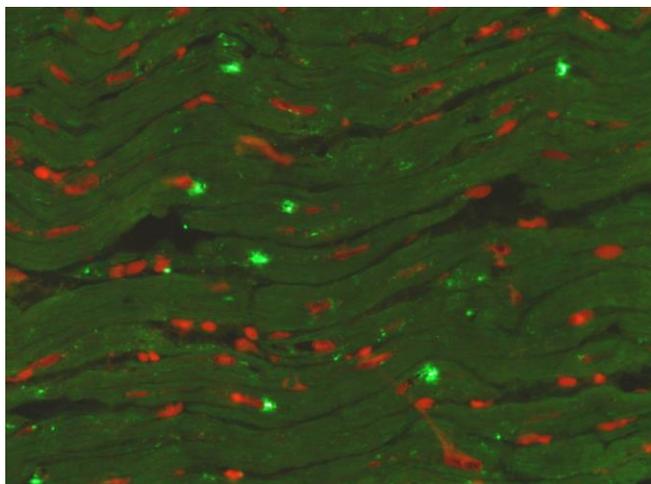


## Anticorps anti-cN1A

### Apport des anticorps anti- cN1A / Mup 44/ NT5C1A dans le diagnostic des Myosites à inclusion

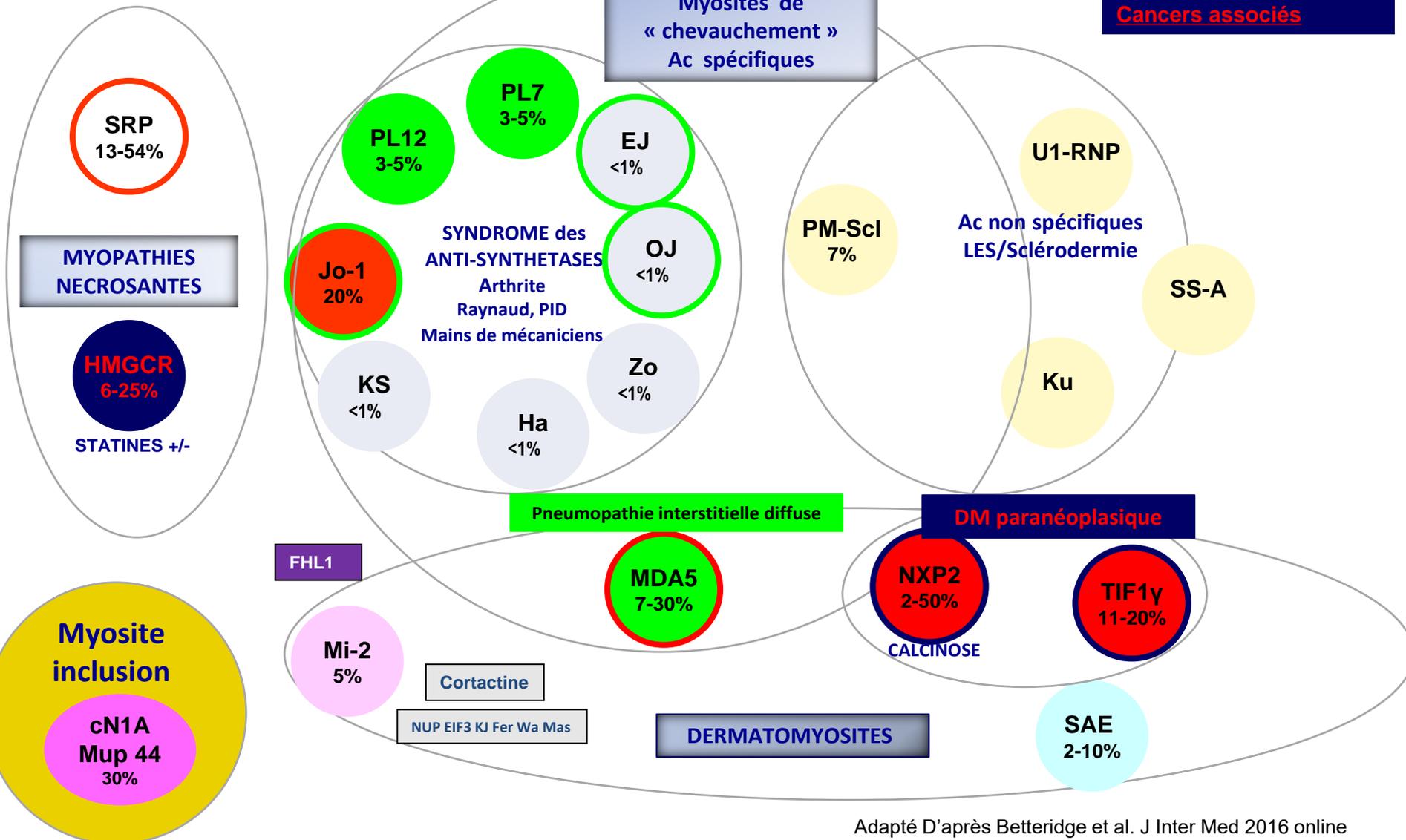


# Autoanticorps des myosites ou myopathies: Diagnostic et Pronostic

Marqueur de pronostic sévère

Atteinte pulmonaire

Cancers associés



# Myosites à inclusions

## *Sporadic inclusion body myositis : sIBM*

### Maladie inflammatoire dégénérative des muscles squelettiques

#### Epidémiologie

- **Apparition tardive : Patients > 50 ans**, myopathie acquise la plus fréquente à cet âge
- Prédominance **masculine** : 2:1
- Prévalence population générale:
- 10 à **36** /Millions **x3/population > 50 ans.**
- Formes **sporadiques** : **les plus fréquentes**
- très rares cas familiaux (myosite à inclusions familiale) /jumeaux, mode d'hérédité inconnu.
  
- 20-33% des patients présentent **une maladie auto-immune** ou **neurologique** systémique concomitante, association infections chroniques virales (HIV, HTLV-I, hépatite C)

