



HAL
open science

Auto-anticorps anti-U1-RNP : isoformes et intérêts cliniques

Benjamin Babacci

► **To cite this version:**

Benjamin Babacci. Auto-anticorps anti-U1-RNP : isoformes et intérêts cliniques. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03554868

HAL Id: dumas-03554868

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03554868>

Submitted on 3 Feb 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

THÈSE D'EXERCICE / DOCTEUR JUNIOR

Phase d'Approfondissement du D.E.S. de Biologie Médicale

Soutenu le 29 Octobre 2021

Par **M. BABACCI Benjamin**

Né le 4 février 1994

À Nice

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 12 avril 2017
portant organisation du troisième cycle des études de Médecine et de Pharmacie

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

---oOo---

TITRE :

**Auto-anticorps anti-U1-RNP :
isoformes et intérêts cliniques**

---oOo---

JURY :

Président : Madame le Professeur BARDIN Nathalie

Membres : Monsieur le Docteur BERTIN Daniel
Monsieur le Docteur ARCANI Robin

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI, M. Guillaume HACHE
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Henri PORTUGAL, M. Philippe CHARPIOT
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON
Mme Carole SIANI

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

ATER

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Anne-Claire DUCHEZ
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Mélanie VELIER
----------------------------	--------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOGNOSIE	Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOGRAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC
---	---------------

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE Mme Frédérique GRIMALDI M. Joseph CICCOLINI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE PHARMACIE CLINIQUE	Mme Anaïs MOYON M. Florian CORREARD
---	--

ATER.

TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Anne RODALLEC
----------------------------------	-------------------

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 janvier 2020

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

Remerciements

A ma directrice de thèse, le Professeur Nathalie BARDIN, merci de m'avoir accueilli dans votre laboratoire pendant un an, et de m'avoir enseigné l'immunologie et l'auto-immunité avec votre bonne humeur quotidienne. C'est un plaisir, rare, d'avoir l'opportunité de valider avec le Professeur du secteur. Merci de m'avoir supporté et soutenu pendant cette longue thèse et d'avoir transformé mes phrases farfelues en français compréhensible.

Au Docteur Daniel BERTIN, qui m'a également accueilli dans le secteur d'auto-immunité du laboratoire, qui a pris le temps de me former, et très bien, à la lecture des auto-Ac anti-nucléaires et qui est toujours de bons conseils sur les analyses à réaliser.

Au Docteur Robin ARCANI, médecin interniste que j'ai eu le plaisir de rencontrer au laboratoire d'immunologie, avec qui, tout en bronzant sur le toit de la Conception, j'ai échangé sur nos idées voyages à Las Vegas et nos passions Mustang sur la route 66 :D

Au Professeur Laurence CAMOIN, qui n'a pas pu être dans mon jury, que je remercie de m'avoir enseigné l'hématologie depuis ma deuxième année, dans la bonne humeur et la pédagogie, puis de m'avoir initié à l'hémostase lors de mon externat dans son service et de m'avoir donné envie de réaliser cet internat en biologie médicale.

A mes parents, qui m'ont permis de m'installer à Marseille pour poursuivre mes études depuis toutes ces années, à ma grand-mère Rosanna qui m'a nourri de biscuits et de sauces italiennes pour ne pas mourir de faim et à mamie Jaja qui pensait que je finirais ministre.

A mes triplés, Céline, Marlène et Benoît, les +1, Landy, Benj pas normal, Fabien et tous vos petits nains et naines avec qui on a bien rigolé en visitant Marseille avec le petit train pour la 15^{ème} fois et en faisant du camping à 6 dans le salon.

A Mojito <3, dédicace obligée et avant les co-internes, qui a passé toute ces heures à me regarder pour avoir des biscuits pendant que j'écrivais cette thèse au lieu de faire la balade.

A Mélanie, ma voisine d'Aspremont, avec qui on continue de rigoler depuis la L2 jusqu'à Rungis, on n'aura jamais gardé notre sérieux. Le feuillet au resto... saturnin le petit canard, « ça n'a rien de risible, c'est dramatique le saturnisme », tout à fait oui.

« NON ! », ils nous auront bien fait rire.

A Marion et Laura, grâce à vous on a pu former les quadricolores, les quatre couleurs primaires, quadricolores quoi, même si Laura nous a quittés trop tôt...

« ces bons moments ont une fin »

Pour le nord : p J'espère au moins que tu as des smoothies au CHAIX là-bas, sinon c'est la porte ouverte à toutes les fenêtres !

A tous mes supers co-internes de Marseille, on s'est quasiment tous rencontrés chez Didou, avant de partir dans des lieux encore plus improbables parfois, et toutes ces phrases qu'on n'oubliera jamais.

Sonia qui est dans la merde à cause du staff, j'espère que ça va mieux depuis.

Valentine, qui ira me chercher une fiche, c'est pas pressé Valentine mais si tu peux le faire pour dans 2 minutes Valentine, c'est pas long Valentine, il n'y en a que 247 à trier. Merci S.

Pr Léa Lu, grâce à qui le CNR des rickettsies n'a plus aucun secret, ou pas. La prochaine fois tu m'apprendras à me servir d'une clef USB sur Mac quand même.

Dr PRP, ou Madame ISMA, qui m'a forcé à venir apprendre la virologie jusqu'à pas d'heures, au moins 17H, non mais allô quoi !!!! « On le fait ça au laboratoire ? » ; « j'ai appris beaucoup de choses ».

Nico, Flower, Alizé, que vous le vouliez ou non, ça, c'est une lame bébé, il faudra la faire, je vous ai tenu la main, là c'est bon, ça doit faire bip bip biologiste.

Les internes aux cinq têtes :

Nico qu'est-ce que c'est ça ? C'est très bien Nicolas.

Alizé, tu pleures encore dans le microscope ? Mais c'est moi qui vous stresse ?

Mélanie qui a encore perdu son sang-froid, je ne peux pas y croire, ça n'existe pas, je n'y crois pas, je ne l'imagine même pas là, c'est juste pas possible en fait.

A mes biochimistes, Erwan et Maé, même si on ne s'est pas beaucoup vu ce choix-là, on a bien rigolé à défaut de travailler.

Mon super re futur co-interne Micka, tellement content de t'avoir rencontré, même si tu t'exiles dans le grand nord, là-haut tout là-haut... Mais je reconnais que les rillettes sont sympas et grâce à toi, Mojito a vu des vaches et moi la pluie ! Et qui sait, peut-être qu'un jour on aura notre méga chaîne grand Nord-Sud spécialisée en immuno !!

Sam, le pro du Dot myosite, c'est pas un centromère ça ? non *petite voix aiguë expirante*, je m'incline. Négatif... négatif... négatif... négatif... négatif... un petit 160.... Oh non négatif....

En tout cas, j'espère que depuis tu as réussi à allumer ton Ipad et à trouver comment mettre les AirPods dans tes oreilles.

ET puis tous les autres que j'ai eu le plaisir de rencontrer en 3 ans, Noémie et ton bébé chiot, les Camille, le Rémi, Céline, Estelle, Julie (futur super co-interne), Sara, Marceau.....

Et forcément à toutes et tous les supers techs avec qui j'ai travaillé :

Lolo (même si je vais finir avec 2 jacuzzis, 3 fours à pizza et 20 tortues sur la terrasse),

Christine, Steph, la pince créative,

Céline, même si tu me fais ouvrir des sachets à 6h... et tous les autres.

Véro, Lionel, Christiane, Jean-Phi, Eric, on s'amuse bien la nuit, même si on a tendance à allumer pas mal de feux en biochimie depuis le temps, entre 2 drogués et meurtriers c'est toujours sympa pour la pause-café.

(((Jeudi.... Pour Véro, parce qu'on rigole trop, j'étais obligé même si on ne risque pas de l'oublier avec le temps)))

A Sandrine, merci pour tes potins et tes infos de dernière minute, et de me tenir compagnie au téléphone même quand je suis perdu à Timone enfant.

Et puis encore à Mojito, parce qu'il le mérite ;)

Table des matières

I. AUTO-IMMUNITÉ.....	18
1. Physiopathologie	18
A. La réponse immunitaire	18
B. Acteurs	19
C. Mécanismes de tolérance immunitaire	20
D. Importance du terrain génétique en auto-immunité.....	21
2. Rupture de tolérance immunitaire	22
A. Rôle du terrain immunogénique	22
B. Rôle de l'environnement.....	23
C. Déclenchement de l'auto-immunité	23
II. MALADIES AUTO IMMUNES NON SPÉCIFIQUES D'ORGANES ANTI-U1-RNP POSITIVES 24	
1. Le syndrome de SHARP	25
A. Description	25
B. Epidémiologie.....	25
C. Symptomatologie principale	25
D. Particularités immunologiques	26
E. Classification	26
2. Lupus Erythémateux Systémique (LES)	27
A. Description	27
B. Epidémiologie.....	27
C. Symptomatologie principale	27
D. Particularités immunologiques	28
E. Classification	28
3. Sclérodémie systémique (SSc).....	29
A. Description	29
B. Epidémiologie.....	29
C. Symptomatologie principale	29
D. Particularités immunologiques	30
E. Classification	30
4. Polyarthrite Rhumatoïde (PR)	31
A. Description	31
B. Epidémiologie.....	31
C. Symptomatologie principale	31
D. Particularités immunologiques	32
E. Classification	32
5. Polymyosite et Dermatomyosite (PM/DM)	33
A. Description	33
B. Epidémiologie.....	33
C. Symptomatologie principale	33
D. Particularités immunologiques	34
E. Classification	34
6. Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGJ).....	35
A. Description	35
B. Epidémiologie.....	35
C. Symptomatologie principale	35
D. Particularités immunologiques	35
E. Classification	36
III. STRATÉGIE D'EXPLORATION DES ANTICORPS ANTI-NUCLÉAIRES ET DES ANTI-U1-RNP 38	
1. Les anticorps anti-nucléaires (AAN).....	38
A. Généralités	38

B. Recherche des auto-anticorps anti-nucléaires.....	39
a. Technique de l'immunofluorescence indirect (IFI)	39
b. Lames utilisées pour la détection des AAN	40
2. Démarche biologique	41
A. Dépistage de l'AAN.....	41
B. Titrage de l'ANN	41
3. Identification des spécificités anti-nucléaires associées : recherche des auto-anticorps anti-antigènes nucléaires solubles (ENA).....	43
A. Association des ENA à la fluorescence	43
B. Dosage des ENA	44
IV. LES RNP : RIBONUCLÉOPROTÉINES.....	45
1. La cible antigénique « RNP ».....	45
A. Structure / Composition	45
B. Rôle RNP.....	46
2. L'U1-RNP	48
A. Structure / Composition	48
a. L'U1-70kDa.....	49
b. L'U1-A.....	50
c. L'U1-C.....	50
B. Localisation de l'U1-RNP	51
C. Rôle de l'U1-RNP	52
a. Au sein du spliceosome.....	52
b. Dans l'expression des gènes	52
3. Immunogénicité de l'U1-RNP : Génération des Auto-anticorps anti-U1-RNP	54
a. Initiation par l'ARN	54
b. Initiation par modifications structurales	56
c. Rôle des agents viraux pathogènes	58
d. Cinétique d'apparition.....	59
V. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES ÉTUDES PORTANTS SUR LES ISOFORMES DES AUTO-AC ANTI-U1-RNP	60
1. Présentation.....	60
A. Etudes portant sur les isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP d'isotype IgG	63
B. Etudes portant sur les isotypes IgM et IgG des auto-Ac anti-U1-RNP	65
2. Résultats	66
VI. DISCUSSION/CONCLUSIONS.....	67
A. Comment sont générés les auto-anticorps anti-U1-RNP	67
B. Cible et ses isoformes	68
C. Perspective.....	69
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	70

Liste des tableaux

Tableau récapitulatif MAI non spécifiques d'organes à auto-Ac anti-U1-RNP.....	37
Tableau récapitulatif structure des U-RNP.....	47
Tableau récapitulatif des isoformes de l'U1-RNP.....	53
Tableau récapitulatif des études portant sur les isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP d'isotype IgG.....	64
Tableau récapitulatif des études portant sur les isotypes IgM et IgG des auto-Ac anti-U1-RNP.....	65

Introduction

Les auto-anticorps dirigés contre la RiboNucléoProtéine U1 (ou U1-RNP) font partie de la famille des auto-anticorps anti nucléaires (AAN), qui sont des marqueurs incontournables dans un diagnostic d'auto-immunité. Critères de diagnostic du syndrome de Sharp ou connectivite mixte (MCTD), ces auto-anticorps anti-U1-RNP sont retrouvés dans diverses pathologies auto-immunes non spécifiques d'organes telles que le lupus (LES), la sclérodermie (Ssc), le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS), la polyarthrite rhumatoïde (PR) et enfin, les polymyosites/dermatomyosites (PM/DM).

Les anti-U1-RNP sont dirigés contre la U1-RNP, qui existe sous diverses isoformes, en particulier l'U1-70kDa, l'U1-A et l'U1-C. La recherche de ces marqueurs en pratique courante fait partie de l'exploration des AAN, qui comprend une analyse par immunofluorescence suivie si elle est positive, d'une recherche de la cible nucléaire. La cible des anti-U1-RNP recherchée en pratique courante est constituée par un mélange des trois isoformes.

Le but de mon travail de thèse et mémoire a été de s'interroger sur l'intérêt d'une détection spécifique de chacune de ces isoformes en pratique quotidienne.

Avant d'analyser l'intérêt de la recherche spécifique des anti-U1-70kDa, -A, et -C dans une cohorte de 74 patients anti-U1-RNP positifs (travail de mémoire), nous avons essayé dans cette thèse de répondre à deux questions principales :

- Existe-t-il des différences structurales, ou fonctionnelles entre les isoformes ?
- Dans quels contextes cliniques a-t-on décrit des U1-70kDa, U1-A et U1-C ?

Après un bref rappel sur l'auto-immunité, nous ferons une synthèse des différentes pathologies dans lesquelles les anti- U1-RNP sont détectés, puis nous présenterons la stratégie d'exploration des AAN et des anti-U1-RNP. Nous détaillerons la structure et les fonctions des U1-RNP (U1-70 kDa, U1-A et U1-C) ainsi que les études dans lesquelles les anti-U1-RNP dirigés contre les isoformes sont recherchés. Enfin nous proposerons une discussion sur l'intérêt de rechercher ces anti-U1-RNP « spécifiques ».

Table des abréviations

AAN:	Anticorps anti-nucléaire
Ac:	Anticorps
Ac anti-ADN natifs :	Anticorps anti-acide-desoxy-ribonucléique natifs (double brin)
Ac anti-ENA:	Anticorps anti-extractable nuclear antigen
Ac anti-U1RNP:	Anticorps anti-uridine 1 ribonucléoprotéine
Ac anti-Smith:	Anticorps anti-Smith
ANCA :	Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
CM :	Connectivite mixte
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité
CMV :	Cytomégalovirus
CPA :	Cellules présentatrices de l'antigène
DM :	Dermatomyosite
EBV :	Epstein-Barr virus
ELISA :	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
FR :	Facteur rhumatoïde
HLA :	Human Leukocyte Antigen
hnRNP :	Heterogen nuclear RNP
HTAP :	Hypertension artérielle pulmonaire
IFI :	Immunofluorescence indirect
LES :	Lupus érythémateux systémique
MAI :	Maladie auto-immune
MAI-NSO :	Maladie auto-immune non spécifique d'organe
MCTD :	Mixed connectivite tissus disease
PM :	Polymyosite
PR :	Polyarthrite rhumatoïde.
RNA :	Acide ribonucléique
RRM :	Motif de reconnaissance de l'ARN
snRNP :	Small nuclear ribonucléoprotéines
SSc :	Sclérodémie systémique
SGS :	Syndrome de Gougerot-Sjôgren
Sn :	Small nuclear
U :	Uridine

I. AUTO-IMMUNITE

L'auto-immunité est la rupture des mécanismes de tolérance qui conduit à l'action pathogène du système immunitaire vis-à-vis des constituants naturels de l'organisme (le soi) et à l'apparition d'une maladie auto-immune.

Il s'agit d'un phénomène naturel, physiologique, qui correspond à une tolérance du système immunitaire et qui assure l'homéostasie.[1], [2]

Dans cette partie, je ferai tout d'abord des rappels sur la réponse immune physiologique, puis j'aborderai dans un second temps les principaux mécanismes de rupture de tolérance conduisant à l'auto-immunité.

