

La néphropathie à IgA

Historique de la découverte de la néphropathie à IgA

Les maladies à dépôt d'Ig sont caractérisées par une production anormale d'Ig qui se déposent dans certains tissus et provoquent leur dysfonctionnement. La néphropathie à IgA ou N-IgA est une maladie à dépôts d'IgA qui se localisent spécifiquement dans la partie appelée mésangium des glomérules du rein (Figure 13 page 47) ; c'est cette caractéristique qui a été à l'origine de sa découverte en 1968 par deux Français, l'anatomopathologiste J BERGER et la spécialiste de microscopie électronique N HINGLAIS (Berger, 1968, Feehally 2011). Il s'agit véritablement d'une découverte puisqu'en 1968, la seule classe d'Ig connue pour être impliquée dans des maladies rénales est l'IgG. En plus de sa publication dans le journal francophone « Journal d'Urologie et de Néphrologie », le travail est présenté la même année à l'oral lors du congrès de la Société Française de Néphrologie. Dans l'article intitulé « Les dépôts intercapillaires d'IgA-d'IgG », J BERGER et N HINGLAIS décrivaient la présence de dépôts d'IgA, parfois accompagnés de dépôts d'IgG, dans le mésangium glomérulaire dans un groupe de patients peu clairement définis. Ce travail était innovant aussi au niveau technique en associant la biopsie rénale développée en 1951, l'immunofluorescence, mise au point en 1950 et appliquée pour le diagnostic des maladies du tissu rénal en 1957, et un anticorps anti-IgA humaine nouvellement produit (Coons 1950, Iverson 1951, Mellors 1957). En 1969, un groupe plus important et mieux caractérisé de patients est étudié et les résultats sont publiés en 1969 (Berger 1969). Dans cette étude, les patients présentent une glomérulonéphrite focale avec protéinurie modérée et hématurie persistante ; pour un sujet ayant eu une transplantation rénale, la récurrence des dépôts d'IgA est observée. Jusqu'en 1972, seuls des français décrivent ces dépôts mésangiaux d'IgA, ce qui laisse penser qu'il pourrait s'agir d'une particularité d'une population. La communauté internationale de la néphrologie se montre sceptique et réticente à l'idée de considérer la description de dépôts mésangiaux d'IgA comme une entité clinico-pathologique distincte de glomérulonéphrite. L'opinion change à partir de 1972, où d'autres cas sont rapportés par d'autres équipes que celle de J BERGER et dans d'autres pays, en particulier en Australie, aux Etats-Unis, au Japon, aux Pays-Bas et au Royaume-Uni (Davies 1973, Maintz 1972, McEnery 1973, Ueda 1975, Woodroffe 1975). L'intérêt grandit pour cette nouvelle entité et, au cours de la décennie suivante, on compte plus de six cents publications qui s'y rapportent. D'ailleurs dès 1983, se mettent en place des symposia internationaux dédiés à la N-IgA. Ils réunissent les spécialistes du domaine (néphrologues, immunologistes, pathologistes, biochimistes, biologistes cellulaires, généticiens), et ont lieu tous les 2 à 4 ans dans divers pays. Un groupe informel baptisé « *IgA Nephropathy Club* » a été formé lors du deuxième symposium international qui a eu lieu à Bahri en Italie en 1987, dans l'objectif de mieux faire connaître l'importance clinique de la maladie et d'encourager la collaboration nationale et internationale dans la recherche clinique

et fondamentale. En 2000, ce club a connu des restructurations et a choisi de prendre le nom d'*International IgA Nephropathy Network* (IGANN) pour lui donner une image plus vaste et plus englobante. Le dernier symposium en date organisé par IGANN a eu lieu en septembre 2016, à Tours en France.

Par le passé, la N-IgA a été appelée maladie de Berger, glomérulonéphrite à dépôts intercapillaires d'IgA, néphropathie primitive à dépôts d'IgA et glomérulonéphrite à dépôts mésangiaux d'IgA-IgG (Pillebout 2016). Le terme consacré actuellement au niveau mondial est IgA Nephropathie ou IgAN ; en France il est encore appelé communément maladie de Berger et N-IgA.

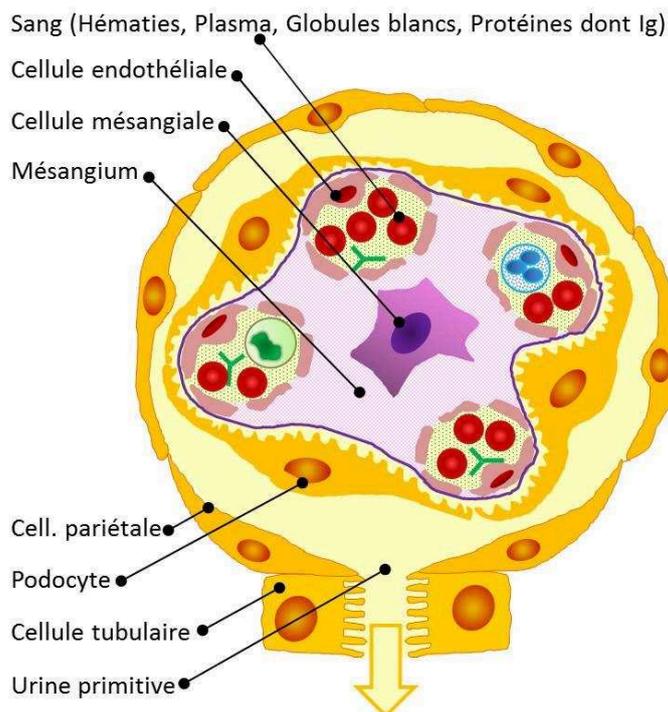


Figure 13 : Structure du glomérule.

III.2. Caractéristiques de la néphropathie à IgA

III.2.1. Épidémiologie

La N-IgA, qui toucherait globalement 1% de la population mondiale, est la glomérulonéphrite la plus répandue dans le monde, mais avec une fréquence qui est très variable en fonction des origines ethniques et géographiques (D'Amico 1987, Julian 1988a). En effet, sa prévalence est plus forte chez les asiatiques avec un pic observé au Japon et en Corée que chez les caucasiens et est très faible chez les noirs (Donadio, 2002). En Europe, un gradient est observé du Sud vers le Nord avec l'Islande qui présente la plus forte prévalence. Cette différence peut être expliquée par des facteurs génétiques et environnementaux mais elle a également été attribuée à la politique de dépistage des anomalies urinaires qui est différente d'une région à une autre et peut conduire à la révélation de la maladie.

Elle atteint plus fréquemment les hommes que les femmes, mais, là-encore avec une certaine variabilité en fonction des régions. Ainsi, le ratio homme : femme touché est environ de 2 : 1 au Japon et passe à 6 : 1 en Europe du Nord et aux Etats-Unis. Elle peut être diagnostiquée à tout âge, chez les enfants, les adultes et les personnes âgées de plus de 60 ans. Son diagnostic se fait cependant plus fréquemment chez les jeunes adultes âgés de 20 à 40 ans.

En France, environ 1500 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année ainsi que 500 nouvelles insuffisances rénales terminales liées à cette pathologie. En France comme en Allemagne, au Danemark, aux Etats-Unis, en Italie et aux Pays-Bas, l'incidence varie de 10 à 40 nouveaux cas par million d'habitants et par an. La prévalence de la maladie, exprimée en pourcentage de biopsies rénales, est de 29% en Asie, 12% en Australie, 10,7% en Europe et de moins de 5%-38% aux Etats-Unis. Aux Etats-Unis, une grande disparité est observée en fonction de la proportion des différentes ethnies : asiatiques, caucasiens, noirs mais également amérindiens (Donadio 2002, Pillebout 2016, Smith, 1985).

III.2.2. Manifestations cliniques

L'hématurie et la protéinurie sont les signes les plus fréquents de la maladie, mais la protéinurie n'est pas visible pour le malade et l'hématurie peut être microscopique et dans ce cas passer inaperçue ou au contraire elle peut-être macroscopique. Ainsi, la présentation clinique de la maladie est très variable : elle est d'ailleurs asymptomatique, dans environ un tiers des cas. La révélation de la maladie est alors faite de façon fortuite suite à la détection d'une hématurie microscopique et de protéinurie lors d'exams urinaires faits à titre systématique, qui, en France, sont réalisés dans le cadre de la médecine du travail, universitaire ou sportive et de surveillance de la grossesse, ou lors de recherche ou de suivi pour une autre pathologie, en particulier le purpura rhumatoïde qui peut s'accompagner d'une N-IgA. La N-IgA peut aussi être secondaire du lupus érythémateux, de la cirrhose hépatique, du myélome à IgA et est associée aux maladies du système digestif qu'il s'agisse de la maladie coeliaque ou des Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales (MICI), appelées également IBD (pour *Inflammatory Bowel Diseases*) et comprenant notamment la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique (Corica 2016, Papista 2011). En France, la détection d'une hématurie microscopique et d'une protéinurie, après avoir écarté différentes pathologies, peut conduire à une biopsie rénale qui est une condition nécessaire au diagnostic de la N-IgA. Au Japon, la recherche d'anomalies urinaires se fait obligatoirement chez tous les enfants scolarisés et chez tous les salariés (Kitagawa 1988) et la biopsie rénale est faite presque systématiquement lorsqu'une hématurie microscopique est décelée. En revanche, au Canada, aux Etats-Unis et au Royaume-Uni, la biopsie rénale n'est pas pratiquée chez les personnes présentant une hématurie isolée et une protéinurie modérée mais est réservé aux patients présentant une augmentation de la protéinurie et un développement de l'aggravation de la fonction rénale (Donadio 2002).

