien plus agressifs.

c. Clinique

Le SjS est classiquement divisé en deux catégories selon s'il est primaire ou secondaire. Dans le cadre d'un SjS primitif, on retrouvera une fatigue associée à des douleurs et des sécheresses lacrymales, salivaires, cutanéomuqueuses et/ou trachéo-bronchiques. Pour un SjS secondaire, la maladie est associée à d'autres affections auto-immunes comme un LES, une PR etc, et le syndrome sec vient en arrière-plan (95).

Les signes cliniques principaux correspondent à des atteintes exocrines (111) :

- Atteintes oculaires : sécheresse oculaire avec une impression de « sable dans les yeux », voile devant les yeux, absence de larmes
- Atteintes salivaires : sécheresse de la bouche et des lèvres, gênes à la mastication et la déglutition, brûlures buccales, altération du gout

- Atteinte des voies aériennes : rhinite sèche et crouteuse, épistaxis, bronchites sèches, dyspnée asthmatiforme
- Atteinte muqueuse et cutanée : sécheresse vaginale et vulvaire, prurit, dyspareunies

La triade « sécheresse + douleurs + fatigue » est responsable de l'altération de la qualité de vie des patients. Il existe également des atteintes systémiques plus rares, avec des arthralgies et des arthrites non destructrices, des myalgies, des dépressions, des atteintes neurologiques périphériques ou centrales, ou encore des atteintes viscérales comme des atteintes rénales, pulmonaires, des purpuras ou un syndrome de Raynaud (95).

Du fait de la sécheresse, des complications à type de kérato-conjonctivite, de carie, ou encore d'infections peuvent survenir. Les douleurs chroniques et le syndrome dépressif sont également invalidants dans la vie quotidienne (95). Les atteintes viscérales peuvent également conduire à des complications plus graves comme de la fibrose pulmonaire, une pneumopathie lymphoïde, des vascularites ou encore des atteintes du SNP (112,113).

La complication la plus redoutée reste la survenue d'un lymphome non Hodgkinien de type MALT chez ces patients. Les hypertrophies parotidiennes sont ainsi à surveiller finement car très corrélées à la survenue d'un lymphome. Les manifestations systémiques touchant les organes, les adénopathies, la splénomégalie, un purpura vasculaire ou encore le sexe masculin, sont également associés avec la survenue d'un lymphome (107,114,115).

d. Biologie

Le diagnostic biologique spécifique repose sur la présence d'anticorps anti-nucléaire de spécificité anti-SSA 60 kDa (Trove2) et/ou anti-SSB, retrouvés respectivement chez 70% et 40% des patients (95). Toutefois, ce sont des auto-anticorps de spécificité relative dans la mesure où ils peuvent être retrouvés dans d'autres maladies auto-immunes, principalement le LES. Lors de la phase de dépistage par IFI sur lame HEp-2, on retrouve une fluorescence d'aspect moucheté fin diffus dans tout le noyau (aspect AC-4 de la classification anapattern, voir Fig 8). Il existe parfois un renforcement des nucléoles, mais la chromatine, visible lors des phases de division, n'est pas marquée le plus souvent.

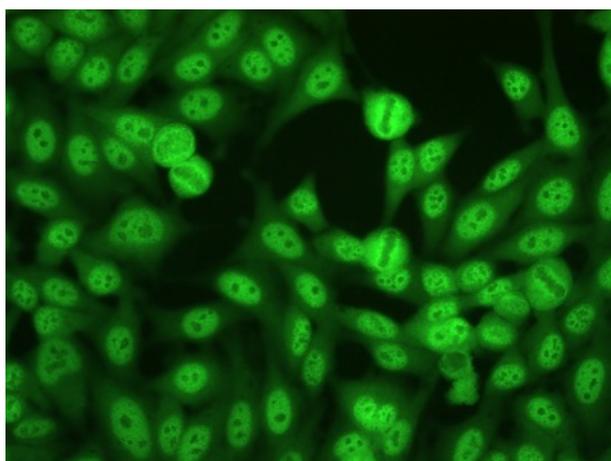


Fig 8. Aspect de fluorescence nucléaire moucheté finement (AC-4) sur cellules HEp-2, photographie réalisée au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest

Les antigènes SSA correspondent à deux polypeptides de différents poids moléculaires : la protéine SSA-52kDa (Trim21, non spécifique du SjS) et la protéine SSA-60 kDa (Trove2, spécifique du SjS). La détection des auto-anticorps ciblant ces deux auto-antigènes doit se faire séparément en raison d'une association de chacun à différents phénotypes cliniques (116,117). Ainsi, l'antigène SSA-52kDa est fréquemment ciblée par le système immunitaire mais la

présence d'auto-anticorps contre cet isoforme dans le sérum n'est pas associée à une pathologie spécifique dans la majorité des cas. Les anti-SSA52kDa peuvent tout de même être retrouvés dans le SjS, mais également dans d'autres MAI comme la SSc, les connectivites ou les myosites (116). Les anti SSA-52kDa se révèlent finalement préoccupants lors des grossesses, en raison de la possible survenue de blocs auriculo-ventriculaires congénitaux chez le nouveau-né ou le fœtus à partir du 2^{ème} trimestre d'une femme enceinte porteuse de ces anticorps. Le mécanisme mis en cause est un mimétisme moléculaire entre la protéine SSA-52kDa et un épitope partagé sur les canaux calciques de type L exprimés dans les cardiomyocytes du bébé (118). Pour le diagnostic de SjS, ce sont les anticorps anti-SSA-60kDa qui sont les plus intéressants.

Les anticorps anti-SSB, lorsqu'ils sont retrouvés, sont quasiment toujours exprimés de manière conjointe avec les anti-SSA. La double positivité est associée avec une plus grande activité de la maladie (95), caractérisant des patients avec des manifestations systémiques importantes et résultant d'une dérégulation épigénétique intra-tissulaire (119). De rares cas de positivité anti-SSB isolés ne sont pas associés à un SjS (120).

L'association de la clinique et de la biologie permet de distinguer 2 types de patients (114,121,122) :

- Des patients avec un syndrome sec, une biopsie positive et des auto-anticorps négatifs : ces patients sont généralement plus âgés, avec plus d'arthralgies, de signes douloureux, de la fatigue, mais moins de parotidomégalie ou de marqueurs B. En terme d'évolutivité, le risque de lymphome reste très limité.
- Des patients présentant des manifestations systémiques et une positivité des auto-anticorps : les patients sont alors plus jeunes, avec moins de syndrome sec et plus de signes systémiques comme la parotidomégalie, les vascularites, les leucopénies, le syndrome de Raynaud et des marqueurs B importants. Le risque de lymphome est donc plus élevé.

Autrement, des cryoglobulines de type II ou III sont retrouvés chez presque 10% des patients. Ces dernières sont associées à un mauvais pronostic évolutif du SjS et leur recherche est donc indispensable au diagnostic et lors du suivi (123,124). De même, une hypocomplémentémie, des cytopénies auto-immunes, une hypergammaglobulinémie, ou encore des centres germinatifs extra-folliculaires ou ectopiques retrouvés à l'histologie des glandes salivaires peuvent être retrouvés et sont associés à un plus grand risque de survenue de lymphome (114).

Le diagnostic biologique du SjS reste complexe en l'absence d'un test véritablement spécifique. L'étude des sous-populations lymphocytaires B chez les patients SjS peut s'avérer utile en complément des tests classiques. En effet, des travaux menés au laboratoire ont montré une hausse d'expression des populations B matures Bm2 et Bm2' (IgD+CD38+ et IgD+CD38++ respectivement) aux dépens des populations ayant commuté de classe eBm5/Bm5 (IgD-CD38+ et IgD-CD38- respectivement), distinguant un profil atypique comparativement à des patients contrôles, mais également vis-à-vis d'autres patients MAI comme des patients LES ou PR. Un ratio entre la somme de ces populations > 5 présente une sensibilité élevée, mais une spécificité médiocre, permettant toutefois de rattraper certains patients sans auto-anticorps ou avec un focus score <1 (125). Des anomalies complémentaires sur les LT et NK sont aussi identifiables, avec une baisse fréquente des LT CD4+ helper différenciés, l'apparition d'une sous-population double négative T produisant de l'IL-17, ou encore une augmentation du nombre de NK ou du récepteur activateur NKp30 (126).

Enfin, et de manière similaire au SLE, la signature IFN type 1 est d'importance prépondérante dans la survenue du SjS. L'activation de la voie IFN tient en bonne partie au recrutement important de cellules dendritiques plasmacytoïdes dans les organes cibles du SjS (127). La stimulation de la voie IFN dans la maladie passe par la stimulation des TLR par des corps

apoptotiques et/ou des immuns complexes à l'instar du SLE (84,128). Au sein des tissus cibles, une sensibilité accrue à l'IFN- α de la part des cellules épithéliales des glandes salivaires a également été mise en évidence, permettant la production intensive de la cytokine BAFF ayant un rôle clé pour l'activation et la survie des LB extra-folliculaires (109,129). Une signature IFN type I/II sur le plan génique et épigénétique a été confirmée dans plusieurs sous-types cellulaires d'intérêt, avec une association notamment à la production élevée d'auto-anticorps (130–133). Devant la similarité des profils et des mécanismes mis en jeu pour l'activation de la voie IFN type I/II dans le SjS et le SLE, les approches thérapeutiques mises en place dans le SLE pourraient éventuellement être transposées au SjS, en plus de l'utilisation éventuelle de la signature IFN pour mieux classer les patients SjS à risque évolutif.

e. Diagnostic

Les critères internationaux de 2002 pour l'établissement du diagnostic de SjS regroupent 6 critères selon les symptômes, les données histopathologiques et la présence d'auto-anticorps (134) :

- Symptômes oculaires : au moins un des 3 critères ci-dessous
 - Avez-vous les yeux secs de façon quotidienne gênante et persistante depuis plus de 3 mois ?
 - La sensation récidivante d'avoir du sable ou du gravier dans les yeux ?
 - Utilisez-vous des larmes artificielles plus de 3 fois par jour ?
- Symptômes buccaux : au moins un des 3 critères ci-dessous
 - Avez-vous eu quotidiennement une sensation de bouche sèche depuis plus de 3 mois ?
 - Avez-vous eu à l'âge adulte un gonflement des glandes salivaires persistant ou récidivant ?
 - Utilisez-vous souvent des liquides pour vous aider à avaler les aliments solides ?
- Signes objectifs d'atteinte oculaire : au moins un des 2 tests positifs
 - Test de Shirmer
 - Score de Van Bijsterveld ≥ 4
- Signes objectifs d'atteinte salivaire : au moins un des 3 tests positifs
 - Scintigraphie salivaire
 - Sialographie
 - Débit salivaire sans stimulation $< 1,5$ mL en 15min
- Données histopathologiques : score focal à la biopsie des glandes salivaires accessoires.
 - Le score focal est défini par le nombre de foyers sur 4mm^3 de tissu glandulaire, sachant qu'un foyer est défini par l'agglomération d'au moins 50 cellules mononucléées : Focus score ≥ 1
- Auto-anticorps : présence d'Ac sériques anti-SSA (Ro) ou SSB (La)

Le diagnostic d'un SjS primaire peut être affirmé devant la présence de 4 critères, dont au moins l'item 5 (histologie) ou l'item 6 (biologie), ou bien devant la présence de 3 critères parmi les items 3, 4, 5 et 6. Le SjS secondaire peut être affirmé devant la positivité de l'item 1 ou 2 associée à 2 items parmi les items 3, 4 ou 5.

Il existe également des critères d'exclusions pour porter le diagnostic qui correspondent principalement aux autres causes de syndrome sec comme un lymphome pré-existant, une radiothérapie cervico-faciale, une sarcoïdose, une GVH (graft versus host reaction), une hépatite C, un stade SIDA ou encore l'utilisation de médicaments anticholinergiques.

La dernière classification diagnostique du SjS correspond à la classification ACR/EULAR de 2016 (cf Tableau 3) (135). L'utilisation de ces critères ne peut s'effectuer que pour des patients répondant aux critères d'inclusion, définis comme la présence d'au moins un symptôme oculaire ou buccal (sur la base des items 1 et 2 de la classification de 2002). Un score équivalent à 4 ou plus permet de poser le diagnostic de SjS. Les critères d'exclusion sont les mêmes que ceux pré-définis par la classification de 2002, avec l'ajout de la maladie liée aux IgG4.

Critères de classification 2016 ACR/EULAR	Score
Sialadénite lymphocytaire avec focus score ≥ 1 sur la biopsie de glandes salivaires accessoires et focus score ≥ 1 foci/4mm ²	3
Anticorps anti-SSA positifs	3
Ocular Staining Score ≥ 5 (ou score de van Bijsterveld ≥ 4) pour au moins un oeil	1
Test de Schirmer ≤ 5 mm/ 5 min pour au moins un oeil	1
Flux salivaire sans stimulation $\leq 0,1$ mL / min	1

Tableau 3. Critères de l'ACR/EULAR (2016) pour le diagnostic de syndrome de Gougerot-Sjögren (135)

D'autres scores sont également utiles pour évaluer l'impact de la maladie et participer au diagnostic comme le score de sécheresse de Van Bijsterveld ou le score OSS (ocular staining score). L'évaluation objective de la sécheresse s'évalue par le flux salivaire et le test de Schirmer :

- Flux salivaire : Se fait le matin (entre 8h et 10h), à jeun, sans fumer une heure avant. Le patient est installé confortablement 5 min avant, puis il doit cracher toutes les minutes pendant 5 min dans un tube de centrifugation. Les échantillons sont pesés à l'aide d'une balance analytique. L'élément d'analyse s'exprime en mL/min (1g = 1mL) (136)
- Test de Shirmer : Mesure de la lacrymation en plaçant un papier filtre dans les culs-de-sac conjonctivaux durant 5min. La longueur imprégnée de papier doit être ≥ 5 mm ; le test est positif pour une longueur < 5 mm (137)

Il existe d'autres tests ophtalmiques, basés sur des colorants comme le vert de lissamine ou le rose bengale permettant d'appliquer le score de Van Bijstersfeld (137). L'asthénie et la douleur peuvent s'évaluer via des échelles subjectives EVA.

La biopsie des glandes salivaires accessoires permet de réaliser une étude histologique et est effectuée sous anesthésie locale, par l'incision au niveau de la face interne de la lèvre inférieure. On peut alors prélever quelques glandes salivaires accessoires qui sont très nombreuses à ce niveau. La récupération des glandes salivaires au niveau des parotides est une possibilité en seconde intention. La cicatrisation est rapide avec une compression (138). Plusieurs éléments peuvent altérer les résultats fournis par l'analyse histologique de la biopsie : le focus score est diminué chez les fumeurs, ce qui peut donner des faux négatifs, l'âge est également responsable d'une fibrose des glandes salivaires non liée au SjS et il existe également des inflammations non spécifiques (139).

L'altération des glandes salivaires peut aussi être mise en évidence par imagerie, notamment grâce au développement des techniques échographiques des glandes salivaires chez les patients SjS, et permettant également un suivi au long cours. L'utilisation de l'échographie pour le diagnostic de SjS présente des valeurs de sensibilité et de spécificité élevés, malgré une hétérogénéité des pratiques, ce qui nécessite pour la suite une standardisation au niveau international (140).

4. Polyarthrite rhumatoïde (PR)

a. Présentation de la maladie

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune caractérisée par une polyarthrite périphérique touchant principalement les petites articulations symétrique, chronique et destructrice. La PR appartient au groupe des rhumatismes inflammatoires primitifs (2).

La PR reste une des maladies auto-immunes les plus fréquentes dans le monde, touchant environ 300 individus pour 100000 habitants en France, et avec une prévalence estimée entre 0,5 et 1% dans le monde. La maladie survient le plus souvent chez les femmes aux alentours de 50 ans. La maladie a longtemps été associée à des dommages irréversibles des articulations associés à des infirmités, mais le diagnostic précoce et les progrès thérapeutiques permettent de nos jours de proposer un objectif de rémission pour une majorité de patients (2,141).

La PR possède des origines multifactorielles associant des prédispositions génétiques et des facteurs de risques liés à l'environnement. Plusieurs loci du HLA ont été associés avec la survenue de la PR notamment les allèles qui reconnaissent un épitope partagé dont HLA-DRBA*0101 et HLA-DRB1*0401. D'autres gènes mineurs ont également pu être identifiés comme le PTPN22, CD28 ou CD40. Certains polymorphismes touchant les loci de l'enzyme PADI ont pu être retrouvés en Asie (9). Les risques liés à l'environnement sont multiples : tabac, café, parodontie avec *Porphyromonas gingivalis*, sexe et hormones (9). Pour certains de ces risques, notamment le tabac et l'infection à *Porphyromonas gingivalis*, ils sont particulièrement étudiés et font le lien avec la physiopathologie de la maladie.

b. Physiopathologie

La PR découle d'une immunisation contre une cible antigénique liée à une activation de l'immunité spécifique avec comme acteurs principaux des LT CD4+, les LT CD8+ et les lymphocytes B producteurs d'auto-anticorps pathogènes, ce qui est responsable d'une synovite inflammatoire chronique et destructrice.

La recherche de cette cible antigénique débute en premier lieu avec l'identification d'une réaction antigène-anticorps par immunofluorescence indirecte sur des coupes d'œsophage de rat chez 60% des sérums de patients atteints de PR, contre moins de 1% de la population générale. Ces auto-anticorps sont initialement baptisés anti-kératine de par la localisation en immunofluorescence, mais la cible a été identifiée et correspond finalement à la filagrine (142). L'aspect en fluorescence est visible ci-après (Fig 9).

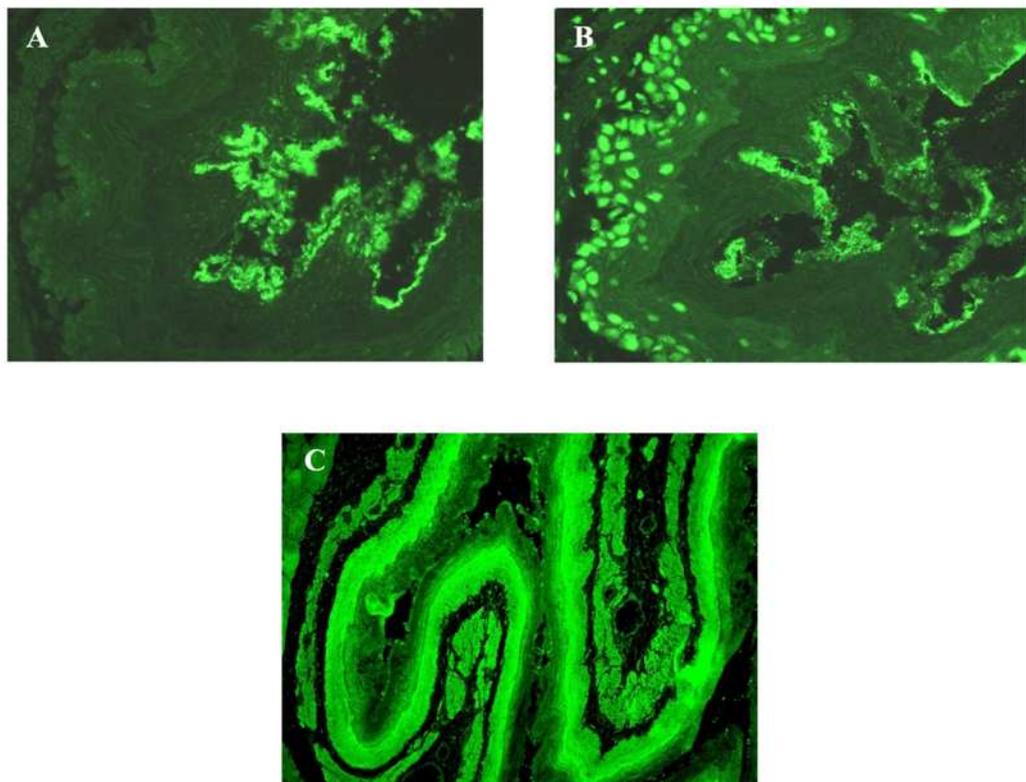


Fig 9. Aspect de fluorescence négatif (A), négatif malgré la présence d'anticorps anti-noyaux (B), et positif (C) d'anticorps anti-kératine sur coupe d'œsophages de rat, photographies réalisées au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest

L'étude des acides aminés de la filagrine révèle finalement une richesse importante en arginine, qui présente la particularité d'être transformable en citrulline grâce à une enzyme : la PADI (peptidylarginine désaminase, cf Fig 10) (9,143).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 10. Réaction de citrullination (144)

La citrulline est un acide aminé normalement non présent chez l'homme. Cet acide aminé peut ainsi être plus facilement reconnu par le système immunitaire, qui développe alors une réponse anti-peptides citrullinés, et dont les anticorps anti-CCP, très spécifiques de la maladie, sont le reflet. Il a été montré que cette immunisation spécifique survient particulièrement avec la présence du locus HLA-DRB1*0401, comme montré par Hill et al (145). Dans cette étude, les auteurs ont étudié l'interaction des peptides dérivés de la vimentine contenant de l'arginine ou de la citrulline et la réponse des LT CD4+ à ces peptides chez des souris transgéniques pour le HLA-DRB1*0401. La citrullination de la vimentine permet notamment d'augmenter considérablement l'insertion du peptide au niveau de la chaîne DRβ*0401 du TCR, induisant une réponse T CD4+ contre ces peptides (145).

La citrullination peut être catalysée *in vivo* par l'enzyme PADI, fabriquée notamment dans la cavité buccale par la bactérie *Porphyromonas gingivalis*, responsable de parodontopathies parfois retrouvées dans les antécédents des patients atteints. L'étude de plusieurs bactéries de la sphère orale montre que seule *P. gingivalis* peut être responsable d'une citrullination abondante des protéines endogènes, produisant alors des cibles antigéniques citrullinées stimulant le système immunitaire. Par opposition, la délétion de l'enzyme bactérienne PADI dans les bactéries *P. gingivalis* abroge totalement la citrullination des protéines (15).

L'induction d'une polyarthrite chez la souris par l'injection de collagène est également responsable de l'apparition d'anticorps anti-peptides citrullinés dans la synoviale (146), démontrant le rôle crucial de la citrulline en tant qu'auto-antigène.

Les anticorps anti-CCP représentent actuellement un des tests les plus efficaces pour le diagnostic d'une PR, avec notamment une excellente spécificité d'au moins 95%, pour une sensibilité intéressante de 60-70%, contrebalançant l'efficacité du dosage du facteur rhumatoïde présentant une sensibilité similaire ou légèrement supérieure mais une spécificité médiocre de seulement 80% (147).

Une fois l'auto-antigène reconnu, une perte de tolérance s'établit avec une activation des cellules dendritiques puis des LT et des LB. Le lymphocyte B joue en particulier un rôle essentiel de par sa capacité à sécréter du facteur rhumatoïde de haute affinité, participant à la destruction des articulations. Ces cellules B sécrétrices de FR sont retrouvées en concentration très élevée au niveau des membranes synoviales, à la suite d'une activation par un lymphocyte T CD4 helper. Les réactions de destructions se déroulent également dans un environnement favorable très inflammatoire, avec la présence de cytokines et de protéines comme l'IL-6, l'IL-1, la CRP ou encore le TNF- α (9).

Parmi les facteurs de risque connus, le tabac est également identifié comme un grand facteur de risque de développer la maladie. Il est notamment responsable d'une accélération de la modification post-transcriptionnelle des protéines ainsi que de l'activation prolongée du système immunitaire, ce qui s'ajoute de manière logique aux mécanismes mis en jeu et précédemment décrits (148).

L'ensemble des éléments physiopathologiques pour le développement d'une PR sont repris dans la figure 11 ci-après.

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 11. Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde, d'après McInnes IB et al. (9)

c. Clinique

L'inflammation provoquée par l'ensemble de ces acteurs immunitaires se déroule principalement dans la membrane synoviale des articulations. On retrouve alors un épaissement de la membrane synoviale pour constituer le pannus synovial avec une hyperplasie et une hypertrophie cellulaire locale. Ces événements sont associés à une production anormale de liquide synoviale avec des gonflements et des douleurs articulaires. L'inflammation chronique sous-jacente endommage également l'intégralité des éléments constitutifs de l'articulation comme le cartilage, l'os, ou les ligaments, ce jusqu'à la destruction. L'atteinte la plus caractéristique reste l'arthrite de la main, souvent inaugurale. En l'absence de traitement, on pourra retrouver certaines déformations particulières comme les déformations en « col de cygne », etc. Ces arthrites sont douloureuses, non soulagées au repos, et d'horaires inflammatoires. On retrouve ainsi un dérouillage matinal prolongé, souvent d'une heure ou plus, parfois associé à des signes généraux comme une fatigue, une perte de poids ou une fièvre (149,150).

Des manifestations extra-articulaires peuvent également être retrouvées dans une partie des cas, avec des atteintes cutanées (nodules rhumatoïdes), oculaires (kérato-conjonctivites etc.), orales (syndrome sec), respiratoire (fibrose pulmonaire, épanchement pleural etc.), cardiaque (inflammation péricardite, nodule valvulaire, myocardite), neurologique (mononévrites),

hépatique (augmentation des transaminases), hématologiques (cytopénies, syndrome de Felty), ou encore des vascularites (150).

d. Biologie

Le bilan biologique non spécifique comprend la réalisation d'un hémogramme, souvent normal mais pouvant mettre en évidence une anémie inflammatoire ou des cytopénies, et l'identification d'un syndrome inflammatoire (VS, CRP), utile pour le diagnostic et le suivi de la maladie.

Le bilan immunologique initial peut comprendre le dépistage large des auto-anticorps, notamment dans le cas d'un diagnostic précoce où les arthralgies ne sont pas encore caractéristiques de la PR. Des anticorps anti-nucléaires seront alors présents dans presque 50% des cas, mais sans intérêt précis dans la PR. Ils permettent principalement le diagnostic différentiel. Les arthralgies sont en effet retrouvées dans de nombreuses autres MAI : SjS, LES etc. Les anticorps d'intérêt pour le diagnostic sont le facteur rhumatoïde (FR) et les anticorps anti-CCP. La présence des deux à titre élevé caractérise d'ailleurs des maladies plus actives.

Le FR correspond à une immunoglobuline d'isotype IgM de faible affinité et dirigée contre des IgG. On le retrouve à taux faible à l'état physiologique, et il participe à l'élimination des complexes immuns. Dans le cadre de la PR, le FR est fréquemment retrouvé à des taux significativement plus élevé et avec une affinité plus importante. Toutefois, le FR n'est pas très spécifique de la PR et les taux peuvent être augmentés au cours d'autres MAI non spécifiques d'organes, ou bien avec l'âge (147). Un tiers des patients restent également séronégatifs pour le FR et les anti-CCP, laissant le diagnostic à la clinique et l'imagerie (149). Historiquement, le dosage des FR utilisait des particules de latex ou des GR de moutons (réaction de Waaler-Rose). Ces techniques ont été remplacées par des techniques présentant une meilleure sensibilité/spécificité : néphélométrie/turbidimétrie sur billes de latex, dosage immuno-enzymatique (ELISA, chimiluminescence), ou encore technique multiplexée (Luminex). Il est recommandé de rechercher le FR dans le sérum du patient contre des IgG animales (meilleure spécificité) et contre des IgG humaines (meilleure sensibilité). Ces tests permettent une quantification précise, utiles dans la mesure où les valeurs positives faibles ou fortes (3x le seuil de positivité dans ce dernier cas) permettant de distinguer plusieurs cas de figure pour l'établissement du diagnostic (151). Des taux élevés associés de FR d'isotype IgA et IgG ont également été reporté dans la RA (152).

Les tests permettant la détection des anticorps anti-CCP ont connu plusieurs phases de développement, avec une première génération reconnaissant des anticorps anti-filagrine (153). La deuxième et la troisième génération de test est en revanche basée sur des peptides cycliques citrullinés modélisés spécifiquement pour détecter les anticorps anti-CCP (154). Les tests de 3^{ème} génération mettent en jeu une large sélection de peptides citrullinés, permettant une détection plus large de patients atteints de PR comparativement aux tests de 2^{ème} génération (155). Ils permettent notamment d'obtenir une spécificité élevée > 95%, d'autant plus lorsque le taux dosé est élevé. La sensibilité reste correcte, avec entre 60 et 70% des patients PR retrouvés positifs (147). La présence de ces anticorps à un titre fort est corrélé à une maladie plus active, avec un risque plus élevé d'érosion articulaire.

D'autres auto-anticorps ont été proposés pour le diagnostic de la PR, sur la base de l'identification d'autres cibles antigéniques provenant de modifications post-traductionnelles comme les protéines citrullinées (156).

Sur cet état de fait, les anticorps anti-protéines carbamylées (anti-CarPA) ont été identifiés. Ces auto-anticorps ciblent des protéines ayant subi une carbamylation. La carbamylation correspond

à une modification post-translationnelle par fixation non enzymatique d'acide cyanique sur les groupes NH₂ libres des protéines, transformant les résidus lysine en homocitrulline, et générant alors des néo-épitopes (cf Fig 12). La carbamylation requiert de l'acide cyanique et intervient de manière minimale chez les sujets sains. Les concentrations d'urée et de cyanate, sources d'acides cyaniques, sont normalement insuffisantes pour provoquer une modification significative des protéines. L'augmentation des taux d'urée au cours de l'insuffisance rénale pourrait éventuellement favoriser la carbamylation des protéines, mais c'est surtout au cours de l'inflammation, notamment chronique, que la myéloperoxydase (MPO) des polynucléaires neutrophiles favorise la formation d'acide cyanique à partir de l'acide thiocyanique sous l'action du peroxyde d'hydrogène. Ainsi, l'augmentation d'activité de la MPO au cours de toute réaction inflammatoire favorise la carbamylation post-translationnelle des protéines. L'existence préalable d'un fond inflammatoire chez les patients pourraient favoriser ainsi le développement de ces anticorps anti-CarPA (156).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 12. Réaction de carbamylation (156)

Etudié sur un modèle murin, l'immunisation par des peptides préalablement carbamylés est responsable de l'induction d'une réponse immune, avec une prolifération des LT CD4⁺ associée à une signature IFN et IL17. Sur le plan clinique, les souris développent une arthrite érosive et produisent des anticorps anti-CarPA à taux élevés. La récupération des LT et LB des animaux immunisés pour transfert à des animaux sains permet le transfert de l'arthrite. En revanche, l'injection des anti-CarPA seuls à d'autres souris naïves n'induit pas d'arthrite (157).

Chez l'homme, l'étude de ces auto-anticorps chez les patients révèle une positivité plusieurs années en amont des premières manifestations cliniques, parfois avant même l'apparition des anti-CCP. De manière intéressante, ils sont retrouvés chez près de 8 à 14% de la population PR anti-CCP-, ce qui pourrait faire des anti-CarPA un marqueur sérologique spécifique et utile en complément pour le diagnostic de la PR (158,159).

Avec le même raisonnement, des anticorps anti-protéines oxydés ont été associés à la PR. Plus particulièrement, la modification post-translationnelle du collagène de type II par des espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène serait responsable de la création d'un auto-antigène dans la PR : le collagène de type II modifié. Ces auto-anticorps semblent très représentés chez les population PR, avec jusqu'à 95% de positivité selon l'étude, mais au prix d'une spécificité faible, avec une positivité non négligeable retrouvée chez des patients contrôles (160–162).

Enfin, la signature IFN a été particulièrement étudiée chez les patients PR, en particulier dans le tissu synovial. Les macrophages présents dans le liquide synovial de la PR expriment une signature IFN- γ forte, une expression accrue des gènes induits par IFN- γ , ainsi que d'IRF1 (interferon regulatory factor 1) induit par les IFN de type I, participant probablement à l'induction de l'arthrite (163). L'atteinte de la synoviale s'avère être sensible à l'utilisation d'inhibiteurs de Jak, ce qui suggère que l'efficacité de ces composés pourrait être liée, au moins en partie, à l'inhibition de la signalisation de l'IFN induite par les voies JAK-STAT (164). Enfin, la cytométrie de masse et les techniques de « RNA-seq » ont permis d'identifier pas moins de 18 sous-types cellulaires impliqués au sein de la synoviale des patients PR. Outre l'identification ces sous-types de cellules pathogènes, une signature de l'IFN est retrouvée dans une sous-population de fibroblastes HLA high potentiellement pathogènes sur la base de leur production en cytokines, dans deux sous-populations de macrophages et dans trois sous-populations de LB, dont la population B extra-folliculaire et productrice d'anticorps (CD11c⁺ T-bet⁺). Les LT CD8 expriment par ailleurs l'IFN- γ de manière spécifique et à une fréquence supérieure comparativement aux LT CD4⁺ (165). La caractérisation des fonctions pathogènes associées à

cette signature de l'IFN reste encore à explorer plus largement dans la PR, notamment sur leur éventuelle utilité en pratique.

e. Diagnostic

Le diagnostic repose sur l'identification clinique et radiologique des atteintes articulaires et la recherche biologique des auto-anticorps anti-peptides citrullinés et du facteur rhumatoïde. La classification la plus utilisée est la classification de l'ACR/EULAR proposée en 2010 (voir Tableau 4) (151). La population cible pour la recherche d'une PR correspond aux patients ayant au moins une atteinte articulaire synoviale définie cliniquement, non expliquée par une autre maladie. Les critères de classifications s'organisent en 4 catégories de A à D rapportant chacune un score chiffré. Un score supérieur ou égal à 6 permet la classification en RA.

Catégories	Score
A. Atteinte articulaire	
1 grosse articulation	0
2 à 10 grosses articulations	1
1 à 3 petites articulations (avec ou sans atteinte de grosses articulations)	2
4-10 petites articulations (avec ou sans atteinte de grosses articulations)	3
Plus de 10 articulations (dont au moins une petite articulation)	5
B. Sérologie	
FR et anti-CCP négatifs	0
FR faiblement positif et/ou anti-CCP faiblement positif	2
FR fortement positif et/ou anti-CCP fortement positif	3
C. Réaction inflammatoire	
CRP et VS normale	0
CRP et/ou VS anormale	1
D. Durée des symptômes	
Inférieur à 6 semaines	0
Supérieure ou égale à 6 semaines	1

Tableau 4. Critères de l'ACR/EULAR (2010) pour le diagnostic d'une polyarthrite rhumatoïde (151)

Les valeurs négatives correspondent à des valeurs inférieures ou égales à la limite de positivité fixée par le laboratoire. Les valeurs faiblement positives correspondent à des valeurs en unités internationales (UI) comprises entre le seuil de positivité et 3 fois le seuil de positivité. Enfin, les valeurs fortement positives correspondent aux valeurs mesurées en UI supérieures à 3 fois le seuil de positivité.

5. Sclérodémie systémique (SSc)

a. Présentation de la maladie

La sclérodémie systémique (SSc) est une MAI non spécifique d'organe touchant le tissu conjonctif, entraînant alors de la fibrose, et caractérisée dans le même temps par une hyper-réactivité vasoconstrictive des artérioles et des micro-vaisseaux entraînant des oblitérations vasculaires. On retrouve principalement une atteinte cutanée typique permettant la réalisation du diagnostic, mais également des atteintes viscérales conditionnant le devenir des patients (166).

La maladie reste rare et impacte environ 1 personne sur 10000, principalement des femmes entre 45 et 65 ans. On retrouve des facteurs de risque génétiques avec une survenue plus élevée de cas au sein d'une même famille, avec des associations avec des loci particuliers du HLA de classe II. Notamment, le HLA-DQB1*0301 confère une grande susceptibilité à la survenue d'une SSc. D'autres HLA sont également décrits et associés à certains auto-anticorps connus dans la SSc : HLA-DRB1*11 avec les auto-anticorps anti-topo isomérase I ; et HLA-DRB1*01 et HLA-DQB1*0501 avec les auto-anticorps anti-centromères. D'autres gènes ont été mis en cause, impliquant la voie de l'interferon type 1, ou encore la voie de l'IL-12. Parmi les facteurs environnementaux, des toxiques ont également été incriminés dans la survenue de SSc, donnant lieu à des maladies professionnelles, comme par exemple en cas d'exposition à la silice (10).

b. Physiopathologie

Les formes cliniques sont hétérogènes, mais rassemblent des caractéristiques communes sur le plan physiopathologique. On retrouve notamment des dommages microvasculaires associés à une auto-immunité, de l'inflammation, et un épaississement fibreux du derme dans divers organes suite à une production excessive de matrice extracellulaire par les fibroblastes sous la dépendance de diverses cytokines et facteurs de croissance (167). Trois mécanismes interviennent donc de manière concomitante : la fibrose, l'inflammation et la vasculopathie.