# Critères de diagnostic clinique

*Lloyd T.E. et al. Neurology, 2014 : Etude des 24 classifications proposées*

**Griggs 1995 , Benveniste 2010, ENMC 2013...**

12 des 24 classifications:

Spécificité élevée ( $\geq 97\%$ )

Sensibilité variable (11-84%)

*European Neuromuscular Centre 2013: 84%*

**Diagnostic basé sur des critères cliniques et histologiques**

Aucune ne fait appel aux auto-anticorps

Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS)

Myosite à inclusions sporadique 09/2021:

dosage des anticorps anti-cN1A non disponible en routine!!

# Diagnostic clinique

- **Déficit et atrophie musculaire d'installation progressive**

Aréflexie

**Asymétrique**, proximal et distal d'emblée

\*Membres supérieurs : **fléchisseurs poignet et doigts**

biceps et triceps

\*Membres inférieurs : atteinte caractéristique précoce

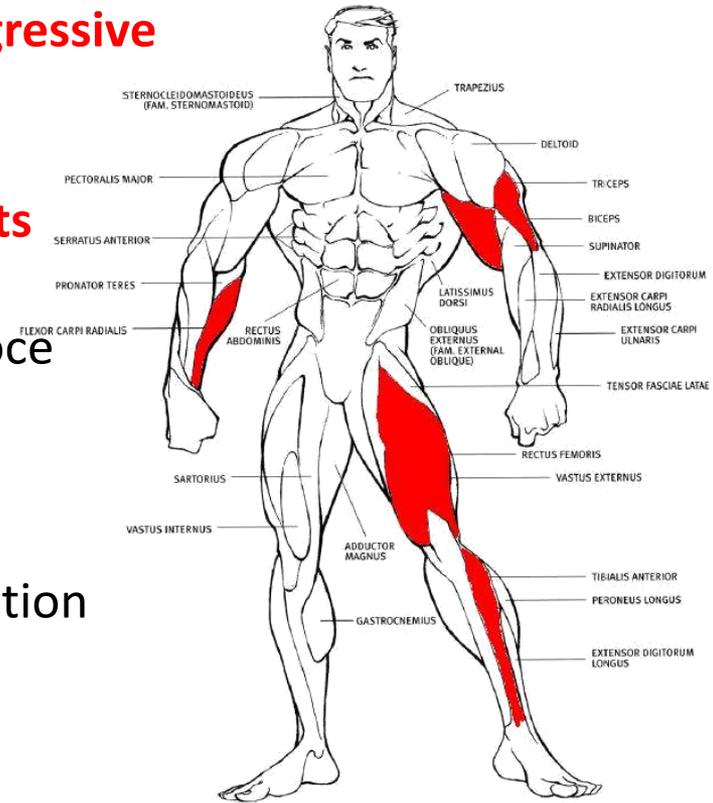
**tibial antérieur (steppage) et quadriceps**