Dans d'autres cas, la découverte de la maladie n'est pas faite fortuitement, mais elle est diagnostiquée suite à l'apparition d'une hématurie macroscopique, souvent contemporaines d'infections des voies aériennes ou digestives ou du tractus uro-génital (Mestecky 2013). L'hématurie macroscopique apparaît dans un délai relativement court, de 1 à 3 jours, suite à l'infection, ce qui est un signe évocateur de la N-IgA. L'hématurie peut durer de quelques heures à quelques jours voire plus longtemps. Elle peut également apparaître suite à un effort physique, souvent fait lors d'une activité sportive.

Enfin, le sujet atteint de la N-IgA peut présenter des signes cliniques peu spécifiques qui l'inquiètent comme la fatigue chronique ou l'hypertension artérielle. Ces signes sont ceux de toutes maladies des reins lorsque la fonction rénale est fortement altérée. Lorsqu'ils sont présents, les symptômes de la N-IgA (hématurie macroscopique, fatigue...) peuvent être le résultat d'une perte brutale ou très progressive sur plusieurs années de la fonction rénale. Il est donc difficile de dater le début de la maladie.

L'hypertension artérielle est aussi un signe de la N-IgA ; elle est fréquente chez les patients N-IgA même en l'absence d'insuffisance rénale. Sa prévalence au diagnostic chez les patients adultes varie de 30 à 70% selon les séries. L'association d'une hématurie, d'une protéinurie et d'une hypertension artérielle est une indication pour une biopsie rénale et la recherche de dépôts d'IgA mésangiaux. Dans ces conditions, le diagnostic de N-IgA est porté dans environ 50% des cas.

Si la protéinurie et l'hypertension artérielle sont considérées, de façon consensuelle, comme néfastes, l'impact de l'hématurie dans la N-IgA est moins clair. Seules quelques auteurs s'y sont intéressés et ont donné des avis contrastés en affirmant que l'hématurie ou au contraire que la rémission de l'hématurie serait un facteur de pronostic favorable pour la survie rénale (Rodrigues 2017, Sevillano 2017).

Evolution de la néphropathie à IgA

La N-IgA est une maladie à évolution variable, généralement lente, et plus ou moins sévère en fonction des patients. Elle peut rester cliniquement stable ou évoluer progressivement ou rapidement en entraînant une perte d'intensité variable du fonctionnement rénal pouvant aller jusqu'au stade d'insuffisance rénale terminale, nécessitant le remplacement de la fonction rénale par dialyse ou transplantation. On estime qu'environ un quart des patients atteints de N-IgA évoluent vers le stade d'insuffisance rénale terminale en 20 ans après le diagnostic.

Le suivi des patients montre que l'hématurie peut être intermittente ou persistante. Certaines études ont rapporté que l'association d'une hématurie microscopique permanente, d'une protéinurie

supérieure à 1g/24h et d'une hypertension artérielle est un facteur de mauvais pronostic et de progression vers l'insuffisance rénale terminale (Berthoux 2015, Tumlin 2004). Il est possible d'observer, dans certains cas, une augmentation du taux de protéine dans l'urine pouvant atteindre 3g/24h en même temps qu'une diminution du taux d'albumine sanguin, ce qui est une caractéristique du syndrome néphrotique. Ce dernier est présent dans 5 à 10% des cas chez les patients N-IgA au moment du diagnostic et peut être un élément révélateur de la maladie.

III.2.4. Caractéristiques histopathologiques

La détection des IgA dans le mésangium rénal reste la condition *sine qua non* de l'affirmation du diagnostic de N-IgA. Cela se fait couramment par immunofluorescence sur une coupe de biopsie rénale qui permet de révéler la présence des dépôts d'IgA constants dans les axes mésangiaux des glomérules. Le marquage des IgA dans les aires mésangiales présente un aspect granulaire ou filamenteux plus ou moins diffus en forme de branches d'arbres ou des doigts de la main (Figure 14) (Droz 1995, Pillebout 2016). Les dépôts sont d'abondance variable d'un patient à l'autre allant de fins dépôts filamenteux chez certains à de gros dépôts infiltrant massivement les axes mésangiaux et débordant parfois sur les parois des capillaires glomérulaires périphériques chez d'autres. Ils sont généralement définitifs. Ils sont parfois encore visibles sur quelques glomérules même lorsque l'insuffisance rénale est sévère, permettant ainsi d'établir un diagnostic même à ce stade d'évolution (Pillebout 2016).

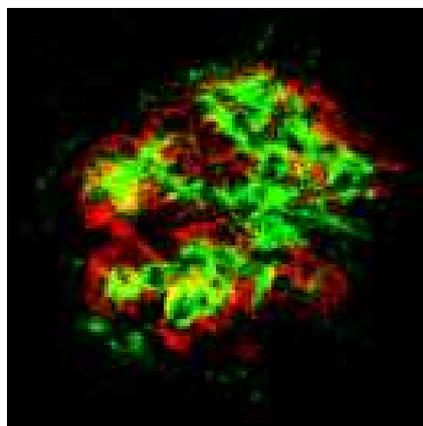


Figure 14 : Dépôts mésangiaux d'Immunoglobuline A dans un glomérule, détectés par immunofluorescence (vert pour IgA, rouge pour podocyte comme marqueur des podocytes).

Il est important de noter que la présence des dépôts n'est pas nécessairement pathologique. Des dépôts d'IgA mésangiaux ont été découverts chez des sujets sains ne présentant aucun signe clinique de N-IgA. Cette observation a été réalisée sur des séries d'autopsies ou sur les biopsies pré-implantatoires avant transplantation rénale et a révélé que 2 à 16% des cas présentaient des dépôts d'IgA mésangiaux (Geddes 2003).

Les dépôts d'IgA dans le mésangium sont fréquemment associés à d'autres éléments tels que le composant C3 du complément et dans une moindre mesure l'IgG et l'IgM (Monteiro 2003). La fréquence des co-dépôts d'IgG est plus diversement appréciée. A l'inverse des autres glomérulopathies, la chaîne légère λ est plus fréquemment trouvée que la chaîne légère κ . Il a été démontré que l'IgA1 est systématiquement déposée dans le mésangium glomérulaire (Monteiro 2003). Dans certaines études, des traces d'IgA2 ont aussi été trouvés mais toujours co-déposés avec de l'IgA1. Aucun dépôt d'IgA2 sans IgA1 n'a été décrit. La néphropathie à IgA est donc une néphropathie à IgA1.

Les dépôts d'IgA1 mésangiaux peuvent être associés à différents types de lésions histologiques observables en microscopie optique sur des coupes de biopsie rénale. Ces lésions sont variables dans le rein d'un même patient et d'un patient à un autre (Haas 2005, Laurent-Pilonchéry 2008). Elles touchent les différentes parties du rein : les glomérules, les tubules et l'interstitium (Figure 13 page 47). Au niveau des glomérules, peuvent être observées une hypercellularité mésangiale notée M, une sclérose segmentaire notée S, et une hypercellularité endocapillaire notée E, et dans le reste du parenchyme rénal, peut apparaître une atrophie (c'est-à-dire une diminution du volume) tubulaire et une fibrose interstitielle, notées T. La sclérose se traduit par des plages de matière épaissie et fibreuse ; elle est dite segmentaire quand ces plages sont éparses dans le glomérule (Fogo 1999). Par le passé, d'autres lésions ont été étudiées comme la présence de hyalinose (présence d'une plage de matière homogène) ou l'infiltration du parenchyme rénal par les cellules immunitaires mais seules les quatre lésions M, E, S, et T ont été retenues comme capables collectivement de caractériser la N-IgA et de donner des marqueurs de pronostic.

Tableau 1 : Les scores de la classification d'Oxford

Variable	Définition	Score
Hypercellularité mésangiale (M)	< 4 cellules mésangiales / aire mésangiale = 0 4-5 cellules mésangiales / aire mésangiale = 1 6-7 cellules mésangiales / aire mésangiale = 2 8 cellules mésangiales / aire mésangiale = 3	Si la moyenne : < 0,5 = M0 > 0,5 = M1
Hypercellularité endocapillaire (E)	Hypercellularité par augmentation du nombre de cellules dans la lumière des capillaires glomérulaires	E0: absent E1: présent
Glomérulosclérose segmentaire (S)	Lésion fibreuse d'une partie (et non de l'ensemble) du flocculus ou présence d'une synéchie flocculocapsulaire	S0: absent S1: présent
Fibrose interstitielle/ Atrophie tubulaire (T)	Pourcentage du cortex concerné par l'atrophie tubulaire ou la fibrose interstitielle	0-25% T0 26-50% T1 >50% T2

Au fil du temps, les pathologistes ont proposé des classifications caractérisant des stades de la N-IgA : les premières classifications étaient dites en « classes » et n'utilisaient que les lésions

glomérulaires. Elles ont été longtemps utilisées comme celles de M HAAS ou celle de SM LEE (Haas 1997, Lee 1982). Un deuxième type de classification dites en « scores » est ensuite apparu ; elles reposent sur une évaluation semi-quantitative des lésions glomérulaires et du reste du parenchyme rénal. En 2009, un groupe de travail constitué de néphrologues et de pathologistes de dix pays différents s'est constitué à l'initiative conjointe de l'IGANN et de la *Renal Pathology Society*. Ce groupe a cherché un score simple, évaluable sur une section colorée avec le colorant appelé *Periodic Acid Schiff*, indépendant de l'échantillonnage, et donnant une bonne reproductibilité entre les pathologistes. Pour cela, une cohorte de 265 biopsies rénales, dont 206 d'adultes et 59 d'enfants, collectées dans huit pays différents a été analysée. Cette étude a permis de définir un score dit d'Oxford qui fait actuellement consensus et s'établit sur au moins huit glomérules (Tableau 1 page 51). Le travail de ce groupe continue et le score est régulièrement affiné ; la dernière modification date de 2016 avec l'ajout d'un score supplémentaire, le score C qui tient compte de la présence de prolifération extracapillaire appelée croissant (Coppo 2010a, Robert 2013, Trimarchi 2017). Ces scores associés aux données cliniques (protéinurie, hématurie, hypertension) permettent de prévoir l'évolution de la N-IgA à 2 ans (Trimarchi 2017).