Le phénomène de Raynaud, prévalent chez quasiment tous les patients SSc, témoigne de l'atteinte microvasculaire et de la dysfonction de l'endothélium existants dans la SSc (168). Cette atteinte du réseau microvasculaire fait partie des éléments les plus précoces dans l'histoire de la maladie (169). Les dommages interviennent en parallèle d'une activation des cellules endothéliales qui expriment des molécules d'adhésion I-CAM1 et V-CAM1 supplémentaires (170). Ces cellules produisent alors de manière importante des facteurs pro-angiogéniques, notamment le VEGF-A, suite à la perméabilité vasculaire accrue et l'hypoxie tissulaire (171,172). Toutefois, on retrouve paradoxalement plutôt une insuffisance angiogénique au sein des tissus, avec une altération de la capacité fonctionnelle des cellules endothéliales, possiblement dus à la surexpression d'un isoforme anti-angiogénique particulier du VEGF, le VEGF 165b (173). Dans le cadre de la SSc, le VEGF semble participer directement à la perturbation de l'angiogenèse, avec la mise en évidence, dans des souris transgéniques VEGF^{+/-} et VEGF^{+/+}, d'un plus grand nombre de microvaisseaux et du développement spontané de fibrose comparativement à des animaux contrôles (174). Les cellules endothéliales synthétisent également des molécules profibrosantes comme le CTGF (connective tissue growth factor), qui favorise le développement de la fibrose (175). A terme, le tissu endothélial est remanié avec prolifération des cellules de l'intima et de la média, et avec une fibrose de l'adventice conduisant à un rétrécissement des artérioles, une ischémie en aval et un stress oxydant.

Des perturbations du système immunitaire sont retrouvés en parallèle dans la SSc. Une inflammation chronique nette est ainsi retrouvée sur les sites touchés, notamment la peau et le poumon. Une signature IFN type I est retrouvable dans le sang et in situ sur les cellules monocytes/macrophages et les cellules dendritiques plasmacytoïdes, reflétant l'activation de l'immunité innée via les TLR (176). Concernant les macrophages, un profil mixte particulier de macrophages M1/M2 est retrouvée, mais la polarisation de type M2 semble prédominer dans la SSc. Elle se caractérise par une sécrétion faible d'IL-12 et d'IL-23, et une sécrétion élevée d'IL-4, d'IL-10, d'IL-13, d'IL-6, ou encore de CTGF (connective tissue growth factor), et est étroitement lié au développement d'un environnement à la fois inflammatoire et pro-fibrotique (177–179). On retrouve également sur les tissus lésés une infiltration lymphocytaires T et B, marquant l'activation de l'immunité adaptative. Parmi les LT CD4, on retrouve principalement des lymphocytes Th2 produisant majoritairement de l'IL-4 et de l'IL-13, participant notamment à l'induction de fibrose, aux côtés des LT CD8+ (177,180). Les populations T infiltrantes localement sont oligoclonales, suggérant la présence d'un auto-antigène au niveau du derme. Quant à eux, les LB retrouvés présentent un profil de cellules activées, et produisent des auto-anticorps participant à la pathogénicité dans la maladie (181,182).

L'environnement inflammatoire et la vasculopathie sont finalement accompagnés par la fibrose pouvant toucher tous les organes, mais qui débute classiquement au niveau du derme. Elle résulte d'une synthèse exagérée de composants de la matrice extracellulaire (MEC), associée des défauts de résorption et des modifications de sa composition. Parmi les éléments en cause, on retrouve une activation excessive et persistante de la voie du TGF- β avec production de cytokines (IL-4 et IL-6) favorisant la migration de lymphocytes au travers de la barrière endothéliale pour leur accumulation dans le derme (183) ; et une synthèse accrue de CTGF (connective tissue growth factor) responsable d'une production incontrôlée de collagène de type IV, de fibronectine ou encore de protéoglycanes (184,185). La voie du TGF- β semble également favoriser la transition épithélio-mésenchymateuse observée dans la SSc, et participant à l'apparition de myofibroblastes ayant une contribution importante à la fibrose (186,187).

Les composantes vasculaires, inflammatoires et pro-fibrotiques et leur interaction sont récapitulés dans le schéma physiopathologique ci-après (voir Fig 13).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 13. Physiopathologie de la sclérodermie systémique, d'après Katsumoto T et al. (188)

c. Clinique

Sur le plan clinique, on retrouve chez quasiment tous les patients un phénomène de Raynaud : il correspond à l'apparition au froid de troubles vasculaires au niveau des extrémités avec plusieurs phases successives. On retrouve tout d'abord une phase syncopale (doigts « blancs »), une phase cyanotique (doigts « bleus ») et une phase érythémateuse (doigts « rouges »). Le phénomène de Raynaud reste plus sévère et plus mutilant que le syndrome de Raynaud idiopathique, avec notamment des asymétries et des atteintes du pouce, du nez ou des oreilles (168). Certains patients présentent également un syndrome sec se rapprochant de celui ressenti dans le syndrome de Gougerot-Sjögren (166).

La sclérodermie fait référence à l'épaississement cutané, pouvant être localisé, ou associé avec une ou plusieurs atteintes d'organes. On retrouve aussi certaines formes frontières ou des syndromes de chevauchement avec d'autres MAI : Syndrome de Sharp : connectivite mixte ou

polymyosite/lupus, CBP (cirrhose biliaire primitive), SjS, PR (189). Les manifestations dermatologiques sont retrouvées chez une large majorité de patients et permettent de poser le diagnostic. On retrouve des atteintes des doigts qui sont boudinés, rouges, érythémateux puis effilés et fixés en légère flexion. La peau est pâle, atrophique et indurée, impossible à pincer en raison de la perte d'élasticité du tissu : on parle de sclérodactylie. Ces atteintes peuvent se compliquer par des lésions à type d'ulcérations digitales de façon fréquente et douloureuse. Les mécanismes mis en jeu peuvent être des causes mécaniques, de l'ischémie ou de la calcinose. Au niveau du visage, on peut noter des télangiectasies visibles autour de la bouche et au niveau des mains, un pli radié péri-buccal (à cause de la peau scléreuse), une limitation de l'ouverture buccale de par la sclérose de la peau. L'utilisation d'un dermatoscope est utile pour l'observation des capillaires au niveau péri-unguéal. Chez les patients sclérodermiques, on observe des méga-capillaires qui sont des capillaires dilatés formant des anses typiques et pouvant aider au diagnostic (190).

Des atteintes d'organes sont également importantes et définissent le pronostic des malades. Les atteintes digestives sont ainsi fréquentes et précoces comparativement aux autres atteintes viscérales, pouvant aller jusqu'à la malnutrition sévère et nécessiter une alimentation parentérale.

L'ensemble du tube digestif peut être atteint à commencer par l'œsophage. On retrouve alors une dysphagie ou un reflux gastro-œsophagien (RGO) dû à une hypotonie du sphincter inférieur de l'œsophage (SIO), siège d'une inflammation chronique. Les atteintes de l'intestin et du colon peuvent être responsable d'une prolifération bactérienne anormale, de la malabsorption et des syndromes pseudo-occlusifs par perte du péristaltisme (191).

L'atteinte pulmonaire, plus particulièrement l'atteinte pulmonaire interstitielle, est la cause la plus fréquente de mortalité chez les patients atteints de SSc, avec une prévalence de presque 30% des patients et avec un taux de mortalité de presque 40% après 10 ans, surtout en cas de positivité des anticorps anti-Scl70 (topoisomérase I). Les atteintes pleuro-pulmonaires se manifestent au départ par des signes cliniques peu spécifiques comme la dyspnée, la toux sèche et la douleur thoracique. On retrouve notamment une pneumopathie interstitielle évoluant vers une fibrose prédominante aux bases. On la dépiste par l'évaluation des échanges gazeux qui sont diminués en raison d'une barrière hémato-alvéolaire épaissie. Une HTAP peut également être observée, entraînant une insuffisance respiratoire et une insuffisance cardiaque droite (192).

L'atteinte cardiaque est fréquente mais souvent de faible impact, soit primaire, soit secondaire à l'atteinte pulmonaire. On peut noter tout de même des myocardites associées à des troubles de conduction et des troubles du rythme, des insuffisances cardiaques, des péricardites, des insuffisances ventriculaires droites (consécutives à l'atteinte pulmonaire), et des cardiomyopathies secondaires à la microangiopathie (193).

D'autres atteintes existent comme les atteintes ostéo-articulaires, musculaires, ou encore rénales qui restent rares (166).

Enfin, il existe une forme clinique particulière qui est le CREST syndrome (Calcifications ; Raynaud, Œsophage – RGO, Sclérodactylie, Télangiectasies). Il s'agit d'une forme lentement progressive et limitée de la sclérodermie dont l'impact est principalement cutané. Les anticorps anti-centromères sont caractéristiques de cette forme limitée (194).

d. Biologie

Le diagnostic immunologique commence par la recherche des anticorps anti-nucléaires par immunofluorescence indirect sur lame de cellules HEp-2. Le titre et les aspects de fluorescence sont capitaux pour l'établissement des spécificités des anticorps (195).

Parmi les spécificités retrouvées, les anticorps anti-Scl70 (ou anti-topoisomérase I) sont retrouvés chez 21 à 34% des patients selon les études, les anticorps anti-centromères chez 15-43% des patients, les anti-RNA polymérase III chez 5% des patients et les anti-fibrillarine/U3RNP chez 5% des patients (196).

Les auto-anticorps anti-Scl70 peuvent donner deux aspects de fluorescence possibles : un aspect moucheté en grains fins du noyau avec un marquage finement moucheté de la chromatine condensée et un renforcement possible des nucléoles (aspect AC-29 de la classification anapattern, voir Fig 14), ou un aspect de fluorescence homogène dans le noyau avec un possible renforcement périphérique se rapprochant de l'aspect des anti-ADNdb (aspect AC-1 de la classification anapattern). Ces anticorps anti-Scl70 sont relativement spécifiques de la sclérodémie systémique. On les retrouve ainsi dans 2/3 des cas dans des sclérodémies systémiques diffuses et dans 1/3 des cas dans des formes de sclérodémie limitée. Les anti-Scl70 sont également corrélés à l'évolution clinique, avec un risque de fibrose pulmonaire précoce et sévère et plus généralement un mauvais pronostic (196).

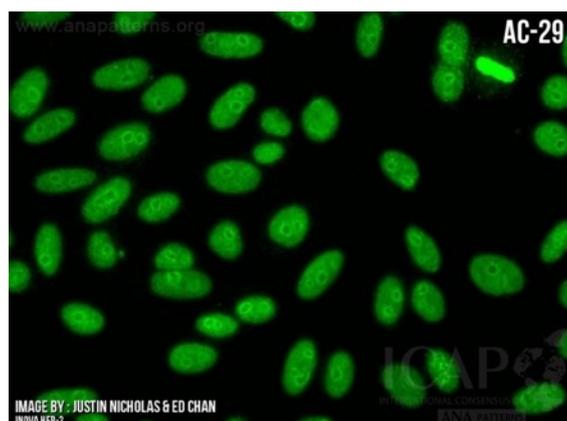


Fig 14. Aspect de fluorescence nucléaire moucheté en grains avec un renforcement des nucléoles (AC-29) sur cellules HEp-2, photographie anapattern.org

A l'inverse, les anticorps anti-centromères sont associées aux formes limitées de sclérodémie comme le CREST syndrome (30% des formes de sclérodémie), de manière très spécifique puisque leur détection possède une spécificité pour le diagnostic de plus de 90%. L'aspect moucheté caractéristique de type anti-centromère est retrouvé en immunofluorescence indirecte sur cellules HEp-2 (aspect AC-3 de la classification anapattern, voir Fig 15). Dans les cellules en interphase, 23 ou 46 grains sont observables, et à la faveur d'une mitose, ces grains se retrouvent alignés et compactés en superposition avec la chromatine. Les cibles sont au nombre de 3 : CENP-A, CENP-B et CENP-C, localisées dans la région centromérique. Ces anticorps sont retrouvés à une fréquence un peu plus élevée dans les populations blanches que chez les populations noires ou asiatiques (196).

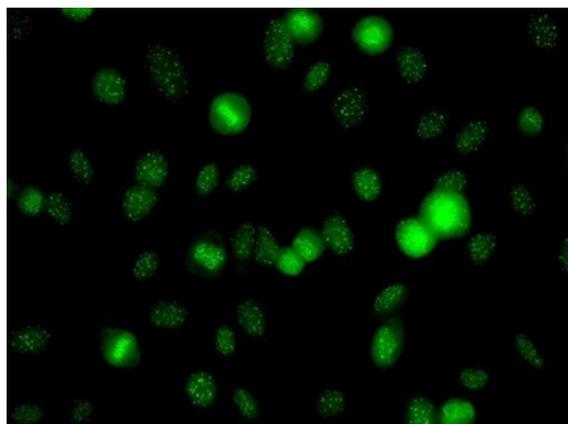


Fig 15. Aspect de fluorescence anti-centromères (AC-3) sur cellules HEp-2, photographie prise au laboratoire d'immunologie du CHRU de Brest

Les anticorps anti-fibrillarine/U3-RNP sont retrouvés plus rarement, particulièrement chez les patients noirs. Ils ont un aspect de fluorescence particulier, d'identification difficile, nécessitant une identification par une méthode complémentaire. Les anticorps anti-fibrillarine/U3-RNP ont un aspect d'immunofluorescence nucléolaire avec un marquage péri-chromosomique des plaques équatoriales (aspect AC-9 de la classification anapattern, voir Fig 16). Ces anticorps sont associés plus volontiers à une forme diffuse de SSc, avec notamment des crises rénales sclérodermiques (197).



Fig 16. Aspect de fluorescence nucléolaire avec marquage péri-chromosomique (AC-9) sur cellules HEp-2, photographie anapattern.org

Les auto-anticorps anti-PM/Scl sont associés à une forme particulière de patients ayant un syndrome de chevauchement associant des symptômes de sclérodémie et de polymyosite. L'aspect retrouvé sur lame est un aspect de fluorescence nucléolaire homogène (aspect AC-8 de la classification anapattern, voir Fig 17) (196).



Fig 17. Aspect de fluorescence nucléolaire homogène (AC-8) sur cellules HEp-2, photographie anapattern.org

Le reste du bilan classique est non spécifique et permet d'évaluer les atteintes organiques dans la maladie ainsi que l'inflammation systémique. De nombreux autres anticorps peuvent également être associés à la SSc, soit de prévalence très faible, soit moins spécifiques de la maladie (196).

Enfin, bien que l'inflammation soit étroitement liée aux mécanismes pro-fibrotiques observés au cours de la maladie, le rôle de l'IFN et des principaux acteurs cellulaires pathogènes reste actuellement en cours d'exploration. La présence d'une signature IFN est retrouvée de manière précoce chez une grande proportion de malades, à la fois à l'échelle systémique et cutanée (198–201). Une implication des pDC à cette signature est une nouvelle fois suggérée en raison de leur rôle prépondérant dans la réponse inflammatoire et le remodelage tissulaire via la production d'IFN type 1 (202). Les pDC sont notamment fortement retrouvées dans les maladies inflammatoires et/ou auto-immunes cutanées comme les dermatites d'interface (203,204).

Par ailleurs, plusieurs polymorphismes touchant différents gènes de régulation de la voie de l'interferon ont pu être décrits chez l'homme, et favorisent la survenue et l'évolution de la maladie, comme IRF5 (205,206), IRF7 (207) ou encore Stat4 (Signal Transducers and Activators of Transcription 4) (208). Le KO de IRF5 a notamment été étudié dans un modèle murin et se révèle responsable d'une atténuation de l'infiltrat cutané et pulmonaire en cellules inflammatoires, d'un défaut de fonctionnalité des cellules endothéliales et d'une réduction de la survenue de fibrose induite par bléomycine, via un rôle de régulation des gènes codant pour la production de collagènes et de métalloprotéases. Ces observations suggèrent un rôle clé d'IRF5 sur l'ensemble des caractéristiques pathologiques retrouvables dans la SSc (209). Des études complémentaires sont requises pour déterminer le rôle causal ou accompagnateur de la signature IFN dans la SSc, ainsi que l'éventuelle utilisation de ces signatures IFN en biomarqueurs pour le diagnostic, le pronostic ou encore l'utilisation de thérapeutiques ciblées.

e. Diagnostic

Le diagnostic est fortement orienté grâce aux signes cliniques et plus spécifiquement les atteintes cutanées. Des premiers critères diagnostiques ont été proposés par l'ACR en 1980. On retrouve un critère majeur correspondant à la sclérose cutanée proximale et quelques critères mineurs comme la sclérodactylie, des cicatrices déprimées au bout d'un doigt, des ulcérations digitales ou une fibrose pulmonaire bilatérale des bases. Un critère majeur ou au moins deux critères mineurs sont requis pour affirmer le diagnostic. L'inconvénient de ces critères correspond au caractère tardif et évolué des lésions permettant le diagnostic (210).

Les critères de LeRoy sont alors proposés en 2001, avec l'objectif de pouvoir poser un diagnostic de manière plus précoce (211). Une sclérodermie systémique cutanée limitée doit ainsi présenter une atteinte cutanée distale ainsi qu'une des 3 conditions suivantes :

- Phénomène de Raynaud objectivement documenté + anomalie à la capillaroscopie
- Phénomène de Raynaud objectivement documenté + anticorps de sclérodermie systémique à un titre significatif
- Phénomène de Raynaud subjectif + anomalie à la capillaroscopie + anticorps de sclérodermie systémique à un titre significatif

Ces critères proposent également un diagnostic pour les sclérodermies systémiques cutanées diffuses. Il faut alors une atteinte cutanée proximale associée à l'une des trois situations mentionnées précédemment.

Les derniers critères proposés sont les critères ACR/EULAR de 2013 (cf Tableau 5) (212). Un score supérieur ou égal à 9 permet de poser le diagnostic de SSc. Le score total est déterminé

par l'addition des scores maximaux dans chaque catégorie. La sensibilité estimée est de 91% pour une spécificité de 92%.

Domaines	Score
Sclérose cutanée des doigts s'étendant au-delà des MCP (critère suffisant)	9
Épaississement cutané des doigts (seul l'item avec la plus haute valeur de score compte)	
Doigts boudinés	2
Sclérodactylie	4
Lésions pulpaire s (seul l'item avec la plus haute valeur de score compte)	
Ulcère digital pulpaire	2
Cicatrices	3
Télangiectasies	2
Anomalies à la capillaroscopie	2
Atteinte pulmonaire (HTAP ou pneumopathie interstitielle diffuse)	2
Phénomène de Raynaud	3
Auto-anticorps spécifiques de la SSc (anti-centromères, anti-Scl70/topoisomérase I, anti-RNA polymérase III)	3

Tableau 5. Critères de l'ACR/EULAR (2013) pour le diagnostic de sclérodémie systémique (212)

6. Syndrome des anti-phospholipides (SAPL)

a. Présentation de la maladie

Le syndrome des anti-phospholipides correspond à une thrombophilie acquise d'origine auto-immune. On retrouve donc la survenue d'un ou plusieurs événements thrombotiques accompagnés par des auto-anticorps hétérogènes nommés anti-phospholipides, persistants et dirigés contre des phospholipides et/ou des protéines impliqués dans le contrôle de la coagulation (67).

Le SAPL se manifeste principalement chez des sujets jeunes (90% des cas avant 50 ans). Dans la moitié des cas, le SAPL sera primaire avec des manifestations thrombotiques isolées, ou bien secondaire à une autre MAI, très majoritairement le LES. La maladie survient principalement chez la femme (sex ratio de 3,7), d'autant plus si le SAPL est secondaire à un lupus (sex ratio de 7). 10% des SAPL primaires évolueront en LES tandis que 30% des LES développent un SAPL secondaire (213). Ces éléments épidémiologiques nous informent sur l'association forte entre les deux maladies ainsi que sur la nécessité de rechercher systématiquement les deux maladies chez un patient SAPL ou LES, afin d'apporter un traitement de prévention primaire des manifestations thrombotiques. Pour autant, les mécanismes physiopathologiques sous-jacents semblent distincts.

b. Physiopathologie

La physiopathologie du SAPL reste partiellement élucidée de nos jours (67,214). Il a été proposé que la survenue des événements thromboemboliques soit basé sur un modèle à deux temps (215). En effet, malgré la présence d'aPL chez presque 5% de la population, la survenue de manifestations thrombotiques reste occasionnelle, suggérant ainsi que la présence d'aPL est une condition nécessaire mais insuffisante à la survenue d'un véritable SAPL. Un premier événement serait donc dépendant des anticorps aPL afin de déséquilibrer l'hémostase physiologique via l'activation d'acteurs cellulaires comme les cellules endothéliales, les plaquettes, les monocytes ou encore les lymphocytes. Par la suite, un deuxième événement est nécessaire pour déclencher la cascade de la coagulation induisant la thrombose, comme par exemple une infection, une maladie auto-immune sous-jacente, ou encore l'existence de facteurs de risques pro-coagulants (tabac, pilule contraceptive, mutations génétiques, chirurgie, facteurs risques cardiovasculaires classiques) (216). Ces facteurs de risque de thromboses surajoutés sont retrouvés chez plus de 50% des patients diagnostiqués.

La pathogénèse du SAPL est étroitement liée à la synthèse d'anticorps anti-phospholipides. Ces anticorps anti-phospholipides représentent une famille d'auto-anticorps hétérogènes pouvant cibler des phospholipides, ou bien des cofacteurs permettant leur fixation cellulaire *in vivo* et *in vitro*. La cible antigénique principale identifiée aujourd'hui est la β 2GPI (β 2-glycoprotéine I). Il s'agit d'une glycoprotéine anionique à 5 domaines liant les phospholipides appartenant à la superfamille des protéines contrôlant le complément et circulant sous forme circulaire. La liaison aux phospholipides entraîne un changement conformationnel, exposant notamment le domaine 1. La majorité des anticorps anti- β 2GPI reconnaissent des épitopes cryptiques de ce domaine 1, induisant une dimérisation de la β 2GPI à la surface cellulaire et conduisant à un état pro-thrombotique (214,217).

D'autres cibles des anticorps anti-phospholipides existent mais semblent d'importance moindre, responsable d'une non-utilisation de ces auto-anticorps dans les critères diagnostiques (ex : phospholipides autres comme la phosphatidylsérine ou la phosphatidyléthanolamine, cardiolipides, prothrombines, protéine C, protéine S, annexine V, plasmine etc.).

La fixation des APL directement ou via un cofacteur permet d'activer différents acteurs cellulaires. Dans le cas des anti- β 2GPI, une interaction est décrite avec les récepteurs cellulaires comme l'annexine A2 et les TLR sur les cellules endothéliales et les monocytes (218,219) ; ou encore avec apoER2 et GpIbR sur les plaquettes (220,221). Les monocytes et les cellules endothéliales activés par ce mécanisme produisent alors des molécules pro-thrombotiques notamment le facteur tissulaire correspondant au principal activateur de la voie extrinsèque de la coagulation (222). De plus, les cellules endothéliales adoptent un phénotype pro-inflammatoire et pro-adhésif avec l'expression de molécules d'adhésion comme la E-selectine, VCAM1 et ICAM-1 et produisent des chimiokines recrutant des monocytes. L'activation des plaquettes quant à elle affecte la création du complexe V2GPI/GpIIb/IIIa et induit une production plus élevée de thromboxane A2 et B2. On a donc l'induction d'un état pro-aggrégant et pro-coagulant.

Un autre mécanisme pro-coagulant mis en jeu via les auto-anticorps est l'inhibition des facteurs anticoagulants comme la protéine C qui permet d'inactiver les facteurs V et VIII (223), ou encore le TFPI (tissue pathway factor inhibitor) exerçant normalement un contrôle négatif sur la sécrétion de facteur tissulaire (224). De même, les anticorps anti- β 2GPI peuvent interférer avec la fibrinolyse en bloquant la transformation du plasminogène en plasmine suite à leur action sur le t-PA (225). Ce blocage permet de maintenir un état pro-thrombotique et non résolutif.

D'autres mécanismes semblent également intervenir de manière indépendante des auto-anticorps. Plusieurs études montrent une consommation du complément au cours du SAPL, plus particulièrement dans les SAPL responsables de manifestations obstétricales (226). Sur des modèles murins, la déficience en récepteurs au C3, C5 ou C5a induit une protection face aux pertes fœtales induites par l'injection d'anticorps anti- β 2GPI IgG humains (227,228). De même, l'utilisation d'un anticorps monoclonal thérapeutique anti-C5 permet de prévenir les événements thrombotiques chez la souris (229). De plus, lors de l'activation du complément, la libération des anaphylatoxines C3a et C5a pourraient également jouer un rôle pour l'induction d'un état pro-inflammatoire (230).

Un schéma du mécanisme d'action des anticorps anti- β 2GPI est disponible ci-dessous (Fig 18).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 18. Mécanisme physiopathologique d'action des anticorps anti- β 2GPI (231)

c. Clinique

Le tableau clinique du SAPL est caractérisé par la survenue de thromboses veineuses et/ou artérielles et par des pertes fœtales. Les événements thrombotiques peuvent toucher l'intégralité des vaisseaux sanguins (artères, capillaires et/ou veines), indifféremment de la taille et de la localisation, ce qui explique la diversité des présentations cliniques. Ce sont les territoires pouvant être impactés qui font la véritable gravité du SAPL (232).

Les thromboses veineuses surviennent en l'absence de facteur favorisant évident, sur des territoires classiques ou inhabituels (veines sus-hépatiques, veine porte, veine rénale, veine rétinienne), parfois immédiatement une embolie pulmonaire. Les thromboses artérielles impactent principalement la vascularisation cérébrale, avec la survenue d'AIT (accidents ischémiques transitoires) ou d'AVC (accidents vasculaires cérébraux) chez un sujet jeune. D'autres localisations artérielles existent : thromboses artérielles coronariennes provoquant des infarctus du myocarde ou de l'angor instable, des thromboses des artères axillaires, de la rétine,

du rein, des membres inférieurs. Comme pour les thromboses veineuses, ces thromboses artérielles surviennent en l'absence de facteur de risque vasculaire, et vont avoir tendance à récidiver. D'autres manifestations cliniques, conséquence des atteintes vasculaires, peuvent être également retrouvées comme les valvulopathies cardiaques, le livedo reticularis, les néphropathies ou les manifestations neurologiques diverses. En raison des thromboses pouvant survenir dans des localisations variées, on pourra observer des complications pulmonaires (maladies thrombo-emboliques veineuses ou MTEV, hypertension artérielle pulmonaire ou HTAP), rénales (microangiopathie glomérulaire, thrombose de la veine ou de l'artère rénale, hypertension artérielle ou HTA), neurologiques (myélite, démences vasculaires), ou une ostéonécrose de la tête fémorale. On retrouvera aussi des manifestations cutanées de moindre gravité avec des livedo reticularis, une nécrose distale ou des ulcères cutanés (67,213,215).

Sur le plan obstétrical, les fausses couches précoces et répétées sont la manifestation la plus retrouvée dans le cadre du SAPL, mais cet élément reste peu spécifique en raison du nombre de fausses-couches retrouvée également dans la population générale (67). De manière plus tardive au cours de la grossesse et en raison d'une insuffisance placentaire, on note une prématurité plus fréquente (33% des grossesses), des retards de croissance intra-utérins (RCIU), voire un avortement ou une mort fœtale in utero. La femme enceinte atteinte de SAPL est également à risque de décollement placentaire et de pré-éclampsie pouvant aller jusqu'au HELLP syndrome (Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets) (233–235). La cohorte « EuroPhospholipid » ayant inclus plus de 1000 patients permet d'avoir une vision précise de la symptomatologie retrouvable chez les patients SAPL (213).

Dans de très rares cas, il peut survenir un syndrome catastrophique des anti-phospholipides (CAPS), avec des thromboses massives multiviscérales responsables d'atteintes graves, à la faveur d'un élément déclenchant supplémentaire (chirurgie, infection, grossesse, arrêt des traitements anticoagulants etc.). Cette entité correspondant à une microangiopathie thrombotique capable d'induire une défaillance multiviscérale secondaire. On retrouvera des signes pouvant impacter tous les organes (236–238) :

- Signes généraux : confusion jusqu'au coma
- Rein : microangiopathies, insuffisance rénale aiguë IRA, HTA malignes
- Système nerveux central : épilepsie, état de mal
- Poumons : syndrome de détresse respiratoire aiguë ou SDRA, hémorragies alvéolaires, embolies pulmonaires
- Cœur : tachycardie, HTA maligne, infarctus

Le diagnostic reste difficile en raison du nombre important de diagnostics différentiels. Un registre créé en 2000 a permis de recenser à ce jour plus de 400 cas et a permis d'affiner des critères diagnostiques. Le pronostic reste toutefois sombre avec 44% de mortalité immédiate (238) : le diagnostic et la prise en charge précoce sont impératives. Un algorithme mis en place en 2003 (239) ainsi que divers outils (240) sont disponibles pour l'identification précoce d'un CAPS (voir Fig 19).

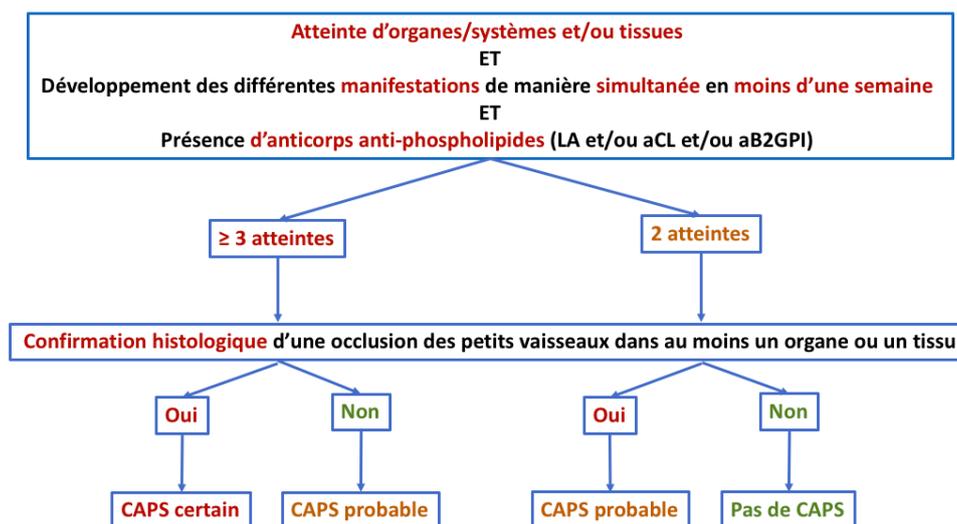


Fig 19. Algorithme décisionnel pour le diagnostic de syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS), adapté de Asherson et al. (239)

d. Biologie

La recherche d'un SAPL est basée sur 3 tests : la recherche d'un lupus anticoagulant (LA) correspondant à un test de coagulation, et la recherche des anticorps anti-cardiolipines (anti-CL) et des anticorps anti-β2GPI détectés par technique immunologique. Il est essentiel de répéter les analyses biologiques à 12 semaines car les anticorps peuvent être induits de manière transitoire, sans impact sur l'état de coagulation du patient. On peut ainsi détecter des anticorps anti-phospholipides et/ou un LA positif en l'absence de thrombose lors d'une infection (parvovirus B19, EBV, CMV, VIH, paludisme etc.), en raison d'un médicament inducteurs (β-bloquants, interférons etc), lors d'un cancer solide ou d'une hémopathie, en cas d'alcoolisme chronique, d'une drépanocytose, ou dans d'autres MAI comme la sclérose en plaque (SEP), ou les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (241). De plus, 1 à 5% de la population générale présente des anticorps anti-phospholipides sans signification clinique, et dont le titre augmente avec l'âge. Ces éléments rendent difficiles l'interprétation des tests biologiques lorsqu'il n'y a pas encore eu de thrombose préalable. Ils peuvent alors conduire à des diagnostics par excès (242,243).

Ces tests sont réalisés selon les recommandations émises par l'ISTH (Société internationale d'hémostase et de thrombose). Les recommandations pour la détection du lupus anticoagulant (LA) ont été réactualisées en 2009 (244). Pour les anti-CL et anti-β2GPI, les dernières recommandations sont celles de 2014 (245).

Sur le plan pratique, le LA (lupus anticoagulant) ou ACC (anticoagulant circulant de type lupique) permet d'identifier tous types d'anticorps capables d'allonger in vitro le temps des tests de coagulation dépendants des phospholipides. Malgré cette action anticoagulante in vitro, ces anticorps s'avèrent pro-thrombotiques in vivo. La détection du LA se fait après sur un tube citraté prélevé chez un patient sans traitement anticoagulant, en raison de la perturbation des tests par les traitements. Deux tests doivent être réalisés mettant en jeu différentes méthodes, dont au moins une utilisant des phospholipides. Pour cette dernière, c'est le dRVVT (temps de venin de Vipère Russell dilué) qui est recommandé en première intention (244,246). Le LA sera considéré positif si un des deux tests est positif.

Le plus fréquemment, un test de mélange est réalisé en première intention afin de dépister un allongement du TCA non corrigé après l'ajout d'un plasma témoin. A cette fin, l'indice de

Rosner est calculé de la manière suivante, avec M désignant le malade, et T désignant le témoin :

$$\text{Indice de Rösner} = \frac{TCA (M + T) - TCA (T)}{TCA (M)}$$

Un score inférieur à 12 permet d'affirmer l'absence d'anticoagulant circulant lupique, un score supérieur à 15 indique la présence d'anticoagulant circulant lupique. Entre ces deux valeurs, il existe une zone grise requérant la réalisation d'un test complémentaire au dRVVT. Ensuite, un test de confirmation est requis pour affirmer la dépendance en phospholipides : la saturation en phospholipides doit ainsi permettre de corriger l'allongement du temps de coagulation observée initialement (244,246). Un récapitulatif des tests mis en place au CHRU de Brest est fourni à la suite à titre d'exemple (voir Fig 20).

Diagnostic d'un anti-coagulant circulant

3 TESTS DISPONIBLES

RÖSNER

Test de mélange



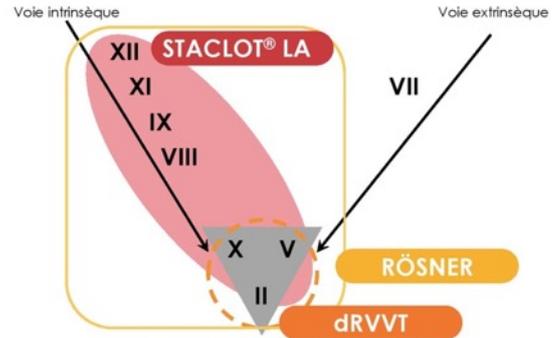
dRVVT

Temps de venin de vipère Russell dilué



STACLOT® LA

PL en phase hexagonale

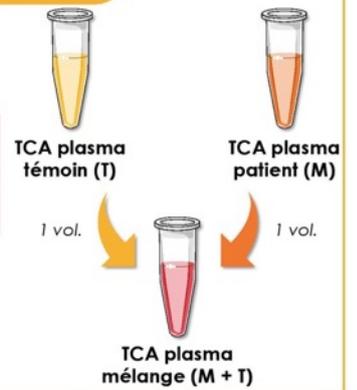


1 RÖSNER

Test non PL dépendant

TCA sensibilisés aux ACC lupiques (faible [PL])

$$\text{Indice de Rösner} = \frac{\text{TCA(M+T)} - \text{TCA(T)}}{\text{TCA(M)}}$$

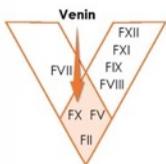


Faux positifs : AOD, héparines, inflammation

2 Temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT)

Test PL dépendant

○ Venin de vipère Russell : activation directe du FX ○ 2 tests :

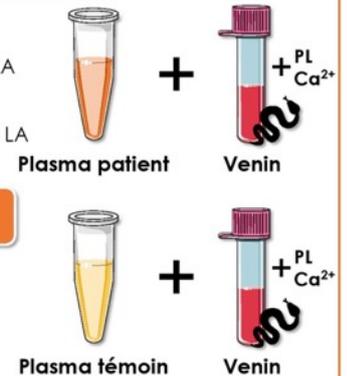


- Affranchissement des anomalies de la voie intrinsèque
- Mélange plasma (patient ou témoin) + activateur (venin) + Ca²⁺ + PL
- Expression par le ratio :

$$\frac{\text{dRVVT patient}}{\text{dRVVT témoin}} \text{ (screen et confirm)}$$

- dRVVT screen : faible [PL] → sensibilité aux LA
 - Ratio screen > 1 → suspicion LA
- dRVVT confirm : forte [PL] → insensibilité aux LA
 - Ratio confirm > 1,2 → LA

$$\text{Ratio normalisé} \frac{\text{screen}}{\text{confirm}} \geq 1,2 \rightarrow \text{dRVVT POSITIF}$$



Faux positifs : AOD, AVK

3 STACLOT® LA

Test PL dépendant

○ Explore les ACC lupiques dirigés notamment contre le complexe ténase ou contre PL phase hexagonale

- ACC non détectés via le dRVVT
- PL en phase hexagonale (autre cible ACC lupique ?)
- Expression par la différence de temps :

$$\text{Tube 1} - \text{Tube 2} > 8 \text{ sec} \rightarrow \text{StacLOT® LA POSITIF}$$

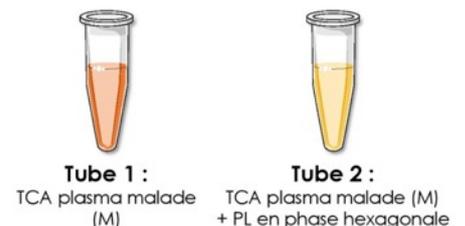


Fig 20. Stratégie mise en place au laboratoire d'hématologie du CHRU de Brest pour le diagnostic d'un anticoagulant circulant, avec l'aimable autorisation de S. Jaouen

En complément de la recherche du LA correspondant au test le plus sensible et spécifique, il est nécessaire de rechercher les anticorps anti-CL et anti- β 2GPI.