1. Physiopathologie

A. La réponse immunitaire

Il s'agit de l'ensemble des mécanismes permettant à un organisme de se défendre contre une substance étrangère (antigène) menaçant son intégrité.[3]

Elle comprend d'une part :

-La réponse immunitaire innée, première ligne de défense de l'organisme et non spécifique, avec des modules constitutifs, comme la peau et les muqueuses, et des modules induits, comme les cellules phagocytaires et la réponse inflammatoire. Elle peut être déclenchée par des signaux de danger « DAMP » (Danger Associated Molecular Pattern) suite à des dommages cellulaires, des perturbations chimiques ou physiques notamment, mais également par des signaux pathogéniques « PAMP » (Pathogen Associated Molecular Pattern) qui sont des motifs exprimés par des micro-organismes pathogènes.

-La réponse immunitaire adaptative, plus tardive, avec participation des lymphocytes et de leurs récepteurs.[4], [5]

B. Acteurs

Le système immunitaire a une fonction de reconnaissance de l'environnement exogène et endogène. Les lymphocytes B et T peuvent reconnaître spécifiquement des antigènes par leur récepteur spécifique, le BCR pour les lymphocytes B et le TCR pour les lymphocytes T.

Rappel sur les TLR

On appelle PRR (Pattern recognition receptor), les récepteurs des PAMP.

Les TLR font parties des PRR et jouent un rôle clé dans le système immunitaire adaptatif en l'avertissant de la présence d'infections microbiennes par reconnaissance des molécules structurellement conservées dérivées de microbes.

Ce sont des récepteur de type simple membrane, non catalytique, de reconnaissance de forme. Il en existe 10 chez l'homme (TLR 1 - 10)

Lorsqu'ils sont activés, les TLR recrutent des molécules adaptatrices dans le cytoplasme des cellules afin de propager un signal, qui in fine, conduit à l'induction ou à la suppression de gènes impliqués dans la réponse inflammatoire.[6]–[8]

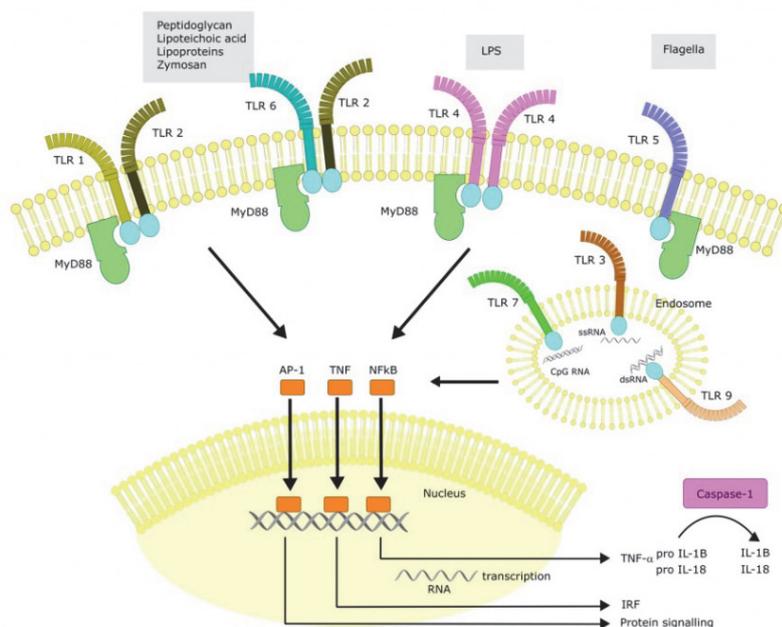


Figure récapitulative des TLR humains

C. Mécanismes de tolérance immunitaire

Il s'agit de la capacité du système immunitaire à ne pas manifester de réactions agressives contre les éléments du soi.

Il en existe trois types :

- La tolérance centrale qui correspond à l'éducation au niveau thymique des lymphocytes T et à l'éducation au niveau de la moelle osseuse des lymphocytes B et permet d'éliminer les clones auto-réactifs avant circulation.

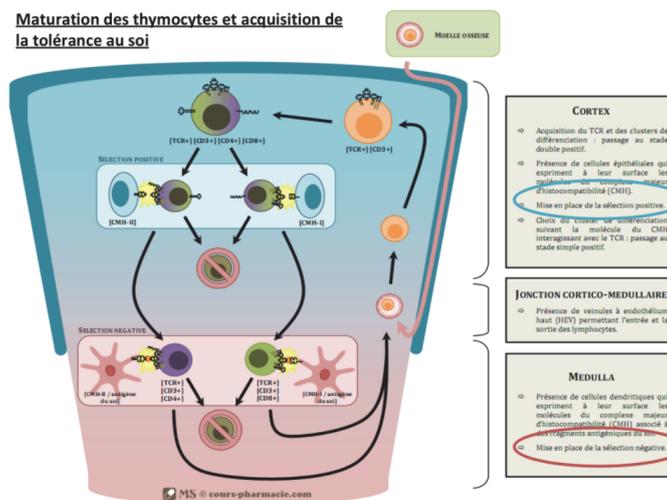


Figure récapitulative de la tolérance centrale

- La tolérance périphérique qui correspond à l'éducation durant toute la vie de la maturation des lymphocytes.

Les clones B et T auto-agressifs restant vont être détruits ou inactivés.

TOLERANCE PERIPHERIQUE

TYPE de TOLERANCE	MECANISME	SITE de l'ACTION
Séquestration de l'Antigène	accès limité aux antigènes du soi	organes periph: thyroïde, SNC, oeil....
Anergie périphérique	inactivation cellulaire par faible signal de costimul.	Tissus lymph. second.
Cellules régulatrices	suppression des signaux intracellulaires	Tissus lymph. second. et sites inflammation

Figure récapitulative de la tolérance périphérique

- Des mécanismes d'immunorégulation complètent la tolérance à travers la production de cytokines anti-inflammatoires et d'anti-cytokines.

D. Importance du terrain génétique en auto-immunité

Les gènes HLA (molécule du complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH) codent pour les molécules qui assurent la fonction de présentation de l'antigène et l'histocompatibilité. Ils sont localisés sur le bras court du chromosome 6.

La région CMH de classe I comprend l'HLA-A, -B et -C.

La région CMH de classe II comprend l'HLA-DP, -DQ et -DR. [9]

Les différences génétiques entre les molécules du CMH se traduisent en physiologie par des différences d'aptitude à répondre efficacement à une stimulation antigénique donnée et en pathologie par des différences de susceptibilité à de nombreuses maladies.

Le polymorphisme du complexe HLA conduit à une variabilité interindividuelle à présenter un peptide donné, donc à induire la réponse de lymphocytes T spécifiques.[2]

2. Rupture de tolérance immunitaire

Bien que physiologique, le système de régulation de cette auto-immunité peut être défaillant.

Il y a alors apparition d'une auto-immunité pathologique, auto-agressive, qui va aboutir au déclenchement d'une maladie auto-immune, liée à une prédisposition génétique (haplotypes HLA) et à une répétition de facteurs déclenchants chez des sujets prédisposés, avec production et prolifération de clones B et T auto-réactifs.

Elle pourra être spécifique d'organe, comme dans le cas du diabète de type I, ou non spécifique d'organe, comme dans le cas du LES. [2]

Mécanismes d'induction de l'auto-immunité: multifactorielles

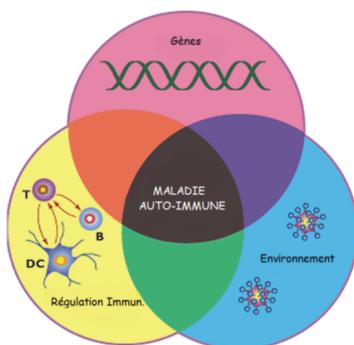
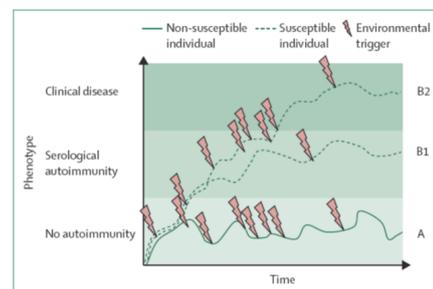


Figure représentant l'induction multifactorielle de l'AI

Décali d'apparition de la maladie (Lancet, 2013)



Sujet A : non génétiquement prédisposé à la maladie auto-immune

Sujet B1 et B2: génétiquement prédisposé à la maladie auto-immune

Figure représentant l'apparition d'une MAI

A. Rôle du terrain immunogénique

Comme le suggère le caractère familial fréquent des MAI, le terrain immunogénétique est fondamental en auto-immunité.

Les études génétiques réalisées dans les modèles animaux de MAI ont montré qu'il existe au moins 25 gènes qui peuvent contribuer à une susceptibilité particulière.

Ces gènes codent principalement pour les protéines CMH de classe I et de classe II, les cytokines, les récepteurs des cytokines, les protéines impliquées dans la régulation de la réponse immunitaire et dans l'apoptose.

Chez l'Homme, la présence de certains allèles du CMH de classe I ou de classe II est associée à une augmentation du risque de survenue de certaines pathologies auto-immunes. [2], [9]

De rares pathologies sont fortement liées à un CMH particulier, comme l'HLA-B27 et la spondylarthrite ankylosante.

B. Rôle de l'environnement

Les événements extérieurs sont généralement indispensables au déclenchement d'une MAI. On peut citer les infections virales, notamment à l'EBV (Epstein Barr Virus) et au CMV (CytoMégaloVirus), les rayonnements UV, les toxiques tels que le tabac, les médicaments, certaines hormones sexuelles... qui vont engendrer du matériel apoptotique. [2], [10], [11]

C. Déclenchement de l'auto-immunité

C'est à la suite de l'ensemble des événements extérieurs déjà cités, que certaines modifications des protéines, comme nous le verrons dans le cadre de l'U1-RNP, vont se produire et que l'auto-immunité se mettra en place.

La nécrose conduit à une fragmentation cytoplasmique étendue, et à la libération de contenus intracellulaires nocifs, y compris des protéases et des signaux pro-inflammatoires qui peuvent endommager les tissus environnants et provoquer potentiellement une réponse inflammatoire. Les cellules apoptotiques qui ne sont pas éliminées par phagocytose peuvent subir une nécrose secondaire avec libération de molécules pro-inflammatoires.

Il en résulte une activation de l'immunité innée et une reconnaissance par des auto-Ac de ces nouvelles cibles antigéniques, qui vont activer les lymphocytes B.

Chez un sujet prédisposé, ayant un terrain (HLA) compatible, la présentation des antigènes aux lymphocytes T permet leur activation et leur maturation en cellules effectrices ou mémoires.

Ces lymphocytes T produisent des médiateurs de l'inflammation, qui induisent une différenciation et une maturation des lymphocytes B qui vont à leur tour sécréter des auto-Ac responsables de lésions tissulaires avec production de nouveau matériel apoptotique qui entretient la réaction auto-immune.[12]

II. MALADIES AUTO IMMUNES NON SPÉCIFIQUES **D'ORGANES ANTI-U1-RNP POSITIVES**

On estime aujourd'hui que 5 à 8% de la population mondiale est touchée par une MAI, avec une prévalence différente en fonction des origines ethniques.

Bien que quelques-unes d'entre elles soient aussi fréquentes chez les hommes et les femmes, dans 80% des cas elle concerne la femme. [13]

Les auto-Ac anti-U1RNP peuvent être présents dans plusieurs MAI non spécifiques d'organe, autres que le syndrome de SHARP (MCTD) pour lequel ils sont théoriquement systématiquement présents.

Notamment le lupus érythémateux systémique (30% des cas), la sclérodermie (8 à 31% des cas), la polyarthrite rhumatoïde (8 à 10%) et dans moins de 20% des syndromes de Gougerot-Sjögren. [14]

1. Le syndrome de SHARP

A. Description

La connectivite mixte (MCTD-mixed connective tissue disease) est initialement décrite en 1972.

G.C. SHARP et son équipe ont observé un groupe de 25 patients ayant un tableau clinique associant des signes de plusieurs MAI :

- Polyarthrite rhumatoïde (PR),
- Lupus érythémateux systémique (LES),
- Sclérodermie systémique (SSc),
- Polymyosite/Dermatomyosite (PM/DM).

Ils empruntent les caractéristiques de ces pathologies, sans en remplir les critères diagnostics. [15], [16]

B. Epidémiologie

C'est une pathologie rare, touchant préférentiellement la femme entre la 2^{ème} et la 3^{ème} décade de vie, sa prévalence est estimée selon les études entre 0,21 et 10 pour 100 000 habitants, selon les cohortes et les ethnies étudiées.

Elle reste cependant incertaine au niveau mondial, du fait des divergences liées aux critères de classification et à la difficulté diagnostic encore aujourd'hui de par la confusion entre les différentes MAI non spécifiques d'organes (MAI-NSO).[17]

C. Symptomatologie principale

- Les arthrites et arthralgies rappellent la PR et le LES.
- De manière quasi constante, un syndrome de Raynaud.
- Les mains gonflées et indurées ainsi que la dysmotilité œsophagienne font évoquer une SSc.
- Des signes de myosites. [15], [16]

D. Particularités immunologiques

L'anti RNP, plus particulièrement l'U1-RNP, est d'après les classifications, l'auto-ENA systématiquement et obligatoirement retrouvé et généralement, de manière isolée.

E. Classification

Plusieurs critères de classification sont publiés : [15], [18], [19]

- Critères de Sharp,
- Critères d'Alarcon-Segovia,
- Critères de Kasukawa.
- Critères de Kahn et al.

Critères de Sharp	Critères de Alarcon-Segovia	Critères de Kahn	Critères de Kasukawa
<p>A. Critères majeurs</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Myosite sévère 2. Atteinte pulmonaire: <ul style="list-style-type: none"> - DLCO < 70% - HTAP - Lésions histologiques vasculaire 3. Phénomène de Raynaud et/ou hypomotilité oesophagienne 4. Mains gonflées ou sclérodactylie 5. Anticorps anti-ENA positif avec positivité des anti-U1-RNP et négativité des anti-Sm <p>B. Critères mineurs</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Alopecie 2. Leucopénie 3. Anémie 4. Pleurésie 5. Péricardite 6. Arthrite 7. Névralgie du Trijumeau 8. Rash Malaire 9. Thrombopénie 10. Myosite modérée 11. ATCD de mains gonflées <p>Diagnostic si 4 critères majeurs sans anti-Sm Ou probable si 3 majeurs ou 2 majeurs et 1 mineurs sans anti-Sm</p>	<p>A. Critère sérologique Anticorps anti-RNP positifs (>1/6000)</p> <p>B. Critères cliniques</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Mains gonflées 2. Acrosclérose, avec ou sans sclérodermie proximale 3. Raynaud 4. Myosite prouvée (biologiquement ou histologiquement) 5. Synovite <p>Diagnostic si - Critère sérologique ET - Au moins 3 critères cliniques (mais si 1, 2 et 3 sont présent, nécessité de 4 et 5 aussi pour distinguer de la SSc)</p>	<p>A. Critère sérologique Anticorps anti-RNP positifs (>1/2000)</p> <p>A. Critères cliniques</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Raynaud 2. Synovite 3. Myosite 4. Doigts gonflés <p>Diagnostic si - Critère sérologique ET - Raynaud ET - Au moins 2 des 3 signes restants.</p>	<p>A. Symptômes communs</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Raynaud 2. Synovite <p>B. Symptomes spécifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - De SSc 1. Sclerodactylie 2. Fibrose pulmonaire et/ou syndrome restrictif et/ou baisse de la DLCO 3. Atteinte oesophagienne (hypomotilité ou dilatation) - De SLE 1. Polyarthrite 2. Adénopathies 3. Rash malaire 4. Sérites 5. Leucopénie/thrombopénie - De myosite 1. Faiblesse musculaire 2. Élévation des enzymes musculaires 3. Atteinte myogène à l'ENMG <p>C. Critère sérologique Anticorps anti-RNP positifs</p> <p>Diagnostic si - 1 ou 2 symptômes communs et 1 ou plus symptôme spécifiques OU - 3 ou 4 symptômes spécifiques et le critère sérologique</p>

Figure regroupant les différents critères de diagnostic du syndrome de SHARP

2. Lupus Erythémateux Systémique (LES)

A. Description

Il s'agit d'une maladie inflammatoire, auto-immune, chronique, multifactorielle et non spécifique d'organe.

Elle est caractérisée par un déséquilibre du système immunitaire, à l'origine d'une production d'auto-anticorps dirigés contre l'ADN natif double brin.[20]

B. Epidémiologie

L'incidence du lupus varie de 1 à 5/100 000 et sa prévalence de 20 à 150/100 000 habitants avec un sexe ratio de neuf femmes (85%) pour un homme, préférentiellement chez la femme jeune, en âge de procréer, la plupart du temps entre 20 et 40 ans, même si des formes juvéniles ou tardives sont possibles.