III.2.5. Traitements

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement curatif efficace de la N-IgA, ni de traitement permettant de la prévenir. Néanmoins, un ensemble d'options thérapeutiques ont été proposées en 2012 dans le but de ralentir sa progression vers l'insuffisance rénale terminale (Boyd 2012). Il s'agit des recommandations établies par un panel d'experts appartenant à l'organisation internationale « Kidney Disease : Improving Global Outcomes » (KDIGO) en se basant sur les différentes études d'essais thérapeutiques. Ces recommandations peuvent être téléchargées sur le site <http://kdigo.org/guidelines/gn/>.

Les recommandations tiennent compte, au diagnostic et lors du suivi du patient, de la présence de l'hématurie, du niveau de la protéinurie, du niveau de l'hypertension artérielle, des lésions histologiques et de la diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG) qui apprécie la fonction rénale. L'ensemble de ces paramètres permettent de définir un risque d'évolution de la maladie, faible, intermédiaire ou fort, et d'adapter le traitement en fonction du risque. Comme pour toutes maladies rénales, les recommandations de KDIGO indiquent que tous les patients, quel que soit leur risque d'évolution, doivent être systématiquement suivis sur une base régulière pendant plusieurs années et que les patients doivent suivre, le cas échéant, des mesures hygiéno-diététiques comme le sevrage tabagique, l'adaptation de leur régime alimentaire, la correction du surpoids, et la pratique d'exercices physiques. Pour certains sujets jugés comme n'étant pas à risque faible de voir leur maladie évoluer, aucun traitement médicamenteux n'est proposé. Pour les sujets dont la maladie est à risque d'évoluer, un traitement est recommandé ; celui-ci n'est pas spécifique de la N-IgA mais est proposé dans toutes les glomérulopathies protéinuriques. Il s'agit

toujours d'un traitement néphroprotecteur, en particulier des anti-hypertenseurs comme les bloqueurs du système rénine/angiotensine, qui, en cas de risque fort d'évolution, est complété par les anti-inflammatoires de type corticostéroïdes. Les bloqueurs du système rénine/angiotensine sont soit les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ou les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA2) et parfois les deux types sont utilisés simultanément ; ils ont montré leur efficacité sur la N-IgA en faisant diminuer la protéinurie dans de nombreuses études (Cheng 2009a, Li 2006, Magistroni 2015, Praga 2003, Russo 2001). Plusieurs équipes ont étudié l'effet de la corticothérapie et ont globalement montré un effet bénéfique sur la protéinurie et la fonction rénale (Cheng 2009b, Katafuchi 2008, Lv 2009, Manno 2009, Samuels 2004, Zhou 2011). Les huiles de poisson concentrés, qui contiennent une grande proportion de lipides ω 3, sont aussi recommandés par KDIGO pour leur effet potentiellement protecteur sur le système cardiovasculaire alors que les études réalisées ont donné des résultats globalement controversés (Alexopoulos 2004, Donadio 1994, Donadio 2001, Ferraro 2009, Grande 2005).

De nombreuses études menées récemment ont évalué l'efficacité de molécules immunosuppressives comme le cyclophosphamide, l'azathioprine, le mycophénolate mofétil et l'ablation des tonsilles qui est largement pratiquée au Japon suite au constat que la N-IgA se manifeste souvent au moment d'infections des voies aériennes supérieures et d'inflammation des tonsilles (Bene 2004, Hotta 2001, Komatsu 2008, Xie 2003). Du fait de résultats peu convaincants ou controversés avec les molécules immunosuppressives (Ballardie 2002, Frisch 2005, Maes 2004, Pozzi 2010, Stangou 2011, Tang 2010) et de l'absence d'étude d'amydalectomie en dehors du Japon, KDIGO ne recommande pas ces solutions thérapeutiques dans la N-IgA.

III.2.6. Traitement de suppléance lors de l'insuffisance rénale terminale

Dans toutes les pathologies rénales, y compris la néphropathie à IgA, l'insuffisance rénale terminale nécessite un traitement de suppléance qui est soit une dialyse, soit une transplantation rénale. Toutes les glomérulonéphrites sont sujettes à des récurrences sur le greffon. La néphropathie à IgA n'échappe pas à cela. J BERGER est le premier à rapporter ce phénomène dès 1969 sur un patient puis l'a confirmé sur une population de malades en 1975 (Berger 1975). Le taux de récurrence des dépôts mésangiaux d'IgA1 dans les glomérules du greffon est estimé en moyenne à 33% des cas, mais cette moyenne couvre d'énormes variations allant de 9% à 61% selon les centres (Ponticelli 2010). Ces variations dépendent de la politique du suivi des greffons par biopsie systématique ou non et de la durée de suivi après la transplantation rénale. Le taux de récurrence est de 13% à 50% dans les centres qui font une biopsie seulement après apparition des signes cliniques comme l'hématurie, la protéinurie voire un syndrome néphrotique, ou la diminution du DFG. Le taux de récurrence est évalué à 50-60% dans les centres qui font des biopsies systématiquement après la transplantation. La récurrence des dépôts est mise en évidence entre 0,3 et 213 mois après la greffe (Kessler 1996, Ponticelli 2010). La perte du greffon est estimée de 2% à 16% sur une période de 5

ans en raison de la récurrence de la maladie (Briganti 2002, Couser 2005). En cas de retransplantation, le risque de récurrence devient plus élevé. Il est estimé de 20% à 100% avec un risque de perte du greffon variable selon les séries. A noter que la survie du greffon à 10 ans est similaire chez les patients greffés suite à une N-IgA ou pour d'autres néphropathies.

Différents groupes ont évalué l'effet de traitements anti-inflammatoires ou anti-suppresseurs sur l'incidence de la récurrence et ont montré un effet bénéfique des corticoïdes et de traitements innovants comme des *Anti-Thymocyte Globulin* (ATG), mais pas de la cyclosporine ou du mycophénolate mofétil (Berthoux 2008, Clayton 2011).

III.3. Physiopathologie

Les différentes études, sur les prélèvements de malades, sur des cellules *in vitro* ou dans les modèles animaux, menées sur la N-IgA depuis sa première description en 1968, mises bout à bout, ont permis de faire des progrès remarquables dans la compréhension de la physiopathologie de la maladie même s'il reste encore des zones d'ombre à éclaircir. Les études convergent vers l'importance des pIgA et des complexes contenant l'IgA dans la N-IgA. Certains estiment que ces complexes comprennent les IgA associées à la forme soluble de CD89 et d'autres qu'il s'agit de complexes immuns dans lesquels les IgA de la N-IgA, à cause d'anomalies de glycosylation, sont reconnues comme un antigène et sont associées à des Ig spécifiques. La mise en évidence de complexes immuns dans la N-IgA a conduit récemment à l'idée que la N-IgA est une maladie auto-immune. L'importance des complexes immuns dans la N-IgA et la présence presque systématique de fraction C3 du complément dans les dépôts d'IgA mésangiaux permettent aussi de proposer un rôle clé du système du complément dans la N-IgA. Enfin, il ne fait aucun doute qu'il existe des facteurs génétiques de susceptibilité à développer la N-IgA mais ceux-ci ne contribueraient qu'à 5% de la maladie (Kirylyuk 2012). Le développement de la N-IgA serait très largement dépendant de facteurs environnementaux.

III.3.1. Les immunoglobulines A polymériques et complexées à d'autres protéines

Environ 50% des patients atteints de N-IgA présentent un taux d'IgA sérique de deux à trois fois plus élevé que les sujets sains avec un déséquilibre en faveur de la sous-classe IgA1 (Novak 2008). De plus, dans la N-IgA, il y a une augmentation du ratio pIgA1 : mIgA1 circulants où les pIgA1 peuvent être des dimères d'IgA1 ou des IgA1 agrégées probablement entre elles ou avec d'autres protéines ou incluses dans des complexes protéiques. Les complexes circulants contenant des IgA1 peuvent être divisés en deux groupes chez les patients N-IgA en fonction de leur poids moléculaire : les complexes à haut poids moléculaire, supérieur ou égal à 800 kDa, et les complexes à faible poids moléculaire, inférieur à 800 kDa (Knoppova 2016). Dans les agrégats et complexes contenant des IgA1, différentes molécules ont été trouvées comme la fibronectine, des

antigènes de micro-organismes ou alimentaires tels que la gliadine, la forme soluble de CD89 ou d'autres Ig (van der Boog 2005).

