

Revoir le dosage des sous-classes d'IgG. [Revisiting IgG subclass measurement.]

Pierre Aucouturier

► **To cite this version:**

Pierre Aucouturier. Revoir le dosage des sous-classes d'IgG. [Revisiting IgG subclass measurement.]. La Presse medicale, Paris, Masson et Cie, 2012, 42 (3), pp.253-257. <10.1016/j.lpm.2012.07.017>. <inserm-00744592>

HAL Id: inserm-00744592

<http://www.hal.inserm.fr/inserm-00744592>

Submitted on 23 Oct 2012

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

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

Editorial

Revoir le dosage des sous-classes d'IgG

Revisiting IgG subclass measurement

Pierre Aucouturier

Département d'Immunologie, Hôpitaux Universitaires Est Parisien, UMRS 938, Université

Pierre et Marie Curie – Paris 6, Hôpital St-Antoine, 75012 Paris France

Correspondance

Pierre Aucouturier

Département d'Immunologie, Hôpitaux Universitaires Est Parisien

UMRS 938, Université Pierre et Marie Curie – Paris 6

Hôpital St-Antoine,

184 rue fbg St-Antoine

75012 Paris, France

pierre.aucouturier@inserm.fr

La fonction anticorps chez l'homme est portée par des classes et des sous-classes d'immunoglobulines dont la diversité a progressé dans l'évolution des espèces : chaque « isotype » a une structure et des fonctions associées à des rôles spécifiques, participant ainsi à un perfectionnement de l'immunité humorale. Il est donc a priori intéressant de chercher, au cours de syndromes évoquant un dysfonctionnement des réponses anticorps, des anomalies de l'expression d'une ou plusieurs classes ou sous-classes d'immunoglobulines. D'autre part, si une anomalie de l'expression d'une classe ou sous-classe d'immunoglobuline n'est souvent pas la cause directe d'une maladie, des concentrations sériques anormales constituent des marqueurs précieux pour le diagnostic.

Cependant, alors que les dosages des principales classes d'immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) sont assez bien maîtrisés, les contraintes et les biais des méthodes de dosage des sous-classes d'IgG dans le sang sont largement ignorés des prescripteurs comme des biologistes, qui usent et abusent de cette exploration onéreuse dont les indications sont incertaines.

Les travaux pionniers des années 1970 sur les déficits sélectifs en sous-classes d'IgG étaient le produit de rares laboratoires qui avaient développé des efforts considérables pour élaborer des techniques de dosage fiables, et déterminer des valeurs normales de référence spécifiques de leurs méthodes. Hélas, l'histoire moderne a quelque peu dévié de cette trajectoire initiale, par deux processus complémentaires : l'élargissement (pour ne pas dire la banalisation) des indications du dosage sérique des sous-classes d'IgG, et le développement commercial d'une technique facile et rapide. Dans cette frénésie, continue-t-on à se poser les questions fondamentales déjà soulevées il y a trente ans, tant sur la fiabilité des dosages que sur la signification clinique des déficits que l'on identifie ? C'est à ces deux questions que cet article tente d'apporter ici quelques débuts de réponses.

1. Difficultés du dosage des sous-classes d'IgG : où en sommes-nous ?

Les immunoglobulines sont la famille de glycoprotéines la plus hétérogène du monde vivant, ce qui constitue une difficulté considérable pour l'évaluation de leurs concentrations dans les liquides biologiques. Leur variabilité dépend de caractères génétiques (les allotypes), mais aussi d'autres facteurs intrinsèques et extrinsèques, qui font qu'à la différence du dosage de la plupart des autres protéines, selon le cas on ne mesure jamais exactement la même entité : chaque isotype d'immunoglobulines est constitué d'un ensemble de molécules qui diffèrent toujours d'un individu à un autre. Les tentatives de standardiser les dosages des immunoglobulines ont été multiples et toujours approximatives ou arbitraires. D'un point de vue technique, qu'il s'agisse des classes ou des sous-classes d'immunoglobulines, ou encore des chaînes légères libres, un étalonnage universel des méthodes de dosage n'est pas concevable puisqu'il s'agit de mesurer des entités qui diffèrent d'un individu à un autre. De façon à rendre compte de cette incertitude méthodologique il serait plus logique que les biologistes rendent leurs résultats en « unités arbitraires » plutôt qu'en concentrations pondérales ($\mu\text{g/ml}$ ou mg/ml).