Les anticorps anti-CL sont dirigés contre la cardiolipine mais également contre d'autres phospholipides : on distingue ainsi les anticorps anti-CL indépendants de la présence d'un cofacteur plasmatique des anticorps dépendant, reconnaissant un complexe cardiolipine-cofacteur. Le principal cofacteur identifié est la β 2GPI ou apolipoprotéine H. Les anticorps anti-CL reconnaissant uniquement la cardiolipine sont principalement d'isotype IgM, retrouvés alors le plus souvent de manière transitoire lors d'une infection. Les anti-CL reconnaissant au moins en partie le domaine 1 de la β 2GPI correspondent aux anticorps les plus pathogènes. Ils sont alors préférentiellement d'isotype IgG. La signification des anticorps dirigés contre d'autres domaines de la β 2GPI reste à élucider (241). Au cours du SAPL, les anti-CL sont dans la majorité des cas d'isotype IgG. La présence de l'isotype IgM est plus rare, et s'associe très fréquemment aux IgG. L'isotype IgA reste rare, ce qui de ce fait ne justifie pas sa recherche en première intention (247).

La β 2GPI est la principale cible antigénique des anticorps anti-phospholipides (anti-PL) dans le SAPL. La protéine s'organise en 5 domaines, dont le 5^{ème} domaine correspond au site de liaison aux phospholipides, et le premier domaine correspond à la cible des anticorps α 2GPI pathogènes (248). La fixation des anticorps anti- β 2GPI entraîne la dimérisation de la β 2GPI à la surface cellulaire, induisant un état prothrombotiques par divers mécanismes détaillés précédemment. L'antigène utilisé dans les tests de détection doit correspondre à de la β 2GPI humaine purifiée, pouvant induire une variabilité en raison des différents processus de purification (249). Ce test est plus spécifique car il ne détecte pas les anticorps indépendants de la β 2GPI, le plus souvent retrouvés lors des infections. Une plus faible sensibilité est par contre parfois retrouvée selon les études (241).

D'autres anticorps ont été associés au SAPL. Leur intérêt est moindre dans la mesure où les techniques d'identification ne sont pas standardisées et qu'ils ne sont pas intégrés aux critères diagnostiques internationaux. Ils peuvent être recherchés en deuxième intention pour des suspicions fortes de SAPL cliniques pourtant séronégatifs. Parmi ces anticorps, on retrouve des anticorps anti-CL et anti- β 2GPI d'isotype IgA (250), des anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (251), des anticorps ou encore des anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine (252). Ces tests sont réalisés par technique ELISA dans une grande partie des cas.

De manière analogue au SLE, on retrouve une signature IFN de type I et de type II exacerbée chez les patients atteints de SAPL, qu'ils soient primaires ou secondaires (253,254). L'impact de cette signature reste toutefois à explorer concernant les implications cliniques et thérapeutiques.

e. Diagnostic

Les critères diagnostiques actuellement appliqués sont les critères de Sydney de 2006 (voir Tableau 6 page suivante) (255). La stratégie diagnostique repose sur la mise en évidence d'au moins un critère clinique et au moins un critère biologique persistant sur 12 semaines, et à condition qu'il n'y ait pas plus de 5 ans entre l'évènement clinique et la biologie. Parmi les critères cliniques, il est demandé la survenue d'au moins un épisode thrombotique artériel ou veineux confirmé par imagerie, doppler ou histologie, ou la survenue d'une complication obstétricale comme (i) une mort fœtale inexpliquée au-delà de la 10^{ème} semaine de grossesse de morphologie normale, ou (ii) une naissance d'un enfant prématurée avant la 34^{ème} semaine de grossesse en rapport avec une pré-éclampsie, une éclampsie ou une insuffisance placentaire démontrée, ou encore (iii) 3 fausses couches spontanées avant la 10^{ème} semaine de grossesse en

l'absence d'anomalie anatomique ou hormonale maternelle, ou d'une anomalie chromosomique maternelle ou paternelle. Ce troisième critère clinique est le plus sensible mais le moins spécifique du SAPL en raison de la très grande fréquence des fausses couches précoces en population générale.

Parmi les critères biologiques, il faut identifier au moins une anomalie biologique sur 2 déterminations espacées d'au moins 12 semaines, afin d'éliminer une positivité transitoire d'un marqueur biologique sans signification clinique. 3 éléments peuvent faire partie des critères biologiques : la positivité des anticorps anti-CL IgG et/ou IgM, la positivité des anticorps anti-β2GPI IgM et/ou IgM, et enfin la positivité d'un anticoagulant circulant de type lupique détectés par des tests dépendants des phospholipides (TCA, dRVVT).

Critères cliniques	
Thromboses vasculaires	Au moins un épisode clinique de thrombose artérielle et/ou veineuse
Complications obstétricales	Au moins une mort fœtale inexpliquée au-delà de la 10 ^e semaine d'aménorrhée Au moins une naissance prématurée avant la 34 ^e semaine d'aménorrhée (due à une éclampsie, une pré-éclampsie sévère ou une insuffisance placentaire) Au moins 3 fausses couches spontanées consécutives avant la 10 ^e semaine d'aménorrhée
Critères biologiques (vérifiés sur deux prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle)	
LA	Allongement des tests de coagulation plasmatique, selon les recommandations de l'International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH)
Anti-CL	Présence (sérum ou plasma) d'anticorps anti-CL isotype G et/ou M à des taux moyens à élevés (taux > 40 GPL ou > 40 MPL ou > 99 ^e percentile), détecté par un test ELISA
Anti-β2GPI	Présence (sérum ou plasma) d'anticorps anti-β2GPI isotype G et/ou M (taux > 99 ^e percentile), détecté par un test ELISA

Tableau 6. Critères de Sidney (2006) pour le diagnostic de syndrome des antiphospholipides (255)

Une classification du SAPL en 4 sous-types biologiques en fonction du nombre et de la nature des marqueurs biologiques présents, a également été incluse dans cette recommandation :

- Type I : Présence d'au moins 2 critères biologiques
- Type II : Présence d'un seul critère biologique
 - Type IIa : présence d'un LA isolé
 - Type IIb : présence d'un anticorps anti-CL isolé
 - Type IIc : présence d'un anticorps anti-β2GPI isolé

Deux sous-groupes de patients sont également décrits en fonction de la présence (type a) ou l'absence (type b) de facteurs de risque surajoutés de thrombose comme par exemple (i) l'âge > 55 ans chez l'homme et > 65 ans chez la femme ; (ii) la présence d'un facteur de risque cardiovasculaire (hypertension artérielle, diabète, augmentation des LDL « low density lipoprotein » ou taux bas d'HDL « high density lipoprotein », cholestérol, tabac, antécédents familiaux de maladie cardiovasculaire précoce, indice de masse corporelle (IMC) ≥ 30, microalbuminurie, et filtration glomérulaire < 60 ml/min); (iii) une thrombophilie héréditaire; et (iv) des facteurs procoagulants (prise d'oestrogénostatifs, syndrome néphrotique, cancer, immobilisation, chirurgie).

7. Connectivites mixtes ou d'origine indéterminée (MCTD et UCTD) :

a. Présentation de la maladie

La connectivite mixte est une maladie rare dans laquelle des signes cliniques de LES, SSc, PR et/ou de polymyosite sont présents. On retrouve ainsi des symptômes de spectre large et variable selon les patients, pouvant impacter de nombreux organes, avec comme point commun à tous les patients un phénomène de Raynaud ainsi que la présence d'anticorps anti-U1-RNP (256). La maladie affecte dans 80% des cas la femme entre 15 et 35 ans, avec une prédominance dans les populations asiatiques, notamment au Japon. La prévalence reste faible avec 3,8 cas pour 100000 adultes dans une étude norvégienne menée par Gunnarsson R et al. en 2011 (257). Des patients présentant des signes cliniques de MAI systémiques depuis au moins deux ans sans remplir pour autant les critères de MCTD ou d'autres MAI existent également et correspondent à des patients atteints de connectivites d'origine indéterminée ou UCTD.

Des facteurs de risques génétiques ont pu être identifiés par étude des profils HLA de patients MCTD. L'allèle HLA DRB1*04 :01 en premier lieu, ainsi que l'allèle HLA-B*08 ont toutes les deux été associés au risque surélevé de développer une MCTD (258).

b. Physiopathologie

La cible antigénique principale identifiée correspond à la ribonucléoprotéine U1-RNP constitué notamment d'une protéine A, une protéine C, et une protéine 70kDa, qui sont les cibles des auto-anticorps retrouvés dans le sérum des patients MCTD (cf Fig 21). On retrouve aussi sur ce complexe l'antigène Sm et l'antigène Sr. La présence des auto-anticorps anti U1-RNP semble au cœur de la physiopathologie, avec la distinction de plusieurs épitopes sur la U1-RNP, mais c'est l'antigène U1 de 70-kDa qui apparaît comme la cible d'intérêt (259).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 21. Représentation schématique du complexe U1-RNP, d'après Greidinger et al. (259)

Une différence semble exister entre la protéine U1-70kDa sous forme native et sous forme apoptotique. Les auto-anticorps retrouvés chez les patients semblent posséder une affinité plus haute envers la forme apoptotique, plus immunogénique (260,261). Les constituants des corps apoptotiques sont ainsi reconnus par le système immunitaire et activent les lymphocytes B puis les lymphocytes T de manière chronique.

Dans la MCTD, on retrouve en analyse immuno-histochimique au niveau des tissus des dépôts de complément et d'immunoglobulines d'isotype M principalement, suggérant un mécanisme analogue aux dépôts de complexes-immuns responsable des atteintes d'organes observées dans le LES. Ces observations ont été faites sur des coupes histologiques de poumon, mais également dans des lésions oesophagiennes chez des patients MCTD (262,263). Le rôle de l'immunité humorale apparaît ainsi comme prépondérant devant la pathogénicité des dépôts de complément et d'immunoglobulines, mais également suite à l'observation d'anomalies des sous-populations B dans le sang périphérique des patients MCTD, et devant la corrélation des taux en auto-anticorps anti U1-RNP et la sévérité des atteintes (264).

c. Clinique

Les manifestations cliniques observables sont très diverses d'un patient à l'autre. Les signes cliniques principaux retrouvés sont le phénomène de Raynaud, les arthralgies, la sclérodactylie,

le gonflement des doigts, une myosite, une dysmotilité œsophagienne et une asthénie générale. Le phénomène de Raynaud est une constante chez les personnes atteintes d'une connectivité mixte. Parmi les symptômes rattachables à la sclérodermie, on retrouve des doigts gonflés avec une sclérodactylie. Les inflammations des articulations sont responsables d'une polyarthrite à la manière de la PR. On peut également retrouver des faiblesses et des douleurs musculaires, ce qui correspond à des symptômes liés à la polymyosite. Il existe par ailleurs des atteintes cutanées rappelant le LES, avec également des télangiectasies, des ulcérations buccales et une photosensibilité (256).

Des atteintes plus sévères peuvent survenir, notamment une atteinte du système digestif, retrouvé chez plus de la moitié des patients MCTD (265). Le plus fréquemment, on retrouve une atteinte de l'œsophage avec une dysmotilité œsophagienne responsable de RGO, allant jusqu'à 85% des patients selon les séries (266).

L'atteinte cardiaque est retrouvée de manière variable selon les méthodes d'identification utilisés et la définition choisie pour retenir l'atteinte cardiaque. On retrouve chez 29% des patients une péricardite, peu grave (267). Les examens non invasifs comme l'électrocardiogramme (ECG) ou l'échocardiographie mettent également en évidence des anomalies infracliniques comme des défauts de conduction, des épanchements péricardiques ou des prolapsus de la valve mitrale. Sur une période de 15 ans, 20% de la mortalité observée chez les patients sont ainsi attribuables à une cause cardiaque (268).

L'atteinte rénale constitue une des complications rares mais majeures des MCTD, en particulier chez les enfants (269).

Les atteintes neurologiques sont moins fréquentes, mais possiblement sous-estimées. C'est le cas notamment de la névralgie du trijumeau, qui n'est décrite de manière spécifique dans les MCTD que depuis quelques années, et pouvant survenir de manière inaugurale (270,271). Des cas de méningites aseptiques ont également été rapportés, mettant en évidence la présence dans le liquide cérébro-spinal d'IFN- γ , d'IL-6 et d'anticorps anti-U1RNP à des concentrations élevées (272,273), suggérant la participation de ces cytokines et auto-anticorps au développement de la pathologie. De même, de rares cas de myélites transverses ont pu être décrits (274).

Finalement, c'est l'atteinte pulmonaire qui fait la gravité de la maladie. Ainsi, l'atteinte interstitielle, ainsi que le sexe masculin, un âge avancé, le tabac ou encore le titre d'anticorps anti U1-RNP font partie des facteurs prédictifs de la dégradation nette des fonctions pulmonaire et de la mortalité dans les MCTD (275–277). Elle est retrouvée chez 50 à 70% des patients, sous forme asymptomatique dans une grande partie des cas. On retrouve notamment une atteinte fibrotique générale, ainsi qu'une atteinte pulmonaire interstitielle similaire à celle observée dans la SSc. L'hypertension artérielle peut également chez presque 1/3 des patients, prédictifs de la morbi-mortalité chez les patients.

d. Biologie

Le diagnostic immunologique passe par l'identification d'auto-anticorps anti-nucléaires à un titre positif, et notamment dirigés contre la ribonucléoprotéine U1 (U1-RNP). Ces anti-U1-RNP sont très évocateurs d'une connectivité mixte notamment en cas de positivité à un titre élevé, mais on peut les retrouver parfois chez des patients lupiques (259). A l'immunofluorescence, on retrouvera un aspect moucheté grossier sur l'ensemble du noyau, avec un marquage ou non du nucléole. En mitose, la chromatine n'est pas marquée (aspect AC-5 de la classification anapattern, voir Fig 22).



Fig 22. Aspect de fluorescence nucléaire de mouchetage grossier (AC-5) sur cellules HEP-2, photographie anapattern.org

Le diagnostic reste actuellement un challenge devant les multiples composantes des MCTD. Le diagnostic différentiel principal reste le LES, en raison de manifestations cliniques proches (atteintes cutanées, articulaires, mais aussi musculaires, organiques selon les cas) et de la positivité potentielle des anticorps anti-U1-RNP dans les deux maladies. Les auto-anticorps spécifiques du lupus (anti-ADN natif, anti-Sm), permettent, lorsqu'ils sont présents, d'orienter le diagnostic (278).

Les caractéristiques des patients évoluent avec le temps et peuvent changer de diagnostic. On estime par exemple que 20% des patients avec une connectivité mixte vont changer de diagnostic dans les 5 ans qui suivent, et jusqu'à 50% dans les 10 ans qui suivent. On retrouve notamment l'apparition d'anticorps anti-ADN natifs orientant vers une classification en lupus, tandis que l'aggravation de la dysmotilité oesophagienne ou de la sclérodactylie orienteront vers une sclérodémie systémique (279,280).

Le bilan biologique non spécifique retrouve un syndrome inflammatoire avec une VS augmentée et permet de dépister les éventuelles atteintes d'organes (créatine phosphokinase ou CPK pour l'atteinte musculaire par exemple).

La caractérisation des signatures IFN des patients MCTD permettent également de retrouver des caractéristiques similaires aux patients SLE et aux patients SSc. Sur la partie génétique, l'existence de certains SNP sur les voies de l'IFN- α et - γ ont été retrouvés comme fortement associée à l'existence d'une MCTD (281). La signature IFN a également été étudiée chez des patients UCTD comparativement à des patients AAN+ sans symptomatologie et des témoins sains AAN-. Le score d'activité interféron IFN5 utilisé dans cette étude est significativement augmentée (soit supérieur à deux déviations standard de la moyenne des témoins sains) chez 50% des patients UCTD et 36% des patients AAN+. Toutefois, un score positif ne semble pas prédire l'évolution vers une MAI caractérisée (282), ce qui a été récemment corroboré par une étude cette fois-ci chez des patients MCTD (283).

e. Diagnostic

Le diagnostic repose sur la mise en évidence de signes clinico-biologiques, mais de par la variété des composantes cliniques, la classification des MCTD reste compliquée. Historiquement, la classification de Sharp proposée en 1972 ne prend en compte qu'une partie des patients (284), mais a été revue en 1987 (cf Tableau 7) (285). Cette dernière établit une liste de critères majeurs et mineurs. Le diagnostic peut être posé si (i) au moins 4 critères majeurs dont les anticorps anti-U1-RNP sont présents, ou si (ii) 2 critères majeurs parmi les 3 premiers

associés à deux critères mineurs et des anticorps anti-U1-RNP à un titre significatif sont présents. La positivité des anticorps anti-Sm constitue un critère d'exclusion.

Critères majeurs	Critères mineurs
<ol style="list-style-type: none"> 1. Myosite 2. Atteinte pulmonaire (capacité <70% des valeurs normales, hypertension pulmonaire ou lésions vasculaires prolifératives à la biopsie pulmonaire) 3. Phénomène de Raynaud ou dysmotilité œsophagienne 4. Gonflement des mains 5. Anticorps anti-nucléaires positifs + anticorps anti-U1-RNP positifs + anticorps anti-Sm négatifs 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Alopécie 2. Leucopénie 3. Anémie 4. Pleurésie 5. Péricardite 6. Arthrite 7. Névralgie du trijumeau 8. Rash malaire 9. Thrombopénie 10. Myosite modérée 11. Antécédent de gonflement des mains

Tableau 7. Classification de Sharp (1987) pour le diagnostic de MCTD (285)

La classification semblant faire consensus actuellement reste la classification d'Alarcon-Segovia (voir Tableau 9), même si la classification de Kasukawa est aussi utilisée (voir Tableau 8) (285). La classification d'Alarcon-Segovia permet de faire le diagnostic lorsque le critère sérologique associé à au moins 3 critères cliniques dont une synovite ou une myosite sont présents. Il est intéressant de noter que cette classification ne mentionne pas l'atteinte pulmonaire. La classification de Kasukawa définit des symptômes communs ainsi que des symptômes « mixtes » reliables aux manifestations cliniques des autres maladies auto-immunes systémiques dont le SLE, la SSc et la polymyosite. La présence d'au moins un symptôme commun, d'une positivité des anticorps anti-U1-RNP et d'au moins un symptôme mixte retrouvé dans a minima deux des trois maladies (SLE, SSc, polymyosite) permet de poser le diagnostic de MCTD. Cette classification est particulièrement utilisée pour les MCTD à début pédiatrique (286).

Symptômes communs	Symptômes mixtes
<ol style="list-style-type: none"> 1. Phénomène de Raynaud 2. Gonflement des mains ou des doigts 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Symptômes SLE (polyarthrite, lymphadénopathies, érythème facial, pleurésie, péricardite, leucopénie ou thrombopénie) 2. Symptômes SSc (sclérodactylie, fibrose pulmonaire, atteinte pulmonaire restrictive, capacité de diffusion réduite, dysmotilité ou dilatation de l'œsophage) 3. Symptômes de polymyosite (faiblesse musculaire, taux élevé de CPK, aspect compatible avec une myosite à l'EMG)

Tableau 8. Classification de Kasukawa (1987) pour le diagnostic de MCTD (285)

Critère sérologique	Critères cliniques
Anticorps anti U1-RNP positifs	<ol style="list-style-type: none"> 1. Œdème des mains 2. Synovite 3. Myosite 4. Phénomène de Raynaud 5. Acrosclérose

Tableau 9. Classification d'Alarcon-Segovia (1987) pour le diagnostic de MCTD (285)

Gunnarsson et al. ont fait une évaluation en 2016 de ces 3 classifications représentée sous forme de diagramme de Venn pour évaluer l'agrément entre les différentes classifications sur la cohorte de patients norvégienne (287). On note un degré d'agrément important entre les classifications, mais un petit nombre de patients ne répondant pas systématiquement aux trois classifications.

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 23. Diagramme de Venn évaluant l'agrément des différentes classifications existantes pour le diagnostic de MCTD, d'après Gunnarsson et al. (287)

En 2019, une dernière classification sur la base de la classification de Kasukawa a été proposé par une équipe japonaise (voir tableau 10). Aux symptômes communs et mixtes se rajoutent les manifestations immunologiques et les atteintes d'organes caractéristiques. Le diagnostic peut être validé devant au moins une manifestations communes, des manifestations immunologiques et au moins une atteinte d'organes caractéristiques, ou bien devant une manifestation commune, une manifestation immunologique et au moins un symptôme parmi deux des trois maladies auto-immunes prêtant leurs symptômes aux MCTD (288).

Symptômes communs	Manifestations immunologiques	Atteintes d'organes caractéristiques	Symptômes mixtes
1. Phénomène de Raynaud 2. Gonflement des mains ou des doigts	Positivité des anticorps anti U1-RNP	1. Hypertension artérielle pulmonaire 2. Méningite aseptique 3. Névralgie du trijumeau	1. Symptômes SLE (polyarthrite, lymphadénopathies, érythème facial, pleurésie, péricardite, leucopénie ou thrombopénie) 2. Symptômes SSc (sclérodactylie, fibrose pulmonaire, atteinte pulmonaire restrictive, capacité de diffusion réduite, dysmotilité ou dilatation de l'œsophage) 3. Symptômes de polymyosite (faiblesse musculaire, taux élevé de CPK, aspect compatible avec une myosite à l'EMG)

Tableau 10. Classification de Kasukawa révisée (2019) pour le diagnostic de MCTD (288)

II. Apport de la biologie pour le diagnostic des maladies auto-immunes : Publications

1. Publication n°1: News and meta-analysis regarding anti-β 2 glycoprotein I antibodies and their determination

a. Introduction

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une pathologie auto-immune dont l'origine est multifactorielle et qui est responsable de complications thrombotiques et obstétricales. Cet état est lié à l'acquisition d'anticorps auto-immuns capable de se lier aux phospholipides (anti-PL) des membranes cellulaires pour former de caillots sanguins (67,232). En 1990 Galli, McNeil et Koike rapportent que ce n'est pas la cardiolipine qui est la cible principale des anti-PL dans le SAPL mais son principal co-facteur la β2-glycoprotéine I (β2GPI). Depuis des tests ELISA ont été développés pour rechercher les autoanticorps dirigés contre la β2GPI humaine présente soit en association avec un phospholipide, la cardiolipine, ou soit après irradiation des plaques ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ceci afin d'augmenter la densité de fixation de la β2GPI sur son support (289–291). Depuis, de nombreuses études se sont accumulées pour placer les autoanticorps anti-β2GPI au cœur de la physiopathologie du SAPL, et ce qui s'est traduit par l'intégration de ces derniers dans les critères biologiques du diagnostic des SAPL en 2006 avec les autoanticorps anti-phospholipides (anti-PL) et la recherche de lupus anticoagulant (LA) (255).

L'objectif de cette première publication était de faire le point sur les anticorps anti-β2GPI, avec (i) une revue de la littérature sur les mécanismes physiopathologiques mis en jeu par les anticorps anti-β2GPI dans le SAPL, (ii) un état des lieux des différentes techniques de dosage associés à quelques recommandations applicables en routine, et (iii) la réalisation d'une méta-analyse pour pouvoir comparer ces différents tests tant au niveau du diagnostic que du pronostic vis-à-vis du risque thrombotique.

b. Mécanismes physiopathologiques mettant en jeu les anti-β2GPI

La physiopathologie du SAPL conduisant à la formation des caillots sanguins n'est que partiellement élucidée et l'on s'accorde sur un modèle en deux temps (215). Tout d'abord, on observe la présence d'une auto-immunité qui se caractérise par la mise en évidence d'auto-anticorps dirigés contre les phospholipides et/ou leurs co-facteurs dont la β2GPI qui sont capable d'induire une activation cellulaire (cellules endothéliales, plaquettes, monocytes, lymphocytes) sans toutefois être immédiatement thrombotique. Par la suite, un « deuxième événement » doit se surajouter à l'état basal d'activation cellulaire pour promouvoir la coagulation et la fibrinolyse à l'origine de la thrombose. Ce deuxième événement qui est documenté chez plus de 50% des patients thrombotiques répondant à la définition d'un SAPL comprend une infection, une autre maladie auto-immune, ou encore une autre condition pro-coagulante (mutation génétique, chirurgie, pilule contraceptive, facteurs de risques cardiovasculaires surajoutés, tabac etc.) (216,292).

La principale cible antigénique a été identifiée et il s'agit de la β2GPI, une glycoprotéine se liant à des phospholipides anioniques et qui est constituée de 5 domaines répétés ou « sushis domains » numérotées de I à V (293). Dans la circulation sanguine, elle circule sous forme inactive dans le sérum et adopte une conformation en S ou en O (294,295). Pour se lier à sa cible membranaire phospholipidique chargée négativement, le domaine V, chargé

positivement, est mis en jeu (293). Cette liaison entraîne un changement de conformation : la β 2GPI adopte alors une conformation dite en forme dépliée ou J qui permet l'exposition du domaine I et de ses épitopes cryptiques (295,296). Les anticorps reconnaissant les épitopes cryptiques du domaine I, portés principalement par 4 acides aminés de la glycine G40 à l'arginine R43, sont capables d'entraîner une dimérisation de la β 2GPI à la surface cellulaire qui est une étape capitale pour l'induction d'un état pro-thrombotique via l'interaction cellulaire ou l'inactivation de protéine anti-coagulante (214).

Du fait du mode d'action très particulier des auto-anticorps anti- β 2GPI, tous les anti- β 2GPI ne sont pas impliqués en pathologie (214). Ainsi une partie de ces anticorps est générée de manière transitoire, à la faveur d'une infection par exemple, et dans ce cas, ils disparaissent sans induire de risque thrombotique (297). Parmi ces derniers, on retrouve surtout des anticorps dirigés contre les autres domaines de la β 2GPI, de II à V, dont l'implication en pathologie est moins certaine, dans la mesure où la dimérisation de la β 2GPI semble essentielle pour induire un état pro-coagulant (298,299).

Dans le cas des auto-anticorps anti- β 2GPI pathogènes, la dimérisation de la β 2GPI à la surface des cellules endothéliales ou des monocytes entraîne l'activation de plusieurs récepteurs cellulaires comme l'annexine A2 et les TLR (Toll like receptor) (219,300,301), ou encore l'ApoE2 et la Gp1b sur les plaquettes (220,221,302,303). Les cellules endothéliales et les monocytes produisent alors des molécules pro-coagulantes, notamment le facteur tissulaire, principal initiateur de la voie extrinsèque de la coagulation. Les cellules endothéliales adoptent, en parallèle, un phénotype pro-inflammatoire qui favorise le recrutement de monocytes ainsi qu'un phénotype pro-adhésif sur les monocytes via l'expression de diverses sélectines et intégrines (304,305). Les plaquettes permettent de favoriser la formation du complexe GPIIb-GpIIb/IIIa, ce qui induit une production de thromboxane A2 favorisant l'adhésion puis l'aggrégation plaquettaire, responsable au total d'un état vasoconstricteur (306,307).

De connaissance plus récente, la cascade du complément est également mis en jeu, comme montré notamment au décours de travaux réalisés dans des modèles murins de SAPL, qu'ils soient déficients sur certains récepteurs du complément ou via l'utilisation de thérapeutiques inhibant des protéines de la cascade du complément (227–229,308). De ces modèles il ressort que l'activation de la voie classique du complément participe comme boucle d'amplification à l'activation des différents acteurs cellulaires et à la génération de facteur tissulaire permettant de lancer la cascade de la coagulation. La consommation du complément est particulièrement mise en jeu sur les formes de SAPL obstétricaux (226,309). Un rôle des anaphylatoxines (C3a et C5a) est également pointé pour favoriser l'induction d'un état pro-inflammatoire (310).

Les autoanticorps anti- β 2GPI exercent enfin une activité pro-coagulante via l'inhibition des protéines anticoagulants naturelles, comme la protéine C inhibant les facteurs V et VIII une fois clivée à titre d'exemple (223,311). D'autres facteurs sont aussi inhibés, comme l'anti-thrombine, le TFPI, ou le t-PA (224,225,312).

c. Méthodes de dosages, recommandations actuelles et innovations

La détection des autoanticorps anti- β 2GPI se fait classiquement au moyen de la technique ELISA, mais de nouvelles méthodes tendent à se démocratiser, comme l'identification par chimiluminescence (CLIA) ou par essais en multiplex, cette dernière permettant la détection simultanée des différents isotypes IgG, IgM et IgA (313–315).

En raison de l'interférences des anti-CL avec d'autres anticorps c'est la détection des autoanticorps anti- β 2GPI qui présente la plus grande spécificité (241). Toutefois, ce gain s'accompagne d'une baisse de sensibilité ce qui a amené le comité scientifique de

standardization (CSS) de la Société internationale de thrombose et d'hémostase (ISTH) à formuler plusieurs recommandations (316). En premier lieu, la prescription d'un test pour la recherche des autoanticorps anti-CL et/ou anti- β 2GPI est critique et doit être réservée aux patients présentant des antécédents de thromboses ou de complications obstétricales ainsi qu'aux patients souffrant d'une maladie auto-immune ceci afin de limiter les positivités accidentelles sans explication. Ensuite la technique choisie pour la réalisation du test est également critique et différents critères sont à respecter tels que l'utilisation de courbes de calibrations, l'utilisation de contrôles positifs et négatifs ainsi que l'utilisation de standards à chaque série. De plus, la source antigénique est également importante et il est recommandé d'utiliser une β 2GPI d'origine humaine dans la mesure où il existe des anticorps hétérophiles anti- β 2GPI dirigés contre la β 2GPI d'autres espèces. Cela permet donc d'éviter la détection d'anticorps hétérophiliques non spécifiques du SAPL. L'utilisation d'une source de β 2GPI purifiée reste également préférable à l'utilisation d'antigènes recombinants (316,317).

Pour la technique ELISA, la densité de β 2GPI présente à la surface des plaques ELISA est un critère important puisque cette densité conditionne la nécessité des autoanticorps anti- β 2GPI pathogènes de se lier à deux β 2GPI proches pour répliquer le schéma de la dimérisation de la β 2GPI nécessaire pour induire le signal d'activation cellulaire. Cette densité est augmentée pour les plaques ELISA grâce à l'utilisation de plaques irradiées (291,316,318,319). En cas de doute il est toujours possible de confronter les résultats avec ceux obtenus avec des plaques non irradiées puisque ces dernières ne sont pas reconnues par les autoanticorps anti- β 2GPI pathogènes. Quelques événements rares de fausse positivité sur plaque ELISA peuvent aussi être évités via l'utilisation de puits témoins sans cible antigénique, permettant d'éliminer les faux positifs liés à la présence d'anticorps dirigés contre le support de la plaque (320,321). Enfin, la duplication des tests, notamment pour les techniques manuelles telles que l'ELISA, est fortement recommandée pour réduire la variabilité des résultats de tests (316).

Concernant la technique de chimiluminescence, l'utilisation de billes magnétiques permet d'assurer la fixation la cible antigénique à une densité élevée tout en réduisant le risque de liaison non spécifiques grâce aux lavages de qualité supérieure (322,323).

Actuellement, seuls les isotypes IgG et M font partie des critères diagnostiques dans le SAPL (255). Néanmoins, il est largement admis que les IgG constituent le meilleur isotype pour l'approche diagnostique (324). Bien que maintenu dans les critères diagnostiques du SAPL pour rendre compte de SAPL séronégatifs en IgG mais positifs en IgM par ELISA, la pertinence clinique du dosage des IgM est débattue, notamment en cas de positivité isolée à taux faibles/moyens et certains auteurs suggèrent de les retirer des critères diagnostiques (245,325,326).

Concernant l'isotype IgA, il est retrouvé chez les modèles murins de thrombose, dirigé contre le domaine I, mais aussi contre les domaines IV et V (327). Les études qui se sont intéressées à cet isotype indiquent des valeurs pour le rapport des vraisemblances (likelihood ratios) comprises entre les IgG et les IgM (328–330). Une étude a également montré qu'une positivité isolée des autoanticorps anti- β 2GPI d'isotype IgA représentait un marqueur indépendant prédictif de thrombose sans connaissance d'un SAPL sous-jacent dans les 5 années à venir, devant d'autres facteurs connus comme l'âge, le sexe, le diabète ou l'HTA (331). Les anti- β 2GPI d'isotype IgA peuvent de plus être utilisés comme marqueur sérologique du SLE, quel que soit le titre (332). La détection des anticorps IgA pourrait donc être proposée en seconde intention, en raison d'une meilleure sensibilité (au prix d'une spécificité plus faible), en cas de forte suspicion clinique (328,333). Toutefois, l'absence de standardisation des tests disponibles sur le marché pour les détecter complique leur intégration formelle aux critères diagnostiques de SAPL (334).

L'association des autoanticorps anti- β 2GPI avec la survenue de thrombose s'accroît en cas de titres élevés, s'ils sont dirigés contre l'épitope G40-R43 du domaine I de la β 2GPI (335), ainsi qu'en cas de double ou triple positivité avec les autres marqueurs biologiques du SAPL (anti-CL et LA) (336). Ces dernières années, la détection des autoanticorps anti- β 2GPI dirigés contre le domaine I a été proposée en fixant directement le domaine I sur une surface hydrophobe en lieu et place de la β 2GPI complète, ceci afin de favoriser l'exposition des épitopes cryptiques impliqués en physiopathologie afin d'augmenter la spécificité de la détection avec la survenue de thromboses. Les corrélations de ces essais aux manifestations cliniques sont fortes (298,299). Toutefois, la recherche des autoanticorps anti- β 2GPI ciblant le domaine I (D1) n'apportent pas forcément d'informations utiles supplémentaires, notamment en cas de triple positivité, et leur supériorité par rapport aux tests utilisant la forme totale de la molécule β 2GPI restent à démontrer ainsi que leur capacité à rattraper certains diagnostics négatifs (337). Sans oublier que les différences entre les tests pratiqués dans chaque centre nécessiteraient de faire l'objet d'une standardisation. Enfin, un rôle des anticorps dirigés contre les autres domaines de la β 2GPI sur la survenue d'événements thromboemboliques n'est pas à exclure puisque certaines études ont pu décrire une association avec les autoanticorps anti- β 2GPI ciblant les domaines IV et V qui pourrait de plus s'associer avec une variation isotypique (329,338). Pour conclure sur les autoanticorps anti- β 2GPI du domaine I et d'isotype IgG, ces derniers pourraient trouver une place utile non pas pour le diagnostic, mais en tant que test additionnel pour définir un facteur de risque supplémentaire à la survenue de thromboses (339).

En pratique, l'utilisation de tests automatisés représentent des alternatives viables, voire même souhaitables pour les laboratoires en raison d'une meilleure reproductibilité, d'une meilleure corrélation des tests anti- β 2GPI et anti-CL entre eux, la possibilité de ne pas faire de duplicats d'après les recommandations internationales, l'économie de réactifs et la réalisation rapide des tests permettant un gain de temps non négligeable. Ces méthodes semblent posséder de meilleures spécificités et corrélations vis à vis des manifestations cliniques, notamment pour la chimiluminescence (340–342). Les tests multiplex sont également meilleurs mais peuvent sembler compliquées à mettre en place en routine (328,343). En revanche, les tests fluorimétriques peinent à s'imposer face à l'ELISA dans les quelques études disponibles (344,345).

d. Méta-analyse

Une méta-analyse a donc été réalisée afin d'évaluer la force d'association entre la détection des autoanticorps anti- β 2GPI et un événement thrombotique en tenant compte de l'isotype des autoanticorps et de la méthode utilisée (ELISA ou CLIA) sur la base de 8 études répondant à ces critères. La moyenne des Odds ratio apparaît comme étant deux fois supérieurs suite à l'utilisation de la CLIA pour la détection des anticorps versus l'ELISA, à la fois pour les IgG et les IgM. Cette analyse révèle aussi la forte association des IgG avec la survenue de thromboses, comparativement aux IgM dont les Odds ratio sont à peine supérieurs aux seuils de significativité.