Afin d'établir l'importance des plgA1 et des complexes contenant des IgA1 dans la N-IgA, leur taux a été évalué dans la circulation et comparé à l'activité de la N-IgA et à la récurrence post-transplantation. Les plgA1 et les complexes ont aussi été recherchés dans d'autres pathologies et chez les sujets sains. Il ressort de ces études qu'aucun paramètre, que ce soit les plgA1, les IgA1 anormalement glycosylées, les IgG anti-IgA anormalement glycosylées et les IgA associée au CD89 soluble, n'est spécifique de la N-IgA (Gharavi 2008, Tissandié 2011, van der Boog 2003). Des résultats controversés ou négatifs ont été obtenus lorsqu'une corrélation a été recherchée entre l'activité de la N-IgA et les taux d'un paramètre soit les plgA1, soit les IgA1 anormalement glycosylées ou encore les IgA associées au CD89 soluble (Jhee 2017, Vuong 2010). Par contre, la combinaison des taux d'IgA1 anormalement glycosylées et d'anticorps anti-IgA anormalement glycosylée avec ou non les taux d'IgA associées au CD89 soluble a une valeur pronostique sur l'évolution de la N-IgA et sur la récurrence post-transplantation (Berthoux 2012, Berthelot 2015, Berthoux 2017, Placzek 2018).

Quelques auteurs ont élué les IgA1 des glomérules de sujets avec N-IgA et ont constaté qu'ils sont enrichis en plgA1 (Monteiro 1985). De plus, par immunohistochimie, d'autres études ont montré la présence dans certaines séries de la chaîne J et de SC dans les dépôts ainsi que de la forme soluble de CD89 et d'Ig en particulier d'IgG (Oortwijn 2007, van der Boog 2005). La recherche de la fibronectine, des antigènes de micro-organismes ou alimentaires dans les glomérules n'a pas donné de résultats convaincants (van der Boog 2005).

In vitro, il a été montré que les plgA1, les IgA1 agrégées ou incluses dans des complexes activent puissamment les cellules mésangiales par rapport aux IgA1 monomériques (Fabiano 2016, Mestecky 2013, Suzuki 2011, van der Boog 2005). Les complexes à haut poids moléculaire, à l'inverse de ceux de faible poids moléculaire, sont capables d'activer les cellules mésangiales en induisant leur prolifération, une surproduction de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-6 ou le TNF- α , et de facteurs favorisant la production de la matrice extracellulaire comme le TGF- β (Novak 2005, Novak 2011). Les complexes immuns contenant l'IgA1 anormalement glycosylée reconnue par un IgG activent et font proliférer les cellules mésangiales humaines primaires alors que les IgA1 anormales hors complexes ou des complexes immuns dépourvus d'IgA1 anormales ne possèdent pas ces capacités (Novak 2005, Novak 2007). De plus, la prolifération des cellules mésangiales est d'autant plus marquée que les complexes contiennent des quantités importantes d'IgA1 anormales.

L'activation des cellules mésangiales par les plgA1 anormalement glycosylées, qui est liée à l'expression du Tfr/CD71 sur ces cellules (Moura 2001, Moura 2004, Moura 2005, Robert 2015),

est considérée comme l'étape initiale dans l'induction des lésions histologiques et du dysfonctionnement glomérulaire se traduisant par la protéinurie (Moura 2008). Ainsi, la prolifération des cellules mésangiales contribue à l'hypercellularité mésangiale (lésion M) et la production de facteurs favorisant la synthèse de matrice extracellulaire est certainement impliquée dans la sclérose segmentaire (lésion S). La libération de cytokines pro-inflammatoires peut recruter et activer localement des cellules immunitaires comme les monocytes et les PMN (Lai 1996a, Lai 1996b, Lai 2005, Sekikawa 1998). Les monocytes comme les PMN portent CD89 et sont activables aussi par les pIgA et pIgA peut contribuer à leur recrutement dans le mésangium (Kanamaru 2007). Le recrutement des cellules immunitaires peut expliquer en partie l'hypercellularité mésangiale (lésion M) et endocapillaire (lésion E). Les cellules mésangiales *via* les produits qu'elles libèrent comme les cellules immunitaires activées localement peuvent modifier la barrière de filtration glomérulaire en agissant sur ses composants cellulaires : les cellules endothéliales et les podocytes (Lai 2009, Lai 2012, Liang 2017). Cette modification de la barrière de filtration glomérulaire, en particulier l'altération de la perméabilité podocytaire, est connue pour provoquer la protéinurie. Récemment, une corrélation a pu être faite, sur des coupes de biopsies rénales, entre le niveau d'activation des cellules mésangiales et la protéinurie de sujets atteints de N-IgA (Tamouza 2012).

III.3.2. Les complexes immunoglobuline A - CD89 soluble

Dans la N-IgA, le CD89 soluble est retrouvé dans la circulation à un taux plus élevé que chez les sujets sains et il est aussi retrouvé plus fréquemment associé aux complexes circulants contenant l'IgA1 (Grossetete 1998, Launay 2000). Les patients N-IgA présentent une diminution de l'expression membranaire de CD89 sur les monocytes circulants mais pas sur les PMN, sans qu'il y ait de défaut transcriptionnel de CD89. L'activation avec des pIgA de cellules transfectées pour exprimer CD89 à leur surface conduit au clivage de CD89 donnant naissance au CD89 soluble. De ces résultats, les auteurs de l'étude ont conclu que le CD89 soluble retrouvé dans la circulation des sujets avec N-IgA provient de l'activation des monocytes circulants par pIgA1 (Grossetete 1998). Quelques études ont rapporté la présence de CD89 soluble dans les dépôts mésangiaux glomérulaires chez les patients atteints de N-IgA.

Le rôle du CD89 dans la pathogenèse de la N-IgA a été étudié chez la souris transgénique (Tg) pour CD89 humain où le transgène est placé sous le contrôle d'un promoteur spécifique de la lignée myéloïde murine, celui du gène de CD11b, et conduit à une forte expression de CD89 à la surface des monocytes mais pas de PMN. Ces souris ont spontanément du CD89 soluble dans la circulation qui forme des complexes avec les IgA murines (Launay 2000). Les souris âgées de 2 ans présentent des dépôts d'IgA mésangiaux, une protéinurie modérée et une hématurie. L'injection de sérum de souris CD89Tg ou au contraire d'IgA de sujets avec N-IgA à des souris exprimant CD89 provoquent l'apparition d'une hématurie macroscopique transitoire dans les jours qui suivent

l'injection. Cet effet n'est pas retrouvé si le sérum de souris CD89Tg est préalablement déplété en CD89 ou si des IgA de sujets sains sont utilisés. Dans cette étude, l'injection de sérum de souris CD89Tg induit l'apparition de dépôt d'IgA murine dans le mésangium ; ce résultat n'a pas été reproduit lorsque du CD89 soluble humain recombinant a été injecté (van der Boog 2004), ce qui a été mis sur le compte d'une faible affinité des IgA murine pour le CD89 soluble humain recombinant. Les souris CD89Tg ont ensuite été croisées avec les souris α 1KI exprimant une IgA1 chimérique humaine, ce qui a permis d'obtenir les signes cliniques de la N-IgA, y compris les lésions histologiques, précocément soit dès l'âge de deux mois (Berthelot 2012). Ces signes sont en partie dépendant de l'activation de CD71 au niveau du mésangium rénal à la fois par les IgA1 et CD89 (Berthelot 2012). Ces signes ne sont pas présents chez la souris α 1KI à cet âge (Berthelot 2012, Oruc 2016). Lorsque les souris co-exprimant CD89 humain et IgA1 chimérique humaine ont été soumises à un régime sans gluten, les signes de la N-IgA se sont atténués, ce qui a été attribué à la disparition de complexes circulants néphrotoxiques entre les IgA1 chimérique, la gliadine provenant du gluten et le CD89 soluble (Papista 2015).

Un autre groupe a généré des souris exprimant CD89 humain dans les monocytes et leurs cellules dérivées sous le contrôle du promoteur du gène de CD14. Ces souris ne développent pas de signes de N-IgA à l'âge de 1 an. Elles n'ont pas été examinées au-delà de cet âge (Xu 2016). Contrairement aux souris CD89Tg sous le contrôle du promoteur de CD11b, celles-ci ont un taux circulant d'IgA très diminué amenant les auteurs à en rechercher la cause. La diminution des IgA murines circulantes s'est avérée être dû à l'expression de CD89 par les cellules de Kupffer et à leur clairance hépatique accrue. De façon intéressante, l'incubation des cellules de Kupffer avec des IgA1 humaines de malades provoquent l'apparition de CD89 soluble dans le surnageant de culture et l'injection des IgA1 humaines de sujets avec N-IgA à des souris CD89Tg sous le contrôle du promoteur de CD14 induit l'apparition de signes de N-IgA. Ces effets ne sont pas observés avec les IgA1 de sujets sains.