A ces difficultés s'en ajoutent d'autres, propres aux sous-classes d'IgG et dues à leur très forte homologie. Les IgG1, 2, 3 et 4 sont identifiables par la région dite « constante » de leur chaîne lourde (indiquée en bleu sur la figure 1), qui présente de l'ordre de 95% d'identité de séquence d'acides aminés. En conséquence, on estime que seulement 3 à 9 sites potentiels de reconnaissance par des anticorps (épitopes) sont spécifiques d'une sous-classe donnée (figure 2). La réactivité de certains de ces épitopes est fortement influencée par des facteurs génétiques inter-individuels (allotypie), par le type de chaîne légère associée à la chaîne lourde et par les régions variables de l'immunoglobuline, comme nous l'avons montré pour

les IgG2 [1]. D'autres épitopes sont influencés par la formation d'agrégats, comme dans le cas des IgG3 [2].

La première difficulté de la mise au point des dosages des sous-classes d'IgG a été de produire des anticorps spécifiques utilisables dans un immuno-essai. La spécificité d'antisérums polyclonaux produit chez un animal contre une sous-classe d'IgG donnée est conditionnée par des procédures d'induction de tolérance vis-à-vis des autres sous-classes et d'adsorption sur ces autres sous-classes, de façon à éliminer les réactions croisées. La variabilité qualitative d'un lot de production à un autre est une limite évidente de la production d'anticorps polyclonaux à une grande échelle.

Alternativement, des anticorps monoclonaux anti-sous-classes d'IgG ont été obtenus dès le début des années 1980 par le groupe de Roy Jefferis au Royaume Uni et celui de Charles B. Reimer aux Etats-Unis : leur immense avantage est qu'ils peuvent être produits indéfiniment et de façon parfaitement stable. Cependant chacun de ces anticorps ne reconnaît qu'un épitope, ce qui limite leur utilisation à certains types de méthodes. Outre leur stabilité, l'intérêt des anticorps monoclonaux est qu'ils peuvent être sélectionnés selon leur spécificité, leur affinité et leur propension à réagir de façon indépendante des régions variables, de l'allotypie et du type de chaînes légères de la sous-classe reconnue.

Cependant les techniques accessibles commercialement utilisent des antisérums polyclonaux. Les raisons en sont que des anticorps monoclonaux ne fonctionnent correctement que dans des méthodes complexes et difficilement automatisables, comme les immuno-essais par compétition sur antigène immobilisé [3]. Le choix des sociétés qui vendent des kits pour le dosage des sous-classes d'IgG sériques est clairement influencé par sa faisabilité dans un nombre aussi grand que possible de laboratoires d'analyse. Les indications de ce dosage sont-elles si larges qu'elles justifient une telle diffusion ?

2. Signification des déficits en sous-classes d'IgG

En 1982 Marie-Paule et Gérard Lefranc décrivent un cas de déficit génétique complet en IgG1, IgA1, IgG2 et IgG4 [4] : il s'agit d'une femme tunisienne âgée de 76 ans, bien portante et sans antécédents médicaux remarquables. Ses fonctions anticorps sont préservées, et elle a en particulier des taux normaux d'anticorps contre des polysaccharides de parois bactériennes, habituellement restreints aux IgG1 et IgG2. De nombreux autres cas de délétions homozygotes multiples des régions constantes de chaînes lourdes d'immunoglobulines ont été identifiés par la suite chez des sujets sains*, et la fréquence d'une telle anomalie dans la population générale a pu être évaluée à environ 1/10000 [5]. Les seuls isotypes d'immunoglobulines apparemment toujours exprimés par les individus bien-portants sont l'IgM, l'IgD et l'IgG3.

Ces observations devraient évidemment induire une interrogation sur le caractère causal des déficits en sous-classes d'IgG dans les maladies auxquelles ils sont associés. Elles suggèrent que les taux sériques bas, fréquents chez des patients ayant des infections anormalement répétées et/ou graves, sont vraisemblablement la conséquence d'un déficit situé en amont des processus de maturation B. Les déficits en sous-classes d'IgG, presque toujours partiels dans ces contextes, apparaissent ainsi plutôt comme des marqueurs de certains états de déficit de l'immunité que comme des éléments directement en cause dans la pathogénie.

