

# **Utilité des nouveaux marqueurs de la cholangite biliaire primitive**

**Dounia Khelifi-Touhami, E.Ballot, S.Choi**

**Laboratoire d'auto-immunité, Hôpital Saint-Antoine, UG2005,**

**Département d'immunologie biologique, DMU BIOGEN**

**Hôpitaux universitaires de l'est parisien,**

**APHP-Sorbonne Université**

# Anticorps actuels de la CBP

Recherche d'auto-Ac étape essentielle au diagnostic de la CBP

The diagram illustrates a liver cell with various organelles labeled: RE (réticulum endoplasmique), G (appareil de Golgi), and M (mitochondries). Three autoantibodies are shown binding to specific targets: AMA2 (anti-mitochondrie type 2) binding to a mitochondrion, gp210 (anti-membrane nucléaire) binding to the nuclear membrane, and sp100 (anti-sp100) binding to a protein in the nucleus. To the right, three immunofluorescence images show the distribution of these autoantibodies in liver tissue. The top image shows a dense, granular pattern of green fluorescence. The middle image shows a more organized, layered pattern of green fluorescence. The bottom image shows a pattern of green fluorescence with a 100 µm scale bar.

Ac anti-mitochondrie type 2  
AMA2 (Sp:>95% Se:90- 95% )

Ac anti-membrane nucléaire  
gp210 (Sp:>99% Se:25-30%)

Ac anti-sp100 (Se:20-30%)

G, appareil de Golgi  
M, mitochondries  
RE, réticulum endoplasmique

Anti-gp-210

Anti-sp100

# Nouveaux marqueurs immunologiques de la CBP

**AMA 2** → Diagnostic de la majeure partie des CBP

**Ac anti-gp210 et anti-sp100** → Rattrapent des patients AMA2 -

Mais restent encore des cas de CBP sans ces Ac (5-10%)

**2 nouveaux auto-Ag, identifiés par analyse protéomique**

**kelch-like 12**

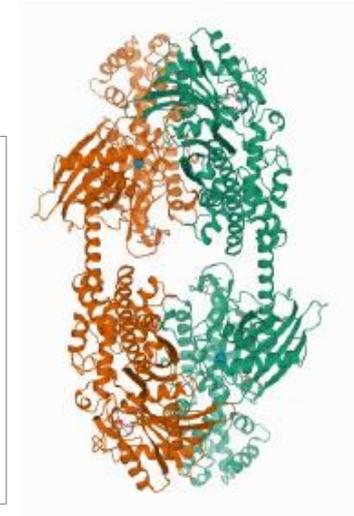
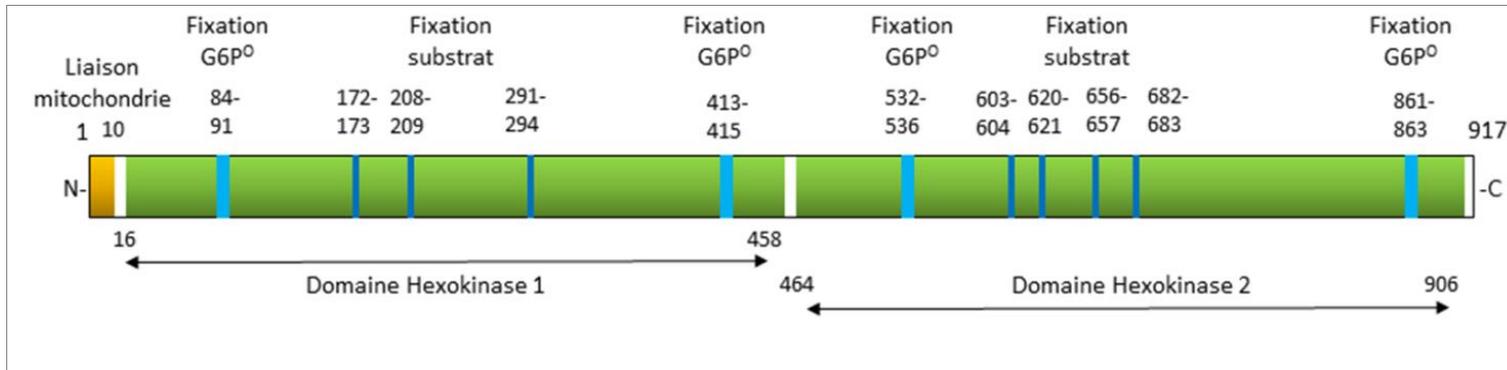
**Hexokinase 1**