III.3.3. Les complexes immuns avec les immunoglobulines A hypogalactosylés

Dès 1990, il apparaît évident que les IgA circulants des sujets avec N-IgA sont anormales, car ils se fixent moins bien à la lectine jacaline que les IgA des sujets sains (Andre 1990). Ce résultat conduit à l'hypothèse que les IgA de sujets avec N-IgA présentent un défaut de glycosylation. De nombreuses études ont ensuite été menées et il est actuellement admis que le défaut de glycosylation se situe au niveau de la région charnière et consiste en une hypogalactosylation des IgA1. Celle-ci peut être mise en évidence facilement par un dosage utilisant une lectine particulière provenant de *Helix Aspersa* et définie comme HAA (pour *Helix Aspersa Agglutinin*), qui reconnaît les O-GalNAc dès lors qu'ils ne sont pas liés à un sucre Gal. Cette lectine HAA est communément utilisée actuellement dans les études cliniques sur la N-IgA, et a permis de montrer dans de nombreuses études que les patients atteints de N-IgA présentent une forte augmentation de

molécules d'IgA1 circulantes déficientes en galactose (Gd-IgA1) par rapport à des individus sains ou atteints d'autres pathologies rénales (Hiki 1998, Hiki 1999, Magistroni 2015, Mestecky 2013, Novak 2008, Renfrow 2005, Suzuki 2011). L'hypogalactosylation a été confirmée par quelques groupes par spectrométrie de masse. L'hypogalactosylation n'est pas retrouvée sur les IgD des sujets avec N-IgA suggérant que les altérations dans le processus d'O-glycosylation ont lieu spécifiquement dans les cellules B productrices d'IgA1 (Smith 2006). Les Gd-IgA1 sont aussi retrouvées déposées dans le mésangium glomérulaire comme dans les IgA1 produites par les lymphocytes B de la périphérie, de la moelle osseuse, des MALT et dans les IgA1 extraites d'amygdales de sujets atteints de N-IgA (Allen 2001, Berthoux 2015, Hiki 2001, Itoh 2003, Suzuki 2009). Une augmentation de sialylation de l'IgA1 a été également rapportée chez les patients N-IgA (Leung 2002).

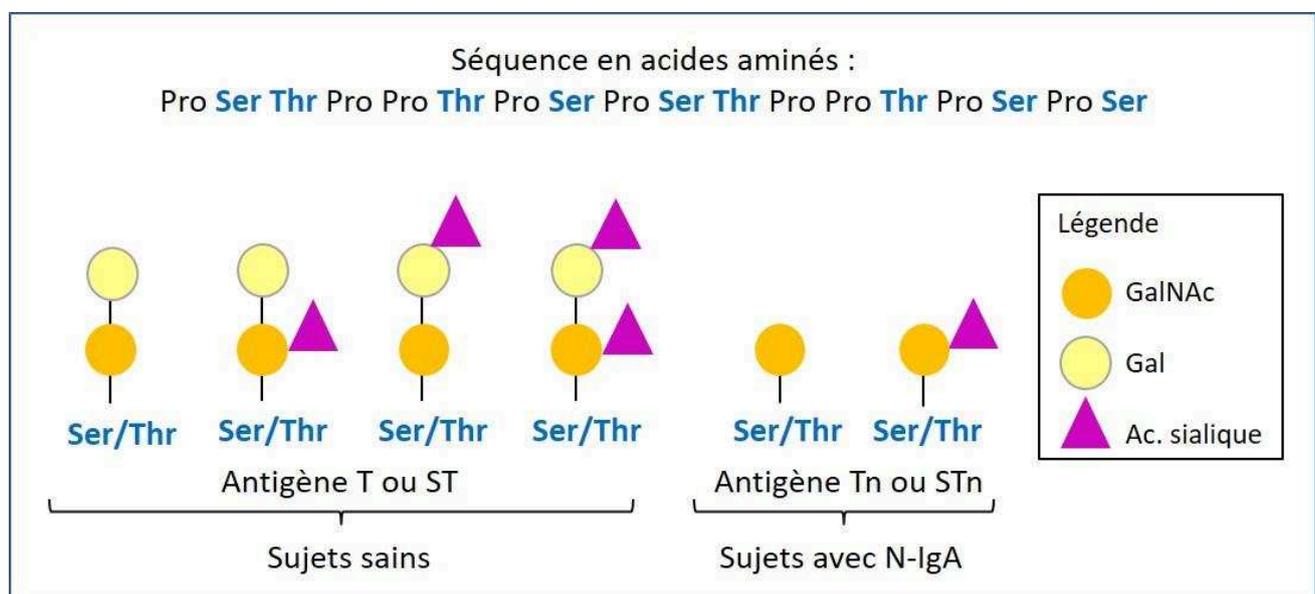


Figure 15 : La région charnière de l'immunoglobuline A1 et ses O-glycosylations.

Dans les IgA1, la O-glycosylation n'est pas identique sur tous les résidus de la région charnière ; certains résidus porte un antigène T, c'est-à-dire un GalNAc-Gal, d'autres un antigène ST contenant GalNAc-Gal et un acide sialique, un antigène Tn soit GalNAc, ou un antigène STn soit GalNAc et un acide sialique (Figure 15). Chez les sujets atteints de N-IgA, il y a une plus forte proportion de Tn et STn que dans les IgA1 des sujets sains, ce qui se traduit par une hypogalactosylation pouvant résulter d'une diminution de l'activité du système enzymatique responsable du transfert de Gal sur GalNAc, Bet3-GalT-8/C1GALT1 et C1GALT1C1, et/ou d'une sialylation prématurée de GalNAc empêchant le transfert de Gal. Ces hypothèses ont été testées dans des lignées de cellules B provenant de malades et de sujets sains ; plusieurs équipes ont trouvé une diminution de l'activité et de l'expression de Bet3-GalT-8/C1GALT1 et de C1GALT1C1 et de sialyl-transférases (Allen 1997, Inoue 2007, Li 2007, Suzuki 2009). Récemment, différentes équipes ont étudié l'expression des micro-ARN (miR) qui sont des régulateurs puissants de l'expression de gènes (Fabiano 2016,

Serino 2012, Serino 2015). Ils ont mis en évidence une corrélation négative entre la diminution de l'expression du gène *C1GALT1* et l'expression de miR-148b, et ont rapporté une augmentation de l'expression du miR let-7b qui diminue le niveau d'expression de la GalNAc transférase, l'enzyme qui permet l'ajout de GalNAc sur les résidus sérines et thréonine de la région charnière des IgA1.

Les Gd-IgA1 sont reconnus par des anticorps de classe IgG ou IgA1 anti-glycanes qui seraient produits en réponse à des infections dans les muqueuses (Suzuki 2007, Magistroni 2015). Par réaction croisée, il apparaît alors des complexes immuns (Suzuki 2011, Yeo 2017). Les complexes immuns Gd-IgA1 / Ig anti-Gd-IgA1 ont été caractérisés en 1999 par le groupe de J MESTECKY (Tomana 1999) qui a montré que les Ig anti-Gd-IgA1 sont des IgG, principalement des IgG2, ou des IgA1. Plus tard, le même groupe a démontré que les IgG anti-Gd-IgA1 ont une particularité dans la zone hypervariable CDR3 qui présente un résidu sérine au lieu d'une alanine. La substitution de résidu sérine par l'alanine diminue la capacité de liaison de l'IgG aux Gd-IgA1. A l'inverse, l'introduction d'un résidu sérine à la place de l'alanine augmente la liaison aux Gd-IgA1 hypogalactosylées (Suzuki 2009, Knoppova 2016). L'apparition du résidu sérine dans le CDR3 de la chaîne lourde de ces auto-anticorps IgG résulte de mutations somatiques et n'est pas le résultat d'un variant rare d'un segment V_H (Huang 2016). Dans deux résumés de communication en congrès, le groupe de J MESTECKY indique que les complexes Gd-IgA1 liées par des anticorps IgG anti-glycanes ont été injectés à des souris : des dépôts mésangiaux avec C3, une prolifération mésangiale, de l'hématurie et de la protéinurie ont pu être observés (Knoppova 2016).

Certains auteurs ont proposé que la taille des complexes contenant les Gd-IgA1 limite leur passage à travers les capillaires fenestrés du foie vers les espaces de Disse où il pourrait entrer en contact avec le récepteur ASGPR porté par les hépatocytes. De plus la présence d'Ig anti-Gd-IgA1 masquerait les GalNAc libres qui seraient normalement reconnus par l'ASGPR. Le catabolisme de ces IgA1 anormales serait donc diminué, ce qui contribuerait à l'augmentation de leur taux circulant (Mestecky 2013).

Plusieurs modèles animaux ont permis de montrer que la glycosylation des IgA est importante pour le développement de la N-IgA. L'injection d'IgA polyclonales de sujets sains à des rats provoque l'apparition de dépôt mésangial d'IgA si les IgA humaines ont été préalablement désialylées ou désialylées et dégalactosylées (Sano 2002).

L'importance de la glycosylation pour le dépôt a aussi été mis en évidence dans des études chez la souris. L'injection d'IgA1 humain conduit à des dépôts mésangiaux dans des souris qui n'ont pas été préalablement immunisées par un peptide synthétique de la région charnière, puis par des rappels avec l'IgA1 désialylée et dégalactosylée (Hiki 2008). Cette étude suggère, cependant, que les Ig anti-région charnière seraient protecteur vis-à-vis du dépôt plutôt que néphrotoxiques. Dans

une autre étude, des hybridomes produisant des IgA murin anti-IgG2a ont été greffés dans le péritoine de souris ; les dépôts mésangiaux et les lésions et l'histologie rénales ont été analysées deux à trois semaines après la greffe (Kihara 2014, Otani 2012). Des dépôts d'IgA ont été détectés pour tous les hybridomes, mais le dépôt était particulièrement intense pour l'hybridome 6-19 dont la région charnière est la plus O-glycosylée, enrichie en Gal, et qui présente des N-glycosylations plus complexes. Seul l'hybridome 6-19 provoque un co-dépôt d'IgG2a et de fraction C3 du complément ainsi qu'une prolifération mésangiale, une sclérose segmentaire et une infiltration des glomérules par des PMN. L'importance de la glycosylation est illustrée aussi par le modèle murin déficient pour la Beta4-GalT-1, une enzyme qui ajoute un Gal à un N-Acétyl-D-Glucosamine (GlcNAc) de O- ou de N-glycanes. L'absence de cette enzyme provoque le dépôt mésangial d'IgA murine, une protéinurie chez toutes les souris et une hématurie chez certaines (Nishie 2007).