- **Dysphagie** avec risque de pneumopathie d'inhalation

- Pas ou peu de manifestations extramusculaires

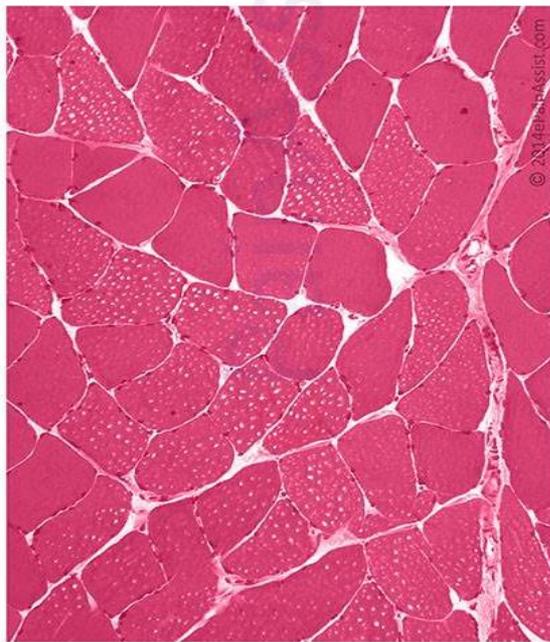
- **Diagnostic différentiel**

- certaines myosites
- arthrite ou maladie du motoneurone aux stades précoces de la maladie

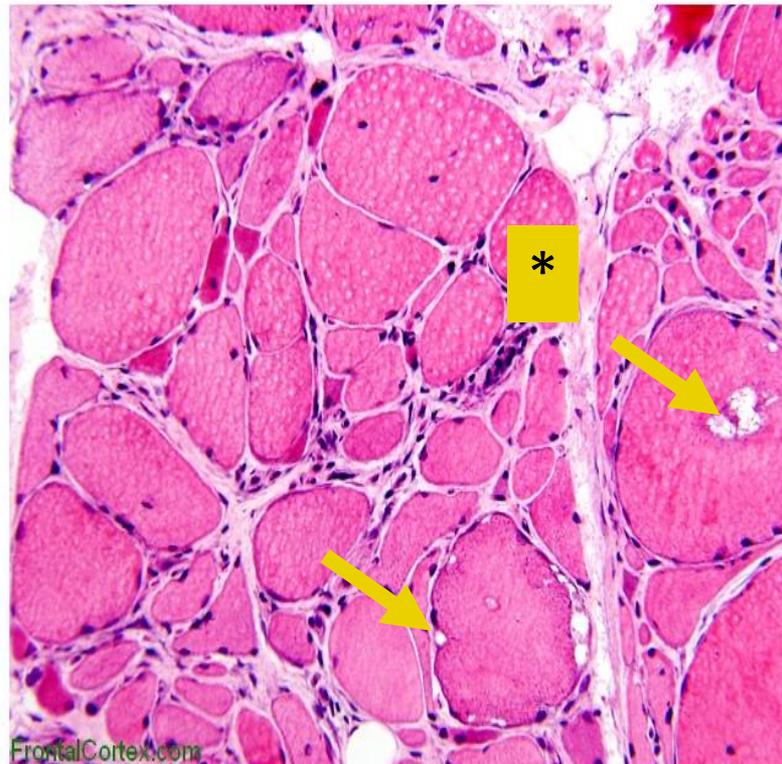


Diagnostic des IBM:

**Biopsie musculaire : gold standard**



Muscle sain



**Images de myodégénérescence** : inclusions : vacuoles « bordées » dans le cytoplasme des myocytes, / dépôts amyloïdes, agrégats

\* **Infiltrats inflammatoires** endomyosiaux: lymphocytes T CD8+, macrophages  
expression anormale des molécules HLA de classe I sur les myocytes

# Examens complémentaires

## Biologie

taux de CPK: le plus souvent modérément augmenté, inférieur à 1000 UI/L.