Ces observations questionnent aussi la pertinence des approches thérapeutiques substitutives utilisant des immunoglobulines humaines par voie intraveineuse ou sous-cutanée. Certaines études, comme celle du groupe de Martha Eibl [6], ont montré que l'efficacité des traitements par immunoglobulines ne semblait pas liée à la substitution de la

*Chez l'un de ces sujets, une méthode commerciale très utilisée pour le dosage des sous-classes d'IgG par néphélométrie a détecté 0.09 mg/ml d'IgG2 alors que le gène codant cette sous-classe est absent...

sous-classe d'IgG incriminée. L'importance de l'observation d'un déficit en sous-classe d'IgG dans la décision d'entreprendre un traitement par immunoglobulines humaines s'appuie donc sur des critères purement empiriques : la diminution du taux d'un isotype d'immunoglobuline traduit un état de déficit des réponses immunitaires qui peut être corrigé par ce traitement, soit en apportant des anticorps soit par un mécanisme indirect. Quoiqu'il en soit, il ne semble pas justifié de mesurer les taux sériques de sous-classes d'IgG dans le suivi de ces traitements, les critères cliniques étant seuls pertinents.

La prescription de ces dosages s'inscrit souvent dans le cadre d'un bilan à la recherche d'anomalies phénotypiques de l'immunité, devant l'évidence d'une susceptibilité élevée aux infections qui peut évoquer les prémices d'un déficit immunitaire. L'objectivation d'un déficit en sous-classe ne peut cependant être considérée que comme un élément d'un syndrome, vraisemblablement un marqueur plutôt qu'un facteur.

Ainsi, l'indication d'une analyse des sous-classes d'IgG doit être rigoureusement soumise à une étude préalable du contexte clinique et biologique, prenant en compte le nombre d'épisodes infectieux des voies respiratoires et le défaut de réponses anticorps vaccinales. Si quelques cas de déficits en sous-classes d'IgG ont peu de manifestations cliniques, d'autres ont des infections graves des voies respiratoires parfois responsables d'une dilatation des bronches. Devant une hypogammaglobulinémie (donc un déficit global en IgG) il peut être intéressant, à condition que cela puisse influencer la prise en charge thérapeutique, de chercher un déficit prédominant en IgG2, généralement associé à des maladies infectieuses plus sévères [7]. Si les gammaglobulines sériques sont normales, l'utilité d'identifier un déficit sélectif en sous-classe dépend de la fréquence, la sévérité et la spécificité des infections à germes pyogènes. La découverte dans de tels contextes d'un déficit en sous-classe d'IgG (le plus souvent IgG2 ou IgG3) permet de mieux « classer » le déficit immunitaire, sans pour autant l'expliquer. Dans les centres où l'on utilise la méthode ELISA avec des anticorps

monoclonaux, on observe une fréquence remarquable de déficits en sous-classes d'IgG associés à des susceptibilités anormales aux infections, le plus souvent persistants et parfois familiaux (Isabelle Pellier, communication personnelle).

3. Augmentations et déséquilibres de l'expression des isotypes d'immunoglobulines

Si comprendre la signification et l'implication d'un déficit en un isotype d'immunoglobuline dans un contexte pathologique est rarement évident, l'observation de « profils » particuliers peut parfois conduire à raisonner sur les mécanismes étiologiques.

Un premier exemple est la maladie sclérosante systémique avec hyper-IgG4 (IgG4-RSD). Il s'agit en réalité d'un groupe hétérogène de maladies multiviscérales associant des processus fibrogènes à des infiltrats de lymphocytes et de plasmocytes producteurs d'IgG4. Les taux élevés de certaines immunoglobulines, en particulier les IgG4, sont un important critère diagnostique. Une série française récemment étudiée suggère une cause impliquant une exacerbation de la maturation terminale des cellules B [8]. Longtemps centrée sur le critère des IgG4 en raison de la description initiale de leur hyper-expression dans les pancréatites chroniques sclérosantes avec infiltration lymphocytaire et plasmocytaire (dites « autoimmunes ») [9], ce syndrome complexe montre en réalité une diversité des profils de surexpression de certains isotypes d'immunoglobulines. Alors que les IgM sont habituellement normales et parfois basses, dans la plupart des cas l'hyper-IgG4 sérique s'accompagne de l'augmentation d'une ou plusieurs autres classes et/ou sous-classes d'immunoglobulines, au premier rang desquelles les IgG1, les IgG3 et les IgE. Globalement, ces observations conduisent les auteurs à chercher des mécanismes mettant en jeu des cellules T qui activent la commutation isotypique (cellules « Tfh »), comme semble en effet

le montrer l'étude immunohistologique d'un de ces cas [10]. Des études corrélatives en cours devraient ainsi permettre de mieux comprendre la diversité de l'expression clinique de ce syndrome. Dans l'état actuel de nos connaissances, devant un contexte évocateur il est raisonnable de doser seulement les IgG4, et éventuellement les autres sous-classes lorsque le diagnostic est établi.