Détectés dans la CBP séronégative

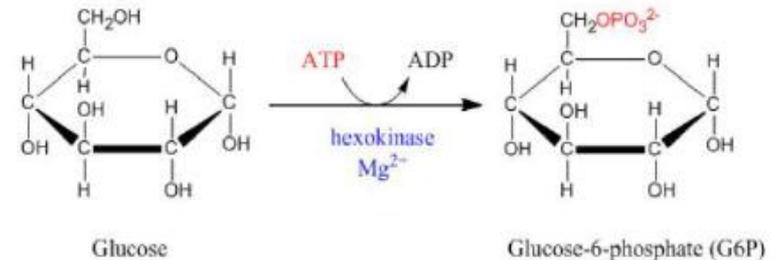
# Hexokinase 1: structure générale et fonctions

Enzyme dimérique, Deux domaines dans chaque monomère

**Localisation:** membrane externe de la mitochondrie et cytosol



**Principal fonction:** Métabolisme glucose



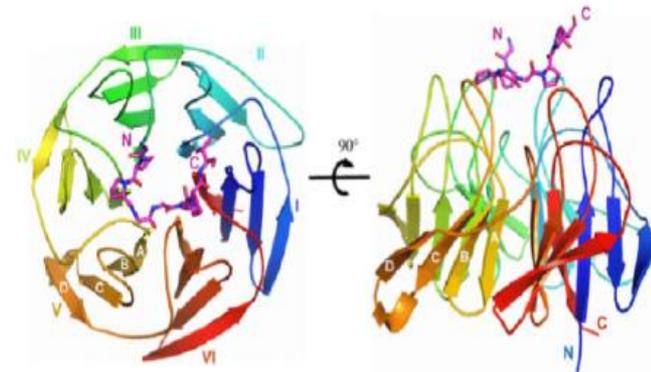
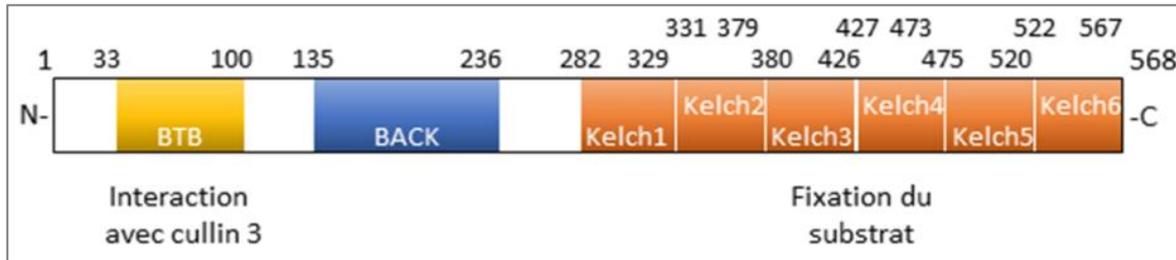
**Autres fonctions:**

- Maintiens de l'homéostasie mitochondriale: rôle anti-apoptotique
- HK1 et cancers: rôle anti-apoptotique + flux mitochondrial d'ATP
- PRR pour peptidoglycane: activation inflammasome via la voie NLRP3

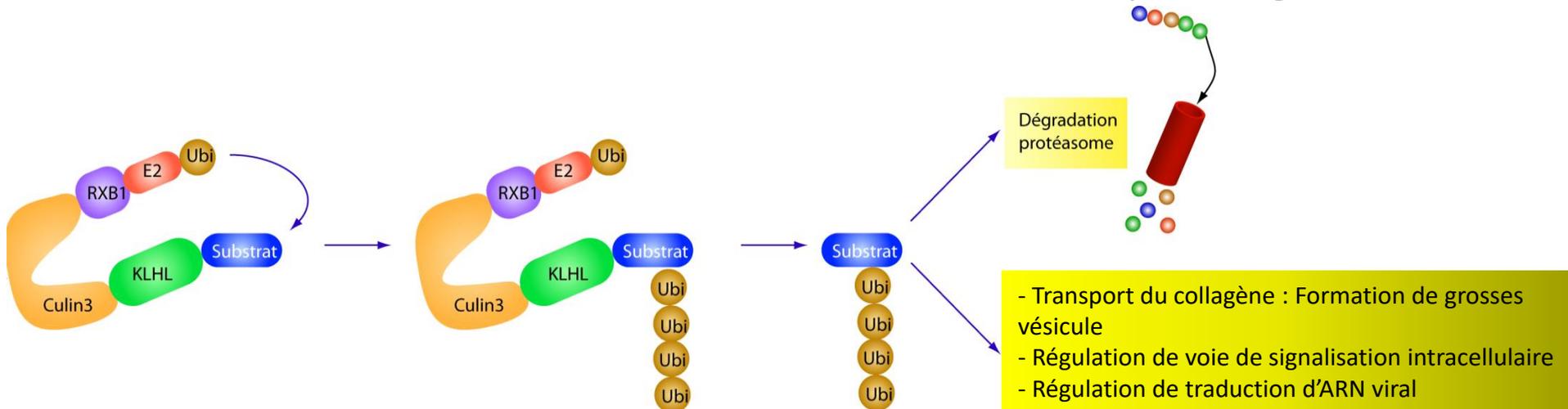
# Kelch-like protein 12: structure générale et fonctions