Enfin, le modèle de souris ddY suggère aussi que la glycosylation peut jouer un rôle dans l'évolution de la N-IgA. En 1985, le groupe de AB MIURA montre que les souris ddY développent spontanément une glomérulonéphrite avec des dépôts importants d'IgA dans le mésangium glomérulaire accompagnés d'IgG, d'IgM et de C3. Les dépôts d'IgG prédominent au début et les dépôts d'IgA ne deviennent majoritaires que vers l'âge de 1 an. Les souris présentent des taux élevés d'IgA polyclonales dans le serum, une protéinurie qui augmente avec l'âge, une prolifération des cellules mésangiales associée à une augmentation de la matrice mésangiale, mais pas d'hématurie. Elles sont caractérisées par de fortes variabilités selon l'âge d'apparition et la sévérité de la maladie (Imai 1985). Ces souris ont été classées en plusieurs catégories en fonction de la vitesse d'apparition de la maladie et les lésions histologiques : groupe à début précoce, groupe à début tardif et groupe quiescent, ne développant pas de glomérulonéphrite. Les souris ddY du groupe à début précoce ont été croisées entre elles pendant plus de vingt générations dans le but d'obtenir une lignée pure à phénotype précoce (Okasaki 2012). Les souris obtenues ont été appelées *grouped ddY* ; elles développent toutes de la protéinurie à l'âge de 2 mois et une insuffisance rénale à l'âge de 6 mois. Les examens histologiques montrent des lésions glomérulaires et tubulo-interstitielles sévères caractérisées par une prolifération cellulaire mésangiale, une glomérulosclérose et des infiltrations interstitielles. Des dépôts d'IgA glomérulaires accompagnés de co-dépôts d'IgG, d'IgM et de C3 ont été également observés. Dans ce modèle de N-IgA, les mâles montrent une atteinte plus importante que les souris femelles. Chez les mâles deux sous-groupes se distinguent sur la base de la mortalité des souris. Les souris qui meurent le plus rapidement sont celles qui ont l'allotype d'IgA le moins glycosylé.

A noter que dans un modèle murin, l'importance de la glycosylation n'a pas été vérifiée pour le dépôt mésangial des IgA. En effet, l'injection d'IgA1 monoclonales chimériques humaines produites à partir d'hybridome de souris α 1K1 est suivie du dépôt mésangial de certaines IgA1, mais le dépôt est sans lien avec leur état de glycosylation (Oruc 2016).

III.3.4. Importance du système du complément

Plusieurs données permettent d'argumenter en faveur d'une activation du système du complément dans la N-IgA, à la fois dans la circulation et dans les glomérules (Figure 11 page 41) (Magistrini 2015, Maillard 2015). Dans la circulation, les produits dérivés de C3, qui traduisent son activation, sont augmentés chez les sujets avec N-IgA et sont retrouvés dans les complexes de haut poids moléculaire contenant la Gd-IgA1. Dans le mésangium, différents groupes ont montré la présence de la properdine, un activateur de la voie alterne, et de différents activateurs de la voie des lectines tels que la MBL, mais pas du C1q, l'activateur de la voie classique (Knoppova 2016, Magistrini 2015, Maillard 2015, Rauterberg 1987). Le C4 et un de ses dérivés d'activation sont aussi présents dans le mésangium des malades avec N-IgA ; du fait de l'absence de C1q, l'activation de C4 résulte certainement de la mise en jeu de la voie des lectines. C3 est aussi retrouvé dans le mésangium chez les malades. En dépit de la présence du facteur H, inhibiteur de la voie alterne, dans les dépôts (Wyatt 1988), le C3 est probablement activé puisque certaines études ont pu mettre en évidence le produit final de l'activation du complément, à savoir le complexe MAC C5b-C9. Celui-ci est aussi retrouvé avec une concentration élevée dans les urines des patients avec N-IgA.

Il a été rapporté que les complexes immuns contenant Gd-IgA1 peuvent induire l'expression du composant C3 par les cellules mésangiales (Schmitt 2014). Les cellules mésangiales peuvent produire le facteur H. Par ailleurs, des expériences réalisées *in vitro* ont montré que des stimuli inflammatoires, comme le C3a et le C5a, issus du clivage de C3 et C5 respectivement, induisent une augmentation des cytokines pro-inflammatoires, de composants de la matrice extracellulaire comme de l'inhibiteur du complément *Decay Accelerating Factor* (DAF) par les cellules mésangiales et les fait proliférer (Maillard 2015, Wan 2007, Zhang 2017). L'utilisation d'antagonistes des récepteurs de C3a et de C5a montre que l'effet de C3a et de C5a passe par les récepteurs sur les cellules mésangiales (Zhang 2017). Les auteurs ont ensuite étudié l'importance de l'activation du complément *in vivo* et l'ont mise en évidence dans un modèle murin de N-IgA déficient en récepteur de C3a ou de C5a. Les signes de la N-IgA induits par une infection nasale chronique de 3 mois avec le virus Sendai suivi de deux rappels intraveineux (i.v.) sont atténués chez les souris déficientes en récepteur de C3a ou de C5a (Zhang 2017). Enfin, le MAC peut agir sur les cellules mésangiales et les podocytes sans les lyser, ce qui est rarement le cas sur les cellules nucléées, mais en entraînant un stress cellulaire qui résulte en la production de cytokines pro-inflammatoires et de facteurs favorisant la production de matrice extracellulaire (Cybulsky 2000, Knoppova 2016).

III.3.5. Génétique de la néphropathie à IgA

L'implication de facteurs génétiques dans la survenue de la N-IgA est suspectée assez rapidement après la première description en 1968. Cette suspicion est basée sur des observations d'ordre

clinique et épidémiologique rapportées par différentes équipes à travers le monde (Julian 1988b, Levy 1993, Schena 1995, Scolari 1992), et qui sont :

- la présence de cas multiples (au moins deux) de N-IgA avérée au sein d'une même famille ou d'un individu avec une N-IgA avérée apparenté avec des personnes ayant des signes évocateurs de N-IgA comme une protéinurie et une hématurie,
- des familles où certains membres sont atteints de la maladie et d'autres d'un purpura rhumatoïde,
- des cas de vrais jumeaux atteints conjointement de la maladie,
- mais aussi les disparités qui existent dans la prévalence de la maladie selon les régions et les origines ethniques comme décrit plus haut dans ce manuscrit.

De plus, dans différentes séries de sujets asiatiques et caucasiens, la quantité d'IgA1 anormales a été mesurée dans le serum d'un grand nombre de sujets sains asymptomatiques pour la N-IgA, mais ayant chacun des apparentés atteints de la maladie. Les résultats montrent un taux d'IgA1 anormalement glycosylées similaire chez ces sujets et leurs apparentés atteints de N-IgA alors que ce taux était moins élevé dans un groupe contrôle non apparenté vivant dans le même environnement (Gharavi 2008, Kiryluk 2011, Lin 2009).

Il est important de souligner qu'aucune caractéristique clinique ne permet de différencier les formes familiales des formes sporadiques: ni l'âge moyen d'apparition de la maladie, ni l'importance de l'hématurie, de la protéinurie ou du pronostic rénal (Julian 1988a, Julian 1998b)

De nombreuses études ont été menées dans le but d'identifier le ou les facteurs génétiques pouvant être impliqués dans le développement de la N-gA. Deux approches ont été utilisées pour parvenir à cette fin : les études de liaison génétique dans les formes familiales et les études d'association génétique soit de type cas-témoins basées sur une approche dite de gène candidat soit pangénomiques connues sous le nom de *Genome Wide Association Study* (GWAS) (Kiryluk 2013, Kiryluk 2014b). Les premières études de cas-témoins ont été menées sur des cohortes Européennes dès la fin des années 1970 et la première étude sur une population asiatique a été publiée en 1984 (Feehally 2015, Zhu 2015). Les études d'association dans la N-IgA ont porté principalement sur les gènes du système rénine-angiotensine, ceux des enzymes de la glycosylation, des récepteurs aux Ig et des cytokines ainsi que de leurs récepteurs. Au total près de 150 études ont été menées, mais la majorité sur des populations relativement restreintes comprenant moins de 150 individus. Plus des deux tiers des études ont permis d'identifier des associations positives, mais une majorité d'entre elles n'ont pas été retrouvées dans les études ultérieures. Parmi les polymorphismes décrits comme des facteurs de risque de développement de la N-IgA ou de progression, citons le polymorphisme des gènes C1GALT1 et C1GALT1C1, de celui du CD89, de pIgR (Narita 2001, Obara 2003), de TLR1 (Gao 2016), de TLR9 (Sallustio 2015), de

CD14 (Yoon 2003), le corécepteur de TLR4 pour le LPS, ou encore du gène codant le facteur majeur de la CSR vers la classe IgA, le TGF- β .