Taux sérique +++ Marqueurs amyloïdes dégénératifs: BACE, PS-1, protéine précurseur amyloïde soluble; sAPPb

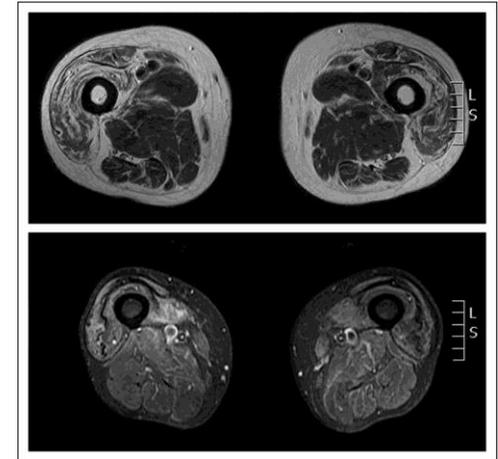
## Imagerie :

IRM permet de révéler les **changements caractéristiques de l'atteinte musculaire**

ceintures + musculature axiale + cuisses et mollets

définit la topographie de l'atteinte myopathique et son degré de sévérité

**aide au choix du site de la biopsie musculaire.**



## Electromyogramme :

Activités spontanées à type de fibrillations et d'ondes lentes positives

**Tracé de type myogène**

Important pour l'exclusion de diagnostics différentiels: atteintes neurogènes ou du motoneurone

## Myosites à inclusions **Etiologie?**

**Maladie autoimmune** : facteur déclenchant?

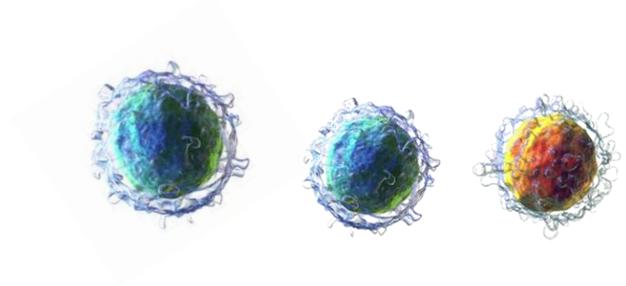
**Gènes de susceptibilité**: HLA DRB1\*0301 ou B8-DR3

**association à d'autres maladies autoimmunes**

**Maladie dégénérative**: facteur déclenchant?

**Accumulation de protéines de dégénérescence**, agrégats de protéines dans les fibres musculaires, dépôts amyloïdes conduisant à l'inflammation musculaire infiltrats inflammatoires, MHC I +++, Treg -, Cytotoxicité T CD8+ secondaires/fibres musculaires

**Résistance aux traitements immunosuppresseurs**



# Un nouveau marqueur biologique utile au diagnostic?: auto-anticorps anti- cN1A

## Protéine cible de 43-44 kDa/patients avec IBM : cN1A : 5' nucléotidase

*Autoantibodies against a 43 KDa muscle protein in inclusion body myositis. Salajegheh M, Lam T, Greenberg SA. PLoS One. 2011;*  
*Cytosolic 5'-Nucleotidase 1A autoimmunity in sporadic inclusion body myositis, H. Benjamin Larman, PhD et col.2013*  
*Autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in inclusion body myositis. Pluk H, van Hoeve BJ, et al., Pruijn GJ. Ann Neurol. 2013*

**5-nucléotidases** : Famille de 7 enzymes

**cN1A** Enzyme cytosolique **abondante dans les cellules musculaires squelettiques**

Hydrolyse groupes phosphate en position 5' des nucléotides= nucléosides  
régule les réserves de désoxynucléotides formés au cours de la dégradation des  
acides nucléiques

**Rôle dans la régulation du Métabolisme, réplication cellulaire**

- IBM : la myodégénérescence s'accompagne d'une **accumulation de cN1A** autour des vacuoles « bordées » et dans les zones périnucléaires, zones de dégradation des noyaux des myocytes

Production d'anticorps anti-cN1A?