Super famille famille Kelch

**Localisation:** cytosol et RE



Intervient dans l'ubiquitination: protéine adaptatrice, se lie au complexe ubiquitine ligase cullin-3 et fixe le substrat → Fonctions très variées selon le substrat qui interagit avec KELCH



# Sensibilité et spécificité des Ac anti-HK1 et anti-KLHL12

		Norman et al. (2015)		Norman et al. (2019) (Multicentrique)	Liu ZY et al. (2020)	Nguyen et al (2018)
<b>Population</b>		Etats-Unis		Canada, Espagne, Pologne	Chine	Etats-Unis, Canada
<b>Technique</b>		Immunoblot	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
<b>Cohorte</b>		100 CBP	366 CBP	487 CBP	112 CBP	181 CBP 16 CBP/HAI OS
<b>% AMA2 -</b>		20%	24%	7% à 37%	24%	/
<b>Se</b>	<b>Anti-KLHL12</b>	16%	40%	KL-p 24 % (22 à 33%)	KL-p 37%	KL-p CBP: 23% CBP/HAI : 40%
	<b>Anti-HK1</b>	16%	45%	43 % (37- 52%)	42%	CBP: 44% CBP/HAI : 40%
<b>Sp</b>	<b>Anti-KLHL12</b>	96%	96%	95%	98%	/
	<b>Anti-HK1</b>	94%	97%	94%	93%	/

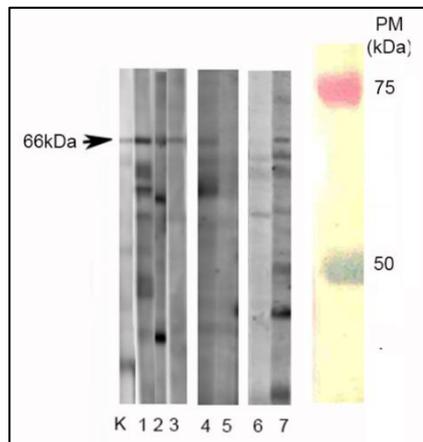
## Etude du laboratoire

Mise au point d'un test « home made »

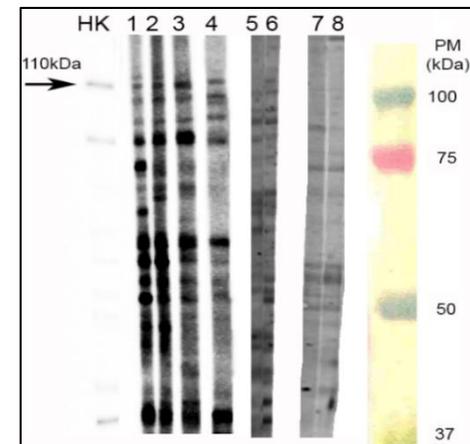
**36 sérums de patients CBP: 23 AMA2+ 13 AMA2-  
54 sérums de témoins malades (HAI, CSP, LES, Scs)  
40 sérums de témoins sains**

Immunoblots sur protéines de la fraction soluble de foie de rat séparées par SDS-PAGE

Ac anti-HK1 recherchés en plus par ELISA sur protéine recombinante humaine



**Exemple de réactivité anti-KLH12 sur immunoblots avec la fraction S.** Pistes 1, 2, 3: patients avec CBP. Pistes 4 et 5 sérums de témoins malades: LES et HAI. Pistes 6 et 7: sérums de témoins sains.