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 24. Comparaison des Odds-ratios obtenus pour les anticorps anti- β 2GPI d'isotype IgG ou IgM en fonction de la technique mise en place (ELISA ou CLIA) sur la base de 10 études comparatives (231)

e. Conclusion et « Take home messages »

En conclusion, le rôle central joué par les autoanticorps anti- β 2GPI dans la physiopathologie du SAPL a permis l'inclusion des anti- β 2GPI d'isotype IgG et IgM dans les critères diagnostiques de 2006. Depuis, plusieurs améliorations des tests diagnostiques ont été proposées. Tout d'abord, des tests basés sur l'utilisation d'un β 2GPI d'origine humaine puis

des tests ciblant le domaine I de la β 2GPI humaine afin d'en améliorer la spécificité. Toutefois, la possibilité qu'il existe d'autres épitopes pour la β 2GPI potentiellement pathogènes et situés sur d'autres domaines que le domaine I invitent à la prudence et donc à privilégier l'utilisation d'une forme totale. La supériorité nette des IgG sur les IgM a conduit à une remise en question de l'utilité de ces derniers par certains auteurs. Par ailleurs, l'utilisation des anti- β 2GPI IgA pourrait s'envisager de manière plus large en raison d'une plus grande sensibilité de cet isotype, notamment en deuxième intention dans les cas de forte suspicion clinique. Enfin, les progrès réalisés sur les techniques de dosages permettent actuellement de concurrencer le classique test ELISA. Les essais par technique CLIA ou multiplex sont de plus en plus utilisés et les études récentes montrent des résultats supérieurs pour le dosage des anti- β 2GPI, ce qui suggère fortement de les mettre en place en routine.

Take home messages

- La β 2GPI correspond à l'auto-antigène central dans la pathogénie du SAPL. La liaison d'un autoanticorps anti- β 2GPI à la β 2GPI conduit à la modification de conformation puis la dimérisation de cette dernière, permettant alors la transmission d'un signal influençant le phénotype procoagulant des acteurs cellulaires. Une activation parallèle de l'activité du complément et l'existence préalable de facteurs de risque sont alors responsables de la thrombose.
- La technique historique de détection est l'ELISA, encore largement utilisée, mais les dosages par chimiluminescence ou technique multiplexe représentent de meilleures alternatives, avec une plus forte corrélation avec la symptomatologie du SAPL, en plus des avantages techniques inhérents aux systèmes automatisés.
- Le rôle des anti- β 2GPI d'isotype IgM reste encore controversé, et leur place dans le diagnostic sera possiblement rediscuté à l'avenir
- Les anti- β 2GPI d'isotype IgA sont un dosage d'intérêt en deuxième intention en raison d'une sensibilité élevée et une association significative avec la survenue d'évènements cliniques. Les limitations actuelles sont d'ordre technique car des recommandations concernant leur standardisation n'ont pas encore été proposées.
- Les anti- β 2GPI IgG dirigés spécifiquement contre le domaine I sont très fortement associés aux évènements thrombotiques et font le lien avec la physiopathologie. En revanche, sur le plan diagnostique, leur supériorité vis-à-vis des autoanticorps à β 2GPI IgG classiques n'est pas prouvée. Leur rôle peut être envisageable en tant que marqueur pronostique additionnel.

2. Publication n°2: Antiphospholipid autoantibody detection is important in all patients with systemic autoimmune diseases

a. Introduction

Deux formes de syndrome des antiphospholipides (SAPL) sont classiquement décrites : le SAPL primaire, ou le SAPL secondaire, lorsqu'associé à une autre MAI (215). Dans les deux cas, le diagnostic est réalisé sur la base des critères de 2006, avec la survenue d'un événement thrombotique associé à au moins un marqueur biologique comprenant le lupus anticoagulant (LA), les anticorps anti-cardiolipines (anti-CL) et les autoanticorps anti- β 2GPI de spécificité IgG ou IgM (255). Cependant, si la prévalence de ces anticorps antiphospholipides (anti-CL, anti- β 2GPI et/ou LA) reste élevée dans la population générale, avec une positivité comprise entre 1 et 5%, ce n'est pas le cas d'un événement thrombotique qui reste rare avec une incidence de 5 nouveaux cas par 100000 habitants et par an. Cette dissociation constitue donc une zone

d'incertitude importante concernant l'impact de la positivité chronique de ces anticorps, et en particulier chez les patients ayant une MAI non spécifique d'organe, ce qui les prédisposent par voie de conséquence au développement d'un SAPL secondaire. Afin de mieux caractériser ces derniers, la cohorte PRECISESADS, ayant réuni près de 2000 patients, a été exploitée afin de préciser le risque associé à une positivité des anti-CL, anti- β 2GPI et du LA. Pour cette étude, nous avons considéré d'une part les patients SLE qui sont particulièrement à risque de développer un SAPL secondaire (346), mais également, d'autre part, les patients non-SLE pour lesquels peu de données sont actuellement disponibles dans la littérature.

b. Principaux résultats

L'analyse des données révèle une augmentation significative de la prévalence du LA, des anti-CL d'isotype IgG et des anti- β 2GPI d'isotype IgG ($p < 10^{-4}$ pour les 3 paramètres) chez les patients atteints de MAI non spécifiques d'organes comparativement à la population générale. Une absence de significativité est notée pour les isotypes IgM. Dans la mesure où une très forte corrélation entre les anti- β 2GPI et les anti-CL était notée ($r > 0,93$, $p < 10^{-4}$), ces deux paramètres ont été associés pour la suite des analyses. Deux groupes de patients ont également été constitués : un groupe comprenant les patients lupiques, ayant une prévalence assez élevée en anti-PL de 57,6% et un groupe de patients « non-SLE » avec une prévalence moindre mais non négligeable en anti-PL de 13,7%.

Dans chacun de ces groupes, la positivité du LA et/ou de auto-anticorps de spécificité IgG était fortement associée à la survenue de thromboses, à la fois chez les patients SLE ($p < 10^{-4}$) mais également chez les patients non-SLE ($p < 10^{-4}$). La double positivité anticorps + LA accroît d'autant plus le risque de survenue d'un événement thrombotique. Une détermination des odds ratio pour la survenue d'une thrombose ou d'une fausse-couche a été effectuée et est récapitulée dans la figure suivante.

D'autres associations avec certaines manifestations cliniques (fibrose pulmonaire, aggravation des fonctions pulmonaires, hypertension, lésions des valves cardiaques, arthralgies) et certaines manifestations biologiques (créatininémie anormale, baisse des fractions du complément, hypergammaglobulinémie) ont aussi été retrouvés de manière significative, mais à des degrés d'importance moindres, dans l'un et/ou l'autre de ces deux groupes. De manière intéressante, une association avec la consommation du complément est retrouvée, ce qui peut facilement être mis en lien avec la physiopathologie du SAPL. En effet, plusieurs études ont montré une consommation du complément par le biais des voies classiques et alternatives dans le SAPL primaire (227,347). Concernant les auto-anticorps d'isotype IgM, une association faible a été retrouvée pour la survenue d'une thrombose ($p = 0,02$) avec des taux faibles d'IgM, et la survenue de fausses couches à des taux élevés ($p = 0,003$), uniquement chez les patients non-SLE. En regroupant l'ensemble des patients atteints de MAI, ces associations statistiques avec les anticorps IgM sont perdus, en accord avec les données de la littérature partagés sur l'intérêt réel des IgM (322,348–350).

Figure supprimée afin de respecter les droits d'auteur

Fig 25. Odds ratio calculés pour la survenue d'une thrombose (A et B) ou d'une fausse couche (C et D) chez des patients SLE (A et C) ou non-SLE (B et D), selon la positivité des anticorps anti-phospholipides et/ou du drVVT

c. Conclusion et « Take home messages »

Cette étude est l'une des premières à étudier l'impact clinique des anticorps anti-phospholipides dont la positivité du LA sur une cohorte européenne de patients atteints de MAI non spécifiques d'organes. Les analyses sérologiques ont été centralisées et réalisées à Brest, ce qui permet de limiter les variations inter-réactifs et inter-centres et d'assurer des comparaisons fiables des

données, en tenant compte des facteurs confondants et en proposant différents seuils de positivité optimisés. Le profil aPL retrouvé permet de distinguer un groupe de patients lupique ainsi qu'un groupe de patients non-lupiques pour lequel le risque de survenue d'évènements thrombo-embolique est moindre mais réel. Le dosage des autoanticorps antiphospholipides chez l'ensemble des patients MAI reste donc essentiel pour ne pas méconnaître un risque potentiel de thrombose.

Take home messages

- La détection des anti-PL reste fréquente chez les patients atteints de MAI comparativement à la population générale
- Cette positivité est plus importante chez les patients SLE (57,6%) que chez les patients non-SLE (13,7%)
- Les performances du test LA (dRVVT) et des anticorps anti-CL +/- anti- β 2GPI à titre moyen ou élevé sont similaires, et prédisent notamment un risque accru de survenue de thromboses et de fausses-couches, à la fois chez les patients SLE et les patients non-SLE.
- En revanche, les IgM ne sont que faiblement associés avec la survenue de fausses-couches, et ce uniquement chez les patients non-SLE.
- Le dosage des anticorps antiphospholipides chez l'ensemble des patients ayant une maladie auto-immune reste capital pour ne pas méconnaître un risque potentiel de thrombose.

3. Publication n°3: An elevated polyclonal free light chain level reflects a strong interferon signature in patients with systemic autoimmune diseases

a. Introduction

Les maladies auto-immunes systémiques partagent des caractéristiques physiopathologiques communes telles que l'inflammation chronique, la présence d'une signature interféron (IFN) active conduisant à l'initiation d'une immunité de type Th1, ainsi que l'hyperactivation pathologique des lymphocytes B (351,352). Concernant les LB, on retrouve une activation inappropriée des lymphocytes B qui se différencient en plasmocytes, responsables d'une synthèse exagérée d'immunoglobulines associées à des chaînes légères libres (CLL) polyclonales sécrétées en excès de manière conjointe. Ces CLL correspondent de ce fait à un produit secondaire de la fabrication d'immunoglobulines, et de par leur demi-vie très réduite dans le sérum (2 à 6h) comparativement aux immunoglobulines (3 semaines environ pour l'IgG), elles représentent un marqueur intéressant pour suivre l'activation des LB dans les maladies auto-immunes en temps réel (353,354). Un des biais potentiels du dosage des CLL pour étudier l'activation des lymphocytes B est lié à leur élimination strictement rénale, d'où un risque d'augmentation secondaire en cas d'insuffisance rénale. Afin de préciser la place potentielle des CLL dans les maladies auto-immunes, la cohorte PRECISESADS a une nouvelle fois été mise à profit. Les taux de CLL ont été évalués à Brest chez près de 2000 patients atteints de MAI systémiques (LES, SjS, PR, SAPL, MCTD, UCTD, SSc) et un peu plus de 600 témoins sains. Les analyses effectuées ont permis d'évaluer la prévalence des CLL chez les patients atteints de maladies auto-immunes, les associations/corrélations avec les paramètres cliniques, l'activité de la maladie, l'influence des traitements, et les liens avec les autres marqueurs biologiques, en accordant un intérêt particulier à la signature IFN identifiée chez les patients.

b. Principaux résultats

Une augmentation polyclonale des CLL caractérise les patients auto-immuns de la cohorte PRECISESADS. En effet, un excès de CLL a été retrouvé dans tous les groupes de patients atteints de MAI, allant de 12-17% dans la PR, 14-20% dans l'UCTD, 22-30% dans la SSc, 24-36% dans la SjS, 29-32% dans la MCTD, 30% dans l'APS, et 30-37% dans le LES en considérant l'ensemble des patients atteints de MAI, ainsi que les patients MAI ayant une fonction rénale normale, respectivement. Ainsi, l'augmentation des CLL semble provenir de manière prédominante d'une production polyclonale chez les patients atteints de MAI, et ce mécanisme est amplifié en cas d'atteinte rénale.

De nombreuses associations avec la clinique ont pu être observées, avec notamment de manière attendue l'atteinte rénale, mais aussi avec l'inflammation, l'hypertension artérielle, l'anémie hémolytique, l'arthrite érosive, la présence d'une péricardite ou d'une effusion pleurale, l'aggravation des fonctions pulmonaires, la présence d'un syndrome sec ou encore d'une thrombose veineuse. Ces manifestations sont les signes cliniques principaux retrouvés dans les diverses MAI étudiées, en accord avec plusieurs études précédentes (355–357). En retirant le biais de l'atteinte rénale, une partie des significativités persiste, soulignant le fait que les chaînes légères libres sont augmentés de manière partiellement indépendante de la fonction rénale, avec une association forte à l'inflammation biologique systémique. Parallèlement à ces observations, l'étude des traitements n'a montré aucune association avec le taux de CLL.

Chez les patients SLE et SjS pour lesquels les scores SLEDAI et ESSDAI ont pu être calculés, une association des CLL avec l'activité de la maladie a été retrouvée de manière significative, y compris en cas d'absence d'atteinte rénale. De même, chez les patients SSc, la capacité vitale forcée (CVF) était plus abaissée en cas de dosage des CLL augmenté, la CVF étant un marqueur pronostic de la progression vers des stades avancés de fibroses et d'inflammation (358).

Par ailleurs, de très fortes associations entre auto-anticorps et l'abaissement du complément ont été identifiées avec les CLL. De manière intéressante, deux groupes d'auto-anticorps peuvent être définis selon leur association avec les CLL, et ce, toujours indépendamment de la fonction rénale : un groupe très fortement corrélé incluant les anticorps anti-protéines liant l'ARN (SSA, SSB, Sm, U1-RNP), les anti-ADNdb, et le facteur rhumatoïdes; et un autre groupe pas ou peu corrélé comprenant les anti-CCP2, les anticorps associées à la sclérodermie (anti-centromères et anti-Sc170), et les anticorps reliés à la thrombose (anti-phospholipides anti-CL et anti- β 2GPI d'isotype IgG ou M, anti-malondialdéhyde ou anti-MDA IgM, anti-phosphorylcholine ou anti-PC IgM). Une explication potentielle de cette dichotomie réside dans la capacité du groupe d'autoanticorps associés aux FLC de former des complexes immuns (par exemple avec des cellules apoptotiques), qui sont connus pour activer la voie du complément et pour augmenter la production d'IFN de type I par les cellules dendritiques plasmacytoides et les monocytes. Cela favorise alors en retour la différenciation des plasmablastes et la production d'immunoglobulines (359,360).

Concernant l'abaissement des fractions du complément, un effet des FLC pour promouvoir directement la consommation de complément a précédemment été proposé, impliquant la liaison des FLC au facteur H, qui accélère la consommation de la C3 convertase (361). Ce mécanisme pourrait présenter un intérêt particulier dans les maladies pour lesquelles l'activation du complément est associée à des manifestations cliniques graves. Dans le LES, l'activation des voies du complément classique et alternatif induit le dépôt de divers composants du complément avec les immunoglobulines et est responsable de la glomérulonéphrite lupique, indiquant ainsi une maladie active (362). Ces éléments peuvent être liés à l'association significative entre CLL et score SLEDAI élevé. De plus, l'activation du complément est décrite dans le SAPL, notamment le SAPL obstétrical, et peut être responsable de pertes fœtales ou de

retard de croissance intra-utérin. Dans la PR, on observe également une consommation accélérée et une hyperproduction des fractions du complément décrites dans les liquides synoviaux. Enfin, l'hypocomplémentémie est fréquemment décrite dans la Sjs et est associée à un mauvais pronostic des patients, en lien avec un score d'activité ESSDAI élevé chez les patients ayant un taux de CLL élevé (363).

Enfin, les CLL sont très fortement corrélés à la positivité des signatures IFN- α , - β et - γ , sur la base de deux scores IFN distincts proposés respectivement par Kirou et Obermoser (74,92), faisant suspecter l'implication des IFN de type I et II dans la production des CLL.

Une activité élevée de l'IFN a déjà été décrite dans plusieurs MAI (352). Dans le LES, l'activation de la voie de l'IFN permet d'identifier un sous-groupe de patients atteints de LES présentant des caractéristiques sérologiques distinctes et une activité plus forte de la maladie. Il est d'ailleurs intéressant de noter que les auto-anticorps associés à ce sous-groupe sont les mêmes que ceux rapportés dans notre étude, à savoir des auto-anticorps dirigés contre les protéines de liaison de l'ARN (ENA, extractable nuclear antigens) (74,364), ce qui suggère une interaction entre l'inflammation induite par l'IFN, la production d'auto-anticorps anti-ENA et la production de CLL dans une boucle d'amplification pour refléter une maladie cliniquement active. Les signatures d'IFN- β et - γ sont également décrites chez les patients atteints de LES et ont conduit à la stratification des patients en fonction de cette signature d'IFN. Les patients ayant un score d'IFN faible à absent (0 à 1 module), c'est-à-dire une signature d'IFN- α uniquement, peuvent être opposés aux patients ayant un score d'IFN modéré à élevé (2 à 3 modules), c'est-à-dire des signatures d'IFN- α , - β et - γ . Dans ce dernier cas, une association spécifique a été établie avec une maladie rénale active, la présence d'anti-ADNdb et l'hypocomplémentémie, ce qui est également constatée chez les patients présentant une CLL élevée dans notre cohorte (365,366). En effet, l'association la plus forte avec les CLL est obtenue lorsque tous les modules sont significativement élevés. Dans la PR, de manière intrigante, un niveau élevé d'IFN de type I permet de prédire la réponse aux anti TNF- α , mais pas au rituximab, un anticorps monoclonal déplaçant les cellules B, ce qui confirme le fait que la signature de l'IFN de type I dans la PR induit une forte activité inflammatoire, mais pas une production élevée d'auto-anticorps par les cellules B, en accord avec l'indépendance observée entre les niveaux de CLL et la production d'anti-CCP2 (367).

Afin d'étayer davantage ce lien entre signature IFN, inflammation et synthèse des FLC, plusieurs cytokines inflammatoires appartenant à la famille des IFN de type 1 et de type 2 ont été mesurées et ont été corrélées de manière significative avec des niveaux totaux de CLL plus élevés. Parmi elles, les deux cytokines les plus importantes retrouvées au cours de notre étude étaient le TNF-RI et la CXCL10. Toutefois, cette analyse n'était pas exhaustive et doit être approfondie.

Le TNF- α peut se lier à deux récepteurs de surface cellulaire, le TNF-RI et le TNF-RII. La présence de ces récepteurs dans le sérum des patients atteints de PR s'est révélée plus importante que celle des témoins et a été associée à un score d'activité de la maladie plus élevé (DAS28) et à un état inflammatoire anormal (368). Le TNF-RI a également été décrit comme étant accru chez les patients atteints de LES par rapport aux témoins (369), et il était particulièrement intéressant pour prédire les poussées de la maladie (370). Il est à noter que l'utilisation d'un inhibiteur du TNF-RI dans un modèle murin de lupus a été efficace pour prévenir les lésions cutanées (371). Moins d'éléments probants ont été retrouvés pour le Sjs, mais le TNF-RI est toujours détecté à des taux significativement plus élevés chez les patients que chez les témoins (372). Enfin, le TNF-RI s'est avéré être augmenté au sein des lymphocytes T dermiques de patients atteints de sclérodémie cutanée diffuse. Ces lymphocytes étaient alors plus enclins à générer un microenvironnement pro-inflammatoire après un engagement CD3/CD28 et avec une co-stimulation par les ligands du TNF-RI. Le microenvironnement créé par les lymphocytes

T dermiques induit alors une production élevée et prolongée du collagène de type I, ce qui soutient le rôle de la voie du TNF-RI dans l'induction de la fibrose dans la SSc (373). Ceci est en accord avec nos résultats selon lesquels il existe une altération de la fonction pulmonaire chez les patients atteints de MAI avec des niveaux élevés de FLC totale, possiblement en raison de l'inflammation associée et de l'activation de la voie du TNF-RI.

D'autre part, la CXCL10, ou IP10 (interferon gamma induced protein 10), est une cytokine responsable du recrutement et de l'activation des effecteurs Th1, principalement induits par l'IFN- γ . CXCL10 est notamment impliquée dans le maintien d'une inflammation pathologique chronique, et la sécrétion anormale de cette cytokine a été décrite dans plusieurs MAI. Dans la PR, il a été montré que l'expression de CXCL10 était élevée dans le sérum et les articulations des patients (374). De même, dans un modèle murin, CXCL10 participe à la destruction osseuse en permettant une régulation positive du RANK-L sur les cellules T CD4 qui, en retour, augmentent la production de CXCL10 par les progéniteurs d'ostéoclastes, établissant ainsi une boucle de rétroaction positive entre les deux types de cellules. CXCL10 induit ainsi l'activation et la différenciation des ostéoclastes de manière dose-dépendante. L'utilisation d'un anticorps anti-CXCL10 bloque la différenciation des ostéoclastes, empêchant ainsi la progression de l'arthrite chez les souris qui présentent moins de séquelles histologiques que les témoins (375). Dans le LES, CXCL10 a également été associée à des formes plus sévères, à une positivité de l'anti-ADNdb et à une diminution du complément, ce qui est un profil qui ressort également de nos données (376). Dans un modèle murin de sialadénite auto-immune imitant le SjS, l'utilisation d'un antagoniste de la CXCL10 empêche la progression de la maladie avec une diminution de la production d'IFN- γ , soulignant le lien entre les deux cytokines (377). En ce qui concerne la SSc, une analyse des patients a montré qu'outre les chimiokines Th2 (CCL17 et CCL22), CXCL10 était détectée dans des proportions significativement plus élevées chez les patients présentant une SSc diffuse ou localisée par rapport aux témoins normaux (378). Enfin, un rôle clair du CXCL10 produit par les macrophages pour induire la différenciation des plasmocytes et la production d'anticorps spécifiques à l'antigène in vivo a récemment été démontré, soulignant un mécanisme de production secondaire de CLL via une cytokine inflammatoire liée à la signature de l'IFN (358). CXCL10, dont la sécrétion est accrue via la signalisation IFN, se lie ainsi au CXCR3 des lymphocytes B mémoires afin de terminer leurs différenciations en plasmocytes (379), ce qui établit un lien complet entre l'inflammation médiée par l'IFN et la différenciation des cellules B.

Ces résultats sont cohérents avec la participation de l'IFN de type I et de type II ainsi que de plusieurs cytokines pro-inflammatoires pour induire des maladies plus sévères. La sécrétion importante de CLL reflèterait alors avec précision l'inflammation médiée par l'IFN, ainsi que l'activation pathologique des lymphocytes B chez les patients atteints de MAI.

c. Conclusion et « Take home messages » :

Cette étude est la première visant à évaluer l'implication d'un dosage élevé des CLL dans les maladies auto-immunes non spécifiques d'organes. Les principales conclusions sont liées au fait que (i) la stimulation immunitaire plutôt que l'altération de la fonction rénale augmente les CLL de manière polyclonale dans les maladies auto-immunes ; (ii) des niveaux élevés de CLL sont associés à une activité de la maladie plus importante, à une inflammation systémique et à un profil spécifique d'auto-anticorps ; et (iii) une relation entre des niveaux élevés de CLL et une forte signature d'IFN a été mise en évidence. Les CLL reflètent ainsi l'immunité adaptative en montrant le degré de production d'auto-anticorps et l'activité des lymphocytes B, mais également l'immunité innée au travers de leur induction par la signalisation IFN. La mesure des CLL, en particulier chez les patients dont la fonction rénale est stable, serait alors intéressante pour évaluer l'activité de la maladie en temps réel avec un test déjà largement utilisé, peu coûteux et fiable.

Il serait également intéressant de compléter ces observations par une étude longitudinale pour évaluer la variation des CLL dans le temps en fonction de l'activité de la maladie et des paramètres inflammatoires, et ainsi définir l'intérêt des FLC dans la prédiction des rechutes et/ou de la réponse thérapeutique.

Take home messages

- L'activation inappropriée du compartiment B chez les patients atteints de maladies autoimmunes non spécifiques d'organes est responsable d'une augmentation polyclonale des CLL, de manière prépondérante par rapport à la hausse induite par une éventuelle insuffisance rénale
- Les patients présentant des niveaux élevés de CLL ont une activité de la maladie plus sévère et un profil pro-inflammatoire marqué
- L'augmentation des CLL est retrouvée principalement chez des patients présentant des profils spécifiques d'auto-anticorps, et un abaissement des fractions du complément
- Une corrélation entre niveau élevé de CLL et signature IFN forte a été établie : les CLL reflètent ainsi à la fois l'immunité adaptative mais également l'immunité innée
- Les CLL représentent ainsi un potentiel marqueur d'intérêt fiable, simple à mettre en œuvre, et de faible coût pour suivre l'ensemble des patients atteints de maladies autoimmunes avec plusieurs niveaux de lecture

III. Conclusion et Perspectives

De par leur fréquence, leur diversité et leur morbidité élevée, les MAI ont été particulièrement étudiées ces dernières décennies. Elles sont le résultat d'un dysfonctionnement du système immunitaire qui va diriger une réponse contre ses propres constituants. Leur étiologie est complexe, mêlant facteurs de risques génétiques, épigénétiques et environnementaux. Le diagnostic d'une MAI est évoqué sur un ensemble d'arguments cliniques et biologiques répondant aux critères de classification internationaux actuellement en vigueur. Parmi les tests biologiques accessibles de nos jours, on retrouve une multitude de marqueurs biologiques spécifiques et non spécifiques pour chacune de ces MAI. Leur rôle est principalement diagnostique, mais aussi fréquemment pronostic, thérapeutique, ou d'intérêt pour le suivi des patients. De ce fait, ces marqueurs sérologiques sont essentiels à la caractérisation précise du profil de chaque malade.

La majorité de ces marqueurs a été découverte grâce à l'étude approfondie des différentes physiopathologies sous-jacentes à chaque MAI. La recherche translationnelle a ensuite permis le passage croissant de nombreux marqueurs en pratique clinique, apportant ainsi plus d'informations mais complexifiant les profils observés. De cette manière, de nombreux auto-anticorps sont désormais utilisés en pratique courante. Plus récemment, le dosage de certaines cytokines comme l'IL-6, le TNF ou BAFF, ou encore l'identification de signatures transcriptomiques comme la signature IFN, permettent d'affiner le diagnostic, le pronostic, le suivi, et/ou de proposer un choix toujours plus judicieux de traitement en fonction du profil biologique de chaque patient. Ces découvertes ont ouvert la voie à de nouvelles perspectives thérapeutiques, comme les thérapies anti-BAFF ou anti-IFN, et qui peuvent être personnalisées en fonction de chacun des malades.

La caractérisation toujours plus fine des différentes signatures retrouvées chez les patients, qu'elles soient génomiques, transcriptomiques, épigénomiques, métabolomiques, protéomiques etc. est aujourd'hui essentielle afin de proposer une nouvelle approche globale des MAI. L'objectif est ainsi d'identifier les mécanismes physiopathologiques communs à l'ensemble des processus auto-immuns, tout en distinguant également les spécificités de chaque MAI, afin d'aboutir à de nouveaux traitements les plus adaptés possibles à la situation clinique. La caractérisation du profil biologique au sens large des patients est le but principal de l'étude PRECISESADS, ayant réuni plus de 2000 patients, et qui a déjà été exploité dans deux des trois publications proposées précédemment. Les nombreuses données générées par cette étude sont actuellement en cours d'analyse, avec la perspective finale de proposer une nouvelle classification des MAI selon leurs caractéristiques biologiques.

IV. Bibliographie

1. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med*. 2 août 2001;345(5):340-50.
2. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *The Lancet*. 22 oct 2016;388(10055):2023-38.
3. Theofilopoulos AN, Kono DH, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. *Nat Immunol*. 20 juin 2017;18(7):716-24.
4. Youinou P, Pers J-O, Gershwin ME, Shoenfeld Y. Geo-epidemiology and autoimmunity. *J Autoimmun*. mai 2010;34(3):163-167.
5. Goodnow CC, Sprent J, Fazekas de St Groth B, Vinuesa CG. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature*. 2 juin 2005;435(7042):590-7.
6. Shlomchik MJ. Sites and stages of autoreactive B cell activation and regulation. *Immunity*. janv 2008;28(1):18-28.
7. Hogquist KA, Baldwin TA, Jameson SC. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nat Rev Immunol*. oct 2005;5(10):772-82.
8. Fernando MMA, Stevens CR, Walsh EC, De Jager PL, Goyette P, Plenge RM, et al. Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis. *PLoS Genet*. 25 avr 2008;4(4):e1000024.
9. McInnes IB, Schett G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*. 8 déc 2011;365(23):2205-19.
10. Pollard KM. Silica, Silicosis, and Autoimmunity. *Front Immunol* [Internet]. 2016 [cité 18 févr 2021];7. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00097/full>
11. Rioux JD, Abbas AK. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. *Nature*. 2 juin 2005;435(7042):584-9.
12. Anderson MS, Venanzi ES, Chen Z, Berzins SP, Benoist C, Mathis D. The cellular mechanism of Aire control of T cell tolerance. *Immunity*. août 2005;23(2):227-39.
13. Bacchetta R, Passerini L, Gambineri E, Dai M, Allan SE, Perroni L, et al. Defective regulatory and effector T cell functions in patients with FOXP3 mutations. *J Clin Invest*. juin 2006;116(6):1713-22.
14. Bach J-F. Infections and autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2005;25 Suppl:74-80.
15. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen K-A, Lundberg K, et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. sept 2010;62(9):2662-72.
16. Kaul A, Gordon C, Crow MK, Touma Z, Urowitz MB, van Vollenhoven R, et al. Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Primer*. 16 juin 2016;2:16039.
17. Moulton VR. Sex Hormones in Acquired Immunity and Autoimmune Disease. *Front Immunol*. 2018;9:2279.
18. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach J-F. The « hygiene hypothesis » for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin Exp Immunol*. avr 2010;160(1):1-9.
19. Domínguez-Andrés J, Netea MG. Impact of Historic Migrations and Evolutionary Processes on Human Immunity. *Trends Immunol*. 1 déc 2019;40(12):1105-19.
20. Olson SW, Lee JJ, Prince LK, Baker TP, Papadopoulos P, Edison J, et al. Elevated Subclinical Double-Stranded DNA Antibodies and Future Proliferative Lupus Nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 7 oct 2013;8(10):1702-8.
21. Tsokos GC. Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med*. 1 déc 2011;365(22):2110-21.
22. Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: Clinical utility of TSH receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab*. juin 2013;98(6):2247-55.
23. Zucchi D, Elefante E, Calabresi E, Signorini V, Bortoluzzi A, Tani C. One year in

- review 2019: systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* oct 2019;37(5):715-22.
24. Pons-Estel GJ, Alarcón GS, Scofield L, Reinlib L, Cooper GS. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum.* févr 2010;39(4):257-68.
 25. Herrmann M, Voll RE, Zoller OM, Hagenhofer M, Ponner BB, Kalden JR. Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* juill 1998;41(7):1241-50.
 26. Bryan AR, Wu EY. Complement Deficiencies in Systemic Lupus Erythematosus. *Curr Allergy Asthma Rep.* 10 mai 2014;14(7):448.
 27. Botto M, Dell'Agnola C, Bygrave AE, Thompson EM, Cook HT, Petry F, et al. Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nat Genet.* mai 1998;19(1):56-9.
 28. Baumann I, Kolowos W, Voll RE, Manger B, Gaipf U, Neuhuber WL, et al. Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* janv 2002;46(1):191-201.
 29. Tas SW, Quartier P, Botto M, Fossati-Jimack L. Macrophages from patients with SLE and rheumatoid arthritis have defective adhesion in vitro, while only SLE macrophages have impaired uptake of apoptotic cells. *Ann Rheum Dis.* févr 2006;65(2):216-21.
 30. Han S, Zhuang H, Shumyak S, Wu J, Li H, Yang L-J, et al. A Novel Subset of Anti-Inflammatory CD138+ Macrophages Is Deficient in Mice with Experimental Lupus. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 août 2017;199(4):1261-74.
 31. Muñoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol.* mai 2010;6(5):280-9.
 32. Lartigue A, Courville P, Auquit I, François A, Arnoult C, Tron F, et al. Role of TLR9 in anti-nucleosome and anti-DNA antibody production in lpr mutation-induced murine lupus. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 juill 2006;177(2):1349-54.
 33. Christensen SR, Shupe J, Nickerson K, Kashgarian M, Flavell RA, Shlomchik MJ. Toll-like Receptor 7 and TLR9 Dictate Autoantibody Specificity and Have Opposing Inflammatory and Regulatory Roles in a Murine Model of Lupus. *Immunity.* 1 sept 2006;25(3):417-28.
 34. Akiyama C, Tsumiyama K, Uchimura C, Honda E, Miyazaki Y, Sakurai K, et al. Conditional Upregulation of IFN- α Alone Is Sufficient to Induce Systemic Lupus Erythematosus. *J Immunol.* 15 août 2019;203(4):835-43.
 35. Sakata K, Nakayamada S, Miyazaki Y, Kubo S, Ishii A, Nakano K, et al. Up-Regulation of TLR7-Mediated IFN- α Production by Plasmacytoid Dendritic Cells in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol [Internet].* 2018 [cité 18 févr 2021];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01957/full>
 36. Vincent FB, Morand EF, Schneider P, Mackay F. The BAFF/APRIL system in SLE pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol.* juin 2014;10(6):365-73.
 37. Jenks SA, Cashman KS, Woodruff MC, Lee FE-H, Sanz I. Extrafollicular responses in humans and SLE. *Immunol Rev.* mars 2019;288(1):136-48.
 38. Rahman A, Isenberg DA. Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med.* 28 févr 2008;358(9):929-39.
 39. Walling HW, Sontheimer RD. Cutaneous lupus erythematosus: issues in diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2009;10(6):365-81.
 40. Hejazi EZ, Werth VP. Cutaneous Lupus Erythematosus: An Update on Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. *Am J Clin Dermatol.* avr 2016;17(2):135-46.
 41. Grossman JM. Lupus arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* août 2009;23(4):495-506.
 42. Bernatsky S, Boivin J-F, Joseph L, Manzi S, Ginzler E, Gladman DD, et al. Mortality in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* août 2006;54(8):2550-7.
 43. Ramos-Casals M, Campoamor MT, Chamorro A, Salvador G, Segura S, Botero JC, et al. Hypocomplementemia in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid

- syndrome: prevalence and clinical significance in 667 patients. *Lupus*. 2004;13(10):777-83.
44. Orbai A-M, Truedsson L, Sturfelt G, Nived O, Fang H, Alarcón GS, et al. Anti-C1q antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. janv 2015;24(1):42-9.
 45. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol JASN*. févr 2004;15(2):241-50.
 46. Bajema IM, Wilhelmus S, Alpers CE, Bruijn JA, Colvin RB, Cook HT, et al. Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney Int*. avr 2018;93(4):789-96.
 47. Yu F, Haas M, Glassock R, Zhao M-H. Redefining lupus nephritis: clinical implications of pathophysiologic subtypes. *Nat Rev Nephrol*. août 2017;13(8):483-95.
 48. Lynall M. Neuropsychiatric symptoms in lupus. *Lupus*. oct 2018;27(1_suppl):18-20.
 49. West SG, Emlen W, Wener MH, Kotzin BL. Neuropsychiatric lupus erythematosus: a 10-year prospective study on the value of diagnostic tests. *Am J Med*. août 1995;99(2):153-63.
 50. Petri M, Naqibuddin M, Carson KA, Wallace DJ, Weisman MH, Holliday SL, et al. Depression and cognitive impairment in newly diagnosed systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. oct 2010;37(10):2032-8.
 51. Fortuna G, Brennan MT. Systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. *Dent Clin North Am*. oct 2013;57(4):631-55.
 52. Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and Validation of Systemic Lupus International Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum*. août 2012;64(8):2677-86.
 53. ANA Patterns [Internet]. [cité 18 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.anapatterns.org/trees-full.php>
 54. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PLC, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014–2015. *Front Immunol* [Internet]. 2015 [cité 18 févr 2021];6. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00412/full>
 55. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. *J Nephrol*. déc 2002;15 Suppl 6:S20-27.
 56. Gerlach S, Affeldt K, Pototzki L, Krause C, Voigt J, Fraune J, et al. Automated Evaluation of Crithidia luciliae Based Indirect Immunofluorescence Tests: A Novel Application of the EUROPattern-Suite Technology. *J Immunol Res* [Internet]. 2015 [cité 25 avr 2021];2015. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4637128/>
 57. Bruns A, Bläss S, Hausdorf G, Burmester GR, Hiepe F. Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. oct 2000;43(10):2307-15.
 58. Vlag J van der, Berden JHM. Lupus Nephritis: Role of Antinucleosome Autoantibodies. *Semin Nephrol*. 1 juill 2011;31(4):376-89.
 59. Ullal AJ, Reich CF, Clowse M, Criscione-Schreiber LG, Tochacek M, Monestier M, et al. Microparticles as antigenic targets of antibodies to DNA and nucleosomes in systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun*. mai 2011;36(3-4):173-80.
 60. Bizzaro N, Villalta D, Giavarina D, Tozzoli R. Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metanalysis. *Autoimmun Rev*. déc 2012;12(2):97-106.
 61. Ng KP, Manson JJ, Rahman A, Isenberg DA. Association of antinucleosome antibodies with disease flare in serologically active clinically quiescent patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 15 déc 2006;55(6):900-4.
 62. Saisoong S, Eiam-Ong S, Hanvivatvong O. Correlations between antinucleosome

- antibodies and anti-double-stranded DNA antibodies, C3, C4, and clinical activity in lupus patients. *Clin Exp Rheumatol*. févr 2006;24(1):51-8.
63. Araújo-Fernández S, Ahijón-Lana M, Isenberg D. Drug-induced lupus: Including anti-tumour necrosis factor and interferon induced. *Lupus*. 1 mai 2014;23(6):545-53.
 64. Cozzani E, Drosera M, Gasparini G, Parodi A. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. *Autoimmune Dis* [Internet]. 2014 [cité 20 mai 2019];2014. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3932647/>
 65. Carmona-Fernandes D, Santos MJ, Canhão H, Fonseca JE. Anti-ribosomal P protein IgG autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus: diagnostic performance and clinical profile. *BMC Med*. 4 avr 2013;11(1):98.
 66. Toubi E, Shoenfeld Y. Clinical and biological aspects of anti-P-ribosomal protein autoantibodies. *Autoimmun Rev*. janv 2007;6(3):119-25.
 67. Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet Lond Engl*. 30 oct 2010;376(9751):1498-509.
 68. Son M, Diamond B, Santiago-Schwarz F. Fundamental role of C1q in autoimmunity and inflammation. *Immunol Res*. déc 2015;63(1-3):101-6.
 69. Nauta AJ, Castellano G, Xu W, Woltman AM, Borrias MC, Daha MR, et al. Opsonization with C1q and mannose-binding lectin targets apoptotic cells to dendritic cells. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 sept 2004;173(5):3044-50.
 70. Moroni G, Trendelenburg M, Del Papa N, Quaglini S, Raschi E, Panzeri P, et al. Anti-C1q antibodies may help in diagnosing a renal flare in lupus nephritis. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. mars 2001;37(3):490-8.
 71. Steinberg AD, Baron S, Talal N. THE PATHOGENESIS OF AUTOIMMUNITY IN NEW ZEALAND MICE, I. INDUCTION OF ANTINUCLEIC ACID ANTIBODIES BY POLYINOSINIC·POLYCYTIDYLIC ACID. *Proc Natl Acad Sci U S A*. août 1969;63(4):1102-7.
 72. Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, Gaffney PM, Ortmann WA, Espe KJ, et al. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 4 mars 2003;100(5):2610-5.
 73. Crow MK, Wohlgemuth J. Microarray analysis of gene expression in lupus. *Arthritis Res Ther*. 2003;5(6):279-87.
 74. Kirou KA, Lee C, George S, Louca K, Papagiannis IG, Peterson MGE, et al. Coordinate overexpression of interferon-alpha-induced genes in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. déc 2004;50(12):3958-67.
 75. Welcher AA, Boedigheimer M, Kivitz AJ, Amoura Z, Buyon J, Rudinskaya A, et al. Blockade of interferon- γ normalizes interferon-regulated gene expression and serum CXCL10 levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. oct 2015;67(10):2713-22.
 76. Sisirak V, Ganguly D, Lewis KL, Couillault C, Tanaka L, Bolland S, et al. Genetic evidence for the role of plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *J Exp Med*. 22 sept 2014;211(10):1969-76.
 77. Rowland SL, Riggs JM, Gilfillan S, Bugatti M, Vermi W, Kolbeck R, et al. Early, transient depletion of plasmacytoid dendritic cells ameliorates autoimmunity in a lupus model. *J Exp Med*. 22 sept 2014;211(10):1977-91.
 78. Furie R, Werth VP, Merola JF, Stevenson L, Reynolds TL, Naik H, et al. Monoclonal antibody targeting BDCA2 ameliorates skin lesions in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*. 1 mars 2019;129(3):1359-71.
 79. Nzeusseu Toukap A, Galant C, Theate I, Maudoux AL, Lories RJU, Houssiau FA, et al. Identification of distinct gene expression profiles in the synovium of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. mai 2007;56(5):1579-88.
 80. Arazi A, Rao DA, Berthier CC, Davidson A, Liu Y, Hoover PJ, et al. The immune cell landscape in kidneys of patients with lupus nephritis. *Nat Immunol*. juill 2019;20(7):902-14.