Davantage retrouvée chez les populations afro caribéennes et asiatiques, plutôt que chez les caucasiennes avec une fréquence de 2 à 8 fois plus élevée pour les populations africaines. [20]

C. Symptomatologie principale

-L'arthrite non érosive est quasiment toujours retrouvée hormis dans les formes de lupus limitées (cutanée, neurologique...), pouvant être symétrique ou non, touchant les petites et grosses articulations.

-Les atteintes cutanées (75/80% des patients) sont caractéristiques dans le LES, avec une photosensibilité des parties découvertes (épaules, décolleté, visages, cou...)

Les atteintes cutanées du visage sont dites en masque de loup le plus souvent, allant d'une simple photosensibilité avec rougeurs jusqu'aux ulcérations.

-Les atteintes hématologiques sont fréquentes avec des cytopénies à la NFS : Anémie (pouvant être hémolytiques), leuco-lymphopénie et thrombopénie.

-Les atteintes d'organes sont fréquentes, comme au niveau rénal : (50% des lupiques), pulmonaires : pleurites touchants (30 à 50% des patients), cardiaques, neurologiques...[20], [21]

D. Particularités immunologiques

Présence d'AAN systématiquement (un titre <1/80 exclut un LES d'après les dernières recommandations de 2019), associés à des auto-Ac anti-chromatine : anti-ADN natifs double brins, anti-histone, anti-nucléosome...

On retrouve le plus souvent divers anti-ENA, de manières associées dirigés contre l'U1-RNP, SSA/SSB et la protéine Smith, possédant une grande spécificité dans le cas du LES, notamment en cas d'absence d'anti ADN natifs double brins.[20], [22]

E. Classification

La classification diagnostique de l'ACR (« American college of rheumatology ») est utilisée depuis 1997.

Récemment une nouvelle classification est en vigueur, la classification 2019 EULAR/ACR. [23]

Tableau 6 : Critères diagnostiques du LES (critères ACR 1997) [63]

Lupus érythémateux disséminé	
1.	Rash malaire
2.	Lupus discoïde
3.	Photosensibilité
4.	Ulcération orales ou nasopharyngées
5.	Arthrite non érosive touchant au moins deux articulations périphériques
6.	Pleurésie ou péricardite
7.	Protéinurie > 0,5g/24h
8.	Convulsion ou psychose
9.	Anémie hémolytique ou leucopénie < 4000/mm ³ à 2 reprises, ou lymphopénie < 1500/mm ³ à 2 reprises ou thrombopénie < 100000/mm ³
10.	Anticorps anti-DNA natif ou anti-Sm, ou anticoagulant circulant de type lupique anticardiolipine (IgG ou IgM)
11.	Titre anormal de facteurs antinucléaires en l'absence de drogues inductrices

Diagnostic si présence d'au moins 4 des 11 critères.

Figure des critères diagnostic du LES de l'ACR 1997

Entry criterion			
Antinuclear antibodies (ANA) at a titer of ≥ 1:80 on HEp-2 cells or an equivalent positive test (ever)			
↓			
If absent, do not classify as SLE If present, apply additive criteria			
↓			
Additive criteria			
Do not count a criterion if there is a more likely explanation than SLE. Occurrence of a criterion on at least one occasion is sufficient. SLE classification requires at least one clinical criterion and ≥10 points. Criteria need not occur simultaneously.			
Within each domain, only the highest weighted criterion is counted toward the total score.			
Clinical domains and criteria	Weight	Immunology domains and criteria	Weight
Constitutional		Antiphospholipid antibodies	
Fever	2	Anti-cardiolipin antibodies OR	
Hematologic		Anti-β2GPI antibodies OR	
Leukopenia	3	Lupus anticoagulant	2
Thrombocytopenia	4	Complement proteins	
Autoimmune hemolysis	4	Low C3 OR low C4	3
Neuropsychiatric		Low C3 AND low C4	4
Delirium	2	SLE-specific antibodies	
Psychosis	3	Anti-dsDNA antibody* OR	
Seizure	5	Anti-Smith antibody	6
Mucocutaneous			
Non-scarring alopecia	2		
Oral ulcers	2		
Subacute cutaneous OR discoid lupus	4		
Acute cutaneous lupus	6		
Serosal			
Pleural or pericardial effusion	5		
Acute pericarditis	6		
Musculoskeletal			
Joint involvement	6		
Renal			
Proteinuria >0.5g/24h	4		
Renal biopsy Class II or V lupus nephritis	8		
Renal biopsy Class III or IV lupus nephritis	10		
Total score:			
↓			
Classify as Systemic Lupus Erythematosus with a score of 10 or more if entry criterion fulfilled.			

Figure des critères diagnostic du LES de l'EULAR/ACR de 2019

3. Sclérodermie systémique (SSc)

A. Description

Il s'agit d'une MAI rare, affection généralisée du tissu conjonctif, des artérioles et des micro-vaisseaux, caractérisée par la survenue de phénomènes de fibrose cutanée et viscérale et d'oblitération vasculaire en réponse à une activation du tissu conjonctif.

Il existe deux formes phénotypiques principales de SSc :

- Une forme cutanée diffuse qui s'étend vers la région proximale des membres et/ou du tronc.
- Une forme cutanée limitée où la sclérose cutanée ne touche que les extrémités des membres (sans aller au-delà des coudes et des genoux).

Dans moins de 10% des cas des formes qui n'intéressent jamais la peau. On parle alors de SSc sine scleroderma.[24]

B. Epidémiologie

Le sexe ratio est de 3 à 8 femmes pour 1 homme et la pathologie se révèle entre la deuxième et cinquième décade de vie le plus souvent.

En France la prévalence est estimée à 228 cas/million d'habitant adulte (études Alsacienne de 2016)[24]

C. Symptomatologie principale

Les principaux symptômes sont :

- Vasculaire : avec le syndrome de Raynaud dans 90% des cas, et peut précéder jusqu'à 10 ans l'apparition de la maladie ainsi que des télangiectasies.
- L'atteinte cutanée est quasi constante avec une rigidification des tissus. Elle sera de localisation différente dans la sclérodermie systémique limitée et la diffuse. Principalement retrouvé les sclérodactylites, ulcères digitaux,
- Les arthralgies sont retrouvées chez la majorité des patients.

-Les manifestations digestives sont le plus souvent œsophagiennes avec une dysphagie liée à la dysmobilité.

-Les atteintes pulmonaires allant jusqu'à la fibrose et peuvent être associées à l'hypertension artérielle pulmonaire.

-Les atteintes cardiaques sont plus rares avec cardiomyopathies et péricardites.[25]–[27]

D. Particularités immunologiques

Présence d'auto-AAN >1/80 associé à des ENA.

- Les auto-Ac anti-centromères, principalement dans la sclérodémie systémique limitée (anciennement CREST)

- Les auto-Ac anti-SCL70 (anti-topoisomérase I) : évocateur de sclérodémie systémique diffuse.

-Les auto-Ac anti-RNA polymérase III.

-Hors classification (LeRoy), les auto-Ac anti-fibrillarine et anti-Th/To.[25]

E. Classification

La nomenclature actuelle repose sur la classification EULAR/ACR de 2013 de la SSc [26]

Critères de classification EULAR/ACR 2013 de la sclérodémie systémique

Items	Score
Épaississement de la peau des doigts des 2 mains s'étendant au delà des MCP	9
Épaississement de la peau des doigts	Sclérodactylie 4
	Doigts boudinés 2
Lésions de l'extrémité des doigts	Cicatrices pulpaire déprimées 3
	Ulcérations digitales 2
Télangiectasies	- 2
Capillaires unguéaux anormaux	- 2
HTAP et/ou atteinte pulmonaire interstitielle	- 2
Syndrome de Raynaud	- 3
Autoanticorps spécifiques de la SSc	Ac anti-centromères
	Ac anti-topoisomérase I
	Ac anti-RNA polymérase III

Score total = somme du score maximal de chaque catégorie
Diagnostic de sclérodémie systémique si score total ≥ 9

van den Hoogen. Arthritis Rheum 2013

Figure des critères diagnostic de la SSc de l'EULAR/ACR de 2013

4. Polyarthrite Rhumatoïde (PR)

A. Description

Maladie articulaire inflammatoire et chronique, caractérisée par la fabrication d'auto-anticorps dirigés contre la membrane synoviale des articulations. L'inflammation de la membrane synoviale entraîne son épaissement et une production excessive de liquide synovial qui s'accumule dans l'articulation. Des cellules de l'inflammation envahissent la membrane synoviale et, petit à petit, détruisent les structures alentours.

B. Epidémiologie

Elle survient dans 75 à 80% des cas chez la femme et peut débuter à tout âge, en moyenne, plus tardivement, vers 50/60 ans.

La prévalence serait de 0,5% chez les femmes et de 0,1% chez les hommes.[28]

C. Symptomatologie principale

-Une polyarthrite inflammatoire, bilatérale et symétrique qui peut être déformante, érosive et destructrice, fréquemment associée à des synovites.

-Les manifestations dermatologiques avec nodules rhumatoïdes, et lésions secondaires à une vascularite rhumatoïde (micro-infarctus digitaux, ulcères cutanés).

-La vascularite rhumatoïde et les manifestations cardio-pulmonaires sont possibles[28], [29]

D. Particularités immunologiques

Les anticorps anti-nucléaires à titre faible chez 15 à 40 % des patients.

Le facteur rhumatoïde (IgM anti-IgG le plus souvent) dans 60 à 80% des cas, sensible mais très peu spécifique.

Les auto-Ac anti-peptide citrique citrulliné, très spécifique (90%)

Des auto-Ac anti-ENA, le plus fréquemment dirigés contre les protéines SSA/SSB et plus rarement l'U1-RNP.

Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) sont fréquemment détectés, de type périnucléaire.[28]

E. Classification

La classification repose sur les critères de l'ACR depuis 1987, avec une version publiée en 2010 de l'ACR et EULAR.[29], [30]

Tableau 8 : Critères diagnostiques de Polyarthrite Rhumatoïde (ACR 1987)

Polyarthrite rhumatoïde
Raideur articulaire matinale
Arthrite d'au moins 3 articulations
Arthrite de la main (sauf interphalangienne distale)
Arthrite symétrique
Nodules rhumatoïdes
Facteur rhumatoïde
Signes radiologiques
Diagnostic si au moins 4 critères

ACR/EULAR 2010 Classification Criteria for Rheumatoid Arthritis*

These criteria should be restricted to persons with ≥ 1 swollen joints in the absence of a more likely diagnosis.

A score of ≥ 6 points is classified as definite RA. In each domain, consider only the category with most points.

A. Joint involvement and distribution (0-5 points)

Any swollen or tender joint on physical examination

Large joints: Shoulders, elbows, hips, knees, and ankles

Small joints: Metacarpophalangeal, proximal interphalangeal, second through fifth metatarsophalangeal, thumb interphalangeal, and wrists

- 1 large joint: 0 points
- 2-10 large joints: 1 point
- 1-3 small joints: 2 points
- 4-10 small joints: 3 points
- > 10 joints (and at least 1 small joint): 5 points

B. Serology (0-3 points)

Low-positive results are > 1 to 3 times the upper limit of normal of the assay used.

High-positive results are > 3 times the upper limit of normal of the assay used

- Negative RF and negative ACPA: 0 points
- Low-positive RF or low-positive ACPA: 2 points
- High-positive RF or high-positive ACPA: 3 points

C. Acute-phase reactants (0-1 point)

- Normal CRP and normal ESR: 0 points
- Abnormal CRP or abnormal ESR: 1 point

D. Duration of symptoms (0-1 point)

Patient's self-report on the maximum duration of symptoms of any joint clinically involved at the time of assessment

- < 6 wk: 0 points
- ≥ 6 wk: 1 point

ACPA = anticitrullinated protein antibodies; ACR/EULAR = American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism; CRP = C-reactive protein;

ESR = erythrocyte sedimentation rate; RA = rheumatoid arthritis;

RF = rheumatoid factor.

*Data from reference 8.

Figure des critères diagnostic de la PR de l'ACR 1987

Figure des critères diagnostic de la PR de l'EULAR/ACR de 2010

5. Polymyosite et Dermatomyosite (PM/DM)

A. Description

Ce sont deux maladies chroniques similaires et rares qui affectent les muscles.

La différence clinique la plus significative entre la dermatomyosite et la polymyosite est une éruption cutanée qui ne se produit pas avec la polymyosite. [31]

B. Epidémiologie

C'est une maladie rare avec une incidence de 4 à 8/100 000 personnes/an, touchant deux fois plus les femmes que les hommes.

La dermatomyosite peut débuter dans l'enfance. [31]

C. Symptomatologie principale

-Déficit moteur touchant la musculature striée de façon bilatérale et symétrique et prédominant sur les ceintures et muscles cervicaux.

-La survenue d'une atteinte cutanée caractérise la dermatomyosite, à type d'érythro-œdème photosensible, de lésions papuleuses érythémateuses ou violacées de la face dorsale des articulations interphalangiennes et métacarpo-phalangiennes.

- Le phénomène de Raynaud dans 10 à 15% des cas.

-Les troubles oesopharyngés dans 25 à 30% des cas avec dysphonie, dysphagie, troubles de la déglutition.

-Arthrites (15 à 30% des cas).

- Les atteintes cardio-pulmonaires sont diverses et plus fréquentes en cas de syndrome des anti-synthétases.[31], [32]

D. Particularités immunologiques

Les auto-Ac anti-ENA peuvent être dirigés contre l'U1-RNP, les protéines SSA/SSB, PM-Scl, associés ou pas à des AAN.

Des auto-Ac anti-cytoplasmiques sont présents, dirigés contre JO1 ou PL7/12 et constituent le syndrome des anti-synthétases (10 à 30% des polymyosites).

Les auto-Ac anti-SRP (5%) sont de plus mauvais pronostic et les auto-Ac anti-Mi2, plus spécifiques de la DM.

Le facteur rhumatoïde est retrouvé dans 20% des cas.[31], [32]

E. Classification

[31], [33]

Polymyosite / Dermatomyosite

Déficit musculaire bilatéral et symétrique des ceintures

Elévation des CPK

Syndrome myogène à l'électromyogramme

Biopsie musculaire caractéristique

Signes cutanés caractéristiques

Diagnostic de polymyosite si 3 des 4 premiers critères, dermatomyosite si atteinte cutanée en plus

Figure des critères diagnostic de la PM/DM de Bohan et Peter

6. Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGJ)

A. Description

Il s'agit d'une maladie inflammatoire chronique lymphoproliférative responsable d'un syndrome sec par infiltration des glandes salivaires et lacrymales accompagné de manifestations auto-immunes cliniques et biologiques.

Il peut être primitif lorsque la xérostomie et la xérophtalmie ne sont pas associées à une maladie systémique clairement définie. [34]

B. Epidémiologie

La maladie a une fréquence comprise entre 0,1 et 0,4% de la population avec une prédominance féminine de 9 femmes pour 1 homme.[34], [35]

C. Symptomatologie principale

- Un syndrome sec (xérophtalmie et xérostomie)
 - Des manifestations rhumatologiques avec arthralgies, myalgies.
 - Le syndrome de Raynaud s'observe chez un tiers des malades, un purpura est observé dans 6 à 30% des cas.
 - Des atteintes cardio-respiratoires et rénales dans les formes graves.
- L'évolution redoutée est celle vers un lymphome. [34], [35]

D. Particularités immunologiques

Des AAN dans 50% des cas associés à des auto-Ac anti-SSA et SSB, plus rarement les auto-Ac anti U1-RNP.

Le FR est retrouvé dans 50% des cas.

Il est important de noter la possible présence d'auto-Ac anti SSA/SSB avec des AAN négatifs.

L'absence d'AAN ne doit donc pas empêcher la recherche de ses ENA.[35]

E. Classification

ACR/EULAR 2016 Gougerot-Sjögren.[36]

Item	Weight/score
Labial salivary gland with focal lymphocytic sialadenitis and focus score of ≥ 1 foci/4mm ²	3
Anti-SS-A/Ro positive	3
Ocular Staining Score ≥ 5 (or van Bijsterveld score ≥ 4) in at least one eye	1
Schirmer's test ≤ 5 mm/5 minutes in at least one eye	1
Unstimulated whole saliva flow rate ≤ 0.1 ml/minute	1

A score ≥ 4 classifies a patient who meets the inclusion criteria:

- ocular and/or oral dryness or suspicion of SjS according to EULAR SjS Disease Activity Index (ESSDAI)

and does not have any of the exclusion criteria:

- history of head and neck radiation, active HCV infection, AIDS, sarcoidosis, amyloidosis, graft-versus-host disease, IgG4-related disease.