**Exemple de réactivité anti-HK sur immunoblots avec la fraction soluble de la cellule.** Pistes 1 à 4: patients avec CBP. Pistes 5 et 6: témoins malades HAI et LES. Pistes 7 et 8, sérums de témoins sains sans réactivité.

## Etude du laboratoire

Technique	Ac anti-KLH12	Ac anti-HK1	
	Immunoblot	Immunoblot	Elisa
Fréquence CBP (%)	8/36 (22%)	9/36 (25%)	11/36 (31%)
CBP AMA2+	6/23 (26%)	8/23 (35%)	10/23 (43%)
CBP AMA2 –	2/13 (15%)	1/13 (8%)	1/13 (8%)
Spécificité %	94 %	90,4 %	93 %

**Norman et al. (2015)**

→ CBP (16%) ✓  
- AMA2- (25%) ✗

**Norman et al. (2015)**

→ CBP (16%) ✓  
- AMA2- (10%) ✓

**Norman et al. (2015)**

**Norman et al. (2019)** ✓  
**Liu ZY et al. (2020)**



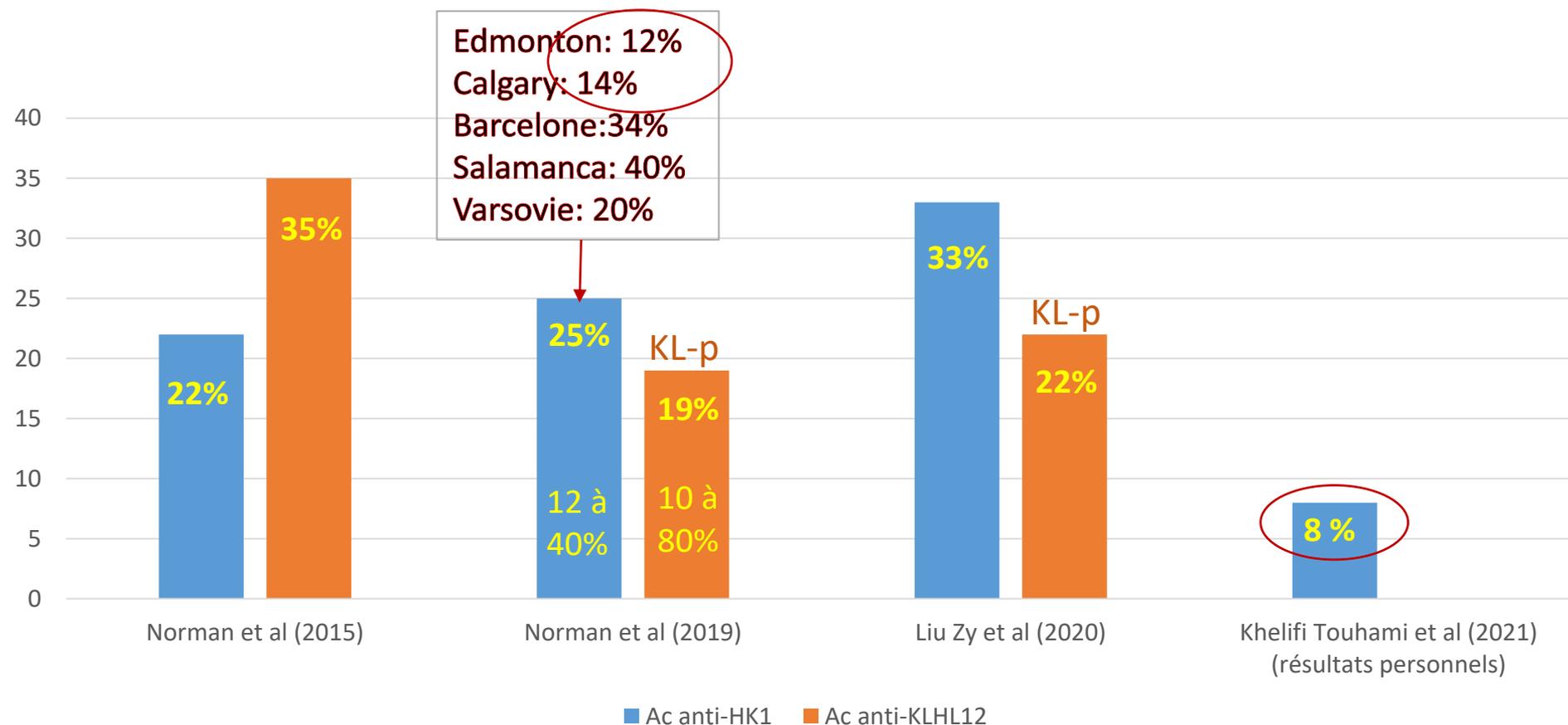
Différence de réactivité des Ac anti-HK1 en immunoblot Vs ELISA

→ Seuls 3 sérums sont + dans les deux techniques

Différences d'abord épitopiques ?