# Techniques d'identification

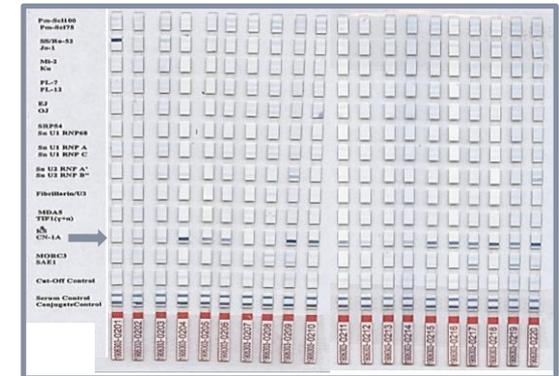
## \*Technique ELISA

Coating avec 2,5 microgrammes de cN-1A/mL cN1A recombinante protéine entière par E.coli RosettaBlue(DE3)pLacI (Novagen) puis purification par chromatographie (Qiagen, Hilden, Germany)

Euroimmun

## \*Technique de dot: Protéine entière recombinante E.Coli

ImmcoStripe Myositis Advanced Immunoassay, IMMCO diagnostic



## \*Technique de Westernblot

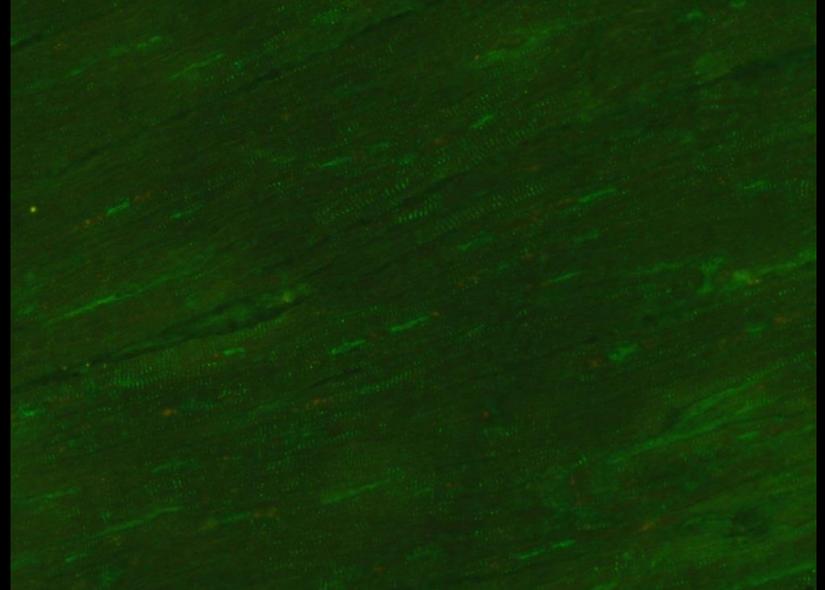
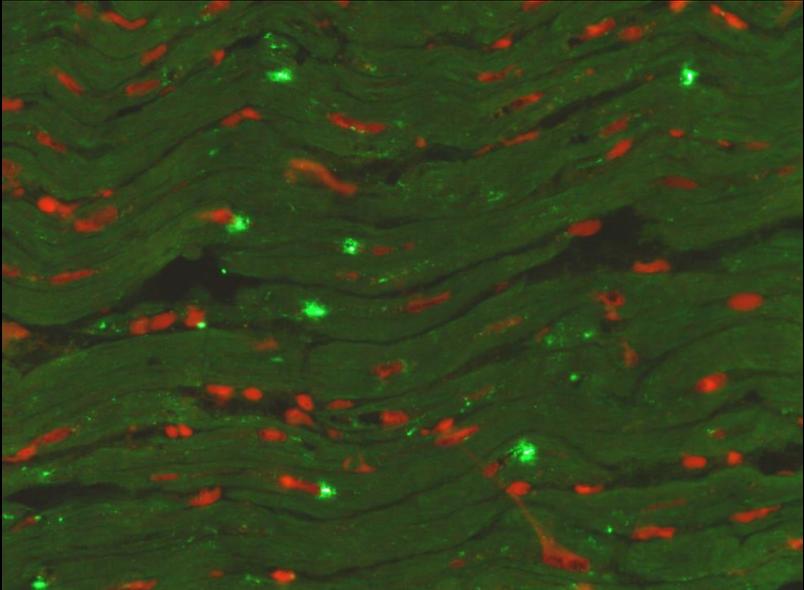
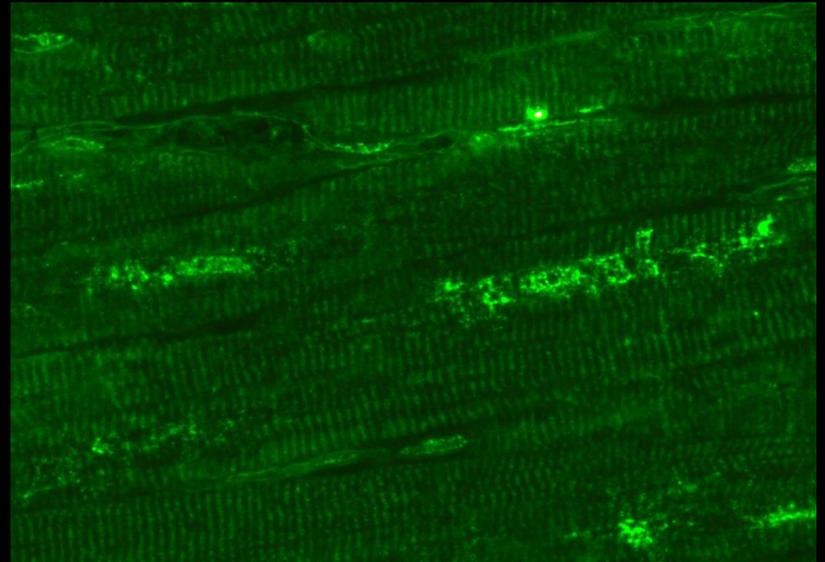
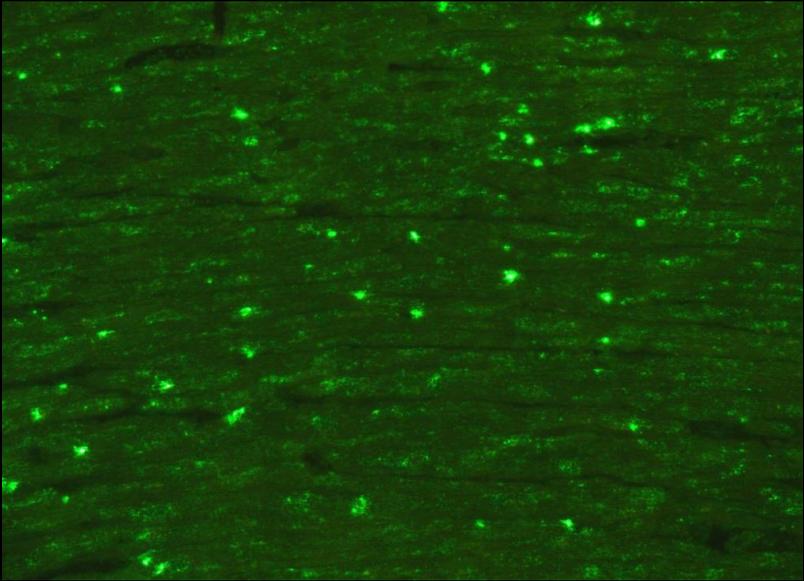
lysat musculaire ou HEK 293 transfectées cN1A rec entière