Figure des critères diagnostic du SGS de l'ACR/EULAR de 2016

Tableau récapitulatif MAI non spécifiques d'organes
à auto-Ac anti-U1-RNP

Marqueurs immunologiques	SHARP	LES	SSc	PR	PD/PM	SGS
AAN	Elevés	Elevés	Elevés	+/-	-/+	Elevés (variable)
Auto-Ac anti-U1-RNP	Fort titre	Fort titre	Variable	Variable	Variable	Variable
Autres auto-Ac	-Ac anti Sm (10%)	-Anti-chromatine -Sm -SSA/SSB	-CE -SCL 70 -RNApolIII -fibrillarine -Th/To	-FR -CCP -SSA/SSB	-SSA/SSB -Jo1 -PL7/12 -SRP -Mi2 -PM SCL	-SSA/SSB
HLA	-HLA B8 -HLA DR*B1	-HLA DR2 -HLA DR3	-HLA DR5	-HLA DR4	-HLA DR3	-HLA DR2 -HLA DR 3

L'absence du FR dans le tableau est volontaire, hormis dans la PR, au vu de sa très faible spécificité.

III. STRATÉGIE D'EXPLORATION DES ANTICORPS ANTI-NUCLÉAIRES ET DES ANTI-U1-RNP

1. Les anticorps anti-nucléaires (AAN)

A. Généralités

Les auto-anticorps anti-nucléaires AAN ont été mis en évidence pour la première fois en 1957 dans le sérum de patients atteints de LES.

Depuis lors, ces auto-anticorps détectés par immunofluorescence indirecte (IFI) ont été associés à de nombreuses MAI, et en particulier aux maladies auto-immunes non spécifiques d'organes (anciennement dénommées connectivites). Marqueurs incontournables dans le diagnostic de dysimmunité, ils sont associés aux critères diagnostics des MAI. Leur sensibilité varie d'une pathologie à l'autre. Elle est excellente dans le LES par exemple, leur absence rendant le diagnostic hautement improbable d'après les dernières recommandations.

Leur spécificité n'est pas bonne, puisqu'ils sont retrouvés dans d'autres contextes que l'auto-immunité tels que les maladies infectieuses, et les états cancéreux...

De plus leur prévalence augmente avec l'âge, et ils seront donc possiblement retrouvés chez le sujet sain, à des titres peu élevés et plus particulièrement chez la femme.

B. Recherche des auto-anticorps anti-nucléaires

Lors d'une suspicion de pathologie dysimmunitaire, l'examen biologique immunologique de première intention est la recherche d'auto-anticorps anti-nucléaires.

La méthode de référence actuelle (préconisée dans la nomenclature des actes de biologie médicale depuis 1996) est la lecture par immunofluorescence indirecte sur cellules Hep-2.

a. Technique de l'immunofluorescence indirect (IFI)

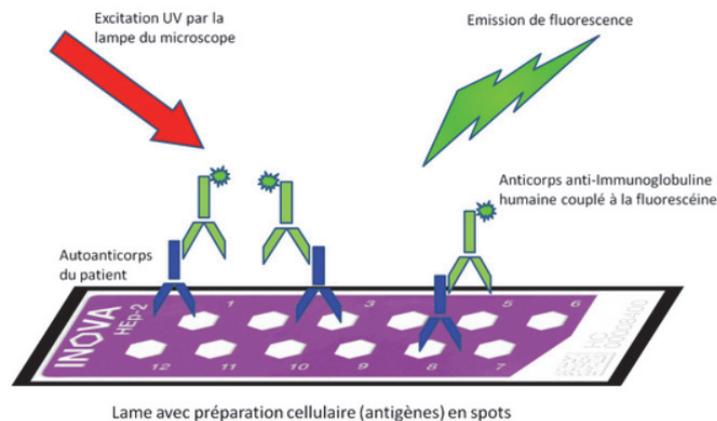
Dans un premier temps, le sérum à tester est incubé sur les cellules Hep-2, source antigénique des RNP. Les cellules Hep-2 sont des cellules issues de lignée humaine de carcinome laryngé épidermique. Ces cellules sont utilisées pour leurs noyaux de grande taille à plusieurs nucléoles qui améliorent la définition des aspects de fluorescence.

S'il y a des Ac dans le sérum dirigé contre l'antigène, ils vont se fixer.

Après des lavages successifs, un Ac secondaire (anti-immunoglobuline) couplé à un fluorochrome (la fluorescéine le plus souvent), est ajouté dans un second temps. Ce dernier va se fixer sur les Ac primaires.

Après des lavages successifs, permettant d'éliminer les Ac en excès, la lecture est réalisée à l'aide d'un microscope à fluorescence.

Ce dernier va exciter les fluorochromes présents sur l'Ac secondaire, qui vont à leur tour émettre une fluorescence visible de longueur d'onde inférieure. [37]



[38]

Figure représentant une lame Hep-2 pour la détection d'AAN en IFI

b. Lames utilisées pour la détection des AAN

Nous utilisons des lames comprenant plusieurs puits de cellules Hep-2.

La culture des cellules Hep-2 sur lame permet d'obtenir des cellules à différents stades du cycle cellulaire. Cela permet d'apprécier différents aspects et de détecter la présence de certains ENA, que nous détaillerons plus tard.

Le choix des lames et leur qualité dépend des fournisseurs et sera à valider par le biologiste.

Il faudra apprécier la densité cellulaire, l'étalement des cellules, et la présence des différents stades du cycle cellulaire.

La sensibilité des lames aux différents auto-anticorps recherchés et l'aspect en IFI est indispensable à évaluer, en ayant recours à des témoins.

Le choix de l'anti-immunoglobuline pour la détection et la révélation est importante également.

Comme tous les isoformes d'anticorps sont retrouvés dans les sérums de patients, sans qu'il n'y ait de consensus établi, l'utilisation d'anti-IgG humaines semble améliorer l'image de fluorescence nucléaire.

Lors de la recherche des AAN, une lame est réalisée avec tous les contrôles, à savoir un témoin positif fort (généralement de titre >1280), un témoin négatif, afin de s'assurer de l'absence de contamination, et pour chaque lame un puit est réservé à un témoin au seuil de positivité du laboratoire.



[39]

Figure représentant une lame Hep-2 pour la détection d'AAN en IFI

2. Démarche biologique

La recherche des AAN est faite en deux principaux temps.

-En premier lieu, un dépistage, qui se réalise avec le sérum du patient dilué au seuil de positivité du laboratoire.

-Dans un second temps, lors d'un dépistage positif, donc avec une fluorescence visible ayant une intensité supérieure ou égale au témoin seuil, un titrage des AAN sera réalisé

A. Dépistage de l'AAN

Au laboratoire d'immunologie de l'hôpital de la Conception à Marseille, nous utilisons préférentiellement une dilution à 1/160 du sérum du patient, pour effectuer un dépistage de la recherche des AAN.

A partir de cela, deux possibilités :

- Aucune fluorescence n'est observée en IFI : La recherche des AAN est rendue négative au titre 1/160.
- Un aspect de fluorescence est observé en IFI :
Il faudra titrer l'AAN et définir son ou ses aspects de fluorescence.

B. Titrage de l'ANN

Le biologiste décidera selon l'intensité de fluorescence observée, du nombre de dilutions nécessaires pour titrer l'AAN jusqu'à négativation de la fluorescence.

Ces dilutions sont effectuées en cascade :

(1/80) → 1/160 → 1/320 → 1/640 → 1/1280.

Le titre de l'ANN correspond à l'inverse de la dernière dilution positive.

Dans le cas d'un AAN de très forte intensité, une fluorescence persistera à la dilution 1/1280.

Le titre de l'ANN sera rendu comme étant supérieur à 1/1280, la titration exacte n'ayant pas d'intérêt clinique supplémentaire.

Examen de première intention en cas de suspicion de pathologie dysimmunitaire

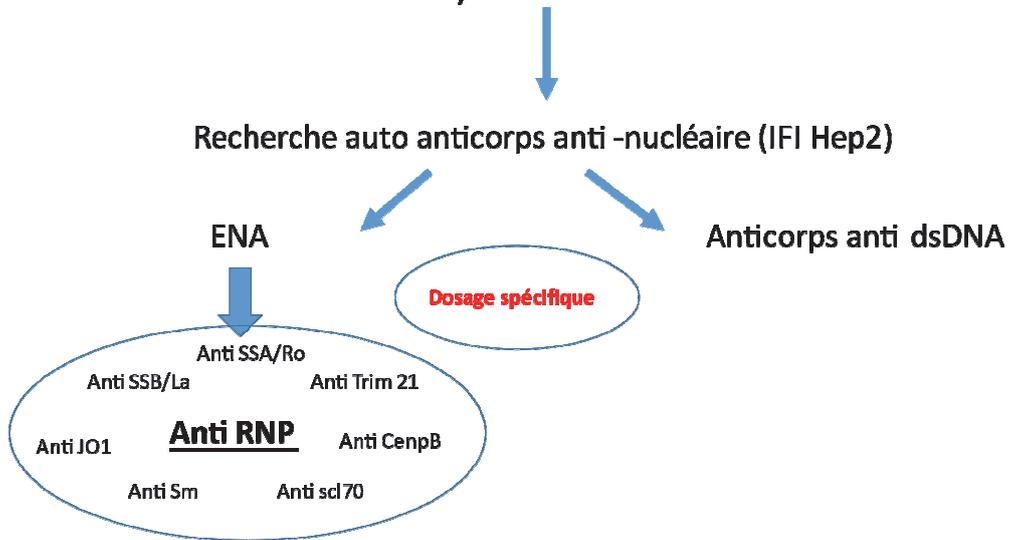


Schéma récapitulatif de la démarche biologique de la recherche d'AAN et de leurs cibles nucléaires au laboratoire

3. Identification des spécificités anti-nucléaires associées : recherche des auto-anticorps anti-antigènes nucléaires solubles (ENA)

La recherche d'ENA sera orientée en fonction des examens initialement demandés par le clinicien, du tableau clinique et de l'aspect observé en IFI, puisque certains ont un aspect clairement reconnaissable.[37]

A. Association des ENA à la fluorescence

L'aspect moucheté (et/ou homogène moucheté) nous intéresse particulièrement dans ce travail, car il est observé en IFI lors de la présence d'auto-Ac anti-U1-RNP.

Avec l'auto-Ac anti-Sm, ils se différencient des autres ENA par leur mouchetage dit « gros grains ».

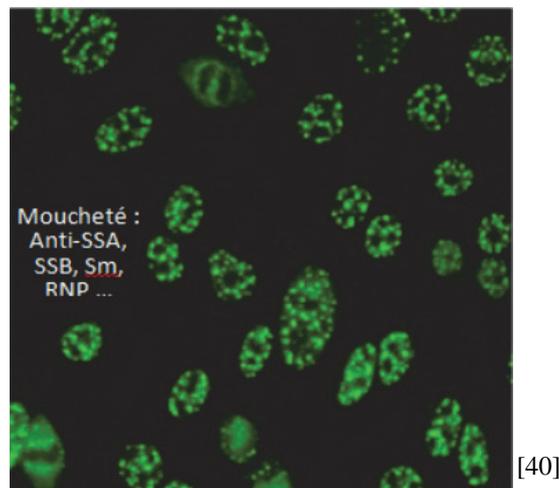


Photo d'un aspect moucheté des AAN en IFI

B. Dosage des ENA

Les différents ENA seront ensuite dosés directement de manière automatisée. Plusieurs techniques sont utilisées aujourd'hui, notamment l'ELISA ou la spectrofluorimétrie, permettant un dosage quantitatif.

Les ENA seront recherchés d'une part en fonction des demandes initiales du prescripteur ou à l'initiative du biologiste suite aux aspects observés en IFI.

Le dosage de routine des auto-Ac anti-U1-RNP comprend un mélange de ses trois isoformes - 70kDa, A et C.

Ces méthodes permettent également de doser des auto-Ac anti-ADN natifs double brin.

Cas des auto-anticorps anti ADN natifs double brin

Les auto-Ac anti-ADN natifs sont associés à une fluorescence homogène en IFI, aspect facilement reconnaissable par l'aspect « laqué » des cellules et la présence d'une plaque équatoriale des cellules en division.

S'il y a présence à la fois d'ENA et d'auto-Ac anti-ADN natifs dans le sérum, l'aspect sera mixte, de type homogène et moucheté par exemple dans les pathologies à auto-Ac anti-U1-RNP positives et anti-ADN natifs positives. [37]

IV. LES RNP : RIBONUCLÉOPROTÉINES

1. La cible antigénique « RNP »

A. Structure / Composition

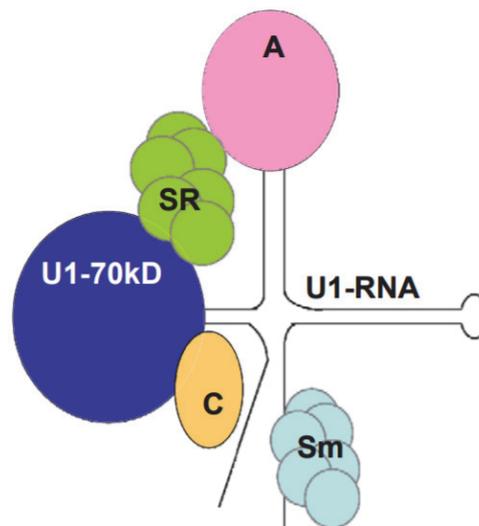


Fig. 1. The U1-RNP. The U1-RNA has double-stranded secondary structure. The U1-70kD protein binds specifically to the first stem-loop; the U1-A protein binds similarly to the second stem-loop. The Sm proteins bind to an area on a fourth stem-loop (not pictured). The SR and U1-C proteins participate in protein-protein interactions with other members of the U1-RNA.

Schéma simplifié de la structure de l'U1-RNP

LES RNP ou ribonucléoprotéines sont de petites particules nucléaires, constituées par l'association d'acide ribonucléiques (ARN ou RNA) et de polypeptides.

Ces acides ribonucléiques sont de petite taille, dénommés snARN (pour small nuclear RNA) et sont riches en uridine ((U)snRNA). Il existe plusieurs RNP, dont on dénombre au moins 13 variétés, numérotées de U1 à U13, la lettre U soulignant la richesse en uridine de l'ARN.[41]

Chaque RNP est constituée d'un ARN (ou de deux dans le cas de l'U4 et l'U6-RNP) et d'un nombre variable d'un complexe de protéines spécifiques.

Plusieurs polypeptides associés aux U-ARN ont été identifiés : les protéines 70kD, A, B1/82, C, D1-3, E, F, G. Il est à noter également que l'U1, l'U2, l'U4 et l'U5 RNP contiennent tous sept protéines Sm.[42]–[44]

B. Rôle RNP

Les RNP sont des constituants du noyau cellulaire appelé spliceosome.

Le spliceosome est une large macromolécule, composé de différentes RNP, notamment U1, U2, U4, U5 et U6, ainsi que des polypeptides vus précédemment, mais aussi de hnRNP (heterogen nuclear RNP) et du système Smith (Sm). [45], [46]

Le spliceosome est une « grande machine » macromoléculaire responsable de l'épissage qui est le traitement de l'ARN pré-messager (pré-ARNm), où les séquences introniques sont supprimées et les séquences codantes pour les protéines (exons) sont ligaturées pour former un ARN mature prêt à être traduit en protéines. [47], [48]

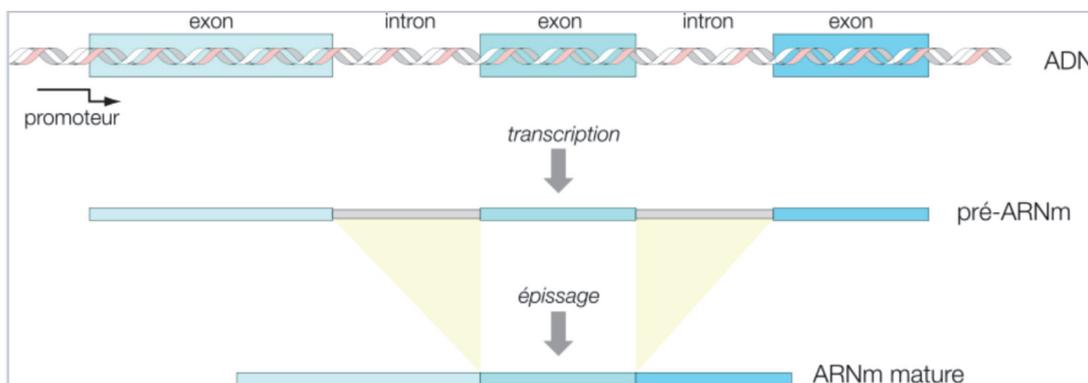


Figure simplifiée du processus de transcription et d'épissage d'un ARNm

Le spliceosome s'assemble à chaque fois que les RNP se raccordent.