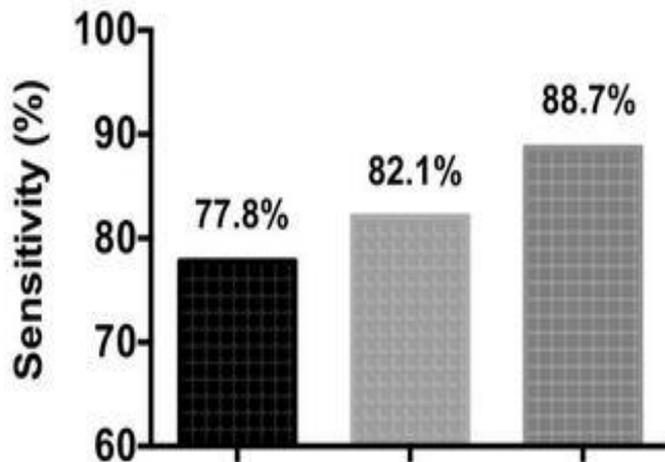
# Ac anti-HK1 et anti-KLHL12 en ELISA

## chez les patients AMA2 négatifs



## Intérêt des Ac anti-HK1 et anti-KLHL12 comme marqueurs additifs dans le diagnostic des CBP

All PBC  
(277 AMA pos, 89 AMA neg)



MIT3 ELISA	+	+	+
Gp210/Sp100 ELISA	-	+	+
KLHL12/HK1 ELISA	-	-	+

Selon Norman et al. (2019)

- Se AMA2 seuls : 85%
- Se AMA2 + anti KLHL-12/HK1 = 91%

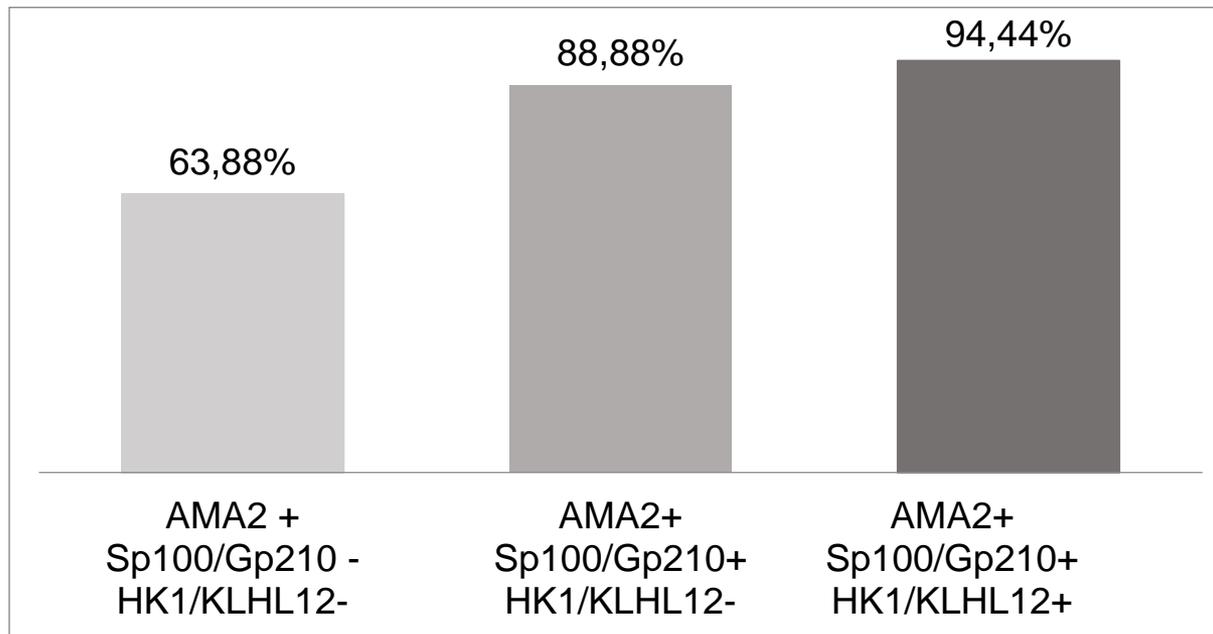
Selon Liu ZY. et al. (2020)