A ce jour, les résultats de trois études GWAS indépendantes ont été publiés (Feehally 2010, Gharavi 2011, Yu 2011) ainsi qu'une méta-analyse incorporant les populations des trois GWAS (Kyriluk 2014a). Ces études incluaient des contrôles, des cas familiaux et des cas sporadiques, de populations asiatiques (Chine et Japon), européennes (Allemagne, France, Grande-Bretagne, Hongrie, Italie, République Tchèque, Pologne, Turquie) et nord-américaines (Etats-Unis). La taille des cohortes, de découverte ou de confirmation, était de 430 individus pour la plus petite à 2700 pour la plus grande. Les différentes études de GWAS montrent des fréquences alléliques cohérentes aux données épidémiologiques de la maladie. Ainsi, le nombre moyen d'allèles de risque le plus élevé est reporté chez les asiatiques de l'Est où la prévalence de la maladie est la plus élevée alors que le nombre le plus bas se trouve chez les populations d'origine africaine qui sont rarement affectées par la maladie. Ces études ont permis d'identifier des loci de susceptibilité portés au niveau des régions chromosomiques 1p13, 1q32, 6p11, 6p21, 8p23, 9q34, 17p13 et 22q12. Dans ces loci, on retrouve des gènes de l'immunité adaptative comme ceux codant les molécules du CMH, des gènes de l'immunité innée des muqueuses avec par exemple ceux codant les défensines, des gènes de facteurs régulateurs du système du complément, et enfin des gènes régulation la régulation la production des IgA comme celui de TNFSF13/APRIL. De façon étonnante, ces études n'ont pas mis en lumière des loci contenant des gènes liés à la glycosylation des IgA. Le locus de la région 6p21 avec les gènes du CMH est mis en évidence dans les trois études de GWAS et dans la méta-analyse et concerne à la fois les populations asiatiques et caucasiennes. Au contraire, l'association de l'N-IgA avec les loci des régions 6p21 et 8p23 est limitée à la population asiatique. La plupart des loci mis en évidence a été incriminé dans des maladies du système immunitaire, et en particulier dans les MICI / IBD. Certains auteurs considèrent que ces résultats sont décevants, car s'ils appuient l'importance de l'immunité dans la N-IgA, ils ne permettent pas de révéler des mécanismes qui lui sont propres. Cependant, plusieurs facteurs peuvent expliquer ces résultats : une difficulté à phénotyper correctement les malades, mais également l'existence de plusieurs maladies sous le terme N-IgA ou encore une variation du phénotype en fonction de l'environnement, et donc un rôle important des modifications épigénétiques.

III.3.6. Rôle des facteurs environnementaux dans la N-IgA

De nombreux arguments laissent penser que la N-IgA est fortement dépendante des facteurs environnementaux et, en particulier, de l'alimentation et de l'environnement microbien avec un rôle important des muqueuses. D'ailleurs, actuellement on parle de l'importance de l'axe muqueuse-rein dans le développement de la N-IgA (Floege 2016). Le premier argument fréquemment cité en faveur d'un rôle des facteurs environnementaux est la découverte de la N-IgA chez des sujets qui consultent à cause de l'apparition d'épisodes d'hématuries macroscopiques concomitantes à des

infections des voies respiratoires, gastro-intestinales, uro-génitales ou des tonsilles dans la N-IgA (Coppo 2010a, Wyatt 2013).

Les différentes études montrent que les facteurs environnementaux jouent un rôle dans toutes les étapes de la N-IgA : de la production des IgA1 anormales (polymériques et hypogalactosylées) circulantes au développement de la maladie en passant par le dépôt des IgAs. La mise en évidence d'une augmentation des pIgA1 dans la circulation chez les sujets avec N-IgA comme la présence de ces pIgA1, et dans certaines études de la chaîne J et du SC dans le mésangium ont conduit à poser la question de l'origine des IgA1 pathogéniques. L'idée retenue est que les IgA1 néphrotoxiques seraient d'origine mucoale, soit par une hyperproduction d'IgA1 dans les muqueuses dont une petite partie passe dans la circulation, soit un routage accru vers la moelle osseuse de lymphocytes T contrôlant le CSR vers les IgA de type muqueux ou de certaines cellules B mémoires et de certains plasmocytes différenciés dans les MALT. Les IgA1 de type muqueux produits dans la moelle passeraient alors dans la circulation. En accord avec cette seconde hypothèse, il a été observé une diminution des plasmocytes sécrétant les IgA1 de type muqueux dans les muqueuses au cours de la N-IgA, alors qu'une augmentation de ces plasmocytes a été observée dans les sites systémiques en particulier dans la moelle osseuse (Harper 1994, Harper 1996). De plus les lymphocytes T circulants des sujets avec N-IgA expriment plus fortement des molécules de routage ou de *homing* vers la moelle osseuse que les cellules T des sujets sains (Batra 2007, Buren 2007).

Le rôle des muqueuses dans la N-IgA est aussi mis en évidence au travers des études des tonsilles qui contiennent une muqueuse et des MALT (Xie 2004). Les tonsilles des patients avec N-IgA présentent des différences histologiques notables concernant à la fois l'épithélium et l'organisation des cellules immunitaires par rapport aux tonsilles des sujets sains ou de malades avec amygdalites chroniques, mais sans N-IgA (Xie 2004). Une augmentation des pIgA est aussi observée dans les tonsilles des malades avec N-IgA par rapport aux autres sujets. Certaines études ont rapporté la présence, dans les dépôts, d'antigènes de la bactérie à Gram négatif *Haemophilus parainfluenza* fréquemment retrouvée dans les tonsilles (Xie 2004). Les anticorps dirigés contre cette bactérie sont enrichis dans la circulation des malades avec N-IgA (Xie 2004). Enfin, une méta-analyse sur l'effet de l'ablation des tonsilles a récemment montré son effet bénéfique chez les malades avec N-IgA (Liu 2015).

Des données issues des modèles murins $\alpha 1KI$ et des souris TNFSF13B/BAFF-Tg renforcent aussi l'idée que l'IgA pathogénique dans la N-IgA est d'origine mucoale. Ainsi, le dépôt mésangial d'IgA dans les souris $\alpha 1KI$ produisant de l'IgA1 chimérique humaine est quantitativement proportionnel aux taux d'IgA1 chimériques circulantes qui dépendent de la charge de l'environnement microbien y compris de la flore du tube digestif (Oruc 2016). Les souris BAFF-Tg ont des taux élevés d'IgAs plasmatiques, présentent spontanément des dépôts mésangiaux d'IgA et développent des signes

de la N-IgA ; ces anomalies sont dépendantes de la présence d'une flore digestive commensale (McCarthy 2011). Dans un autre modèle murin où les lymphocytes T surexpriment TNFSF14 (appelé aussi LIGHT) qui appartient à la même famille que TNFSF13B / BAFF, une inflammation de la muqueuse digestive, une augmentation de la production des IgA dans la muqueuse digestive, une diminution de leur transport dans la lumière, une augmentation drastique des taux circulants d'IgA, un dépôt mésangial d'IgA et de C3 ainsi qu'une hématurie sévère sont observées (Wang 2004). Enfin, de nombreux modèles de N-IgA chez la souris ou chez le rat sont obtenus par immunisations répétées avec des antigènes alimentaires ou des micro-organismes des muqueuses comme le virus Sendai, un virus des voies aériennes de différentes espèces de rongeurs (Suzuki 2014a, Zhang 2017). L'injection à des souris ddY du virus Coxsackie B4, un opportuniste qui affecte les voies aériennes chez l'homme, comme l'injection intranasale de ligands de TLR accélèrent la progression de la N-IgA (Kajiyama 2011, Kawasaki 2006, Maiguma 2014). Les TLR ont aussi été incriminés dans d'autres modèles animaux de la N-IgA ou leurs ligands utilisés pour générer des modèles de cette maladie (Chen 2015, Meng 2014, Zou 2017). A noter que, dans la souris ddY, la recherche de facteurs génétiques contribuant à la progression de la N-IgA a conduit à la mise en évidence de MyD88, l'adaptateur majeur des TLR (Suzuki 2008). Des associations génétiques ont aussi été trouvées chez l'homme pour certaines molécules de la voie des TLR (Gao 2016, Sallustio 2015, Yoon 2003) et l'expression de TLR4 sur les monocytes circulants corrèle avec certains paramètres cliniques de la N-IgA (Coppo 2010b).

Concernant la O-glycosylation, elle a lieu lors des stades tardifs du développement et de maturation des cellules B et il est admis actuellement que son défaut serait fortement lié à une régulation anormale induite par des stimuli acquis, en particulier au niveau des muqueuses (Coppo 2010a, Fabiano 2016). Il a été montré que le LPS et un facteur majeur de virulence de la bactérie à Gram négatif à tropisme digestif *Helicobacter pylori* provoquent un défaut de galactosylation des IgA produites *in vitro* par des cellules B qui serait lié à une diminution de l'expression de C1GALT1C1 (Qin 2008, Xie 2010, Yang 2014). Il a également été mis en évidence que les sujets avec N-IgA présentent une séropositivité plus importante pour *Helicobacter pylori* qui est portée par des IgA et que les IgA1 circulants spécifiques anti-*Helicobacter pylori* sont enrichis en Gd-IgA1 en comparaison aux IgA1 dirigés contre des antigènes systémiques tels que la toxine tétanique (Barratt 1999, Smith 2006, Zhu 2016). Les antigènes d'*Helicobacter pylori*, en particulier son facteur majeur de virulence, ne sont pas retrouvés au niveau des glomérules, mais l'ont été dans les tubules des patients avec N-IgA (Zhu 2016). De plus l'incubation de cellules mésangiales de rats avec le facteur majeur de virulence conduit à leur prolifération et à la production de molécules de la matrice extracellulaire (Wang 2016b). Cet effet est certainement à attribuer à l'activation de TLR exprimés par les cellules mésangiales (Allam 2009, Lim 2011, Patole 2006, Yiu 2011).