81. Der E, Suryawanshi H, Morozov P, Kustagi M, Goilav B, Ranabothu S, et al. Tubular cell and keratinocyte single-cell transcriptomics applied to lupus nephritis reveal type I IFN and fibrosis relevant pathways. *Nat Immunol.* juill 2019;20(7):915-27.
82. Barrat FJ, Meeker T, Gregorio J, Chan JH, Uematsu S, Akira S, et al. Nucleic acids of mammalian origin can act as endogenous ligands for Toll-like receptors and may promote systemic lupus erythematosus. *J Exp Med.* 17 oct 2005;202(8):1131-9.
83. Hua J, Kirou K, Lee C, Crow MK. Functional assay of type I interferon in systemic lupus erythematosus plasma and association with anti-RNA binding protein autoantibodies. *Arthritis Rheum.* juin 2006;54(6):1906-16.
84. Lövgren T, Eloranta M-L, Båve U, Alm GV, Rönnblom L. Induction of interferon-alpha production in plasmacytoid dendritic cells by immune complexes containing nucleic acid released by necrotic or late apoptotic cells and lupus IgG. *Arthritis Rheum.* juin 2004;50(6):1861-72.
85. Gehrke N, Mertens C, Zillinger T, Wenzel J, Bald T, Zahn S, et al. Oxidative damage of DNA confers resistance to cytosolic nuclease TREX1 degradation and potentiates STING-dependent immune sensing. *Immunity.* 19 sept 2013;39(3):482-95.
86. Stetson DB, Ko JS, Heidmann T, Medzhitov R. Trex1 prevents cell-intrinsic initiation of autoimmunity. *Cell.* 22 août 2008;134(4):587-98.
87. Furie R, Khamashta M, Merrill JT, Werth VP, Kalunian K, Brohawn P, et al. Anifrolumab, an Anti-Interferon- α Receptor Monoclonal Antibody, in Moderate-to-Severe Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* févr 2017;69(2):376-86.
88. Morand EF, Furie R, Tanaka Y, Bruce IN, Askanase AD, Richez C, et al. Trial of Anifrolumab in Active Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med.* 16 janv 2020;382(3):211-21.
89. Riggs JM, Hanna RN, Rajan B, Zerrouki K, Karnell JL, Sagar D, et al. Characterisation of anifrolumab, a fully human anti-interferon receptor antagonist antibody for the treatment of systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med.* 2018;5(1):e000261.
90. Wallace DJ, Furie RA, Tanaka Y, Kalunian KC, Mosca M, Petri MA, et al. Baricitinib for systemic lupus erythematosus: a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Lond Engl.* 21 juill 2018;392(10143):222-31.
91. Md Yusof MY, Psarras A, El-Sherbiny YM, Hensor EMA, Dutton K, Ul-Hassan S, et al. Prediction of autoimmune connective tissue disease in an at-risk cohort: prognostic value of a novel two-score system for interferon status. *Ann Rheum Dis.* oct 2018;77(10):1432-9.
92. Obermoser G, Presnell S, Domico K, Xu H, Wang Y, Anguiano E, et al. Systems scale interactive exploration reveals quantitative and qualitative differences in response to influenza and pneumococcal vaccines. *Immunity.* 18 avr 2013;38(4):831-44.
93. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* sept 1997;40(9):1725.
94. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* sept 2019;71(9):1400-12.
95. Brito-Zerón P, Baldini C, Bootsma H, Bowman SJ, Jonsson R, Mariette X, et al. Sjögren syndrome. *Nat Rev Dis Primer.* 7 juill 2016;2(1):1-20.
96. Patel R, Shahane A. The epidemiology of Sjögren's syndrome. *Clin Epidemiol.* 2014;6:247-55.
97. Reveille JD, Wilson RW, Provost TT, Bias WB, Arnett FC. Primary Sjögren's syndrome and other autoimmune diseases in families. Prevalence and immunogenetic studies in six kindreds. *Ann Intern Med.* déc 1984;101(6):748-56.
98. Kuo C-F, Grainge MJ, Valdes AM, See L-C, Luo S-F, Yu K-H, et al. Familial Risk of Sjögren's Syndrome and Co-aggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families: A Nationwide Population Study. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* juill 2015;67(7):1904-12.
99. Lessard CJ, Li H, Adrianto I, Ice JA, Rasmussen A, Grundahl KM, et al. Variants at

- multiple loci implicated in both innate and adaptive immune responses are associated with Sjögren's syndrome. *Nat Genet.* nov 2013;45(11):1284-92.
100. Kivity S, Arango MT, Ehrenfeld M, Tehori O, Shoenfeld Y, Anaya J-M, et al. Infection and autoimmunity in Sjogren's syndrome: a clinical study and comprehensive review. *J Autoimmun.* juin 2014;51:17-22.
 101. Biberfeld P, Petrén AL, Eklund A, Lindemalm C, Barkhem T, Ekman M, et al. Human herpesvirus-6 (HHV-6, HBLV) in sarcoidosis and lymphoproliferative disorders. *J Virol Methods.* sept 1988;21(1-4):49-59.
 102. Haaheim LR, Halse A-K, Kvakestad R, Stern B, Normann Ø, Jonsson R. Serum Antibodies from Patients with Primary Sjögren's Syndrome and Systemic Lupus Erythematosus Recognize Multiple Epitopes on the La(SS-B) Autoantigen Resembling Viral Protein Sequences. *Scand J Immunol.* 1996;43(1):115-21.
 103. Yao Y, Liu Z, Jallal B, Shen N, Rönnblom L. Type I interferons in Sjögren's syndrome. *Autoimmun Rev.* 1 mars 2013;12(5):558-66.
 104. Kapsogeorgou EK, Abu-Helu RF, Moutsopoulos HM, Manoussakis MN. Salivary gland epithelial cell exosomes: A source of autoantigenic ribonucleoproteins. *Arthritis Rheum.* 2005;52(5):1517-21.
 105. Nocturne G, Mariette X. Advances in understanding the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome. *Nat Rev Rheumatol.* sept 2013;9(9):544-56.
 106. Kang KY, Kim H-O, Kwok S-K, Ju JH, Park K-S, Sun D-I, et al. Impact of interleukin-21 in the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome: increased serum levels of interleukin-21 and its expression in the labial salivary glands. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(5):R179.
 107. Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* août 2011;70(8):1363-8.
 108. Lavie F, Miceli-Richard C, Ittah M, Sellam J, Gottenberg J-E, Mariette X. B-cell activating factor of the tumour necrosis factor family expression in blood monocytes and T cells from patients with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Immunol.* févr 2008;67(2):185-92.
 109. Daridon C, Devauchelle V, Hutin P, Le Berre R, Martins-Carvalho C, Bendaoud B, et al. Aberrant expression of BAFF by B lymphocytes infiltrating the salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* avr 2007;56(4):1134-44.
 110. Nocturne G, Mariette X. Sjögren Syndrome-associated lymphomas: an update on pathogenesis and management. *Br J Haematol.* févr 2015;168(3):317-27.
 111. Generali E, Costanzo A, Mainetti C, Selmi C. Cutaneous and Mucosal Manifestations of Sjögren's Syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol.* 1 déc 2017;53(3):357-70.
 112. Gupta S, Ferrada MA, Hasni SA. Pulmonary Manifestations of Primary Sjögren's Syndrome: Underlying Immunological Mechanisms, Clinical Presentation, and Management. *Front Immunol.* 2019;10:1327.
 113. Perzyńska-Mazan J, Maślińska M, Gasik R. Neurological manifestations of primary Sjögren's syndrome. *Reumatologia.* 2018;56(2):99-105.
 114. Retamozo S, Brito-Zerón P, Ramos-Casals M. Prognostic markers of lymphoma development in primary Sjögren syndrome. *Lupus.* juill 2019;28(8):923-36.
 115. Johnsen SJ, Berget E, Jonsson MV, Helgeland L, Omdal R, Jonsson R. Evaluation of germinal center-like structures and B cell clonality in patients with primary Sjögren syndrome with and without lymphoma. *J Rheumatol.* nov 2014;41(11):2214-22.
 116. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun Rev.* juin 2009;8(7):632-7.
 117. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G, et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. *Autoimmun Rev.* janv 2011;10(3):150-4.
 118. Ambrosi A, Wahren-Herlenius M. Congenital heart block: evidence for a pathogenic role of maternal autoantibodies. *Arthritis Res Ther.* 26 avr 2012;14(2):208.
 119. Thabet Y, Le Dantec C, Ghedira I, Devauchelle V, Cornec D, Pers J-O, et al. Epigenetic

- dysregulation in salivary glands from patients with primary Sjögren's syndrome may be ascribed to infiltrating B cells. *J Autoimmun.* mars 2013;41:175-81.
120. Baer AN, McAdams DeMarco M, Shiboski SC, Lam MY, Challacombe S, Daniels TE, et al. The SSB-positive/SSA-negative antibody profile is not associated with key phenotypic features of Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* août 2015;74(8):1557-61.
 121. Theander E, Jonsson R, Sjöström B, Brokstad K, Olsson P, Henriksson G. Prediction of Sjögren's Syndrome Years Before Diagnosis and Identification of Patients With Early Onset and Severe Disease Course by Autoantibody Profiling. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* sept 2015;67(9):2427-36.
 122. Brito-Zerón P, Kostov B, Solans R, Fraile G, Suárez-Cuervo C, Casanovas A, et al. Systemic activity and mortality in primary Sjögren syndrome: predicting survival using the EULAR-SS Disease Activity Index (ESSDAI) in 1045 patients. *Ann Rheum Dis.* févr 2016;75(2):348-55.
 123. Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X. The cryoglobulinaemias. *Lancet Lond Engl.* 28 janv 2012;379(9813):348-60.
 124. Quartuccio L, Isola M, Baldini C, Priori R, Bartoloni Bocci E, Carubbi F, et al. Biomarkers of lymphoma in Sjögren's syndrome and evaluation of the lymphoma risk in prelymphomatous conditions: results of a multicenter study. *J Autoimmun.* juin 2014;51:75-80.
 125. Binard A, Pottier LL, Devauchelle-Pensec V, Saraux A, Youinou P, Pers J-O. Is the blood B-cell subset profile diagnostic for Sjögren syndrome? *Ann Rheum Dis.* 1 sept 2009;68(9):1447-52.
 126. Carvajal Alegria G, Gazeau P, Hillion S, Daïen CI, Cornec DYK. Could Lymphocyte Profiling be Useful to Diagnose Systemic Autoimmune Diseases? *Clin Rev Allergy Immunol.* oct 2017;53(2):219-36.
 127. Gottenberg J-E, Cagnard N, Lucchesi C, Letourneur F, Mistou S, Lazure T, et al. Activation of IFN pathways and plasmacytoid dendritic cell recruitment in target organs of primary Sjögren's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 21 févr 2006;103(8):2770-5.
 128. Pascual V, Banchereau J. Tracking Interferon in Autoimmunity. *Immunity.* 27 janv 2012;36(1):7-9.
 129. Ittah M, Miceli-Richard C, Eric Gottenberg J-, Lavie F, Lazure T, Ba N, et al. B cell-activating factor of the tumor necrosis factor family (BAFF) is expressed under stimulation by interferon in salivary gland epithelial cells in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(2):R51.
 130. Hjelmervik TOR, Petersen K, Jonassen I, Jonsson R, Bolstad AI. Gene expression profiling of minor salivary glands clearly distinguishes primary Sjögren's syndrome patients from healthy control subjects. *Arthritis Rheum.* mai 2005;52(5):1534-44.
 131. Emamian ES, Leon JM, Lessard CJ, Grandits M, Baechler EC, Gaffney PM, et al. Peripheral blood gene expression profiling in Sjögren's syndrome. *Genes Immun.* juin 2009;10(4):285-96.
 132. Wildenberg ME, van Helden-Meeuwssen CG, van de Merwe JP, Drexhage HA, Versnel MA. Systemic increase in type I interferon activity in Sjögren's syndrome: a putative role for plasmacytoid dendritic cells. *Eur J Immunol.* juill 2008;38(7):2024-33.
 133. Charras A, Konsta OD, Le Dantec C, Bagacean C, Kapsogeorgou EK, Tzioufas AG, et al. Cell-specific epigenome-wide DNA methylation profile in long-term cultured minor salivary gland epithelial cells from patients with Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* mars 2017;76(3):625-8.
 134. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis.* juin 2002;61(6):554-8.
 135. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving

- three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis.* 1 janv 2017;76(1):9-16.
136. Haga H-J. Clinical and immunological factors associated with low lacrimal and salivary flow rate in patients with primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol.* févr 2002;29(2):305-8.
137. Beckman KA, Luchs J, Milner MS. Making the diagnosis of Sjögren's syndrome in patients with dry eye. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2016;10:43-53.
138. Delli K, Vissink A, Spijkervet FKL. Salivary gland biopsy for Sjögren's syndrome. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am.* févr 2014;26(1):23-33.
139. Kroese FGM, Haacke EA, Bombardieri M. The role of salivary gland histopathology in primary Sjögren's syndrome: promises and pitfalls. *Clin Exp Rheumatol.* juin 2018;36 Suppl 112(3):222-33.
140. Jousse-Joulin S, Milic V, Jonsson MV, Plagou A, Theander E, Luciano N, et al. Is salivary gland ultrasonography a useful tool in Sjögren's syndrome? A systematic review. *Rheumatol Oxf Engl.* mai 2016;55(5):789-800.
141. Rheumatoid arthritis. *Nat Rev Dis Primer.* 8 févr 2018;4:18002.
142. Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C, et al. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 janv 1999;162(1):585-94.
143. Trier NH, Houen G. Epitope Specificity of Anti-Citrullinated Protein Antibodies. *Antibodies.* mars 2017;6(1):5.
144. Brentville VA, Vankemmelbeke M, Metheringham RL, Durrant LG. Post-translational modifications such as citrullination are excellent targets for cancer therapy. *Semin Immunol.* 1 févr 2020;47:101393.
145. Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Cutting Edge: The Conversion of Arginine to Citrulline Allows for a High-Affinity Peptide Interaction with the Rheumatoid Arthritis-Associated HLA-DRB1*0401 MHC Class II Molecule. *J Immunol.* 15 juill 2003;171(2):538-41.
146. Shoda H, Fujio K, Shibuya M, Okamura T, Sumitomo S, Okamoto A, et al. Detection of autoantibodies to citrullinated BiP in rheumatoid arthritis patients and pro-inflammatory role of citrullinated BiP in collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(6):R191.
147. Martinez-Prat L, Nissen MJ, Lamacchia C, Bentow C, Cesana L, Roux-Lombard P, et al. Comparison of Serological Biomarkers in Rheumatoid Arthritis and Their Combination to Improve Diagnostic Performance. *Front Immunol.* 2018;9:1113.
148. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum.* janv 2006;54(1):38-46.
149. Sparks JA. Rheumatoid Arthritis. *Ann Intern Med.* 1 janv 2019;170(1):ITC1-16.
150. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet Lond Engl.* 15 sept 2001;358(9285):903-11.
151. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* sept 2010;62(9):2569-81.
152. Jónsson T, Valdimarsson H. Is measurement of rheumatoid factor isotypes clinically useful? *Ann Rheum Dis.* févr 1993;52(2):161-4.
153. Vos I, Van Mol C, Trouw LA, Mahler M, Bakker JA, Van Offel J, et al. Anti-citrullinated protein antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA): diagnostic performance of automated anti-CCP-2 and anti-CCP-3 antibodies assays. *Clin Rheumatol.* juill 2017;36(7):1487-92.
154. Levesque MC, Zhou Z, Moreland LW. Anti-cyclic citrullinated peptide testing for the diagnosis of rheumatoid arthritis and the quest for improved sensitivity and predictive value. *Arthritis Rheum.* 2009;60(8):2211-5.

155. Szekanecz Z, Szabó Z, Zeher M, Soós L, Dankó K, Horváth I, et al. Superior performance of the CCP3.1 test compared to CCP2 and MCV in the rheumatoid factor-negative RA population. *Immunol Res.* juill 2013;56(2-3):439-43.
156. Cantagrel A, Degboé Y. Les nouveaux auto-anticorps de la polyarthrite rhumatoïde : des anticorps qui reconnaissent des protéines du soi ayant subi des modifications post-translacionnelles. *Rev Rhum.* 1 janv 2016;83(1):12-8.
157. Mydel P, Wang Z, Brisslert M, Hellvard A, Dahlberg LE, Hazen SL, et al. Carbamylation-dependent activation of T cells: a novel mechanism in the pathogenesis of autoimmune arthritis. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 juin 2010;184(12):6882-90.
158. Jiang X, Trouw LA, van Wesemael TJ, Shi J, Bengtsson C, Källberg H, et al. Anti-CarP antibodies in two large cohorts of patients with rheumatoid arthritis and their relationship to genetic risk factors, cigarette smoking and other autoantibodies. *Ann Rheum Dis.* oct 2014;73(10):1761-8.
159. Shi J, van de Stadt LA, Levarht EWN, Huizinga TWJ, Hamann D, van Schaardenburg D, et al. Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* avr 2014;73(4):780-3.
160. Griffiths HR. Is the generation of neo-antigenic determinants by free radicals central to the development of autoimmune rheumatoid disease? *Autoimmun Rev.* juill 2008;7(7):544-9.
161. Nissim A, Winyard PG, Corrigan V, Fatah R, Perrett D, Panayi G, et al. Generation of neoantigenic epitopes after posttranslational modification of type II collagen by factors present within the inflamed joint. *Arthritis Rheum.* déc 2005;52(12):3829-38.
162. Stollo R, Ponchel F, Malmström V, Rizzo P, Bombardieri M, Wenham CY, et al. Autoantibodies to posttranslationally modified type II collagen as potential biomarkers for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* juill 2013;65(7):1702-12.
163. Hu X, Chakravarty SD, Ivashkiv LB. Regulation of interferon and Toll-like receptor signaling during macrophage activation by opposing feedforward and feedback inhibition mechanisms. *Immunol Rev.* déc 2008;226:41-56.
164. Boyle DL, Soma K, Hodge J, Kavanaugh A, Mandel D, Mease P, et al. The JAK inhibitor tofacitinib suppresses synovial JAK1-STAT signalling in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1 juin 2015;74(6):1311-6.
165. Zhang F, Wei K, Slowikowski K, Fonseka CY, Rao DA, Kelly S, et al. Defining inflammatory cell states in rheumatoid arthritis joint synovial tissues by integrating single-cell transcriptomics and mass cytometry. *Nat Immunol.* juill 2019;20(7):928-42.
166. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet Lond Engl.* 7 oct 2017;390(10103):1685-99.
167. Cutolo M, Soldano S, Smith V. Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights. *Expert Rev Clin Immunol.* 3 juill 2019;15(7):753-64.
168. Wigley FM, Flavahan NA. Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med.* 11 août 2016;375(6):556-65.
169. Matucci-Cerinic M, Kahaleh B, Wigley FM. Review: evidence that systemic sclerosis is a vascular disease. *Arthritis Rheum.* août 2013;65(8):1953-62.
170. Bj R, Y H, F DG, G 3rd KH, Ml G, Sa J, et al. The proadhesive phenotype of systemic sclerosis skin promotes myeloid cell adhesion via ICAM-1 and VCAM-1. *Rheumatol Oxf Engl.* 13 mai 2009;48(7):734-40.
171. Distler O, Del Rosso A, Giacomelli R, Cipriani P, Conforti ML, Guiducci S, et al. Angiogenic and angiostatic factors in systemic sclerosis: increased levels of vascular endothelial growth factor are a feature of the earliest disease stages and are associated with the absence of fingertip ulcers. *Arthritis Res.* 2002;4(6):R11.
172. Distler O, Distler JHW, Scheid A, Acker T, Hirth A, Rethage J, et al. Uncontrolled expression of vascular endothelial growth factor and its receptors leads to insufficient skin angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res.* 9 juill 2004;95(1):109-16.
173. Manetti M, Guiducci S, Romano E, Ceccarelli C, Bellando-Randone S, Conforti ML, et al. Overexpression of VEGF165b, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth

- factor, leads to insufficient angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res.* 22 juill 2011;109(3):e14-26.
174. Maurer B, Distler A, Suliman YA, Gay RE, Michel BA, Gay S, et al. Vascular endothelial growth factor aggravates fibrosis and vasculopathy in experimental models of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 1 oct 2014;73(10):1880-7.
 175. Liu S, Parapuram SK, Leask A. Fibrosis caused by loss of PTEN expression in mouse fibroblasts is crucially dependent on CCN2. *Arthritis Rheum.* nov 2013;65(11):2940-4.
 176. Christmann RB, Sampaio-Barros P, Stifano G, Borges CL, de Carvalho CR, Kairalla R, et al. Association of Interferon- and transforming growth factor β -regulated genes and macrophage activation with systemic sclerosis-related progressive lung fibrosis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* mars 2014;66(3):714-25.
 177. Zhang M, Zhang S. T Cells in Fibrosis and Fibrotic Diseases. *Front Immunol.* 2020;11:1142.
 178. To S, Agarwal SK. Macrophages and cadherins in fibrosis and systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* nov 2019;31(6):582-8.
 179. Trombetta AC, Soldano S, Contini P, Tomatis V, Ruaro B, Paolino S, et al. A circulating cell population showing both M1 and M2 monocyte/macrophage surface markers characterizes systemic sclerosis patients with lung involvement. *Respir Res.* 24 sept 2018;19(1):186.
 180. Fuschiotti P, Larregina AT, Ho J, Feghali-Bostwick C, Medsger TA. Interleukin-13-producing CD8+ T cells mediate dermal fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* janv 2013;65(1):236-46.
 181. Arcand J, Robitaille G, Koenig M, Sénécal J-L, Raymond Y. Heparin inhibits the interaction of DNA topoisomerase I/anti-topoisomerase I immune complexes with heparan sulfate on dermal fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2012;64(5):1632-41.
 182. I Sakkas L, D Platsoucas C. T-cells and B-cells in systemic sclerosis. *Curr Rheumatol Rev.* 2010;6(4):276-82.
 183. Brown M, O'Reilly S. The immunopathogenesis of fibrosis in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol.* mars 2019;195(3):310-21.
 184. Fonseca C, Lindahl GE, Ponticos M, Sestini P, Renzoni EA, Holmes AM, et al. A Polymorphism in the CTGF Promoter Region Associated with Systemic Sclerosis. *N Engl J Med.* 20 sept 2007;357(12):1210-20.
 185. Gilbane AJ, Denton CP, Holmes AM. Scleroderma pathogenesis: a pivotal role for fibroblasts as effector cells. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(3):215.
 186. Cipriani P, Di Benedetto P, Ruscitti P, Campese AF, Liakouli V, Carubbi F, et al. Impaired Endothelium-Mesenchymal Stem Cells Cross-talk in Systemic Sclerosis: a Link Between Vascular and Fibrotic Features. *Arthritis Res Ther.* 24 sept 2014;16(5):442.
 187. Hegner B, Schaub T, Catar R, Kusch A, Wagner P, Essin K, et al. Intrinsic Deregulation of Vascular Smooth Muscle and Myofibroblast Differentiation in Mesenchymal Stromal Cells from Patients with Systemic Sclerosis. *PLOS ONE.* 7 avr 2016;11(4):e0153101.
 188. Katsumoto TR, Whitfield ML, Connolly MK. The pathogenesis of systemic sclerosis. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:509-37.
 189. Hughes M, Herrick AL. Systemic sclerosis. *Br J Hosp Med Lond Engl* 2005. 2 sept 2019;80(9):530-6.
 190. Pearson DR, Werth VP, Pappas-Taffer L. Systemic sclerosis: Current concepts of skin and systemic manifestations. *Clin Dermatol.* août 2018;36(4):459-74.
 191. Shreiner AB, Murray C, Denton C, Khanna D. Gastrointestinal Manifestations of Systemic Sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord.* 2016;1(3):247-56.
 192. Perelas A, Silver RM, Arrossi AV, Highland KB. Systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Lancet Respir Med.* 1 mars 2020;8(3):304-20.
 193. Lambova S. Cardiac manifestations in systemic sclerosis. *World J Cardiol.* 26 sept 2014;6(9):993-1005.
 194. Meyer O. [CREST syndrome]. *Ann Med Interne (Paris).* mai 2002;153(3):183-8.
 195. Denton CP. Advances in pathogenesis and treatment of systemic sclerosis. *Clin Med*

Lond Engl. déc 2015;15 Suppl 6:s58-63.

196. Desbois AC, Cacoub P. Systemic sclerosis: An update in 2016. *Autoimmun Rev.* mai 2016;15(5):417-26.

197. Sobanski V, Dauchet L, Lefèvre G, Lambert M, Morell-Dubois S, Sy T, et al. Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis: New data from a French cohort and a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* févr 2014;66(2):407-17.

198. Tan FK, Zhou X, Mayes MD, Gourh P, Guo X, Marcum C, et al. Signatures of differentially regulated interferon gene expression and vasculotrophism in the peripheral blood cells of systemic sclerosis patients. *Rheumatol Oxf Engl.* juin 2006;45(6):694-702.

199. Duan H, Fleming J, Pritchard DK, Amon LM, Xue J, Arnett HA, et al. Combined analysis of monocyte and lymphocyte messenger RNA expression with serum protein profiles in patients with scleroderma. *Arthritis Rheum.* mai 2008;58(5):1465-74.

200. Brkic Z, van Bon L, Cossu M, van Helden-Meeuwssen CG, Vonk MC, Knaapen H, et al. The interferon type I signature is present in systemic sclerosis before overt fibrosis and might contribute to its pathogenesis through high BAFF gene expression and high collagen synthesis. *Ann Rheum Dis.* août 2016;75(8):1567-73.

201. Farina G, Lafyatis D, Lemaire R, Lafyatis R. A four-gene biomarker predicts skin disease in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* févr 2010;62(2):580-8.

202. Gregorio J, Meller S, Conrad C, Di Nardo A, Homey B, Lauerma A, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense skin injury and promote wound healing through type I interferons. *J Exp Med.* 20 déc 2010;207(13):2921-30.

203. Guiducci C, Tripodo C, Gong M, Sangaletti S, Colombo MP, Coffman RL, et al. Autoimmune skin inflammation is dependent on plasmacytoid dendritic cell activation by nucleic acids via TLR7 and TLR9. *J Exp Med.* 20 déc 2010;207(13):2931-42.

204. Wenzel J, Tüting T. An IFN-associated cytotoxic cellular immune response against viral, self-, or tumor antigens is a common pathogenetic feature in « interface dermatitis ». *J Invest Dermatol.* oct 2008;128(10):2392-402.

205. Dieude P, Dawidowicz K, Guedj M, Legrain Y, Wipff J, Hachulla E, et al. Phenotype-haplotype correlation of IRF5 in systemic sclerosis: role of 2 haplotypes in disease severity. *J Rheumatol.* mai 2010;37(5):987-92.

206. Ito I, Kawaguchi Y, Kawasaki A, Hasegawa M, Ohashi J, Hikami K, et al. Association of a functional polymorphism in the IRF5 region with systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum.* juin 2009;60(6):1845-50.

207. Carmona FD, Gutala R, Simeón CP, Carreira P, Ortego-Centeno N, Vicente-Rabaneda E, et al. Novel identification of the IRF7 region as an anticentromere autoantibody propensity locus in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* janv 2012;71(1):114-9.

208. Rueda B, Broen J, Simeon C, Hesselstrand R, Diaz B, Suárez H, et al. The STAT4 gene influences the genetic predisposition to systemic sclerosis phenotype. *Hum Mol Genet.* 1 juin 2009;18(11):2071-7.

209. Saigusa R, Asano Y, Taniguchi T, Yamashita T, Ichimura Y, Takahashi T, et al. Multifaceted contribution of the TLR4-activated IRF5 transcription factor in systemic sclerosis. *Proc Natl Acad Sci.* 8 déc 2015;112(49):15136-41.

210. Masi AT. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.* 1980;23(5):581-90.

211. LeRoy EC, Medsger TA. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 1 juill 2001;28(7):1573-6.

212. Hoogen F van den, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 Classification Criteria for Systemic Sclerosis: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2737-47.

213. Cervera R, Piette J-C, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al.

- Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum.* avr 2002;46(4):1019-27.
214. Giannakopoulos B, Krilis SA. The Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med.* 14 mars 2013;368(11):1033-44.
215. Schreiber K, Sciascia S, Groot PG de, Devreese K, Jacobsen S, Ruiz-Irastorza G, et al. Antiphospholipid syndrome. *Nat Rev Dis Primer.* 11 janv 2018;4:17103.
216. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood.* 27 oct 2011;118(17):4714-8.
217. Giannakopoulos B, Passam F, Rahgozar S, Krilis SA. Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 15 janv 2007;109(2):422-30.
218. Cesarman-Maus G, Ríos-Luna NP, Deora AB, Huang B, Villa R, Cravioto M del C, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin 2, in antiphospholipid syndrome. *Blood.* 1 juin 2006;107(11):4375-82.
219. Allen KL, Fonseca FV, Betapudi V, Willard B, Zhang J, McCrae KR. A novel pathway for human endothelial cell activation by antiphospholipid/anti- β 2 glycoprotein I antibodies., A novel pathway for human endothelial cell activation by antiphospholipid/anti- β 2 glycoprotein I antibodies. *Blood.* 19 janv 2012;119, 119(3, 3):884, 884-93.
220. Pennings MTT, Derksen RHWM, Urbanus RT, Tekelenburg WL, Hemrika W, Groot PGD. Platelets express three different splice variants of ApoER2 that are all involved in signaling. *J Thromb Haemost.* 1 juill 2007;5(7):1538-44.
221. Urbanus RT, Pennings MTT, Derksen RHWM, de Groot PG. Platelet activation by dimeric beta2-glycoprotein I requires signaling via both glycoprotein Ialpha and apolipoprotein E receptor 2'. *J Thromb Haemost JTH.* août 2008;6(8):1405-12.
222. Kornberg A, Renaudineau Y, Blank M, Youinou P, Shoenfeld Y. Anti-beta 2-glycoprotein I antibodies and anti-endothelial cell antibodies induce tissue factor in endothelial cells. *Isr Med Assoc J IMAJ.* juill 2000;2 Suppl:27-31.
223. Urbanus R, de Laat B. Antiphospholipid antibodies and the protein C pathway. *Lupus.* 1 avr 2010;19(4):394-9.
224. Liestøl S, Sandset PM, Jacobsen EM, Mowinckel M-C, Wisløff F. Decreased anticoagulant response to tissue factor pathway inhibitor type 1 in plasmas from patients with lupus anticoagulants. *Br J Haematol.* janv 2007;136(1):131-7.
225. Bu C, Gao L, Xie W, Zhang J, He Y, Cai G, et al. β 2-glycoprotein i is a cofactor for tissue plasminogen activator-mediated plasminogen activation. *Arthritis Rheum.* 1 févr 2009;60(2):559-68.
226. Oku K, Atsumi T, Bohgaki M, Amengual O, Kataoka H, Horita T, et al. Complement activation in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis.* 1 juin 2009;68(6):1030-5.
227. Salmon JE, Girardi G, Holers VM. Activation of complement mediates antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *Lupus.* 1 juill 2003;12(7):535-8.
228. Girardi G, Berman J, Redecha P, Spruce L, Thurman JM, Kraus D, et al. Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest.* 1 déc 2003;112(11):1644-54.
229. Agostinis C, Durigutto P, Sblattero D, Borghi MO, Grossi C, Guida F, et al. A non-complement-fixing antibody to β 2 glycoprotein I as a novel therapy for antiphospholipid syndrome. *Blood.* 29 mai 2014;123(22):3478-87.
230. Devreese KMJ, Hoylaerts MF. Is there an association between complement activation and antiphospholipid antibody-related thrombosis? *Thromb Haemost.* déc 2010;104(6):1279-81.
231. Bettacchioli E, Nafai S, Renaudineau Y. News and meta-analysis regarding anti-Beta 2 glycoprotein I antibodies and their determination. *Clin Immunol.* 1 août 2019;205:106-15.
232. Garcia D, Erkan D. Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. Longo DL, éditeur. *N Engl J Med.* 24 mai 2018;378(21):2010-21.