Une étape précoce de ce processus est l'interaction initiale de l'U1-RNP à une courte séquence du site d'épissage 5' du pré-ARNm, indispensable à l'assemblage des autres sous-unités, U2, U4, U5, U6, et des « non » RNP associées à des facteurs de l'épissage. [45]

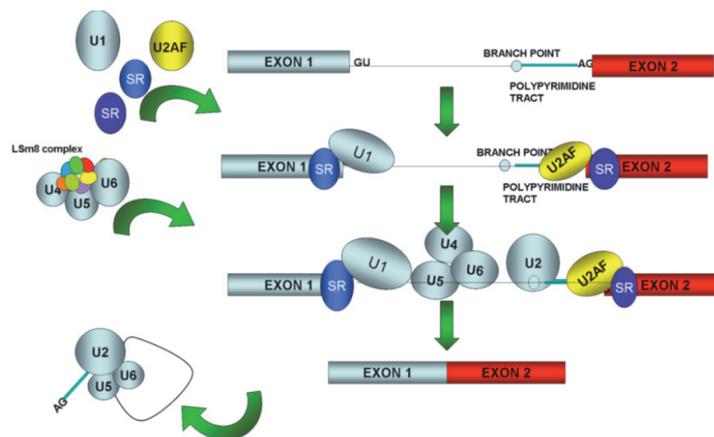


Figure simplifiée représentant la composition du spliceosome

Tableau récapitulatif structure des U-RNP

U-RNP	U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7-13
Nombre d'ARN	1	1	1	2	1	2	1
Nombre de protéines Smith	7	7	0	7	7	0	0
Composition spliceosome	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	OUI	NON

2. L'U1-RNP

Plusieurs RNP sont décrites, nous nous intéresserons en particulier à l'U1-RNP. Il s'agit en effet de la cible antigénique de prédilection des auto-anticorps recherchés ayant un intérêt clinico-diagnostic.

A. Structure / Composition

L'U1-RNP est composée de quatre boucles (stem loops) (SL1-4) qui ressemblent à une forme asymétrique en X.

Il y a deux parties simple brin fonctionnelles dans cette molécule, indispensables à son assemblage.

L'un est le site de liaison du Sm sur l'U1-ARN, qui est situé entre les boucles 3 et 4, et le second est une séquence strictement conservée à l'extrémité 5' qui s'apparie avec le site d'épissage 5' dans le pré-ARNm. [49]

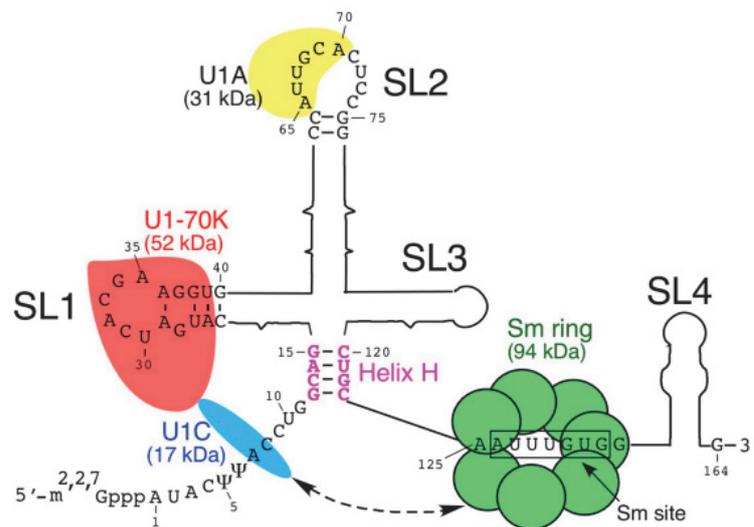


Figure plus détaillé de la structure de l'U1-RNP

L'U1-RNP humain est une protéine de 248 kDa.

Elle a un nombre estimé de copies de 10^6 molécules par cellule humaine. [50]

Sans en avoir démontré la raison, elle est beaucoup plus abondante que les autres RNP chez les eucaryotes supérieurs.

Elle se compose d'une seule molécule d'ARN de 165 nucléotides et d'au moins 10 protéines.

Sept d'entre elles, appelées protéines Sm (B/B', D, D2, D3, E, F et G), sont communes à toutes les RNP.[42], [44]

Les protéines 70kDa, A et C sont contenues dans l'U1-RNP et constituent des isoformes reconnues par des auto-anticorps.

a. L'U1-70kDa

La protéine U1-70kDa a une longueur de 437 acides aminés.

Elle fait partie d'une grande famille de protéines de liaison à l'ARN qui contient un domaine N-terminal avec des régions riches en proline, un domaine de liaison à l'ARN, contenant deux motifs de reconnaissance d'ARN (RRM), et un domaine C-terminal.

Les RRM de l'U1-70kDa sont composés de 80 acides aminés et contiennent des éléments d'un signal de localisation nucléaire dans la boucle 5 qui interagissent avec le composant cellulaire impliqué dans la navette protéique.

Des études ont révélé qu'au moins quatre isoformes de la protéine U1-70kDa existent chez l'homme.

Ces derniers diffèrent par des modifications d'acides aminés notamment sur les domaines N et C terminaux, ou par l'inclusion d'acide aminés au centre de la séquence.[6], [49]

b. L'U1-A

L'U1-A a une longueur de 282 acides aminés.

Elle est composée de deux RRM et d'un domaine intermédiaire riche en proline. Cette protéine a la capacité de se lier directement à l'U1-ARN en tant que molécule individuelle.

L'assemblage de l'U1-A sur l'U1-ARN se déroule directement dans le noyau. [6], [49]

c. L'U1-C

L'U1-C a une longueur de 159 acides aminés.

Contrairement à l'U1-A, la protéine U1-C n'a pas de RRM et ne peut pas se lier directement à l'U1-ARN nu.

Elle contient un domaine en doigt de zinc à travers lequel elle se connecte aux protéines U1-70kDa et Sm.

Elle se rattache au cœur de l'U1-RNP grâce à la fraction N terminale de la protéine 70kDa. [42]

Son assemblage sur l'U1-ARN se déroule également directement dans le noyau. [6], [49]

B. Localisation de l'U1-RNP

Du sérum avec anticorps-anti-U1-RNP a montré que l'antigène de 70kDa est présent dans la chromatine et dans la fraction insoluble nucléaire, donc la matrice.

L'antigène A est relargué par un traitement à la ribonucléase (RNase).

L'antigène C n'est pas spécifiquement détecté, suite à une perte antigénique secondaire au traitement d'extraction à haute concentration en sels.

Seules des traces d'antigène Sm et d'U1-RNP ont été détectées dans la Fraction cellulaire soluble, principalement cytoplasmique.

Une conclusion qui concorde avec leur emplacement nucléaire exclusif, déterminé par IFI, comme vu précédemment.[51]



Figure 5. Subcellular localization of antigens. Proteins from several cellular fractions obtained from 3×10^6 HeLa cells [4] were separated on a 13% polyacrylamide gel. Identical gels were stained either with Coomassie brilliant blue (CBB) or blotted onto nitrocellulose and incubated with a human anti-SS-B serum also containing some anti-Scl-86 activity [4], an anti-(U1)RNP serum or an anti-Sm serum. Lane 1: total HeLa nuclear protein extract, H marks histones; lane 2: detergent-soluble fraction; lane 3: DNase-extractable fraction; lane 4: RNase-extractable fraction; lane 5: high salt-extractable fraction; lane 6: residual nuclear matrix fraction.

Figure d'immunoblot déterminant la localisation de l'U1-RNP et de ses isoformes

C. Rôle de l'U1-RNP

Plusieurs fonctions sont attribuées à l'U1-RNP, chaque isoforme jouant un rôle différent et complémentaire dans le spliceosome.

a. Au sein du spliceosome

L'U1-RNP reconnaît une courte séquence du site d'épissage 5' du pré-ARNm et favorise un assemblage ordonné des quatre RNP restants pour former le spliceosome, qui subit, par la suite, d'importants remodelages conformationnels et compositionnels pour devenir catalytiquement actif.

- La protéine 70kDa plus particulièrement serait la première à se lier permettant l'initiation de l'assemblage du spliceosome. [49], [50]
- La protéine C interviendrait ensuite et serait indispensable à la formation du complexe E (Early), qui correspond à la première conformation transitoire du spliceosome. [46] Elle stabilise également l'ensemble du complexe U1-RNA grâce à son domaine en doigt de zinc.
- La protéine A aurait la capacité de réprimer l'initiation de la polyadénylation [52]

b. Dans l'expression des gènes

La polyadénylation consiste en l'addition d'une queue poly(A), une succession de nombreux ribonucléotides de type Adénosine (A) à l'extrémité 3' des ARNm.

Cette étape s'effectue dans le noyau, lors de sa maturation, avant l'épissage.

La très grande majorité des ARNm est polyadénylée, ainsi que quelques ARN non codants.

La polyadénylation joue plusieurs rôles essentiels au cours des différentes étapes de la vie d'un ARN messager. Elle intervient en particulier dans la protection contre la dégradation, le transport nucléo-cytoplasmique et dans le recrutement du ribosome pour permettre sa traduction en protéine.

Lorsque l'U1-RNP et plus particulièrement avec interaction directe de la protéine A, se lie à proximité d'un site de polyadénylation, principalement situé dans les introns, il empêche le clivage et la polyadénylation prématurés et contrôle la longueur de la plupart des ARNm cellulaires.

D'autre part, la liaison de l'U1-RNP près de l'extrémité 3' de certains ARNm inhibe la polyadénylation et, par conséquent, l'expression des gènes. [52]–[54]

De plus, l'absence d'interaction efficace U1-RNP et l'ARN provoque un clivage prématuré généralisé et une polyadénylation des transcrits pré-ARNm.[49]

Tableau récapitulatif des isoformes de l'U1-RNP

Isoforme U1-RNP	U1-70kDa	U1-A	U1-C
Longueur	437 aa	282 aa	159 aa
Fixation directe à l'ARN	OUI	OUI	NON
Nombre de RRM	2	2	0
Localisation	Fraction nucléaire insoluble		
Fonction	Fixation précoce au site d'épissage 5' du pré-ARNm : Amortit l'assemblage du spliceosome Permet la liaison de l'U1-C au cœur de l'U1-RNP	Module l'initiation de la polyadénylation	Permet la formation du E complexe Stabilise l'U1-RNA

3. Immunogénicité de l'U1-RNP : Génération des Auto-anticorps anti-U1-RNP

Plusieurs facteurs sont responsables de l'immunogénicité de l'U1-RNP.

D'une part l'U1-ARN de cette protéine, et d'autre part les isoformes de l'U1-RNP : 70kDa, A et C, tous cibles de potentielles auto-Ac, qui affecte principalement l'isoforme 70kDa, notamment sa forme apoptotique.

a. Initiation par l'ARN

Comme nous l'avons vu précédemment, l'U1-RNP contient certaines propriétés structurales telles qu'un domaine de liaison à l'ARN, élément central dans l'autoréactivité contre l'U1-RNP.

Les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) présentent des épitopes, qui sont les parties de l'antigène reconnues par un récepteur à la surface des lymphocytes, contenant dans ce cas, le domaine de liaison à l'ARN de l'U1-RNP, aux lymphocytes T.

La propagation d'épitopes suite aux interactions entre les lymphocytes T et B, active les lymphocytes B pour produire des auto-anticorps.

L'activation des TLR (Toll like receptor) par stimulation par l'U1-ARN est également responsable d'auto-immunité.

L'U1-ARN peut également subir une modification structurale par élimination spécifique de 5 à 6 nucléotides de l'extrémité 5', source de nouveau épitopes. [7]

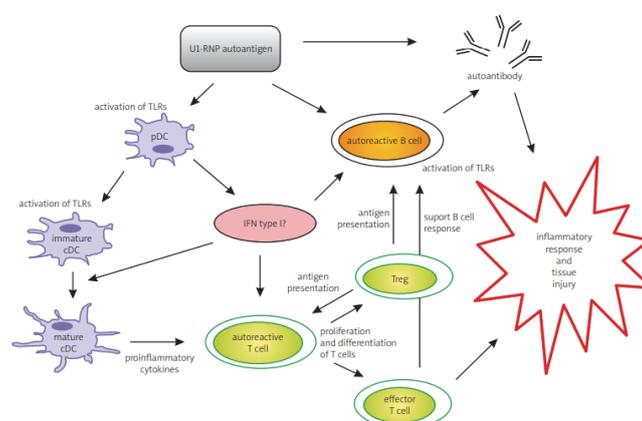


Fig. 1. Probably role of U1-RNP autoantigen and endosomal TLRs in the pathogenesis of MCTD. Self-antigen (U1-RNP) triggers immune system and breaks immune tolerance. Plasmacytoid dendritic cells (pDCs) via TLR7 induce production of type I IFN. In turn IFN I promotes autoreactive T cells activation and autoantibody production by autoreactive B cells. Activated autoreactive T cells differentiate into effector T cells and regulatory T cells (Treg); Self-antigen also activates classical DCs (cDCs) and they promote the release of inflammatory cytokines and the priming of T cells that are specific for self-antigens in a process, which is also facilitated by IFN I. Role of IFN I in the pathogenesis of MCTD is only speculated.

Schéma simplifié de l'immunogénicité de l'U1-RNP

Des études utilisant des lignées cellulaires endométriales mutantes U1-ARN et TLR ont démontrées que la molécule U1-ARN était capable de stimuler plusieurs TLR en agissant comme un ligand pour ses derniers.

- Le TLR 3 avec une efficacité similaire à celle de l'agoniste TLR-3 connu.
- Les TLR 7 et 8, induisant une immunité innée.

Des travaux ont suggéré que l'U1-ARN via le système TLR 7 particulièrement, entraîne l'activation de la cascade pro-inflammatoire et des dommages aux organes cibles.

Receptor	Bacteria	Viruses	Fungi	Parasites	Small/Synthetic Molecules	Endogenous Ligands
TLR1 / TLR2	Triacyl lipopeptides lipoarabinomannan (LAM) from mycobacterium		Yeast/ Zymosan	Glycosylphosphatidyl inositol linked proteins, T. cruzi		
TLR2 / TLR2 (?)	Published literature suggests the existence of TLR2 homo-dimers, though specific ligands have yet to be identified.					
TLR2 / TLR6	diacyl lipopeptides, LTA peptidoglycan		Yeast/ Zymosan	Glycosylphosphatidyl inositol linked proteins, T. cruzi		
TLR3		dsRNA				
TLR4	LPS				(Mouse TLR4), Taxol	Hsp60, Hsp70?, Hyaluronic Acid? Heparan Sulfate? Fibrinogen?
TLR5	Flagellin					
TLR7		ssRNA			Imidazoquinolines (Mouse TLR7), Loxoribine	
TLR8		ssRNA			(Human TLR8) Imidazoquinolines	
TLR9	Bacterial CpG	Viral CpG				
TLR10	Unknown ligand(s)					
TLR11	(Mouse TLR11) Uropathogenic Bacteria			(Mouse TLR11) T. gondii profilin, apicomplexan profilins?		
TLR12	Unknown ligand(s)					
TLR13	Unknown ligand(s)					

Figure récapitulative des TLR humains et de leurs activateurs

On remarque l'activation par de l'ARN bactérien ou viral, des trois TLR (3/7/8) cités précédemment dans l'auto-immunité anti-U1-RNP [6], [8]

b. Initiation par modifications structurales

Des modifications structurales lors de l'apoptose de l'U1-RNP, en particulier la protéine 70kDa suite à son clivage est une source de nouveaux épitopes immunogènes.

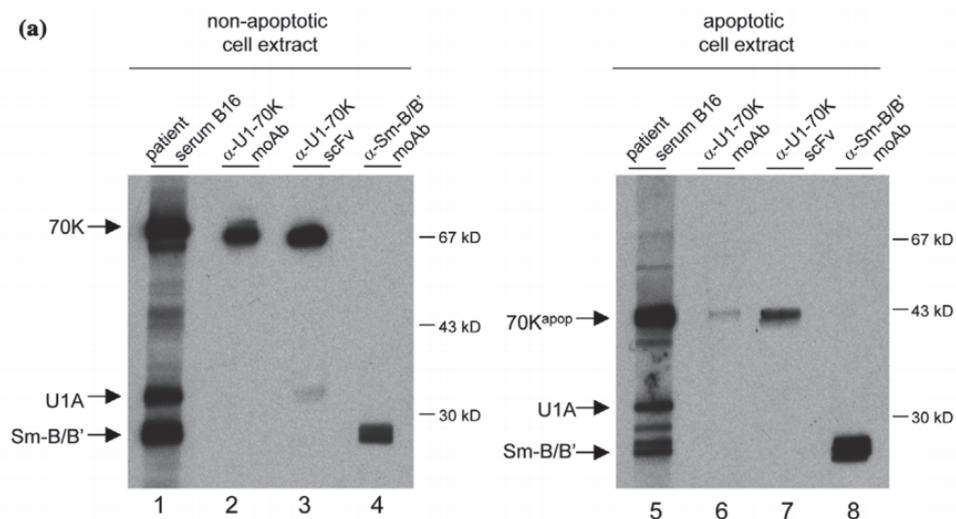
Des études ont montrés que les auto-Ac anti-U1-RNP reconnaissent préférentiellement la forme apoptotique de la proteine 70kDa.