- Se AMA2 seuls : 76%
- Se AMA2 + anti KLHL-12/HK1 = 84%

D'après Norman et al. (2015)

## Intérêt des Ac anti-HK1 et anti-KLHL12 comme marqueurs additifs dans le diagnostic des CBP

Khelifi Touhami et al (2021) (résultats personnels)



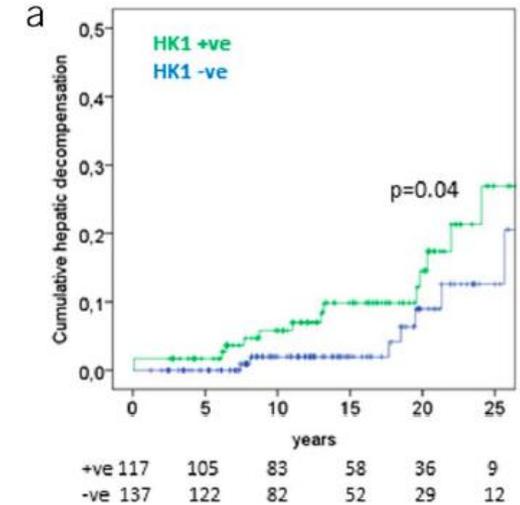
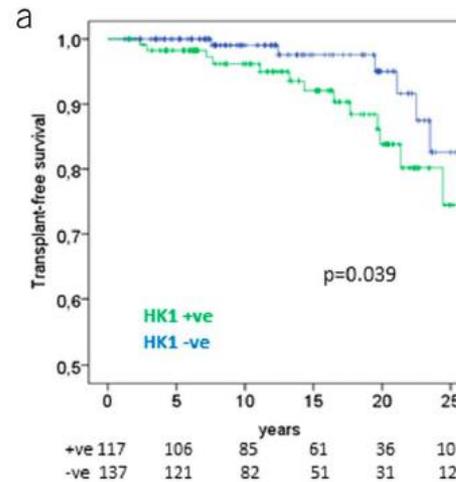
L'addition des sérologies anti-anti-HK1 et anti-KLH 12 en ELISA et blot permet d'avoir un marqueur de sérologie auto-immune pour 94.4% des CBP

# Ac anti-HK1 et anti-KLHL12 comme marqueurs de sévérité

Reig et al (2020)

Patients Ac anti-HK1 +

Taux de mortalité + Fréquence décompensation hépatique (ascite, HTTP, encéphalopathie hépatique) + importantes



Liu ZY et al (2020)

Table 5. Biochemical parameters of PBC patients with positive or negative for anti-HK1 and anti-KLHL12 antibodies

	Anti-HK1 and anti-KLHL12 <sup>-</sup> (n = 30)	Anti-HK1 or anti-KLHL12 <sup>+</sup> (n = 82)	Z/t	p-value
ALT (u/l)*	47.00 (38.17-101.85)	74.10 (47.47-128.50)	-1.786	0.074
AST (u/l) <sup>†</sup>	37.90 (27.20-52.45)	51.00 (38.10-105.65)	-2.126	0.034
ALP (u/l) <sup>‡</sup>	143.00 (137.50-167.90)	245.85 (187.65-342.83)	-4.533	< 0.001
γ-GT (u/l) <sup>§</sup>	68.15 (54.20-97.05)	132.70 (97.10-258.80)	-2.944	0.003
Bilirubin (μmol/l) <sup>  </sup>	31.60 (28.78-48.60)	68.30 (38.30-126.00)	-2.837	0.005
Albumin (g/l) <sup>¶</sup>	39.35 (36.70-46.90)	39.90 (36.60-44.33)	-0.230	0.818

## Conclusion

- Les Ac anti-HK1 et anti-KLHL12 sont très spécifiques de la CBP et pourraient représenter des marqueurs additionnels +++ dans les CBP séronégatives pour les AMA2
- Les Ac anti-HK1 sont décrits comme marqueurs de mauvais pronostic, mais reste à confirmer

MERCI DE VOTRE ATTENTION  
DES QUESTIONS?  
(PAS TROP DIFFICILES SVP)