233. Branch DW, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome: obstetric diagnosis, management, and controversies. *Obstet Gynecol.* juin 2003;101(6):1333-44.
234. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 12 mars 2005;330(7491):565.
235. Nodler J, Moolamalla SR, Ledger EM, Nuwayhid BS, Mulla ZD. Elevated antiphospholipid antibody titers and adverse pregnancy outcomes: analysis of a population-based hospital dataset. *BMC Pregnancy Childbirth.* 16 mars 2009;9(1):11.
236. Asherson RA, Cervera R, Piette JC, Font J, Lie JT, Burcoglu A, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome. Clinical and laboratory features of 50 patients. *Medicine (Baltimore).* mai 1998;77(3):195-207.
237. Asherson RA, Cervera R, Piette JC, Shoenfeld Y, Espinosa G, Petri MA, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: clues to the pathogenesis from a series of 80 patients. *Medicine (Baltimore).* nov 2001;80(6):355-77.
238. Bucciarelli S, Espinosa G, Cervera R, Erkan D, Gómez-Puerta JA, Ramos-Casals M, et al. Mortality in the catastrophic antiphospholipid syndrome: Causes of death and prognostic factors in a series of 250 patients. *Arthritis Rheum.* 2006;54(8):2568-76.
239. Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, Erkan D, Boffa M-C, Piette J-C, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines. *Lupus.* 1 juill 2003;12(7):530-4.
240. Erkan D, Espinosa G, Cervera R. Catastrophic antiphospholipid syndrome: Updated diagnostic algorithms. *Autoimmun Rev.* 1 déc 2010;10(2):74-9.
241. Joste V, Dragon-Durey M-A, Darnige L. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides : des critères à la pratique. *Rev Médecine Interne.* 1 janv 2018;39(1):34-41.
242. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med.* 7 mars 2002;346(10):752-63.
243. Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun.* sept 2000;15(2):145-51.
244. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost JTH.* oct 2009;7(10):1737-40.
245. Devreese KMJ, Pierangeli SS, de Laat B, Tripodi A, Atsumi T, Ortel TL, et al. Testing for antiphospholipid antibodies with solid phase assays: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost JTH.* mai 2014;12(5):792-5.
246. Smock KJ, Rodgers GM. Laboratory identification of lupus anticoagulants. *Am J Hematol.* 2009;84(7):440-2.
247. Selva-O'Callaghan A, Ordi-Ros J, Monegal-Ferran F, Martinez N, Cortes-Hernandez F, Vilardell-Tarres M. IgA anticardiolipin antibodies--relation with other antiphospholipid antibodies and clinical significance. *Thromb Haemost.* févr 1998;79(2):282-5.
248. McNeeley PA, Dlott JS, Furie RA, Jack RM, Ortel TL, Triplett DA, et al. Beta2-glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibodies preferentially bind the amino terminal domain of beta2-glycoprotein I. *Thromb Haemost.* août 2001;86(2):590-5.
249. Pelkmans L, Kelchtermans H, De PG, Zuily S, Regnault V, Wahl D, et al. Variability in exposure of epitope G40-R43 of domain I in commercial anti-beta2-glycoprotein I IgG ELISAs., Variability in Exposure of Epitope G40-R43 of Domain I in Commercial Anti-Beta2-Glycoprotein I IgG ELISAs. *PloS One PLoS ONE.* 2013;8, 8(8, 8):e71402-e71402.
250. Mehrani T, Petri M. Association of IgA anti-β2 glycoprotein I with clinical and laboratory manifestations of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* janv 2011;38(1):64-8.
251. Sanmarco M, Gayet S, Alessi M-C, Audrain M, de Maistre E, Gris J-C, et al. Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with an increased odds ratio for thrombosis. A multicenter study with the participation of the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost.* juin 2007;97(6):949-54.

252. Bertolaccini ML, Sciascia S, Murru V, Garcia-Fernandez C, Sanna G, Khamashta MA. Prevalence of antibodies to prothrombin in solid phase (aPT) and to phosphatidylserine-prothrombin complex (aPS/PT) in patients with and without lupus anticoagulant. *Thromb Haemost.* févr 2013;109(2):207-13.
253. Hoogen LL van den, Fritsch-Stork RDE, Versnel MA, Derksen RHW, Roon JAG van, Radstake TRD. Monocyte type I interferon signature in antiphospholipid syndrome is related to proinflammatory monocyte subsets, hydroxychloroquine and statin use. *Ann Rheum Dis.* 1 déc 2016;75(12):e81-e81.
254. Bernales I, Fullaondo A, Marín-Vidalled MJ, Ucar E, Martínez-Taboada V, López-Hoyos M, et al. Innate immune response gene expression profiles characterize primary antiphospholipid syndrome. *Genes Immun.* janv 2008;9(1):38-46.
255. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 1 févr 2006;4(2):295-306.
256. Ortega-Hernandez O-D, Shoenfeld Y. Mixed connective tissue disease: an overview of clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* févr 2012;26(1):61-72.
257. Gunnarsson R, Molberg O, Gilboe I-M, Gran JT, PAHNOR1 Study Group. The prevalence and incidence of mixed connective tissue disease: a national multicentre survey of Norwegian patients. *Ann Rheum Dis.* juin 2011;70(6):1047-51.
258. Flåm ST, Gunnarsson R, Garen T, Norwegian MCTD Study Group, Lie BA, Molberg Ø. The HLA profiles of mixed connective tissue disease differ distinctly from the profiles of clinically related connective tissue diseases. *Rheumatol Oxf Engl.* mars 2015;54(3):528-35.
259. Greidinger EL, Hoffman RW. Autoantibodies in the pathogenesis of mixed connective tissue disease. *Rheum Dis Clin North Am.* août 2005;31(3):437-50, vi.
260. Greidinger EL, Foecking MF, Ranatunga S, Hoffman RW. Apoptotic U1-70 kd is antigenically distinct from the intact form of the U1-70-kd molecule. *Arthritis Rheum.* 2002;46(5):1264-9.
261. Hof D, Cheung K, de Rooij D-JR, van den Hoogen FH, Pruijn GJ, van Venrooij WJ, et al. Autoantibodies specific for apoptotic U1-70K are superior serological markers for mixed connective tissue disease. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(2):R302-9.
262. Uzuki M, Kamataki A, Watanabe M, Sasaki N, Miura Y, Sawai T. Histological analysis of esophageal muscular layers from 27 autopsy cases with mixed connective tissue disease (MCTD). *Pathol Res Pract.* 15 juin 2011;207(6):383-90.
263. Fagundes MN, Caleiro MTC, Navarro-Rodriguez T, Baldi BG, Kavakama J, Salge JM, et al. Esophageal involvement and interstitial lung disease in mixed connective tissue disease. *Respir Med.* juin 2009;103(6):854-60.
264. Hajas A, Barath S, Szodoray P, Nakken B, Gogolak P, Szekanecz Z, et al. Derailed B cell homeostasis in patients with mixed connective tissue disease. *Hum Immunol.* juill 2013;74(7):833-41.
265. Marshall JB, Kretschmar JM, Gerhardt DC, Winship DH, Winn D, Treadwell EL, et al. Gastrointestinal manifestations of mixed connective tissue disease. *Gastroenterology.* mai 1990;98(5 Pt 1):1232-8.
266. Nica AE, Alexa LM, Ionescu AO, Andronic O, Păduraru DN. Esophageal disorders in mixed connective tissue diseases. *J Med Life.* juin 2016;9(2):141-3.
267. Lundberg IE. Cardiac involvement in autoimmune myositis and mixed connective tissue disease. *Lupus.* 2005;14(9):708-12.
268. Ungprasert P, Wannarong T, Panichsillapakit T, Cheungpasitporn W, Thongprayoon C, Ahmed S, et al. Cardiac involvement in mixed connective tissue disease: a systematic review. *Int J Cardiol.* 15 févr 2014;171(3):326-30.
269. Ito S, Nakamura T, Kurosawa R, Miyamae T, Imagawa T, Mori M, et al. Glomerulonephritis in children with mixed connective tissue disease. *Clin Nephrol.* sept 2006;66(3):160-5.

270. Hojaili B, Barland P. Trigeminal neuralgia as the first manifestation of mixed connective tissue disorder. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis.* juin 2006;12(3):145-7.
271. Nascimento IS, Bonfá E, de Carvalho JF, Saad CG, Vendramini MBG, Teixeira MJ, et al. Clues for previously undiagnosed connective tissue disease in patients with trigeminal neuralgia. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis.* août 2010;16(5):205-8.
272. Fujita Y, Fujii T, Nakashima R, Tanaka M, Mimori T. Aseptic meningitis in mixed connective tissue disease: cytokine and anti-U1RNP antibodies in cerebrospinal fluids from two different cases. *Mod Rheumatol.* 2008;18(2):184-8.
273. Sato T, Fujii T, Yokoyama T, Fujita Y, Imura Y, Yukawa N, et al. Anti-U1 RNP antibodies in cerebrospinal fluid are associated with central neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. *Arthritis Rheum.* 2010;62(12):3730-40.
274. Bhinder S, Harbour K, Majithia V. Transverse myelitis, a rare neurological manifestation of mixed connective tissue disease—a case report and a review of literature. *Clin Rheumatol.* 1 mars 2007;26(3):445-7.
275. Chan C, Ryerson CJ, Dunne JV, Wilcox PG. Demographic and clinical predictors of progression and mortality in connective tissue disease-associated interstitial lung disease: a retrospective cohort study. *BMC Pulm Med.* déc 2019;19(1):192.
276. Kozuka T, Johkoh T, Honda O, Mihara N, Koyama M, Tomiyama N, et al. Pulmonary involvement in mixed connective tissue disease: high-resolution CT findings in 41 patients. *J Thorac Imaging.* avr 2001;16(2):94-8.
277. Reiser S, Gunnarsson R, Mogens Aaløkken T, Lund MB, Mynarek G, Corander J, et al. Progression and mortality of interstitial lung disease in mixed connective tissue disease: a long-term observational nationwide cohort study. *Rheumatol Oxf Engl.* 1 févr 2018;57(2):255-62.
278. Carpintero MF, Martinez L, Fernandez I, Romero ACG, Mejia C, Zang YJ, et al. Diagnosis and risk stratification in patients with anti-RNP autoimmunity. *Lupus.* 1 sept 2015;24(10):1057-66.
279. Cappelli S, Bellando Randone S, Martinović D, Tamas M-M, Pasalić K, Allanore Y, et al. « To be or not to be, » ten years after: evidence for mixed connective tissue disease as a distinct entity. *Semin Arthritis Rheum.* févr 2012;41(4):589-98.
280. Mosca M, Tani C, Carli L, Della Rossa A, Talarico R, Baldini C, et al. Analysis of the evolution of UCTD to defined CTD after a long term follow-up. *Clin Exp Rheumatol.* juin 2013;31(3):471.
281. Paradowska-Gorycka A, Wajda A, Stypinska B, Walczuk E, Walczyk M, Felis-Giemza A, et al. Interferons (IFN-A/-B/-G) Genetic Variants in Patients with Mixed Connective Tissue Disease (MCTD). *J Clin Med.* 21 nov 2019;8(12).
282. Wither J, Johnson SR, Liu T, Noamani B, Bonilla D, Lisnevskaja L, et al. Presence of an interferon signature in individuals who are anti-nuclear antibody positive lacking a systemic autoimmune rheumatic disease diagnosis. *Arthritis Res Ther.* 28 févr 2017;19(1):41.
283. Paradowska-Gorycka A, Wajda A, Stypinska B, Walczuk E, Rzeszotarska E, Walczyk M, et al. Variety of endosomal TLRs and Interferons (IFN- α , IFN- β , IFN- γ) expression profiles in patients with SLE, SSc and MCTD. *Clin Exp Immunol.* 17 déc 2020;
284. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR. Mixed connective tissue disease--an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med.* févr 1972;52(2):148-59.
285. Kasukawa R. 7 Mixed Connective Tissue Disease. :16.
286. Mier RJ, Shishov M, Higgins GC, Rennebohm RM, Wortmann DW, Jerath R, et al. Pediatric-onset mixed connective tissue disease. *Rheum Dis Clin North Am.* août 2005;31(3):483-96, vii.
287. Gunnarsson R, Hetlevik SO, Lilleby V, Molberg Ø. Mixed connective tissue disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 1 févr 2016;30(1):95-111.

288. Tanaka Y, Kuwana M, Fujii T, Kameda H, Muro Y, Fujio K, et al. 2019 Diagnostic criteria for mixed connective tissue disease (MCTD): From the Japan research committee of the ministry of health, labor, and welfare for systemic autoimmune diseases. *Mod Rheumatol.* janv 2021;31(1):29-33.
289. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A.* juin 1990;87(11):4120-4.
290. Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet Lond Engl.* 30 juin 1990;335(8705):1544-7.
291. Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet Lond Engl.* 21 juill 1990;336(8708):177-8.
292. Katzav A, Grigoriadis NC, Ebert T, Touloumi O, Blank M, Pick CG, et al. Coagulopathy triggered autoimmunity: experimental antiphospholipid syndrome in factor V Leiden mice. *BMC Med.* 4 avr 2013;11(1):92.
293. Groot PGD, Meijers JCM. β 2-Glycoprotein I: evolution, structure and function. *J Thromb Haemost.* 1 juill 2011;9(7):1275-84.
294. Hammel M, Kriechbaum M, Gries A, Kostner GM, Laggner P, Prassl R. Solution Structure of Human and Bovine β 2-Glycoprotein I Revealed by Small-angle X-ray Scattering. *J Mol Biol.* 2 août 2002;321(1):85-97.
295. Agar C, van Os GMA, Mörgelin M, Sprenger RR, Marquart JA, Urbanus RT, et al. Beta2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 26 août 2010;116(8):1336-43.
296. Brusca A, Brusca A. The Significance of Anti-Beta-2-Glycoprotein I Antibodies in Antiphospholipid Syndrome. *Antibodies.* 8 juin 2016;5(2):16.
297. Sène D, Piette J-C, Cacoub P. Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome and infections. *Autoimmun Rev.* 1 févr 2008;7(4):272-7.
298. Laat B de, Derksen RHW, Urbanus RT, Groot PG de. IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of β 2-glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood.* 15 févr 2005;105(4):1540-5.
299. Laat BD, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IEM, et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. *J Thromb Haemost.* 1 nov 2009;7(11):1767-73.
300. Alard J-E, Gaillard F, Daridon C, Shoenfeld Y, Jamin C, Youinou P. TLR2 Is One of the Endothelial Receptors for β 2-Glycoprotein I. *J Immunol.* 1 août 2010;185(3):1550-7.
301. Colasanti T, Alessandri C, Capozzi A, Sorice M, Delunardo F, Longo A, et al. Autoantibodies specific to a peptide of β 2-glycoprotein I cross-react with TLR4, inducing a proinflammatory phenotype in endothelial cells and monocytes. *Blood.* 18 oct 2012;120(16):3360-70.
302. Lutters BCH, Derksen RHW, Tekelenburg WL, Lenting PJ, Arnout J, de Groot PG. Dimers of beta 2-glycoprotein I increase platelet deposition to collagen via interaction with phospholipids and the apolipoprotein E receptor 2'. *J Biol Chem.* 5 sept 2003;278(36):33831-8.
303. Shi T, Giannakopoulos B, Yan X, Yu P, Berndt MC, Andrews RK, et al. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in complex with β 2-glycoprotein I can activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum.* 1 août 2006;54(8):2558-67.
304. López-Pedraza C, Buendía P, Barbarroja N, Siendones E, Velasco F, Cuadrado MJ. Antiphospholipid-Mediated Thrombosis: Interplay Between Anticardiolipin Antibodies and Vascular Cells. *Clin Appl Thromb.* janv 2006;12(1):41-5.
305. Hamid C, Norgate K, D'Cruz DP, Khamashta MA, Arno M, Pearson JD, et al. Anti-beta2GPI-antibody-induced endothelial cell gene expression profiling reveals induction of novel pro-inflammatory genes potentially involved in primary antiphospholipid syndrome., Anti- β 2GPI-antibody-induced endothelial cell gene expression profiling reveals induction of

- novel pro-inflammatory genes potentially involved in primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 2007;66, 66(8, 8):1000, 1000-7.
306. Lellouche F, Martinuzzo M, Said P, Maclouf J, Carreras LO. Imbalance of thromboxane/prostacyclin biosynthesis in patients with lupus anticoagulant. *Blood*. 1 déc 1991;78(11):2894-9.
307. Forastiero R, Martinuzzo M, Carreras LO, Maclouf J. Anti-beta2 glycoprotein I antibodies and platelet activation in patients with antiphospholipid antibodies: association with increased excretion of platelet-derived thromboxane urinary metabolites. *Thromb Haemost.* janv 1998;79(1):42-5.
308. Fischetti F, Durigutto P, Pellis V, Debeus A, Macor P, Bulla R, et al. Thrombus formation induced by antibodies to beta2-glycoprotein I is complement dependent and requires a priming factor. *Blood*. 1 oct 2005;106(7):2340-6.
309. Pierangeli SS, Girardi G, Vega-Ostertag M, Liu X, Espinola RG, Salmon J. Requirement of activation of complement C3 and C5 for antiphospholipid antibody-mediated thrombophilia. *Arthritis Rheum.* 1 juill 2005;52(7):2120-4.
310. Blank M, Shoenfeld Y. Antiphospholipid antibody-mediated reproductive failure in antiphospholipid syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol.* avr 2010;38(2-3):141-7.
311. Borrell M, Sala N, de Castellarnau C, Lopez S, Gari M, Fontcuberta J. Immunoglobulin fractions isolated from patients with antiphospholipid antibodies prevent the inactivation of factor Va by activated protein C on human endothelial cells. *Thromb Haemost.* 7 sept 1992;68(3):268-72.
312. Shibata S, Harpel PC, Gharavi A, Rand J, Fillit H. Autoantibodies to heparin from patients with antiphospholipid antibody syndrome inhibit formation of antithrombin III-thrombin complexes [see comments]. *Blood*. 1 mai 1994;83(9):2532-40.
313. Moerloose PD, Reber G, Musial J, Arnout J. Analytical and clinical performance of a new, automated assay panel for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost.* 1 juill 2010;8(7):1540-6.
314. Hoecke FV, Persijn L, Decavele A-S, Devreese K. Performance of two new, automated chemiluminescence assay panels for anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies in the laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Int J Lab Hematol.* 1 déc 2012;34(6):630-40.
315. Forastiero R, Papalardo E, Watkins M, Nguyen H, Quirbach C, Jaskal K, et al. Evaluation of different immunoassays for the detection of antiphospholipid antibodies: Report of a wet workshop during the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Clin Chim Acta.* 20 janv 2014;428:99-105.
316. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-β2-glycoprotein I testing: Report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Rheum.* 1 janv 2012;64(1):1-10.
317. Sammaritano L, Lockshin M, E. Gharavi A. Antiphospholipid Antibodies Differ in aPL Cofactor Requirement. *Lupus.* 1 mars 1992;1:83-90.
318. Laat B de, Derksen RHW, Lummel M van, Pennings MTT, Groot PG de. Pathogenic anti-β2-glycoprotein I antibodies recognize domain I of β2-glycoprotein I only after a conformational change. *Blood.* 1 mars 2006;107(5):1916-24.
319. Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, Triplett DA, Koike T. Anticardiolipin antibodies recognize beta 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface., Anticardiolipin antibodies recognize beta 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *J Exp Med* 1994;179, 179(2, 2):457, 457-62.
320. Devreese K, Hoylaerts MF. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome: a plethora of obstacles to overcome. *Eur J Haematol.* 1 juill 2009;83(1):1-16.
321. Laat BD, Derksen RHW, Groot PGD. High-avidity anti-β2 glycoprotein I antibodies highly correlate with thrombosis in contrast to low-avidity anti-β2 glycoprotein I antibodies. *J*

Thromb Haemost. 1 juill 2006;4(7):1619-21.

322. Salma N, Julie L, Boutahar B, Sylvie LN, Eleonore B, Fabien LN, et al. Thrombotic risk assessment and analytical performance of the chemiluminescent analyzer IDS-iSYS for the detection of anti-cardiolipin and anti-beta 2 glycoprotein I autoantibodies. *Clin Immunol.* sept 2018;194:92-9.
323. Kaul R, Johnson K, Scholz H, Marr G. Performance of the BioPlex™ 2200 Autoimmune Vasculitis kit. *Autoimmun Rev.* janv 2009;8(3):224-7.
324. Kelchtermans H, Pelkmans L, de Laat B, Devreese KM. IgG/IgM antiphospholipid antibodies present in the classification criteria for the antiphospholipid syndrome: a critical review of their association with thrombosis. *J Thromb Haemost JTH.* 2016;14(8):1530-48.
325. Pengo V. A contribution to the debate on the laboratory criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost.* 1 juin 2008;6(6):1048-9.
326. Galli M, Reber G, Moerloose PD, Groot PGD. Invitation to a debate on the serological criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost.* 1 févr 2008;6(2):399-401.
327. Murthy V, Willis R, Romay-Penabad Z, Ruiz-Limón P, Martínez-Martínez LA, Jatwani S, et al. Value of Isolated IgA anti-β2GPI Positivity in the Diagnosis of the Antiphospholipid Syndrome. *Arthritis Rheum.* déc 2013;65(12):3186-93.
328. Ruiz-García R, Serrano M, Martínez-Flores J, Mora S, Morillas L, Martín-Mola M, et al. Isolated IgA anti- β2 glycoprotein I antibodies in patients with clinical criteria for antiphospholipid syndrome., Isolated IgA Anti-β2 Glycoprotein I Antibodies in Patients with Clinical Criteria for Antiphospholipid Syndrome. *J Immunol Res J Immunol Res.* 2014;2014, 2014:704395-704395.
329. Pericleous C, Ferreira I, Borghi O, Pregolato F, McDonnell T, Garza-Garcia A, et al. Measuring IgA Anti-β2-Glycoprotein I and IgG/IgA Anti-Domain I Antibodies Adds Value to Current Serological Assays for the Antiphospholipid Syndrome. *PLoS ONE [Internet].* 2 juin 2016 [cité 18 août 2018];11(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4890741/>
330. Tebo AE, Willis R, Jaskowski TD, Guerra M, Pierangeli SS, Salmon J, et al. Clinical significance and correlations between anti-β2 glycoprotein I IgA assays in antiphospholipid syndrome and/or systemic lupus erythematosus. *Clin Chim Acta.* sept 2016;460:107-13.
331. Tortosa C, Cabrera-Marante O, Serrano M, Martínez-Flores JA, Pérez D, Lora D, et al. Incidence of thromboembolic events in asymptomatic carriers of IgA anti β2 glycoprotein-I antibodies. *PLOS ONE.* 20 juill 2017;12(7):e0178889.
332. Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1 août 2012;64(8):2677-86.
333. Fanopoulos D, Teodorescu MR, Varga J, Teodorescu M. High frequency of abnormal levels of IgA anti-β2-glycoprotein I antibodies in patients with systemic lupus erythematosus: Relationship with antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol.* 1 avr 1998;25(4):675-80.
334. Martínez-Flores JA, Serrano M, Alfaro J, Mora S, Paz-Artal E, Morales JM, et al. Heterogeneity between Diagnostic Tests for IgA anti-Beta2 Glycoprotein I: Explaining the Controversy in Studies of Association with Vascular Pathology. *Anal Chem.* 17 déc 2013;85(24):12093-8.
335. Giannakopoulos B, Passam F, Ioannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 29 janv 2009;113(5):985-94.
336. Ruffatti A, Tonello M, Del Ross T, Cavazzana A, Grava C, Noventa F, et al. Antibody profile and clinical course in primary antiphospholipid syndrome with pregnancy morbidity. *Thromb Haemost.* sept 2006;96(3):337-41.
337. Craemer A-SD, Musial J, Devreese KMJ. Role of anti-domain 1-β2glycoprotein I antibodies in the diagnosis and risk stratification of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost.* 1 sept 2016;14(9):1779-87.
338. Despierres L, Beziane A, Kaplanski G, Granel B, Serratrice J, Cohen W, et al.

- Contribution of anti- β 2glycoprotein I IgA antibodies to the diagnosis of anti-phospholipid syndrome: potential interest of target domains to discriminate thrombotic and non-thrombotic patients. *Rheumatology*. 1 juill 2014;53(7):1215-8.
339. Pengo V, Ruffatti A, Tonello M, Cuffaro S, Banzato A, Bison E, et al. Antiphospholipid syndrome: antibodies to Domain 1 of β 2-glycoprotein 1 correctly classify patients at risk. *J Thromb Haemost*. 1 mai 2015;13(5):782-7.
340. Iwaniec T, Kaczor MP, Celińska-Löwenhoff M, Polański S, Musiał J. Clinical utility of automated chemiluminescent antiphospholipid antibody assay. *Thromb Res*. 1 nov 2015;136(5):1033-9.
341. Zhang S, Wu Z, Li P, Bai Y, Zhang F, Li Y. Evaluation of the Clinical Performance of a Novel Chemiluminescent Immunoassay for Detection of Anticardiolipin and Anti-Beta2-Glycoprotein I Antibodies in the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome. *Medicine (Baltimore)*. nov 2015;94(46):e2059.
342. Capozzi A, Lococo E, Grasso M, Longo A, Garofalo T, Misasi R, et al. Detection of antiphospholipid antibodies by automated chemiluminescence assay. *J Immunol Methods*. 31 mai 2012;379(1):48-52.
343. Sénant M, Rostane H, Fernani-Oukil F, Hosking F, Bellery F, Courchinoux A, et al. Increased Performances of the Biological Diagnosis of the Antiphospholipid Syndrome by the Use of a Multiplex Assay. *J Immunol Res [Internet]*. 2015 [cité 26 nov 2018];2015. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4438182/>
344. Willis R, Pierangeli SS, Jaskowski TD, Malmberg E, Guerra M, Salmon JE, et al. Performance Characteristics of Commercial Immunoassays for the Detection of IgG and IgM Antibodies to β 2 Glycoprotein I and an Initial Assessment of Newly Developed Reference Materials for Assay Calibration. *Am J Clin Pathol*. 1 juin 2016;145(6):796-805.
345. Vikerfors A, Johansson A-B, Gustafsson JT, Jönsen A, Leonard D, Zickert A, et al. Clinical manifestations and anti-phospholipid antibodies in 712 patients with systemic lupus erythematosus: evaluation of two diagnostic assays. *Rheumatology*. 1 mars 2013;52(3):501-9.
346. Duarte-García A, Pham MM, Crowson CS, Amin S, Moder KG, Pruthi RK, et al. The Epidemiology of Antiphospholipid Syndrome: A Population-Based Study. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. sept 2019;71(9):1545-52.
347. Tedesco F, Borghi MO, Gerosa M, Chighizola CB, Macor P, Lonati PA, et al. Pathogenic Role of Complement in Antiphospholipid Syndrome and Therapeutic Implications. *Front Immunol [Internet]*. 2018 [cité 18 févr 2021];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01388/full>
348. Bruschi A, Bundell C, Hollingsworth P. Immunoglobulin G is the only anti-beta-2-glycoprotein I isotype that associates with unprovoked thrombotic events among hospital patients. *Pathology (Phila)*. avr 2014;46(3):234-9.
349. Montaruli B, Luna ED, Erroi L, Marchese C, Mengozzi G, Napoli P, et al. Analytical and clinical comparison of different immunoassay systems for the detection of antiphospholipid antibodies. *Int J Lab Hematol*. 1 avr 2016;38(2):172-82.
350. Devreese KMJ, Hoecke FV. Anticardiolipin and anti- β 2glycoprotein-I antibody cut-off values in the diagnosis of antiphospholipid syndrome: more than calculating the in-house 99th percentiles, even for new automated assays. *Thromb Res*. 1 déc 2011;128(6):598-600.
351. Wahren-Herlenius M, Dörner T. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. *Lancet Lond Engl*. 31 août 2013;382(9894):819-31.
352. Barrat FJ, Crow MK, Ivashkiv LB. Interferon target-gene expression and epigenomic signatures in health and disease. *Nat Immunol*. déc 2019;20(12):1574-83.
353. Nakano T, Matsui M, Inoue I, Awata T, Katayama S, Murakoshi T. Free immunoglobulin light chain: its biology and implications in diseases. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 12 mai 2011;412(11-12):843-9.
354. Napodano C, Pocino K, Rigante D, Stefanile A, Gulli F, Marino M, et al. Free light chains and autoimmunity. *Autoimmun Rev*. mai 2019;18(5):484-92.
355. Draborg AH, Lydolph MC, Westergaard M, Larsen SO, Nielsen CT, Duus K, et al.

- Elevated Concentrations of Serum Immunoglobulin Free Light Chains in Systemic Lupus Erythematosus Patients in Relation to Disease Activity, Inflammatory Status, B Cell Activity and Epstein-Barr Virus Antibodies. *PLOS ONE*. 24 sept 2015;10(9):e0138753.
356. Lanteri A, Sobanski V, Langlois C, Lefèvre G, Hauspie C, Sanges S, et al. Serum free light chains of immunoglobulins as biomarkers for systemic sclerosis characteristics, activity and severity. *Autoimmun Rev*. 1 sept 2014;13(9):974-80.
357. Gottenberg J-E, Seror R, Miceli-Richard C, Benessiano J, Devauchelle-Pensec V, Dieude P, et al. Serum levels of beta2-microglobulin and free light chains of immunoglobulins are associated with systemic disease activity in primary Sjögren's syndrome. Data at enrollment in the prospective ASSESS cohort. *PLoS One*. 2013;8(5):e59868.
358. Bosello S, Basile U, De Lorenzis E, Gulli F, Canestrari G, Napodano C, et al. Free light chains of immunoglobulins in patients with systemic sclerosis: correlations with lung involvement and inflammatory milieu. *J Clin Pathol*. juill 2018;71(7):620-5.
359. Savarese E, Chae O, Trowitzsch S, Weber G, Kastner B, Akira S, et al. U1 small nuclear ribonucleoprotein immune complexes induce type I interferon in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. *Blood*. 15 avr 2006;107(8):3229-34.
360. Burbano C, Villar-Vesga J, Vásquez G, Muñoz-Vahos C, Rojas M, Castaño D. Proinflammatory Differentiation of Macrophages Through Microparticles That Form Immune Complexes Leads to T- and B-Cell Activation in Systemic Autoimmune Diseases. *Front Immunol* [Internet]. 28 août 2019 [cité 18 févr 2021];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6724570/>
361. Meri S, Koistinen V, Miettinen A, Törnroth T, Seppälä IJ. Activation of the alternative pathway of complement by monoclonal lambda light chains in membranoproliferative glomerulonephritis. *J Exp Med*. 1 avr 1992;175(4):939-50.
362. Song D, Guo W-Y, Wang F-M, Li Y-Z, Song Y, Yu F, et al. Complement Alternative Pathway's Activation in Patients With Lupus Nephritis. *Am J Med Sci*. mars 2017;353(3):247-57.
363. Chen M, Daha MR, Kallenberg CGM. The complement system in systemic autoimmune disease. *J Autoimmun*. mai 2010;34(3):J276-286.
364. Kirou KA, Lee C, George S, Louca K, Peterson MGE, Crow MK. Activation of the interferon-alpha pathway identifies a subgroup of systemic lupus erythematosus patients with distinct serologic features and active disease. *Arthritis Rheum*. mai 2005;52(5):1491-503.
365. Chiche L, Jourde-Chiche N, Whalen E, Presnell S, Gersuk V, Dang K, et al. Modular transcriptional repertoire analyses of adults with systemic lupus erythematosus reveal distinct type I and type II interferon signatures. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. juin 2014;66(6):1583-95.
366. Feng X, Wu H, Grossman JM, Hanvivadhanakul P, FitzGerald JD, Park GS, et al. Association of increased interferon-inducible gene expression with disease activity and lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. sept 2006;54(9):2951-62.
367. Thurlings RM, Boumans M, Tekstra J, van Roon JA, Vos K, van Westing DM, et al. Relationship between the type I interferon signature and the response to rituximab in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum*. déc 2010;62(12):3607-14.
368. Valle Y, Ledezma-Lozano IY, Torres-Carrillo N, Padilla-Gutiérrez JR, Navarro-Hernández RE, Vázquez-Del Mercado M, et al. Circulating TNFRI and TNFRII levels correlated with the disease activity score (DAS28) in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2009;38(5):332-5.
369. Zhou H, Li B, Li J, Wu T, Jin X, Yuan R, et al. Dysregulated T Cell Activation and Aberrant Cytokine Expression Profile in Systemic Lupus Erythematosus [Internet]. Vol. 2019, *Mediators of Inflammation*. Hindawi; 2019 [cité 18 févr 2021]. p. e8450947. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2019/8450947/>
370. Munroe ME, Vista ES, Guthridge JM, Thompson LF, Merrill JT, James JA. Pro-Inflammatory Adaptive Cytokines and Shed Tumor Necrosis Factor Receptors are Elevated

- Preceding Systemic Lupus Erythematosus Disease Flare. *Arthritis Rheumatol* Hoboken NJ. juill 2014;66(7):1888-99.
371. Deng G-M, Liu L, Tsokos GC. Targeted TNF receptor 1 preligand assembly domain improves skin lesions in MRL/lpr mice. *Arthritis Rheum.* août 2010;62(8):2424-31.
372. Szodoray P, Alex P, Brun JG, Centola M, Jonsson R. Circulating cytokines in primary Sjögren's syndrome determined by a multiplex cytokine array system. *Scand J Immunol.* juin 2004;59(6):592-9.
373. Hügler T, O'Reilly S, Simpson R, Kraaij MD, Bigley V, Collin M, et al. Tumor Necrosis Factor–Costimulated T Lymphocytes From Patients With Systemic Sclerosis Trigger Collagen Production in Fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 1 févr 2013;65(2):481-91.
374. Hanaoka R, Kasama T, Muramatsu M, Yajima N, Shiozawa F, Miwa Y, et al. A novel mechanism for the regulation of IFN- γ inducible protein-10 expression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(2):R74-81.
375. Kwak HB, Ha H, Kim H-N, Lee J-H, Kim HS, Lee S, et al. Reciprocal cross-talk between RANKL and interferon-gamma-inducible protein 10 is responsible for bone-erosive experimental arthritis. *Arthritis Rheum.* mai 2008;58(5):1332-42.
376. Narumi S, Takeuchi T, Kobayashi Y, Konishi K. SERUM LEVELS OF IFN-INDUCIBLE PROTEIN-10 RELATING TO THE ACTIVITY OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS. *Cytokine.* 1 oct 2000;12(10):1561-5.
377. Hasegawa H, Inoue A, Kohno M, Muraoka M, Miyazaki T, Terada M, et al. Antagonist of interferon-inducible protein 10/CXCL10 ameliorates the progression of autoimmune sialadenitis in MRL/lpr mice. *Arthritis Rheum.* avr 2006;54(4):1174-83.
378. Fujii H, Shimada Y, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. Serum levels of a Th1 chemoattractant IP-10 and Th2 chemoattractants, TARC and MDC, are elevated in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci.* juin 2004;35(1):43-51.
379. Muehlinghaus G, Cigliano L, Huehn S, Peddinghaus A, Leyendeckers H, Hauser AE, et al. Regulation of CXCR3 and CXCR4 expression during terminal differentiation of memory B cells into plasma cells. *Blood.* 15 mai 2005;105(10):3965-71.