## \* Technique ALBIA: Protéine entière recombinante

## \*Technique d'IFI sur cellules transfectées (CBA) maison

## \*Technique d'IFI sur myocarde

# Recherche des anticorps anti-cN1A sur coupes de myocarde de singe par IFI



**Kramp SL, Karayev D, Shen G et al. Development and evaluation of a standardized ELISA for the determination of autoantibodies against cN-1A (Mup44, NT5C1A) in sporadic inclusion body myositis. Auto Immun Highlights 2016;7:16**

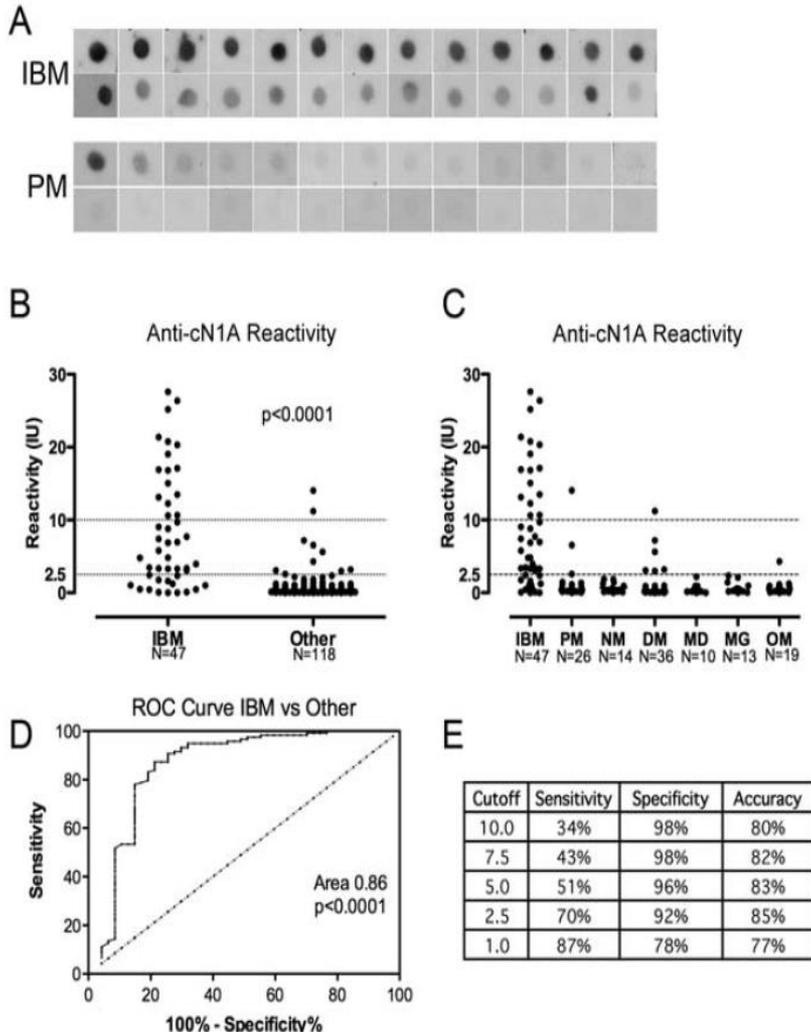
**286 Patients : 31 IBM / 255 contrôles dont 52 sujets sains**  
**ELISA cN-1A recombinante protéine entière**

**Table 1** Anti-cN-1A reactivity in sera from patients with sporadic inclusion body myositis, disease controls and healthy controls as determined by anti-cN-1A IgG ELISA at the RDL Reference Laboratory (Los Angeles, CA, USA)

Cohorts	Subgroups	n	Anti-cN-1A ELISA (IgG)			
			Positive	Negative	Sensitivity (CI 95%)	Specificity (CI 95%)
sIBM	Definite sIBM	17	8	9	47.1% (26.2–69.0%)	
	Suspected sIBM <sup>a</sup>	14	3	11	21.4% (6.8–48.3%)	
<b>Total sIBM</b>		<b>31</b>	<b>11</b>	<b>20</b>	<b>35.5% (21.1–53.1%)</b>	
Myositis controls	Polymyositis	7	0	7	100.0% (59.6–100.0%)	
	Dermatomyositis	4	0	4	100.0% (45.4–100.0%)	
	Unspecified myositis without sIBM <sup>b</sup>	94	4	90	95.7% (89.2–98.7%)	
	Muscle atrophy	1	0	1	100.0% (16.8–100.0%)	
	Myonecrosis	4	0	4	100.0% (45.4–100.0%)	
Other autoimmune disease controls	Systemic lupus erythematosus	33	2	31	93.9% (79.4–99.3%)	
	Scleroderma	20	2	18	90.0% (68.7–98.4%)	
	Sjögren's syndrome	20	0	20	100.0% (81.0–100.0%)	
	Rheumatoid arthritis	20	1	19	95.0% (74.6–100.0%)	
Healthy controls		52	1	51	98.1% (88.9–100.0%)	
<b>Total controls</b>		<b>255</b>	<b>10</b>	<b>245</b>	<b>96.1% (92.8–98.0%)</b>	

**Prévalence IBM : 47%**  
**Spécificité/ autres MAI: 90-100 %**

# Larman HB, Salajegheh M, Nazareno R, et al. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoimmunity in sporadic inclusion body myositis. Ann Neurol 2013;73:408-18