Une autre étude récemment publiée concerne 8 patients porteurs d'une mutation invalidante d'un gène de réparation de l'ADN (« mismatch repair »), MSH6, dont les auteurs montrent l'implication dans la commutation isotypique des immunoglobulines [11]. De façon intéressante, ce défaut se traduit par des taux bas d'IgG1, IgG2 et IgG4 alors que les IgM sont élevées et les IgG3 normales (3/8) ou élevées (5/8). Cette observation peut être rapprochée de celles, fréquentes, de patients ayant une diminution des IgG sériques avec des IgG3 préservées, chez qui il pourrait être pertinent de chercher une anomalie d'un facteur génétique influençant la commutation isotypique. D'autres études de ce type pourraient permettre d'appréhender les mécanismes à l'origine des déficits en sous-classes d'IgG, encore inconnus et certainement complexes.

4/Conclusion

Le dosage des sous-classes d'IgG reste un examen dont le coût et la difficulté, mais aussi la complexité d'interprétation, devraient limiter les indications à des contextes soigneusement ciblés. Il peut cependant être utile dans certaines suspicions de déficit immunitaire, mais aussi dans des syndromes d'hyper-immunité dont les mécanismes encore obscurs peuvent être approchés dans un premier temps par des études corrélatives. En routine, ces examens sont actuellement prescrits de façon très exagérée et souvent en première intention dans des situations cliniques imprécises. De plus le coût élevé, mais aussi les limites méthodologiques soulevées précédemment, devraient inciter les cliniciens à mieux cibler les demandes et les biologistes à plus de rigueur.

Déclaration d'intérêts : none

Remerciement : Merci à Isabelle Pellier (CHU d'Angers) pour ses précieux conseils.

Références

1. Aucouturier P, Lacombe C, Preud'homme JL. Methodological pitfalls in serum IgG2 level measurements by immunoenzymatic assays with monoclonal antibodies. *J Clin Lab Anal* 1992;6:12-6.
2. Aucouturier P, Pineau N, Kobayashi K, Preud'homme JL. Methodological pitfalls in immunoglobulin subclass assays - an investigation of anti-Ig subclass monoclonal-antibody and jacalin reactivity. In: *Protides of the Biological Fluids* (Ed Poulik MD), Volume36, 1989,pp61-69
3. Aucouturier P, Mounir S, Preud'homme JL. Distribution of IgG subclass levels in normal adult sera as determined by a competitive enzyme immunoassay using monoclonal antibodies. *Diagn Immunol* 1985;3:191-6.
4. Lefranc MP, Lefranc G, Rabbitts TH. Inherited deletion of immunoglobulin heavy chain constant region genes in normal human individuals. *Nature* 1982;300:760-2.
5. Migone N, Oliviero S, de Lange G, Delacroix DL, Boschis D, Altruda F et al. Multiple gene deletions within the human immunoglobulin heavy-chain cluster. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:5811-5.
6. Bernatowska-Matuszkiewicz E, Pac M, Skopcynska H, Pum M, Eibl MM. Clinical efficacy of intravenous immunoglobulin in patients with severe inflammatory chest disease and IgG3 subclass deficiency. *Clin Exp Immunol* 1991;85:193-7.
7. Aucouturier P, Lacombe C, Brémard C, Lebranchu Y, Seligmann M, Griscelli C et al. Serum IgG subclass levels in patients with primary immunodeficiency syndromes and abnormal susceptibility to infections. *Clin Immunol Immunopathol* 1989;51:22-37.

8. Ebbo M, Daniel L, Pavic M, Sève P, Hamidou M, Andres E et al. IgG4-related systemic disease: features and treatment response in a French cohort: results of a multicenter registry. *Medicine (Baltimore)* 2012;91:49-56.
9. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, Unno H, Furuya N, Akamatsu T et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001;344:732-8.
10. Zaidan M, Cervera-Pierot P, de Seigneux S, Dahan K, Fabiani B, Callard P et al. Evidence of follicular T-cell implication in a case of IgG4-related systemic disease with interstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:2047-50.
11. Gardès P, Forveille M, Alyanakian MA, Aucouturier P, Ilencikova D, Leroux D et al. Human MSH6 deficiency is associated with impaired antibody maturation. *J Immunol* 2012;188:2023-9.