V. Annexes

1. Publication n°1: News and meta-analysis regarding anti- β 2 glycoprotein I antibodies and their determination

Accessible avec le lien internet suivant :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521661619302529>

2. Publication n°2: Antiphospholipid autoantibody detection is important in all patients with systemic autoimmune diseases

Accessible avec le lien internet suivant :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0896841120301487?via%3Dihub>

3. Publication n°3: An elevated polyclonal free light chain level reflects a strong interferon signature in patients with systemic autoimmune diseases

Journal of Translational Autoimmunity 4 (2021) 100090



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Translational Autoimmunity

journal homepage: www.journals.elsevier.com/journal-of-translational-autoimmunity/



An elevated polyclonal free light chain level reflects a strong interferon signature in patients with systemic autoimmune diseases



Eléonore Bettacchioli^a, Christelle Le Gaffric^a, Margaux Mazeas^a, Maria Orietta Borghi^b, Johan Frostegard^c, Guillermo Barturen^d, Zuzanna Makowska^e, Sepideh Babei^e, Ralf Lesche^f, PRECISESADS Clinical Consortium¹, Pier Luigi Meroni^b, Marta E. Alarcon-Riquelme^d, Yves Renaudineau^{a, g, *}

^a Laboratory of Immunology and Immunotherapy, CHRU Morvan, Brest, France

^b Immunohaematology Research Laboratory, IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Milan, Italy

^c Section of Immunology and Chronic Disease, Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

^d GENYO, Centre for Genomics and Oncological Research, Pfizer/University of Granada/Andalusian Regional Government, Granada, 18016, Spain

^e Bayer Pharma AG, Berlin, Germany

^f Drug Discovery, Bayer AG, Berlin, Germany

^g Univ Brest, INSERM, LBAI, 29238, Brest Cedex 3, France

ARTICLE INFO

Keywords:

Autoimmune diseases
Free light chains
Autoantibodies
Interferon signature

ABSTRACT

High amount of polyclonal free light chains (FLC) are reported in systemic autoimmune diseases (SAD) and we took advantage of the PRECISESADS study to better characterize them. Serum FLC levels were explored in 1979 patients with SAD (RA, SLE, SJS, Scl, APS, UCTD, MCTD) and 614 healthy controls. Information regarding clinical parameters, disease activity, medications, autoantibodies (Ab) and the interferon α and/or γ scores were recorded. Among SAD patients, 28.4% had raised total FLC (from 12% in RA to 30% in SLE and APS) with a normal kappa/lambda ratio. Total FLC levels were significantly higher in SAD with inflammation, active disease in SLE and SJS, and an impaired pulmonary functional capacity in SSc, while independent from kidney impairment, infection, cancer and treatment. Total FLC concentrations were positively correlated among the 10/17 (58.8%) autoantibodies (Ab) tested with anti-RNA binding protein Ab (SSB, SSA-52/60 kDa, Sm, U1-RNP), anti-dsDNA/nucleosome Ab, rheumatoid factor and negatively correlated with complement fractions C3/C4. Finally, examination of interferon (IFN) expression as a potential driver of FLC overexpression was tested showing an elevated level of total FLC among patients with a high IFN α and IFN γ Kirou's score, a strong IFN modular score, and the detection in the sera of B-cell IFN dependent factors, such as TNF-R1/TNFRSF1A and CXCL10/IP10. In conclusion, an elevated level of FLC, in association with a strong IFN signature, defines a subgroup of SAD patients, including those without renal affection, characterized by increased disease activity, autoreactivity, and complement reduction.

Abbreviations: SAD, systemic autoimmune diseases; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; SJS, Sjögren's syndrome; Scl, systemic sclerosis; APS, primary antiphospholipid syndrome; UCTD, undetermined connective tissue disease; MCTD, mixed connective tissue disease; HC, healthy controls; IFN, interferon; Ab, autoantibody; FLC, free light chains; RNP, ribonucleoprotein; TNF-R1, tumor necrosis factor receptor 1; CXCL10, C-X-C motif chemokine 10; CCP, cyclic citrullinated peptide; NK, natural killer; TH1, T helper type 1; κ , kappa; λ , lambda; RF, rheumatoid factor; MDA, malondialdehyde; PC, phosphorylcholine; SD, standard deviation; ROC, Receiver Operating Characteristics; AUC, area under the curve; F, female; M, male; VAS, visual analogical scale.

* Corresponding author. Laboratory of Immunology and Immunotherapy, CHRU Morvan, Brest, France.

E-mail addresses: eleonore.bettacchioli@gmail.com (E. Bettacchioli), christelle.legaffric@chu-brest.fr (C. Le Gaffric), margaux.mazeas@gmail.com (M. Mazeas), maria.borghi@unimi.it (M.O. Borghi), johan.frostegard@ki.se (J. Frostegard), guillermo.barturen@genyo.es (G. Barturen), zuzanna.makowska@bayer.com (Z. Makowska), sedipeh.babei@bayer.com (S. Babei), ralf.lesche@bayer.com (R. Lesche), pierluigi.meroni@unimi.it (P.L. Meroni), marta.alarcon@genyo.es (M.E. Alarcon-Riquelme), yves.renaudineau@gmail.com (Y. Renaudineau).

¹ List in Supplementary Materials.

<https://doi.org/10.1016/j.jtauto.2021.100090>

Received 13 February 2021; Accepted 21 February 2021

2589-9090/© 2021 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Chronic multisystem autoimmune diseases, referred to as systemic autoimmune diseases (SAD), are diseases of unknown etiology with genetic, epigenetic, sex bias and environmental predispositions [1]. SAD are characterized by a wide range of clinical manifestations and the production of one or more autoantibodies from a large panel of non-organ specific autoantibodies directed at endogenous material, such as cellular and nuclear targets (e.g. anticardiolipin, anti-dsDNA), immunoglobulins (e.g. rheumatoid factor), and post-translationally modified proteins (e.g. CCP). However, at early stages, inflammation and dysregulation of the interferon (IFN) pathway represent common features that characterize SAD and drive the immune response [2]. When activated, usually in concert IFN type I (e.g. IFN α , produced mainly by dendritic cells) and type II (IFN γ , produced by NK cells) promote innate immunity, TH1 phenotype, B cell activation, and plasma cell differentiation. The expression levels of IFN stimulated genes are used to evaluate the IFN activity status in patients.

In SAD, B cell homeostasis is disturbed [3–6] and B cell activation into plasma cells is associated with exaggerated polyclonal synthesis of immunoglobulins together with a slight excess of polyclonal free light chains (FLC) concurrently, with normal kappa(κ)/lambda(λ) ratios. Considered as a waste product of immunoglobulin production, FLC have a serum half-life of 2–6 h, which is 100–200 fold less than immunoglobulin G, and, as such, represent an ideal marker to follow B cell activation as reported in SAD such as SLE, RA, and SjS [7]. Moreover, it is likely that SAD patients present renal impairment in which case an FLC level increase can result not only from overproduction, but also from reduced clearance due to reduced glomerular filtration. Regarding the physiological impact of elevated FLC levels, it has been suggested that FLC are able to inhibit innate immune functions that can contribute to an increase in infections [8], to activate mast cells leading to their degranulation [9], and to promote alternative complement cascade activation and, in turn, nephropathy [10]. An association between elevated FLC levels and an inflammatory burden is also described [11], as well as the capacity of monoclonal FLC to form precursors of amyloid fibrils in amyloidosis [12]. The possible use of FLC as a biomarker in SAD is further supported by its correlation with disease activity and autoantibody production.

In order to better address the place of FLC in SAD, serum FLC levels were determined in a cross-sectional study including 1979 patients with SAD and 614 healthy controls enrolled in the European's PRECISESAD study. Objectives of the analysis were related to the prevalence of elevated FLC levels in SAD, associations and/or correlations with clinical parameters, disease activity, treatment, autoantibodies and the interplay with the IFN signature in SAD.

2. Material and methods

2.1. Patients

During the 5-year PRECISESADS project, 1979 SAD patients and 614 healthy controls (HC) were recruited from 18 centers in Europe. According to widely-used classification criteria [13–18], 463 patients with systemic lupus erythematosus (SLE), 373 patients with rheumatoid arthritis (RA), 379 patients with Sjögren syndrome (SjS), 397 patients with systemic sclerosis (SSc), 106 patients with primary antiphospholipid syndrome (APS), and 98 patients with mixed connective tissue disease (MCTD) were included for this study. In addition, 163 patients with undetermined connective tissue disease (UCTD) were selected based on the detection of antinuclear antibodies (ANA \geq 1:160) with or without specific autoantibodies and clinical features of SAD but without fulfilling (i) the aforementioned classification criteria; (ii) 3 criteria of the SLE classification; or (iii) an early systemic sclerosis diagnosis [19].

Fifty four relevant bio-clinical parameters were collected for every patient on the PRECISESADS project (supplementary S2 document), and

among them 15 were further analyzed based on their association with FLC overexpression in the SAD population: pleural effusions, venous thrombosis, sicca syndrome, gangrene of the fingers, worsening lung function, pulmonary hypertension, pericarditis, erosive arthritis, haemolytic anemia, and systemic hypertension; as well as the following paraclinical markers: inflammation (C-reactive protein > normal (N) or erythrocyte sedimentation rate >30 mm in the absence of current infection), leucopenia (white blood cells <3000 cells/mm³ or lymphocytes <1000/mm³ or neutrophils <1500/mm³), abnormal serum creatinemia (>20% N or increase of >50% versus baseline or a glomerular filtration rate <60 ml/min), proteinuria (excess of proteins in urine >500mg/24 h), and autoimmune hemolytic anemia (hemoglobin < N and haptoglobin < N and positive direct Coombs test). In subanalysis, two subgroups of patients were established to exclude (i) patients with chronic/acute infections and/or a history of cancer; and (ii) patients with renal impairment, based on the presence or past detection of proteinuria and/or abnormal serum creatinine.

Disease activity measures included a 0–100 visual analogue scale (VAS) for global disease activity based on the physician's judgement that was done for all SAD patients. As disease specific activity determination was facultative in the PRECISESADS project, available data include SLE disease activity index (SLEDAI) for 321 SLE patients [20], SjS disease activity index (ESSDAI [21]) for 195 SjS patients and pulmonary functional tests in 204 SSc patients. For pulmonary functional tests, the forced vital capacity (FVC) that measures how much air you can inhale, the diffusing capacity (DLCO) that measures the oxygen capacity that diffuses from the air into the bloodstream², and the ratio FVC/DLCO to predict pulmonary artery hypertension were studied.

The Ethical Review Boards of the 18 participating institutions approved the protocol of the study, which adhered to the standards set by the International Conference on Harmonization and Good Clinical Practice (ICH-GCP), and to the Declaration of Helsinki. The study is registered with number NCT02890121 in [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov).

2.2. Free light chains (FLC) assay

FLC kappa (FLC- κ) and lambda (FLC- λ) were determined at a single center (Brest, France) using the Freelite® assay through turbidimetry (SpaPlus, The Binding Site, Birmingham, UK). FLC- κ , FLC- λ , total FLC (κ + λ), and κ / λ ratio measures were collected for every patient and healthy controls. For cut-off selection and their comparison, the receiver operating characteristic (ROC) curves were calculated, and the Cohen's kappa coefficient was used for inter-reliability.

2.3. Autoantibody assays

A strategy for determining a broad range of autoantibodies in a single center (Brest) was applied, utilizing two distinct panels. The first panel was performed for all samples and included analysis of anti-ENA, anti-CPP2, anti- β 2GPI IgG and IgM, anti-CL IgG and IgM, anti-dsDNA, and anti-centromere autoantibodies using the chemiluminescent immunoanalyser IDS-ISYS (Immunodiagnostic, Boldon, UK). With a positive result from the anti-ENA screening test that includes an autoantigen mixture, a second distinct panel was screened for the corresponding autoantigens: Sm, U1-RNP, SSA 52 kDa, SSA 60 kDa, SSB, and anti-Scl70. In all individuals, an ELISA was used for anti-dsDNA-NcX/chromatin detection (Euroimmun, Luebeck, Germany), and turbidimetry to determine rheumatoid factors (RF), complement fractions C3 and C4, and in an unselected subgroup for IgG/A/M isotypes (The Binding Site). The cut-off was chosen according to the manufacturer's instructions except for anti-dsDNA (40 UI/mL) and RF (20 UI/mL) based on results of ROC curve analysis. Anti-malondialdehyde (MDA) and anti-phosphorylcholine (PC) IgM were performed as previously described [22].

2.4. Cytokine assays

Cytokines, chemokines and inflammatory mediators were measured in a single center (Milan, Italia) on an unselected subgroup of serum samples from 866 SAD individuals (55 MCTD, 50 APS, 177 RA, 162 SJS, 179 SLE, 180 SSC and 63 UCTD) and 157 healthy controls using the human pre-mixed multi-analyte Luminex assay (R&D Systems, Minneapolis, MN) encompassing 12 cytokines and chemokines involved in the inflammatory processes: TNF-R1, CXCL10/IP-10, CXCL13/BLC, GDF-15, IL1R2, CCL8/MCP2, CCL13/MCP4, CCL4/MIP-1b, IL-1RA/TNFRSF1A, CCL17/TARC, MMP8, and FASLG/FAS ligand. The concentration of each mediator was calculated from specific standard curves using the software Bio-Plex Manager v6.0 and expressed as pg/ml.

2.5. Expression of interferon-inducible genes and estimation of IFN scores

Total RNA was extracted from an unselected subgroup of whole blood samples from 1275 SAD individuals (70 MCTD, 53 APS, 259 RA, 252 SJS, 294 SLE, 254 SSC and 93 UCTD) and 406 healthy controls, and sequenced on a HiSeq2500 instrument using a HiSeq SBS kit v4 from Illumina (San Diego, CA, USA) after quality controls were run. Reads were then aligned to the *homo sapiens* hg19 reference genome using STAR v2.5.2b. RSEM v1.2.31 was used for gene expression quantification. For calculation of IFN scores, the expression of IFN inducible genes was used to evaluate the activation of type I (*IFIT1*, *IFI44*, and *PRKR*) and type II (*IRF1*, *GBP1*, and *SERPINC1*) IFN pathways according to Kiro's score [23] and by the relative expression of several 5 indicator genes for modules (M)1.2 (*IFI44*, *IFI44L*, *IFIT1*, *IFIT3*, and *MXA*), M3.4 (*ZBP1*, *EIFAK2*, *IFIH1*, *PARP9*, and *GBP4*); and M5.12 (*PSMB9*, *NCOA7*, *TAP1*, *ISG20* and *SP140*) based on Obermoser's report [24]. IFN scores and modules were divided as positive or negative using a threshold defined as the mean of HC + 2 x standard deviation (SD) of HC. According to the number of active IFN modules, patients were stratified into absent (0 module), mild (1 module), moderate (2 modules) or strong (3 modules) IFN signature as previously described [25].

2.6. Statistical analysis

Continuous data are described as mean \pm SD. Differences between groups were analyzed by multiple one-way ANOVA and the Tukey's test was used for *post hoc* comparison. Receiver Operating Characteristics (ROC) curve analysis was performed to determine the area under the curve (AUC) and the optimal cut-off value was chosen at 95% specificity. Cohen's kappa agreement was calculated for side-by-side comparison, in

order to determine the best parameter to keep for the following analysis. The strength of Cohen's kappa was interpreted based on the following definitions: less than chance agreement (<0), slight agreement (0.01–0.20), fair agreement (0.21–0.40), moderate agreement (0.41–0.60), substantial agreement (0.61–0.80), and almost perfect agreement (0.81–0.99). For categorical data (T-test or with Fischer's test, when specified) and non-categorical data (Spearman rank correlation test), the adjusted false discovery rate values (q-values) were calculated and for graphical purpose presented using the $-\log_{10}$ of the q value. Statistical analysis was performed using Prism 7.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA) or MS-excel 2007 (Microsoft, Redmond WA, USA). Statistical significance was assessed with two-tailed p or q values lower than 0.05.

3. Results

3.1. Serum FLC in SAD

A total of 2593 individuals were included in the study with 1979 SAD patients and 614 healthy controls (HC), see Table 1. Mean age varied among the SAD subgroups and ranged from 46.1 \pm 13.8 years in SLE to 58.6 \pm 12.8 years in SJS. The mean age for HC was 46.8 \pm 13.2 years. The majority of HC and SAD patients were women (F:M ratio = 3.5 and 6.8, respectively) and of European ancestry (98%). SAD duration was on average 11.9 \pm 9.2 years. Using a 0–100 mm VAS based on the physician's judgement to evaluate disease activity, a global mild disease activity was observed from 22.3 \pm 19.8 mm, and with important variations between SAD (18.1 \pm 24.7 mm in APS versus 30.9 \pm 21.2 mm in SSC). Proportions of SAD individuals with infections were 2.2%, with a history of cancer were 7.4%, and with kidney manifestations (abnormal serum creatinine and/or proteinuria per 24 h) were 58% (no)/6.4% (past)/35.6% (present) and 6.8% had nephritis proven by biopsy. The most frequently used therapies were anti-malarial (35.5%), followed by steroids (34.9%), immunosuppressants (34.1%) and biologics (9.2%), mainly in RA for the latter. No cases of hematological malignancies were reported in the PRECISESAD study.

Total FLC ($\kappa+\lambda$) levels were evaluated by quantitative turbidimetry and, as illustrated in Fig. 1A, a significant elevated concentration was found in SAD as compared to HC ($p < 10^{-4}$), while the FLC- κ/λ ratio did not differ from the HC ratio (Supplementary Fig. 1A). Next, when comparing total FLC between SAD and HC (Fig. 1B), the AUC of the ROC curves was 0.706, and the positivity fixed at 37 mg/L (sensitivity 29.3%) when using a 95% specificity cut-off, as recommended by the supplier. Of note (Fig. 1C and Supplementary Fig. 1B and C), total FLC was further

Table 1
Clinical characteristics of the studied population.

	Healthy controls	All SAD	RA	SLE	SSc	SJS	MCTD	APS	UCTD
Age (years \pm SD)	46.8 \pm 13.2	52.3 \pm 14.3	58.0 \pm 12.43	46.1 \pm 13.8	58.1 \pm 12.9	58.6 \pm 12.8	50.5 \pm 14.4	48.1 \pm 12.2	52.6 \pm 14.6
Sex (F:M)	478:138	1724:255	294:79	430:33	335:62	356:23	84:14	76:30	149:14
SAD duration (years \pm SD)	–	11.9 \pm 9.2	12.9 \pm 9.9	14.3 \pm 9.7	10.9 \pm 9.0	10.7 \pm 7.8	11.4 \pm 9.7	10.0 \pm 7.6	8.86 \pm 7.74
SAD activity (mm)	–	22.3 \pm 19.8	21.1 \pm 20.4	18.9 \pm 17.6	30.9 \pm 21.2	24.5 \pm 18.6	24.5 \pm 18.95	18.1 \pm 24.7	22.1 \pm 20.75
No/infection/cancer	–	1782/44/153	349/4/20	412/26/25	352/3/42	338/7/34	92/1/5	85/2/9	145/2/16
No/past/present kidney	–	1148/126/705	241/11/121	217/77/169	266/10/121	202/11/166	70/5/23	54/3/49	98/9/56
FLC-kappa (mg/L)	16.5 \pm 14.6	11.7 \pm 4.30	13.85 \pm 8.28	20.9 \pm 22.3	17.1 \pm 12.6	21.2 \pm 18.7	19.9 \pm 14.7	17.2 \pm 10.7	13.7 \pm 8.39
FLC-lambda (mg/L)	13.7 \pm 8.97	10.8 \pm 3.77	12.1 \pm 6.61	16.7 \pm 11.0	15.0 \pm 10.4	16.0 \pm 11.0	15.9 \pm 9.14	14.7 \pm 7.27	12.5 \pm 6.04
Total FLC (mg/L)	31.2 \pm 22.5	23.4 \pm 7.32	25.85 \pm 13.8	37.5 \pm 31.2	32.2 \pm 21.2	37.2 \pm 27.8	35.7 \pm 22.2	31.7 \pm 17.1	26.0 \pm 13.7
Ratio κ/λ	1.21 \pm 0.51	1.14 \pm 0.40	1.21 \pm 0.62	1.22 \pm 0.54	1.19 \pm 0.45	1.32 \pm 0.61	1.26 \pm 0.45	1.17 \pm 0.35	1.10 \pm 0.34
Treatment									
Antimalarial	–	703/1979	61/373	325/463	30/397	139/379	45/98	26/106	78/163
Steroids	–	691/1979	165/373	239/463	99/397	80/379	49/98	8/106	51/163
IS	–	675/1979	283/373	162/463	106/397	60/379	39/98	4/106	23/163
Biologics	–	183/1979	165/373	0/463	10/397	0/379	4/98	0/106	5/163

Abbreviations: SAD: systemic autoimmune disease; RA: rheumatoid arthritis; SLE: systemic lupus erythematosus; SSc: systemic sclerosis; SJS: Sjögren's syndrome; MCTD: mixed connective tissue disease; APS: primary antiphospholipid syndrome; UCTD: undifferentiated connective tissue disease; IS: immunosuppressant; FLC: free light chains; F:M female versus Male; SD: standard deviation.

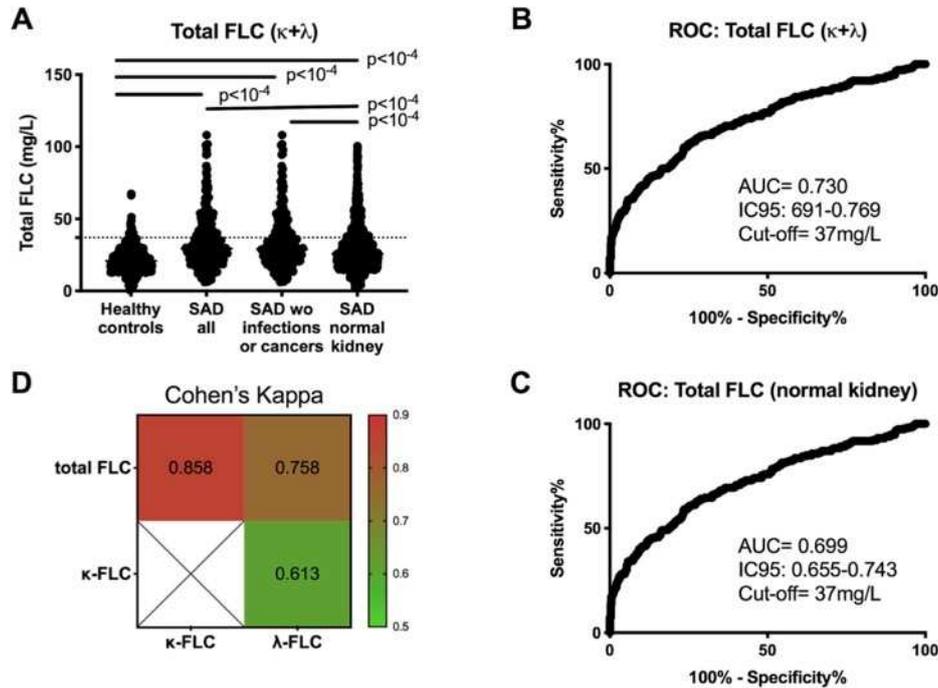


Fig. 1. Free light chain (FLC) levels are elevated in systemic autoimmune diseases (SAD). **A.** Serum levels for total FLC (FLC- $\kappa+\lambda$) in controls ($n = 614$), SAD patients ($n = 1979$) and within the subgroups of SAD patients without infection and/or a history of cancer ($n = 1782$), and with normal kidney function ($n = 1274$). The dotted lines represent the selected cut-off fixed at 95% specificity: 37 mg/L for total FLC. **B:** ROC curves were performed in controls and SAD in order to determine the area under the curve (AUC) and cut-off values (95% specificity). **C:** ROC curves showing similar AUC characteristics when the SAD patient subgroup without renal impairment was selected instead of all SAD patients. **D:** Concordance assessment between total FLC (FLC- $\kappa+\lambda$), FLC kappa (FLC- κ), and FLC lambda (FLC- λ) using the Kappa coefficient of Cohen.

selected instead of FLC- κ or FLC- λ based on AUC values of the ROC curves and the degree of agreement between total FLC and FLC- κ (Cohen's kappa = 0.858, IC95: 0.832–0.883) or FLC- λ (kappa: 0.759, IC95: 0.726–0.790) as such agreement was moderate between FLC- κ and FLC- λ (Cohen's Kappa = 0.613, IC95: 0.573 to 0.653). A correlation between total FLC and the IgG isotype ($p = 2 \times 10^{-5}$) was further observed, which was not the case with IgA or IgM (Supplementary Fig. 2). Total FLC levels were independent from sex, disease duration, and age at sample collection (Supplementary Fig. 3).

To complete such analysis and since FLC elevation in SAD can result from a polyclonal B-cell activation that may result from infection, cancers, and/or from a reduced clearance by impaired renal function, the SAD subpopulation without infection and cancer was evaluated (412 SLE, 338 SJS, 352 SSc, 349 RA, 85 APS, 92 MCTD and 145 UCTD) as well as the population with normal kidney function was individualized (294 SLE, 213 SJS, 276 SSc, 252 RA, 57 APS, 75 MCTD and 107 UCTD). In terms of AUC and cut-off values, the characteristics of the ROC assay was similar for total FLC when considering the SAD subpopulation with normal kidney function instead of all SAD individuals and SAD without infections and/or cancer (Fig. 1B and C and data not shown). Accordingly, we have concluded that FLC levels when detected over the elevated normal range in SAD resulted predominantly from an increase in polyclonal production independently from concurrent infection and/or cancer and that reduced renal clearance, when present, amplifies this effect.

3.2. Total FLC prevalence in SAD and clinical associations

An excessive total FLC concentration (>37 mg/L) was determined in the 6 SAD subgroups ranging from 12% in RA, 14% in UCTD, 22% in SSc, 24% in SJS, 29% in MCTD and 30% in APS and SLE (Fig. 2A). Among the 54 clinico-biological parameters tested and the use of a post hoc FDR adjustment (Fig. 2B), the picture of SAD individuals with elevated total FLC levels was characterized significantly by abnormal creatinemia ($p = 1.9 \times 10^{-19}$), inflammation ($p = 1.0 \times 10^{-11}$), proteinuria ($p = 5.7 \times 10^{-9}$), hypertension ($p = 4.0 \times 10^{-8}$), leucopenia ($p = 1.4 \times 10^{-6}$), hemolytic anemia ($p = 2.0 \times 10^{-4}$), erosive arthritis ($p = 3.0 \times 10^{-4}$), pericarditis ($p = 1.5 \times 10^{-3}$), worsening lung function ($p = 0.02$), gangrene of the fingers ($p = 0.02$), sicca syndrome ($p = 0.03$), venous thrombosis ($p = 0.03$) and pleural effusion ($p = 0.03$).

However, and as one may argue that such associations resulted predominantly from infections, cancer and/or renal impairment, the analysis was repeated with the SAD subpopulations after exclusion of the individuals presenting infections/cancer and or presenting normal kidney function, which were determined to have an elevated total FLC level in the 6 SAD subgroups ranging respectively from 16 to 17% in RA, 18–20% in UCTD, 30–30% in SSc, 36–36% in SJS, 33–32% in MCTD, 29–30% in APS and 36–37% in SLE (Fig. 2C/E). While associations were similar when considering the whole SAD population and the subgroup without infection/cancer (Fig. 2D), or when regarding the subgroup with normal kidney function (Fig. 2F), major associations with inflammation ($p = 2.7 \times 10^{-5}$) and reduced leucopenia ($p = 6.0 \times 10^{-5}$), while

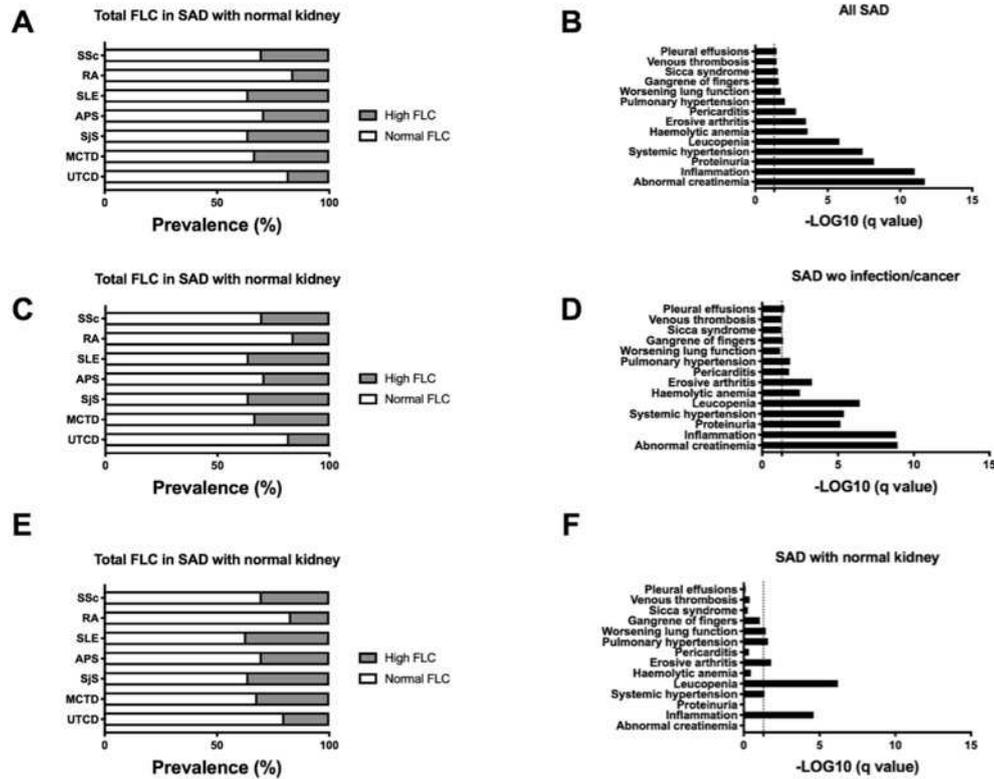


Fig. 2. Elevated free light chain (FLC) levels are reported in patients with systemic autoimmune disease (SAD) and associations with clinical manifestations. A: Distribution of patients with elevated total FLC levels, results are expressed as percentages. B: Significant clinical parameters associated with elevated total FLC in all SAD patients are presented. C/D: Distribution and clinical associations in the subgroup of SAD patients without infection and/or cancer. E/F: Distribution and clinical associations in the subgroup of SAD patients with normal kidney function. Abbreviations: SLE: systemic lupus erythematosus; RA: Rheumatoid Arthritis; SjS: Sjögren Syndrome; SSc: Systemic Sclerosis; APS: Primary Antiphospholipid Syndrome; MCTD: Mixed connective tissue disease; and UTCD: Undetermined connective tissue disease. For statistical analysis a T-test comparing SAD with normal versus elevated FLC levels was used and adjusted false discovery rate values (q-values), with a threshold <0.05, were expressed as $-\log_{10}$ of the q value.

moderate associations with systemic hypertension ($p = 0.04$), erosive arthritis ($p = 0.02$), pulmonary hypertension ($p = 0.03$) and worsening lung function ($p = 0.04$) remained. Altogether this supports the concept that elevated FLC are commonly distributed among SAD patients regardless of kidney function, and this is predominantly related to the inflammatory status while independent from infection and cancer.

3.3. Correlation between total FLC, clinical disease activity and treatment

Regarding the association between FLC and disease activity, it appeared that patients with elevated FLC levels had a higher disease activity when considering SLE patients (SLEDAI: 4.2 ± 0.6 in normal FLC SLE versus 6.7 ± 0.8 in high FLC SLE, $p = 0.01$), SjS patients (ESSDAI: 3.6 ± 0.4 in normal FLC SjS versus 5.7 ± 0.7 in high FLC SjS, $p = 0.01$), and such associations were not observed when using a global VAS approach.

As a worsening lung function was statistically associated with elevated FLC levels, the lung capacity was explored further in SSc patients, which revealed a median loss of FVC among SSc patients with elevated FLC levels ($97.2 \pm 1.8\%$ in normal FLC SSc versus $84.3 \pm 2.9\%$ in

high FLC SSc, $p = 0.0002$). No differences were observed with regards to DLCO and the ratio FLC/DLCO, two factors known to occur in a more advanced stage of fibrosis and in response to a strong inflammatory process.

The dichotomy between normal and high FLC subgroups in SAD was also studied in relation to the treatment (Fig. 3C). No statistical differences for the 6 SAD studied were reported when considering the different therapeutic approaches used in SAD: antimalarial, steroids, immunosuppressant and biologics.

3.4. Total FLC concentrations in relation to autoantibodies and complement in SAD

In order to determine whether FLC levels were associated with a large panel of SAD-associated autoantibodies and complement fractions C3/C4 (Fig. 4A), a correlation analysis was performed and followed by post hoc FDR adjustment. Accordingly, 10/17 (58.8%) autoantibodies tested were positively correlated with FLC levels while a negative correlation was reported for C3 and C4 levels ($p < 6.1 \times 10^{-14}$ and 4.0×10^{-12} , respectively). Interestingly, two groups of autoantibodies can be distinguished

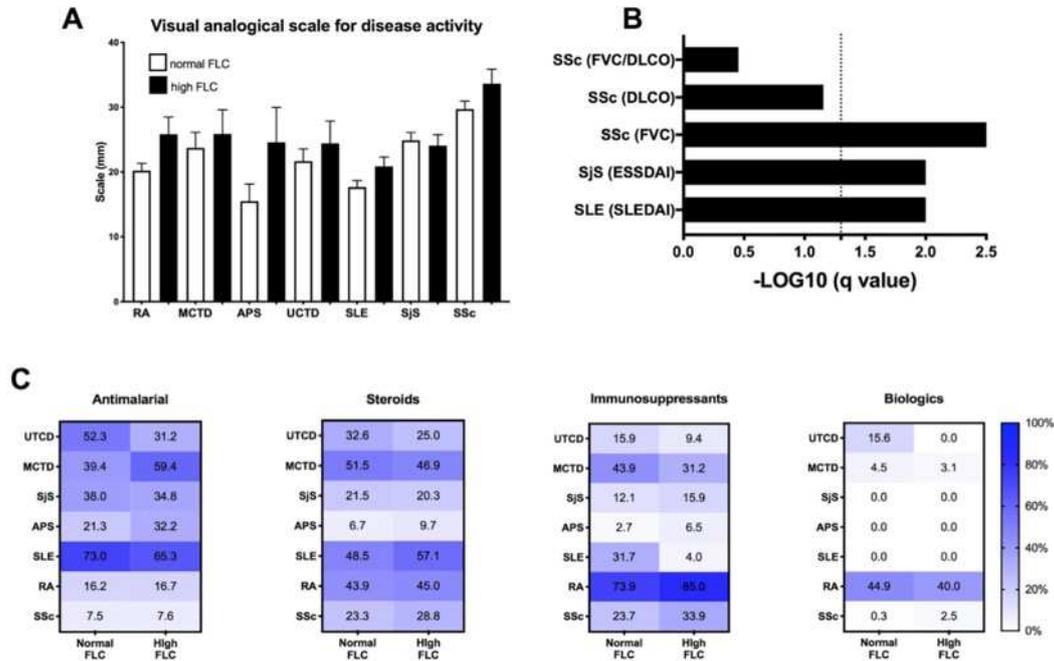


Fig. 3. Free light chain (FLC) levels are associated with increased disease activity in patients with systemic autoimmune diseases (SAD), pulmonary functions in systemic sclerosis (SSc) and independent of current treatments. **A.** Visual analogue scale representing the disease activity scoring system designed for the PRECISEADS study, according to the FLC status of SLE, RA, SJS, SSc, APS, MCTD and UCTD patients. **B.** Pulmonary function using FVC, FLCO and FVC/FLCO ratio was assessed for SSc; and the disease activity scores ESSDAI and SLEDAI, were calculated and only available for SJS and SLE patients, respectively. For statistical analysis, a T-test comparing SADs with normal FLC versus elevated FLC levels was used and adjusted false discovery rate values (q-values) with a threshold <0.05 were expressed as $-\log_{10}$ of the q value. **C.** Heat-map displaying treatments (anti-malarial, steroids, immunosuppressant and biological) taken by SADs patients according to their serum FLC levels. Results are expressed as percentages of patients currently taking the corresponding treatment. Abbreviations: FVC: forced vital capacity; DLCO: Diffusing Capacity for Carbon Monoxide; ESSDAI: EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index; SLEDAI: systemic lupus erythematosus disease activity index; SLE: systemic lupus erythematosus; RA: Rheumatoid Arthritis; SJS: Sjögren's syndrome.

according to the correlation with FLC: one correlated with FLC that includes anti-RNA binding proteins (SSB, SSA 52/60 kDa, Sm, U1-RNP; $1.9 \times 10^{-40} < p < 2.2 \times 10^{-6}$), anti-dsDNA associated or not with histones to form chromatin ($p = 6.5 \times 10^{-15}$ and 1.1×10^{-11}) plus RF ($p = 3.3 \times 10^{-7}$) and another group not or modestly correlated with FLC such as RA-associated (CCP2, $p = 0.608$), SSc-associated (Sci70, $p = 0.386$; centromere, $p = 0.272$), APS-associated (aCL/ β 2-GPI IgG/M; $0.02 < p < 0.708$), and thrombosis-associated (MDA IgM, $p = 0.01$; PC IgM, $p = 0.05$) autoantibodies. Since some of these autoantibodies were more prevalent in SAD patients with kidney involvement (e.g. dsDNA, Sm), the same analysis was repeated in SAD individuals without infection and cancer (data not shown) and in SAD with normal kidney function (Fig. 4B) confirming the correlation between FLC levels with anti-RNA binding protein autoantibodies, anti-dsDNA autoantibodies, RF and a reduction of the complement fractions C3 and C4.