En effet, la protéine 70kDa est clivée du côté C-terminal en position 341 par la caspase-3.

Il en résulte une protéine tronquée de 40kDa, qui reste attachée au complexe U1-RNP.

Le clivage de l'U1-RNP-70kDa abolit sa fonction pendant les processus d'épissage en tant qu'amplificateur de l'interaction entre l'U1-RNP et le site d'épissage 5' d'un exon.

Des phosphorylations, déphosphorylations, citrullinations, méthylation et l'action de transglutaminase sont aussi décrites.[43], [55], [56]



[55]

Figure d'immunoblot comparant l'U1-RNP de cellules apoptotics et non apoptotiques

Tout cela suggère donc que le complexe U1-RNP lui-même est capable de déclencher une réponse immunitaire, une production d'auto-anticorps directement contre certains composants du spliceosome et une activation des lymphocytes B et T.

Figure récapitulative des modifications auto-antigéniques de l'U1-RNP

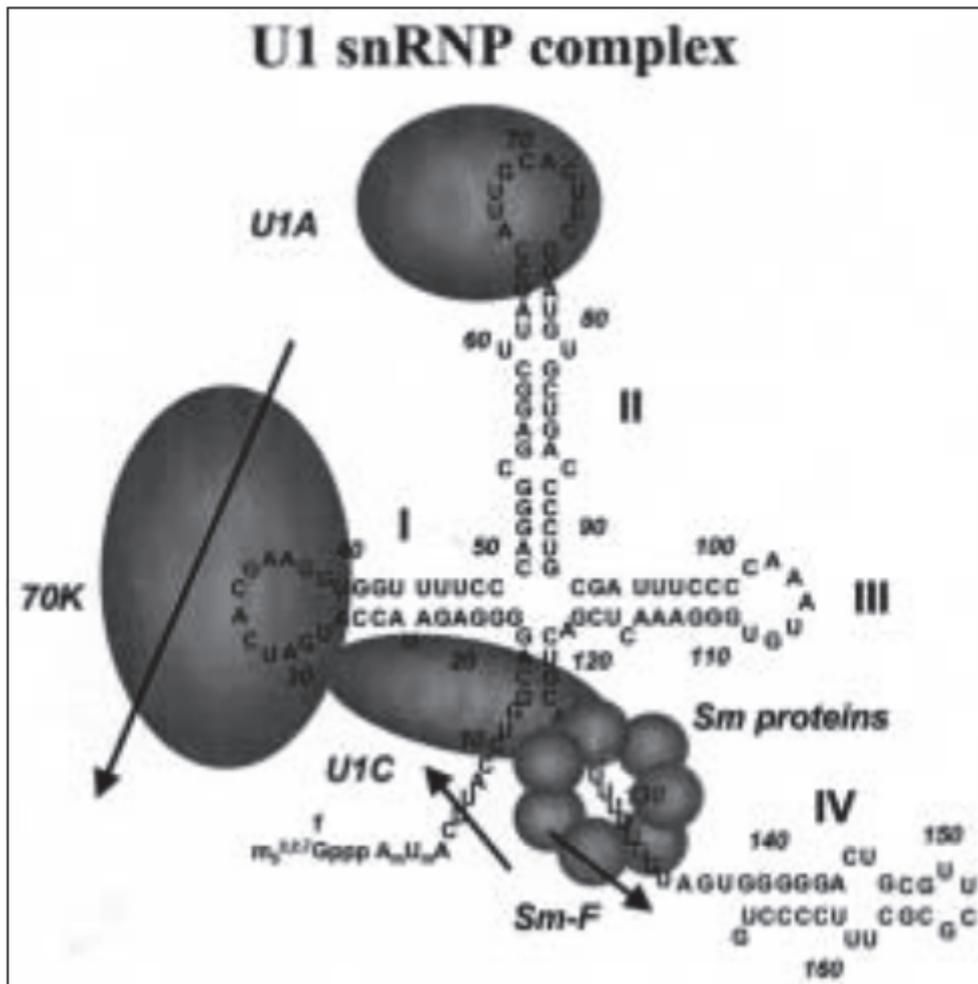


Figure 1. Modifications of the autoantigenic U1 snRNP complex during apoptosis. During apoptosis the U1-70K protein is cleaved by caspase-3 into a 40 kDa fragment that remains associated with the U1 snRNP complex. The U1 snRNA, which is the backbone of the U1 snRNP complex, is modified during apoptosis by specific removal of the first 5–6 nucleotides including the 2,2,7-trimethylguanosine cap. Furthermore, the Sm-F protein is proteolytically cleaved in apoptotic cells, generating a 9 kDa apoptotic fragment that also remains associated with the U snRNP complexes in apoptotic cells. All cleavages are indicated by arrows.

[57]

Figure récapitulative des modifications structurales de l'U1-RNP

c. Rôle des agents viraux pathogènes

En amont des modifications structurales, l'immunogénicité de l'U1-RNP peut faire suite aux agressions des agents viraux, avec production d'une certaine quantité de matériel apoptotique.

Par exemple, dans le cadre du syndrome de Sharp, l'EBV et le CMV, en raison d'une homologie de séquence entre les peptides du spliceosome et certains peptides viraux, peuvent induire des auto-Ac ayant une réactivité croisée avec des composants de l'U1-RNP.

L'EBV pourrait induire des auto-Ac contre l'U1-RNP-SmB, ce qui est cohérent, puisque les infections à EBV sont décrites dans les facteurs de risques de la pathologie principale à auto-Ac anti-Sm : le LES.

Le CMV pourrait, d'après une étude visant à établir l'immunogénicité d'une vaccination anti-CMV, induire des auto-Ac contre l'isoforme 70kDa de l'U1-RNP.

Ces anticorps disparaissent lorsque l'épisode viral est terminé mais pourraient jouer à distance un rôle dans le développement d'une auto-immunité anti-U1-RNP. [10], [58], [59]

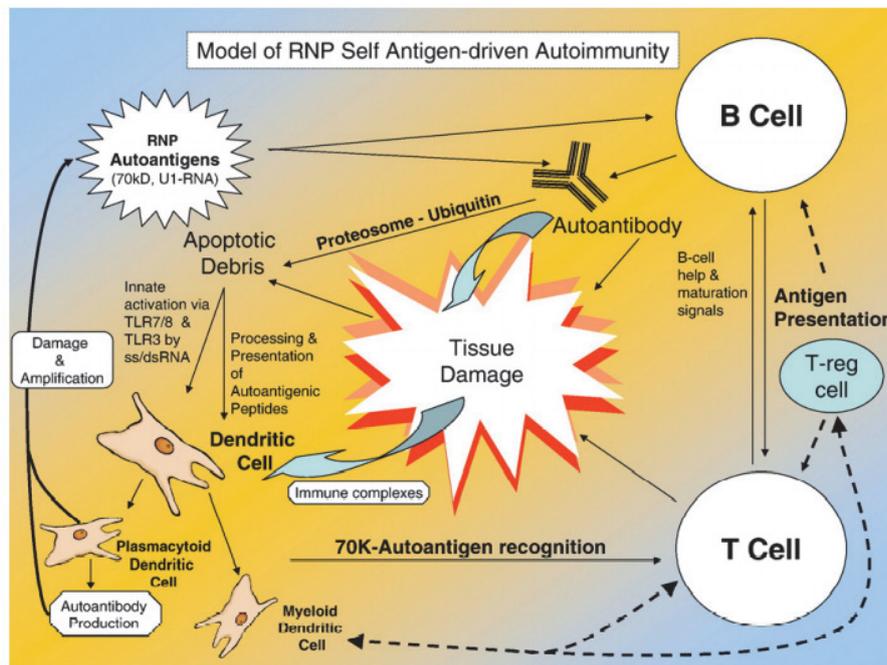


Figure 1 This figure illustrates a model of RNP self antigen-driven autoimmunity. In this model, self antigen (including 70kD and U1-RNA) which may have been structurally modified triggers both the innate and adaptive arms of the immune system and breaks immunologic tolerance. Activation of B cells and dendritic cells (DC) leads to autoantibody production. These cells can also serve as antigen-presenting cells (APC) which can activate T cells. Activated CD4+ T cells provide growth and differentiation factors as help to other B and T cells; activated CD8 T cells release granzyme and perforin and through tissue damage release additional modified autoantigens; and failure of T regulatory cells to control or suppress activated cells also contributes to disease and fails to prevent immune mediated tissue damage. Immune complexes containing double and single-stranded RNA fragments can also activate cells via innate immune signaling through TLR3 and TLR7/8, respectively; thereby contributing to further immune activation and amplification.

[7] *Figure récapitulative de l'immunogénicité de l'U1-RNP*

d. Cinétique d'apparition

Une étude parue en 2001 dans *Arthritis and Rheumatism* a montré que les auto-Ac anti-U1-RNP-70kDa seraient les premiers à apparaître chez la majorité des patients, lui donnant un rôle majeur dans l'initiation de l'auto-immunité, et plus particulièrement sa forme apoptotique, ou ses formes modifiées, avec par la suite, propagation d'épitope, et apparition d'auto-Ac dirigés contre les isoformes A et C.[57], [60]

De ce fait, il serait d'autant plus important de rechercher chez les patients, les isoformes des Ac anti-U1-RNP, notamment du 70kDa, permettant d'augmenter la sensibilité de détection, en particulier chez des sujets avec une maladie débutante.

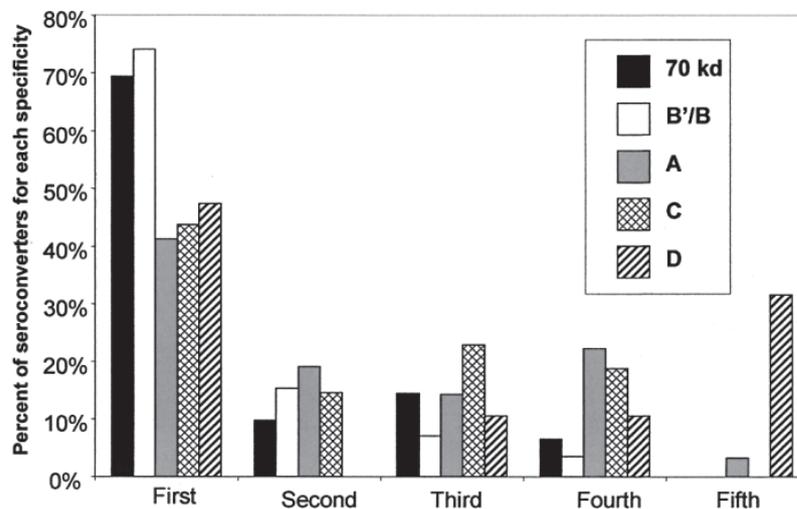


Figure 2. Order of appearance of antibodies to U1 RNP peptides in 163 witnessed seroconverters. The order in which seroconversion occurred was ranked from first through fifth for 70 kd, B'/B, A, C, and D. For each individual peptide, the number of patients in each rank group divided by the total number of seroconverters for that peptide is shown. The majority of 70 kd and B'/B seroconverters developed antibodies to these peptides before any other U1 RNP peptide antibodies emerged. Only antibodies to D frequently appeared fifth.

Figure représentant la cinétique d'apparition des isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP

V. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES ÉTUDES PORTANTS SUR LES ISOFORMES DES AUTO-AC ANTI-U1-RNP

1. Présentation

De nombreuses revues citent des études, parfois discordantes, sur le diagnostic différentiel du LES et du syndrome de Sharp (MCTD) grâce au dosage spécifique des isoformes des auto-Ac-anti-U1-RNP, à savoir 70kDa, A et C. Il est fréquemment retrouvé dans la littérature, un lien entre l'isoforme 70kDa dans le syndrome de Sharp, et les isoformes A et C avec le LES. Toutefois peu d'études, ont été réalisées en comparant la détection des auto-anticorps dirigés contre les trois isoformes. Certaines revues utilisent des données comme acquises pour le diagnostic différentiel du LES et du syndrome de Sharp.

Il est intéressant de noter que certains auteurs s'intéressent également à l'isotype de l'auto-Ac en question, à savoir s'il s'agit d'une IgM ou d'un IgG.

Dans ce chapitre, je résumerai sous forme de tableau les études établissant un lien entre les différents isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP dans le LES et le syndrome de Sharp ainsi que les isotypes des auto-Ac détectés.

Démarche :

J'ai effectué une recherche bibliographique la plus exhaustive possible sur PubMed, sans limite de date en utilisant de manière plus ou moins associée divers mots-clés.

Très peu d'études ont été réalisées, elles sont relativement anciennes, la majorité avant 2000. La méthodologie et les analyses de certaines sont difficilement compréhensibles et ne seront pas présentées.

Ainsi j'ai pu mettre en évidence huit études portant sur l'intérêt de la recherche des isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP et je n'en ai retenu que cinq pour les raisons que j'expliquerai.

J'ai ensuite trouvé deux études portant sur l'intérêt de la recherche des isotopes IgM et IgG des auto-Ac anti-U1-RNP, que je vais présenter.

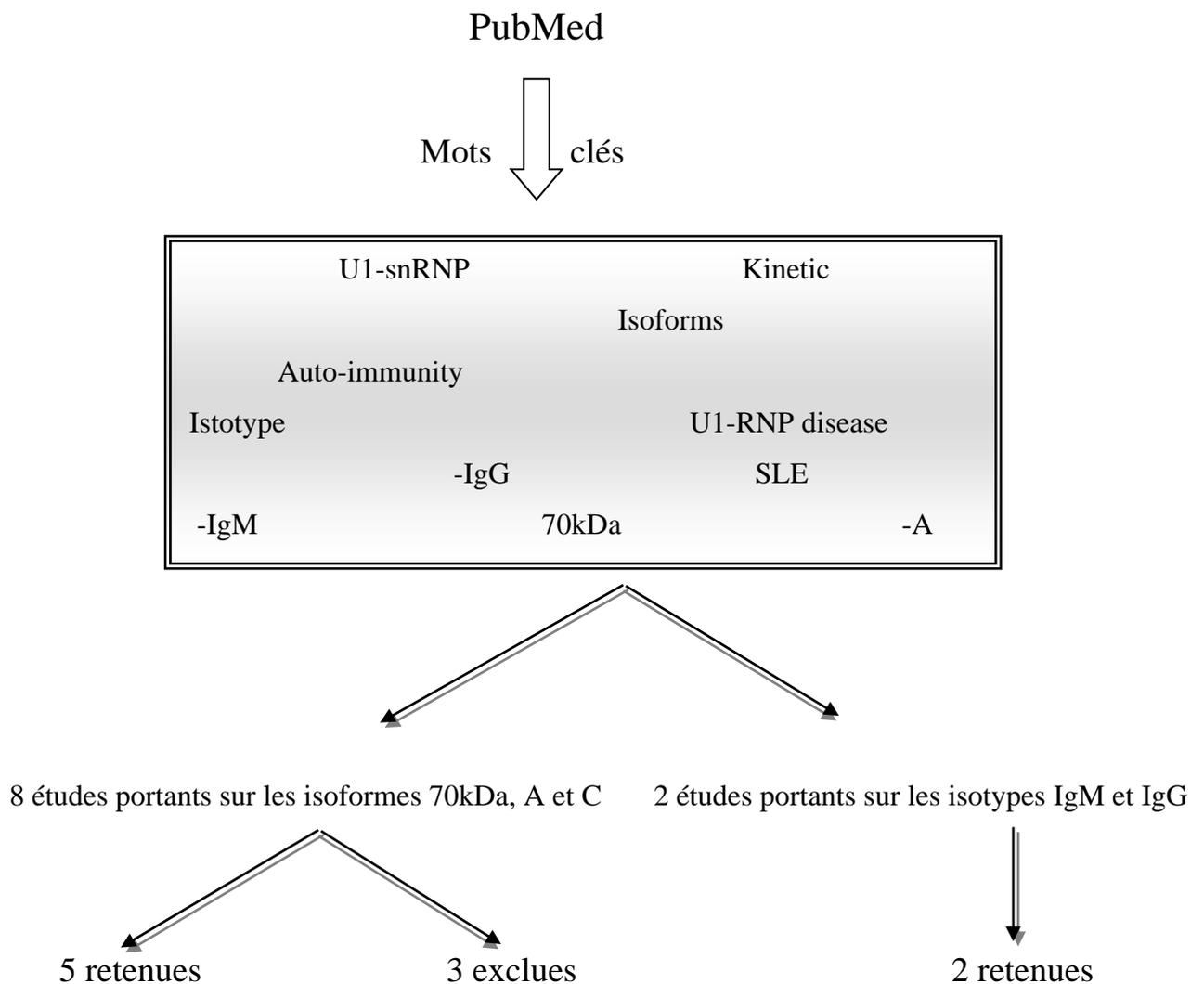


Schéma résumé de ma démarche de recherche des études bibliographiques sur les isoformes et isotopes des auto-Ac anti-U1-RNP

Etudes volontairement écartées :

-W.J.A Habets, *clin exp immunol*, 1989 [61] :

Les pathologies des populations étudiées ne sont pas clairement définies.