D'autres bactéries ont été incriminées en particulier les bactéries à Gram positif qui sont responsables des glomérulonéphrites post-infectieuses et qui sont de la famille des streptocoques ou *Staphylococcus aureus* (Nast 2012, Stratta 2014). Une augmentation des IgA anti-streptocoques ou dirigés contre des antigènes *Staphylococcus aureus* a été décrite dans la circulation des sujets avec N-IgA (Drew 1987, Kukuminato 1993, Shimizu 2007). Des antigènes de streptocoques et de *Staphylococcus aureus* ont été trouvés dans le mésangium de sujets avec N-IgA (Koyama 2004, Schmitt 2010). Deux groupes indépendants ont décrits l'obtention de modèles murins de N-IgA à partir de souris de souche BALB/c ou C57Bl/6 infectées avec un streptocoque ou immunisées avec des antigènes de *Staphylococcus aureus* (Meng 2014, Sharmin 2004, Zhang 2010).

Récemment, quelques équipes se sont intéressées aux microbiotes des sujets avec N-IgA en comparaison de celui de sujets contrôle. Des différences ont été décrites dans les microbiotes de la salive (Piccolo 2015) et des feces (De Angelis 2014) entre individus avec N-IgA et les contrôles mais ces différences n'ont pas été retrouvées dans le microbiote des tonsilles (Watanabe 2016). Il ressort de l'étude sur le microbiote intestinal que différentes espèces bactériennes sont enrichies, dont les streptocoques, ou au contraire diminuées chez les sujets avec N-IgA et que le microbiote présentant la plus faible diversité est présent chez les patients avec une N-IgA qui évolue comparativement aux sujets avec une maladie non évolutive.

Les antigènes alimentaires, comme la gliadine, une des protéines du gluten présente dans la farine de blé, ou des protéines de soja, du lait ou des oeufs, ont aussi été mis en cause dans la N-IgA. Différents groupes ont mesuré les taux d'IgA circulantes anti-antigène alimentaire spontanément ou en réponse à une ingestion de ces antigènes, ou encore, ont recherché la présence de ces antigènes dans les glomérules des sujets avec N-IgA ; des résultats très contrastés ont été obtenus (Coppo 2018, Floege 2016). Un groupe a décrit un modèle murin de N-IgA induit par le gluten (Coppo 1989) et un régime sans gluten a conduit à limiter la N-IgA induite dans les souris coexprimant l'IgA1 chimérique humaine et CD89 humain (Papista 2015). Dans une étude, des sujets avec N-IgA ont suivi pendant 6 mois un régime sans gluten, ce qui a conduit à une diminution de la protéinurie et de l'hématurie, mais également et de façon inattendue, à une augmentation de la créatininémie (Coppo 1990).

Parmi les muqueuses, la muqueuse digestive a été la plus étudiée dans la néphropathie a IgA. Différents groupes ont montré une modification de la perméabilité intestinale décrite comme augmentée chez les sujets avec N-IgA et une inflammation de la muqueuse digestive accompagnée d'une altération du compartiment des cellules T (Floege 2016). Chez les sujets avec N-IgA, une étude montre que le degré de l'inflammation duodénale, mesuré par l'expression d'une protéine inflammatoire, corrèle avec le niveau d'IgA circulante, la protéinurie et l'hématurie (Honkanen 2005). Aucune de ces modifications n'est cependant spécifique de la N-IgA ; elles sont également décrites

dans d'autres pathologies rénales. Enfin, plusieurs études ont montré une plus forte proportion de sujets avec N-IgA dans la population des malades atteints de la maladie coeliaque ou d'IBD (Floege 2016).

RESULTATS

De nombreux arguments chez l'homme comme dans les modèles animaux de N-IgA montrent que l'environnement microbien, en particulier bactérien, influence le développement de la maladie et/ou sa progression. En effet, l'hématurie macroscopique, un des signes qui révèle la maladie, survient rapidement chez les patients N-IgA après des infections bactériennes des voies respiratoires, urogénitales ou une perturbation gastro-intestinale (Coppo 2010a, Wyatt 2013). L'infection chronique des tonsilles, à la fois muqueuse et MALT au carrefour des voies respiratoires et digestives, a été associée à la N-IgA et une méta-analyse récente montre une certaine efficacité de l'ablation des tonsilles comme thérapie de la N-IgA (Liu 2015). Le taux des anticorps de classe IgA dirigés contre des antigènes bactériens, de bactéries à Gram négatif (*Haemophilus parainfluenza*, *Helicobacter pylori*) ou à Gram positif (*Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*) est augmenté dans la circulation des sujets avec N-IgA (Barratt 1999, Drew 1987, Kukuminato 1993, Shimizu 2007, Smith 2006, Xie 2004, Zhu 2016). Dans certaines séries de patients, les antigènes de ces mêmes bactéries ont été trouvés dans le mésangium avec les dépôts d'IgA1 (Koyama 2004, Schmitt 2010). Différentes équipes ont reproduit certaines caractéristiques de la N-IgA chez des souris suite à l'injection d'antigènes des bactéries citées plus-haut (Meng 2014, Sharmin 2004, Zhang 2010). De plus, des études du microbiote commencent à émerger et semblent indiquer des différences entre les sujets avec N-IgA et les contrôles (Piccolo 2015, De Angelis 2014).

Les résultats relatifs à l'importance de telle ou telle bactérie ou de tel virus chez l'homme n'ont pas toujours été confirmés ce qui a pu mettre le doute sur l'importance de chacun de ces agents dans la N-IgA. Cependant, les résultats, des études d'association génétique, peu reproductibles d'une population à l'autre ont mis en avant l'idée que la N-IgA pourrait être non pas une maladie mais un syndrome dans lesquels les signes cliniques ont différentes étiologies. Ce constat fait sur les gènes en cause peut certainement être aussi appliqué pour les agents infectieux.

Lorsqu'ils pénètrent dans l'organisme, les antigènes de surface pour les agents extracellulaires, ou les acides nucléiques des virus ou de certaines bactéries intracellulaires, sont des signaux forts d'alerte du système immunitaire. Ces signaux sont relayés par différents récepteurs dont les TLR qui ont aussi été incriminés dans la N-IgA. Les TLR qui semblent jouer un rôle dans la N-IgA sont les TLR4 de surface et TLR9 endosomal, dont les ligands principaux sont, respectivement, le LPS et l'ADN riche en CpG nonméthylés. Le LPS représente la signature moléculaire commune des bactéries à Gram négatif et est très présent dans la paroi de ces microorganismes et l'ADN riche en CpG nonméthylés est une caractéristique des bactéries, qu'elles soient à Gram négatif ou à Gram positif. Dans les études génétiques de cas-témoins des variants de TLR9 et de CD14, le corécepteur de TLR4 pour le LPS, ont été rapportés et les auteurs ont montré une association avec

la N-IgA (Sallustio 2015, Yoon 2003). Par ailleurs l'expression de TLR4 à la surface des monocytes circulants est augmentée et corrèle avec la protéinurie et l'hématurie chez les malades avec N-IgA (Coppo 2010b). Une analyse génétique des souris ddY a révélé que MyD88, l'adaptateur de nombreux TLR dont TLR4 et TLR9, est un facteur de progression de la maladie rénale (Suzuki 2008). L'injection intranasale de CpG ou de LPS chez les souris ddY accélère la progression de la N-IgA (Kajiyama 2011, Maiguma 2014). Le LPS donné en combinaison avec l'albumine bovine et le carbone tétrachloride est utilisé par certains auteurs pour obtenir un modèle de N-IgA chez le rat ou la souris (Chen 2015, Meng 2014). De plus, chez le rat traité par des gamma globulines bovines (mélange d'Ig circulantes), il a récemment été montré que l'activation de TLR4 est nécessaire à l'apparition des signes de la N-IgA (Zou 2017). L'effet des TLR et de leurs ligands peut s'expliquer par une activation des cellules immunitaires mais également, lorsque les ligands atteignent le glomérule, par un effet activateur des cellules mésangiales, voire des podocytes, qui expriment plusieurs TLR dont TLR4 (Allam 2009, Lim 2011, Patole 2006, Yiu 2011). Enfin, le LPS favorise l'apparition de Gd-IgA1 *in vitro* (Xie 2010).

L'objectif de mon travail de thèse était de poursuivre l'exploration du rôle de l'environnement bactérien en évaluant l'**effet du LPS** :

- 1) **sur la production des IgA anormales circulantes chez la souris,**
- 2) et **sur le développement de la maladie dans les souris α 1KI** qui produisent de l'IgA1 chimérique humaine et ont des dépôts spontanés mais sans protéinurie, hématurie ou lésions histologiques de la N-IgA.