3.5. Total FLC in relation to the IFN signature

The presence of autoantibodies targeting dsDNA and RNA binding proteins (e.g. SSA, SSB, Sm epitopes) in several cohorts of SAD is associated with the presence of an IFN signature. Accordingly (Fig. 5), we next compared FLC levels in 1271 SAD patients to the IFN scores and modules established by Kirou and Obermoser, respectively [23,24]. First,

using the IFN α and IFN γ Kirou score, SAD patients with a negative IFN α / γ score had lower FLC levels ($p < 10^{-4}$), which is consistent with the possible implication of both type I and type II IFNs in FLC production. Such a prediction was further supported by the elevated level of FLC observed in the type I activity module M1.2 and in the type I/II activity modules M3.4 and M5.12. In addition, the number of IFN modules is important since FLC levels were significantly higher in the moderate module ($p = 0.01$) and even more in the strong module ($p < 10^{-4}$). For 866 SAD patients, the serum level of 12 cytokine/chemokine was determined showing a significant correlation for 9/12 (75%), such as TNF-RI ($p = 2.5 \times 10^{-38}$) and CXCL10 (IP-10, $p = 6.4 \times 10^{-19}$), which belong to the IFN type I and II, except for CCL18 (type II, exclusively), according to the Interferome V2.01 database (<http://www.interferome.org>).

4. Discussion

Systemic autoimmune diseases share common pathophysiological features such as chronic inflammation and an IFN signature leading to the initiation of Th1-type immunity, B cell hyperactivation and differentiation into autoantibody-secreting plasma cells [26]. The consequent polyclonal production is associated with excessive secondary production of FLC, which has already been described in several SADs such as SLE,

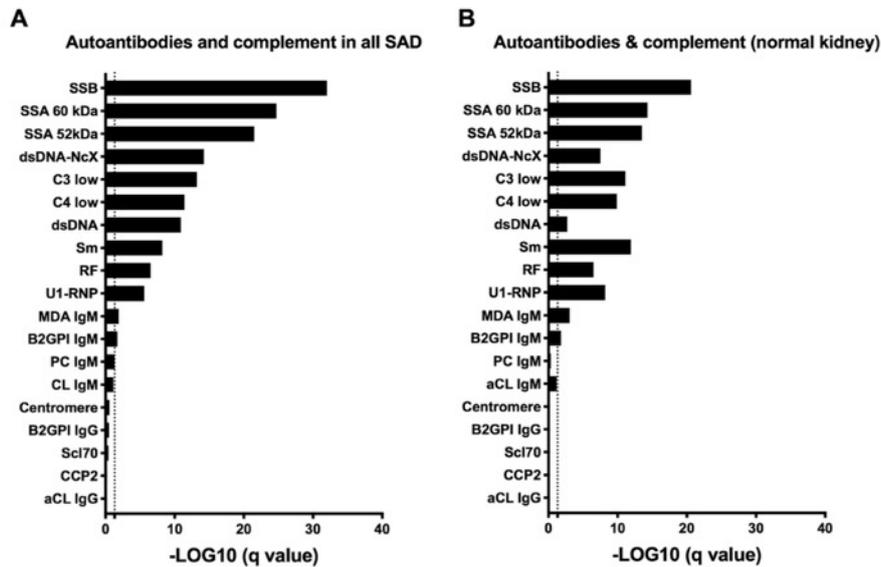


Fig. 4. Free light chain (FLC) levels are correlated with a subset of autoantibodies and complement reduction in systemic autoimmune diseases (SAD). A: all systemic autoimmune disease (SAD) patients. B: subgroup of SAD patients with normal renal function. Abbreviations: SSA/B: anti-sicca syndrome A or B autoantibodies (Ab); dsDNA-NcX: anti-DNA/nucleosome or anti-chromatin Ab; C3/C4 low: complement factor C3c/C4 with a negative correlation (low); dsDNA: anti-double stranded DNA Ab; Sm: anti-Smith Ab; RF: rheumatoid factors; U1-RNP: anti-U1 ribonucleoprotein Ab; MDA: anti-malondialdehyde modified LDL Ab; B2GPI: beta-2 glycoprotein I Ab; PC: anti-phosphatidyl choline Ab; aCL: anti-cardiolipin Ab; Centromere: anti-centromere Ab; Scl70: anti-Scl70 Ab; CCP2: anti-citrullinated peptide generation 2 Ab; IgG: immunoglobulin G; IgM: immunoglobulin M. For statistical analysis pairwise Pearson's correlations between total FLC and biological parameters were calculated and the adjusted false discovery rate values (q-values) expressed using the $-\log_{10}$ of the q value.

RA, SSc, or SjS [27–31]. Here, we report the results of a large multi-center cross-sectional study involving 1979 patients and 614 HC establishing the relationship between FLC and several parameters such as clinical manifestations, disease activity, treatment influence, autoantibody production, and interferon-related inflammation.

Because of their rapid turnover, a high level of FLC has been proposed as useful real-time marker for assessing disease activity and B cell hyperactivity, in contrast to total immunoglobulins, which possess a half-life of approximately 3 weeks depending on the isotype [32]. Such assertion needs however to satisfy several criteria, first to assess a polyclonal production of immunoglobulins the ratio κ/λ needs to be similar between patients and HC, which was observed in our study explaining that monoclonality was not further looking for. Second, elevated FLC levels in response to infection and cancer were not retrieved in our study suggesting a minor impact of these two co-morbidity factors in SAD on FLC levels. Third, glomerular function is also critical as a defective clearance is able to increase FLC levels. However, such effect is suspected to occur at a level higher than the elevated cut-off fixed for FLC- κ , FLC- λ , and total FLC ($\kappa+\lambda$) based on the comparative analysis performed between total SAD patients and SAD patients with normal kidney function. Accordingly and as previously reported [7], an excess of total FLC was retrieved in all SAD patient groups, ranging from 12 to 17% in RA, 14–20% in UCTD, 22–30% in SSc, 24–36% in SjS, 29–32% in MCTD, 30% in APS, and 30–37% in SLE when considering total SAD patients and SAD patients with normal kidney function, respectively.

Elevated FLC levels were also associated with the occurrence of clinical and biological manifestations and, for such analysis, it's important to consider one group of associations independent from renal impairment that implies inflammation such as pulmonary injury and erosive arthritis; and one group associated with renal impairment such as hypertension, pericarditis, and venous thrombosis that are particularly

relevant in SADs. Altogether, elevated FLC levels are associated with the occurrence of clinical manifestations associated with a chronic inflammatory process, in accordance with previous data obtained in SLE, SSc and SjS cohorts [27,29,30]. This is consistent with the observed association reported between FLC levels and an alteration of the pulmonary capacity (FVC) due to inflammation in SSc. The level of FLCs could then be useful in predicting the occurrence of pulmonary symptoms and lung fibrosis, which is the primary cause of mortality in SSc patients along with cardiac manifestations [33]. In a previous report, high FLC levels in SSc were also associated with lung involvement and with a higher degree of inflammation [28]. As a consequence, it's not surprising that we have observed in SLE and SjS patients a significant association between elevated FLC levels and higher disease activity as assessed by SLEDAI and ESSDAI scores, respectively. Search for an association between FLC levels and disease activity was not performed in the other disease groups as such information was facultative at inclusion and then available only for SLE and SjS.

Subsequently, FLCs have also been associated with specific autoantibodies, including anti-RNA binding protein antibodies (anti-SSB, anti-SSA, anti-Sm, and anti-RNP), as well as anti-DNA-NcX, anti-dsDNA, and RF. In contrast, the other autoantibodies tested (anti-CCP, anti- β 2GPI, anti-PC, anti-CL, anti-centromere, and anti-Scl70) demonstrated poor or no association with increased FLC and the same results were obtained in patients with normal kidney function. One explanation for such a dichotomy is related to the capacity of the FLC-associated autoantibody group to form immune complexes (e.g. with apoptotic cells), which is known to activate the complement pathway and to increase monocyte IFN type-I production that promotes, in turn, plasmablast differentiation and immunoglobulin production [34,35]. Such model observed in individuals infected with the hepatitis C viruses [36], needs further exploration in SAD.

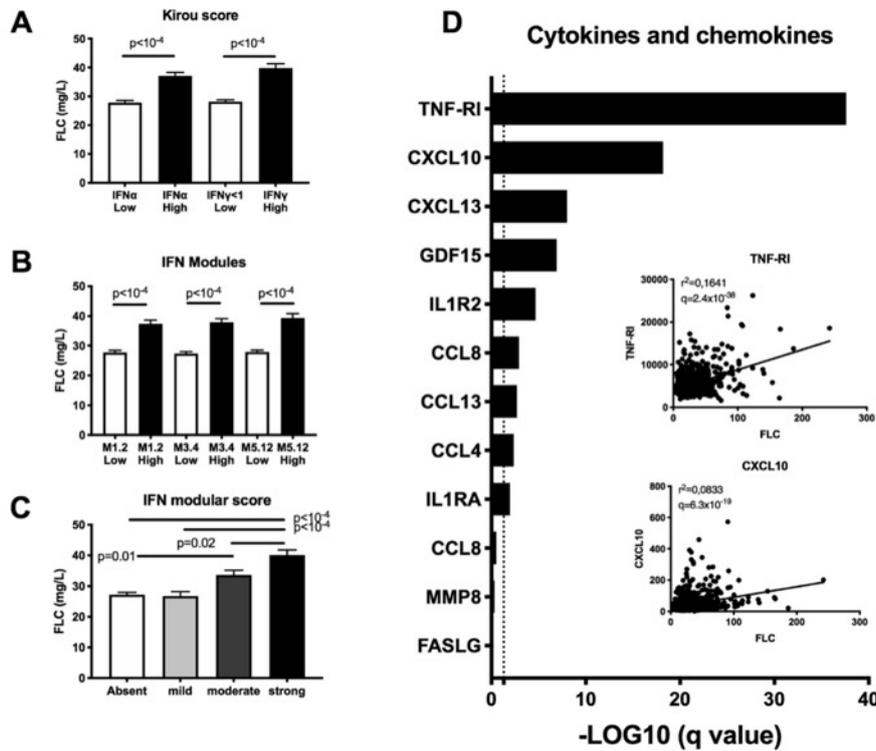


Fig. 5. Elevated levels of free light chains (FLC) found in patients with systemic autoimmune disease (SAD) are associated with an interferon (IFN) signature and pro-inflammatory cytokines and chemokines. Serum total FLC levels in patients with SAD according to their IFN signature based on (A) Kirou's score that evaluates IFN α and IFN γ signatures; (B) modular score based on 3 co-clustered gene sets: M1.2, M3.4 and M5.12. The M1.2 was induced by IFN α / β , while both M1.2 and M3.4 transcripts were upregulated by IFN α / β and IFN γ ; (C) the number of positive modules: 0 (absent); 1 (mild); 2 (moderate); and 3 (strong). High Kirou's scores and IFN modules score were determined based on the mean value + 2 standard deviations from the control population. D: Free light chain levels are correlated with inflammatory cytokines and chemokines in patients with SAD. For statistical analysis pairwise Pearson's correlations between total FLC and pro-inflammatory cytokines and chemokines were calculated and the adjusted false discovery rate values (q-values) expressed using the $-\log_{10}$ of the q value. Correlation curves with Spearman's rho and q values are also displayed for TNF-R1 and CXCL10.

In addition, an important negative correlation between FLC and complement fractions was noted. An effect of FLC to directly promote complement consumption has been proposed previously, involving the binding of FLC to factor H, which accelerates the decay of the alternative complement compound C3 convertase [10]. This mechanism could be of particular interest in SADs in which complement activation is associated with severe clinical manifestations. In SLE, the activation of both the classical and alternative complement pathways induces the deposition of various complement components together with immunoglobulins and is responsible for lupus glomerulonephritis, thus indicating an active disease [37]. In addition, complement activation is described in APS and can be responsible for fetal loss or fetal growth retardation. In RA, there is also an accelerated consumption and a hyperproduction of complement fractions described in synovial fluid. Finally, hypocomplementemia is frequently described in SJS and is associated with poor outcomes [38].

Finally, a strong link between FLC and inflammation has been demonstrated through the analysis of the IFN signature and selected proinflammatory cytokines. Two IFN scores were applied [23,24] and both revealed a correlation between FLC and increased production of IFN type 1 and type 2 molecules. Higher interferon activity has already been described in several SADs [2]. In SLE, activation of the IFN α pathway

identifies a subgroup of SLE patients with distinct serologic features and a higher disease activity. It is interesting to note that the implicated autoantibodies are the same as reported in our study and are autoantibodies directed against RNA-binding proteins [23,39], suggesting the interplay between IFN driven inflammation and autoantibody production as well as FLC production in an amplification loop to reflect a clinically-active disease. IFN β and IFN γ signatures are also reported in SLE patients and have led to the stratification of patients according to their IFN signature. Patients having absent to low IFN score (0–1 modules) i.e. IFN α -only signature can be opposed to patients with moderate to high modular IFN scores (2–3 modules) i.e. IFN α , β and γ signatures. In the latter case, a specific association was made with active renal disease, anti-dsDNA presence and hypocomplementemia that is also noted in patients with elevated FLC in our study [25,40]. Indeed, when looking at our results, we obtained the highest link with FLC when all the modules were significantly elevated. In RA, a high level of IFN type I predicted the response to TNF α blockade, but not to rituximab, a B cell depleting monoclonal antibody, supporting the fact that IFN type I signature in RA induces a high inflammatory activity, but not an elevated autoantibody production by B cells based on the independence observed between FLC levels and anti-CCP production [41]. Finally, IFN γ was also

pathologically increased in UTCD and MTCD [42,43].

To further support this link between IFN, inflammation and FLC synthesis, several inflammatory cytokines belonging to the type 1 and type 2 IFN families were measured and were significantly correlated with higher total FLC levels. Among them, the two most important cytokines retrieved by our study were TNF-RI and CXCL10, both known to be overexpressed in SLE B cells, but such analysis was not exhaustive and needs further exploration.

The key role played by TNF α in RA was studied extensively through therapeutic use of anti-TNF α monoclonal antibodies like infliximab or the use of fusion proteins trapping soluble TNF α , like etanercept. TNF α can bind to two cell-surface receptors, TNF-RI and TNF-RII. The presence of these receptors in sera of RA patients was shown to be higher as compared to controls and was associated with a higher disease activity score (DAS28) and an abnormal inflammation status [44]. In an ex-vivo cell culture model of synovial membrane tissue obtained from RA patients, a dual activity between TNF-RI and TNF-RII was observed together with a predominantly pro-inflammatory role played by TNF-RI in RA [45]. TNF-RI was also described as increased in B cells from SLE patients as compared to controls [46], and was of particular interest to predict disease flares [47]. Of note, the use of a TNF-RI inhibitor in a mouse model of lupus was effective in preventing skin lesions [48]. Less evidence has been found for SJS, but TNF-RI is still detected at significantly higher rates in patients than in controls [49]. Last but not least, TNF-RI was shown to be up-regulated in dermal T cells from patients with diffuse cutaneous SSc. Those lymphocytes were more prone to generate a proinflammatory microenvironment after CD3/CD28 T cell engagement and in the presence of a co-stimulation with TNF-RI ligands. The microenvironment triggered by dermal T lymphocytes induced high and sustained type I collagen expression, supporting a role for the TNF-RI pathway in induction of fibrosis [50]. This is in agreement with our results where an altered pulmonary function in those SAD patients with elevated total FLC levels, is possibly due to the associated inflammation and TNF-RI pathway.

On the other hand, CXCL10 is a cytokine responsible for the recruitment and activation of Th1 effectors, predominantly induced by IFN γ . CXCL10, in particular, is involved in the maintenance of chronic pathological inflammation, and abnormal secretion of this cytokine has been described in several SADs. In RA, the expression of CXCL10 was demonstrated to be elevated in the serum and joints of patients [51]. In a murine model, it was shown that CXCL10 participates in bone destruction by allowing up-regulation of RANKL on CD4 T cells that, in turn, increases CXCL10 production by osteoclast progenitors, thus establishing a positive feedback loop between the two cell types. CXCL10 induces the activation and differentiation of osteoclasts in a dose-dependent manner. The use of an anti-CXCL10 antibody blocks osteoclast differentiation, thereby preventing the progression of arthritis in mice that present with fewer histological sequelae than controls [52]. In SLE, CXCL10, overexpressed in SLE B cells, was also associated with more severe forms, anti-dsDNA positivity and lowered complement, which is a profile that also emerges from our data [53]. In a murine model of autoimmune sialadenitis mimicking SJS, the use of an antagonist of CXCL10 prevents the progression of the disease with a decrease in IFN γ production, underlining the link between the two cytokines [54]. Regarding SSc, an analysis of patients showed that besides Th2 chemokines (CCL17 and CCL22), CXCL10 was detected in significantly higher proportions in patients with diffuse or localized SSc than in normal controls [55]. Finally, a clear role for CXCL10 produced by macrophages to induce plasma cells differentiation and production of antigen-specific antibodies *in vivo* has recently been demonstrated, highlighting a mechanism for the secondary production of FLC through an inflammatory cytokine related to the IFN signature [28]. Of note, CXCL10 binds to CXCR3 on memory B cells to terminate their differentiation into plasma cells, which is significantly increased by IFN γ [56], making a full link between IFN-mediated inflammation and B cell differentiation.

Those results are consistent with the participation of IFN type I and

type II as well as several proinflammatory cytokines to induce more severe diseases through FLC synthesis. Elevated FLC would then accurately mirror both inflammation as well as pathological B cell activation in SAD patients.

5. Conclusion

This is the first study to determine the role of FLC on such a large scale of SAD to our knowledge. The major findings are related to the facts that (i) immune stimulation rather than impaired kidney function, infection or cancer increases polyclonal FLC in SAD; (ii) Elevated FLC levels are associated with disease activity, inflammation, and a specific profile of autoantibodies; and (iii) a relationship between elevated FLC levels and a strong IFN signature was further revealed. FLC then account for adaptive immunity by reflecting autoantibody production and B cell activity, but also for innate immunity through its induction by IFN signaling. FLC measurement, especially in patients with stable renal function, would then be interesting to evaluate disease activity in real time with an easy and reliable assay. It would also be interesting to complement these observations with a longitudinal study to evaluate the variation of FLCs over time according to disease activity and inflammatory parameters, and thus define the value of FLC in predicting relapses and/or therapeutic response.

Authorship contribution statement

EB, PLM, MOB, MAR, YR: Formal analysis and writing original draft; EB, CLG, MM, MOB, GB, ZM, SB, RL: Investigation; MAR, JF: Project administration; and MAR: Coordination of the whole project and the person behind PRECISESADS ideas.

Declaration of competing interest

All authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The work described has received support from the Innovative Medicines Initiative Joint Undertaking under grant agreement No. 115565, the resources for which are composed of a financial contribution from the European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007–2013) and the European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (EFPIA) companies' in-kind contribution. We thank all the members of PRECISESADS Consortium and INSERM U1227 for their effort in the sample recruitment, distribution and assessment of the samples used in this study. We are grateful to Dr Wesley H Brooks (Tampa, USA) for editorial assistance and to Valerie Le Troadec for secretarial assistance.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jtauto.2021.100090>.

References

- [1] W.H. Brooks, C. Le Dantec, J.O. Pers, P. Youinou, Y. Renaudineau, Epigenetics and autoimmunity, *J. Autoimmun.* 34 (2010) J207–J219.
- [2] F.J. Barrat, M.K. Crow, L.B. Ivashkiv, Interferon target-gene expression and epigenomic signatures in health and disease, *Nat. Immunol.* 20 (2019) 1574–1583.
- [3] P. Gazeau, G.C. Alegria, V. Devauchelle-Pensec, C. Jamin, J. Lemerle, B. Bendaoud, et al., Memory B cells and response to abatacept in rheumatoid arthritis, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 53 (2017) 166–176.
- [4] L. Simonin, E. Pasquier, C. Leroyer, D. Cornec, J. Lemerle, B. Bendaoud, et al., Lymphocyte disturbances in primary antiphospholipid syndrome and application to venous thromboembolism follow-up, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 53 (2017) 14–27.
- [5] R. Alonso, C. Buors, C. Le Dantec, S. Hillion, J.O. Pers, A. Saraux, et al., Aberrant expression of CD6 on B-cell subsets from patients with Sjogren's syndrome, *J. Autoimmun.* 35 (2010) 336–341.

- [6] Y. Renaudineau, Immunophenotyping as a new tool for classification and monitoring of systemic autoimmune diseases, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 53 (2017) 177–180.
- [7] C. Napodano, K. Pociño, D. Rigante, A. Stefanile, F. Gulli, M. Marino, et al., Free light chains and autoimmunity, *Autoimmun. Rev.* 18 (2019) 484–492.
- [8] G. Cohen, M. Haag-Weber, B. Mai, R. Deicher, W.H. Horl, Effect of immunoglobulin light chains from hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients on polymorphonuclear leukocyte functions, *J. Am. Soc. Nephrol.* 6 (1995) 1592–1599.
- [9] F.A. Redegeld, M.W. van der Heijden, M. Kool, B.M. Heijdra, J. Garszen, A.D. Kraneveld, et al., Immunoglobulin-free light chains elicit immediate hypersensitivity-like responses, *Nat. Med.* 8 (2002) 694–701.
- [10] S. Meri, V. Koistinen, A. Miettinen, T. Tornroth, I.J. Seppala, Activation of the alternative pathway of complement by monoclonal lambda light chains in membranoproliferative glomerulonephritis, *J. Exp. Med.* 175 (1992) 939–950.
- [11] T.E. Witzig, M.J. Maurer, M.J. Stenson, C. Allmer, W. Macon, B. Link, et al., Elevated serum monoclonal and polyclonal free light chains and interferon inducible protein-10 predicts inferior prognosis in untreated diffuse large B-cell lymphoma, *Am. J. Hematol.* 89 (2014) 417–422.
- [12] S. Kumar, A. Dispenzieri, J.A. Katzmann, D.R. Larson, C.L. Colby, M.Q. Lacy, et al., Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features, *Blood* 116 (2010) 5126–5129.
- [13] D. Aletaha, T. Neogi, A.J. Silman, J. Funovits, D.T. Felson, C.O. Bingham 3rd, et al., Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative, *Ann. Rheum. Dis.* 69 (2010) 1580–1588, 2010.
- [14] M.C. Hochberg, Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 40 (1997) 1725.
- [15] F. van den Hoogen, D. Khanna, J. Fransen, S.R. Johnson, M. Baron, A. Tyndall, et al., Classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative, *Ann. Rheum. Dis.* 72 (2013) 1747–1755, 2013.
- [16] C. Vitali, S. Bombardieri, R. Jonsson, H.M. Moutsopoulos, E.L. Alexander, S.E. Carsons, et al., Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group, *Ann. Rheum. Dis.* 61 (2002) 554–558.
- [17] D. Alarcon-Segovia, M.H. Cardiel, Comparison between 3 diagnostic criteria for mixed connective tissue disease. Study of 593 patients, *J. Rheumatol.* 16 (1989) 328–334.
- [18] S. Miyakis, M.D. Lockshin, T. Atsumi, D.W. Branch, R.L. Brey, R. Cervera, et al., International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS), *J. Thromb. Haemostasis* 4 (2006) 295–306.
- [19] E.C. LeRoy, T.A. Medsger Jr., Criteria for the classification of early systemic sclerosis, *J. Rheumatol.* 28 (2001) 1573–1576.
- [20] C. Bombardieri, D.D. Gladman, M.B. Urowitz, D. Caron, C.H. Chang, Derivation of the SLEDAI, A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE, *Arthritis Rheum.* 35 (1992) 630–640.
- [21] R. Seror, P. Ravaut, S.J. Bowman, G. Baron, A. Tzioufas, E. Theander, et al., EULAR Sjogren's syndrome disease activity index: development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjogren's syndrome, *Ann. Rheum. Dis.* 69 (2010) 1103–1109.
- [22] M. Rahman, S. Sing, Z. Golabkesh, R. Fiskesund, T. Gustafsson, T. Jogestrand, et al., IgM antibodies against malondialdehyde and phosphorylcholine are together strong protection markers for atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: regulation and underlying mechanisms, *Clin. Immunol.* 166–167 (2016) 27–37.
- [23] K.A. Kirou, C. Lee, S. George, K. Louca, I.G. Papagiannis, M.G. Peterson, et al., Coordinate overexpression of interferon-alpha-induced genes in systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 50 (2004) 3958–3967.
- [24] G. Obermoser, S. Presnell, K. Domico, H. Xu, Y. Wang, E. Anguiano, et al., Systems scale interactive exploration reveals quantitative and qualitative differences in response to influenza and pneumococcal vaccines, *Immunology* 38 (2013) 831–844.
- [25] L. Chiche, N. Jourde-Chiche, E. Whalen, S. Presnell, V. Gersuk, K. Dang, et al., Modular transcriptional repertoire analyses of adults with systemic lupus erythematosus reveal distinct type I and type II interferon signatures, *Arthritis Rheum.* 66 (2014) 1583–1595.
- [26] M. Wahren-Herlenius, T. Dörner, Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease, *Lancet* 382 (2013) 819–831.
- [27] A.H. Draborg, M.C. Lydolph, M. Westergaard, S. Olesen Larsen, C.T. Nielsen, K. Dusa, et al., Elevated concentrations of serum immunoglobulin free light chains in systemic lupus erythematosus patients in relation to disease activity, inflammatory status, B cell activity and Epstein-Barr virus antibodies, *PLoS One* 10 (2015), e0138753.
- [28] S. Bosello, U. Basile, E. De Lorenzis, F. Gulli, G. Canestrari, C. Napodano, et al., Free light chains of immunoglobulins in patients with systemic sclerosis: correlations with lung involvement and inflammatory milieu, *J. Clin. Pathol.* 71 (2018) 620–625.
- [29] A. Lanteri, V. Sobanski, C. Langlois, G. Lefevre, C. Hauspie, S. Sanges, et al., Serum free light chains of immunoglobulins as biomarkers for systemic sclerosis characteristics, activity and severity, *Autoimmun. Rev.* 13 (2014) 974–980.
- [30] J.E. Gottenberg, R. Seror, C. Miceli-Richard, J. Benessiano, V. Devauchelle-Pensec, P. Dieude, et al., Serum levels of beta2-microglobulin and free light chains of immunoglobulins are associated with systemic disease activity in primary Sjogren's syndrome. Data at enrollment in the prospective ASSESS cohort, *PLoS One* 8 (2013), e59868.
- [31] Y. Ye, S.L. Li, M. Xie, P. Jiang, K.G. Liu, Y.J. Li, Judging disease activity in rheumatoid arthritis by serum free kappa and lambda light chain levels, *Kaohsiung J. Med. Sci.* 29 (2013) 547–553.
- [32] T. Nakano, M. Matsui, I. Inoue, T. Awata, S. Katayama, T. Murakoshi, Free immunoglobulin light chain: its biology and implications in diseases, *Clin. Chim. Acta* 412 (2011) 843–849.
- [33] Y. Allanore, R. Simms, O. Distler, M. Trojanowska, J. Pope, C. Denton, J. Varga, Systemic sclerosis, *Nat. Rev. Dis. Primers* 1 (2015) 15002, 2015.
- [34] E. Savarese, O.W. Chae, S. Trowitzsch, G. Weber, B. Kastner, S. Akira, et al., U1 small nuclear ribonucleoprotein immune complexes induce type I interferon in plasmacytoid dendritic cells through TLR7, *Blood* 107 (2006) 3229–3234.
- [35] C. Burbano, J. Villar-Vesga, G. Vasquez, C. Munoz-Vahos, M. Rojas, D. Castano, Proinflammatory differentiation of macrophages through microparticles that form immune complexes leads to T- and B-cell activation in systemic autoimmune diseases, *Front. Immunol.* 10 (2019) 2058.
- [36] I.S. Oliveira, M.S. Cabral, L.S. Jesus, R. Parana, A.M. Atta, M.L. Sousa Atta, Serum levels of immunoglobulin free light chains in patients with chronic hepatitis C presenting cryoglobulinemia, *Braz. J. Infect. Dis.* 18 (2014) 638–642.
- [37] D. Song, W.Y. Guo, F.M. Wang, Y.Z. Li, Y. Song, F. Yu, et al., Complement alternative pathways activation in patients with lupus nephritis, *Am. J. Med. Sci.* 353 (2017) 247–257.
- [38] M. Chen, M.R. Daha, C.G. Kallenberg, The complement system in systemic autoimmune disease, *J. Autoimmun.* 34 (2010) J276–J286.
- [39] K.A. Kirou, C. Lee, S. George, K. Louca, M.G. Peterson, M.K. Crow, Activation of the interferon-alpha pathway identifies a subgroup of systemic lupus erythematosus patients with distinct serologic features and active disease, *Arthritis Rheum.* 52 (2005) 1491–1503.
- [40] X. Feng, H. Wu, J.M. Grossman, P. Hanvivadhanakul, J.D. FitzGerald, G.S. Park, et al., Association of increased interferon-inducible gene expression with disease activity and lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 54 (2006) 2951–2962.
- [41] R.M. Thurlings, M. Boumans, J. Tekstra, J.A. van Roon, K. Vos, D.M. van Westing, et al., Relationship between the type I interferon signature and the response to rituximab in rheumatoid arthritis patients, *Arthritis Rheum.* 62 (2010) 3607–3614.
- [42] E. Bodolay, M. Aleksza, P. Antal-Szalmas, J. Vegh, P. Szodoray, P. Soltesz, et al., Serum cytokine levels and type 1 and type 2 intracellular T cell cytokine profiles in mixed connective tissue disease, *J. Rheumatol.* 29 (2002) 2136–2142.
- [43] B. Nakken, E. Bodolay, P. Szodoray, Cytokine milieu in undifferentiated connective tissue disease: a comprehensive Review, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 49 (2015) 152–162.
- [44] Y. Valle, I.Y. Ledezma-Lozano, N. Torres-Carrillo, J.R. Padilla-Gutierrez, R.E. Navarro-Hernandez, M. Vazquez-Del Mercado, et al., Circulating TNFR1 and TNFR2 levels correlated with the disease activity score (DAS28) in rheumatoid arthritis, *Scand. J. Rheumatol.* 38 (2009) 332–335.
- [45] E.M. Schmidt, M. Davies, P. Mistry, P. Green, G. Giddins, M. Feldmann, et al., Selective blockade of tumor necrosis factor receptor I inhibits proinflammatory cytokine and chemokine production in human rheumatoid arthritis synovial membrane cell cultures, *Arthritis Rheum.* 65 (2013) 2262–2273.
- [46] L.J. Zhu, C. Landolt-Marticorena, T. Li, X. Yang, X.Q. Yu, D.D. Gladman, et al., Altered expression of TNF-alpha signaling pathway proteins in systemic lupus erythematosus, *J. Rheumatol.* 37 (2010) 1658–1666.
- [47] M.E. Munroe, E.S. Vista, J.M. Guthridge, L.F. Thompson, J.T. Merrill, J.A. James, Proinflammatory adaptive cytokine and shed tumor necrosis factor receptor levels are elevated preceding systemic lupus erythematosus disease flare, *Arthritis Rheum.* 66 (2014) 1888–1899.
- [48] G.M. Deng, L. Liu, G.C. Tsokos, Targeted tumor necrosis factor receptor I preligand assembly domain improves skin lesions in MRL/lpr mice, *Arthritis Rheum.* 62 (2010) 2424–2431.
- [49] P. Szodoray, P. Alex, J.G. Brun, M. Centola, R. Jonsson, Circulating cytokines in primary Sjogren's syndrome determined by a multiplex cytokine array system, *Scand. J. Immunol.* 59 (2004) 592–599.
- [50] T. Hugel, S. O'Reilly, R. Simpson, M.D. Kraaij, V. Bigley, M. Collin, et al., Tumor necrosis factor-costimulated T lymphocytes from patients with systemic sclerosis trigger collagen production in fibroblasts, *Arthritis Rheum.* 65 (2013) 481–491.
- [51] R. Hanaoka, T. Kasama, M. Muramatsu, N. Yajima, F. Shiozawa, Y. Miwa, et al., A novel mechanism for the regulation of IFN-gamma inducible protein-10 expression in rheumatoid arthritis, *Arthritis Res. Ther.* 5 (2003) R74–R81.
- [52] H.B. Kwak, H. Ha, H.N. Kim, J.H. Lee, H.S. Kim, S. Lee, et al., Reciprocal cross-talk between RANKL and interferon-gamma-inducible protein 10 is responsible for bone-erosive experimental arthritis, *Arthritis Rheum.* 58 (2008) 1332–1342.
- [53] R. Zhang, Y. Li, B. Pan, Y. Li, A. Liu, X. Li, Increased expression of hub gene CXCL10 in peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus, *Exp Ther Med* 18 (2019) 4067–4075.
- [54] H. Hasegawa, A. Inoue, M. Kohno, M. Muraoka, T. Miyazaki, M. Terada, et al., Antagonist of interferon-inducible protein 10/CXCL10 ameliorates the progression of autoimmune sialadenitis in MRL/lpr mice, *Arthritis Rheum.* 54 (2006) 1174–1183.
- [55] H. Fujii, Y. Shimada, M. Hasegawa, K. Takehara, S. Sato, Serum levels of a Th1 chemoattractant IP-10 and Th2 chemoattractants, TARC and MDC, are elevated in patients with systemic sclerosis, *J. Dermatol. Sci.* 35 (2004) 43–51.
- [56] G. Muehlinghaus, L. Cigliano, S. Huehn, A. Peddinghaus, H. Leyendeckers, A.E. Hauser, et al., Regulation of CXCR3 and CXCR4 expression during terminal differentiation of memory B cells into plasma cells, *Blood* 105 (2005) 3965–3971.

4. Serment de Galien :



Faculté de Médecine et Pharmacie

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

De honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances,

De exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité,

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession,

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens,

De coopérer avec les autres professionnels de santé.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Signature de l'étudiant

Nom :

Prénom :

du Président du jury

Nom :

Prénom :

Version validée par la conférence des Doyens de facultés de Pharmacie le 7 février 2018

Résumé

Les maladies auto-immunes (MAI) correspondent à un ensemble de pathologies caractérisées par une réaction du système immunitaire contre des auto-antigènes. Ces maladies sont d'étiologies complexes, mêlant de multiples facteurs de risques génétiques et environnementaux, et présentent des manifestations cliniques et biologiques hétérogènes. Ces affections surviennent le plus souvent à un âge moyen compris entre 20 et 50 ans avec une nette prédominance féminine pour la plupart des cas. De par leur fréquence, leur diversité et leur morbidité élevée, les MAI ont été particulièrement étudiées ces dernières décennies.

Le diagnostic d'une MAI est évoqué sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques répondant aux critères de classification internationaux actuellement en vigueur. Parmi les tests biologiques accessibles, on retrouve une multitude de marqueurs biologiques spécifiques et non spécifiques pour chacune de ces MAI. La majorité de ces marqueurs a été découverte grâce à l'étude approfondie des différentes physiopathologies sous-jacentes à chaque MAI et c'est la recherche translationnelle qui a ensuite permis le passage croissant de nombreux marqueurs en pratique clinique, apportant ainsi plus d'informations mais complexifiant les profils observés. Leur rôle est principalement diagnostique, mais aussi fréquemment pronostic, thérapeutique, ou d'intérêt pour le suivi des patients. Pour ces raisons, les marqueurs sérologiques sont essentiels pour permettre une caractérisation précise du profil de chaque malade.

Dans le cadre de ce travail, il est abordé la question de l'apport de la biologie pour le diagnostic des maladies non spécifiques d'organes, plus particulièrement le lupus érythémateux systémique (LES), le syndrome de Gougerot-Sjögren (SjS), la polyarthrite rhumatoïde (PR), la sclérodermie systémique (SSc), le syndrome des antiphospholipides (SAPL) et les connectivites mixtes ou indéterminées (MCTD et UCTD), au travers d'une revue de la littérature dans un premier temps, puis par une illustration de l'intérêt de la biologie en trois exemples publiés.

Mots-clés

Maladies auto-immunes, auto-anticorps, diagnostic, biologie, auto-immunité