Dot maison : Protéine entière recombinante E.Coli

**47 IBM:** intensité dot  
*modérée*

sensibilité 70% spécificité: 92 %

**Élevée**

sensibilité **34%** spécificité: **98 %**

26 PM: 4%

14 NM:0%

36 DM:3%

13 myasthénie :0%

10 Dystrophie musculaire :0%

35 Sujets sains:0%

Reference	Prévalence en % (n patients avec MI )	Méthode	Prévalence dans les populations contrôles
Pluk et al. 2013	33 (n= 94)	Immunoprécipitation cN1a recombinante radiomarquée	DM: 4 % PM: 5 % TNM: 3% Contrôles sains: 0%
Larman et al. 2013	34 (n= 47)	Dot-blot maison cN1A recombinante	DM: 3% PM: 4% MNAI: 0% TNM : 0%
Greenberg. 2014	51 IgG (n= 50) 76 % IgG, IgM et/ou IgA	ELISA maison cN1A recombinante	/
Lloyd et al. 2016	61 (n= 117)	Immunoblot de lysats de cellules HEK293 transfectées avec cN1A	DM: 15% PM: 5% SjS: 23% LS: 14% Contrôles sains: 5 %
Herbert et al. 2016	37 (n= 238)	ELISA maison peptides synthétiques	DM/PM: 4% SjS: 36% LS: 20% TNM : 4%
Lilleker et al. 2017	33 (n= 311)	ELISA maison peptides synthétiques	/
Tawara et al. 2017	36 (n= 67)	Cell-based assay maison: IFI sur cellules transfectées cN1A	DM: 13% PM: 14% MNAI: 25% Autres myopathies: 5%
Amlani et al. 2019	49 (n= 43)	ALBIA cN1A recombinante	IIM: 10 % LS: 27% SjS: 0% SSc: 3 %
Janz et al. 2019	35 (n= 197)	Immunodot cN1A recombinante	DM/PM: 8% LS/SjS: 13% Contrôles sains: 2%
Ikenaga et al. 2021	64 (n= 249)	Immunoblot de lysats de cellules HEK293 transfectées avec cN1A	DM: 21% ASyS: 26% MNAI: 12 %
Paul et al. 2021	51 (n= 92)	ELISA cN1A recombinante	/

## Résumé études publiées: prévalence et spécificité

Technique	Prévalence en %	Spécificité en %
ELISA (protéine rec entière)	<b>36-39 (commercial)</b> 51-76	96
ELISA (peptides)	<b>33-37</b>	96
Dot (protéine rec entière)	<b>70 (taux faibles)</b>	92
Dot (protéine rec entière)	<b>34 (taux forts)</b> <b>35 (commercial)</b>	98 87-98
Western blot (extrait muscle)	<b>52</b>	<b>100</b>
Western blot (protéine rec entière)	<b>61-75</b>	<b>?</b>
Albia	<b>49</b>	<b>73-97</b>
RIP (protéine rec entière)	<b>33</b>	96
IFI cellules transfectées (CBA)	<b>36</b>	86

# Données cohortes du GEAI: technique ELISA

	n=	positifs	négatifs	Prévalence	Spécificité	Taux UA/mL (seuil 1)
Myosite à inclusion (IBM)	24	17	7	71%		1,5-4,3
Suspicion IBM	20	4	16	20%		1,1-4,2
Contrôles "myosite"	25	3	22	12%	88%	
DM+PM+SAS	9	1	8			3,6
Suspicion myosite	11	0	11			
Myopathie atrophiante	5	2	3			1,8-2,6

## Autres anticorps détectés dans les myosites à inclusion

Kramp SL, Karayev D, Shen G et al. Development and evaluation of a standardized ELISA for the determination of autoantibodies against cN-1A (Mup44, NT5C1A) in sporadic inclusion body myositis. Auto Immun Highlights 2016;7:16

**75 IBM dont 28 cN-1A positifs**

**TRIM 21: 14%**

**32%**

**EJ/OJ/JO1/PMSCL75-100/Mi2/TIF/PL7/PL12/SRP/Ku : 1-7%**

**« faux positifs? » = intensité dots non connus**

# Conclusion

Prévalence IBM: 33-71%

Spécificité: 64-86%

**Autres myosites: 85%**

Lupus: 80-86%

Goujerot-Sjögren: 64-77%  
signes cliniques différents

**Performances des méthodes de dosage commercialisées:  
ELISA / Dot /IFI CBA?**



Huffington.post

Claire Bluteau, Laure Gallay, Nathalie Streichenberger



Amélie, Annick, Chloé, David, Nadège, Frédéric, Geneviève, Gilles, Marie-Agnès, Raphaël, Sophie, Sophie, Virginie, Anaïs, Anne-Marie