Il n'est pas possible dans cette étude ancienne, de déterminer les pourcentages de positivité envers les isoformes étudiés de l'U1-RNP pour un groupe de patient donné, les résultats portant sur des sérums, sans savoir le nombre de sérums étudiés par patient.

-D.J.R.A.M de Rooij, *Annals of Rheumatic diseases*, 1990 [62] :

Il s'agit d'une étude prospective, réalisée sur un petit échantillon (18 patients), tous diagnostiqués MCTD, avec dosage par méthode ELISA du titre des isoformes 70kDa et A, des auto-Ac anti-U1-RNP dans le temps.

Cette étude tente de déterminer une association quantitative entre la présence d'auto-Ac anti-U1-RNP et l'activité de la MCTD.

-J.A Somarelli, *Lupus*, 2011 [63] :

Cette étude utilise d'une part plusieurs sérums pour un même patient (MCTD et LES), ce qui fausse les pourcentages, et s'intéresse à différentes séquences d'acides aminés au sein des isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP, ce qui rend l'interprétation globale impossible d'une relation entre pathologie et présence d'un isoforme.

A. Etudes portant sur les isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP d'isotype IgG

Parmi les cinq études sélectionnées que je vais présenter sous forme de tableau récapitulatif :

- ➔ Une traite uniquement l'intérêt du dosage de l'isoforme 70kDa dans le LES et la MCTD
Par immunoblot [64]

- ➔ Quatre ont analysé les trois isoformes des auto-Ac-anti-U1-RNP dans le LES et la MCTD.
 - Deux par méthode ELISA [65]
 - Deux par immunoblot.[66], [67]

Tableau récapitulatif des études portant sur les isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP d'isotype IgG

Etudes	Echantillon	MCTD	LES	Conclusion
W.J Habets and al, <i>clin exp immunol</i> 1983 [64]	- 21 MCTD - 14 LES Analyse par immunoblot (anti-IgG)	-18 (86%) anti-U1-RNP 70 kDa	-3 (21,4%) anti-U1-RNP 70 kDa	Les auto-Ac anti-U1-RNP 70kDa sont fortement associés à la MCTD
BARAKAT and all, <i>clin exp immunology</i> 1991[66]	-13 MCTD -6 LES Analyse par immunoblot (anti-IgG)	➔13 anti-U1-RNP + : -12 (92%) anti-U1-RNP 70 kDa -8 (62%) anti-U1-RNP A -3 (23%) anti-U1-RNP C	➔6 LES anti-U1-RNP + : -6 (100%) anti-U1-RNP 70 kDa -5 (83%) anti-U1-RNP A - 2 (33%) anti-U1-RNP C	Aucune différence significative entre le groupe LES et MCTD pour les 3 isoformes.
H. Ihn and all, <i>Clin exp immunol</i> 1999 [67]	-18 MCTD -117 LES Analyse par Immunoblot (anti-IgG)	➔18 anti-U1-RNP + : -11 (61%) anti-U1-RNP 70kDa -11 (61%) anti-U1-RNP A - 4 (22%) anti-U1-RNP C	➔28 anti-U1-RNP+ : -8 (29%) anti-U1-RNP 70 kDa -25 (89%) anti-U1-RNP A -3 (11%) anti-U1-RNP C	Prévalence significative des auto-AC-anti-U1-RNP 70 kDa supérieur dans le groupe MCTD que LES Pas de distinction significative entre les isoformes A et C.
M Gaubitz and all, <i>Cell mol Biol</i> (2002) Article incomplet	66 RNP + : - ? MCTD - ? LES Analyse par ELISA (anti-IgG)	-18 anti-U1-RNP 70 kDa - 15 anti-U1-RNP A - 13 anti-U1-RNP C	-27 anti-U1-RNP 70kDa - 36 anti-U1-RNP A - 31 anti-U1-RNP C	La taille des échantillons n'est pas disponible. A priori, aucune différence significative entre le LES et la MCTD pour les isoformes 70 kDa, A et C.
W. Salmhofer and all, <i>European academy of dermatology venereology</i> , 2007 [65]	-10 MCTD - 51 LES Analyse par ELISA (anti-IgG)	➔10 anti-U1-RNP+ : -10 (100%) anti-U1-RNP A et C Réactivité à faible ou moyen titre -10 (100%) anti-U1-RNP 70 kDa 90% de réactivité à fort titre	➔15 anti-U1-RNP + : -13 (87%) anti-U1-RNP A et C Réactivité à faible ou moyen titre -15 (100%) anti-U1-RNP 70 kDa Réactivité à faible titre	La titre de l'auto-Ac-anti-U1-RNP 70kDa montre un intérêt pour différencier le groupe MCTD et LES. La recherche de la présence des isoformes A et C n'est pas utile.

B. Etudes portant sur les isotypes IgM et IgG des auto-Ac anti-U1-RNP

Seulement deux études portent sur le diagnostic différentiel du LES et du syndrome de Sharp, grâce à la détermination du profil isotypique des IgM ou IgG, par méthode ELISA des auto-Ac anti-U1-RNP chez ces patients.

Tableau récapitulatif des études portant sur les isotypes IgM et IgG des auto-Ac anti-U1-RNP

Etudes	Echantillon	MCTD	LES	Conclusion
P.G Vlachoyiannopoulos and all, <i>British journal of Rheumatology</i> , 1996 [68]	-35 MCTD -32 LES Analyse par ELISA	→35 anti-U1-RNP 70kDa+ : -35 (100%) d'isotype IgG -12 (34%) d'isotype IgM	→32 anti-U1-RNP 70kDa+ : -32 (100%) d'isotype IgG -21 (66%) d'isotype IgM	Isotype IgM de l'anti isoforme 70kDa de l'U1-RNP prédomine dans le groupe LES.
A. Mesa and all, <i>Lupus</i> , 2013 [69]	-41 MCTD -81 LES Analyse par ELISA	Les pourcentages de positivité ne sont pas clairement définis dans l'article	Les pourcentages de positivité ne sont pas clairement définis dans l'article	IgM anti-U1-RNP permet de différencier LES de MCTD à 71,3%, avec les isoformes A et C. L'isoforme 70kDa n'est pas retenue pour la différenciation.

L'étude de P.G. Vlachoyiannopoulos [68] semble se porter uniquement sur l'isoforme 70kDa de l'U1-RNP, ce qui est une limite à l'interprétation des résultats et possiblement un biais analytique, si l'hypothèse selon laquelle certains isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP sont retrouvés préférentiellement dans certaines MAI est vraie.

L'étude de A. Mesa [69], semble aller au-delà d'une pratique d'analyse biologique de routine envisageable puisqu'ils ont étudié différentes régions peptidiques des isoformes de l'U1-RNP, avec des résultats discordants selon les peptides d'un même isoforme. Il s'agit en effet de la même équipe de recherche que dans l'étude de J.A Somarelli, *Lupus* de 2011 [63] portant sur les isoformes, que j'ai exclue pour la même raison.

2. Résultats

Toutes les études réalisées, sauf une, sont en faveur de l'intérêt de la recherche spécifique de l'isoforme 70 kDa des auto-Ac de l'U1-RNP pour le diagnostic du syndrome de Sharp en comparaison du LES, par sa prévalence plus importante, ou, par son titre plus élevé dans le MCTD.

Concernant les isoformes A et C des auto-Ac anti-U1-RNP, il n'y a pas de distinction entre leur présence dans le groupe LES et le groupe MCTD.

On retrouve cependant dans une étude, un intérêt à leur quantification, ces derniers seraient retrouvés à plus fort titre dans le LES.

Seulement une étude concerne la cinétique d'apparition des isoformes des auto-Ac anti-U1-RNP, avec l'isoforme 70kDa qui serait le premier à apparaître chez la majorité des patients.[57], [60]

Seulement deux études ont évalué l'intérêt de la recherche des isotypes IgM et IgG des auto-Ac anti-U1-RNP ainsi que de ses isoformes pour un diagnostic différentiel entre le LES et le MCTD.

Il est primordial de noter la discordance entre les deux études concernant la capacité de différenciation de ses MAI grâce au dosage de l'isoforme 70kDa.

En effet, P.G Vlachoyiannopoulos, [68] conclut que l'isotype IgM de l'anti isoforme 70kDa de l'U1-RNP prédomine dans le groupe LES en comparaison du groupe MCTD, conclusion non retenue dans l'étude de A. Mesa [69], qui cependant, atteste de la capacité des IgM anti-U1-RNP-A et C à différencier le LES de la MCTD à 71,3%.

L'étude de A. Mesa [69] n'est pas applicable au dosage biologique de routine en laboratoire puisqu'elle va encore plus loin en étudiant les différentes séquences peptidiques des isoformes de l'U1-RNP, bien qu'une conclusion globale soit rendue concernant les isoformes A et C.

VI. DISCUSSION/CONCLUSIONS

Le dosage de routine en laboratoire des auto-Ac anti-U1-RNP porte sur la reconnaissance d'un mélange antigénique comprenant les 3 isoformes de l'U1-RNP : 70 kDa, A et C, mais serait-il possible d'améliorer leur exploration, notamment en cherchant de manière spécifique les isoformes 70 kDa, A et C pour faciliter le diagnostic différentiel entre le LES et le syndrome de Sharp, ou les autres MAI NSO à auto-Ac anti-U1-RNP positives ?

Pour répondre à cela, j'ai cherché s'il existe des différences structurales ou fonctionnelles entre les isoformes et dans quels contextes cliniques elles sont décrites.

A. Comment sont générés les auto-anticorps anti-U1-RNP

Comme vu précédemment, l'épissage est la fonction clef de l'U1-RNP, mais a aussi de nombreux rôles dans l'expression des gènes, à travers les polyadénylations et l'absence de clivages prématurés et joue donc un rôle central dans les événements transcriptionnels précoces.

Les preuves provenant de modèles animaux de maladie auto-immune indiquent que la progression de la maladie auto-immune avec auto-Ac anti-U1-RNP peut être due à l'activation et au recrutement de lymphocytes auto réactifs.

Le domaine de liaison à l'ARN de l'U1-RNP est élément central dans la production d'auto-Ac. Les CPA le présentent aux lymphocytes T, il y a activation des TLR, puis par propagation d'épitopes, il y a activation des lymphocytes B et production d'auto-anticorps.

Enfin, des modifications structurales lors de l'apoptose de l'U1-RNP, en particulier de la protéine 70 kDa, suite à son clivage, représente de nouveaux épitopes immunogènes disponibles pour les CPA.

La protéine 70 kDa particulièrement, engage les cellules immunitaires et leurs récepteurs dans des interactions complexes, qui peuvent entraîner cette auto-immunité généralisée avec inflammation et lésions tissulaires, chez des sujets prédisposés.

B. Cible et ses isoformes

Finalement, les isoformes de l'U1-RNP ne présentent pas de nombreuses différences structurales, malgré quelques différences fonctionnelles.

On retiendra une longueur plus importante de la protéine 70 kDa en comparaison aux protéines A et C et une capacité de fixation directe à l'ARN des protéines 70 kDa et A grâce à 2 motifs de reconnaissance d'ARN (RRM) que ne dispose pas la protéine C.

D'un point de vue fonctionnel, on notera la capacité de la protéine 70 kDa à se lier en premier au pré-ARN, permettant l'initiation de l'assemblage du spliceosome ainsi que sa capacité à stabiliser la protéine C au sein du cœur de l'ARN.

La protéine C est, elle, à priori indispensable à la formation du complexe E du spliceosome, qui correspond à sa première conformation transitoire.

La protéine A module l'initiation de la polyadénylation, rôle majeur de l'U1-RNP.

Enfin, les auto-Ac dirigés contre la protéine 70kDa pourraient apparaître plus précocement et ainsi présenteraient des taux plus importants. De ce fait, ils seraient donc plus rapidement et plus facilement détectables que les autres isoformes.

C. Perspective

Au vu de toutes ses données concernant les isoformes des auto-Ac-anti-U1-RNP, il pourrait y avoir un intérêt de leur dosage spécifique en pratique courante au laboratoire, pour faciliter le diagnostic différentiel entre LES, le syndrome de Sharp et les autres MAI NSO à auto-Ac anti-U1-RNP positives.

Les revues bibliographiques sont contradictoires, anciennes et s'appuient sur un petit nombre d'études, utilisant généralement peu de patients et des méthodes de dosages différentes, qui ont évoluées avec de nos jours une meilleure sensibilité et spécificité de détection.

Ce travail de bibliographie le plus exhaustif possible a montré qu'il y a encore des preuves à apporter sur ce sujet et laisse donc la place pour une nouvelle étude.

Il me semble donc utile de réaliser une étude biologique, qui fera l'objet de mon travail de mémoire, avec une cohorte la plus importante possible, ou je comparerai les deux méthodes (ELISA et immunoblot) de révélation des auto-Ac anti-U1-RNP et de ses isoformes : 70 kDa, A et C.

Je m'intéresserai également à la détermination de l'isotype IgM et IgG de chaque isoforme des auto-Ac anti-U1-RNP, pratique qui peut être également appliquée en dosage de routine avec nos techniques actuelles.

Cette nouvelle étude permettra peut-être de modifier l'analyse biologique en laboratoire de routine des auto-Ac anti-U1-RNP et pourrait-être une aide supplémentaire aux diagnostics des MAI NSO à auto-Ac anti-U1-RNP positive pour les cliniciens.

Références bibliographiques

- [1] « Maladies auto-immunes · Inserm, La science pour la santé », *Inserm*. <https://www.inserm.fr/dossier/maladies-auto-immunes/> (consulté le sept. 03, 2021).
- [2] « Item 116: Maladies auto-immunes », *COFER, collège français des enseignants en rhumatologie*. 2011 2010. [En ligne]. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/rhumatologie/enseignement/rhumato13/site/html/cours.pdf>
- [3] *Larousse médical*. [En ligne]. Disponible sur: https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/r%C3%A9ponse_immunitaire/15829
- [4] M. Simon, « Les réponses immunitaires », sept. 07, 2009. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.cours-pharmacie.com/immunologie/les-reponses-immunitaires.html>
- [5] N. Davoust-Nataf, « Les récepteurs de l'immunité innée (PRR) », Centre internationale de recherche en infectiologie, mars 01, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunitete-et-vaccination/thematiques/immunitete-innee-barrieres-naturelles-et-reaction-inflammatoire/declenchement-de-la-reponse-inflammatoire-role-des-recepteurs-de-l2019immunitete-innee>
- [6] A. Paradowska-Gorycka, « Review papers U1-RNP and Toll-like receptors in the pathogenesis of mixed connective tissue disease Part II. Endosomal TLRs and their biological significance in the pathogenesis of mixed connective tissue disease », *Reumatologia/Rheumatology*, vol. 3, p. 143- 151, 2015, doi: 10.5114/reum.2015.53136.
- [7] R. W. Hoffman et M. E. Maldonado, « Immune pathogenesis of Mixed Connective Tissue Disease: A short analytical review », *Clin. Immunol.*, vol. 128, n° 1, p. 8- 17, juill. 2008, doi: 10.1016/j.clim.2008.03.461.
- [8] R. W. Hoffman *et al.*, « U1 RNA induces innate immunity signaling », *Arthritis Rheum.*, vol. 50, n° 9, p. 2891- 2896, sept. 2004, doi: 10.1002/art.20428.
- [9] N. Sacchi, M. Castagnetta, V. Miotti, L. Garbarino, et A. Gallina, « High-resolution analysis of the HLA-A, -B, -C and -DRB1 alleles and national and regional haplotype frequencies based on 120 926 volunteers from the Italian Bone Marrow Donor Registry », *HLA*, vol. 94, n° 3, p. 285- 295, sept. 2019, doi: 10.1111/tan.13613.
- [10] M. M. Newkirk, W. J. van Venrooij, et G. S. Marshall, « Autoimmune response to U1 small nuclear ribonucleoprotein (U1 snRNP) associated with cytomegalovirus infection », vol. 3, n° 4, p. 6.
- [11] B. D. Poole *et al.*, « Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus », *Arthritis Rheum.*, vol. 60, n° 3, p. 848- 859, mars 2009, doi: 10.1002/art.24306.
- [12] « Secondary necrosis is a source of proteolytically modified forms of specific intracellular autoantigens: Implications for systemic autoimmunity », p. 11.
- [13] « Institut national de la santé et de la recherche médicale · Inserm, La science pour la santé ». <https://www.inserm.fr/> (consulté le sept. 03, 2021).
- [14] E. Benito-Garcia, P. H. Schur, et R. Lahita, « Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: Anti-Sm and anti-RNP antibody tests », *Arthritis Care Res.*, vol. 51, n° 6, p. 1030- 1044, 2004, doi: 10.1002/art.20836.
- [15] R. Gunnarsson, S. O. Hetlevik, V. Lilleby, et Ø. Molberg, « Mixed connective tissue disease », *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, vol. 30, n° 1, p. 95- 111, févr. 2016, doi: 10.1016/j.berh.2016.03.002.