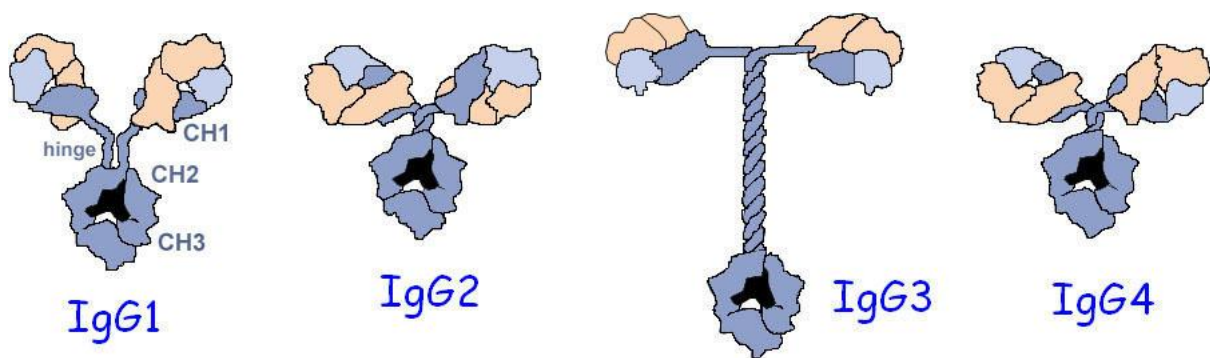
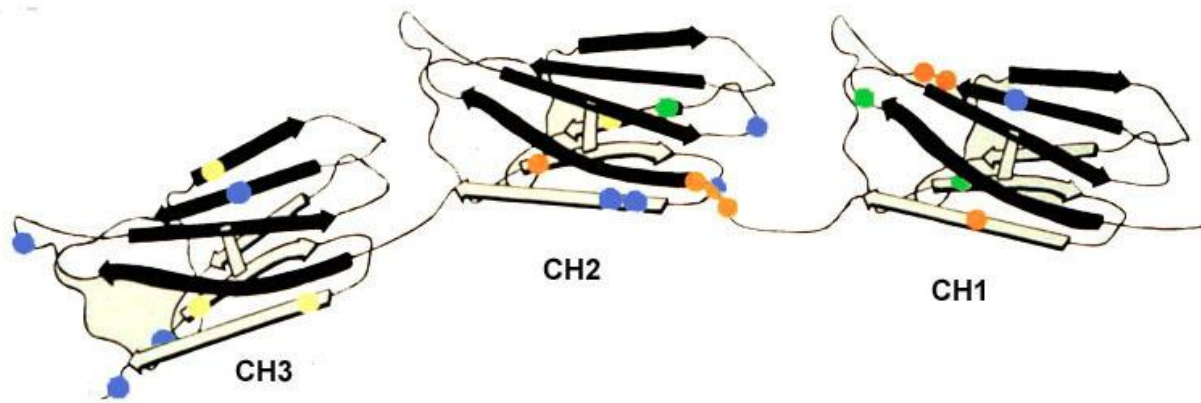


Figure 1 : Structures comparées des 4 sous-classes d'IgG humaines.

Seule la région constante de la chaîne lourde (bleu foncé) porte les déterminants spécifiques des classes et sous-classes d'immunoglobulines. Elles comportent les domaines constants CH1, CH2 et CH3 et la région charnière (hinge). Les chaînes légères (beige) et les domaines variables des chaînes lourdes (bleu clair) peuvent influencer sur la reconnaissance des épitopes du domaine CH1.



	CH3			CH2			CH1		
	IgG2	IgG3	IgG4 ●	IgG2	IgG3	IgG4	IgG2	IgG3	IgG4
● IgG1	100	97	96	95	98	95	95	98	97
● IgG2		97	96		95	93		97	96
● IgG3			93			95			99

Figure 2 : Homologies des 3 domaines constants des chaînes lourdes des sous-classes d'immunoglobulines, exprimées en pourcentages d'identité stricte de séquence des acides aminés.

Les points de couleurs indiquent les épitopes potentiels spécifiques de chaque sous-classe (image donnée par Roy Jefferis, University of Birmingham, Royaume -Uni).