- [16] O.-D. Ortega-Hernandez et Y. Shoenfeld, « Mixed connective tissue disease: An overview of clinical manifestations, diagnosis and treatment », *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, vol. 26, n° 1, p. 61- 72, févr. 2012, doi: 10.1016/j.berh.2012.01.009.
- [17] P. Ungprasert, C. S. Crowson, V. R. Chowdhary, F. C. Ernste, K. G. Moder, et E. L. Matteson, « Epidemiology of Mixed Connective Tissue Disease, 1985-2014: A Population-Based Study: Epidemiology of MCTD », *Arthritis Care Res.*, vol. 68, n° 12, p. 1843- 1848, déc. 2016, doi: 10.1002/acr.22872.
- [18] C. Tani *et al.*, « The diagnosis and classification of mixed connective tissue disease », *J. Autoimmun.*, vol. 48- 49, p. 46- 49, févr. 2014, doi: 10.1016/j.jaut.2014.01.008.
- [19] K. J. John *et al.*, « Clinical and Immunological Profile of Mixed Connective Tissue Disease and a Comparison of Four Diagnostic Criteria », *Int. J. Rheumatol.*, vol. 2020, p. 1-6, janv. 2020, doi: 10.1155/2020/9692030.
- [20] M. Kiriakidou et C. L. Ching, « Systemic Lupus Erythematosus », *Ann. Intern. Med.*, vol. 172, n° 11, p. ITC81-ITC96, juin 2020, doi: 10.7326/AITC202006020.
- [21] C. Francès, S. Barète, et J.-C. Piette, « Manifestations dermatologiques du lupus », *Rev. Médecine Interne*, vol. 29, n° 9, p. 701-709, sept. 2008, doi: 10.1016/j.revmed.2008.04.021.
- [22] H. B. Hannahs, « Antibodies to DNA », *N. Engl. J. Med.*, p. 10, 1998.
- [23] M. Aringer *et al.*, « 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus », *Arthritis Rheumatol.*, vol. 71, n° 9, p. 1400-1412, sept. 2019, doi: 10.1002/art.40930.
- [24] C. M. Black, « Scleroderma-clinical aspects », *J. Intern. Med.*, vol. 234, n° 2, p. 115-118, août 1993, doi: 10.1111/j.1365-2796.1993.tb00719.x.
- [25] C. P. Denton et D. Khanna, « Systemic sclerosis », *The Lancet*, vol. 390, n° 10103, p. 1685-1699, oct. 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(17)30933-9.
- [26] A. T. Masi et Subcommittee For Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee, « Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma) », *Arthritis Rheum.*, vol. 23, n° 5, p. 581-590, mai 1980, doi: 10.1002/art.1780230510.
- [27] V. D. Steen et T. A. Medsger, « Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma », p. 8.
- [28] J. A. Sparks, « Rheumatoid Arthritis », *Ann. Intern. Med.*, vol. 170, n° 1, p. ITC1, janv. 2019, doi: 10.7326/AITC201901010.
- [29] F. C. Arnett *et al.*, « The american rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis », *Arthritis Rheum.*, vol. 31, n° 3, p. 315-324, mars 1988, doi: 10.1002/art.1780310302.
- [30] helga Radner, « Performance of the 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis: a systematic literature review », *Ann. Rheum. Dis.*, vol. Volume 73, Issue 1, [En ligne]. Disponible sur: <https://ard.bmj.com/content/73/1/114.long>
- [31] A. R. Findlay, N. A. Goyal, et T. Mozaffar, « An overview of polymyositis and dermatomyositis: Inflammatory Myopathies », *Muscle Nerve*, vol. 51, n° 5, p. 638-656, mai 2015, doi: 10.1002/mus.24566.
- [32] H. Sasaki et H. Kohsaka, « Current diagnosis and treatment of polymyositis and dermatomyositis », *Mod. Rheumatol.*, vol. 28, n° 6, p. 913-921, nov. 2018, doi: 10.1080/14397595.2018.1467257.
- [33] anthony bohan, « Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts) », *N. Engl. J. Med.*, vol. 292, n° 7, p. 344, févr. 1975.
- [34] D. A. Liapi, A. Horisberger, et P. F. Spertini, « Syndrome de Sjögren : quand le suspecter et comment le confirmer ? », *Rev. Médicale Suisse*, p. 5, 2016.

- [35] A. Bordron, A. Charras, C. Le Dantec, et Y. Renaudineau, « Épigénome et syndrome de Gougerot-Sjögren », *Rev. Médecine Interne*, vol. 39, n° 5, p. 346-351, mai 2018, doi: 10.1016/j.revmed.2017.09.003.
- [36] C. H. Shiboski *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 », *Arthritis Rheumatol.*, vol. 69, n° 1, p. 35-45, janv. 2017, doi: 10.1002/art.39859.
- [37] charlotte Magdelaine, « Aspects des anticorps antinucléaires sur les cellules HEP-2 », *Rev. Francoph. Lab.*, n° 384, juill. 2006.
- [38] CHUV, *Nouveauté dans la détermination des auto-anticorps*. 2013. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.chuv.ch/fr/ial/ial-home/professionnels-de-la-sante/laboratoire-de-diagnostic/informations/autoimmunité/nouveauté-dans-la-détermination-des-auto-anticorps>
- [39] *lame Hep2 IFI*. [En ligne]. Disponible sur: immunocell.com
- [40] *Auto-immunité, Synlab, Hauts de France*.
- [41] D. A. Pomeranz Krummel, C. Oubridge, A. K. W. Leung, J. Li, et K. Nagai, « Crystal structure of human spliceosomal U1 snRNP at 5.5 Å resolution », *Nature*, vol. 458, n° 7237, p. 475-480, mars 2009, doi: 10.1038/nature07851.
- [42] Y. Kondo, C. Oubridge, A.-M. M. van Roon, et K. Nagai, « Crystal structure of human U1 snRNP, a small nuclear ribonucleoprotein particle, reveals the mechanism of 5' splice site recognition », *eLife*, vol. 4, p. e04986, janv. 2015, doi: 10.7554/eLife.04986.
- [43] W. G. J. Degen, M. Pieffers, E. Welin-Henriksson, et F. H. J. van, « Characterization of recombinant human autoantibody fragments directed toward the autoantigenic U1-70K protein », *Eur J Immunol*, p. 10.
- [44] N. H. Kattah, M. G. Kattah, et P. J. Utz, « The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases », *Immunol. Rev.*, vol. 233, n° 1, p. 126-145, janv. 2010, doi: 10.1111/j.0105-2896.2009.00863.x.
- [45] A. Kramer, « The Structure and Function of Proteins Involved in Mammalian Pre-mRNA Splicing », p. 43.
- [46] J. D. Larson et A. A. Hoskins, « Dynamics and consequences of spliceosome E complex formation », *Biochemistry and Chemical Biology, Structural Biology and Molecular Biophysics*, *elife*, août 22, 2017. [En ligne]. Disponible sur: <https://elifesciences.org/articles/27592#info>
- [47] A. I. Lamond, « The Spliceosome », *BioEssays*, vol. 15, n° 9, p. 595-603, sept. 1993, doi: 10.1002/bies.950150905.
- [48] C. L. Will et R. Luhrmann, « Spliceosome Structure and Function », *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 3, n° 7, p. a003707-a003707, juill. 2011, doi: 10.1101/cshperspect.a003707.
- [49] R. N. Singh et N. N. Singh, « A novel role of U1 snRNP: Splice site selection from a distance », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gene Regul. Mech.*, vol. 1862, n° 6, p. 634-642, juin 2019, doi: 10.1016/j.bbagr.2019.04.004.
- [50] D. Kaida *et al.*, « U1 snRNP protects pre-mRNAs from premature cleavage and polyadenylation », *Nature*, vol. 468, n° 7324, p. 664-668, déc. 2010, doi: 10.1038/nature09479.
- [51] W. J. Habets, J. H. M. Berden, S. O. Hoch, et W. J. van Venrooij, « Further characterization and subcellular localization of Sm and U1 ribonucleoprotein antigens », *Eur. J. Immunol.*, vol. 15, n° 10, p. 992-997, 1985, doi: 10.1002/eji.1830151006.

- [52] lee Spraggon et luca cartegni, « U1 snRNP-Dependent Suppression of Polyadenylation: Physiological Role and Therapeutic Opportunities in Cancer », *international journal of cell biology*, 10 2013. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/ijcb/2013/846510/e>
- [53] M. Edmonds et R. Abrams, « Polynucleotide Biosynthesis: Formation of a Sequence of Adenylate Units from Adenosine Triphosphate by an Enzyme from Thymus Nuclei », *J. Biol. Chem.*, vol. 235, n° 4, p. 1142-1149, avr. 1960, doi: 10.1016/S0021-9258(18)69494-3.
- [54] J. E. Darnell, R. Wall, et R. J. Tushinski, « An Adenylic Acid-Rich Sequence in Messenger RNA of HeLa Cells and Its Possible Relationship to Reiterated Sites in DNA », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 68, n° 6, p. 1321-1325, juin 1971, doi: 10.1073/pnas.68.6.1321.
- [55] E. L. Greidinger, L. Casciola-Rosen, S. M. Morris, R. W. Hoffman, et A. Rosen, « Autoantibody recognition of distinctly modified forms of the U1-70-kd antigen is associated with different clinical disease manifestations », p. 8.
- [56] E. L. Greidinger, M. F. Foecking, S. Ranatunga, et R. W. Hoffman, « Apoptotic U1-70 kd is antigenically distinct from the intact form of the U1-70-kd molecule », *Arthritis Rheum.*, vol. 46, n° 5, p. 1264-1269, mai 2002, doi: 10.1002/art.10211.
- [57] K. malmegrim, « The fate of the U1 snRNP autoantigen during apoptosis: implications for systemic autoimmunity », *reviews*, vol. 4, p. 706, sept. 2002.
- [58] M. T. McClain, L. D. Heinlen, G. J. Dennis, J. Roebuck, J. B. Harley, et J. A. James, « Early events in lupus humoral autoimmunity suggest initiation through molecular mimicry », *Nat. Med.*, vol. 11, n° 1, p. 85-89, janv. 2005, doi: 10.1038/nm1167.
- [59] H. A. E. Curtis, T. Singh, et M. M. Newkirk, « Recombinant cytomegalovirus glycoprotein gB (UL55) induces an autoantibody response to the U1-70 kDa small nuclear ribonucleoprotein », *Eur J Immunol*, p. 11.
- [60] E. L. Greidinger et R. W. Hoffman, « The Appearance of U1 RNP Antibody Specificities in Sequential Autoimmune Human Antisera Follows a Characteristic Order That Implicates the U1-70 kd and BJ/B Proteins as Predominant U1 RNP Immunogens », p. 8.
- [61] W. J. A. Habets, M. H. Hoet, et P. T. G. Sillekens, « Detection of autoantibodies in a quantitative immunoassay using recombinant ribonucleoprotein antigens », p. 6.
- [62] D. J. de Rooij, W. J. Habets, L. B. van de Putte, M. H. Hoet, A. L. Verbeek, et W. J. van Venrooij, « Use of recombinant RNP peptides 70K and A in an ELISA for measurement of antibodies in mixed connective tissue disease: a longitudinal follow up of 18 patients. », *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 49, n° 6, p. 391-395, juin 1990, doi: 10.1136/ard.49.6.391.
- [63] J. Somarelli *et al.*, « Epitope mapping of the U1 small nuclear ribonucleoprotein particle in patients with systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease », *Lupus*, vol. 20, n° 3, p. 274-289, mars 2011, doi: 10.1177/0961203310387180.
- [64] W. J. Habets, D. J. D. Rooij, et M. H. Salden, « Antibodies against distinct nuclear matrix proteins are characteristic for mixed connective tissue disease », p. 12.
- [65] W. Salmhofer, J. Hermann, M. Joch, H. Kerl, et W. Graninger, « High serum levels of antibodies against the recombinant 70 kDa ribonucleoprotein are useful for diagnosing mixed connective tissue disease: High RNP-70 antibody levels in MCTD », *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, vol. 21, n° 8, p. 1047-1053, sept. 2007, doi: 10.1111/j.1468-3083.2007.02163.x.
- [66] S. Barakat, J. P. Briand, N. Abuaf, M. H. V. Regenmortel, et S. Muller, « Mapping of epitopes on U1 snRNP polypeptide A with synthetic peptides and autoimmune sera »,

Clin. Exp. Immunol., vol. 86, n° 1, p. 71-78, juin 2008, doi: 10.1111/j.1365-2249.1991.tb05776.x.

- [67] Ihn *et al.*, « Distribution and antigen specificity of anti-U1RNP antibodies in patients with systemic sclerosis: Antigen specificity of anti-U1RNP antibodies », *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 117, n° 2, p. 383-387, août 1999, doi: 10.1046/j.1365-2249.1999.00961.x.
- [68] P. G. Vlachoyiannopoulos, A. Gualis, A. G. Tzioufas, et H. M. Moutsopoulos, « Predominance of IgM anti-U1RNP antibodies in patients with systemic lupus erythematosus », *Rheumatology*, vol. 35, n° 6, p. 534-541, 1996, doi: 10.1093/rheumatology/35.6.534.
- [69] A. Mesa *et al.*, « Differential immunoglobulin class-mediated responses to components of the U1 small nuclear ribonucleoprotein particle in systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease », *Lupus*, vol. 22, n° 13, p. 1371-1381, nov. 2013, doi: 10.1177/0961203313508444.

SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de
l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'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 l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ 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 d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.

Résumé

Les auto-anticorps (Ac) dirigés contre la RiboNucléoProtéine U1 (U1-RNP) font partie de la famille des auto-anticorps anti-nucléaires (AAN). Ils font partie des critères immunologiques indispensables au diagnostic du syndrome de Sharp ou connectivite mixte et sont fréquemment retrouvés dans d'autres MAI NSO tel que le lupus érythémateux disséminé. Leur cible, l'U1-RNP, existe sous divers isoformes, en particulier l'U1-70 kDa, l'U1-A et l'U1-C. La recherche des auto-Ac anti-U1-RNP fait partie de l'exploration des AAN.

La cible des auto-Ac anti-U1-RNP recherchée en pratique courante est constituée par un mélange des trois isoformes. Le but de ce travail de thèse a été **de s'interroger sur l'intérêt d'une détection spécifique de chacun de ces isoformes en pratique de routine quotidienne.**

Après un rappel sur l'auto-immunité, une synthèse sur les différentes pathologies positives à auto-Ac anti-U1-RNP, sur la stratégie d'exploration des AAN et des auto-Ac anti-U1-RNP, nous avons détaillé la structure et les fonctions des U1-RNP (U1-70 kDa, U1-A et U1-C) ainsi que les études dans lesquelles les auto-Ac anti-U1-RNP dirigés contre les isoformes sont recherchés.

Notre recherche exhaustive sur le sujet montre une bibliographie ancienne, avec relativement peu d'études sur le sujet, malgré de nombreuses revues citant les quelques résultats publiés. Après analyse, ces résultats sont souvent discordants et sujets à critique.

Ainsi l'ensemble de ce travail démontre l'intérêt de réaliser une nouvelle étude sur les auto-Ac anti-U1-RNP avec une détection comparée des isoformes dans diverses pathologies auto-immunes et l'analyse des isotypes IgM et IgG de ses auto-Ac. Ce travail fera l'objet de mon travail de mémoire